

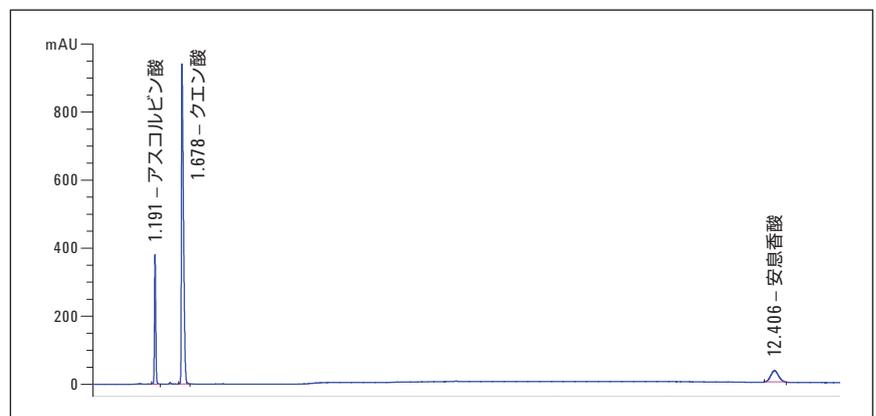
## Agilent アプリケーションソリューション オレンジジュース中アスコルビン酸、 クエン酸、安息香酸の分析

### アプリケーションノート

#### 著者

Syed Salman Lateef  
Agilent Technologies, Inc.  
Bangalore, India

#### 食品



#### 概要

食品の酸化や劣化を防ぎ、おいしい状態を長く保たせるために、酸化防止剤や保存料などの食品添加物がしばしば使用されます。このアプリケーションノートでは、オレンジジュース中の酸化防止剤 (ビタミン C) と保存料 (クエン酸、安息香酸) を精度よく定量する方法を紹介します。この分析では、Agilent Poroshell EC-C18 カラムと、Agilent 1260 Infinity LC システムでメソッド開発をしました。今回の検討では、検量線の直線性、メソッドの堅牢性、ピーク面積およびリテンションタイムの精度を評価しました。また、安息香酸の検出下限 (LOD) は 0.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  でした。回収率に関しては、3 つの化合物すべてにおいて 90 % を超える回収率が得られました。この分析法は、Agilent 1290 Infinity LC システムを用いた超高速液体クロマトグラフィー (UHPLC) にも容易に変換でき、さらなる分析時間の短縮も可能になります。UHPLC では、安息香酸の LOD を維持したまま、分析時間を 5 分の 1 に短縮することができます。どちらメソッドでも、食品中における食品添加物の品質管理分析に適用でき、良好な分析結果と信頼性を短時間で得ることが可能です。



**Agilent Technologies**

## はじめに

アスコルビン酸などの酸化防止剤は、周囲の酸素を減少させることで酸化を防止します。アスコルビン酸は他の物質よりも先にデヒドロアスコルビン酸 (DHA) の状態に酸化されることにより、他の化合物の酸化を阻害します。クエン酸や安息香酸などの保存料は、食品中の微生物が増殖することを防ぎます。一部の果実には、アスコルビン酸、クエン酸、安息香酸が天然の状態に含まれますが<sup>1</sup>、酸化や劣化を防ぐ目的でフルーツジュースにも一般的に添加されています。フルーツジュース中の安息香酸の規制上限値は 400~600 µg/mL ですが、ある条件下で安息香酸とアスコルビン酸が反応することにより、発癌性のあるベンゼンが遊離することに対して、懸念が生じています<sup>2,3</sup>。

アスコルビン酸の量は、時間や温度など<sup>4</sup>により減少し、DHA に変化することが報告されています。AOAC 公式メソッド 967.22 では、まずアスコルビン酸を DHA に酸化させたのちに、誘導体化と蛍光検出によるビタミン C 成分の分析手法が記載されています。

UV検出については、DHA は 220 nm を超える波長をほとんど吸収しない一方で、アスコルビン酸は緩衝液の pH に応じて、244~265 nm を吸収します<sup>5</sup>。AOAC 公式メソッド 994.11 では、UV 検出によるオレンジジュース中の安息香酸分析法が示されています。

このアプリケーションノートでは、簡単な抽出手法と UV による検出によるアスコルビン酸、クエン酸、安息香酸を同時に定量する分析法を紹介します。

## 試薬と材料

すべての試薬と溶媒は、HPLC グレードのものを使用しました。超純水は Milli Q 水精製システム (Millipore Elix 10 モデル、米国) により作成し、アセトニトリル「スーパーグラジエント」は Lab-Scan (タイ) から購入しました。リン酸二水素カリウムは Fluka (ドイツ) から入手し、*o*-リン酸は Fluka (スイス) から購入しました。アスコルビン酸、クエン酸、安息香酸の標準物質は、Sigma-Aldrich (インド) から購入しました。ジュースは、インドで製造された国際的なブランドのオレンジジュースを購入しました。

