

純度試験

- (1) 重金属の規格値においては、公定書第7版に準じ $40 \mu\text{g/g}$ に変更し、(2)鉛の規格を別途設けた。
- (2) 公定書第7版に準じ設定
- (3) 公定書第7版に準じ測定方法を、装置Aから装置Bを変更した。

色価測定法 公定書第7版に準じ設定

色価 第二版自主規格に準じ設定

4. 改訂規格の妥当性確認

各項目の分析事例 別紙添付

5. 考察

アルカネット色素は、JECFA 規格に Codex B として記載されている。実態流通としては非常に限られているのだが、今回自主規格として新たに設定することとした。

以上

添付資料 1

第二部会

アルカネット色素

Alkanet color

アルカナナ色素

定義 本品は、アルカネットの根から得られた、アルカニンの主成分とするものである。デキストリン又は乳糖を含むことがある。

色価 本品の色価 ($E_{1cm}^{10\%}$) は 20 以上で、その表示量の 90~110% を含む。

性状 本品は、暗紫色の粉末、ペースト、又は液体で、わずかに特異なおいがある。

確認試験 (1) 本品の表示量から、色価 20 に換算して 2g に相当する量を取り、50vol%エタノール 500ml を加えて溶かした液は、赤~赤紫色を呈する。

(2) (1)の溶液に、水酸化ナトリウム溶液 (1→25) を加えてアルカリ性にするとき、青~暗青色を呈する。

(3) (1)の溶液に、酢酸鉛溶液 (1→20) を加えるとき、紫~暗紫色の沈殿を生じる。

(4) (1)の溶液は、波長 515~530nm に極大吸収部がある。

(5) 本品の表示量から、色価 20 に換算して 2g に相当する量を取り、エタノール 10ml を加えてかき混ぜた後、毎分 3,000 回転で 10 分間遠心分離して得られる上澄み液を検液とする。

検液 2 μ l を量り、対照液を用いず、アセトニトリル/0.6%vol 酢酸混液 (9:1) を展開溶媒として薄層クロマトグラフィーを行うとき、 R_f 値が 0.4~0.7 の範囲に 2 個以上の赤紫色スポットを認める。ただし、薄層板は、担体として薄層クロマトグラフィー用オクタデシルシランを 110 $^{\circ}$ C で 1 時間乾燥したものを使用する。展開溶媒の先端が約 10cm の高さに上昇したとき展開をやめ、風乾した後、観察する。

純度試験 (1) 重金属 Pb として 40 μ g/g 以下 (0.50g, 第 2 法, 比較液 鉛標準液 2.0ml)

(2) 鉛 Pb として 10 μ g/g 以下 (1.0g, 第 1 法)

(3) ヒ素 As₂O₃ として 4.0 μ g/g 以下 (0.50g, 第 3 法, 装置 B)

色価測定法 色価測定法により次の操作条件で試験を行う。

操作条件

測定溶媒 50vol%エタノール

測定波長 波長 515~530nm の極大吸収部

色価 測定する吸光度が 0.3~0.7 の範囲になるように、本品を精密に量り、50vol%エタノールに溶かして 100ml とし、その 1ml を採り、50vol%エタノールを加えて正確に 100ml とし、試験溶液とする。(必要があれば遠心分離し、その上澄液を用いる。) 50vol%エタノールを対照として液層の長さ 1cm で波長 515~530nm の極大吸収部における吸光度 A を測定し、次式により色価を求める。

$$\text{色価} = \frac{A \times 1,000}{\text{試料の採取量 (g)}}$$

分析データ

アルカネット色素

大阪化学合金株式会社

1. 色価

測定回数	1	2	3
LOT 1	56.8	57.9	57.0
LOT 2	45.6	45.5	45.6
LOT 3	35.5	36.6	35.7

2. 確認試験

(1)

測定回数	1	2	3
LOT 1	赤紫色	赤紫色	赤紫色
LOT 2	赤紫色	赤紫色	赤紫色
LOT 3	赤紫色	赤紫色	赤紫色

(2) 水酸化ナトリウム溶液による呈色反応

測定回数	1	2	3
LOT 1	青色	青色	青色
LOT 2	暗青色	暗青色	暗青色
LOT 3	青色	青色	青色

(3) 酢酸鉛試薬による呈色反応

測定回数	1	2	3
LOT 1	暗紫色の沈殿	暗紫色の沈殿	暗紫色の沈殿
LOT 2	暗紫色の沈殿	暗紫色の沈殿	暗紫色の沈殿
LOT 3	暗紫色の沈殿	暗紫色の沈殿	暗紫色の沈殿

