

にんじんジュース及びにんじんミックスジュースの総カロテン量 測定方法（吸光光度法）手順書

1. 適用範囲

この手順書は、日本農林規格に定めるにんじんジュース、にんじんミックスジュース及びそれらの周辺食品に適用する。

2. 測定方法の概要

試料に *n*-ヘキサンを加え、振とうし、カロテンをヘキサン層に移行させる。溶剤を留去した後、*n*-ヘキサンで定容し、定容した液について、分光光度計で吸光度を測定し、*n*-ヘキサンを溶剤としたときのβ-カロテンの453 nmにおける吸光係数（ $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 2,592$ ）を用いて総カロテン量を算出する。

3. 注意事項

- (a) 試験実施にあたっては、保護メガネや使用する試薬に耐性のある手袋を使用する等、安全に注意すること。
- (b) *n*-ヘキサンを使用する際には、ドラフト等排気設備のある場所で操作すること。
- (c) *n*-ヘキサンは流しに捨てず、別の容器に回収し適切に処理すること。
- (d) カロテンは光により酸化分解し易いため、操作中に強い光や直射日光があたらないようにすること。

4. 器具及び装置

試験に用いる器具及び機器は、次のとおりとする。

- (a) 電子天びん：0.1 mg の桁まで量ることができるもの。
- (b) 共栓遠心沈殿管⁽¹⁾：容量 50 mL 以上で、使用する遠心分離器のローターに適合したもの。スクリーキャップのものでもよい。
- (c) 振とう機：共栓遠心沈殿管の内部の溶液がフタと底に激しくぶつかる状態の振とうが3分間以上可能なもの⁽²⁾。
- (d) 遠心分離機：50 mL 以上の容量の共栓遠心沈殿管を入れて使用でき、その際の遠心力を $1000 \times g$ （最大半径 16 cm 程度のローターを使用した際の回転数が 2300 rpm）に設定できるもの。
- (e) 全量フラスコ⁽¹⁾：呼び容量 20 mL。JIS R 3505 に規定するクラス A 又はそれ以上のグレードのもの。
- (f) 溶媒濃縮装置：40 °C 以下で加熱して、減圧又は窒素吹き付けにより *n*-ヘキサンを留去することが可能なもの。ロータリーエバポレーター、多検体有機溶媒濃縮装置。
- (g) 溶媒濃縮装置用容器⁽¹⁾：容量 50 ~ 200 mL。ナス型フラスコなど。
- (h) 分光光度計：JIS K 0115 に規定するもの又はこれと同等以上のもの。波長 453 nm

に設定可能なもの。

(i) 分光光度計測定用セル：光路長 10 mm のもので、測光面に汚れがないもの。ガラス製又は石英ガラス製など波長 453 nm に適合し、ヘキサンによる変質がないもの。

(1) 褐色のものが望ましい。

(2) 垂直振とうの場合、振幅幅3~4 cm、280回/分以上の振とう数がこの状態となる。

5. 水及び試薬

試験に用いる水及び試薬は、次のとおりとする。

(a) 水：イオン交換法によって精製した水又は逆浸透膜法、蒸留法、イオン交換法などを組み合わせた方法によって精製したもので、JIS K 8008 に規定する A2 以上の品質を有するもの。

(b) *n*-ヘキサン：JIS K 8848 に規定するもの又はこれと同等以上のもの。

(c) 塩化ナトリウム：JIS K 8150 に規定するもの又はこれと同等以上のもの。

(d) エタノール(99.5)：JIS K 8101 に規定するもの又はこれと同等以上のもの。

(e) BHT：ジブチルヒドロキシトルエン (2,6-ジ-*t*-ブチル-4-メチルフェノール)

(f) 硫酸ナトリウム：JIS K 8987 に規定するもの又はこれと同等以上のもの⁽³⁾。

(3) 粒径が大きいものが扱いやすい。

6. 試薬の調製

試薬の調製は、次のとおり行う。試薬作製量は必要に応じて変更してよい。また、同一組成の市販品を使用してもよい。

(a) 5 %塩化ナトリウム溶液

塩化ナトリウム 5 g を量りとり、メスシリンダーで水 100 ml を加えて溶解する。

(b) 0.1 %BHTエタノール溶液

BHT 1 g を量りとり、メスシリンダーでエタノール 1000 mL を加えて溶解する。

7. 測定手順

カロテンは、光や空気に不安定であるため、操作は、数日に分けることなく、当日中に測定を終了させること。

7.1. 試料溶液の調製

(a) にんじんジュースの場合は試料 0.5 g、にんじんミックスジュースの場合は試料 1 g を共栓遠心沈殿管 (50 mL) に 0.1 mg の桁まで量り取る。

