

日本食品標準成分表2015年版（七訂）分析マニュアル 補遺

ページ・項目	内容
<p>p. 174</p> <p>第6章 炭水化物及び有機酸</p> <p>40 でん粉, 単糖, 二糖</p> <p>40-1. 高速液体クロマトグラフ法 (単糖, 二糖)</p>	<p>【別紙1】に変更 (タイトルを「40-1. 高速液体クロマトグラフ法 (単糖, 二糖, 糖アルコール)」に変更する等)</p>
<p>p. 189</p> <p>第7章 その他の備考欄収載成分</p> <p>43 アルコール</p> <p>43-2. ガスクロマトグラフ法</p>	<p>タイトルを「43-2. ガスクロマトグラフ法 (1)」に変更し、「43-3. ガスクロマトグラフ法 (2)」として【別紙2】を追加</p>
<p>p. 190</p> <p>第7章 その他の備考欄収載成分</p> <p>43 アルコール</p> <p>43-3. 振動式密度計法</p>	<p>タイトルを「43-4. 振動式密度計法」に変更</p>
<p>p. 204</p> <p>第7章 その他の備考欄収載成分</p> <p>48 ポリフェノール</p> <p>48-1. フォーリン・チオカルト法</p>	<p>タイトルを「48-1. フォーリン・チオカルト法 (1)」に変更し、「48-2. フォーリン・チオカルト法 (2)」として【別紙3】を追加</p>

40-1 高速液体クロマトグラフ法（単糖，二糖，糖アルコール）

適用

食品全般に用いる。

測定方法

(1) 装置及び器具

高速液体クロマトグラフ：示差屈折率検出器付き(注1)

カラム：アミノプロピル基を結合させたシリカゲルを充填したカラム（単糖，二糖），配位子交換カラム（糖アルコール）

超音波洗浄器

ロータリーエバポレーター

遠心分離機

全量フラスコ

遠心管

(2) 試薬

標準品：水分を測定し(注2)，無水物に換算する（例：D(+)-グルコース試薬特級）。

アセトニトリル：高速液体クロマトグラフ用又は残留農薬・PCB試験用

石油エーテル：特級

50 % (v/v) エタノール：99.5 % (v/v) エタノール(特級)－水(1 : 1)

10 % (w/v) 水酸化ナトリウム溶液：水酸化ナトリウム(特級)10 gを水で100 mLにしたもの

標準溶液の調製：標準品約100 mgを採取し，水で25 mLに定容する。この液を2，5及び10 mL採取して，水で20 mLに定容する(注3)。

(3) 操作

1) 基本操作

容量50 mLビーカーに試料(0.5～5 g)を正確にはかりとり(W)，水約30 mLを加え，液性が酸性の場合には10 % (w/v) 水酸化ナトリウム溶液で中和する(注4)。30分間超音波抽出した後，全量を容量50 mL(V)全量フラスコに移して水で定容する。不溶物がある場合はろ紙でろ過し，ろ液をメンブランフィルター(0.45 μm)でろ過して試料溶液とする(注5)。

2) たんぱく質又は多糖類を多く含む試料の場合

水の代わりに50 % (v/v) エタノールを用いて1)と同様の操作を行う。ただし，試料溶液はロータリーエバポレーターで減圧乾固した後，水に再溶解したものとする(注6)。

3) 脂質を多く含む試料の場合

容量50 mL遠心管に試料(0.5～5 g)を精密にはかりとる(W)。これに石油エーテル40 mLを加えて，ときどき攪拌しながら15分間放置した後，遠心分離(2000回転/分，10分間)して上澄み液を傾斜法により除去する。この脱脂操作を繰り返した後，40 °Cの水浴中で残存する石油エーテル分を完全に蒸散させる。得られた残留物について，1)又は2)と同様の操作を行う。

4) 高速液体クロマトグラフィー

[操作条件例]

単糖，二糖

カラム：シリカ系アミノカラム(例えば，Inertsil NH₂，内径3.0 mm，長さ150 mm)(注7)

移動相：アセトニトリル－水(8 : 2)(注8)

検出器：示差屈折率検出器

流速：0.7 mL/分

温度：室温

注入量：20 μ L

糖アルコール

カラム：配位子交換カラム（例えば、Shodex SUGAR SP0810, 内径8 mm, 長さ300 mm）

移動相：水

検出器：示差屈折率検出器

流速：0.6 mL/分

温度：80 $^{\circ}$ C

注入量：5 μ L

(4) 測定

試料溶液を上記条件の高速液体クロマトグラフに注入し、各糖若しくは各糖アルコールのピーク高さ又は面積を測定する。同様に標準溶液を注入し、検量線を作成する。

(5) 計算

$$\text{糖若しくは糖アルコール含量(g/100 g)} = \frac{C \times V \times D \times 100}{W \times 1000}$$

