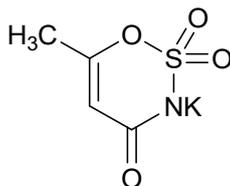


甘味料

アセスルファムカリウム

Acesulfame Potassium

別名：アセスルファムK



$C_4H_4KNO_4S$: 201.24

1. 分析法の概要

食品中のアセスルファムカリウムは、透析法により抽出した後、逆相固相抽出カラム及び強陰イオン交換固相抽出カラムで精製し、液体クロマトグラフィーにより定量する¹⁾。(2001年設定、2023年改正)

2. 分析法 (液体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) 試験溶液の調製

① 透析²⁾

試料約 20 g³⁾を精密に量る⁴⁾。次に約 20 mL⁵⁾の透析内液と混和して流動状とし、少量の透析内液を用いて透析膜チューブ内に移した後、空気を追い出してからチューブの上端を密封し、200 mL 容の目盛り付き容器⁶⁾に入れる。次いで、この目盛り付き容器に透析外液を加えて全量⁷⁾を正確に 200 mL とする。時々、密栓又はフィルム等で覆って目盛り付き容器内を転倒混和しながら室温で 24~48 時間透析し⁸⁾、透析終了後の透析外液を抽出液とする⁹⁾。

② カラムによる精製

抽出液 20 mL を正確にとり、25 mL のメスフラスコに入れ、0.1 mol/L テトラ-*n*-プロピルアンモニウム臭化物溶液 2 mL を加え、水を加えて 25 mL とする。この液 5 mL を正確にとり、逆相固相抽出カラム¹⁰⁾に負荷し¹¹⁾、水 10 mL を通して洗浄する。次いで、逆相固相抽出カラムの溶出口に強陰イオン交換固相抽出カラム¹²⁾を接続し、水/メタノール混液 (6 : 4) 10 mL を負荷¹¹⁾後、逆相固相抽出カラムを取り外す。強陰イオン交換固相抽出カラムに 0.3 w/v % リン酸 5 mL、次いで水 5 mL を通して洗浄した後、0.3 mol/L 塩酸 5 mL で溶出し、溶出液を 0.3 mol/L

塩酸で正確に5 mL とする。この液をメンブランフィルター (0.45 μ m) でろ過したものを試験溶液とする。

(3) 検量線用標準溶液の調製¹³⁾

アセスルファミウム 0.160 g を量り、水を加えて溶かして正確に 100mL とする。その 1 mL を正確にとり、水を加えて正確に 100mL とし、標準溶液とする (濃度 16 μ g/mL)。標準溶液 0.5、1、2、5 mL 及び 10mL を正確にとり、水を加えてそれぞれ正確に 10mL とし、検量線用標準溶液とする (濃度 0.8~16 μ g/mL)。

(4) 測定法

① 測定条件¹⁴⁾

紫外可視吸光度検出器付液体クロマトグラフにより、次の条件によって測定する。

カラム充填剤¹⁵⁾ : アミノプロピル基化学結合型シリカゲル (粒径 5 μ m)

カラム管 : 内径 4.6mm、長さ 250mm

カラム温度 : 40 $^{\circ}$ C

移動相¹⁶⁾ : アセトニトリル / 1 w / v % リン酸混液 (6 : 4)

流速 : 1.0mL / 分

測定波長 : 230nm

注入量 : 10 μ L

② 検量線

検量線用標準溶液を液体クロマトグラフに注入し、ピーク面積から検量線を作成する。

③ 定量^{17~20)}

試験溶液を液体クロマトグラフに注入し、得られたピーク面積と検量線によって試験溶液中のアセスルファミウム濃度 (μ g/mL) を求め、次式によって試料中のアセスルファミウム含量 (g/kg) を計算する。

$$\text{アセスルファミウム含量 (g/kg)} = \frac{C \times 200 \times 25}{W \times 20 \times 1000}$$

C : 試験溶液中のアセスルファミウム濃度 (μ g/mL)