(4) 極大吸収波長 nm

測定回数	1	2	3
LOT 1	520.2	520.8	520.6
LOT 2	524.8	524.2	524.3
LOT 3	521.5	520.8	521.0

(5) Rf値及びスポットの色

測定回数	1		2		3	
LOT 1	0.45	0.60	0.46	0.61	0.45	0.60
	赤紫色	赤紫色	赤紫色	赤紫色	赤紫色	赤紫色
LOT 2	0.51	0.63	0.53	0.65	0.53	0.65
	赤紫色	赤紫色	赤紫色	赤紫色	赤紫色	赤紫色
LOT 3	0.55	0.68	0.56	0.69	0.55	0.68
	赤紫色	赤紫色	赤紫色	赤紫色	赤紫色	赤紫色

純度試験

(1) 重金属

測定回数	1	2	3
LOT 1	40 μ g/g以下	40 μ g/g以下	40 μ g/g以下
LOT 2	40 μ g/g以下	40 μ g/g以下	40 μ g/g以下
LOT 3	40 μ g/g以下	40 μ g/g以下	40 μ g/g以下

(2) 鉛

測定回数	1	2	3
LOT 1	0.79	1.83	1.33
LOT 2	3.45	0.69	2.39
LOT 3	2.54	1.06	1.79

(μ g/g)

(3) ビ素

測定回数	1	2	3
LOT 1	4.0 μ g/g以下	4.0 μ g/g以下	4.0 μ g/g以下
LOT 2	4.0 μ g/g以下	4.0 μ g/g以下	4.0 μ g/g以下
LOT 3	4.0 μ g/g以下	4.0 μ g/g以下	4.0 μ g/g以下

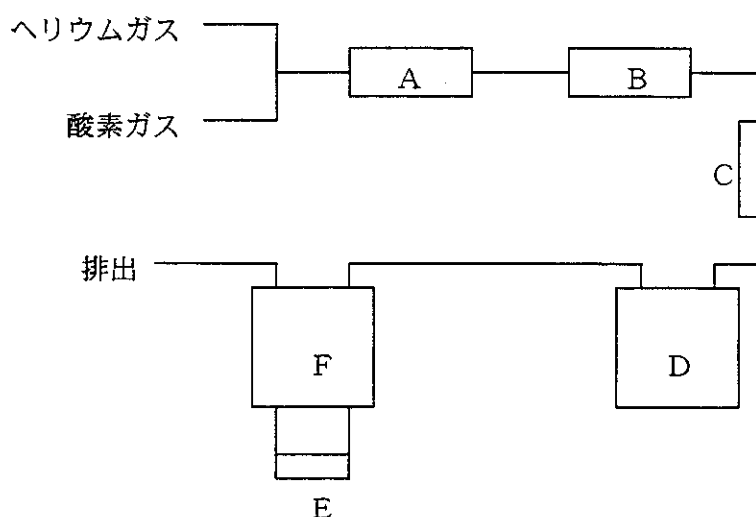
炭素定量法

炭素定量法は、自動制御された装置を用い、試料を燃焼し生成する二酸化炭素を定量ポンプで採取し、熱伝導度検出器に導き、一方には二酸化炭素吸収管を接続し、吸収除去された二酸化炭素濃度分が不平衡電圧として検出されるシグナル強度を利用して測定する方法である。

装置

概略は、次の図による。

- A. 燃焼部
- B. 還元部
- C. 水分吸収管
- D. 定量ポンプ
- E. 二酸化炭素吸収管
- F. 熱伝導度検出器



操作法

装置を予め調整した後、試料及び助燃剤として酸化銅（II）5.0 g を正確に量り、よく混合する。混合された試料を空焼きしたニッケル製試料ポートに移し燃焼部に導入する。自動制御された熱伝導度検出器により、測定されたシグナル強度を記録する。同様に、3 種以上の炭素測定用標準品を量り、それぞれのシグナル強度を測定し、得られた値から検量線を作成して定量を行う。

