

第9版食品添加物公定書に準拠した ステビオール配糖体の分析

2018年(平成30年)2月1日に厚生労働省より第9版食品添加物公定書が公表され、平成19年の第8版公定書の告示以来、約10年ぶりの改正が実施されました。改正された既存添加物品目の内、「ステビア抽出物」の定量法において、HPLCカラムがアミノ基結合型シリカゲル(HILICモード)からオクタデシルシリル化シリカゲル(逆相モード)へ変更されました。南米原産のキク科ステビアの葉から抽出して得られるステビオール配糖体は、清涼飲料水や菓子等、多くの食品で使用されています。今回、第9版食品添加物公定書に基づきこれらのHPLC分析を検討し、良好な結果が得られたのでご紹介します。

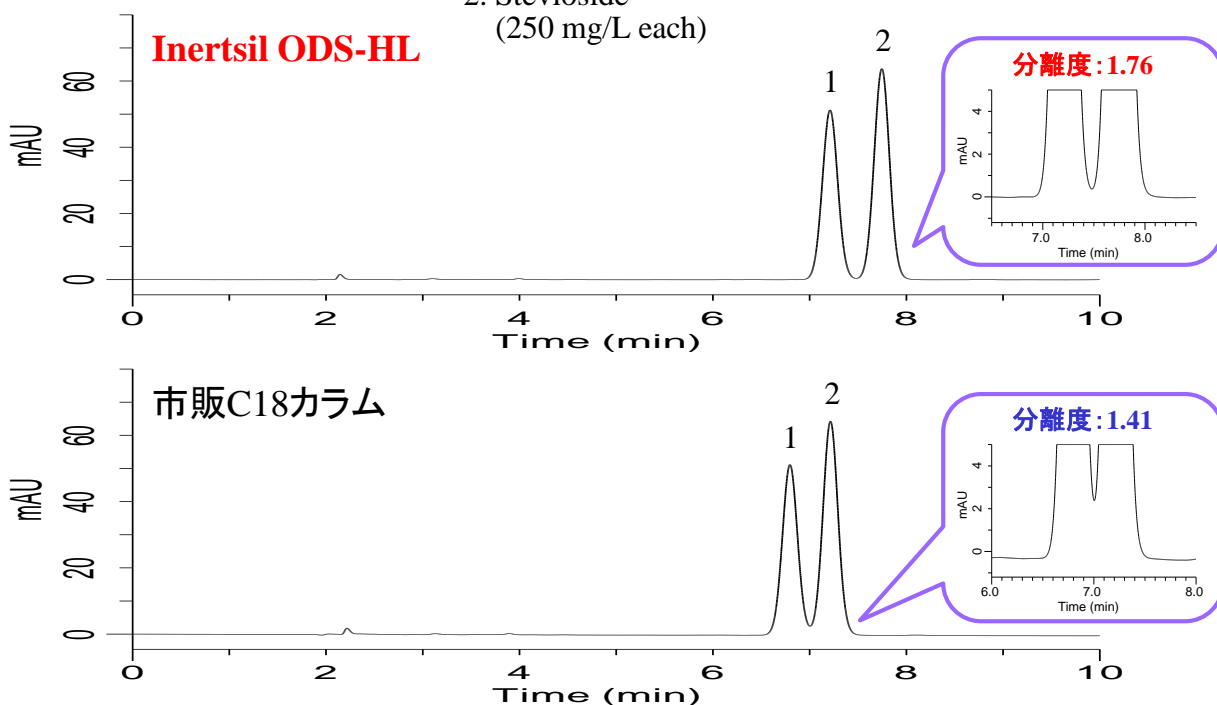
(M. Mano)

「ステビア抽出物」及び「ステビオール配糖体」 定量法のカラム選定

「ステビオール配糖体」の定量法は、「ステビア抽出物」の定量法を準用してステビオール配糖体9種の含量を算出するため、各々の定量法は同じ液体クロマトグラフィーの操作条件を用います。したがって、操作条件に規定されているカラム選定も同様に適用されます。

カラム選定溶液

1. Rebaudioside A
2. Stevioside
(250 mg/L each)



HPLC条件

- ・システム GL7700 HPLC system
- ・カラム Inertsil ODS-HL
(5 μ m, 250 x 4.6 mmI.D.)
- ・溶離液 A) CH₃CN
B) リン酸緩衝液^{※1}
A/B = 32/68, v/v
- ・温度 40 °C
- ・検出器 UV 210 nm
- ・注入量 10 μ L
- ・流量 1.0 mL/min

【カラム選定】

分離度 (1, 2) : **1.76** (≥ 1.5)