W : 試料の採取量 (g)

④ 定量限界 0.01 g/kg

試薬・試液等

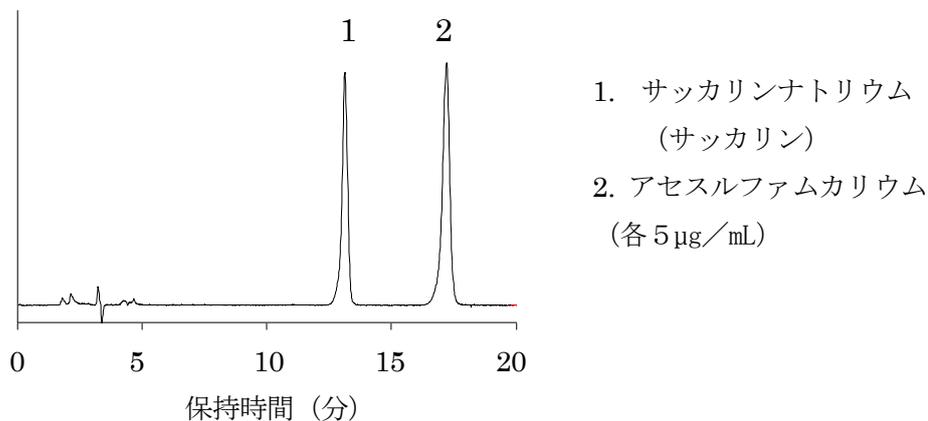
1. アセスルファミウム : 市販品を用いる。
2. 塩化ナトリウム : [特級]

3. 塩酸：[特級]
4. 透析内液²¹⁾：塩化ナトリウム 100 g を 0.01mol/L 塩酸に溶解して 1000mL とする。
5. 透析外液²¹⁾：0.01mol/L 塩酸
6. 透析膜チューブ：透析用セルロース製チューブ（平面幅 44mm、直径 28mm、膜厚 0.0203mm）を適当な長さに切ったものを水で洗浄し、片端を結んで閉じる。
7. テトラ-*n*-プロピルアンモニウム臭化物：[特級]
8. 0.1mol/L テトラ-*n*-プロピルアンモニウム臭化物溶液：テトラ-*n*-プロピルアンモニウム臭化物 26.6 g に水を加えて 1000mL とする。
9. メタノール：[高速液体クロマトグラフィー用]
10. 逆相抽出カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル固相抽出カラム（1 g）。あらかじめメタノール 10mL、水 10mL を順次通してコンディショニングしたものを用いる。
11. 強陰イオン交換固相抽出カラム：トリメチルアミノプロピル化シリカゲル固相抽出カラム（500mg）。あらかじめメタノール 5 mL、水 5 mL を順次通してコンディショニングしたものを用いる。
12. リン酸：[85%、特級]
13. 1 w/v % リン酸：リン酸 11.8 g に水を加えて 1000mL とする。
14. 0.3 w/v % リン酸：1 w/v % リン酸 30mL に水を加えて 100mL とする。
15. 0.3mol/L 塩酸：塩酸 2.7mL を量り、水を加えて 100mL とする。
16. アセトニトリル：[高速液体クロマトグラフィー用]
17. 0.1mol/L 塩酸：塩酸 9 mL に水を加えて 1000mL とする。
18. 0.01mol/L 塩酸：0.1mol/L 塩酸 100mL に水を加えて 1000mL とする。

[注]

