

表-2： 酵素分解レシチンの各種溶剤への溶解性

	ベンゼン	トルエン	ヘキサン	メタノール
大豆由来	○	○	○	×
卵黄由来	×	×	×	○

3. 検討結果及び考察

1) 脂肪酸

旧規格にはない項目であるが、JECFA規格に設定されており、整合性の観点より検討した。レシチンの組成、あるいは脂肪酸組成により、冷却時の状態が異なり、「沈殿又はにごりを生ずる」とした。

2) 酸価

植物由来と卵黄由来で溶剤への溶解性が異なり、溶剤として、「酵素分解植物レシチン」はトルエン、「酵素分解卵黄レシチン」はメタノールを使用することとした。

3) トルエン不溶物

酵素分解植物レシチンにおいても、トルエン不溶物は2%以上の生成が認められ、原料夾雑物チェック目的の本試験項目には不相当と評価し、規格項目から削除した。

4) アセトン不溶物⇒アセトン可溶物

旧規格及びレシチンの規格は「アセトン不溶物」であるが、「酵素分解レシチン」では不溶物は極めて粘ちよう性が強く、ろ過が困難であることから、「アセトン可溶物」とした。規格数値は「アセトン可溶物」として60%以下、すなわち、「アセトン不溶物」として40%以上となり、実質の変更は伴わない。

酵素分解レシチン

Enzymatically decomposed lecithin

本品は、「植物レシチン」又は「卵黄レシチン」から得られた、フォスファチジン酸及びビリゾレシチンを主成分とするものをいう。

性 状 本品は、白～褐色の粉末、粒又は塊状もしくは淡黄～暗褐色の粘ちような液体で、特有のにおいと味がある。

1. 「酵素分解植物レシチン」

確認試験

(1) リン

本品1gを分解フラスコに入れ、これに粉末とした硫酸カリウム5g、硫酸銅0.5g及び硫酸20mlを加える。次にフラスコを約45°に傾け、泡立ちがほとんどやむまで穏やかに加熱し、更に温度を上げて沸騰させ、内容物が青色の透明な液となった後、更に1～2時間加熱する。冷後、等容量の水を加え、この液5mlにモリブデン酸アンモニウム溶液(1→5)10mlを加えて加熱するとき、黄色の沈殿を生じる。

(2) 脂肪酸

サンプル1gを0.5mol/lのエタノール性水酸化カリウム25mlで1時間環流後、室温又は、0°Cに冷却するとカリウム石鹼の沈殿又はにごりを生じる。

純度試験

(1) 酸価 65以下

本品約2gを精密に量り、トルエン50mlを加えて溶かし、0.1mol/l水酸化カリウム液であらかじめ中和したエタノール50mlを加え検液とし、フェノールフタレイン指示薬を用い、油脂類試験法中の酸価の試験を行なう。

(2) アセトン可溶物 60%以下

本品約2gを精密に量り、50ml目盛付共栓遠心管に入れ、トルエン3mlを加えて溶かし、アセトン15mlを加えてよくかきまぜた後、氷水中に15分間放置する。これにあらかじめ0～5°Cに冷却したアセトンを加えて50mlとし、よくかき混ぜ、氷水中に15分間放置した後、毎分約3,000回転で10分間遠心分離し、上層液をフラスコに採る。なお共栓遠心管の沈殿物に0～5°Cのアセトンを加えて50mlとし、氷水中で冷却しながらよくかき混ぜた後、同様に遠心分離する。この上層液を先のフラスコに合わせ、水浴上で蒸留し、残留物を105°C1時間乾燥し、その重量を精密に量る。

(3) 過酸化物価 10以下

本品約5gを精密に量り、250ml共栓付エルレンマイヤーフラスコに入れ、クロロホルム/酢酸混液(2:1)35mlを加え、静かに振り混ぜて透明に溶かす。次に清浄な窒素を通じて器内の空気を十分に置換し、窒素を通じながらヨウ化カリウム試液1mlを正確に量って加

