

醤油中のグリチルリチン酸二ナトリウムの分析

カンゾウ(甘草)の根に含まれているグリチルリチン酸は抗炎症作用、免疫調節作用などの薬効があるだけでなく、甘味度はスクロースの300倍の強さがある¹⁾ため甘味料として様々な食品に添加されています。カンゾウから精製されたグリチルリチン酸二ナトリウムは「第9版 食品添加物公定書」(2018)により、醤油及びみそ以外の食品への使用が禁止されています。

食品中のグリチルリチン酸二ナトリウムの分析法は「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)の別添「第2版 食品中の食品添加物分析法」により定められていますが、令和元年6月28日に改正されました(令和元年6月28日付け薬生食基発0628第1号_薬生食監発0628第1号)。

改正された分析法では、精製法が順相固相抽出カラムに変更され、また、グリチルリチン酸二ナトリウムの確認分析法としてLC-MS又はLC-MS/MSによる分析が追加されました。今回は改正された分析法に基づき、醤油を順相固相抽出カラムで前処理してグリチルリチン酸二ナトリウムを定量し、LC/MSで確認分析を行いました。



高速液体クロマトグラフ
Chromaster®

1) 前橋 健二. 甘味の基礎知識, 醸協, 2011,106, 818-825.

グリチルリチン酸標準溶液の分析

✓ グリチルリチン酸二ナトリウムはグリチルリチン酸として定量を行います。

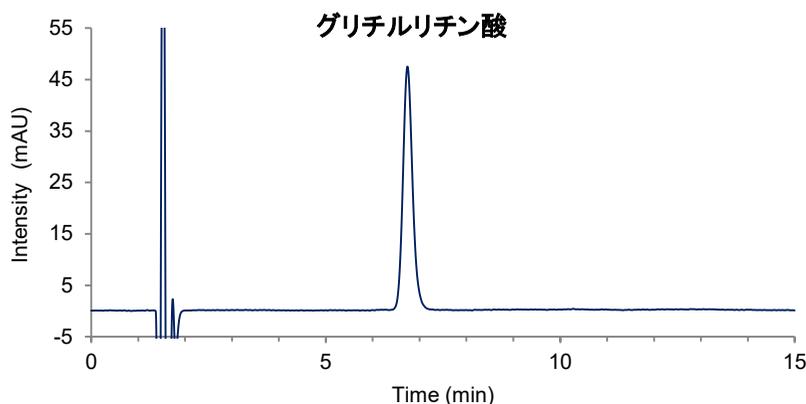


図1 標準溶液 (100 µg/mL) のクロマトグラム

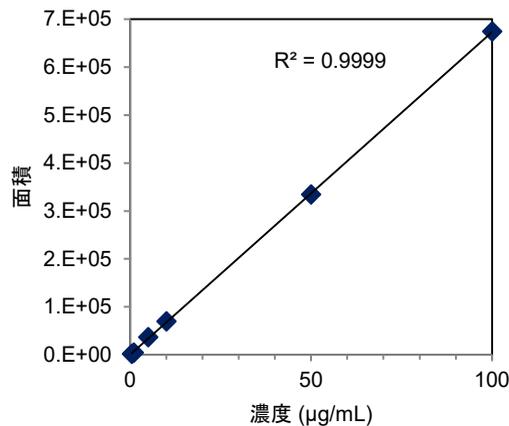


図2 検量線 (0.5 -100 µg/mL)

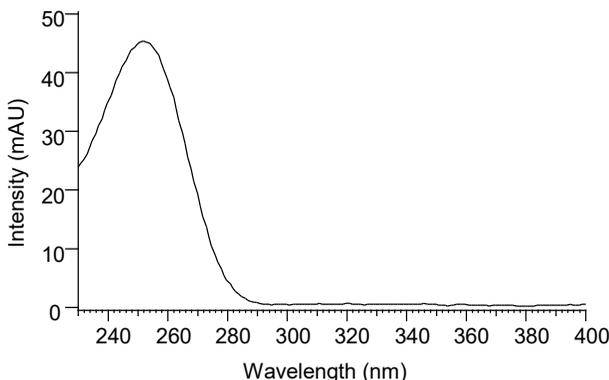


図3 標準溶液 (100 µg/mL) のスペクトル

表1 グリチルリチン酸の測定条件

| | |
|-------|---|
| カラム | InertSustain C18 5µm 4.6 x 150 mm (ジーエルサイエンス社製 Cat.No. 5020-07345) |
| 移動相 | アセトニトリル/2%酢酸混液 (37/ 63) |
| 流速 | 1.0 mL/min |
| カラム温度 | 40°C |
| 検出波長 | 254 nm |
| 注入量 | 10 µL |

醤油の前処理方法

✓ 市販の醤油を 順相固相抽出カラムInertSep AL-Nで精製しました。

■抽出（液状食品）

試料 10.0 g

1%アンモニア水・メタノール試液¹⁾を加えて100 mLとする

振とう

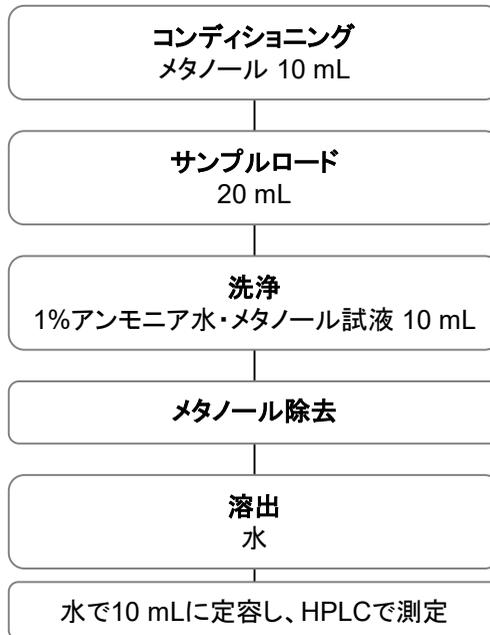
遠心分離 3000 min⁻¹, 10 min

上層 20 mL

精製工程へ

■精製

固相抽出カラム: InertSep Slim-J AL-N
(ジーエルサイエンス社製 Cat.No.5010-65402)