- 1) アセスルファムカリウムを特定する必要がある場合には、参考を示す分析法を用いることができる。
- 2) アスパルテーム分析法の（2）試験溶液の調製①透析と共通である^{文献1、文献2}。
- 3) 試料のかさが大きい場合や水分を含むと膨張する場合は、試料採取量を 5～10 g に減らす。
- 4) 炭酸を多く含む試料の場合は、試料の秤量後に、超音波処理によりその大部分を除去する。また、脂肪分を多く含む試料の場合は、試料の秤量後に、ヘキサン約 20mL ずつで 2～3 回洗浄した後、ヘキサン臭がなくなるまで放置又は加温する。ただし、乳化した食品（ピーナッツバター、マヨネーズ等）は脱脂操作を省略できる。
- 5) 試料と混和して流動状にならない場合は、透析内液を適宜追加する。
- 6) 正確に 200mL を量ることができる目盛精度を有する容器。透析チューブの実効長が 15cm の場合は直径（内径）4 cm 以下がよい。
- 7) 試料、透析内液、透析外液の合計量。

- 8) 透析膜チューブの実効長約 15cm の場合、アセスルファミウムは、水分含量の高い食品において 24 時間で十分透析されるが、穀類の調製品や魚介乾製品等の水分含量の低い食品や、はっ酵乳等の乳製品では、透析効率が低下する傾向があるため、48 時間透析を行う。また、より実効長の長い透析膜チューブを用いる既報^{文献³⁾}に記された透析条件を用いることにより、穀類の調製品や乳製品においても 4 時間の透析で、上記方法と同等以上（クッキーにアセスルファミウム 0.1 g/kg 添加した時の添加回収率 98%及び相対標準偏差 0.6% (n = 5)) の透析率が得られる。
- 9) 食品中の夾雑成分による妨害ピーク及びマトリックス効果による保持時間変動等の影響がない場合は、透析による抽出液をメンブランフィルター (0.45µm) でろ過したものを試験溶液として用いることができる。
- 10) メーカーにより溶出条件が異なるため、あらかじめ、標準溶液を用いて溶出挙動を確認する。
- 11) 毎分 3～4 mL の流速で流す。
- 12) メーカーにより溶出条件が異なるため、あらかじめ、標準溶液を用いて溶出挙動を確認する。
- 13) 検量線用標準溶液の濃度及び数は、必要があれば、直線性が確保できる範囲で、適宜、変更してもよい。
- 14) 測定条件は例示である。他のカラム、条件を用いる場合は、サッカリンとアセスルファミウムが分離することが必要である。また、分析の際は、アセスルファミウムのピークが妨害ピークの影響を受けないことを確認する。
- 15) 分析に用いるアミノプロピル基化学結合型シリカゲルカラムは、シリカゲルにアミノプロピル基が化学結合した順相系カラムである。なお、アミノプロピル基化学結合型シリカゲルカラムは、移動相を水に変えて洗浄すると再現性が悪くなるので、移動相で洗浄するとよい。
- 16) 移動相は 1 w/v%リン酸/メタノール混液 (6 : 4) 又はメタノール/1 w/v%リン酸混液 (6 : 4) 等も使用できる。アセトニトリル/1 w/v%リン酸混液 (6 : 4)、1 w/v%リン酸/メタノール混液 (6 : 4)、メタノール/1 w/v%リン酸混液 (6 : 4) の順に保持時間が長く (溶出が遅く) なる。妨害成分が多いと予想されるもの (高タンパク食品等) は保持時間が長い (溶出が遅い) 条件で分析すると良好な結果が得られることが多い。食品の種類によっては、保持時間が短い条件で妨害成分との分離が良い場合もあり、3種類の移動相を使い分けることにより、ほとんどの食品で固相抽出カラムによる精製を省略することが可能である。
- 17) アセスルファミウム及びサッカリンナトリウムの液体クロマトグラム例を注図 1 に示す。