炭素測定用標準品 馬尿酸（元素分析用）

自主規格

研究年月日： 1999年4月～2000年2月

研究者名：日本食品添加物協会 第二部会

植物炭末色素懇話会

株式会社大黒色素・日本シーベルヘグナー株式会社・キリヤ化学株式会社

三栄源I7・I7・7I株式会社

既存添加物 着色料「植物炭末色素」の自主規格改訂の件

1. 目的： 自主規格第三版作成 公定書第7版に天然添加物の記載がされ、今後より充実することが考えられる。今回、「既存添加物名簿」及び「一般に食品として飲食に供されている物であって添加物として使用される品目リスト」記載の食品添加物「着色料」の規格を再度検討見直を実施する。
2. 第二版自主規格：なし
3. 改訂規格案： 添付資料1
4. 既存添加物 着色料「植物炭末色素」の自主規格改訂の説明

名称 厚生省告示第百二十号（平成八年四月十六日）「既存添加物名簿」又は「一般に食品として飲食に供されている物であって添加物として使用される品目リスト」記載の名称を用いる。英名及び別名のあるものについては記載。

定義 公定書第7版に準じ定義を設定。厚生省告示第百二十号（平成八年四月十六日）既存品添加物名簿記載の定義を用いる。

含量 市場調査を実施した、JECFA 規格を参考にし「本品の、含量は炭素として90%以上（乾燥物及び灰分換算）で、表示量の95～115%を含む。」と決定した。

性状 市場流通している原体の性状を調査し決定。公定書第7版に準じにの表現を統一した。

確認試験

(1)、(2)は、JECFA 規格を導入した。

純度試験

- (1)重金属の規格値においては、公定書第7版に準じ $40\mu\text{g/g}$ に変更し、(2)鉛の規格を別途設けた。
- (2)公定書第7版に準じ設定
- (3)公定書第7版に準じ測定方法を、装置Aから装置Bを変更した。
- (4)JECFA 規格を参考にして導入した。

乾燥減量 JECFA 規格に準じ設定

灰分 JECFA 規格に準じ設定

定量法 JECFA 規格に準じ設定

4. 改訂規格の妥当性確認

各項目の分析事例 別紙添付

5. 考察

基本的に JECFA 規格を検討し、各項目について規格化した。

定量法については、現時点公定規格に記載がないために設定が必要。薬局方に記載ある分析方法を導入する方向で検討する必要あり。

以上

添付資料 1

第二部会

2000. 2.

植物炭末色素

Vegetable carbon black

炭末色素

定義 本品は、植物を炭化して得られた、炭素を主成分とするものである。

含量 本品の、含量は炭素として90%以上（乾燥物及び灰分換算）で、表示量の95~115%を含む。

性状 本品は黒色の粉末、粒又は繊維状の物質で、におい及び味がない。

確認試験 (1) 本品は、水及びほとんどの有機溶剤に溶けず、分散して、黒色を呈する。

(2) 本品を粉末のまま、粒又は繊維状の物質の場合はよく粉碎し、その約0.5gを量り、試験管に入れ、試験管口に送風しながら直火で加熱するとき、火炎を生じないで燃焼する。

純度試験 (1) 重金属 Pbとして40 μ g/g以下(0.50g, 第2法, 比較液 鉛標準液2.0ml)

(2) 鉛 Pbとして10 μ g/g以下(1.0g, 第1法)

(3) ヒ素 As₂O₃として4.0 μ g/g以下(0.50g, 第3法, 装置B)

(4) 酸度・アルカリ度

本品0.25gを量り、水50mlを加え、約5分間煮沸し、冷後、二酸化炭素を含まない純水を加え、正確に50mlとし、乾いた定量分析用(5種C)でろ過する。最初のろ液20mlは捨てる。ろ液10mlを正確に量り、0.02mol/l水酸化ナトリウム溶液0.25mlを正確に加え、ブロムチモールブルー試液2~3滴を加えて0.02mol/l塩酸で滴定するとき、0.02mol/l塩酸の消費量は0.75ml以下でなければならない。滴定の終点は、青色が黄色に変わったときとする。

乾燥減量 12%以下(120℃ 4時間)

灰分 4%以下

定量法

炭素分析方法

乾燥した試料中の総炭素数は、いくつかの方法の一つ、C.H.O分析装置のような市販の分析機器、あるいは燃焼/重量炭素分析によって測定する。試料は120℃4時間乾燥後に量る。

