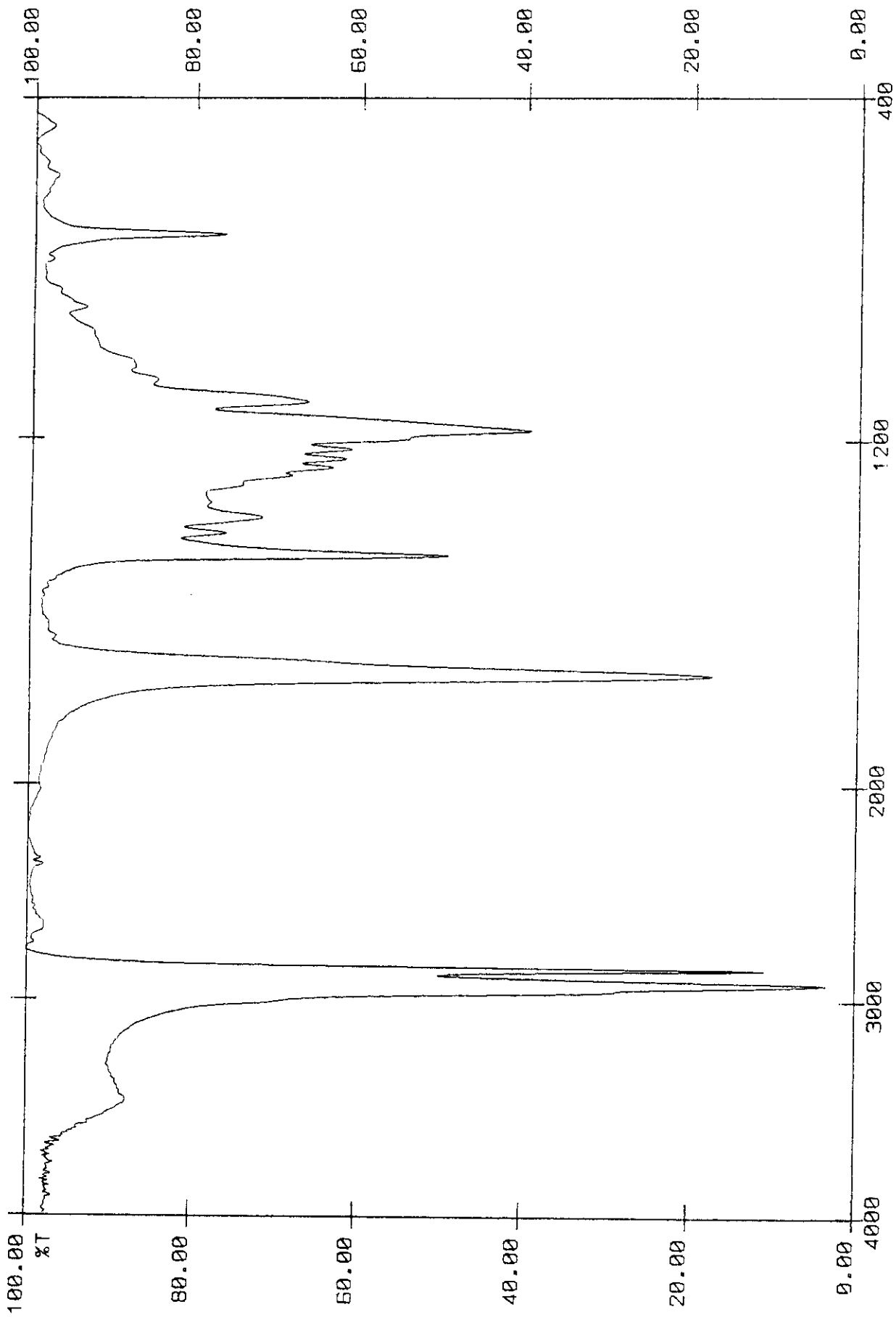


分析値 (ウルシロウ)

	規 格 案	分 析 値
融点 °C	48~54	52.2
酸価	30以下	23.0
けん化価	200~235	207.8
ヨウ素価	5~40	15.7
重金属 $\mu\text{g/g}$	20以下	検出せず
鉛 $\mu\text{g/g}$	10以下	検出せず
ヒ素 $\mu\text{g/g}$	2以下	検出せず
強熱残分 %	0.3以下	0.01



