

自動固相抽出装置を用いた食品中人工甘味料分析法の開発

○小西賢治, 川上正美, 島三記絵, 佐々野僚一
株式会社アイスティサイエンス

【目的】

近年、健康志向の高まりに伴い、清涼飲料水や菓子類、調味料など様々な食品に人工甘味料が使用されている。消費者がダイエットなどの目的でこれらを選択する機会が増える中、過剰摂取を防止し安全性を担保するためには、食品中の含有量を正確に把握することが不可欠である。しかし、分析現場における深刻な人手不足により、多品目の厳密な品質管理と検査効率の両立が困難となっている。食の安全を守るための管理体制維持と、現場の省力化を同時に実現するためには、分析工程の自動化による合理的なアプローチが極めて有効である。

そこで本研究では、分析業務の効率化および精度向上を目指し、自動固相抽出装置を用いた食品中の人工甘味料分析法の開発を目的として検討を行った。対象とした成分は以下の7化合物である。アスパルテーム、アセスルファムカリウム、アドバンテーム、アドバンテームアシッド、サッカリン、ズルチン、ネオテーム

【方法】

食品試料からの抽出液を多検体固相抽出装置 ST-R100 (株式会社アイスティサイエンス)、固相カートリッジ Smash-SPE PBX および WAXs (同社製) を用いて固相抽出し、得られた液を HPLC(UV)にて測定して評価した。

【結果および考察】

1. 固相抽出条件の検討

ズルチンはフェニル基を有するため疎水性相

互作用があり、それ以外の6成分はスルホンアミド基やカルボキシ基を有しており、pH調整によって負電荷を帯びる性質を持つ。これらの性質が異なる成分を一斉精製するため、逆相固相 (PBX) および弱アニオン交換固相 (WAX) による精製を検討した。試料負荷時に抽出液を塩酸水溶液で希釈して有機溶媒比率を下げ、ズルチンを疎水性相互作用により PBX に保持させると同時に、WAX 中のアミノ基をイオン化させることで、他6成分をイオン交換相互作用により保持させた。洗浄後、アンモニア水含有メタノールを通液することで、PBX からズルチンを溶出すると同時に、WAX のアミノ基を非イオン化させることで、全対象成分を効率よく溶出させる条件を構築した。

2. 測定条件の検討

移動相に 5 mM ギ酸アンモニウム水溶液およびメタノールを用いたグラジエント分析を検討した結果、全対象成分において良好なピーク分離が確認された。

測定条件
カラム: ODSカラム(内径4.6mm×長さ150mm×粒径5μm)
カラム温度: 40℃ 流速: 1.0mL/min
検出器: UV 測定波長: 210nm, 230nm
移動相
A) 5mmol/Lギ酸アンモニウム, B) メタノール
グラジエント条件
B. Conc 10%(0 min)→50%(12.5 min)→90%(20-23 min)→10%(23.01-30 min)

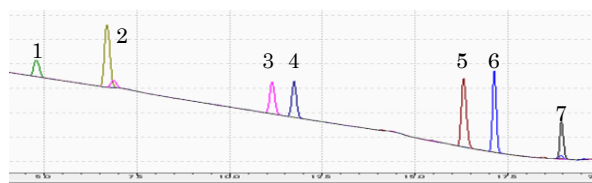


図1 10ppm 標準溶液のクロマトグラム

1.アセスルファムカリウム、2.サッカリン、3.アスパルテーム、4.ズルチン、5.アドバンテームアシッド、6.アドバンテーム、7.ネオテーム

自動固相抽出装置を用いた食品中人工甘味料分析法の開発

e-mail : konishi@aisti.co.jp
○小西賢治, 川上正美, 島三記絵, 佐々野僚一
株式会社アイスティサイエンス

【はじめに】

近年、健康志向の高まりに伴い、清涼飲料水や菓子類、調味料など様々な食品に人工甘味料が使用されている。消費者がダイエットなどの目的でこれらを選択する機会が増える中、過剰摂取を防止し安全性を担保するためには、食品中の含有量を正確に把握することが不可欠である。しかし、分析現場における深刻な人手不足により、多品目の厳密な品質管理と検査効率の両立が困難となっている。食の安全を守るための管理体制維持と、現場の省力化を同時に実現するためには、分析工程の自動化による合理的なアプローチが極めて有効である。本研究では、分析業務の効率化および精度向上を目指し、多検体自動固相抽出装置ST-R100を用いた食品中の人工甘味料分析法の開発を目的として検討を行った。