植物炭末色素

確認試験 (1)	1 回 目	2 回 目	3 回 目
Sample 1	○	○	○
Sample 2	○	○	○
Sample 3	○	○	○

確認試験 (2)	1 回 目	2 回 目	3 回 目
Sample 1	○	○	○
Sample 2	○	○	○
Sample 3	○	○	○

以上

2000年1月

日本食品添加物協会
第二部会
部会長 中村幹雄 様

植物炭末色素懇話会
日本シーベルヘグナー株式会社
キリヤ化学株式会社
大黒色素株式会社
三栄源I7・I7・7I株式会社

自主規格確認の件

分析項目	大黒色素(株) 原体Lot.991207		
	1回	2回	3回
含量 (乾燥物及び灰分換算)	92.4 適	91.8 適	92.8 適
性状	黒色の粉末 適	黒色の粉末 適	黒色の粉末 適
確認試験(1)	適合	適合	適合
確認試験(2)	適合	適合	適合
純度試験			
(1)重金属	5 μ g/g 以下	5 μ g/g 以下	5 μ g/g 以下
(2)鉛	2 μ g/g 以下	2 μ g/g 以下	2 μ g/g 以下
(3)ヒ素	0.5 μ g/g 以下	0.5 μ g/g 以下	0.5 μ g/g 以下
(4)酸度・アルカリ度	適合		
乾燥減量 (120℃4h)	1.96	2.02	2.36
灰分(625℃)	0.12	0.07	0.11

以上

試験報告書

2000年2月8日

㈱カレックス

井伊重雄

はじめに

「カラシ抽出物」は、既存添加物名簿に記載された天然添加物であり、古くから日本では食されているものである。今回、この「カラシ抽出物」の規格について検討を行い、以下の如くの規格の案を設定した。これにつき規格項目とその設定理由を述べる。

1. 定義について

定義は、「本品は、アブラナ科カラシ (*Brassica juncea* LINNE) の種子の脂肪油を除いた圧搾粕を酵素分解し、水蒸気蒸留、蒸留により得られたものである。主成分はイソチオシアン酸アリルであり、他にイソチオシアン酸 sec-ブチル、イソチオシアン酸 3-ブテニル、イソチオシアン酸 n-ブチル等を含む。」とした。

日本で流通している「カラシ抽出物」は、オリエンタルマスタード (*Brassica juncea*) より抽出されたものがほとんど見られるので、原料植物を *Brassica juncea* とした。

製造方法で脱脂、酵素分解、水蒸気蒸留、蒸留の工程は古くから報告¹⁾ されており、実際の製造方法に従っている。

カラシに含まれる成分に関しては、次の表1に示す成分が文献^{2) 3)} で報告されている。

表1 カラシ由来のイソチオシアン酸エステル類と沸点

イソチオシアン酸エステル類	沸点(°)
メチルエステル	119
イソプロピルエステル	145
アリルエステル	152
sec-ブチルエステル	159.5
イソブチルエステル	160
n-ブチルエステル	168
3-ブテニルエステル	175
4-ペンテニルエステル	不明
3-メチルチオプロピルエステル	不明
フェニルエステル	221
ベンジルエステル	243
β-フェニルエチルエステル	255

前述の通り「カラシ抽出物」をカラシから製造する際には蒸留の工程があり、水分を含む低沸点成分及び色素を含む高沸点成分を除いている。従って、沸点がこの温度範囲の成分は大半が除かれてしまうが、イソチオシアン酸アリルの沸点に近い成分は混入している。従って、本品の確認試験にイソチオシアン酸アリル以外の成分の確認を採用している。実際、本品では、イソプロピルエステル、アリルエステル、sec-ブチルエステル又はイソブチルエステル(標準品では両成分のピークは重なって

た。しかし、文献 2 ではイソブチルエステルの存在は報告されていないので、このピークの主な成分は sec-ブチルエステルであり、イソブチルエステルが存在しても少ないと推測される。)、n-ブチルエステル、3-ブテニルエステル及び 4-ペンテニルエステルが確認されたが、フェニルエステル、ベンジルエステル及びβ-フェニルエチルエステルは確認されなかった(図3)。確認されなかったこの3種類の成分は沸点が高く(表1)、殆ど除かれてしまっているものと考えられる。文献的にもヘッドスペースガスを測定した報告では、4-ペンテニルエステルまでしか検出できなかったことが報告⁴⁾されている。