## 実験手法

### 機器とソフトウェア

以下のモジュールで構成される Agilent 1260 Infinity バイナリ LC システムを使用しました。

- Agilent 1260 Infinity バイナリポンプ (G1312B)
- Agilent 1260 Infinity オートサンプラおよびサーモスタット (G1367E、G1330B)
- Agilent 1260 Infinity カラムコンパートメント (G1316A)
- Agilent 1260 Infinity ダイオードアレイ検出器 (G4212B)、10-mm Max-Light フローセル搭載

UHPLC による分析法の開発と試験には、以下のモジュールで構成される Agilent 1290 Infinity LC システムを使用しました。

- Agilent 1290 Infinity バイナリポンプ (G4220A)
- Agilent 1290 Infinity オートサンプラおよびサーモスタット (G4226A、G1330B)
- Agilent 1290 Infinity カラムコンパートメント (G1316C)
- Agilent 1290 Infinity ダイオードアレイ検出器 (G4212A)、10-mm Max-Light フローセル

カラム：

- Agilent Poroshell 120 EC-C18、4.6 x 100 mm、2.7µm (部品番号 697975-302)

ソフトウェア：

- Agilent ChemStation B.04.02

## クロマトグラフィーパラメータ

逆相液体クロマトグラフィーとUHPLCに用いたクロマトグラフィーパラメータを表1に示します。

### 標準物質の調製

アスコルビン酸、クエン酸、安息香酸を精確に秤量し、移動相Aに溶解して、それぞれ5,000 µg/mL (ppm)、50,000 ppm、100 ppmの濃度になるように作成しました。安息香酸を完全に溶解させるためには、10分の超音波分解が必要でした。その後、移動相Aを用いてこれらの溶液をさらに希釈し、表2に示す溶液を作成しました。移動相AのpHは2.5でした。このpHにより、アスコルビン酸が他の形状に変換することを防止しています。

### サンプル前処理

適量のo-リン酸をオレンジジュース5 mLに添加してpH 2.5になるように調整し、十分に攪拌しました。溶液を1879 gで5分間遠心分離し、Agilent製のエコノフィルタ0.2 µm (再生セルロース製ディスク型メンブランフィルタ、部品番号5185-5830)でろ過しました。ろ過した溶液を直接分析しました。

### 検量線の作成

移動相A 5 µLをブランクとして注入したのち、各濃度レベルの溶液を6回繰り返して注入しました。各レベルの面積およびリテンションタイム(RT)を用いて、相対標準偏差(RSD)を算出しました。3化合物のうち最も濃度の低い安息香酸の結果から、検出下限(LOD)および定量下限(LOQ)を設定しました。検量線を作成する前に、前処理したオレンジジュースを注入し、アスコルビン酸、クエン酸、安息香酸の概算濃度を測定しました。各濃度レベルの平均面積を濃度に対してプロットし、検量線を作成しました。

## クロマトグラフィー条件

パラメータ	Agilent 1260 Infinity LC システム	Agilent 1290 Infinity LC システム
TCC 温度	20 °C	20 °C
サンプリングレート	40 Hz	40 Hz
DAD 波長 (nm)	210.0、230.0、243.5	210.0、230.0、243.5
フローセル	10 mm、1 µL	10 mm、1 µL
サンプルサーモスタット	4 °C	4 °C
移動相 A	20 mM リン酸二水素バッファ (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )、o-リン酸により pH 2.5 に調整	20 mM リン酸二水素バッファ (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )、o-リン酸により pH 2.5 に調整
移動相 B	60 % メタノール - 40 % アセトニトリル	60 % メタノール - 40 % アセトニトリル
グラジエント	時間 (分)      %B	時間 (分)      %B
	0                      5	0                      5
	2                      5	0.5                    5
	2.1                    25	0.6                    25
	13.0                   25	3.0                    25
	13.1                   90	3.1                    70
	18.0                   90	3.9                    70
	18.1                   5	4.0                    5
	25.0                   5	5.0                    5
流速	1.0 mL/min	1.5 mL/min
注入量	5 µL、 フラッシュポート洗浄 3.0 秒	4 µL、 フラッシュポート洗浄 5.0 秒

表 1  
Agilent 1260 Infinity LC および Agilent 1290 Infinity LC システムに用いたクロマトグラフィーパラメータ

濃度レベル	アスコルビン酸 (µg/mL)	クエン酸 (µg/mL)	安息香酸 (µg/mL)
1	10	5500	0.2
2	45	6000	1
3	63	6500	2
4	90	7000	3
5	108	7500	5
6	144	8000	10
7	162	8500	20
8	180	9000	35
9	225		50

