

스테비올배당체  
Steviol Glycoside

이 명: Stevioside; Rebaudioside A

INS No.: 960

CAS No.: 57817-89-7  
58543-16-1

**정 의** 이 품목은 스테비아(*Stevia rebaudiana* Bertoni)의 건조잎을 열수로 추출하여 얻어진 수용성추출물을 흡착수지로 처리하여 농축한 다음, 메탄올 또는 에탄올을 사용하여 재결정 등의 정제를 거친 후 건조하여 얻어지는 것으로서 주성분은 스테비올배당체(steviol glycoside)이다.

**합 량** 이 품목은 건조한 다음 정량할 때, 총 스테비올배당체(steviol glycoside)로서 95.0% 이상을 함유한다.

**성 상** 이 품목은 백~옅은 황색의 분말, 박편 또는 과립으로서 냄새가 없거나 또는 약간 특유한 냄새를 가지며 강한 단맛이 있다.

**확인시험** 이 품목 0.5g을 물 100mL에 녹인 액을 시험용액으로 하고, 정량용 스테비오사이드 및 리바우디오사이드 A를 각각 5mg씩을 취하여 물 10mL에 녹인 액을 표준용액으로 한다. 시험용액 및 표준용액을 정량법의 조작조건에 따라 액체크로마토그래피를 행할 때, 시험용액의 주피크의 유지시간은 표준용액의 스테비오사이드 및 리바우디오사이드 A의 양쪽 피크의 유지시간 또는 한쪽 피크의 유지시간과 일치한다.

**순도시험** (1) 액성 : 이 품목의 수용액(1→100)의 pH는 4.5~7.0이어야

한다.

(2) 비소 : 이 품목을 비소시험법에 따라 시험할 때, 그 양은 1.3ppm 이하이어야 한다.

(3) 납 : 이 품목 약 10g을 정밀히 달아 백금제 또는 석영제 도가니에 넣고 황산 소량을 가하여 적신 다음 서서히 가열하여 가능한 한 저온에서 예비회화한 후, 다시 황산 1mL을 가하고 천천히 가열하여 450~550°C에서 회화될 때까지 강열한다. 회화가 끝나면 잔류물에 소량의 질산(1→150)을 가하여 녹이고, 다시 질산(1→150)을 가하여 10mL로 한 액을 시험용액으로 하여 원자흡광광도법 또는 유도결합플라즈마발광광도법에 따라 시험할 때, 그 양은 1.0ppm 이하이어야 한다.

(4) 잔류용매 : 이 품목 2g을 정밀히 달아 300mL 환저플라스크에 넣고, 물 200mL을 가해 주고, 비등석 및 실리콘수지 1mL을 넣고 잘 섞어준다. 이에 증류장치를 장착한 다음 100mL용량의 플라스크 수기에 내부표준용액 4mL을 정확히 취하여 가해 주고 기포가 넘치지 않도록 조정하면서 1분에 2~3mL의 증류 속도로 유액이 약 90mL가 될 때까지 증류한 다음 물을 가하여 100mL로 한 액을 시험용액으로 한다. 다만, 내부표준용액은 tert-부틸알콜(1→1,000)을 사용한다. 따로, 메탄올 0.5g을 정밀히 달아 물을 가하여 500mL로 하고, 다시 이액 2mL 및 내부표준용액 4mL을 취한 다음 물을 가하여 100mL로 한 액을 혼합표준용액으로 한다. 시험용액 및 혼합표준용액을 각각 2 $\mu$ L씩 취하여 다음의 조작조건으로 가스크로마토그래피에 주입한다. 이어서 시험용

액 및 혼합표준용액 중의 tert-부틸알콜피크면적에 대한 메탄올의 피크면적비  $Q_T$  및  $Q_S$ 을 각각 구하여 다음 계산식에 따라 메탄올의 양을 구할 때, 그 양은 200ppm 이하이어야 한다.

$$\text{메탄올의 양(\%)} = \frac{\text{메탄올의 채취량(g)}}{\text{검체의 채취량(g)}} \times \frac{Q_T}{Q_S} \times \frac{2 \times 100}{500 \times 100} \times 100$$

$Q_T$  : 시험용액의 tert-부틸알콜에 대한 메탄올의 피크면적비

$Q_S$  : 혼합표준용액의 tert-부틸알콜에 대한 메탄올의 피크면적비

### 조작조건

칼 럼 : PLOT Q 또는 이와 동등한 것

검 출 기 : 수소염이온화검출기(FID)

주입구온도 : 200℃

칼 럼 온 도 : 120℃

검출기온도 : 300℃

캐리어가스 : 질소 또는 헬륨

회 분 이 품목 1g을 취하여 회분시험법에 따라 시험할 때, 그 양은 1% 이하이어야 한다.