従って、確認された成分の内比較的含有量の多い sec-ブチルエステル、n-ブチルエステル、3-ブテニルエステルを含むことが本品の特徴とした。

2. 含量について

本品に含まれるイソチオシアン酸アリルの含量については、過去2年間に製造した中から24ロットを抽出し、その含量を測定した。結果は、下表2の通りであった。

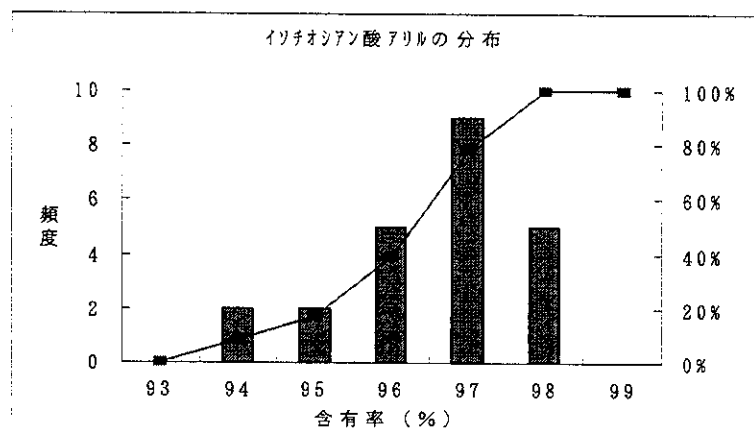
測定値の最低は92.7%、最大は98.9%であり、平均96.9%であった。

表2 イソチオシアン酸アリルの含量

含量 (%)				平均	標準偏差	-3σ	+3σ
97.3	96.9	97.5	98.6	96.9 (97.1)	1.6 (1.3)	92.1 (93.2)	101.7 (101.0)
92.7	98.4	97.9	94.1				
96.1	95.8	98.8	97.9				
96.2	97.8	97.8	96.2				
96.5	98.2	98.9	94.3				
97.2	97.5	95.9	97.4				

しかし、最低値の92.7%はSmirnovの棄却検定により異常値(P<0.05)として棄却されたので、最低値を除外し、再度計算すると表中の括弧内の数値となった。この時の含量分布は下図1に示す通りである。

図1 イソチオシアン酸アリル含量の分布と累積曲線



従って、本品の含量規格については、平均値より3σ低い93.0%以上と設定した。

文献的には、カラシ中のイソチオシアン酸アリルは90数%以上と報告³⁾されており、又 Food

Chemicals Codex の Mustard Oil 記載のイソチオシアン酸アリル含量規格値と合致するものであり、本規格は妥当な値と考えられる。

3. 性状について

本品は、無色～淡黄色であり、透明な液体であった。保存の悪いものは黄色～赤褐色に変色し、また更に劣化した物には黄色の沈殿物が認められる。

においては、直接嗅ぐと刺激が強すぎて危険であるので、極少量を取り注意して嗅ぐとき、からしよりの強い刺激臭があった。劣化した物では、ニンニク臭があった。

従って、「本品は、無～淡黄色の透明な液体で、からしよりの強い刺激性のにおいがある。」と規定した。この性状の規定は、食品添加物公定書（第7版）に記載されている「イソチオシアン酸アリル」の性状を採用した。

性状について3ロット試験した結果は以下の通りであり、規格に適合した。

表3 性状の試験結果

ロット番号	656/98	28/99	26/99-3
性状	無～淡黄色の透明な液体で、からしよりの強い刺激性のにおいがあった。	無～淡黄色の透明な液体で、からしよりの強い刺激性のにおいがあった。	無～淡黄色の透明な液体で、からしよりの強い刺激性のにおいがあった。

4. 確認試験について

確認試験については2項目を設定した。(1)についてはイソチオシアン酸アリルの確認であり、食品添加物公定書（第7版）記載の「イソチオシアン酸アリル」の確認試験項目を採用した。本反応はイソチオシアン酸アリルに特有である。(2)については本品がカラシ由来であることの試験で、類似物の存在を確認する。

(1)「本品3mlをとり、冷却しながら徐々に硫酸4mlを加えて振り混ぜるとき、ガスを発生し、液は、黄色透明で、次第に粘ちょうとなり、からしよりの強い刺激性のにおいはなくなる。」本試験方法による3ロットの試験結果は下表の通りであり、いずれも規格に適合した。

表4 確認試験(1)の結果

ロット番号	656/98	28/99	26/99-3
外観、におい	ガスを発生し、液は、黄色透明で粘ちょうとなり、刺激性のにおいなくなった。	ガスを発生し、液は、黄色透明で粘ちょうとなり、刺激性のにおいなくなった。	ガスを発生し、液は、黄色透明で粘ちょうとなり、刺激性のにおいなくなった。

(2)「定量法のガスクロマトグラフィーを準用し、カラム温度を120°から250°まで毎分4°で昇温する条件で、本品0.5μlを注入する時、約8～20分間にイソチオシアン酸 sec-ブチル、イソチオシアン酸 n-ブチル、イソチオシアン酸 3-ブテニルのピークを認める。」

