

強化剤

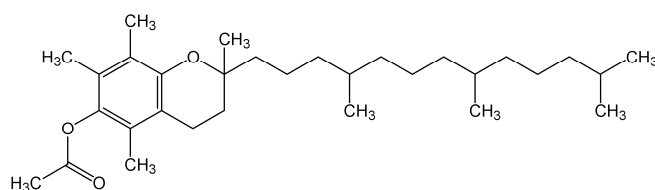
トコフェロール酢酸エステル及び

d- α -トコフェロール酢酸エステル

Tocopheryl Acetate and *d*- α -Tocopheryl Acetate

トコフェロール酢酸エステル

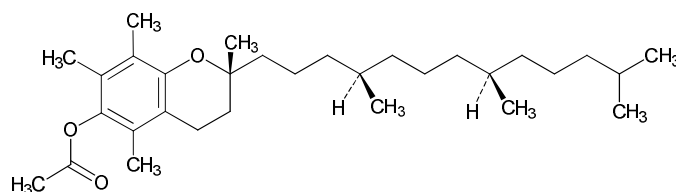
All-rac- α -Tocopheryl Acetate



$C_{31}H_{52}O_3$: 472.74

d- α -トコフェロール酢酸エステル

R, R, R- α -Tocopheryl Acetate



$C_{31}H_{52}O_3$: 472.74

1. 分析法の概要

食品中のトコフェロール酢酸エステル及び *d*- α -トコフェロール酢酸エステル¹⁾は、液体クロマトグラフィーにより定量する。(2019年設定)

2. 分析法 (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) 試験溶液の調製²⁾

試料約 0.1~3 g を精密に量り、60mL の共栓付き遠心管に入れる。これにピロガロール 0.3

g、10 g/L塩化ナトリウム溶液³⁾ 2 mL 及びエタノール 10 mL を加える。さらに、10 g/L塩化ナトリウム溶液 20 mL 及びヘキサン/2-プロパノール/0.3 g/L BHT 含有酢酸エチル混液 (18 : 3 : 2) 14 mL を加え、5 分間振とうし、遠心 (5 分間、1500 回転/分) 後、有機層を 100 mL の褐色ナス形フラスコに移す⁴⁾。水層にヘキサン/2-プロパノール/0.3 g/L BHT 含有酢酸エチル混液 (18 : 3 : 2) 14 mL を加えて同様の操作を 2 回繰り返し、先のナス形フラスコに有機層を合わせる。全有機層を減圧下、溶媒を留去する。残留物をエタノール 5 mL に溶解し⁵⁾、メンブランフィルター (0.45 µm) を用いてろ過し、ろ液を試験溶液とする。

(3) 検量線用標準溶液の調製⁶⁾

定量用トコフェロール酢酸エステル 0.100 g を量り、エタノールを加えて溶かし正確に 100 mL とし、標準原液とする (濃度 1000 µg/mL)。この液 25 mL を正確に量り、エタノールを加えて正確に 100 mL とする (濃度 250 µg/mL)。この液 4 mL を正確に量り、エタノールを加えて正確に 100 mL とする (濃度 10 µg/mL)。この液 5 mL を正確に量り、エタノールを加えて正確に 100 mL とし (濃度 0.5 µg/mL)、これらを検量線用標準溶液とする。

(4) 測定法

① 測定条件⁷⁾

紫外可視吸光度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。

カラム充填剤：オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径 5 µm)

カラム管：内径 4.6 mm、長さ 250 mm

カラム温度：40°C

移動相：メタノール

流速：1.0 mL/分

測定波長：284 nm

注入量：20 µL

② 検量線

検量線用標準溶液をそれぞれ液体クロマトグラフに注入し、得られたピーク面積から検量線を作成する。

③ 定量

試験溶液を液体クロマトグラフに注入し、トコフェロール酢酸エステルのピーク面積を測定し、得られたピーク面積及び検量線によって試験溶液中のトコフェロール酢酸エステル濃度 (µg/mL) を求め、次式によって試料中のトコフェロール酢酸エステル含量 (g/kg) を計算する。

$$\text{トコフェロール酢酸エステル含量 (g/kg)} = \frac{C \times V}{W \times 1000}$$

C : 試験溶液中のトコフェロール酢酸エステル濃度 (µg/mL)

