

食安基発第 0513003 号
平成 16 年 5 月 13 日

各

| |
|---------|
| 都 道 府 県 |
| 保健所設置市 |
| 特 別 区 |

 衛生主管部(局)長 殿

厚生労働省医薬食品局
食品安全部基準審査課長

「食品中の食品添加物分析法」の改正について

標記分析法については、「食品中の食品添加物分析法について」(平成 12 年 3 月 30 日衛化第 15 号当職通知)の別添「第 2 版 食品中の食品添加物分析法」により定められているが、下記のとおり改正したので通知する。

なお、貴職におかれても御活用の上、貴管内関係者に対する周知徹底方よろしく願います。

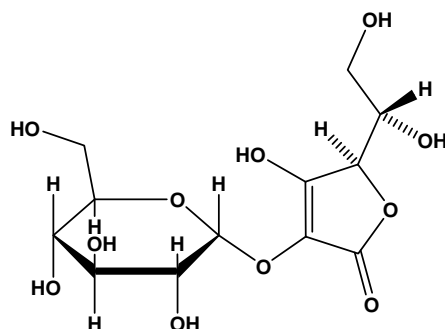
記

1. L-アスコルビン酸 2-グルコシドは、平成 16 年 1 月 20 日に添加物として指定されたところであるが、別添 1 のとおり食品中の分析法を当該試験法として加えたこと。
2. 過酸化ベンゾイルについて、別添 2 のとおり当該試験法を改正したこと。

【別添 1】

L-アスコルビン酸 2-グルコシド

L-Ascorbic Acid 2-Glucoside



$C_{12}H_{18}O_{11}$: 338.26

1. 試験法の概要

食品中の L-アスコルビン酸 2-グルコシドは、逆相高速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

液状食品

試料約 5.0 g を精密に量り、移動相¹⁾を加えて正確に 50ml とする。不溶物がある場合は遠心分離し、メンブランフィルター(0.45 μ m)でろ過したものを試料液とする。

粉体及び固体食品

試料を粉砕してその約 5.0 g を精密に量り、移動相 30ml を加え 10 分間ホモジナイズする。不溶物がある場合はろ過又は遠心分離し、移動相を加えて正確に 50 ml とする。この液をメンブランフィルター(0.45 μ m)でろ過したものを試料液とする。

(3) 検量線用標準液の調製

L-アスコルビン酸 2-グルコシド約 0.10 g を精密に量り、移動相¹⁾を加えて溶かして正確に 100 ml とする。その 20 ml を正確に量り、移動相を加えて正確に 200 ml としたものを標準液とする（この液 1 ml は、L-アスコルビン酸 2-グルコシド約 100 μ g を含む）。標準液 1 ~ 50 ml を正確に量り、移動相を加えて正確に 100 ml とし、検量線用標準液とする（この液 1 ml は、L-アスコルビン酸 2-グルコシド約 1 ~ 50 μ g を含む）。

(4) 測定法

測定条件

紫外外部吸収検出器付高速液体クロマトグラフを用い、次の条件により測定する²⁾。

カラム充てん剤³⁾：オクタデシルシリル化シリカゲル

カラム管：内径 4.6 mm、長さ 250 mm

カラム温度：40

移動相：水 800 ml にリン酸二水素カリウム 1.4g とテトラブチルアンモニウムヒドロキシド 26 ml を加え、リン酸水溶液で pH5.2 に調整した後、水で 1000 ml とする。この液 900 ml とアセトニトリル 100 ml を混和したもの。

流速：0.8 ml/分

測定波長：260 nm

検量線

検量線用標準液それぞれ 10 µl ずつを正確に量り、液体クロマトグラフに注入し、ピーク面積からL-アスコルビン酸 2-グルコシドの検量線を作成する⁴⁾。

定量⁵⁻⁷⁾

試料液 10 µl を正確に量り、液体クロマトグラフに注入し、得られたピーク面積と検量線から試料液中の L-アスコルビン酸 2-グルコシド濃度 A(µg/ml)を求め、次式によって試料中の L-アスコルビン酸 2-グルコシド含量(mg/kg)を計算する。

$$\text{L-アスコルビン酸 2-グルコシド (mg / kg)} = \frac{A \times 50}{W}$$

A : 試料液中の L-アスコルビン酸 2-グルコシド濃度 (µg/ml)