건조감량 이 품목 2g을 105℃에서 2시간 건조할 때, 그 감량은 6% 이하이어야 한다.

정 량 법 이 품목을 105℃에서 2시간 건조한 다음 약 50~100mg을 정밀히 달아 물:아세트니트릴(7:3) 혼액에 용해하여 50mL로 한 액을 시험용액으로 한다. 따로 스테비오사이드 및 리바우디오사이드 A 표준품을 105℃에서 2시간 건조한 다음 각각 50mg을 정밀히 달아 물:아세트니트릴

(7:3) 혼액에 용해하여 50mL로 한 액을 표준용액으로 한다. 시험용액 및 표준용액을 각각 다음의 조작조건으로 액체크로마토그래피에 주입하여 총 스테비올배당체의 함량을 구한다. 시험용액의 돌코사이드 A, 루부소사이드, 리바우디오사이드 A, 리바우디오사이드 B, 리바우디오사이드 C, 리바우디오사이드 D, 리바우디오사이드 E, 리바우디오사이드 F, 리바우디오사이드 M, 리바우디오사이드 N, 리바우디오사이드 O, 스테비올비오사이드, 스테비오사이드의 피크 머무름 시간과 혼합 표준용액의 상기 13가지 성분의 피크 머무름 시간을 비교하여 확인한다. 상기 13가지 성분의 검출순서는 리바우디오사이드 E, 리바우디오사이드 O, 리바우디오사이드 D, 리바우디오사이드 N, 리바우디오사이드 M, 리바우디오사이드 A, 스테비오사이드, 리바우디오사이드 F, 리바우디오사이드 C, 돌코사이드 A, 루부소사이드, 리바우디오사이드 B, 스테비올비오사이드 순이다. 정량은 시험용액의 13가지 성분의 피크 면적을 각각 구하고 다음 계산식에 따라 리바우디오사이드 A를 제외한 12가지 성분의 함량과 리바우디오사이드 A의 함량을 구한 다음 그 합계를 스테비올배당체의 함량으로 한다.

$$X \% = \frac{W_s}{W} \times \frac{A_x \times f_x}{A_s} \times 100$$

$$\text{리바우디오사이드 A\%} = \frac{W_R}{W} \times \frac{A_x}{A_R} \times 100$$

X : 각각의 스테비올배당체

W<sub>S</sub> : 표준용액의 스테비오사이드 함량(mg)

W<sub>R</sub> : 표준용액의 리바우디오사이드 A 함량(mg)

W : 시험용액의 검체 함량(mg)

A<sub>S</sub> : 표준용액의 스테비오사이드 피크면적

A<sub>R</sub> : 표준용액의 리바우디오사이드 A 피크면적

A<sub>X</sub> : 시험용액 중 X의 피크면적

f<sub>X</sub> : 스테비오사이드에 대한 X의 분자량 비율

(스테비오사이드 1.00, 리바우디오사이드 A 1.20, 리바우디오사이드 B 1.00, 리바우디오사이드 C 1.18, 리바우디오사이드 D 1.40, 리바우디오사이드 E 1.20, 리바우디오사이드 F 1.16, 리바우디오사이드 M 1.60, 리바우디오사이드 N 1.58, 리바우디오사이드 O 1.78, 들코사이드 A 0.98, 루부소사이드 0.80, 스테비올비오사이드 0.80)

## 조작조건

검출기 : UV 210nm

칼럼 : Capcell pak C<sub>18</sub> MG II(4.6mm×250mm, 5μm) 또는 이와 동등한 것

칼럼온도 : 40℃

이동상 : 물(A):아세트니트릴(B)

시간(분)	A(%)	B(%)
0.0	75.0	25.0
8.0	75.0	25.0
13.0	68.0	32.0
16.0	68.0	32.0
19.0	60.0	40.0
23.0	60.0	40.0
23.5	40.0	60.0
25.0	40.0	60.0
25.5	75.0	25.0
35.0	75.0	25.0

유속 : 0.5mL/min

주입량 : 10 $\mu$ L

시 액

10mM 인산완충액(pH 2.6) : 인산일나트륨 1.1998g을 물에 녹여 1,000mL로 한다. 인산(1 $\rightarrow$ 10)을 가하여 pH 2.6으로 조정한다.