

LC Application News — Application Brief No. 60

自動プレカラム誘導体化法によるアスパルテームの分析



甘味料には砂糖や水あめのような食品と、アスパルテーム、サッカリンナトリウム、ステビア抽出物などの食品添加物とがあります。食品添加物の甘味料は、高甘味度甘味料と低甘味度甘味料に分けることができます。アスパルテームは高甘味度甘味料で、砂糖に対して約200倍の甘みがあり、低カロリー甘味料として食品や清涼飲料水などに広く用いられています。これらの食品添加物は過度の摂取を避けるため、成分規格や使用基準が定められているものもあります。

アスパルテームの分析の前処理は試料中のマトリックスによります。低脂肪分の試料は低いpHで超音波抽出による液体抽出が可能です。しかし、より複雑なマトリックスを含む試料の場合には、固相抽出、液/液抽出あるいは水蒸気蒸留などが必要かもしれません。

ここでは、自動プレカラム誘導体化法によるアスパルテームの分析をご紹介します。アスパルテームはL-アスパラギン酸とL-フェニルアラニンメチルエステルを縮合させて製造するジペプチドで、o-フタルアルデヒド(OPA)で誘導体化し逆相系カラムで分析を行います。検出下限(S/N=2)は蛍光検出器(FLD)で200pg、ダイオードアレイ検出器(DAD)で1ngでした。また、10回連続分析したときの再現性は保持時間の相対標準偏差(RSD)は0.1%以下、ピーク面積値のRSDは5%以下でした。

■誘導体化アスパルテームのクロマトグラム

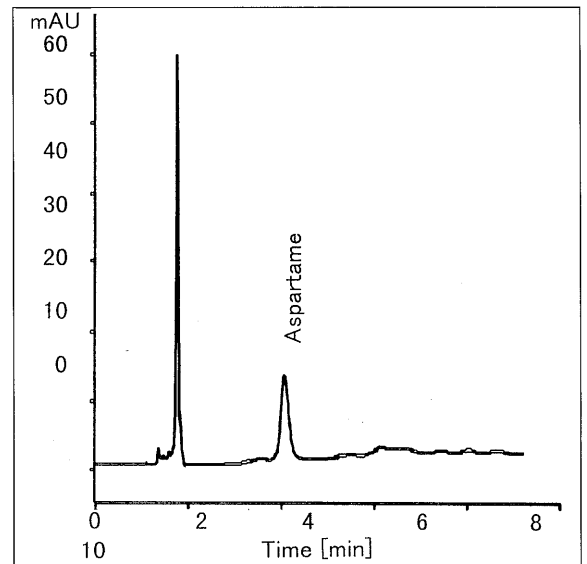


Fig. 1 Chromatogram of derivatized aspartame

Table 1 Conditions

| | |
|--|---|
| Derivatization agent | : o-phthalaldehyde(OPA) mercapto-propionic acid(MPA) |
| Column | : Hypersil ODS, 2.1x150mm, 5 μ m |
| Mobile phase | : A=10mM sodium acetate B=methanol |
| Gradient | : B5% (0min) → 25% (5min) → 35% (10min) → 55% (13min) → 80% (18min) → 95% (20min) |
| Flow rate | : 0.35ml/min |
| Post time | : 5min |
| Column temp. | : 40°C |
| Injection vol. | : 1 μ l |
| Injector program for online derivatization | : 1. Draw 5.0 μ l from vial 2 (borate buffer) 2. Draw 0.0 μ l from vial 3 (water) 3. Draw 1.0 μ l from vial 1 (OPA/MPA) 4. Draw 0.0 μ l from vial 3 (water) 5. Draw 1.0 μ l from sample 6. Mix 7.0 μ l (6 cycles) 7. inject |
| Detector | : DAD 328/20nm FLD Ex230nm, Em445nm |

■アスパルテームとその誘導体化物のスペクトル

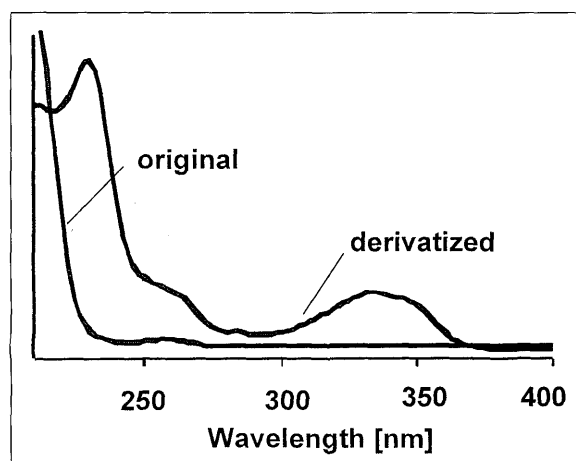


Fig. 2 Spectra of derivatized and non-derivatized aspartame.

■References

1. *Official Methods of analysis, Food Compositions; Additives, Natural Contaminants*, 15th ed; AOAC: Arlington, VA, 1990, Vol.2.; Official Method AOAC 979.08: Benzoate, caffeine, saccharin in soda beverages.
2. R.Schuster, "Selective detection of the food additive aspartame" *Hewlett-Packard Application Note* 5954-0828, 1986.
3. A.M.Di Pietra et al., "HPLC analysis of aspartame and saccharin in pharmaceutical and dietary formulations"; *Chromatographia*, 1990, 30, 215-219.