W : 試料の採取量 (g)

試薬・試液

1. アセトニトリル：[高速液体クロマトグラフ用]
2. リン酸二水素カリウム：[特級]
3. テトラブチルアンモニウムヒドロキシド：[特級、10%水溶液]
4. リン酸溶液：20%溶液
5. 水：水道水を超純水製造装置で処理した水

[注]

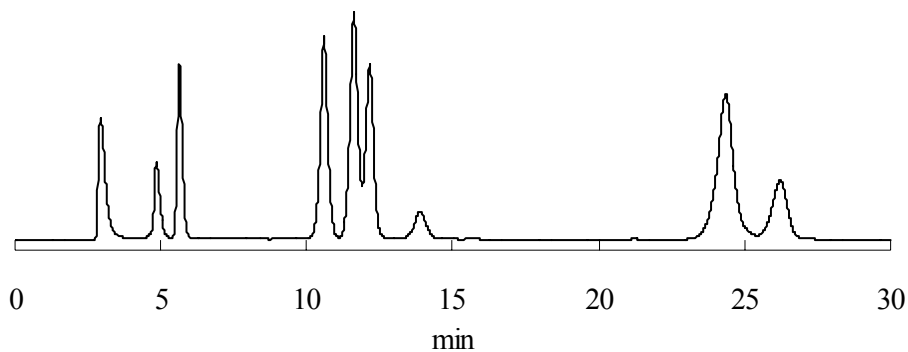
- 1) L-アスコルビン酸 2-グルコシドは、水、5%メタリン酸溶液に比べ、移動相に溶かしたときに最も安定である。
- 2) 本法のほかに、次の条件でも測定できる。カラム充てん剤：アミノプロピル基を化学結合したシリカゲル、カラム管：内径 4.6 mm 長さ 250 mm、移動相：アセトニトリル/リン酸二水素カリウム・0.5vol%リン酸溶液(5.44 1000)の混液(60:40)、流速：0.7 ml/分、そのほかの条件は本法と同じ。この条件で測定したときの検出下限は 2.5mg/kg である。
- 3) 液体クロマトグラフィーのカラムとしては、TSKgel ODS-80Ts QA などが使用出来る。
- 4) 試料液の濃度が検量線の濃度範囲を超える場合、試料液を移動相で適宜希釈するか、試

料採取量を減らして試験する

5) 本法の検出下限は 1.0 mg/kg である。なお、清涼飲料水、飴及び錠菓における添加回収率は 98.2 ~ 99.1% である。

6) 本法はL-アスコルビン酸 2-グルコシドのほかに、L-アスコルビン酸、ビタミンB₁、B₂、B₆、B₁₂、C、ニコチン酸アミド及びニコチン酸などの水溶性ビタミンについても同時分析が可能である。また、検出波長をUV195 nmとすることでパントテン酸Caの検出が可能である。

7) 水溶性ビタミン類とエリソルビン酸の液体クロマトグラムを注図に示す。



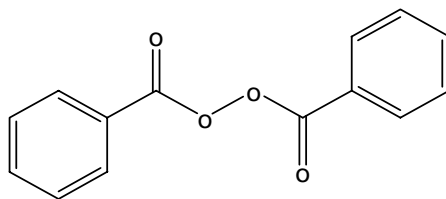
注図 水溶性ビタミン類とエリソルビン酸の液体クロマトグラム

：ビタミンB₁、 ：ビタミンB₆、 ：ニコチン酸アミド、 ：
L-アスコルビン酸 2-グルコシド、 ：L-アスコルビン酸、 ：
エリソルビン酸、 ：ビタミンB₁₂、 ：ビタミンB₂、 ：
ニコチン酸

【別添 2】

過酸化ベンゾイル

Benzoyl Peroxide



$C_{14}H_{10}O_4$: 242.23

1. 試験法の概要

小麦粉及び小麦粉製品中の過酸化ベンゾイルは、アセトニトリルで抽出後、逆相高速液体クロマトグラフィーで定量する¹⁾。

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²⁾

粉末試料はそのまま固形試料は粉碎後、試料約 10 g を精密に量り、アセトニトリルを正確に 50 ml 加え、マグネチックスターラーで 15 分間攪拌する。この液をメンブランフィルター(0.45 μ m)に通し、試料液とする。