本確認試験における各標準品のクロマトグラムは図2に、本品の代表的クロマトグラムを図3に、又本品の劣化品のクロマトグラムを図4に示した。図3及び4に示した通り、イソプロピルエステル、sec-ブチルエステル、n-ブチルエステル、3-ブテニルエステル及び4-ペンテニルエステルのピークが認め

られた。

また、強制的に劣化させた場合の変化を、合成品を対照として検討した。強制劣化条件として、105°の加熱及び水を加えて105°で加熱した。その結果は表5に示す通りである。また、この時合成品のクロマトグラムを図5、6に示した。

合成品の強制劣化では単に加熱した場合と加水して加熱した場合のいずれも、sec-ブチル、3-ブテニルエステル、n-ブチルエステル及び4-ペンテニルエステルの位置には分解物のピークを認めなかった。しかし、イソプロピルエステルの位置には極微小の分解物のピークが認められた。特にカラシ抽出物及び合成品の両者の劣化品で表5の成分No24(成分不明)のピークが著しく増加していた。この成分はイソチオシアン酸アリルが分解し、その分解物が重合したものと見られる⁴⁾。

従って、本品がカラシ由来であることの証として、sec-ブチルエステル、3-ブテニルエステル、n-ブチルエステルを確認することとした。

この試験法により3ロットを試験した結果は下表6の通りであり、規格に適合した。

表6 確認試験(2)の試験結果

ロット番号	656/98	28/99	26/99-3
確認項目	sec-ブチルエステル、3-ブテニルエステル、n-ブチルエステルを認めた	sec-ブチルエステル、3-ブテニルエステル、n-ブチルエステルを認めた	sec-ブチルエステル、3-ブテニルエステル、n-ブチルエステルを認めた

因みにこの時のイソチオシアン酸アリルに対する各成分のピーク高さの比を測定した。その結果は表7の通りであった。

表7 各成分のイソチオシアン酸アリルに対するピーク高さの比(%)

No	ロット番号	656/98					28/99					26/99-3				
	測定回数	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
1	イソプロピルエステル	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2	sec-ブチルエステル	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7
3	3-ブテニルエステル	1.4	1.4	1.4	1.5	1.5	1.2	1.3	1.3	1.3	1.3	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
4	n-ブチルエステル	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1
5	4-ペンテニルエステル	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	No. 2, 3, 4の合計	2.3	2.2	2.2	2.3	2.3	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7
	平均±標準偏差	2.3±0.05					2.0±0.03					1.7±0.02				

5. 純度試験について

(1) 本品の屈折率及び比重を測定した結果は表8と通りである。

表8各ロットの屈折率、比重及び含量

ロット No.	屈折率 (20℃、D)	比重 (25℃)	含量 (%)
1	1.5263	1.017	97.89
2	1.5260	1.017	98.05
3	1.5261	1.017	97.57
4	1.5262	1.017	97.64
5	1.5261	1.017	97.76
6	1.5261	1.017	97.87
7	1.5280	1.017	97.88
8	1.5263	1.017	98.12
9	1.5269	1.018	98.41
10	1.5267	1.018	98.15
11	1.5273	1.017	98.13
12	1.5262	1.017	98.07
13	1.5262	1.017	98.35
14	1.5264	1.017	98.09
15	1.5264	1.017	98.04
16	1.5262	1.017	97.97
17	1.5269	1.016	97.72
18	1.5260	1.016	97.48
19	1.5260	1.016	97.54
20	1.5257	1.016	97.62
21	1.5257	1.017	97.60
22	1.5260	1.017	97.53
23	1.5260	1.016	98.10
24	1.5263	1.017	97.85
25	1.5268	1.017	97.72
平均	1.5264	1.017	97.90
下限値	1.524	1.014	—
上限値	1.529	1.019	—

以上の結果より、屈折率 (20℃、D) = 1.523~1.535 及び比重 (25℃) = 1.008~1.020 を希望します。

(2) 本品の重金属、ヒ素、鉛の濃度測定を実施した。重金属は硫化ナトリウム比色法、ヒ素はジエチルジチオカルバミン酸銀吸光光度法、鉛は原子吸光光度法で実施した。

本品3ロットについて重金属、ヒ素、鉛を測定した結果、表9の通り3ロット共いずれの項目も検出限界以下であった。

表9 重金属、ヒ素及び鉛の定量試験結果

検査項目	検出限界	ロット番号		
		386/99-3	289/99-4	308/99-4
重金属	1ppm	検出せず	検出せず	検出せず
ヒ素	0.1ppm	検出せず	検出せず	検出せず
鉛	0.05ppm	検出せず	検出せず	検出せず

