

高速液体クロマトグラフを用いた清涼飲料水中の糖成分の定量

溝井 雅子 鷓飼 光子

High-performance Liquid Chromatographic Measurement of Sugars in Beverages.

Masako MIZOI, Mitsuko UKAI

High-performance Liquid Chromatography was used to measure sugars in beverages, canned soft drinks and carbonate beverages. A Asahipak NH2P-50 column (250×4.6mm I.D.) was eluted with aceto-nitrile : H₂O=77 : 23 (v/v) at a flow rate of 1.0ml/min. Fructose was eluted at about 10min, glucose at about 14min and sucrose at about 23min.

清涼飲料水には異性化液糖（ブドウ糖と果糖の混合物）が砂糖とともに甘味料として含まれる。異性化液糖は安価で砂糖に匹敵する甘味度を有するので、砂糖の代替として大量に生産され、種々の加工食品に利用されている。特に、異性化液糖は低温において甘味が増すので、冷やして飲む清涼飲料水には有利である。

清涼飲料水中に含まれる異性化液糖の表示は、ブドウ糖果糖液糖や果糖ブドウ糖液糖であり、グルコースやフラクトースの存在が推察できるが、含有量はわからない。

糖分の分離定量法¹⁾には、ペーパークロマトグラフィや薄層クロマトグラフィが従来用いられてきた。しかし、精度に問題があり、ガスクロマトグラフィが使われるようになった。これは精度は高いものの試料の前処理が煩雑である。そこで、実用的な分析法として高速液体クロマトグラフィ（HPLC ; High-performance Liquid Chromatography）が使われている。HPLCでは試料がそのまま分析できるという利点がある。

そこで、HPLCを用いて清涼飲料水中の糖成分を定量した。各種の清涼飲料水についてその糖成分を明らかにできたので、資料としてとりまとめた。

実 験

1. 試 料

清涼飲料水は缶入りのもので、自動販売機で購入した。なお、購入した試料の種類を表1に示した。

表1 試料とした清涼飲料水(1992,10 自動販売機で入手できた缶入りのもの)

種類 ¹⁾		
清涼飲料水	1 栄養調製食品	1
	2 乳飲料	1
	3 ココア飲料	2
	4 ウーロン茶飲料	4
	5 紅茶飲料 ²⁾	14
	6 コーヒー飲料 ³⁾	14
	7 炭酸飲料 ⁴⁾	15
	8 清涼飲料水 ⁵⁾	19
	合計 ⁶⁾	70

¹⁾ 缶に示されている「品名」および「名称」

²⁾ 「紅茶」を含む、また「清涼飲料水」と併記されているものを2個含む

³⁾ 「コーヒー」、「コーヒー入り清涼飲料水」を含む

⁴⁾ 「果汁入り炭酸飲料」を含む

⁵⁾ 「果汁入り清涼飲料」を含む、また「煎茶」「緑茶」「麦芽飲料」「紅茶」は「清涼飲料水」と併記されていた

⁶⁾ 購入したのは68個であったが、そのうち2個は品名を併記していたため合計は70となった

2. 分析条件

試料に同量のアセトニトリルを加え、マイクロフィルター（ミリポア製、 $0.45\mu\text{m}$ ）で濾過処理して微細な不溶物を除去した液を溶離液とし、直接HPLCに注入した。炭酸を含む試料では、サンプリング時に炭酸の気泡がなくなってから、アセトニトリルを加えた。又、栄養調整食品、乳飲料、ココア飲料、紅茶飲料およびコーヒー飲料などの試料はアセトニトリルを加えた後、遠心分離（ $21,000\text{rpm}$ 、 10min ）し、上清を得た。次いで上清を同様に濾過処理し溶離液とした。HPLCの分析条件は以下の通りである。カラムは旭化成工業（株）のNH2P-50（ $250\times 4.6\text{mmI.D.}$ ）、移動相はアセトニトリル：水=77：23、流速は $1.0\text{ml}/\text{min}$ 、カラム温度は室温であった。HPLCはポンプShimadzu LC-9A、示差屈折計検出器RID-6A、データプロセッサ Shimadzu C-R4Aであった。

結果及び考察

図1のAは、標準のフラクトース（ 10.8 分に溶出）、グルコース（ 14.5 分）、シュクロース（ 23.1 分）の混合液を注入したときのクロマトグラムである。代表例として試料8-07を注入したときのクロマトグラムをBに示した。試料中のフラクトース、グルコース及びシュクロースの同定は、標準品と同時注入することによって行った。

標準の糖混合液のクロマトグラムから、いずれのピークも重なり合わず単一のピークとして示されたので、本分析条件で分離可能と考えた。さらに、試料のクロマトグラフでも分離が良いので、この条件で定量した。