表 2  
3種類の化合物の濃度表

回収率試験をおこなうために、オレンジジュースの pH を 2.5 に調整しました。少量および多量のビタミン C、クエン酸、安息香酸を添加し、低濃度から高濃度の添加試料を作成しました。これらの試料を用いて、回収率を算出しました。メソッドの堅牢性を評価するために、4 つの主要パラメータを変動させました (流速  $\pm 2\%$ 、TCC 温度  $\pm 5\%$ 、インジェクタ  $\pm 5\%$ 、波長  $\pm 3\%$ )。

各パラメータについて、ビタミン C 108 ppm、クエン酸 7,000 ppm、安息香酸 5 ppm の標準添加混合溶液を 7 回繰り返して注入しました。3 種類のブランドのオレンジジュースを分析し、3 つの酸の濃度を測定しました。

その後、HPLC メソッドを UHPLC メソッドに変換しました。各標準の LOD、LOQ、直線性を評価し、面積および RT の RSD により、メソッドの精度を測定しました。

## 結果と考察

### 分離と検出

様々なカラムでビタミン C、クエン酸、安息香酸の分離を試験しました。オレンジジュースに添加した標準物質と移動相 A に溶解した標準物質を試料として使用し、マトリクス干渉を測定しました。

アジレントのフェニル-ヘキシルおよび Poroshell EC-C18 カラムは、親水性標準物質において良好な分離能を示しました。

Agilent Poroshell EC-C18 を用いて、さらなる検討をおこないました。低温の TCC と、移動相 B の 60 % メタノール - 40 % アセトニトリルを用いることで、マトリクス由来ピークと標準物質との分離が向上しました。アスコルビン酸は、pH 2.5 の酸性条件の場合、243.5 nm で最大のピーク吸光度を示しました。この波長を吸収するマトリクス由来ピークが少ないため、アスコルビン酸は容易に定量できました。クエン酸は 210.0 nm、安息香酸は 230.0 nm で検出しました。アスコルビン酸は低温で安定となるため、分析中はオートサンブラを 4 °C に維持しました。

Margolis 5<sup>6</sup> の論文では、オートサンブラバイアルに 22 時間保管すると、アスコルビン酸の濃度は大幅に減少することが報告されています。各ロットのオートサンブラバイアルでは、アスコルビン酸の濃度が 89 % 減少しましたが、Margolis の示す塩基-酸洗浄法でバイアルを洗浄したところ、濃度の減少は最大 4 % に抑えられました。

今回の検討では、3 種類のバイアルをテストしました。

- MS 認定バイアル (部品番号 5190-2280)
- ALS バイアル (部品番号 5182-0716)
- 塩基-酸洗浄法で洗浄した ALS バイアル

温度制御した ALS 内で検量線用の標準物質を 4 °C の緩衝液中で保管したため、3 種類いずれのバイアルについても、16 時間後のアスコルビン酸の面積の減少は 3 %、クエン酸と安息香酸の場合は 1 % 未満に抑えられました。この結果から、この分析ではいずれのバイアルでも使用できることを示しています。今回のアプリケーションでは、MS 認定バイアルを使用しました。図 1 は、Agilent 1260 Infinity LC システムを用いて分離したアスコルビン酸、クエン酸、安息香酸のクロマトグラムを示しています。安息香酸とマトリクス由来ピークを分離させるためには、移動相 B の割合を急激に 25 % まで上げるステップグラジエントが必要でした。オレンジジュースからマトリクス由来ピークを除去するためには、13 分以降にもさらに高い有機溶媒濃度を適用する必要がありますがありました。

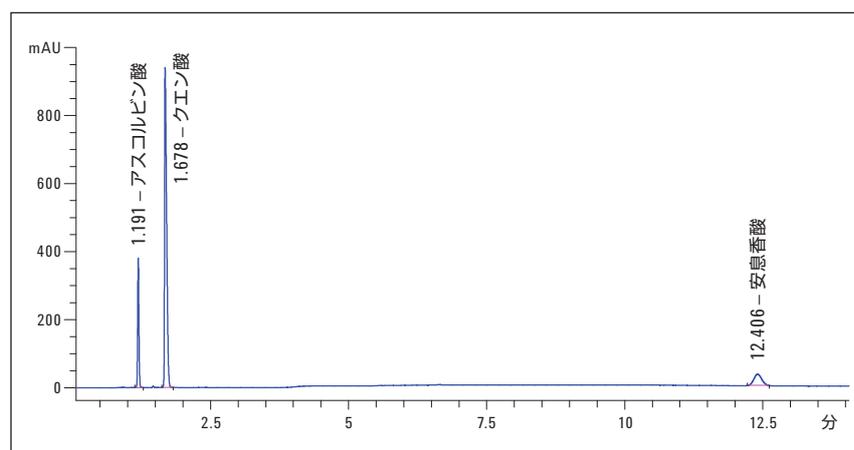


図 1  
Agilent Poroshell 120 EC-C18 カラムを用いたアスコルビン酸、クエン酸、安息香酸の標準物質の分離。  
クロマトグラムは 230 nm で検出

