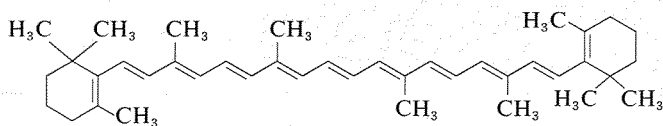


27 β -カロテン β -Carotene $C_{40}H_{56}$: 536.88

1. 試験法の概要

食品中の β -カロテンは、液体クロマトグラフィーにより定量する。食品中には天然の β -カロテンが広く分布している。また、この分析法では食品中の α -、 β -、 γ -及び δ -カロテンは分離できない。したがって、定量値は食品由来の α -、 β -、 γ -及び δ -カロテンと添加された β -カロテンの合計値である。

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 油脂食品

β -カロテンとして40~200 μ gに対応する、通常、10g以下の試料の量を精密に量り、50mlの褐色共栓遠心管に入れ、 n -ヘキサン液25mlを加えて激しく振り混ぜた後、遠心分離(10分間、3,000回転/分)し、 n -ヘキサン液層を分取する。残留物に n -ヘキサン液10mlを加えて同様に操作し、 n -ヘキサン液層を分取する。全 n -ヘキサン液層を合わせ、 n -ヘキサン液を加えて正確に40mlとする。この液をメンブランフィルター(孔径0.45 μ m)でろ過し、ろ液を試料液とする。

② 水分の多い食品

β -カロテンとして10~50 μ gに対応する、通常、10g以下の試料の量を精密に量り、50mlの褐色共栓遠心管に入れ、水10~15ml、エタノール液10ml及び n -ヘキサン液10mlを加え、激しく振り混ぜた後、遠心分離(10分間、3,000回転/分)し、 n -ヘキサン液層を分取し、濃縮

器に入れる。遠心管の残留物に n -ヘキサン液 10ml を加え、同様に操作し、 n -ヘキサン液層を分取し、濃縮器に合わせる。この液を減圧濃縮し、 n -ヘキサン液を加えて液量を正確に 10ml とする。この液をメンブランフィルター（孔径 $0.45\mu\text{m}$ ）でろ過し、ろ液を試料液とする。

③ 水分の少ない食品

β -カロテンとして $5\sim 25\mu\text{g}$ に対応する、通常、5g 以下の試料の量を精密に量り、50ml の褐色共栓遠心管に入れ、水 20ml¹⁾、エタノール液 10ml、 n -ヘキサン液 10ml 及び少量の塩化ナトリウム²⁾を加え、激しく振り混ぜた後、遠心分離（10 分間、3,000 回転/分）し、 n -ヘキサン液層を分取し、濃縮器に入れる。遠心管の残留物に n -ヘキサン液 10ml を加え、同様に操作し、 n -ヘキサン液層を分取し、濃縮器に合わせる。この液を減圧濃縮し、 n -ヘキサン液を加えて液量を正確に 5ml とする。この液をメンブランフィルター（孔径 $0.45\mu\text{m}$ ）でろ過し、ろ液を試料液とする。

(3) 検量線用標準液の調製

β -カロテン³⁾ 0.010g を正確に量り、100ml の褐色メスフラスコに入れ、少量のクロロホルムを加えて溶かした後、 n -ヘキサン液を加えて正確に 100ml とし、標準液とする（この液 1ml は、 β -カロテン $100\mu\text{g}$ を含む）。標準液 1, 2, 3, 4ml 及び 5ml をそれぞれ正確に量り、100 ml の褐色メスフラスコにそれぞれ入れ、 n -ヘキサン液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 β -カロテン 1, 2, 3, $4\mu\text{g}$ 及び $5\mu\text{g}$ を含む）。

(4) 測定法

① 測定条件

可視分光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。

充てん剤：ポーラスポリマー

カラム管：内径約 2.1mm、長さ約 500mm⁴⁾

カラム温度：40℃⁵⁾

移動相：メタノール・クロロホルム・ n -ヘキサン混液（10：7：3）、0.5ml/分

測定波長：453nm

② 検量線

検量線用標準液 $20\mu\text{l}$ ずつをそれぞれ正確に量り、液体クロマトグラフに注入し、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

試料液 $20\mu\text{l}$ 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

面積と検量線から試料液中の β -カロテン濃度 ($\mu\text{g/ml}$) を求め、次式によって検体中の β -カロテン含量 (g/kg) を計算する。

$$\beta\text{-カロテン含量 (g/kg)} = \frac{CV}{1,000 \times W}$$

C : 試料液中の β -カロテン濃度 ($\mu\text{g/ml}$)

V : 試料液の量 (ml)

W : 試料の採取量 (g)

試薬・試液等

1. エタノール : [95v/v %, 特級]
2. エタノール液⁶⁾ : エタノール 1,000ml に BHT 1g を加えて溶かす。
3. クロロホルム : [高速液体クロマトグラフ用]
4. ジブチルヒドロキシトルエン (BHT) : [特級]
5. *n*-ヘキサン : [高速液体クロマトグラフ用]
6. *n*-ヘキサン液⁶⁾ : *n*-ヘキサン 1,000ml に BHT 1g を加えて溶かす。
7. メタノール : [高速液体クロマトグラフ用]

[注]

- 1) 加水量が少ないと、エタノールが *n*-ヘキサン層へ移行するので注意する。
- 2) 塩化ナトリウムを添加すると、懸濁による *n*-ヘキサン層への β -カロテンの抽出率の低下を防ぐことができる。なお、この際エタノールが *n*-ヘキサン層へ移行するのを最小限にするため、塩化ナトリウムの添加量は試料量及び溶解に用いる水の量により加減する。
- 3) β -カロテンは、未開封のまま冷凍庫に保存しても劣化しやすいので、長期間置かないこと。
- 4) カラムは内径を細く、長さはやや長くした方が分離がよくなる。
- 5) カラム温度を上げた方が分離がよくなる。
- 6) 酸化防止剤 BHT を 0.1 % 濃度添加することにより、窒素ガス置換を行わなくても、 β -カロテンは 25°C で 3 日間、5°C で 1 週間は変化しない。