

# Application News

## No. L439

高速液体クロマトグラフィー  
High Performance Liquid Chromatography

### ステビア抽出物中ステビオール配糖体の分析

Analysis of Steviol Glycosides in Stevia Extract

ステビオール配糖体は、南米原産のキク科多年草であるステビア (*Stevia rebaudiana* Bertoni) の乾燥葉から抽出・精製される天然甘味料です。1970年代に日本ではじめて商品化され、日本では「ステビア抽出物」として第八版食品添加物公定書に収載されています。国際的には、2008年6月開催のJECFA (国連FAO/WHO合同食品添加物専門家会議) 第69回会議において、ステビオール配糖体のADI (一日摂取許容量) が設定され、食品添加物としての使用許可が米国、欧州連合をはじめ各国で活発化しています。

ステビオール配糖体としては、ステビオシド、レバウジオシドAなどが知られており、2010年開催のJECFA第73回会議においては、ステビア抽出物に含まれるステビオール配糖体9成分の合算値が95%以上であることが規格化されました。

ここでは、逆相クロマトグラフィーによるステビア抽出物中ステビオール配糖体9成分の分析例をご紹介します。

Y. Hirao

#### ■ステビオール配糖体9成分の分析

Analysis of Nine Steviol Glycosides

ステビオール配糖体には、JECFAで規定されているステビオシド、レバウジオシドA、レバウジオシドB、レバウジオシドC、レバウジオシドD、レバウジオシドF、ズルコシドA、ルブソシド、ステビオールピオシドの9成分 (構造式は次頁Fig. 2参照) を用いました。Fig. 1に、これらステビオール配糖体9成分混合標準液のクロマトグラムを、Table 1にその分析条件を示します。

Table 1 分析条件  
Analytical Conditions

Column	: Shim-pack CLC-ODS (M) (250 mm L. × 4.6 mm I.D., 5 μm)
Mobile Phase	: A / B = 68 / 32 (v / v) A: 10 mmol/L Phosphate (Sodium) Buffer (pH 2.6) B: Acetonitrile
Flow Rate	: 1.0 mL/min
Column Temp.	: 40 °C
Detection	: SPD-20A at (210 nm)
Injection Vol.	: 10 μL

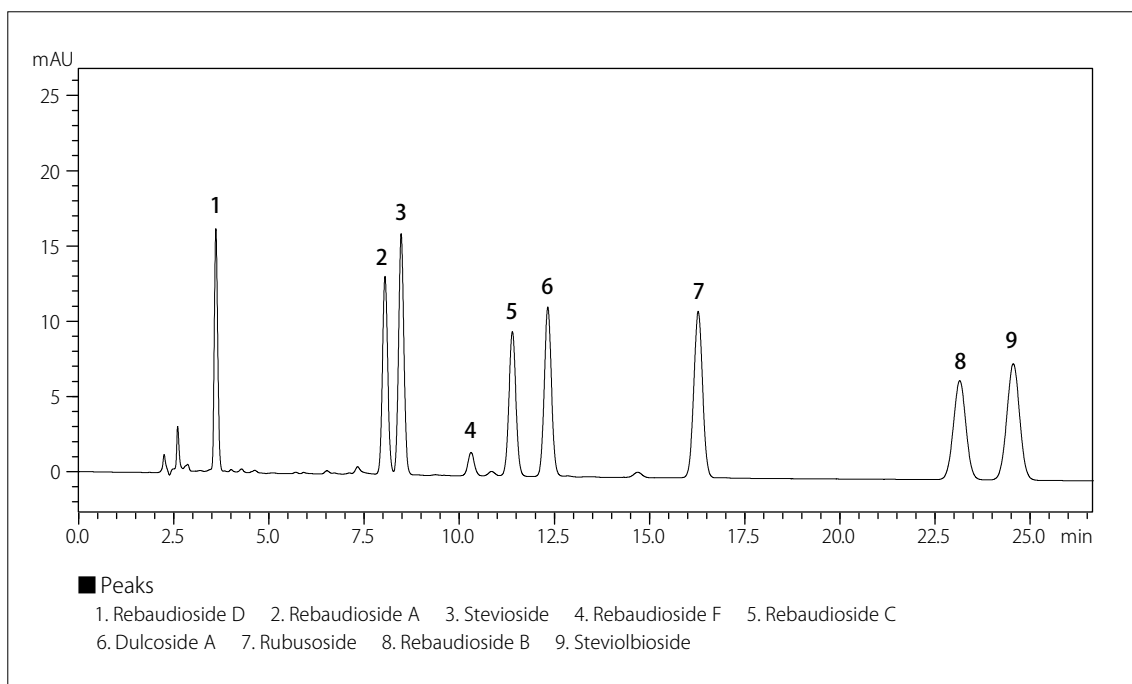


Fig. 1 ステビオール配糖体混合標準液のクロマトグラム (各 50 mg/L, レバウジオシド F のみ 10 mg/L)  
Chromatogram of a Standard Mixture of Nine Steviol Glycosides (50 mg/L each, except Rebaudioside F 10 mg/L)