固相抽出カラム
InertSep Slim-J AL-N

1) 1%アンモニア水・メタノール試液: アンモニア水(含量28%) 10 mL + メタノール 270 mL

醤油中のグリチルリチン酸の分析

✓ 前処理した醤油を測定し、グリチルリチン酸含量を次式により計算しました。

$$\text{グリチルリチン酸含量 (g/kg)} = \frac{C \times V \times 5}{W \times 1000}$$

C : 試験溶液中のグリチルリチン酸濃度 (μg/mL)

V : 試験溶液の容量 (mL)

W : 試料の採取量 (g)

✓ 醤油を3回前処理し再現性の確認を行ったところ、濃度の相対標準偏差(RSD) は 3.9% となりました。

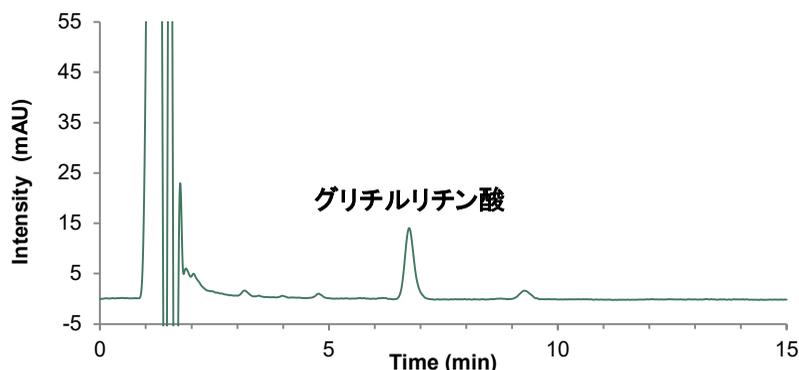


図4 醤油抽出液のクロマトグラム

表2 再現性 (n=3)

| n | 濃度 (g/kg) |
|--------|-----------|
| 1 | 0.132 |
| 2 | 0.122 |
| 3 | 0.126 |
| Ave. | 0.127 |
| RSD(%) | 3.9 |

LC/MSによるグリチルリチン酸二ナトリウム確認分析

- ✓ 改正された分析法に従い、醤油中のグリチルリチン酸 (MW: 822.9)をChromaster 5610質量検出器を用いて確認分析を行いました。
- ✓ m/z 821.4 をターゲットとして選択イオンモニタリング (SIM) モードで分析した結果、醤油中の夾雑成分の影響を受けずにグリチルリチン酸を定性できることを確認できました。

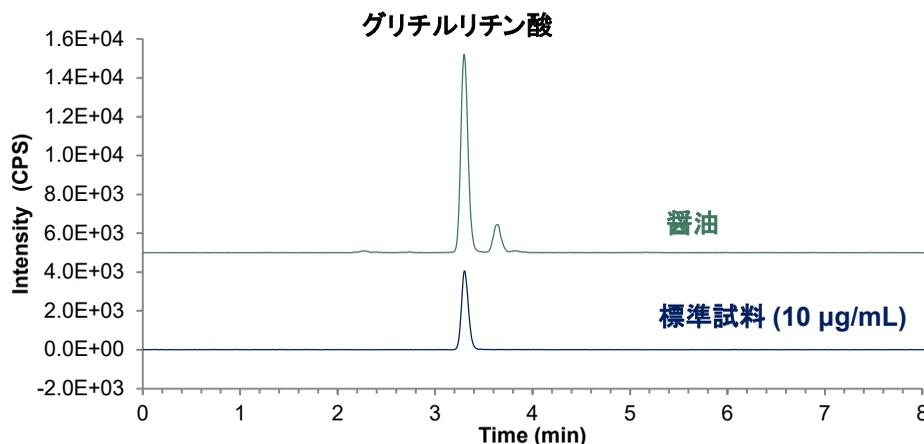


図5 標準試料および醤油抽出液のクロマトグラム (m/z 821.4)

表3 グリチルリチン酸の確認分析の測定条件



| | |
|--------|--|
| カラム | InertSustain C18 5µm 4.6 x 150 mm (ジールサイエンス社製 Cat.No. 5020-07345) |
| 移動相 | 0.2%ギ酸含有アセトニトリル/ 0.2%ギ酸 (50/ 50) |
| 流速 | 1.0 mL/min |
| カラム温度 | 40°C |
| イオン化法 | ESI, 負イオン |
| イオン化電圧 | 1900 V |
| 測定モード | SIM (m/z 821.4) |
| 注入量 | 10 µL |

<主な装置構成>

Chromaster 5160 ポンプ、5260 オートサンプラ、5310 カラムオープン、5430 ダイオードアレイ検出器、5610 質量検出器

ジールサイエンス株式会社 と株式会社 日立ハイテックサイエンスは本レポートを提携して作成しています。



ジールサイエンス株式会社



株式会社 日立ハイテックサイエンス

【お問い合わせ先】

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.gls.co.jp/technique/app/app_search.html

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も、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。