え、窒素を止め、直ちに栓をして1分間振り混ぜた後、暗所に5分間放置する。この液に水75mlを加え、再び栓をして激しく振り混ぜた後、0.01mol/lチオ硫酸ナトリウム溶液で滴定し(指示薬 デンプン試液)、次式によって過酸化物価を求める。別に空試験を行ない、補正する。

過酸化物価 = $\{0.01\text{mol/lチオ硫酸ナトリウム溶液の消費量(ml)} / \text{試料の採取量(g)}\} \times 10$

(4)鉛 $10\mu\text{g/g}$ 以下(第2法)

(5)ヒ素 As_2O_3 として $4.0\mu\text{g/g}$ 以下(0.5g、第3法、装置B)

水分 4.0%以下(1g、直接滴定)。ただし、カールフィシャー用メタノールの代わりにクロロホルム/メタノール混液(4:1)を用いる。

2. 「酵素分解卵黄レシチン」

確認試験

(1)リン

本品1gを分解フラスコに入れ、これに粉末とした硫酸カリウム5g、硫酸銅0.5g及び硫酸20mlを加える。次にフラスコを約 45° に傾け、泡立ちがほとんどやむまで穏やかに加熱し、更に温度を上げて沸騰させ、内容物が青色の透明な液となった後、更に1~2時間加熱する。冷後、等容量の水を加え、この液5mlにモリブデン酸アンモニウム溶液(1→5)10mlを加えて加熱するとき、黄色の沈殿を生じる。

(2)脂肪酸

サンプル1gを0.5mol/lのエタノール性水酸化カリウム25mlで1時間環流後、室温又は、 0°C に冷却するとカリウム石鹸の沈殿又はにごりを生じる。

純度試験

(1)酸価 65以下

本品約2gを精密に量り、メタノール50mlを加えて 60°C 以下の温浴で加温し溶かし、0.1mol/l水酸化カリウム液であらかじめ中和したエタノール50mlを加え検液とし、フェノールフタレイン指示薬を用い、油脂類試験法中の酸価の試験を行なう。

(2)アセトン可溶物 60%以下

本品約2gを精密に量り、50ml目盛付共栓遠心管に入れ、メタノール3mlを加えて 60°C 以下の温浴で加温して溶かし、アセトン15mlを加えてよくかき混ぜた後、氷水中に15分間放置する。これにあらかじめ $0\sim 5^\circ\text{C}$ に冷却したアセトンを加えて50mlとし、よくかき混ぜ、氷水中に15分間放置した後、毎分約3,000回転で10分間遠心分離し、上層液をフラスコに採る。なお共栓遠心管の沈殿物に $0\sim 5^\circ\text{C}$ のアセトンを加えて50mlとし、氷水中で冷却しながらよくかき混ぜた後、同様に遠心分離する。この上層液を先のフラスコに合わせ、水浴上で蒸留し、残留物を 105°C で1時間乾燥し、その重量を精密に量る。

(3)過酸化物価 10以下

本品約5gを精密に量り、250ml 共栓付エルレンマイヤーフラスコに入れ、クロロホルム／酢酸混液(2:1)35ml を加え、静かに振り混ぜて透明に溶かす。次に清浄な窒素を通じて器内の空気を十分に置換し、窒素を通じながらヨウ化カリウム試液1ml を正確に量って加え、窒素を止め、直ちに栓をして1分間振り混ぜた後、暗所に5分間放置する。この液に水75ml を加え、再び栓をして激しく振り混ぜた後、0.01mol/lチオ硫酸ナトリウム溶液で滴定し(指示薬 デンプン試液)、次式によって過酸化物価を求める。別に空試験を行ない、補正する。