### 検出下限 (LOD) と定量下限 (LOQ)

シグナル/ノイズ比 (S/N) が 3 を超える分析対象化合物の濃度を LOD、S/N が 10 を超える濃度を LOQ と定義しました。ピーク間メソッドを用いてノイズを算出し、分析対象化合物のピーク高と比較して、S/N 値を求めました。このアプリケーションノートでは、安息香酸の LOD と LOQ を測定しました。LOD は S/N = 3 で 0.05 µg/mL、LOQ は S/N = 16 で 0.2 µg/mL でした。

### 直線性

3 つの化合物について、異なる濃度範囲で検量線を作成しました。安息香酸については、LOQ 濃度を開始点として直線性を算出しました。各濃度レベルの溶液を 6 回注入し、その平均値から検量線を作成しました。直線範囲は、オレンジジュースに含まれる各化合物の濃度範囲に対応しています。アスコルビン酸における直線性の結果を図 3 に示します。表 3 には、LOD 値と LOQ 値、直線性の結果を示しています。

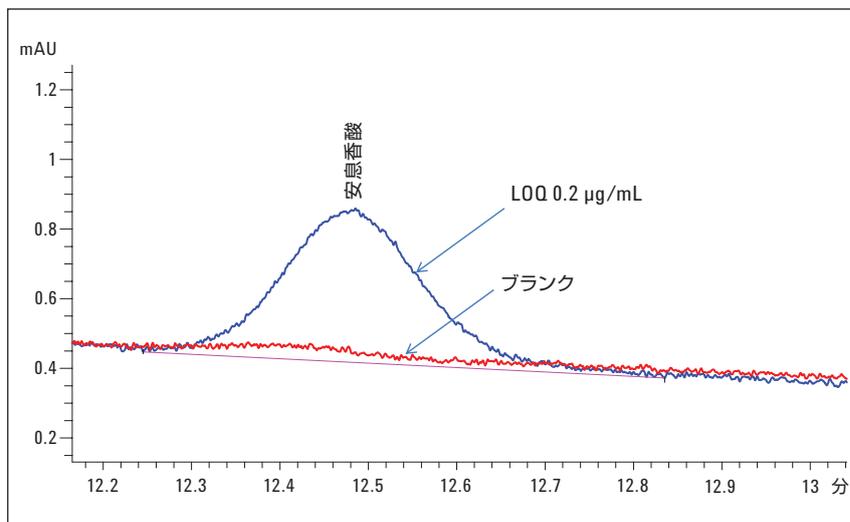


図 2  
安息香酸の 0.2 µg/mL (オンカラム 1 ng) 溶液 (LOQ レベル) とブランク注入の重ね表示。  
この濃度で得られた S/N は 16

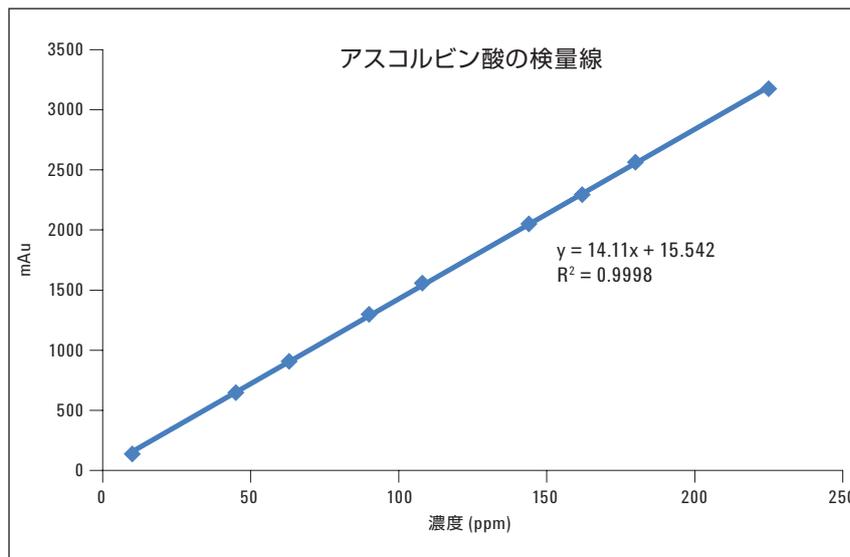


図 3  
10 µg/mL ~ 225 µg/mL のアスコルビン酸の直線性

SI 番号: 化合物名	LOD		LOQ		直線範囲 (µg/mL)	R <sup>2</sup> 値	レベル、 濃度 n=6	精度
	µg/mL	S/N	µg/mL	S/N				
1 アスコルビン酸	-	-	-	-	10~225	0.9998	9	L1=87 % (98 % ~ 100 %)
2 クエン酸	-	-	-	-	5500~ 9000	0.9995	8	99 % ~ 101 %
3 安息香酸	0.05	3	0.2	16	0.2~50	1	9	L1 = 106 % 96~101 %