【方法】 分析対象化合物（人工甘味料7種）

アセスルファムK	サッカリン	アスパルテーム	ズルチン	アドバンテームアシッド	アドバンテーム	ネオテーム
						

NLM, PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>, (参照 2026-04-21)

【分析試料】

市販のペットボトル飲料に標準溶液を添加して分析試料とした。
乳酸菌飲料、リンゴジュース、コーラ、ジンジャーエール



図1 分析試料（市販ペットボトル飲料）

【前処理フロー】

【精製】

Smash-SPE PBX-2 mg

Smash-SPE WAXs-2 mg

— 負荷 試験溶液 100 μ L 検討①, ②

— 洗浄 0.01% HCl 100 μ L 検討②

— 溶出 0.1% NH₃ 含有 MeOH-W(4/1) 50 μ L 検討③

— 溶出: メタノール 50 μ L

— 添加: 0.1% ギ酸 20 μ L 検討④

溶出液をHPLCで測定

PBX: スチレンビジニルベンゼン親水性/疎水性

WAXs: 弱陰イオン交換



図2 分析に使用した装置、固相カートリッジ

図3 多検体自動固相抽出装置 ST-R100の分析イメージ

【測定条件】

HPLC : Prominence-i (島津製作所)
カラム : Inertsil ODS-3 (内径4.6 mm×長さ150 mm×粒径5 μ m) (GLサイエンス)
移動相 : A) 5 mM ギ酸アンモニウム緩衝液
B) メタノール
グラジエント条件: B.Conc 0% (0 min)→50% (6.25 min)→90% (10 - 12.5 min)
→10% (12.51 - 15 min)

カラム温度: 40 $^{\circ}$ C

流速 : 2.0 mL/min

検出器 : UV

注入量 : 20 μ L

測定波長 : 210 nm, 230 nm

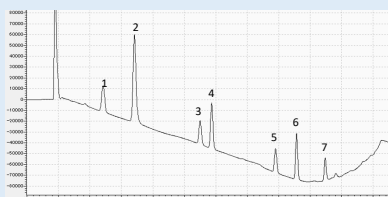


図4 10ppm標準溶液のクロマトグラム (UV210nm)

1. アセスルファムK
2. サッカリン
3. アスパルテーム
4. ズルチン
5. アドバンテームアシッド
6. アドバンテーム
7. ネオテーム

【結果と考察】

検討①試料負荷量

負荷量を変更して面積値を比較したところ、20 μ L, 50 μ L, 100 μ Lの範囲において良好な直線性が得られた。

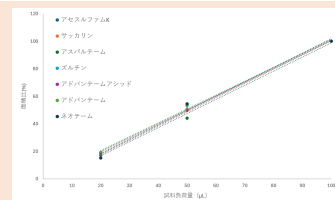


図5 試料負荷量と面積比

検討②固相抽出（保持）条件

固相負荷時の酸濃度による挙動を調査した。塩酸、ギ酸を用いて各成分の回収率を比較した。超純水に添加したものを基準とし評価したところ、0.01%塩酸、0.01%ギ酸はおおむね90%以上の回収が得られたが、酸濃度が上がるとズルチンを除く成分で回収率の低下が見られた。これは酸濃度が高くなるほど、溶出時のNH₃と中和すること、成分中のカルボキシ基が非乖離になることと、ズルチンは陰イオン性の官能基を持たないためその影響を受けなかったと考えられる。

