

105 ステビア抽出物, α -グルコシルトランスフェラーゼ処理ステビア及びフルクトシルトランスフェラーゼ処理ステビア

Stevia Extract, α -Glucosyl Transferase-treated Stevia and Fructosyl Transferase-treated Stevia

1. 試験法の概要

食品中のステビア抽出物, α -グルコシルトランスフェラーゼ処理ステビア及びフルクトシルトランスフェラーゼ処理ステビアは, 抽出後, クリーンアップ用カートリッジカラムを用いて精製し, 薄層クロマトグラフィーにより定性する。

2. 試験法 (薄層クロマトグラフィー)

(1) 検体の採取と試料の調製

一般試料採取法を準用する。

(2) 試料液の調製

試料を細切又はすりつぶした後, その約 2.5g を量り, 水 10ml を加え, 10 分間振とう後, 遠心分離 (10 分間, 3,000 回転/分) し, 上澄液を 25ml のメスフラスコに入れる。残留物に水 10ml を加え, 同様の操作を繰り返す。上澄液を先の上澄液と合わせ, 水を加えて正確に 25ml とする。この液 5ml を正確に量り, あらかじめアセトニトリル 3ml 及び水 3ml で洗浄したクリーンアップ用カートリッジカラム¹⁾に静かに注入し, 1~2ml/分の速度で流出させる。流出液は捨て, カラムは 20%アセトニトリル水溶液 3ml を流して洗浄した後, 40%アセトニトリル水溶液 2.5ml 及び 70%アセトニトリル水溶液 2.5ml で溶出する。メンブランフィルター (0.45 μ m) を用いてろ過し, 試料液とする。

(3) 測定法

① 測定条件

次の条件によって測定する。

薄層板: シリカゲルプレート²⁾

展開溶媒: クロロホルム・メタノール・水混液 (65:35:10) (下層)

検出: 5%硫酸を噴霧後, 加熱

② 定性

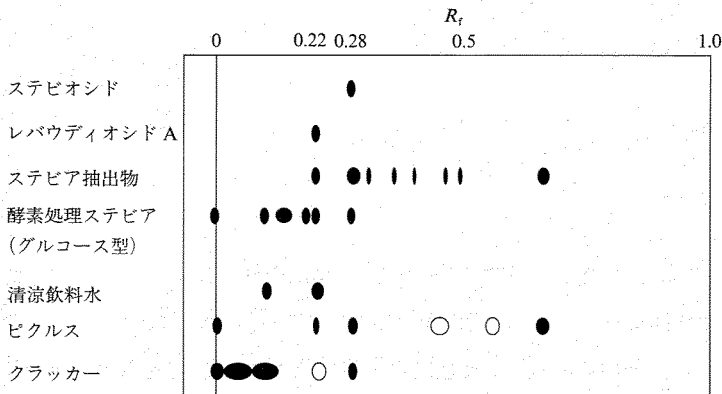
試料液を薄層板にスポットする。得られた試料液のスポットとステビア抽出物あるいは酵素処理ステビアのスポットが一致するかどうか確認する。

試薬・試液

1. クロロホルム：[特級]
2. メタノール：[特級]

[注]

- 1) クリーンアップ用カートリッジカラムは Bond Elut Jr[®] C18 (Varian 社製) 等が使用できる。ステビア抽出物及び酵素処理ステビアは 20%アセトニトリル水溶液 3ml ではまったく溶出されないが、40%アセトニトリル水溶液で酵素処理ステビアが、70%アセトニトリル水溶液でステビア抽出物がほぼ 100%溶出する。
- 2) 薄層板：ANALTECH 社製 UNIPLATE[™] SILICA GEL GF 等が用いられる。薄層クロマトグラフの一例を図に示す。



薄層板：ANALTECH 社製，UNIPLATE[™] SILICA GEL GF
 展開相：クロロホルム・メタノール・水 (65：35：10) (下層)
 検出：5%硫酸を噴霧後，加熱

注図 105-1 ステビアの薄層クロマトグラフ