過酸化物価= $(0.01\text{mol/lチオ硫酸ナトリウム溶液の消費量(ml)} / \text{試料の採取量(g)}) \times 10$

(4)鉛 $10\mu\text{g/g}$ 以下(第2法)

(5)ヒ素 As_2O_3 として $4.0\mu\text{g/g}$ 以下(0.5g、第3法、装置B)

水分 4.0%以下(1g、直接滴定)。ただし、カールフィシャー用メタノールの代わりにクロロホルム／メタノール混液(4:1)を用いる。

「植物性ステロール」 自主規格改定の検討

日本食品添加物協会第10部会
タマ生化学株式会社
日清製油株式会社
理研ビタミン株式会社

i. 目的

「植物性ステロール」の自主規格は第二版「化学的合成品以外の食品添加物 自主規格追補」に記載されている。それに対して平成10年度において、食品添加物としての実質有効性を配慮して、「単体ステロールを主成分とし、それとエステル体を含むものであって、それらの合計が90%以上であり、単体ステロール換算の含量が70%以上である」との概念における改定案を提案した。

しかしながら、本概念では第二版追補において最初に設定した「植物性ステロール」の概念が希釈される懸念もあり、あらためて第二版追補に設定時の概念を活かした規格の策定を検討することとした。

2. 検討内容

第二版追補における「植物性ステロール」の概念は高純度単体植物性ステロール製品にあり、一方、平成10年度改定案は油溶解性の向上を伴う応用性の拡大を主眼としたものであり、高価な高純度品とエコノミー製品的な関係にもある。

このような関係は「シェラック」における「白シェラック」と「精製シェラック」の関係に擬することが可能かと考えた。

すなわち、「精製シェラック」に対応する高純度製品を「精製植物性ステロール」とし、「白シェラック」に対応する平成10年度改定案相当製品を「植物性ステロール」とし、対応する製品の規格案を策定することとした。後者については既に案を提出しており、今年度においては「精製植物性ステロール」の規格について検討することとした。

「精製植物性ステロール」の特徴は単体ステロールの純度が高いことにあり、その観点より以下の点について検討・考察した。

- (1) 定量法
- (2) 融点
- (3) 溶状

3. 検討結果・考察

1) 定量法

単体ステロールの高純度性を基本としており、測定の前処理としての加水分解工程を削除することとした。測定法の基本は「植物性ステロール」と同じである。

2) 単体ステロールの純度と融点

第2版追補の融点規格は131～141°Cであるが、純度の高い製品が規格外となる矛盾が発生する。一方、医薬品添加物規格におけるフィとステロールの融点規格は136～151°Cである。従って、第2版追補規格と医薬品添加物規格の136～151と合わせた形で、131～151°Cの規格幅としたい。

表一1：ステロール純度と融点

試料 No	純度 (%)	融点 (°C) 測定繰り返し		
		1	2	3
1	90.0	131.0	131.5	131.5
2	90.8	134.8	135.0	133.2
3	91.9	133.7	132.0	131.1
4	96.3	138.1	138.0	
5	97.6	142		
6	97.8	142		

3) 純度と溶状

溶状試験において冷却後の不溶物の生成は温度依存性が大きく、室温（温度領域10～30°C）においては低温領域での沈殿生成が認められる。従って、純度との関係を含めてエタノールに対する加熱溶解後の冷却温度と沈殿又は濁りの生成状態を試験した。その結果、単体ステロールの純度は規格内であっても低温での溶状が不良となる現象が生じる。この矛盾を解消するには冷却温度は20～40°Cが適当である。

表一2：冷却後の温度と濁り生成状態

純度	15	20	30	40
90%—1	やや濁り生成	濁りなし	濁りなし	濁りなし
90%—2	白濁	白濁	白濁	濁りなし
95%—1	濁りなし	濁りなし	濁りなし	濁りなし
95%—2	濁りなし	濁りなし	濁りなし	濁りなし