PERKIN-ELMER 1700  
 SCANS 10  
 RESOLUTION 4 CM-1  
 DATE  
 TIME  
 YY-MM-DD  
 00:26  
 OPERATOR  
 SAMPLE ( 912307

平成11年2月

## ホホバロウ

### 自主規格（案）

日本食品添加物協会  
第6部会長 株式会社 ロッテ

#### 規格項目

ホホバロウの規格項目は、食品添加物公定書第7版に収載予定の植物性ワックス（カルナウバロウ、カンデリラロウ、ミツロウ）の規格、化粧品用規格（粧配基）、一般に流通している商品の品質管理規格等を参考に選定した。

確認試験については赤外吸収スペクトル測定による参照チャートとの比較を採用。純度試験については液状ワックスであるため融点は除外し、酸価、けん化価、重金属、鉛、ヒ素の他、粧配基に記載されているヨウ素価と、一般の品質管理に用いられている比重、屈折率の項目を加えた。

#### 自主規格案

ホホバロウの自主規格案を2頁に記す。

#### 分析値

自主規格案に基づいた、ホホバロウのロットサンプル ミツバ貿易（株）製：No811258の（株）ロッテ 中央研究所における分析値および赤外吸収スペクトルチャートを3頁に記す。

ホホバロウ  
Jojoba wax  
ホホバワックス

定義 ホホバの実より得られた、アイコセニン酸アイコセニルを主成分とするものである。  
性状 本品は無色～薄い金色の粘性のある液体で、においはないか又はわずかに特有なにおいがある。

確認試験 本品を赤外吸収スペクトル測定法中の臭化カリウム錠剤法により測定し、本品のスペクトルを参照スペクトルと比較するとき、同一波数のところに同様の強度の吸収を認める。

純度試験

(1) 比重  $d_{20/20}$  : 0.850～0.875 (第1法)

(2) 屈折率  $n_{20/20}$  : 1.455～1.475

(3) 酸価 5以下

本品約 5.0g を精密に量り、エタノール 50ml を加えて溶かし、検液とする。以下油脂類試験法中の酸価の試験を行う。ただし、冷時濁りを生じるときは、温時滴定する。

(4) けん化価 80～100

本品約 1.5g を精密に量り、キシレン 10ml 及び 0.5mol/l エタノール製水酸化カリウム試液 25ml を正確に加える。還流冷却器を付けて時々振り混ぜながら 1 時間加熱する。以下油脂類試験法中のけん化価の試験を行う。

(5) ヨウ素価 70～100

本品約 0.3g を共栓付きフラスコに精密に量り、クロロホルム 10ml を加え完全に溶解する。ウィイス液 25ml を正確に加えて栓をし、軽く振り混ぜ、常温、暗所に 30 分間時々振り混ぜながら放置する。10g/100ml ヨウ化カリウム 20ml 及び水 100ml を加えよく振り混ぜる。0.1mol/l チオ硫酸ナトリウム溶液でよく振り混ぜながら滴定する。溶液が微黄色になった時、デンプン溶液を数滴加え、よく振り混ぜながら滴定を続ける。溶液の青色が消失する時を終点とする。本試験と並行して空試験を実施し、次式によりヨウ素価を求める。

$$\text{ヨウ素価} = (a - b) \times f \times 1.269 / c$$

a : 空試験における 0.1mol/l チオ硫酸ナトリウム溶液使用量 (ml)

b : 本試験における 0.1mol/l チオ硫酸ナトリウム溶液使用量 (ml)

f : 0.1mol/l チオ硫酸ナトリウム溶液の力価

c : 試料採取量 (g)