従って、純度試験の規定として、以下のように設定した。

- (1) 重金属 Pbとして20 μ g/g以下(1.0g、第2法、比較液 鉛標準液 2.0ml)
- (2) ヒ素 As₂O₃として4.0 μ g/g以下(0.5g、第3法、装置B)

尚、鉛の規格は特に定めなかった。この理由は、本品は重金属が存在すれば非常に脱硫反応が起こり易く、黄変や沈殿が生じる。従って、特に鉛の限度規格を設定しなくても、重金属の限度規格で十分規制できるものとする。

6. 定量について

イソチオシアン酸アリルの定量では色々な定量法が報告⁶⁾されているが、本品は揮発性が高く又非水溶性であるので、ガスクロマトグラフ法が適している。定量方法を以下の通り設定した。

本品約150mg(Wt)を精密に量り、内標準溶液10mlを正確に加え、これにジクロロメタンを加えて20mlとし試料溶液とする。別に定量用イソチオシアン酸アリル150mg(Ws)を精密に量り、内標準溶液10mlを正確に加え、これにジクロロメタンを加えて20mlとし標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液の0.1~0.3 μ lにつき、次のガスクロマトグラフ法により試験を行い、内標準物質のピーク面積に対するイソチオシアン酸アリルのピーク面積の比Qt及びQsを求め、次式によりイソチオシアン酸アリルの含量を求める。

$$\text{イソチオシアン酸アリルの含量 (\%)} = \frac{W_s}{W_t} \times \frac{Q_t}{Q_s} \times 100$$

内標準溶液 n-デカンのジクロロメタン液(1→100)

【操作条件】

カラム：内径0.2mm、長さ50mのケイ酸ガラス製の細管に、ガスクロマトグラフィー用ジメチルポリシロキサンをコーティングしたもの。

カラム温度：120° から 160° まで毎分4° で昇温する。

試験溶液注入温度：200°

検出器：水素炎イオン化検出器を用いる。250° 付近で操作する。空気量及び水素量は検出感度が最高となるように調節する。

注入方式 スプリット：50:1

キャリアーガス：ヘリウムを用いる。イソチオシアン酸アリルが約7分で流出する流速に調節する。

定量用イソチオシアン酸アリル：市販合成品を用い、確認試験(2)により試験するとき、面積比99.0%以上のものを用いる。

前記の試験法により、本品6ロットを用い6回の繰り返し試験を行った。結果は表10に示す通りであった。本定量法による変動係数はいずれのロットも1%以下であり、十分満足できる精度であった。また、このときの代表的なクロマトグラムを図7に示した。

表10 定量結果

含量(%)	ロット番号					
	回数	56/97-4	532/98-1	656/98	26/99-3	28/99
1	97.8	98.8	95.1	98.2	97.1	98.4
2	97.2	96.3	95.7	98.6	97.4	98.3
3	97.6	98.1	95.3	98.1	96.9	96.6
4	96.7	97.6	94.1	98.3	97.3	98.8
5	97.3	97.7	95.1	98.0	96.9	98.9
6	97.3	97.5	94.9	97.8	97.6	98.1
平均	97.3	97.7	95.0	98.2	97.2	98.2
標準偏差	0.4	0.8	0.5	0.3	0.3	0.8
変動係数	0.4%	0.8%	0.6%	0.3%	0.3%	0.8%

7. その他

強熱残留物について

強熱残留物は、金属類の混入した場合は変質して硫黄化合物、イオウが生成するので、性状の項目で判定できるので特に必要がないと判断される。

残留溶媒について

残留溶媒は、本品製造過程で有機溶媒が使用されないので、規定する必要がない。

8. カラシ抽出物と合成イソチオシアン酸アリルとの比較

カラシ抽出物の主成分と合成イソチオシアン酸アリルは同じであるが、図3と図5を比較すればその違いは明らかである。また、使用した試薬のイソチオシアン酸アリルにはBHTが含まれていた(米国のcode of federal regulationsでは食品添加物の合成香料のBHTの添加を認めている)。国内外の7社の製品を分析した結果を表10に示した。何れの試薬も純度は99%以上であり、本品の定量用イソチオシアン酸アリルとして使用できるものであった。

