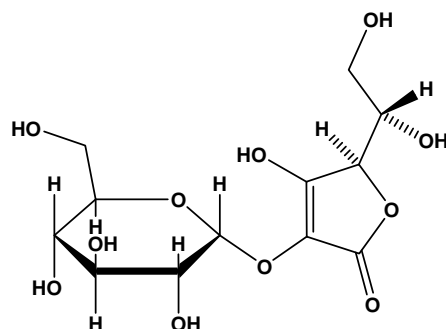


## 【別添 1】

### 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<sup>1)</sup>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  $\mu$ 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  $\mu$ 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<sup>1)</sup>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  $\mu$ 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  $\mu$ 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<sup>2)</sup>。

カラム充てん剤<sup>3)</sup>：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<sup>4)</sup>。

#### 定量<sup>5-7)</sup>

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]

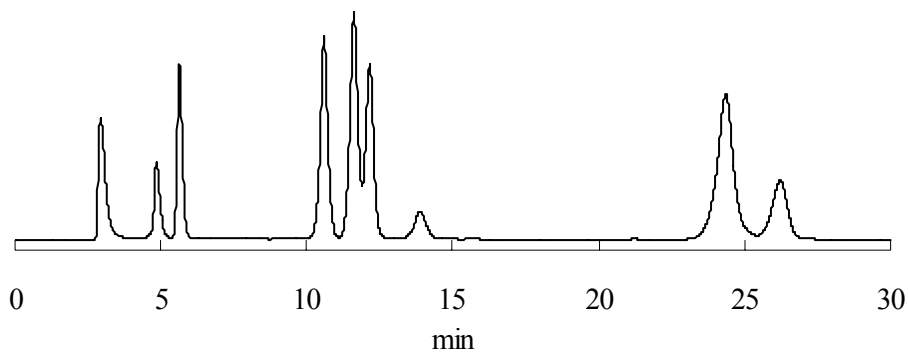
- 1) L-アスコルビン酸 2-グルコシドは、水、5%メタリン酸溶液に比べ、移動相に溶かしたときに最も安定である。
- 2) 本法のほかに、次の条件でも測定できる。カラム充てん剤：アミノプロピル基を化学結合したシリカゲル、カラム管：内径 4.6 mm 長さ 250 mm、移動相：アセトニトリル/リン酸二水素カリウム・0.5vol%リン酸溶液(5.44 1000)の混液(60:40)、流速：0.7 ml/分、そのほかの条件は本法と同じ。この条件で測定したときの検出下限は 2.5mg/kg である。
- 3) 液体クロマトグラフィーのカラムとしては、TSKgel ODS-80Ts QA などが使用出来る。
- 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B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、B<sub>6</sub>、B<sub>12</sub>、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B<sub>1</sub>、      ：ビタミンB<sub>6</sub>、      ：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B<sub>12</sub>、      ：ビタミンB<sub>2</sub>、      ：  
ニコチン酸