<測定条件>

カラム充填剤：アミノプロピル基化学結合型シリカゲル（粒径 5 μm）

カラム管：内径 4.6mm、長さ 250mm カラム温度：40°C

流速：1.0mL/分 検出器：紫外可視吸光度検出器（230nm） 注入量：10μL

移動相：1 w/v %リン酸/メタノール混液（6：4）

注図1 アセスルファムカリウム及びサッカリンナトリウムの液体クロマトグラム

- 18) フォトダイオードアレイ検出器を用いて検出されたピークについては、UVスペクトルによる確認をし、疑義がある場合には、確認分析法を行う。
- 19) アセスルファムカリウムを紅茶及びヨーグルトドリンクに 0.01 g/kg 添加した時の 24 時間透析での添加回収率は 95% 及び 86%（相対標準偏差は 3.5 及び 1.6%）であり、ヨーグルトドリンク及びビスケットに 0.01 g/kg 添加した時の 48 時間透析での添加回収率は 90% 及び 88%（相対標準偏差はいずれも 1.5%）であった（n = 5）。
- 20) 本法では、操作の煩雑さ軽減のため、試料体積を含めて定容し、その定容量を含量計算で乗じている。そのため、固体試料等では透析外液量を乗じた値より数%～10%程度高い定量値となる場合があり、添加回収率が 100%を越えて高い場合には、この点が要因の一つとして考えられる。
- 21) 魚介乾製品のようにタンパク質の多い試料の場合には、0.02mol/L 水酸化ナトリウム溶液を透析内液及び透析外液として用いた方がよい回収率が得られる。サッカリンと同時に抽出できるが、アスパルテームは、アルカリ性下で分解するため抽出できない。

[文献]

- 1) 守安貴子ら：衛生化学、**37**、97（1991）
- 2) 守安貴子ら：食衛誌、**37**、91（1996）
- 3) 田原正一ら：食衛誌、**55**、13（2014）

参考

アセスルファムカリウム確認分析法

1. 分析法の概要

食品中のアセスルファムカリウムは、液体クロマトグラフィー質量分析により確認を行う¹⁾。
(2023年設定)

2. 分析法（液体クロマトグラフィー質量分析）

（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）試験溶液の調製

アセスルファムカリウム分析法（2）試験溶液の調製①透析抽出法により得られた抽出液を適宜希釈して、メンブランフィルターでろ過したものを試験溶液とする。

（3）標準溶液の調製

アセスルファムカリウム分析法（3）標準溶液の調製を準用し、定性に適した濃度の標準溶液を調製する。

（4）測定法

① 測定条件²⁾

液体クロマトグラフ質量分析計（LC-MS）を用い、次の条件によって測定する。

カラム充填剤：オクタデシルシリル化シリカゲル（粒径 5 μm）

カラム管：内径 2.0mm、長さ 150mm

カラム温度：40℃

移動相：0.1%ギ酸/メタノール混液（85：15）

流速：0.2mL/分

イオン化モード：ESI（-）

検出法：スキャン（ m/z 50~250）又は

選択イオンモニタリング（SIM）（モニターイオン： m/z 162）

注入量：5 μL

② 定性³⁾

試験溶液及び標準溶液をLC-MSに注入し、試験溶液のクロマトグラム上で、標準溶液で検出されたピークと同じ保持時間にピークが検出されること、このピークのスキャン検出で得られるマススペクトルの主なイオンの m/z が標準溶液の主ピークのそれと一致することを確認する。

試薬・試液等

1. アセスルファムカリウム分析法の試薬・試液等を準用する。
2. ギ酸：[98%、特級]
3. 0.1%ギ酸：市販品を用いるか、あるいは、ギ酸 1.0 g に水を加えて 1000mL とする。

[注]

- 1) ガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS)により確認を行う方法^{文献1)}も使用できる。
- 2) 測定条件は、例示である。用いるカラムによって、流速及び注入量等を調整する。分析の際は、アセスルファムカリウムのピークが妨害ピークの影響を受けないことを確認する。その他の測定条件は各測定機器に従い、標準溶液の強度が最大になるように、あらかじめ最適化を行う。
- 3) LC-MSを用いて定性確認を行う場合、食品中の夾雑成分によるマトリックス効果により確認を見誤るおそれがあるため、別途、対象試料の試験溶液に標準溶液を添加し、ピークの検出感度やマススペクトルの変化について確認する。

[文献]

- 1) 守安貴子ら：食衛誌、**34**、277 (1993)