表 3  
アスコルビン酸、クエン酸、安息香酸の直線性。試験した直線範囲は、オレンジジュース中の化合物の濃度範囲に対応

## リテンションタイム (RT) とピーク面積の精度

各濃度レベルにおいて、ピーク面積のRSD (%) を計算しました。安息香酸においては、RSDがもっとも大きかったのは濃度レベル1 (L1) の時で 1.9 % でした。同様に、RT の最大 RSD は、わずか 0.13 % でした。面積と RT の RSD が低かったことから、この分析法の再現性と精度が許容範囲内であることを示しています。面積 RSD のグラフを図 4 に示します。

### 堅牢性

アスコルビン酸 108 µg/mL、クエン酸 7,000 µg/mL、安息香酸 5 µg/mL を含む標準物質混合溶液を用いて、分析法の堅牢性を評価しました。4 つの主要メソッドパラメータ (流速、TCC 温度、注入量、波長) に着目して試験し、7 回の繰り返し注入を行ってデータを獲得しました。この分析では、後の 6 回繰り返し分析における分析対象化合物の面積を使用しました。面積とリテンションタイムの許容変動率は、それぞれ ± 5 % と ± 3 % に設定しました。

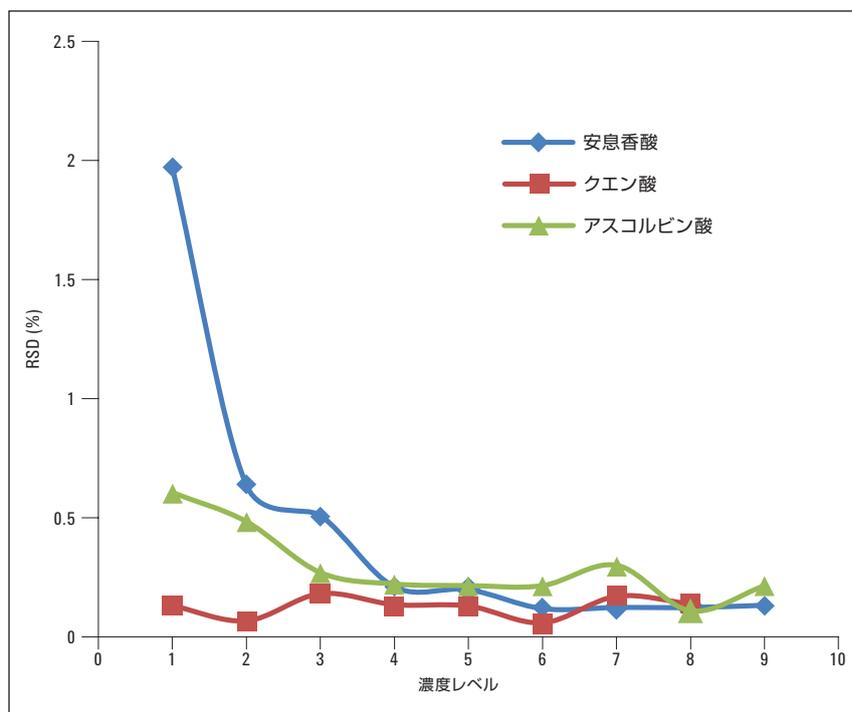


図 4  
各濃度レベルにおいて 6 回繰り返し注入を行った際のピーク面積 RSD (%)

パラメータ	変動値	アスコルビン酸		230 nm における	クエン酸		安息香酸	
		% 面積	% RT	クエン酸の 分離能 % 分離能	% 面積	% RT	% 面積	% RT
流速: 1.0 mL/min ± 2 %	高: 1.02 mL/min	6.2	2.1	0.0	2.2	2.2	3.4	1.8
	低: 0.98 mL/min	3.3	1.8	0.6	1.2	1.3	0.5	1.7
TCC: 20 °C ± 5 %	高: 21 °C	7.6	0.4	0.1	0.1	0.6	2.0	1.4
	低: 19 °C	18.1	0.5	0.7	0.4	0.9	2.7	1.5
注入量: 5 µL ± 5 %	高: 5.25 µL	2.4	0.2	1.6	5.6	0.3	4.3	0.9
	低: 4.75 µL	8.2	0.0	0.5	5.0	0.2	6.1	0.2
波長: 210.0、230.0、 243.5 nm ± 3 nm	高: 213.0、 233.3、246.5 nm	2.5	0.1	0.1	5.6	0.2	5.2	0.5
	低: 207.0、 227.0、240.5 nm	3.3	0.1	0.8	3.3	0.1	3.4	0.3