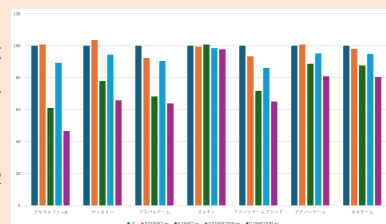


図6 固相負荷時の酸濃度と回収率

検討③固相抽出（溶出）条件

PBX+WAXsからの溶出条件を検討した。NH₃の濃度、メタノール濃度を変化させて各成分の溶出挙動を調査した。ズルチンを除く6成分はNH₃濃度に比例して溶出されること、アドバンテームアシッドを除く6成分はメタノール濃度に比例して溶出される傾向が見られた。NH₃濃度が高くなるほど、WAXsが非乖離になり、各成分が溶出されたものと推測される。特にアセスルファムKおよびサッカリンはスルホン酸を有しており、アドバンテームアシッドはカルボキシ基を2つ有しているためWAXsに強く保持されているため溶出に高いNH₃濃度が必要だと推測される。ただし、NH₃濃度が高くなるほど時間経過によりアスパルテームの面積値が減少する症状が見られた。また、いずれの成分もベンゼン環を有しているためメタノール濃度が低いと固相から溶出されにくかったものと推測される。



図7 溶出溶媒中NH3濃度と溶出量

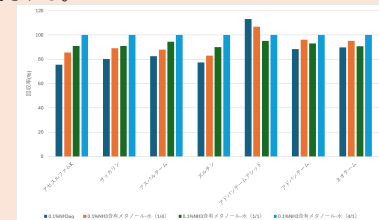


図8 溶出溶媒中メタノール濃度と溶出量

検討④溶出後のpHによる安定性

検討を行う中で、アスパルテーム（およびアセスルファムK、サッカリン）の面積値が安定しなかったため、溶出後のpHによる各成分面積値の経時変化を調査した。その結果、アルカリ性条件において、アスパルテームの減少と、アセスルファムK、サッカリンの増加が見られた。そこで、ギ酸を用いて酸性に調整したところ、分析時間中における面積値の有意な変化は見られなくなった。

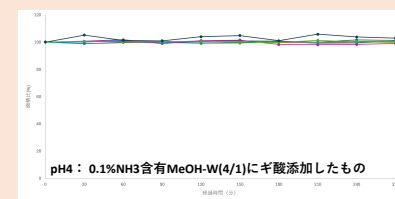
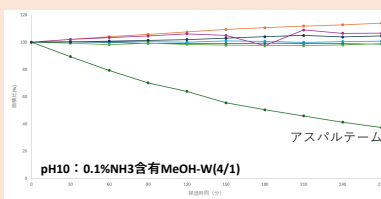


図9 各成分の経過時間による面積値変動 (左: pH 10, 右: pH 4)

検討⑤添加回収試験

表1 ペットボトル飲料における添加回収試験結果 (n=5)

	乳酸菌飲料		リンゴジュース		コーラ		ジンジャーエール	
	平均回収率(%)	RSD(%)	平均回収率(%)	RSD(%)	平均回収率(%)	RSD(%)	平均回収率(%)	RSD(%)
アセスルファムK	86	3.2	77	2.7	77	3.4	85	2.2
サッカリン	97	5.5	103	5.7	85	10.0	101	3.5
アスパルテーム	98	2.6	97	3.4	85	7.9	88	1.9
ズルチン	117	2.9	113	3.3	110	7.5	117	1.6
アドバンテームアシッド	107	2.8	103	4.0	85	7.7	102	2.3
アドバンテーム	124	2.5	129	3.4	101	9.1	115	2.0
ネオテーム	119	7.3	113	4.1	100	9.4	109	2.4

試料中10ppmとなるように標準溶液を添加して分析試料とした。いずれの成分においても良好な回収率、再現性が得られた。

【まとめ】7種類の人工甘味料の分析法について、多検体自動固相抽出装置ST-R100による固相抽出条件の検討を行った。PBXとWAXsを用いて目的成分を保持させ、アンモニア含有メタノール水で溶出させた。市販のペットボトル飲料に試料中10ppmとなるように標準溶液を添加して添加回収試験を行ったところ、いずれの成分においても良好な回収率、再現性が得られた。

【参考文献】

1) 食品中の食品添加物分析法について（平成12年3月30日付け衛化第15号厚生省生活衛生局食品化学課長通知）別添「第2版 食品中の食品添加物分析法」