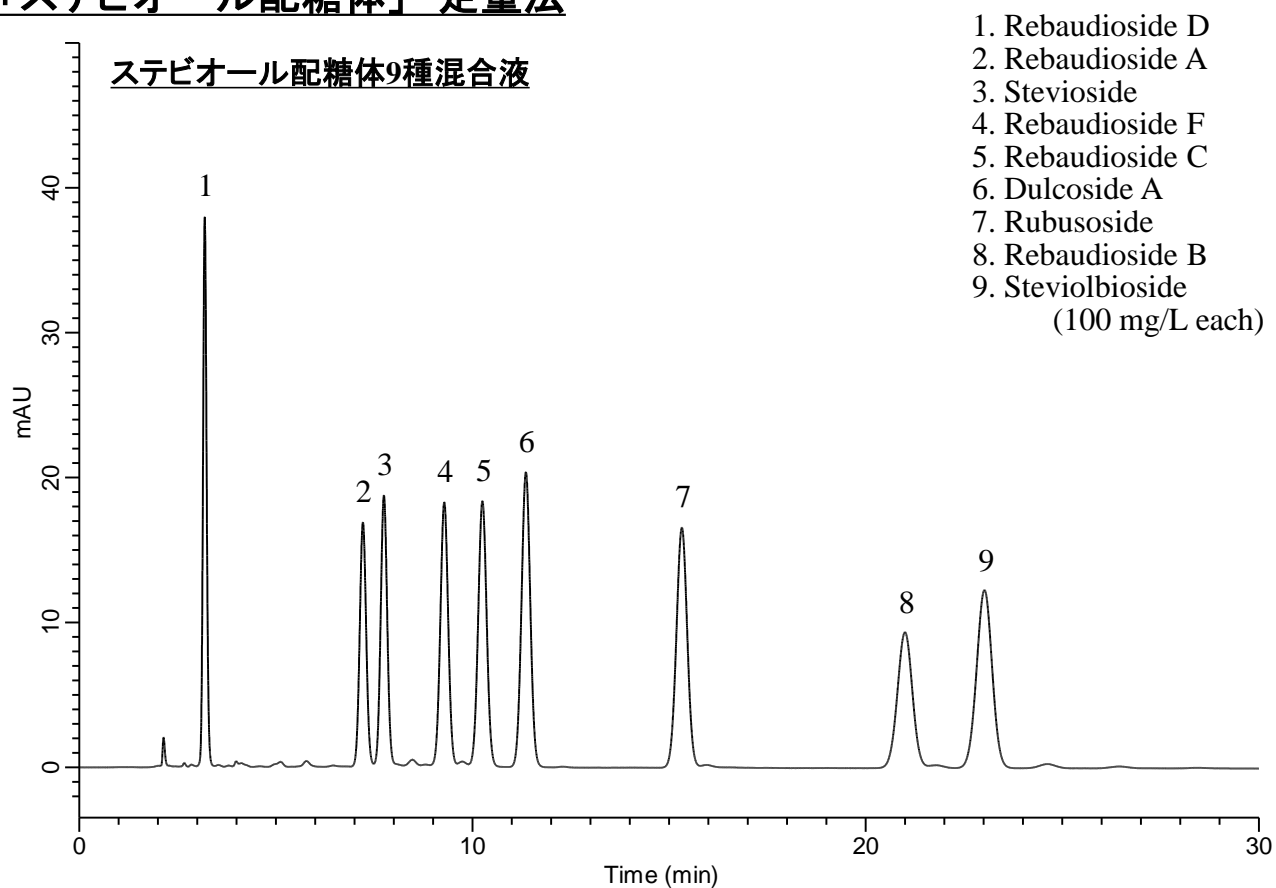
※1 リン酸緩衝液

第1液: リン酸二水素ナトリウム二水和物 1.56 g を量り、水を加えて溶かし、1000 mLとする。