表 4  
メソッドの堅牢性評価の結果。赤字は、標準メソッドと比べた場合の許容変動率を超えたことを示しています

堅牢性試験の結果を表 4 に示します。赤字は、許容変動率を上回っていることを表しています。アスコルビン酸では、流速を 2 % 変化させると、面積と RT の両方が変化しました。しかし、ピーク面積は 5 % の許容限度を超えたのに対し、RT は許容限度内に収まっています。同様に、アスコルビン酸では、TCC 温度の小さな変化により、ピーク面積が大きく変動することが見られます。これらの結果は、分析中にカラム温度を維持することが重要であることを示しています。クエン酸と安息香酸の面積の再現性は、注入精度と波長精度に最も大きな影響を受けることがわかりました。そのため、UV DAD を適切にキャリブレーションし、精度テストに合格させることが重要です。堅牢性試験の結果は、このメソッドが通常の使用において信頼できるもので、パラメータを故意に変化させても、かなりの程度まで影響を受けないことを示しています。ただし、一部のパラメータについては、慎重にコントロールすることが重要です。

### サンプルマトリクスからの回収率

ブランクマトリクスを使用できなかったため、3 つの分析対象化合物の回収率については、添加実験により評価しました。

アスコルビン酸 (300 µg)、クエン酸 (4,000 µg)、安息香酸 (20 µg) を含む低濃度の標準添加溶液をオレンジジュースに添加しました (o-リン酸により pH を 2.5 に調整)。アスコルビン酸 (600 µg)、クエン酸 (8,000 µg)、安息香酸 (40 µg) を含む別の高濃度添加混合溶液を、別のオレンジジュースサンプルに添加しました。前述の方法で、オレンジジュースサンプルから分析対象化合物を抽出しました。水

性検量線を用いて (5 ページの「直線性」の項および図 3 を参照)、面積を濃度値に変換しました。低濃度添加混合溶液の濃度を高濃度溶液の値から減算し、その差を添加量の差と比較して、回収率を求めました。この差は、分析中に化合物/マトリクスの分解が生じたことを示すものです。3 回の繰り返し分析により、回収率試験を実施しました。結果を表 5 にまとめています。アスコルビン酸については、バックグラウンドの吸光度が低い 243.5 nm が最大吸光波長となるため、優れた回収率を示しました。3 つすべての化合物について、90 % を超える回収率が得られました。

化合物名	回収率 (%)
アスコルビン酸	100 ± 3
クエン酸	91 ± 12
安息香酸	98 ± 6

表 5  
3 回繰り返し実施した添加実験で得られた回収率結果

## サンプル分析

このアプリケーションでは、簡単な前処理を行ったオレンジジュース中のアスコルビン酸、クエン酸、安息香酸の含有量を測定し、クロマトグラフィーメソッドを開発しました。3 ブランドのオレンジジュースから試料を作成し、それぞれの試料 (0-ジュース 1、0-ジュース 2、0-ジュース 3 と命名) を分析しました。サンプルを前述のとおり前処理しました。分析の結果を直線方程式と比較し、濃度を求めました (表 6)。この結果から、オレンジジュースのブランドの違いによって、3 つの化合物の量が異なることがわかります。0-ジュース 1 の栄養表示では、アスコルビン酸の濃度は 111  $\mu\text{g}/\text{mL}$  と記載されています。実際の測定値は 145  $\mu\text{g}/\text{mL}$  でした。この違いはおそらく、アスコルビン酸がオレンジジュース中に天然の状態でも存在していたために含有濃度が増加したか、製品のバッチ間変動によるものと考えられます。また、0-ジュース 1 では、保存料は使用していないと記載されていますが、微量の安息香酸が検出されました。0-ジュース 3 では、酸化防止剤 E300 と酸調整剤 E330 を添加していると記載されています (量は特定せず)。この 2 つの物質は、それぞれアスコルビン酸とクエン酸に相当します。このメソッドにより、どちらの化合物も検出および定量できました。しかし、図 5 に示すように、このサンプルからは安息香酸が 2.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  も検出されました。

オレンジジュース サンプル	アスコルビン酸 $\mu\text{g}/\text{mL}$	クエン酸 $\mu\text{g}/\text{mL}$	安息香酸 $\mu\text{g}/\text{mL}$
0-ジュース 1	145 $\pm$ 2	8895 $\pm$ 21	0.62 $\pm$ 0.07
0-ジュース 2	93 $\pm$ 3	8188 $\pm$ 43	0 $\pm$ 0
0-ジュース 3	35.4 $\pm$ 0.3	3160 $\pm$ 8	2.25 $\pm$ 0.06

表 6  
3つのオレンジジュースブランドに含まれるアスコルビン酸、クエン酸、安息香酸の量 (これらの化合物の量は、たいていの場合は製品の栄養表示に記載されていません)