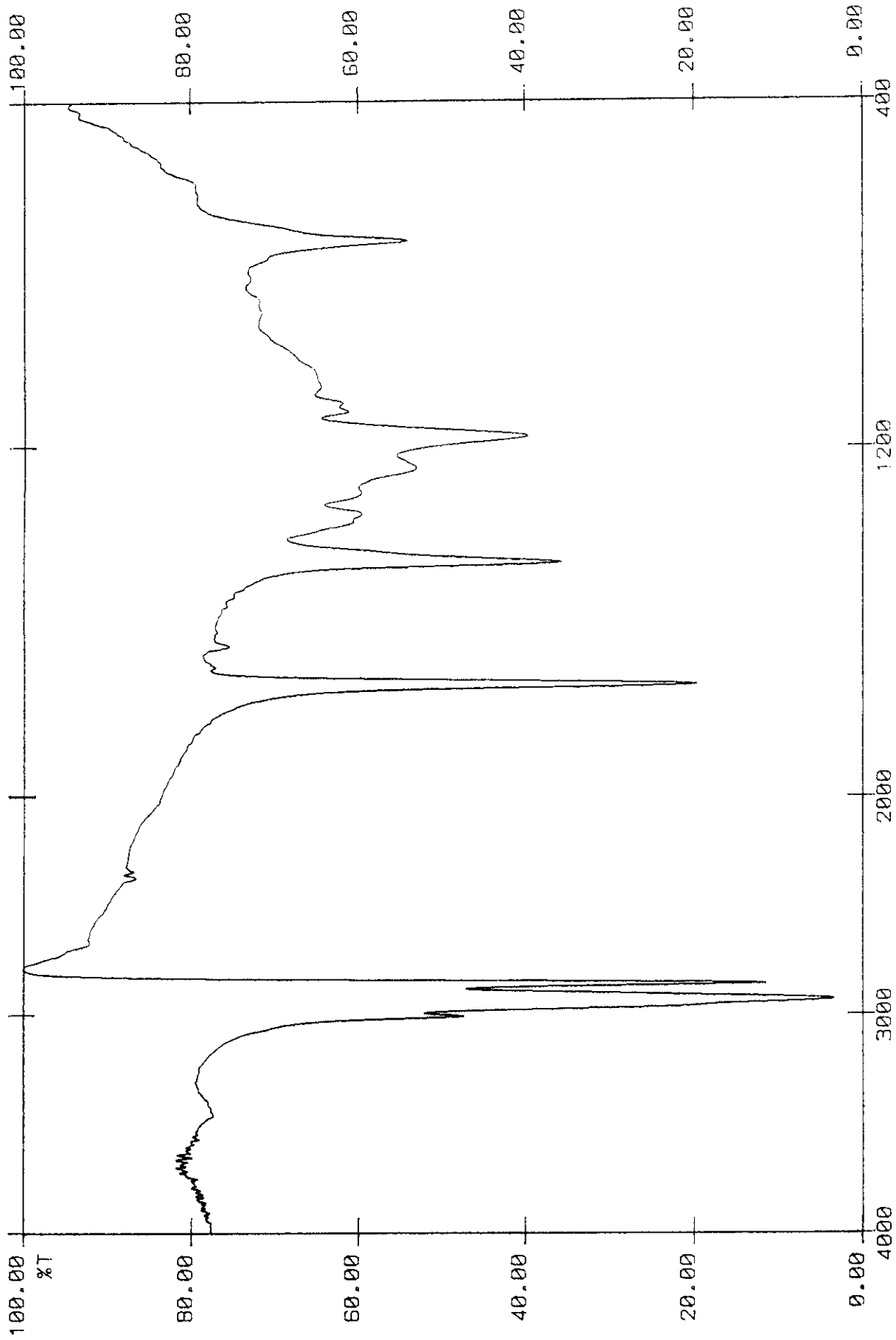
(6) 重金属 Pb として  $20 \mu\text{g/g}$  以下 (1.0g、第2法、比較液 鉛標準液 2.0ml)

(7) 鉛  $10 \mu\text{g/g}$  以下 (1.0g、第1法)

(8) ヒ素  $\text{As}_2\text{O}_3$  として  $2.0 \mu\text{g/g}$  以下 (0.5g、第3法、装置 B)

強熱残分 0.3%以下  
分析値 (ホホバロウ)

	規格式	分析値
比重 d20/20	0.850~0.875	0.866
屈折率 n20/20	1.455~1.475	1.465
酸価	5以下	0.09
けん化価	80~100	98.6
ヨウ素価	70~100	86.2
重金属 $\mu\text{g/g}$	20以下	検出せず
鉛 $\mu\text{g/g}$	10以下	1.0
ヒ素 $\mu\text{g/g}$	2以下	検出せず
強熱残分 %	0.3以下	0.1



PERKIN-ELMER 1700  
 SCANS 10  
 RESOLUTION 4 CM.-1  
 DATE TIME  
 YY-MM-DD 03:41  
 OPERATOR  
 SAMPLE 小島 7,77ス

平成11年2月

## モクロウ 自主規格（案）

日本食品添加物協会  
第6部会長 株式会社 ロッテ

### 規格項目

モクロウの規格項目は、食品添加物公定書第7版に収載予定の植物性ワックス（カルナウバロウ、カンデリラロウ、ミツロウ）の規格、化粧品用規格（粧原基）、一般に流通している商品の品質管理規格等を参考に選定した。

