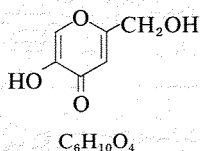


## 104 コウジ酸

Kojic Acid



## 1. 試験法の概要

食品中のコウジ酸<sup>1)</sup>は、酸性下ジエチルエーテルで抽出し、液体クロマトグラフィーにより定量する。

## 2. 試験法（液体クロマトグラフィー）

## (1) 検体の採取と試料の調製

一般試料採取法を準用する。

## (2) 試料液の調製

## ① 液状食品

試料約 2g を精密に量り、9mol/l 硫酸 0.7ml、セライト 5g<sup>2)</sup> 及び無水硫酸ナトリウム 5g<sup>2)</sup> を加えた後、ジエチルエーテル 100ml<sup>3)</sup> を加え、20 分間振とうする。

遠心分離（5 分間、3,000 回転/分）した後、ジエチルエーテル層を分取し、水層にジエチルエーテル 100ml ずつを加え、同様の操作を更に 3 回<sup>4)</sup> 繰り返す。全ジエチルエーテル層を合わせ、減圧下濃縮乾固する。残留物に水 10ml を加えて溶かし、試料液とする。

## ② 固体食品

試料約 10g を精密に量り、水 30ml を加えてホモジナイズした後、内容物を水を用いて 50ml のメスフラスコに移し入れる。

水を用いて定容した後、遠心分離（5 分間、3,000 回転/分）を行う。上清液 5ml を正確に採り、9mol/l 硫酸 0.7ml、セライト 5g<sup>2)</sup> 及び無水硫酸ナトリウム 5g<sup>2)</sup> を加えた後、ジエチルエーテル 100ml<sup>3)</sup> を加え、20 分間振とうする。

遠心分離（5 分間、3,000 回転/分）した後、ジエチルエーテル層を分取し、水層にジエチルエーテル 100ml ずつを加え、同様の操作を更に 3 回<sup>4)</sup> 繰り返す。全ジエチルエーテル層を合わせ、減圧下濃縮乾固する。残留物に水 5ml を加えて溶かし、試料液<sup>5)</sup> とする。

### (3) 検量線用標準液の調製

コウジ酸 0.100g を正確に量り、水を加えて溶かして 100ml とする。この液 10ml を正確に量り、水を加えて正確に 100ml とし、標準溶液とする（この液 1ml は、コウジ酸 100 $\mu$ g を含む）。標準溶液 1, 5, 10, 20ml 及び 50ml をそれぞれ正確に量り、水を加えてそれぞれ正確に 100ml とし、検量線用標準液とする（これらの液 1ml は、それぞれコウジ酸 1, 5, 10, 20 $\mu$ g 及び 50 $\mu$ g を含む）。

### (4) 測定法

#### ① 測定条件

紫外外部吸収検出器付液体クロマトグラフを用い、次の条件によって測定する。

カラム充てん剤：オクタデシルシリル化シリカゲル

カラム管<sup>6)</sup>：ステンレススチール製、内径 4.6～6.0mm、長さ 150～250mm

移動相<sup>6)</sup>：0.05mol/l 過塩素酸

流速：1.0/分

測定波長：270nm

#### ② 検量線

検量線用標準液それぞれ 20 $\mu$ l ずつを正確に量り、液体クロマトグラフに注入し、得られたピーク高さ又はピーク面積から検量線を作成する。

#### ③ 定量<sup>7)</sup>

試料液 20 $\mu$ l を正確に量り、液体クロマトグラフに注入し、得られたピーク高さ又はピーク面積と検量線によって試料液中のコウジ酸濃度 ( $\mu$ g/ml) を求め、次式によって試料中のコウジ酸含量 (g/kg) を計算する。

[液状食品]

$$\text{コウジ酸含量 (g/kg)} = \frac{C \times V}{1,000 \times W}$$

[固体食品]

$$\text{コウジ酸含量 (g/kg)} = \frac{C \times V \times T}{1,000 \times W}$$

C：試料液中のコウジ酸濃度 ( $\mu$ g/ml)

V：試料液の量 (ml)

W：試料の採取量 (g)

T：希釈倍率

## 試薬・試液

1. コウジ酸：[特級]
2. 無水硫酸ナトリウム：[特級]
3. 9mol/l 硫酸：硫酸（96.0%，特級）5.0ml を水 10ml に注意しながら加え、冷後、水を加えて 20ml とする。
4. セライト<sup>8)</sup>
5. 0.05mol/l 過塩素酸：過塩素酸（60%，特級）5.5ml に水を加えて 1,000ml とする。

## [注]

- 1) コウジは、古くからみそ、しょう油、日本酒などの醸造に用いられている。このコウジの中から分離同定されたピロン系化合物の一種がコウジ酸であり、現在、食品には油脂類の酸化防止、めん類の変質防止、甲殻類の黒変防止、畜肉の退色防止、野菜類の鮮度保持、米飯の日持ち向上や魚卵の退色防止などに用いられている。
- 2) 抽出助剤として加えている。
- 3) 酢酸エチルを用いた方がコウジ酸は効率的に抽出されるが、分析妨害物質も同時に多量に抽出され、分析が困難となる。そこでコウジ酸の抽出効率は低いが、同時に抽出される分析妨害物質の少ないジエチルエーテルを用いている。
- 4) 第1回目の抽出で添加したコウジ酸の50～60%，第2回目に20%前後、第3回目に10%前後、第4回目に数%抽出回収され、第5回目の抽出液にはコウジ酸は認められない。
- 5) たらこや蒲鉾などタンパク質が多く含まれる食品や、米飯やうどんなどデンプンが多く含まれる食品で、本法による抽出が困難な場合、次のように抽出するとよい。  
試料を乳鉢でよくすりつぶした後、その約1gを精密に量り、水5ml、9mol/l 硫酸0.7ml、セライト5g、無水硫酸ナトリウム5g、ジエチルエーテル100mlを加え、ホモジナイズ抽出を行う。遠心分離（5分間、3,000回転/分）した後、ジエチルエーテル層を分取し、水層にジエチルエーテル100mlずつを加え、同様の操作を更に3回繰り返す。全ジエチルエーテル層を合わせ、減圧下濃縮乾固する。残留物に水5mlを加えて溶かし、試料液とする。
- 6) カラムには、YMC-Pack ODS AM-312、TSK-gel ODS 80Ts、Mightysil RP-18などが使用できる。移動相としては、0.05mol/l 過塩素酸のほかに1%プロピオン酸、0.1mol/l クエン酸、0.1mol/l リン酸二水素ナトリウム（pH3.0）・メタノール混液（99：1）などが使用できる。
- 7) 本法による定量限界は、0.005g/kgである。
- 8) セライト545（和光純薬）などが使用できる。