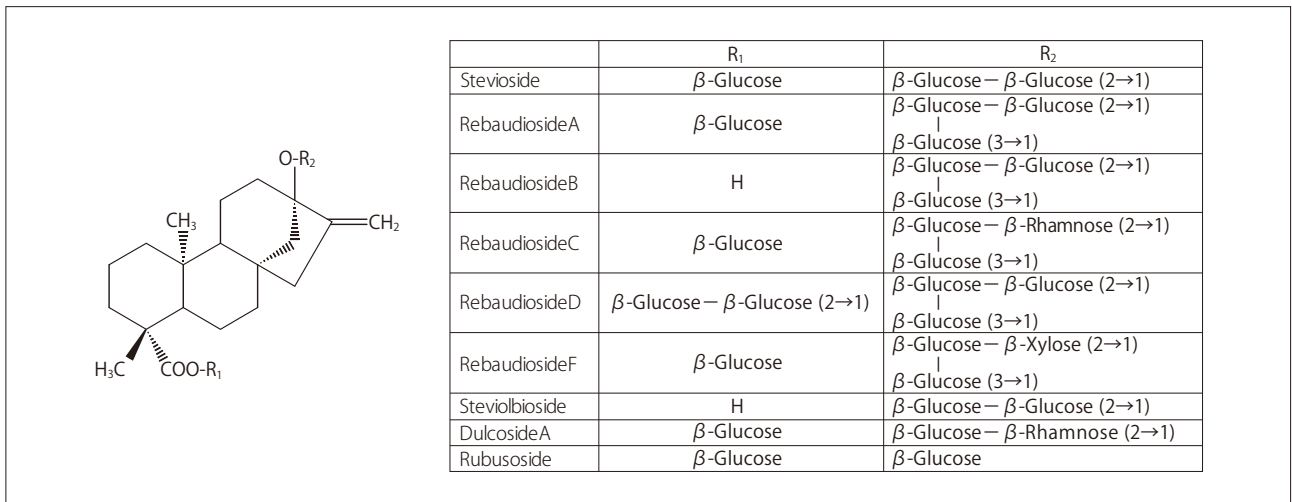


Fig. 2 ステビオール配糖体 9 成分の構造式  
Structures of Nine Steviol Glycosides

## ■ステビア抽出物の分析

### Analysis of Stevia Extract Samples

Fig. 3, Fig. 4 に、ステビア抽出物 2 種類のクロマトグラムを示します。各試料は 100 mg/L に調製し、10 μL を注入しました。

ステビア抽出物 A は、レバウジオシド A を 60 %、またス

テビア抽出物 B は、レバウジオシド A を 95 % 含む製品です。レバウジオシド A は、閾値付近で砂糖の約 450 倍の甘味度があり、後味、苦味、渋味が少なく比較的砂糖に近い甘味質とされています。

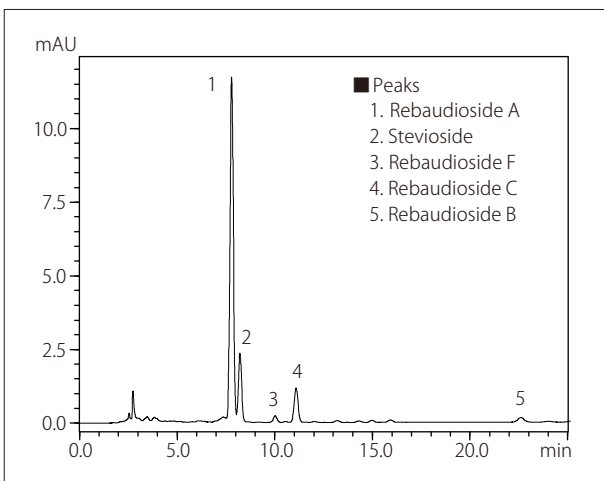


Fig. 3 ステビア抽出物 A (MORITA RA60) のクロマトグラム  
Chromatogram of Stevia Extract A - MORITA RA60

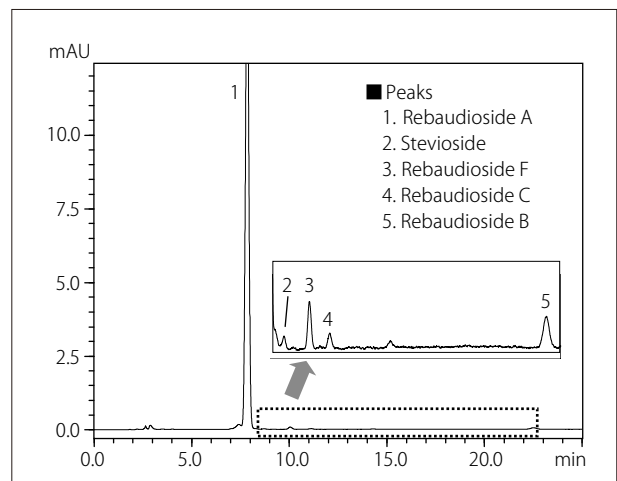


Fig. 4 ステビア抽出物 B (MORITA RA95) のクロマトグラム  
Chromatogram of Stevia Extract B - MORITA RA95

※ステビオール配糖体 9 成分混合標準液は、株式会社創造科学研究所様および和光純薬工業株式会社様より、またステビア抽出物は、守田化学工業株式会社様よりご提供いただきました。

#### [参考文献]

- 1) 多田敦子, 石附京子, 岩村淳一, 三上博久, 平尾美子, 岡 順子, 楠本美紀, 山名未早希, 藤田 功, 山崎 壮, 河村葉子: 第 100 回日本食品衛生学会学術講演会 (2010)
- 2) A. Tada, K. Ishizuki, K. Takahashi, N. Sugimoto, J. Iwamura, H. Mikami, I. Fujita, T. Yamazaki, H. Akiyama, Y. Kawamura: 125th AOAC Annual Meeting, AOAC INTERNATIONAL (2011)