確認試験については赤外吸収スペクトル測定による参照チャートとの比較を採用。純度試験についてはカルナウバロウと同じ項目（融点、酸価、けん化価、重金属、鉛、ヒ素）の他、粧原基に記載されているヨウ素価を追加した。

### 自主規格案

モクロウの自主規格案を2頁に記す。

### 分析値

自主規格案に基づいた、モクロウのロットサンプル（株）日本ナチュラルプロダクツ製：No9901181の（株）ロッテ 中央研究所における分析値および赤外吸収スペクトルチャートを3頁に記す。

モクロウ  
Wood wax  
Japan wax  
木ロウ、ハゼ脂

定義 ハゼノキの実から得られた、パルミチン酸グリセリンエステルを主成分とするものである。

性状 本品は白～微黄色の光沢のある塊状固体で、特有なにおいがある。

確認試験 本品を赤外吸収スペクトル測定法中の臭化カリウム錠剤法により測定し、本品のスペクトルを参照スペクトルと比較するとき、同一波数のところに同様の強度の吸収を認める。

純度試験

(1) 融点 48～54℃

(2) 酸価 30 以下

本品約 5.0g を精密に量り、エタノール 50ml を加えて湯浴で溶解し、検液とする。以下油脂類試験法中の酸価の試験を行う。ただし、冷時濁りを生じるときは、温時滴定する。

(3) けん化価 200～235

本品約 1.5g を精密に量り、キシレン 10ml 及び 0.5mol/l エタノール製水酸化カリウム試液 25ml を正確に加える。還流冷却器を付けて時々振り混ぜながら 3 時間加熱する。以下油脂類試験法中のけん化価の試験を行う。

(4) ヨウ素価 5～30

本品約 1.0g を共栓付きフラスコに精密に量り、クロロホルム 30ml を加え完全に溶解する。ウィイス液 25ml を正確に加えて栓をし、軽く振り混ぜ、常温、暗所に 30 分間時々振り混ぜながら放置する。10g/100ml ヨウ化カリウム 20ml 及び水 100ml を加えよく振り混ぜる。0.1mol/l チオ硫酸ナトリウム溶液でよく振り混ぜながら滴定する。溶液が微黄色になった時、デンプン溶液を数滴加え、よく振り混ぜながら滴定を続ける。溶液の青色が消失する時を終点とする。本試験と並行して空試験を実施し、次式によりヨウ素価を求める。

$$\text{ヨウ素価} = (a - b) \times f \times 1.269 / c$$

a : 空試験における 0.1mol/l チオ硫酸ナトリウム溶液使用量 (ml)

b : 本試験における 0.1mol/l チオ硫酸ナトリウム溶液使用量 (ml)

f : 0.1mol/l チオ硫酸ナトリウム溶液の力価

c : 試料採取量 (g)

(5) 重金属 Pb として 20 μg/g 以下 (1.0g、第 2 法、比較液 鉛標準液 2.0ml)