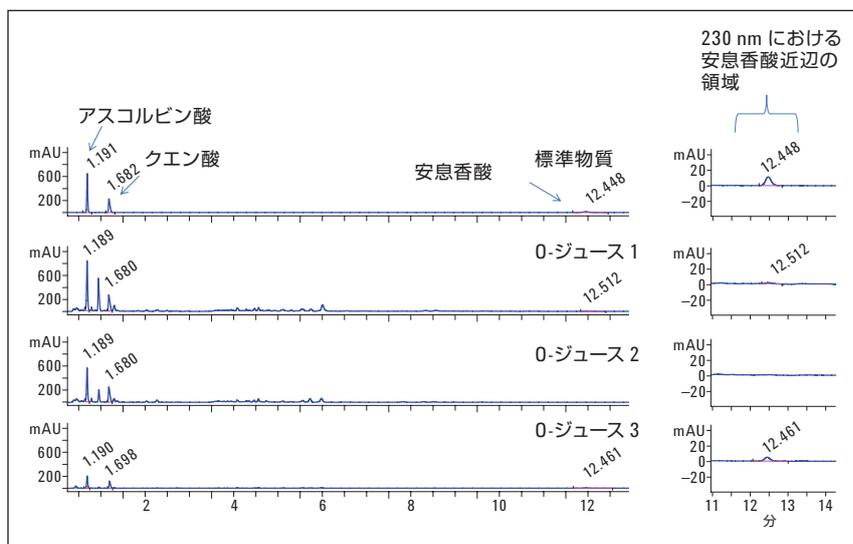


図 5  
230 nm において 3 種類のオレンジジュースブランドから検出された安息香酸

## UHPLC メソッド

これまで検討してきた HPLC メソッドを、Agilent 1290 Infinity LC システムの UHPLC メソッドに変換しました。同じ移動相で長さの短いカラムを用いて、時間短縮を図る高速メソッドを開発しました。HPLC メソッドが 25 分だったのに対し、これにより得られた UHPLC メソッドの所要時間は、図 6 に示すように、わずか 5 分です。これにより、スピードが 5 倍に向上し、溶媒使用量を 68 % に削減します。メソッドを高速化すれば、サンプル分析中にアスコルビン酸が失われる可能性も低くなります。UHPLC メソッドの移動相 B の最高比率は、90 % ではなく 70 % であることに注目してください。90 % と 70 % の両方をテストしましたが、いずれについても Agilent 1290 LC Infinity メソッドで使用できることがわかりました。安息香酸の LOD は 0.05 µg/mL、LOQ は 0.2 µg/mL (S/N = 16) でした。この値は、Agilent 1260 Infinity LC で得られた値と同等のものです。アスコルビン酸の検量線でも、図 7 に示すように、良好な直線性が得られました。

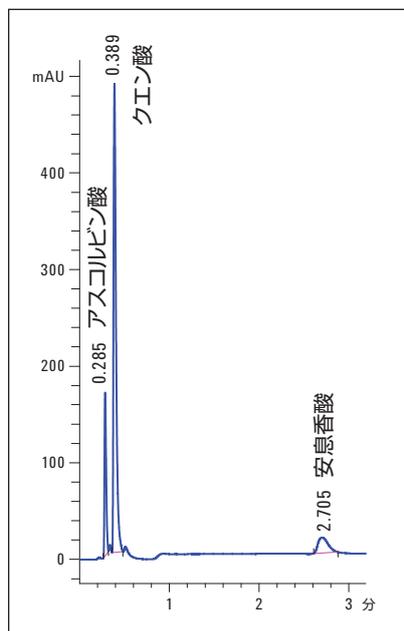


図 6  
Agilent Poroshell 120 EC-C18 カラム 3.0 x 75 mm、2.7-µm を用いて、アスコルビン酸、クエン酸、安息香酸の標準物質を分離した UHPLC メソッド

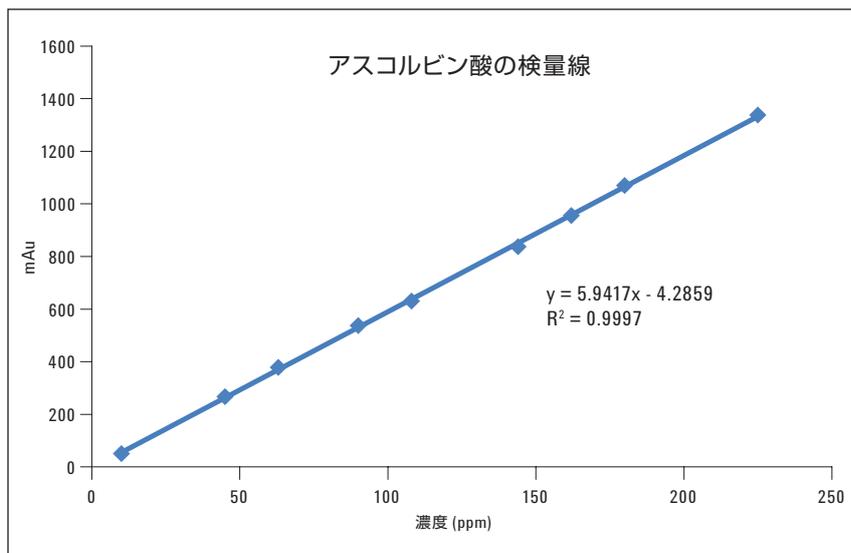


図 7  
Agilent 1290 Infinity LC システムにおける 10 µg/mL~225 µg/mL (オンカラム 50 ng~1125 ng) のアスコルビン酸の直線性