C ：検量線より求めた各糖類の濃度(mg/mL)

V ：定容量(mL)

W ：試料採取量(g)

D ：希釈倍数

注 解

(注1) 単糖、二糖の検出には、示差屈折率検出器のほかに蛍光検出器(蛍光誘導体化が必要)又はパルス電気化学検出器なども利用できる。

(注2) カールフィッシャー法により測定する。標準品が少量の場合は、減圧加熱乾燥法(例えば60 $^{\circ}$ C, 5時間)で乾燥したものをを用いる。

(注3) 標準溶液の濃度は、使用する検出器の感度を考慮して設定する。

(注4) 酸性のまま抽出すると糖が一部分解してしまうおそれがあるため、あらかじめ pH5 ~ 7 に調整する。また、水酸化ナトリウムの濃度は適宜変更する。

(注5) 検量線の範囲内となるように、水で希釈、あるいはロータリーエバポレーターを用いて濃縮する。

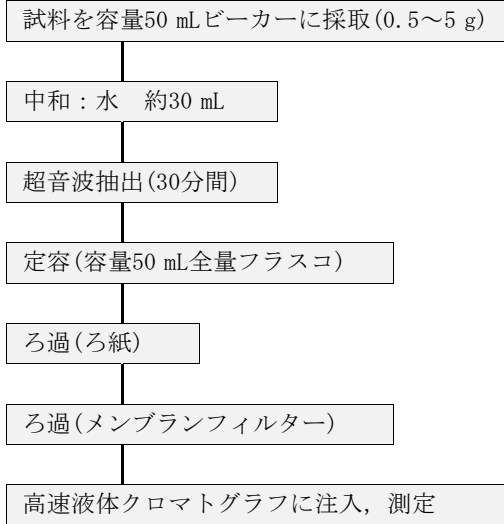
(注6) 溶媒の種類はクロマトグラムのピーク高さに影響するので、試料溶液と標準溶液の溶媒を統一する。

(注7) 例えば、Shodex Asahipak NH2P-50 4E, 内径4.6 mm, 長さ250 mm等のポリマー系アミノカラムも使用可能。

(注8) シリカ系アミノカラムは徐々に溶出時間が短くなるので、溶出時間をほぼ一定に保つように混合比率を調整する。

単糖，二糖，糖アルコール定量法・フローチャート

【抽出溶媒が水の例】



43-3. ガスクロマトグラフ法（2）

適 用

しょうゆに用いる。

測定方法

(1) 装置及び器具

水素炎イオン化検出器付きガスクロマトグラフ(GC/FID)

全量フラスコ：容量20 mL, 100 mL

全量ピペット

(2) 試 薬

エタノール標準溶液：エタノール(99.5)0.2 gを容量20 mL全量フラスコに正確にはかりとり、水で定容する（標準原液：10 000 µg/mL）。これを水で希釈して、10～200 µg/mLの標準溶液を調製する。

(3) 操 作

1) 抽 出

試料約1 g (*W*) (注1)を容量100 mL (*V*)全量フラスコにはかりとり、水で定容する。標準溶液の濃度範囲に収まるように水で適宜希釈 (*D*) した後、孔径0.45 µmメンブレンフィルター(セルロース)にてろ過した液を試料溶液とする。

2) 測 定(注2)

標準溶液2 µLをガスクロマトグラフに注入し、標準溶液の濃度とピーク面積から検量線を作成する。同様に試料溶液について測定を行い、ピーク面積と検量線から試料溶液中のエタノール濃度 (*A* µg/mL) を求める。

<操作条件>

カラム：Gaskuropack55, 80～100 mesh, φ3.2 mm×3.1 m

温度：注入口及び検出器；250 °C

カラム；130 °C(14 min保持)→40 °C/min→200 °C(3 min保持)

ガス流量又は圧力：窒素又はヘリウム(キャリアーガス) 25.0 mL/min

水素 60 kPa, 空気 50 kPa

(4) 計 算

$$\text{エタノール含量(g/100 g)} = \frac{A \times V}{W} \times D \times \frac{1}{10000}$$