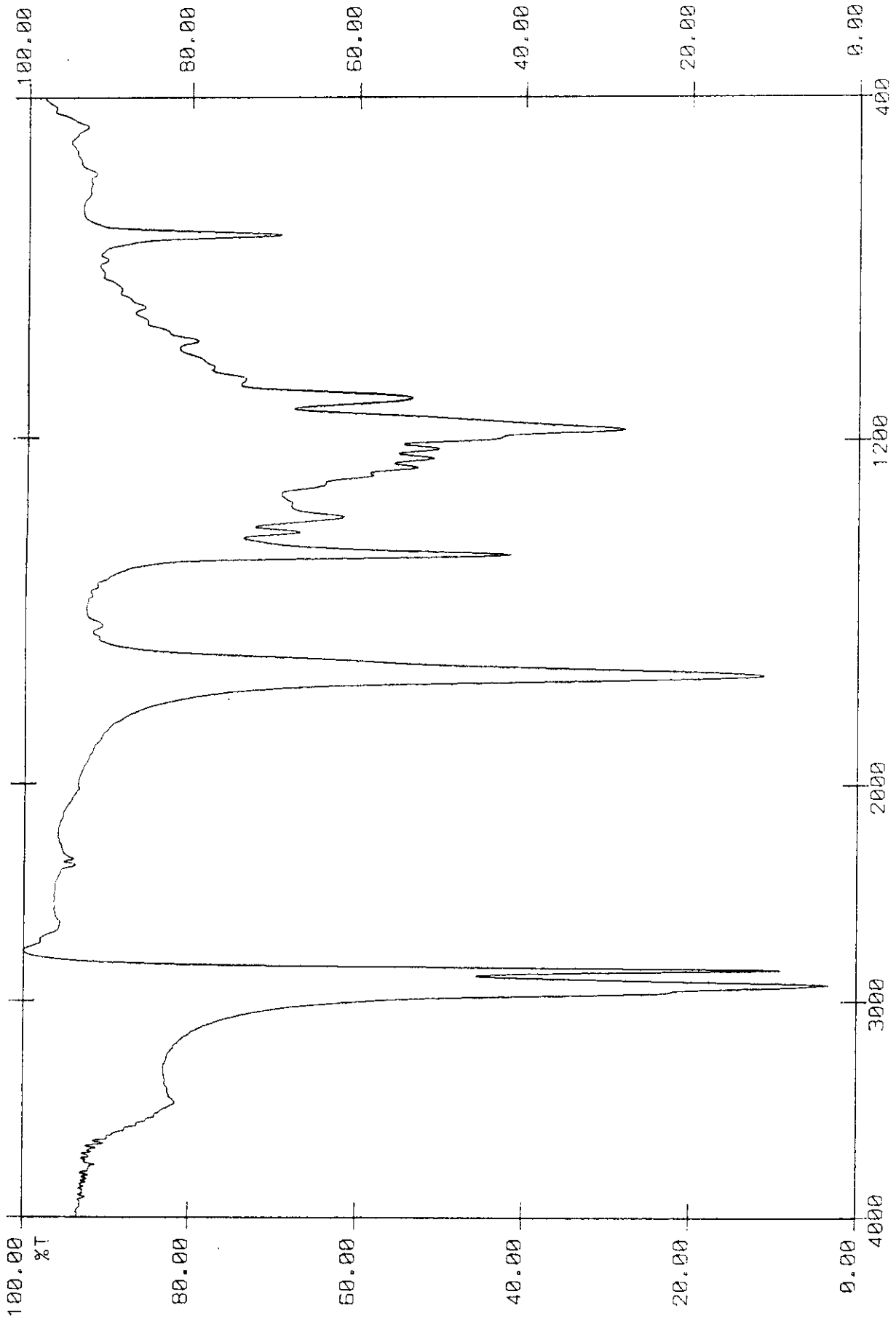
(6) 鉛 10 μg/g 以下 (1.0g、第 1 法)

(7) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> として 2.0 μg/g 以下 (0.5g、第 3 法、装置 B)



強熱残分 0.3%以下  
分析値 (モクロウ)

	規格式案	分析値
融点 °C	48~54	53.2
酸価	30以下	25.0
けん化価	200~235	226.0
ヨウ素価	5~30	12.7
重金属 $\mu\text{g/g}$	20以下	検出せず
鉛 $\mu\text{g/g}$	10以下	検出せず
ヒ素 $\mu\text{g/g}$	2以下	検出せず
強熱残分 %	0.3以下	0.01



PERKIN-ELMER 1700  
 SCANS 10  
 RESOLUTION 4 CM-1  
 DATE TIME  
 YY-MM-DD 00:29  
 OPERATOR  
 SAMPLE ( 3707

製造用劑

平成11年2月

## ホコッシ抽出物

ヒガシマル醤油株式会社  
研究所第4課  
築山 良一

### 1. はじめに

ホコッシ抽出物に関しては、既存添加物名簿収載品目リストの中で「マメ科ホコッシ (*Psoralea corylifolia* O.KZE.) の種子より、エタノールで抽出して得られたものである。主成分はバクチオールである。」と定義されている。

今回、ホコッシ抽出物の自主規格を検討するため、主成分であるバクチオールの定量法について検討を行い、この検討結果を踏まえて自主規格(案)を作成した。

### 2. 試験方法及び結果

#### 2-1. ホコッシ抽出物中のバクチオール定量法

主成分のバクチオールに関しては、高速液体クロマトグラフィー法により検討を行った。

#### ・高速液体クロマトグラフィー法

##### a) 分析条件

カラム	:	YMC-ODS A-321 S5(6mm×150mm)
展開溶媒	:	メタノール 0.85ml/min. D.D.Water 0.15ml/min.
カラム温度	:	35℃
検出波長	:	263nm
装置	:	島津製作所製 高速液体クロマトグラフィー 送液ユニット LC-6A 検出器(UV) SPD-6AU クロマトバック C-R6A システムコントローラー SCL-6B カラムオープン CTO-6A
サンプル量	:	10μl

