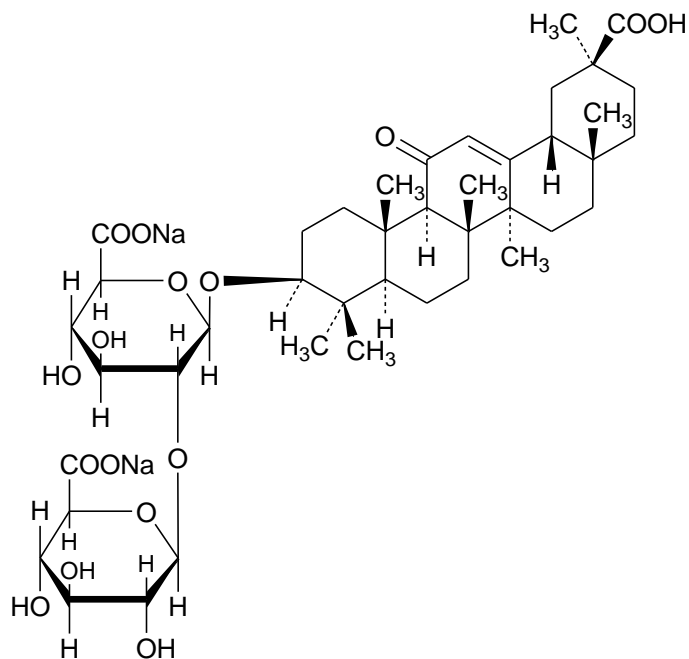


甘味料

## グリチルリチン酸二ナトリウム

Disodium Glycyrrhizinate



$C_{42}H_{60}Na_2O_{16}$  : 866.90

### 1. 分析法の概要

食品中のグリチルリチン酸二ナトリウムは、1%アンモニア水・メタノール試液で抽出後、順相固相抽出カラムでクリーンアップし、液体クロマトグラフィーによりグリチルリチン酸として定量する。本法の対象には、カンゾウ抽出物のグリチルリチン酸も含まれる<sup>1)</sup>。(2000年設定、2019年改正)

### 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

##### ① 液状食品

試料約10gを精密に量り、1%アンモニア水・メタノール試液を加えて正確に100mLとする。よく振とうした後、遠心(10分間、3000回転/分)する。上層20mLを正確に分取した後、順相固相抽出カラムに約2mL/分で負荷し、1%アンモニア水・メタノール試液

で洗浄後、固相抽出カラムに空気を通して残留するメタノールを除去する。溶出溶媒に水を使用し、溶出液を10mLに定容したものを試験溶液とする<sup>2)</sup>。

## ② 固形食品

試料約10gを精密に量り、1%アンモニア水を10mL加えて1分間ホモジナイズし、これに1%アンモニア水・メタノール試液40mLを加えて3分間ホモジナイズする<sup>3)</sup>。さらに、1%アンモニア水・メタノール試液を加えて正確に100mLとする。よく振とうした後、遠心(10分間、3000回転/分)する。上層20mLを正確に分取した後、以下①液状食品と同様に固相抽出カラムで処理し、試験溶液とする。

## (3) 検量線用標準溶液の調製<sup>4)</sup>

グリチルリチン酸0.100gを量り、50%メタノールに溶解して正確に100mLとする。その10mLを正確にとり、水を加えて正確に100mLとし、標準溶液とする(濃度100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ )。標準溶液0.5、1、5及び10mLを正確にとり、水を加えてそれぞれ正確に100mLとし、検量線用標準溶液とする(濃度0.5~10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ )。

## (4) 測定法

### ① 測定条件<sup>5)</sup>

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

カラム管：内径4.6mm、長さ150~250mm

カラム温度：40 $^{\circ}\text{C}$

移動相：アセトニトリル/メタノール/2%酢酸混液(12:5:15)

流速：1.0mL/分

測定波長：254nm

注入量：10 $\mu\text{L}$

### ② 検量線<sup>6)</sup>

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、ピーク面積から検量線を作成する。

### ③ 定量<sup>7,8)</sup>

試験溶液を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によって試験溶液中のグリチルリチン酸濃度( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )を求め、次式によって試料中のグリチルリチン酸含量( $\text{g}/\text{kg}$ )を計算する。

$$\text{グリチルリチン酸含量 (g/kg)} = \frac{C \times V \times 5}{W \times 1000}$$

C：試験溶液中のグリチルリチン酸濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

V：試験溶液の容量 (mL)