W : 試料の採取量 (g)

V : 試験溶液の量 (mL)

$$\alpha\text{-トコフェロール含量 (g/kg)} = \text{トコフェロール酢酸エステル含量 (g/kg)} \times 0.911^{(8)}$$

④ 定量限界 トコフェロール酢酸エステルとして 0.005 g/kg (試料 0.5 g 採取の場合)

試薬・試液

1. 定量用トコフェロール酢酸エステル：トコフェロール酢酸エステル標準品 [日局標準品]
2. ピロガロール：[特級]
3. 塩化ナトリウム：[特級]
4. 10 g/L 塩化ナトリウム溶液：塩化ナトリウム 1 g を水に溶解し、100mL とする。
5. エタノール：[特級]
6. ヘキサン：[残留農薬試験用]
7. 2-プロパノール：[特級]
8. BHT：2, 6-ジ-tert-ブチル-4-メチルフェノール [特級]
9. 酢酸エチル：[残留農薬試験用]
10. 0.3 g/L BHT含有酢酸エチル：BHT 0.3 g を秤量し、酢酸エチル 1000mL に溶解する。
11. ヘキサン/2-プロパノール/0.3 g/L BHT含有酢酸エチル混液 (18 : 3 : 2)：ヘキサン 2340mL、2-プロパノール 390mL 及び 0.3 g/L BHT含有酢酸エチル 260mL を混合する。
12. メタノール：[高速液体クロマトグラフィー用]

[注]

- 1) 本分析法では *d* 1-体と *d*-体の分別は不能である。
- 2) 試料がカプセル剤の場合は 10 g/L 塩化ナトリウム溶液を加えた後、70°C で 5 分間加温してカプセルの被膜を溶解する。なお、カプセル剤の内容物について試験する場合には、次の方法で試験溶液を調製するとよい。

カプセルをビーカーに 3～5 粒採取し、質量を精密に量る。カプセルをはさみで半分切断し、エタノールを加え超音波処理し、内容物を分散させる。漏斗を用いて溶液を褐色メスフラスコに洗い込む。洗い込み操作は 3 回以上行い、完全にカプセルの内容物を溶か

し出す。トコフェロール酢酸エステルが $0.5\sim 250\mu\text{g}/\text{mL}$ となるように定容し、メンブレンフィルター ($0.45\mu\text{m}$) を用いてろ過し、ろ液を試験溶液とする。

- 3) $10\text{ g}/\text{L}$ 塩化ナトリウム溶液を加えると固まる試料の場合は、 $10\text{ g}/\text{L}$ 塩化ナトリウム溶液を加えずに、ピロガロール 0.3 g 及びエタノール 10 mL を加える。
- 4) 遠心分離後、エマルジョンができている場合はエタノールを少量加えると分離する。
- 5) 必要に応じてトコフェロール酢酸エステルの濃度が $0.5\sim 250\mu\text{g}/\text{mL}$ となるように希釈する。
- 6) 標準溶液の調製例を示す。実際は試験溶液中のトコフェロール酢酸エステルの濃度が検量線の範囲内に入るような濃度の標準溶液を数点調製し、検量線を引く。
- 7) 測定条件は例示である。用いるカラムによって、流速及び注入量等を調整する。
- 8) トコフェロール酢酸エステルを α -トコフェロールに換算する係数である。使用基準は対象食品として特定保健用食品及び栄養機能食品のみが 150 mg 以下/当該食品 1 日摂取目安量 (α -トコフェロールとして) と定められている。