尚、糖類のHPLCの検出法については示差屈折計の検出限度が $10\mu\text{g}$ と報告され¹⁾、感度の点で

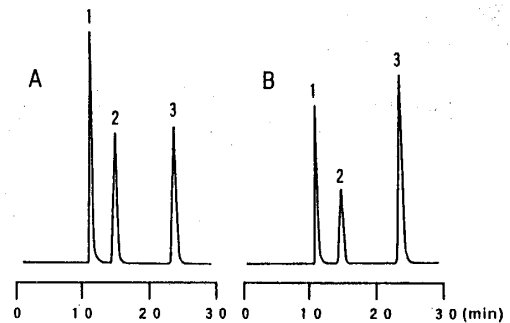


図1. A, 標準のフラクトース（ピーク1）、グルコース（ピーク2）、及びシュクロース（ピーク3）混合液（各5mg）のクロマトグラム 分析条件：カラム，Asahipak NH2P-50（ $250\times 4.6\text{mmI.D.}$ ）；移動相，アセトニトリル：H₂O=77：23；流速， $1.0\text{ml}/\text{min}$ ；検出方法，示差屈折計；注入量， $10\mu\text{l}$
B, 清涼飲料水を試料としたときのクロマトグラム，注入量， $10\mu\text{l}$

限界があるが、清涼飲料水の糖含有量はかなり高く²⁾、この検出限度は影響しなかった。アセトニトリルと水の系の移動相では、ベースラインの乱れが問題になるが¹⁾、試料の注入量を多くしているので、図1のBからもわかるように、この点も問題なかった。

各試料の糖組成を表2に示した。本分析条件では、フラクトース、グルコースおよびシュクロースだけ分離定量しているのので、検出されたものだけを示した。試料中にはステビアやアスパルテームなどの甘味料の含有を示す表示のものもあった。

なお、本分析結果の一部は、食品学実験（1992年開講）において学生が分析した結果も含むものである。

- 1) 食品分析法編集委員会、食品分析法、光琳、東京（1983）p.221
- 2) 科学技術庁資源調査会、四訂日本食品標準成分表、大蔵省印刷局（1983）p.276

表2 清涼飲料水の糖組成

試料	内容量 ¹⁾	糖量 (g/100ml)			試料	内容量 ¹⁾	糖量 (g/100ml)		
		Fructose	Glucose	Sucrose			Fructose	Glucose	Sucrose
1-01	200ml	T ²⁾	0.3	0.1	6-14		0.1	0.2	8.0
2-01	190g	T	0.1	3.2	7-01	350ml	6.8	4.7	0.6
3-01	340g	T	0.1	7.2	02	350ml	3.3	0	0
02	280g	0.1	0.1	5.0	03	350ml	0	0	0
4-01	340g	0	0	0	04	350ml	7.1	4.7	0
02	340g	0	0	0	05	350ml	8.6	5.6	0.2
03	340g	0	0	0	06	350ml	6.6	4.5	0.5
04	340g	0	0	0	07	350ml	8.0	5.3	1.9
5-01	340g	0	0	4.5	08	350ml	8.1	5.4	T
02	340g	T	T	6.4	09	250ml	5.3	4.0	3.3
03	280g	T	T	6.1	10	250ml	7.6	4.2	1.1
04	250g	0	0	4.4	11	350ml	4.8	3.5	2.9
05	250g	T	T	5.9	12	350ml	7.1	4.4	T
06	340g	1.3	1.3	4.4	13	350ml	5.0	3.7	5.8
07	340g	0.2	0.2	4.3	14	345ml	6.7	4.3	T
08	350g	T	T	6.5	15	350ml	6.4	6.5	T
09	280g	T	T	6.5	8-01	350g	7.1	4.4	0
10	345g	0.4	0.4	4.1	02	350g	7.0	4.5	0.1
11	350g	0.1	T	7.4	03	350g	4.3	3.1	1.7
12	340g	4.6	1.0	4.7	04	280g	5.2	5.5	0
13	340ml	0	0	0	05	280g	5.2	4.8	0
14	340g	0.1	T	4.6	06	340g	4.5	0	0
6-01	250g	0	0	8.5	07	350g	1.4	1.2	2.8
02	190g	0	0	4.4	08	350g	6.4	4.4	0
03	190g	0.1	T	6.7	09	350g	2.6	2.1	5.7
04	250g	T	T	6.0	10	190g	T	0.1	2.8
05	240g	0.1	0.1	7.8	11	350g	0.3	1.9	3.6
06	190g	T	T	7.9	12	350g	2.1	3.2	1.7
07	250g	T	0.1	7.5	13	350g	1.1	1.1	1.5
08	280g	T	T	5.3	14	340ml	1.9	2.0	2.6
09	250g	T	T	6.5	15	340ml	2.0	1.0	0.2
10	190g	T	T	6.4	16	340g	0	0	0
11	190g	T	T	7.4	17	340g	0	0	0
12	190g	T	0.1	6.7	18		(5-11と同じ)		
13	190g	T	T	6.4	19		(5-12と同じ)		

¹⁾ 缶に表示されているもの

²⁾ Trace, 0.04g/100ml以下であるが、示差屈折計で検出されたもの