(b) (a)に 5 %塩化ナトリウム溶液 10 mL を加えた後、0.1 %BHTエタノール溶液 10

mL、*n*-ヘキサン 10 mL の順に加えて、振とう機を用いて振とう数 280 回/分以上で 3 分間振とう⁽⁴⁾した後、遠心分離機を用いて遠心力 1000 × *g* で 10 分間遠心分離し、*n*-ヘキサン層を溶媒濃縮装置用容器に移す⁽⁵⁾。

(c) 遠心沈殿管の残留物に再び *n*-ヘキサン 10 mL を加えて、3 分間激しく振とうした後、遠心分離機を用いて遠心力 1000 × *g* で 10 分間遠心分離し、*n*-ヘキサン層を(b)の溶媒濃縮装置用容器に移す。

(d) (c)の操作をさらに 2 回繰り返す。

(e) *n*-ヘキサンで抽出する操作が終了したら、全 *n*-ヘキサン液を溶媒濃縮装置を用いて 40 °C (目安) で留去する⁽⁶⁾。残留物を直ちに *n*-ヘキサン 3 mL 程度に溶解して⁽⁷⁾全量フラスコ (20 mL) に移し、さらに *n*-ヘキサンを用いて溶媒濃縮装置用容器を数回洗いながら定容する。

(4) 軽く振とうして蓋を開け、内圧を除く操作を数回繰り返してから、振とう機を用いないと、内圧のために液漏れを起こす場合がある。

(5) 下層 (水及びエタノール層) を取らないように注意すること。下層を溶媒濃縮装置用容器に移してしまうと、水が留去出来ないため、最後に脱水操作を行う必要が生じる。

(6) 溶媒濃縮装置で完全にヘキサンを留去できない場合は、窒素を吹き付けて、ヘキサンを完全に留去する。水温が45°Cまでは測定に影響がないことを確認しているが、温度設定の誤差を考慮し、留去時の水浴の機器の温度設定は40°C以下にする。

(7) 水が入っている場合は、硫酸ナトリウムを1 g程度加えて脱水操作を行う。*n*-ヘキサンを全量フラスコに移す際は、硫酸ナトリウムを取り込まないように注意して操作する。

7.2. 測定

(a) 取扱説明書に従い、分光光度計を調整する。

(b) *n*-ヘキサンを対照として試験溶液の 453 nm における吸光度の値を求める。

8. 計算

β -カロテンのヘキサン中での吸光係数 ($E_{1\%}^{1\text{cm}} = 2,592$) により、次式により試料 100 g 中の総カロテン量を算出する。

$$\text{総カロテン量 (mg/100g)} = A \times \frac{1,000}{2,592} \times \frac{20}{W}$$

A : 試験溶液の 453 nm における吸光度

W : 試料採取量 (g)

9. JIS引用規格

JIS K 0115 : 2004 吸光光度分析通則

JIS K 8101 : 2006 エタノール(99.5) (試薬)
JIS K 8150 : 2006 塩化ナトリウム (試薬)
JIS K 8848 : 1992 ヘキサン (試薬)
JIS K 8987 : 2006 硫酸ナトリウム (試薬)
JIS R 3505 : 1994 ガラス製体積計

試験用試料の調製

製品をよく振り混ぜて均質化し試料とする。

共同試験結果

にんじんジュース及びにんじんミックスジュースの総カロテン量 (吸光度法)

- (1) 参加試験室数 : 13
- (2) マテリアル数 : 5
- (3) 濃度 : 1.72 mg/100g~7.68 mg/100g
- (4) 併行標準偏差 (S_r) : 0.014 mg/100g~0.30 mg/100g
- (5) 室間再現標準偏差 (S_R) : 0.036 mg/100g~0.35 mg/100g
- (6) 併行相対標準偏差 (RSD_r) : 0.83 %~7.3 %
- (7) 室間再現相対標準偏差 (RSD_R) : 2.1 %~9.0 %

履歴

年月日	改訂内容等
2019/2/26	<i>n</i> -ヘキサン層を留去する時の水浴の温度について検討し、その内容を反映させた改正が平成 29 年 10 月 20 日に行われた。