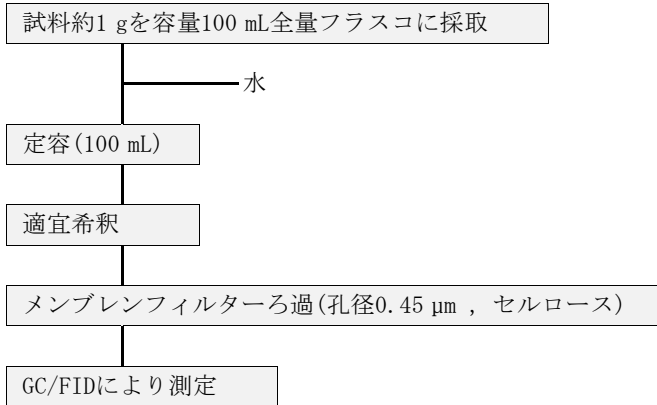
注 解

(注1) 試料採取量は適宜変更してよい。また、試料採取時は揮発を防ぐため少量の敷き水をするとうよい。

(注2) 測定を妨害する成分が含まれる場合は温度条件及び注入量を適宜変更し、最適な分離及び感度が得られるようにする。

ガスクロマトグラフ法（2） フローチャート

【抽出】



48-2. フォーリン・チオカルト法（2）

適用

種実類，野菜類及び果実類に用いる。

測定方法

(1) 装置及び器具

分光光度計

遠心分離機

超音波洗浄機

ホモジナイザー

試験管

全量フラスコ：容量100 mL，250 mL

共栓遠心管：容量250 mL

(2) 試薬

没食子酸標準溶液：あらかじめ100℃で1時間乾燥した没食子酸水和物100 mgを容量100 mL全量フラスコに正確にはかりとり，50 %エタノールで定容する（標準原液：1000 µg/mL）。これを50 %エタノールで希釈して，1～50 µg/mLの標準溶液を調製する。

フォーリン・チオカルト，フェノール試薬：2 mol/Lを水で10倍希釈（容量）する。

0.7 mol/L炭酸ナトリウム溶液：炭酸ナトリウム（特級）7.4 gを水に溶解し，100 mLに定容する。

(3) 操作

1) 抽出

試料約4 g（W）（注1）を250 mL遠心管にはかりとり，50 %エタノール約80 mLを加え1分間ホモジナイズする。遠心分離（2500回転/分，5分間）後，上澄み液を容量250 mL全量フラスコに移す。遠心管の残留物に50 %エタノール50 mLを加え，5分間超音波抽出する。遠心分離（2500回転/分，5分間）後，上澄み液を250 mL全量フラスコに移す。同様の操作を更に2回繰り返す。上澄み液を先の250（V）mL全量フラスコに移して50 %エタノールで定容する（注2）。適量を分取し，ろ紙にてろ過した液（注3）を試料溶液とする。試料溶液は，標準溶液の濃度範囲に収まるように50 %エタノールで適宜希釈（D）する。

2) 測定

試験管に試料溶液1 mLを正確にはかりとる。次にフォーリン・チオカルト，フェノール試薬を5 mL及び0.7 mol/L炭酸ナトリウム溶液を4 mL加え，混合する。混合後1時間静置し（注4），分光光度計で765 nmの吸光度を測定する。あらかじめ，検量線作成用没食子酸標準溶液から1 mLを正確にはかりとり，上記と同様に測定する。

試料溶液自体の着色などの影響を排除するために，フェノール試薬5 mLに変えて水5 mLを加え，それ以外は試料溶液と同様にサンプルブランクを実施する。試料溶液の吸光度から，サンプルブランクの吸光度を減じ（注5），作成した検量線から試料溶液中のポリフェノール濃度（A µg/mL）を求める。

(4) 計算（注6）

$$\text{ポリフェノール含量(g/100 g)} = \frac{A \times V}{W} \times D \times \frac{100}{1\,000\,000}$$

注 解

（注1）試料採取量は適宜変更してよい。なお，野菜類，果実類の生鮮試料は，ポリフェノールの減衰を防ぐために，試験部位を粗切りにした後，試料と同重量の20 %メタリン酸溶液（液状試料は5 %メタリン

酸)を加え、粉碎するとよい。

(注2) 試料により、工程を適宜省略・変更してよい。例えば、果実飲料などは、ホモジナイズ、遠心分離及び超音波抽出工程を省略できる。均質な粉体試料は、ホモジナイズ及び遠心分離工程に代えて、30分間の超音波抽出に変更できる。脂質が多い試料は、ホモジナイズ及び遠心分離工程に代えて、n-ヘキサンによる脱脂及び30分間の超音波（振とう）抽出に変更できる。