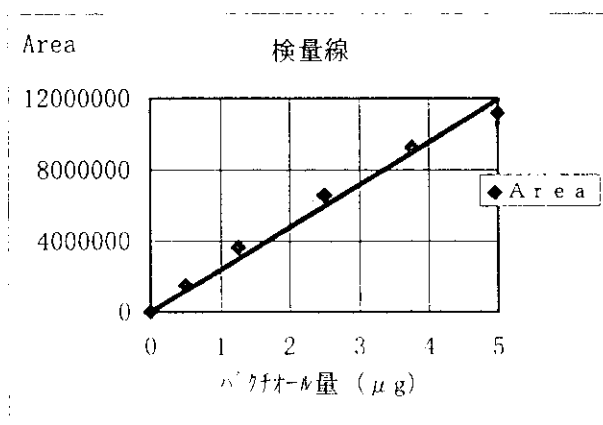
b) 検量線の作成

ホコッシ抽出物から精製したバクチオール(GC純度98%以上)を用いて0~5 $\mu$ lを注入し、得られたピーク面積から検量線を作成した。

c) バクチオールの定量結果

ホコッシ抽出物をメタノールで0.1%に希釈し、上記条件によって分析した。得られたピーク面積をもとにし、検量線から算出した。

図 1. 検量線



なお、試験は3ロットについて、6回の繰り返し試験を行った。その結果は表-1に示す。

表-1 バクチオールの定量結果

Lot.No.	測定 1	測定 2	測定 3	測定 4	測定 5	測定 6	平均値
Lot.No. 9712	28.3	29.3	28.0	29.5	28.5	29.0	28.8
Lot.No. 9803	42.6	45.0	44.0	42.6	44.3	44.4	43.8
Lot.No. 9901	32.5	30.5	30.3	32.4	31.9	31.0	31.4

(数字は、バクチオールパーセント(w/v))

上のような結果を得たが、ロット間のバラツキが大きかった。

この理由はホコッシ原料のロット間におけるバクチオール含量バラツキ、及び製造時の抽出工程、精製工程におけるバラツキに由来すると考えられる。

しかし、測定法としてはロット内におけるバラツキが小さく、主成分のバクチオールの定量方法としては妥当な方法と考えられる。

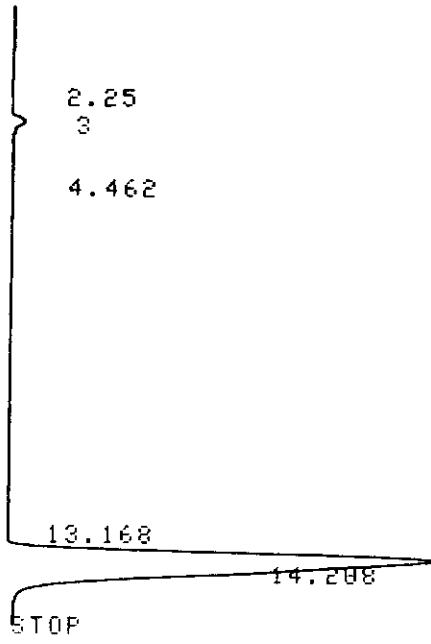
従って、ホコッシ抽出物の自主規格における含量規定に関する規格案としては、「バクチオール含量：20~45%」としたい。