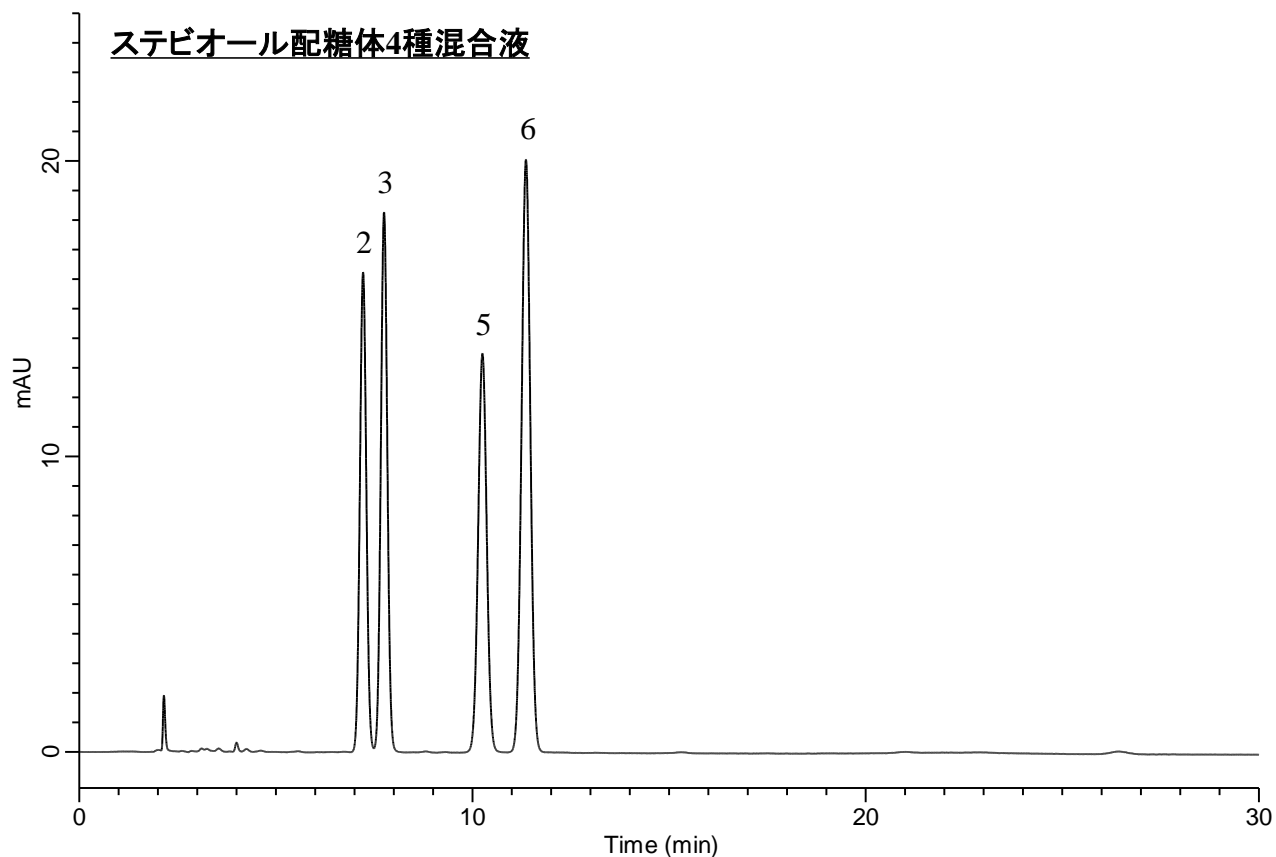
第2液: リン酸 1.15 g を量り、水を加えて溶かし、1000 mLとする。