W：試料の採取量（g）

④ 定量限界 0.0025g/kg

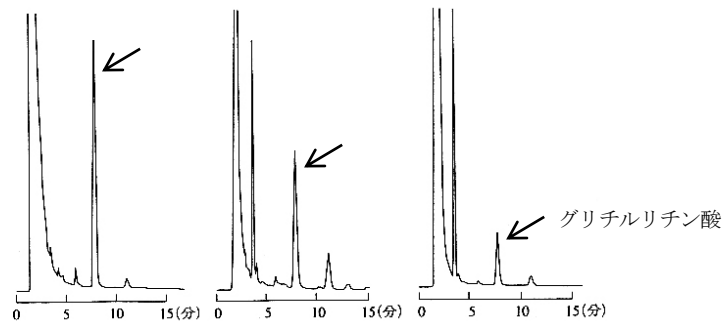
#### 試薬・試液

1. グリチルリチン酸：市販品を用いる。
2. アンモニア水：含量 28% [特級]
3. メタノール：[特級] 及び [高速液体クロマトグラフィー用]
4. 1%アンモニア水・メタノール試液：アンモニア水 10mL にメタノール 270mL を加える。
5. 1%アンモニア水：アンモニア水 10mL に水 270mL を加える。
6. 順相固相抽出カラム：アルミナ固相抽出カラム。使用前にメタノール 10mL でコンディショニングする。
7. アセトニトリル：[高速液体クロマトグラフィー用]
8. 酢酸：[特級]

#### [注]

- 1) グリチルリチン酸を特定する必要がある場合には、参考に示す分析法を用いることができる。
- 2) 本法は塩化ナトリウムや保存料、サッカリンナトリウム等の妨害はない。
- 3) ソースやみそ等の半固形及び固形食品は、1%アンモニア水でホモジナイズした後、1%アンモニア水・メタノール試液で抽出することにより回収率が向上する。
- 4) 検量線用標準溶液の数は、直線性が確認できれば、適宜、調整してもよい。
- 5) 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。分析の際は、グリチルリチン酸のピークが妨害ピークの影響を受けないことを確認する。
- 6) 必要に応じて、標準溶液の調製に用いた溶媒を分析し、溶媒由来の夾雑物のないことを確認する。
- 7) グリチルリチン酸の液体クロマトグラムを注図 1 に示す。

(a) しょう油抽出物 (b) 福神漬抽出物 (c) グリチルリチン酸



〈測定条件〉

カラム：ODSカラム（内径4.6mm、長さ150mm）

測定波長：254nm

注図1 グリチルリチン酸の液体クロマトグラム

8) 本法の添加回収率は90%以上（魚肉ねり製品は87%）である。

## 参考

### グリチルリチン酸二ナトリウム確認分析法

#### 1. 分析法の概要

食品中のグリチルリチン酸二ナトリウムは、液体クロマトグラフィー質量分析又は液体クロマトグラフィータンデム質量分析によりグリチルリチン酸として確認を行う。(2019年設定、2021年改正)

#### 2. 分析法(液体クロマトグラフィー質量分析又は液体クロマトグラフィータンデム質量分析)

##### (1) 検体の採取と試料の調製

##### (2) 試験溶液の調製

##### (3) 標準溶液の調製<sup>1)</sup>

上記(1)～(3)については、グリチルリチン酸二ナトリウム分析法を準用する。

##### (4) 測定法

###### ① 測定条件<sup>2,3)</sup>

液体クロマトグラフ質量分析計(LC-MS)又は液体クロマトグラフタンデム質量分析計(LC-MS/MS)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

カラム管：内径2.0mm、長さ150mm

カラム温度：40℃

移動相：A液 0.2vol%ギ酸

B液 0.2vol%ギ酸含有アセトニトリル

リニアグラジエントの条件<sup>4)</sup>

分	A (%)	B (%)
0	95	5
15	20	80
16	20	80
16.1	95	5
26	95	5

流速：0.2mL/分

イオン化モード：ESI (-)

検出法：①LC-MS-選択イオン検出(SIM)、②LC-MS/MS-選択反応検出(SRM)

主なイオン：①LC-MS- $m/z$ 821、②LC-MS/MS-プリカーサーイオン  $m/z$  821、プロダクトイオン  $m/z$  351, 113

注入量：10 $\mu$ L

② 定性<sup>5)</sup>

試験溶液及び標準溶液をLC-MS又はLC-MS/MSに注入し、試験溶液のクロマトグラム上に検出されたピークの保持時間が標準溶液のピークと一致することを確認する。

試薬・試液

1. ギ酸：[98% 特級]
2. 0.2vol%ギ酸：ギ酸2mLに水を加えて1000mLとする。
3. アセトニトリル：[高速液体クロマトグラフィー用]
4. 0.2vol%ギ酸含有アセトニトリル：ギ酸2mLにアセトニトリルを加えて1000mLとする。

[注]

- 1) 質量分析計の感度に応じて適宜希釈すること。
- 2) 測定条件<sup>文献1)</sup>は例示である。他のカラム、条件を用いる場合は、グリチルリチン酸のピークが妨害ピークの影響を受けないことを確認する。
- 3) その他の測定条件は各測定機器に従い、標準溶液の強度が最大になるように、あらかじめ最適化を行う。
- 4) 濃度勾配の条件は、使用する分析カラムにより適宜変更する。
- 5) LC-MSを用いて定性確認を行う場合、食品中の夾雑物によるマトリックス効果により確認を見誤るおそれがあるため、別途、対象試料の試験溶液に標準溶液を添加し、ピークが検出されることを確認する。

[文献]

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：平成17年1月24日食安発第0124001号