植物性ステロール（改訂案）

Vegetable Sterol

本品は、油糧種子を粉碎し、抽出して得られた植物油脂より、室温時～温時メタノール、エタノール、イソプロパノール、酢酸エチル、アセトン、又はヘキサンで抽出したもの又はそのケン化物より得られたものである。主成分はフィトステロールである。

1. 「精製植物性ステロール」

含 量 フィトステロール90%（上限値：102.0%）以上を含む。

性 状 本品は、白～わずかに黄色を帯びた白色粉末、粗末、若しくは粒状で、ほとんどにおいが
ない。

確認試験 (1) 本品5mgをヘキサン2mlに溶かし、無水酢酸1ml及び硫酸1mlを加えて振り混ぜるとき、下層は初め赤色を呈し、青色を経て緑色に変わる。

(2) 定量法によるガスクロマトグラフの保持時間による組成により確認する。

純度試験 (1) 融 点 131～151℃

(2) 溶 状 本品0.5gを共栓フラスコにとり、温無水エタノール50mlを加え、60～70°
の水浴中で加温して溶かし、20～40℃で2時間放置するとき、液は、沈殿または混濁しない。

(3) 酸 価 0.5以下(10g)ただし、溶媒には、無水エタノール：トルエン混合液(1：
1)100mlを用い、加温して溶かし、検液とする。温時試験を行う(10g、油脂類試験法)。

(4) 重金属 Pbとして10μg/g以下(2.0g、第2法、比較液 鉛標準液2.0ml)

(5) ヒ 素 As₂O₃として4.0μg/g以下(0.5g、第3法、装置B)

乾燥減量 3.0%以下(1～3g、105℃、2時間)

強熱残分 0.5%以下(1～2g)

定 量 法 本品のフィトステロール約70mgに対応する量を精密に量り、酢酸エチルを加えて溶かし、正確に50mlとし試験液とする。

別にスチグマステロール標準品約70mgを正確に量り、酢酸エチルを加えて溶かし、正確に50mlとし標準液とする。

試験液及び標準液3μlにつき、次の条件でガスクロマトグラフィーを行う。

試験液のステロール(ブラシカステロール、カンペステロール、スチグマステロール及びβ-シトステロール)の面積の総計及び標準液のスチグマステロールの面積を測定し、次式によりステロール含量を求める。

スチグマステロールの保持時間がおよそ25分になるように調整する。この時のブラシカステロール、カンペステロール及びβ-シトステロールのスチグマステロールに対する相対保持時間はそれぞれ約0.8、0.9及び1.2である。

操作条件

検 出 器 : 水素イオン検出器
カ ラ ム : 内径約 3 mm、長さ約 2 m のガラス管にガスクロマトグラフ用メチルシリコンポリマーを 150 ~ 250 μm のガスクロマトグラフ用ケイソウ土に 1 ~ 2 % の割合で被覆したものを充填する。
カ ラ ム 温 度 : 約 250 °C 付近の一定温度
検 出 器 温 度 : 280 °C
キャリアガス : 窒素又はヘリウム

フィトステロールの量 (%)

$$\frac{\text{標準品の採取量 (mg)}}{\text{試料採取量 (mg)}} \times \frac{As}{Ast} \times 100$$

As : 試験液ステロールの総面積

Ast : 標準液のステグマステロールの面積

ステグマステロール標準品 : STIGMASTEROL 97+%品を用いる。但し、純度は 97% とする。

【注意事項】

1. 本法により植物性ステロールを定量する時には、内部標準としてスクワラン又は d-γ-トコフェロール を用いることが出来る。即ち、スクワラン又は d-γ-トコフェロール 70 mg を正確に量り、酢酸エチルを加えて溶かし 50ml とし内部標準とする。試験液又は標準液 50ml に対してこの液 5 ml を加える。