HPLC メソッドと同じ濃度レベルについて、面積と RT の RSD (%) を算出しました。図 8 に示すように、すべての濃度レベルにおいて、面積の RSD (%) は 2.5 % 未満、RT の RSD は 0.5 % 未満でした。

## 結論

Agilent Poroshell 120 EC-C18 カラムを用いて、アスコルビン酸、クエン酸、安息香酸を分離および定量しました。25 分のメソッドを開発し、部分的にバリデーションをおこないました。90 % を超える回収率が示しているように、このメソッドでは、マトリクス干渉の影響をほとんど、または全く受けずに、各種オレンジジュースに含まれるアスコルビン酸、クエン酸、安息香酸を定量できます。短いカラムと速い流速を用いて、Agilent 1290 Infinity LC システムにメソッドを効率的に変換し、5 分の UHPLC メソッドを開発しました。いずれのメソッドでも、優れた直線性と正確な結果が得られます。したがって、これらのメソッドは、オレンジジュースの品質管理におけるアスコルビン酸、クエン酸、安息香酸の測定に適用できるといえます。

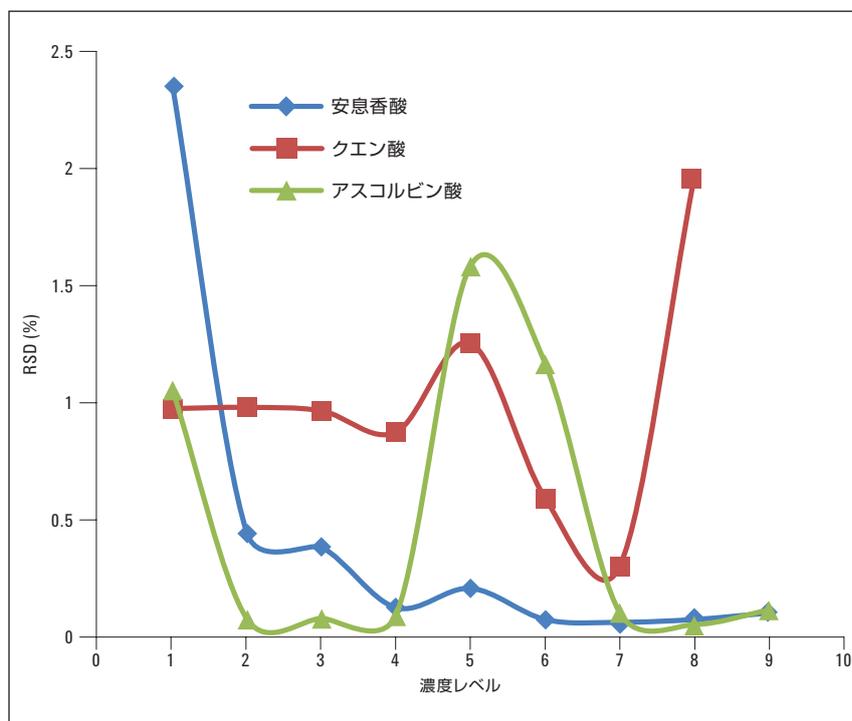


図 8  
3つの化合物について、RSD (%) として面積精度を測定した UHPLC メソッドの結果。各濃度レベルについて 6 回繰り返し分析

## 参考文献

1.  
INCHEM chemical safety information for intergovernmental organization:  
<http://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad26.htm#SubSectionNumber:5.1.1>
2.  
US FDA, Food contamination and adulteration: Data on Benzene in Soft Drinks and Other Beverages Data through May 16, 2007 <http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/FoodContaminantsAdulteration/ChemicalContaminants/Benzene/ucm055815.htm>
3.  
L.K Gardner, G.D Lawrence, "Benzene Production from Decarboxylation of Benzoic Acid in the Presence of Ascorbic Acid and a Transition-Metal Catalyst," *J. Agric. Food. Chem*, 41: 693-695, 1993.
4.  
K. Zerdine; M.L. Rooney; J Vermue, "The Vitamin C Content of Orange Juice packed in an Oxygen Scavenger Material," *Food Chemistry*, 82: 387-395, 2003.
5.  
L. Novakova; P. Solich; D. Solichova, "HPLC methods for simultaneous determination of ascorbic acid and dehy-droascorbic acids," *Trends in Analytical Chemistry*, 27: 942-958, 2008.
6.  
S.A. Margolis; E. Park, "Stability of Ascorbic Acid in Solutions Stored in Autosampler Vials," *Clinical Chemistry*, 47: 1463-1464 2001.

**[www.agilent.com/chem/lc:jp](http://www.agilent.com/chem/lc:jp)**

本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社  
© Agilent Technologies, Inc., 2011  
Published in Japan, September 1, 2011  
5990-8720JAJP



**Agilent Technologies**