第1液1容量と第2液1容量を混和し、両液を用いて pH 2.6 に調整する。

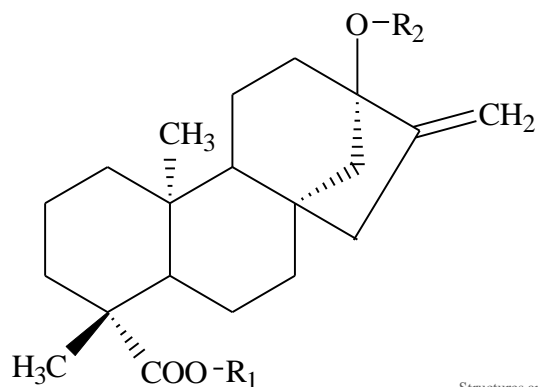
「ステビオール配糖体」 定量法



「ステビア抽出物」 定量法



構造式

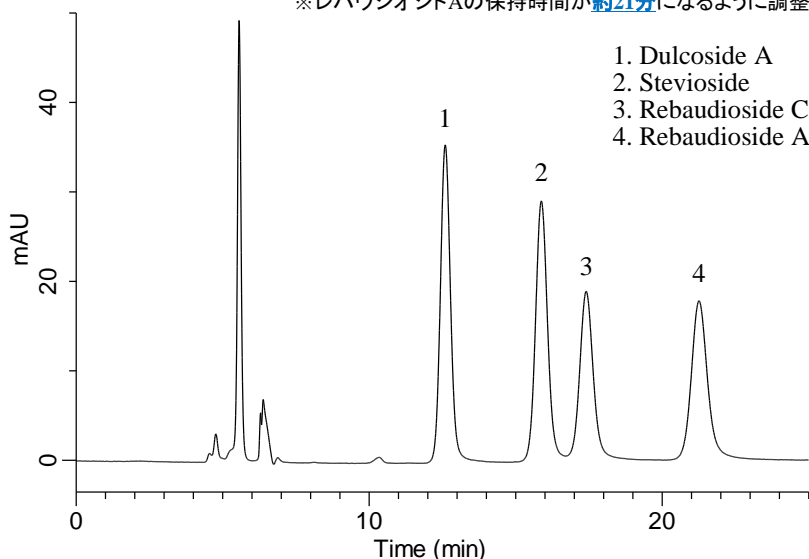


Structures are created using Chemistry 4-D Draw which is provided by ChemInnovation Software, Inc.

化合物名	R ₁	R ₂
Stevioside	β -Glucose	β -Glucose— β -Glucose (2→1)
Rebaudioside A	β -Glucose	β -Glucose— β -Glucose (2→1) β -Glucose (3→1)
Rebaudioside B	H	β -Glucose— β -Glucose (2→1) β -Glucose (3→1)
Rebaudioside C	β -Glucose	β -Glucose— α -Rhamnose (2→1) β -Glucose (3→1)
Rebaudioside D	β -Glucose— β -Glucose (2→1)	β -Glucose— β -Glucose (2→1) β -Glucose (3→1)
Rebaudioside F	β -Glucose	β -Glucose— β -Xylose (2→1) β -Glucose (3→1)
Dulcoside A	β -Glucose	β -Glucose— α -Rhamnose (2→1)
Rubusoside	β -Glucose	β -Glucose
Steviolbioside	H	β -Glucose— β -Glucose (2→1)

参考情報 第8版食品添加物公定書「ステビア抽出物」定量法

※レバウジオシドAの保持時間が約21分になるように調整する。



1. Dulcoside A
2. Stevioside
3. Rebaudioside C
4. Rebaudioside A

HPLC条件

- ・システム GL7700 HPLC system
- ・カラム InertSustain NH2 (5 μm, 150 x 4.6 mmI.D.)
- ・溶離液 A) CH₃CN
B) H₂O
A/B = 80/20, v/v
- ・温度 40 °C
- ・検出器 UV 210 nm
- ・注入量 10 μL
- ・流量 0.32 mL/min

カラム

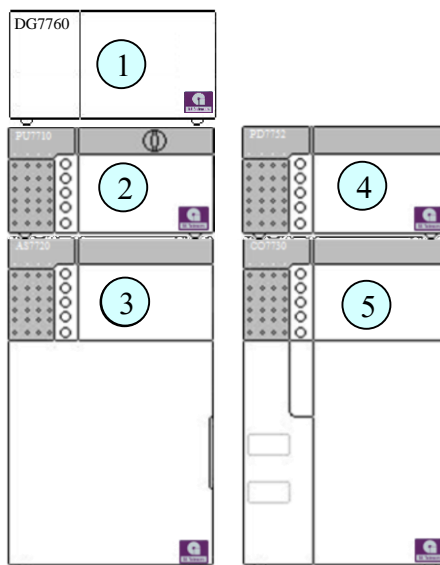


Inertsil ODS-HL
(5 μm, 250 x 4.6 mm I.D.)
Cat.No. 5020-87132

InertSustain NH2
(5 μm, 150 x 4.6 mm I.D.)
Cat.No. 5020-89950

分析装置: GL7700 シリーズ

番号	品名	型式
①	脱気装置	DG7760
②	送液ポンプ	PU7710
③	オートサンプラー	AS7720
④	PDA検出器	PD7752
⑤	カラムオープン	CO7730



〒163-1130 東京都新宿区西新宿 6-22-1 新宿スクエアタワー 30F
TEL.03-5323-6611 FAX.03-5323-6622

※各試験法は、変更される場合がありますので、分析の前に確認されることをお薦めします。

データに起因し、直接的または間接的に生じたいかなる損害に対しましても、当社が責任をおうものではありません。また、記載事項につきましては、予告無しに改訂する場合がありますので、あらかじめご了承ください。

カスタマーサポートセンターでは、ノウハウのご提供と分析に関するフォローを行なっております。お困りの際には、カスタマーサポートセンターまでお気軽にお問い合わせください。

カスタマーサポートセンター (土・日・祝除く9:00-17:00)

☎ 04-2934-1100 ✉ info@glsc.co.jp



【アプリケーションの検索はこちら】

https://www.glsc.co.jp/technique/app/app_search.html