BHTは何れの試薬でも検出されたが、その濃度には大きな差があった(表11)。

表11 イソチオシアン酸アリル試薬の純度とBHT濃度

会社	ピーク面積比 (%)	BHT(ppm)
A社	99.8	1,292
B社	99.9	131
C社	99.9	547
D社	99.3	1,359
E社	99.9	39
F社	99.1	14
G社	99.9	44

その他にカラシ抽出物と合成品との区別には炭素-14を測定する方法⁷⁾があり、この方法を準用して試験すれば明瞭に区別できる(表12)。しかし、一般的な試験方法ではないので、ルーチン検査には向いていない。

表12 ¹⁴C濃度測定結果

試料	¹⁴ C(Bq/g-Carbon)
カラシ抽出物	0.253±0.003
イソチオシアン酸アリル	0.002 未満

参考文献

- 1) 第2版食品添加物公定書解説書
- 2) 小嶋操 農業および園芸, 57(1)79~83(1982)
- 3) 伊那和夫 香料, 136(6)45~52(1982)
- 4) S.Kawakishi, M.Namiki, Agr. Biol. Chem. 33(3) 432~439(1969)
- 5) 小嶋操 農業および園芸, 57(10)1321~1445(1982)
- 6) 小嶋操 農業および園芸, 57(2)357~362(1982)
- 7) 川村秀久他 保健物理, 33(1)17~24(1998)

カラシ抽出物

(Mustard extract)

定義 本品は、アブラナ科カラシナ (*Brassica juncea* LINNE) の種子の脂肪油を除いた圧搾粕より、水蒸気蒸留により得られたものである。主成分はイソチオシアン酸アリルである。

含量 本品は、イソチオシアン酸アリルを ($C_4H_5NS=99.16$) 93.0%以上を含み、他にイソチオシアン酸 sec-ブチル、イソチオシアン酸 3-ブテニル、イソチオシアン酸 n-ブチル等を含む。

性状 本品は、無～淡黄色の透明な液体で、からしような強い刺激性のにおいがある。

確認試験 (1)本品 3ml をとり、冷却しながら徐々に硫酸 4ml を加えて振り混ぜるとき、ガスを発生し、液は、黄色透明で、次第に粘ちょうとなり、からしような強い刺激性のにおいはなくなる。

(2)定量法のガスクロマトグラフィーを準用し、カラム温度を 120℃から 250℃まで毎分 4℃で昇温する条件で、本品 0.5 μ l を注入する時、約 7 分にイソチオシアン酸アリルが流出し、約 8～20 分間にイソチオシアン酸 sec-ブチル、イソチオシアン酸 3-ブテニル、イソチオシアン酸 n-ブチルのピークを認める。

純度試験 (1) 屈折率 $n_D = 1.524 \sim 1.535$ (20℃、D)

(2) 比重 $d_4^{25} = 1.008 \sim 1.020$ (25℃)

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

(4) ヒ素 As_2O_3 として 4.0 μ g/g 以下 (0.5g、第 3 法、装置 B)

定量法 本品約 150mg (Wt) を精密に量り、内標準溶液 10ml を正確に加え、これにジクロロメタンを加えて 20ml とし試料溶液とする。別に定量用イソチオシアン酸アリル 150mg (Ws) を精密に量り、内標準溶液 10ml を正確に加え、これにジクロロメタンを加え 20ml とし標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液の 0.1～0.3 μ l につき、次のガスクロマトグラフ法により試験を行い、内標準物質のピーク面積に対するイソチオシアン酸アリルのピーク面積の比 Q_t 及び Q_s を求め、次式によりイソチオシアン酸アリルの含量を求める。

$$\text{イソチオシアン酸アリルの含量 (\%)} = \frac{W_s}{W_t} \times \frac{Q_t}{Q_s} \times 100$$

内標準溶液 n-デカンのジクロロメタン液 (1→100)

【操作条件】

カラム：内径 0.2mm、長さ 50m のケイ酸ガラス製の細管に、ガスクロマトグラフィー用ジメチルポリシロキサンをコーティングしたもの。

カラム温度：120℃から 160℃まで毎分 4℃で昇温する。

試験溶液注入温度：200℃

検出器：水素炎イオン化検出器を用いる。250℃付近で操作する。空気量及び水素量は検出感度が最高となるように調節する。

注入方式 スプリット：50:1

キャリアーガス：ヘリウムを用いる。イソチオシアン酸アリルが約 7 分で流出する流速に調節する。

定量用イソチオシアン酸アリル：確認試験(2)により試験するときピーク面積比が 99.0%以上のものを用いる。