(注3) 浮遊物等を除くことができない場合は、ろ過前に遠心分離を行うとよい。

(注4) 溶液に濁りがある場合は、吸光度の測定前に遠心分離を行うとよい。

(注5) サンプルブランクの吸光度がマイナスの場合、減じない。

(注6) 原理上、本試験法はポリフェノール以外の還元性物質が多く含まれると結果に影響を及ぼす可能性がある。特にアスコルビン酸(ビタミンC)は植物等に広く含まれており、ポリフェノール類と同程度の発色強度を有することから、結果に影響を及ぼしやすい。したがって、別途求めたアスコルビン酸の量を、フォーリン・チオカルト法における値に換算し減算する。つまり、アスコルビン酸を50 %エタノールに溶解した液について、フォーリン・チオカルト法で発色・測定し、以下の式で計算するとよい。

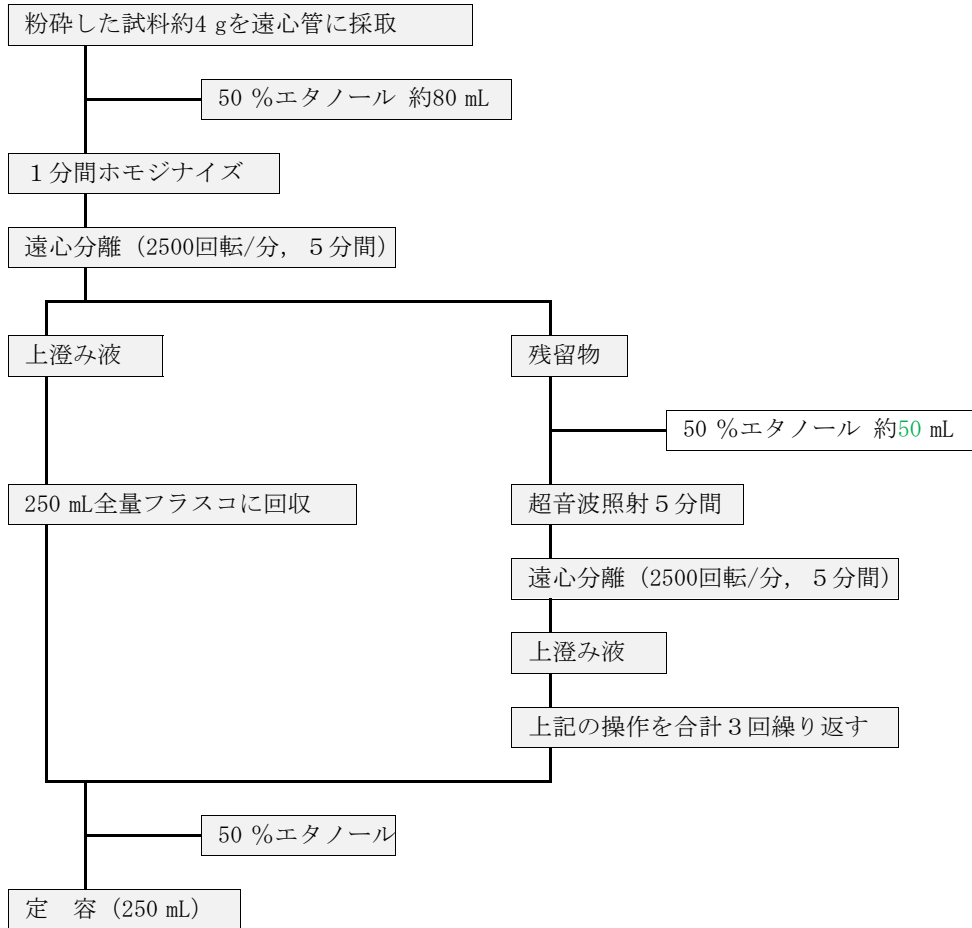
計算式

$$\text{ポリフェノール含量(g/100 g)} = \text{ポリフェノール測定値(g/100 g)} - \text{アスコルビン酸量(g/100 g)} \\ \times \text{没食子酸の検量線で測定したアスコルビン酸の値}^{*1}(\text{g/100 g})/100$$

*1 アスコルビン酸の標準溶液をフォーリン・チオカルト、フェノール試薬で発色後、没食子酸の検量線で測定した値。

フォーリン・チオカルト法（2）フローチャート

【抽出】



【測定】