なお、クロトグラムに関しては別紙添付のとおりである。

参考分析例

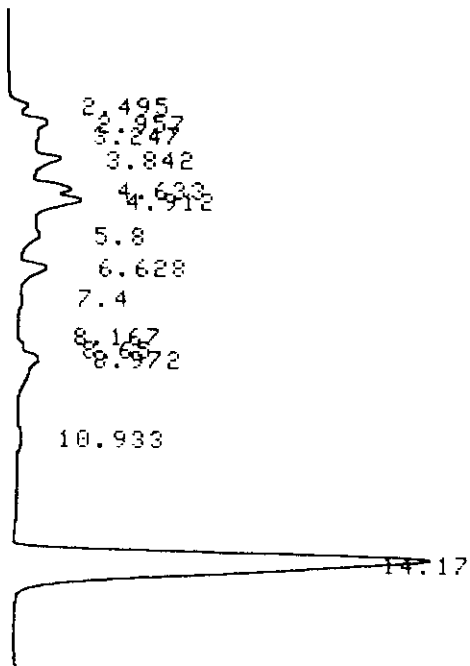
START

Bakuchiol



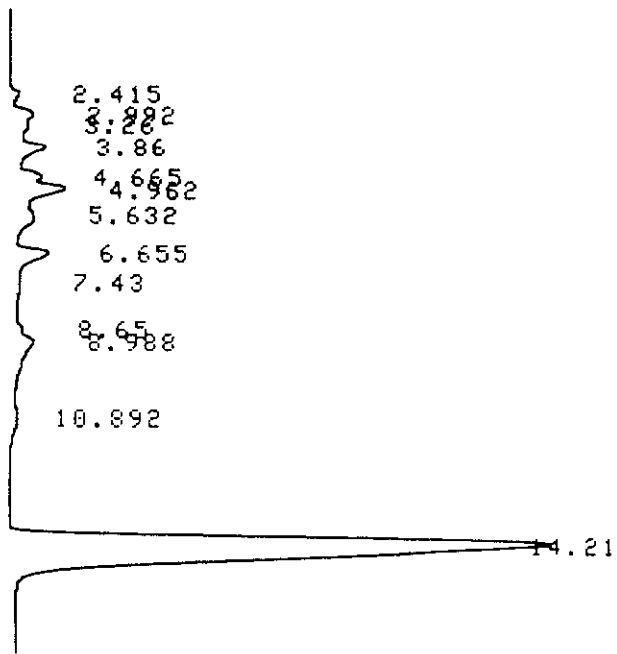
START

lot. No. 9803



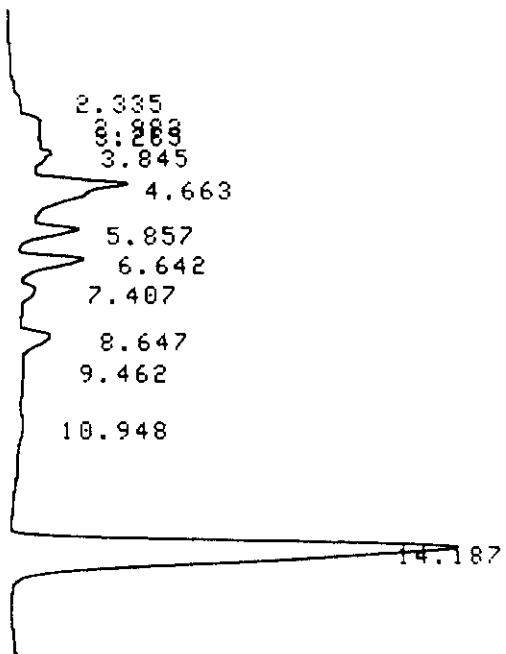
START

lot. No. 9901



START

lot. No. 9712



## 2-2. 確認試験

### a. 試験条件

ホコッシ抽出物をエタノールで1%に調整し、これをTLC(HPTLCplate Silica gel 60 F<sub>254</sub> MERCK)に1 $\mu$ lをスポットし、クロロホルム：メタノール(97:3)で展開した。

検出は紫外線照射(254nm)及び10%硫酸溶液噴霧後、加熱(105 $^{\circ}$ C、10分)した。

原料及び製造ロットが異なる抽出物3試料を用いて3回の繰り返し試験を実施した。

### b. 試験結果

#### a) 紫外線(254nm)照射による検出結果(表1~3)

原点を除いて5~11個の吸収スポットを確認した。バクチオールはRf値0.51~0.56の付近に強い吸収スポットとして検出された。

b) 10%硫酸溶液を噴霧後、加熱(105 $^{\circ}$ C、10分)による検出結果表-1~3に示す。

原点を除いて4~8個の暗色スポットを確認した。バクチオールはRf値0.5~0.55の付近に濃いスポットとして検出された。

表-2 スポットNo. とRf値

スポットNo.	バクチオール	Lot 9803	Lot 9712	Lot 9809	硫酸発色度
1		0.10	0.10	0.10	+
2		0.15	0.15	0.15	+
3		0.17	0.17	0.17	±
4			0.20	0.20	±
5				0.24	
6			0.27	0.28	
7		0.30	0.31	0.31	+
8			0.42	0.42	+
9			0.45		±
10			0.50	0.50	
11	0.56	0.56	0.56	0.55	+++