(3) 検量線用標準液の調製

水添加過酸化ベンゾイル³⁾は、以下の方法に従って、あらかじめ滴定により含量を求めておく。その約 250 mg を精密に量り、共栓フラスコに入れ、アセトン 15 ml を加えて振り混ぜる。この液にヨウ化カリウム溶液(1→2)3 ml を加え、直ちに密栓し、1 分間振り混ぜる。遊離したヨウ素を 0.1 mol/l チオ硫酸ナトリウム溶液で滴定し、過酸化ベンゾイル含有比を計算する。別に空試験を行い補正する。

0.1 mol/l チオ硫酸ナトリウム溶液 1 ml = 12.112 mg $C_{14}H_{10}O_4$

標準液の調製：水添加過酸化ベンゾイル⁴⁾を過酸化ベンゾイルとして約 0.25 g を精密に量り、アセトニトリルを加えて溶かして正確に 50 ml とする。その 2 ml を正確に量り、アセトニトリルを加えて正確に 200 ml としたものを標準液とする(この液 1 ml は過酸化ベンゾイル約 50 μ g を含む)。標準液 1 ~ 50 ml を正確に量り、アセトニトリルを加えて正確に 100 ml とし、検量線用標準液とする(これらの液 1 ml は過酸化ベンゾイル約 0.5 ~ 25 μ g を含む)。

(4) 測定法

測定条件

紫外外部吸収検出器付高速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：内径 4.6 mm、長さ 250 mm

移動相：アセトニトリル・水混液（55:45）

流速：1.0 ml/分

カラム温度：40

測定波長：235 nm

検量線

検量線用標準液それぞれ 20 µl ずつを正確に量り、それぞれを高速液体クロマトグラフに注入し、ピーク面積から検量線を作成する。

定量

試料液 20 µl を正確に量り、高速液体クロマトグラフに注入し、得られたピーク面積と検量線から試料液中の過酸化ベンゾイル濃度 (µg/ml) を求め、次式によって試料中の過酸化ベンゾイル含量 (mg/kg) を計算する⁵⁾。

$$\text{過酸化ベンゾイル含量 (mg/kg)} = \frac{A \times 50}{W}$$

A: 試料液中の過酸化ベンゾイル濃度 (µg/ml)

W: 試料の採取量 (g)

試薬・試液

1. 水添加過酸化ベンゾイル：ALDRICH 社製 USP grade、シグマ アルドリッチジャパン社製 SAJ 一級を用いた。
2. アセトン：[試薬特級]
3. ヨウ化カリウム：[試薬特級]
4. 0.1 mol/l チオ硫酸ナトリウム溶液：[試薬]
5. アセトニトリル：[高速液体クロマトグラフ用]
6. 水：水道水を超純水製造装置で処理した水

[注]

- 1) 過酸化ベンゾイルは、小麦粉以外の食品には使用できないので、小麦粉及び小麦粉製品からの定量法を記載した。
- 2) 本法は小麦粉及び乾製品に使用できる。試料によってはホモジナイズし、ろ過又は遠心分離した後、そのろ液又は上澄みを 50 ml に定容し、メンブランフィルターに通したものを試料液とする。
- 3) 食品添加物として指定されている希釈過酸化ベンゾイルは、過酸化ベンゾイルに爆発の

危険性があるため、ミョウバン、リン酸カルシウム塩類、硫酸カルシウム、炭酸カルシウム及びデンプンのうちの一つ以上で 20%に希釈したものであるが、我が国で生産されていないため入手する事ができない。そこで、市販の試薬として入手可能な水添加過酸化ベンゾイルを標準として使用する。過酸化ベンゾイルは 60 以上、あるいは還元性物質の共存で爆発する危険性があるので、もとの容器内に保存し、状態が変化しないように取り扱うように注意する。

- 4) 水添加過酸化ベンゾイルは、25%程度の水を含んでいるため、調製した標準溶液の濃度をあらかじめ滴定により定める必要がある。
- 5) 本法の検出下限は 0.2 mg/kg である。なお、小麦粉及び乾製品における添加回収率は 97.1 ~ 99.4%である。