表-3 スポットNo. とRf値

スポットNo.	バクチオール	Lot 9803	Lot 9712	Lot 9809	硫酸発色度
1		0.11	0.11	0.12	+
2		0.16	0.17	0.17	+
3		0.20	0.21	0.20	±
4			0.22	0.22	±
5			0.25	0.25	
6		0.28	0.30	0.30	
7		0.32	0.34	0.34	+
8			0.39	0.39	+
9		0.44	0.44	0.44	±
10			0.48	0.48	
11	0.56	0.56	0.56	0.55	+++

表3-4 スポットNo. とRf値

スポットNo.	バクチオール	Lot 9803	Lot 9712	Lot 9809	硫酸発色度
1		0.10	0.10	0.11	+
2		0.14	0.15	0.15	+
3		0.17	0.17	0.17	±
4			0.20	0.19	±
5				0.22	
6			0.27	0.24	
7		0.26	0.31	0.27	+
8			0.42	0.32	+
9			0.45	0.38	±
10			0.50	0.46	
11	0.51	0.51	0.56	0.51	+++

なお、これらのTLCの測定結果に関しては、別紙図表を添付した。

2-3. 純度試験

a) 重金属

既存添加物自主規格、重金属試験法第2法に基づき試験した。

b) ヒ素

既存添加物自主規格、ヒ素試験法装置Bにより試験した。

c) 試験結果

Lot No.	重金属	ヒ素
9803	6 ppm	0.1 ppm 以下

以上の結果より、重金属  $20 \mu/g$ 、ヒ素  $4 \mu/g$  の規格値を希望する。

2-4. 乾燥減量

a) 測定法

既存添加物自主規格、乾燥減量試験法により試験した。なお、2ロットについて3回の繰り返し試験を行った。その結果は次に示すとおりである。

b) 試験結果

(%)

Lot No.	測定1	測定2	測定3	平均
A	2.53	2.33	2.69	2.52
B	3.25	3.53	3.35	3.38

以上の結果より、乾燥減量 5.0%以下を希望する。

2-5. 強熱残留物

a) 測定法

既存添加物自主規格、強熱残留物試験法により試験した。なお、乾燥原料と同様2ロットについて3回の繰り返し試験を行った。その結果は次に示すとおりである。

b) 試験結果

(%)

Lot No.	測定1	測定2	測定3	平均
A	0.51	0.54	0.46	0.50
B	0.54	0.54	0.52	0.53

以上の結果より、強熱残留物 3.0%以下を希望する。

【参考文献】

G.Mehta, et al: Tetrahedron. Vol.29 1119-1125 (1973)



### 標準物質 (Bakuchiol) の調製方法

様々な方法が考えられるが、以下の方法で調製した。

- 1.補骨脂 1kg を全粒のままエーテル5Lで浸漬抽出する
- 2.固液分離後エーテルを留去すると約30gのガム質の濃縮物が得られる
- 3.これを、エーテル200mlに溶解し、1%水酸化カリウム溶液50mlで3回洗浄する
- 4.エーテル層を純水50mlで3回洗浄する
- 5.エーテル層に無水硫酸ナトリウムを添加し脱水、乾燥後溶媒を留去すると約20gの油状物質が得られる
- 6.この油状物質をn-ヘキサン50mlに溶解し、シリカゲルを用いた順相カラムクロマトを行う

#### カラムクロマトの条件

シリカゲル 100cm×5cm

展開溶媒 n-ヘキサン-酢酸エチル (90:10 : 3L→ 80:20 : 3L→ 70:30 : 3L)

モニターはTLCを用い254nmのUV吸収で検出する

TLC : Merck SiO<sub>2</sub> HPTLC プレートを使用

展開溶媒 n-ヘキサン-酢酸エチル 80:20 Rf=0.5

(参考 クロロフォルム-メタノール 97:3 Rf=0.5)

- 7.TLC上 Rf=0.5のスポットのBakuchiol相当画分を集め、濃縮し、ODSカラムクロマトに供する

#### 逆相カラムクロマトの条件

ODS 50cm×2.2cm

展開溶媒 90% MeOH

モニターはTLCを用い254nmのUV吸収で検出する

TLC : Merck RP18 HPTLC プレートを使用

展開溶媒 90% MeOH

Rf=0.3の画分を集め減圧濃縮し完全に溶媒を留去する

### 理化学的性質

分子量 : 256

MS data 256,241,213,173(base peak), 158,145,107,83

λ max 262nm (MeOH) ,284nm(MeOH+NaOMe)

以上参考文献に一致

Tetrahedron. Vol.29,pp.1119 to 1125(1973)