2. 「植物性ステロール」

含 量 フィトステロール 70% 以上を含む。

性 状 本品は、白~褐色の粉末、薄片、粗末、粒状若しくはロウ状の塊、又は、半流動体で、においが無いか又は特異なにおいがある。

確認試験 (1) 本品 5 mg をヘキサン 2 ml に溶かし、無水酢酸 1 ml 及び硫酸 1 ml を加えて振り混ぜるとき、下層は初め赤色を呈し、青色を経て緑色に変わる。

(2) 定量法によるガスクロマトグラフの展開時間による組成により確認する。

純度試験 (1) 酸価 5 以下 (10 g) ただし、溶媒には、無水エタノール : トルエン混合液 (1 : 1) 100ml を用い、加温して溶かし、検液とする。温時、第 7 版食品添加物公定書一般試験法、

油脂類試験法酸価の方法に準じ試験を行う。

(2) 重金属 pbとして $10\mu\text{g/g}$ 以下(1.0g、第2法、比較液 鉛標準液 1.0ml)

(3) ヒ素 As_2O_3 として $4.0\mu\text{g/g}$ 以下(0.5g、第3法、装置B)

乾燥減量 3. 0%以下(1~3g、 105°C 、2時間)

強熱残分 0. 5%以下(1~2g)

定量法 本品のフィトステロール約70mgに対応する量を精密に量り、無水エタノール約70ml及び水酸化カリウム溶液(9→10)10mlを加え、還流冷却器を付け、沸騰水浴中で60分間加熱して加水分解する。

終了後、速やかに冷却した後、分液漏斗Aに移し、フラスコは水25mlずつで2回、さらにエチルエーテル35mlずつで2回洗い、洗液を分液漏斗Aに入れ、激しく振り混ぜた後静置する。

水層を分液漏斗Bに移し、エチルエーテル50mlを加え、激しく振り混ぜた後静置する。

水層を先のフラスコに移し、エチルエーテル層を分液漏斗Aに合わせる。フラスコの水層を分液漏斗Bに移し、フラスコは水10ml、エチルエーテル25mlずつで2回洗い、洗液を分液漏斗Bに入れ激しく振り混ぜた後静置する。

分液漏斗Bの水層を除去し、エチルエーテル層を分液漏斗Aに合わせる。分液漏斗Bは水25mlずつで2回洗い分液漏斗Aに入れる。これを2~3回静かに倒立した後静置し、分離した水層を除く。

水50mlずつで、洗液がフェノールフタレイン試液で呈色しなくなるまで水洗いする。

水をできるだけ除き、エチルエーテル抽出液を300ml容褐色共栓付ナス型フラスコに移し、分液漏斗Aはエチルエーテル10mlずつで2回洗い、洗液はナス型フラスコへ加え、約 40°C の水浴中でエチルエーテルを留去する。残留物に直ちに無水エタノール3~5mlを加えて軽く振り混ぜる。

約 60°C の水浴中で溶媒を減圧留去した後、速やかに酢酸エチルを加えて溶かし、正確に50mlとし試験液とする。

別にスチグマステロール標準品約70mgを正確に量り、酢酸エチルを加えて溶かし、正確に50mlとし標準液とする。

試験液及び標準液3 μl につき、精製植物性ステロールの定量法の条件でガスクロマトグラフィーを行う。

[注意事項]

1. 本法では α -トコフェロールとブラシカステロールがほぼ同位置にピークを有するので、トコフェロールが混在する時には下記によりアセチル化することで定量が可能である。エチルエーテルを減圧留去して得られた抽出物にピリジン5mlを加えて溶かし、無水酢酸3mlを加え、還流冷却器を付け、沸騰水中で60分間加熱しアセチル化する。アセチル化終了後、約 60°C の水浴中でピリジンを減圧留去し、速やかに冷却し、酢酸エチルを加えて溶かし、正確に10mlとし試験液とする。なお、標準液についても同様にアセチル化を行わなければならない。
2. 本法により植物性ステロールを定量する時には、内部標準としてスクワランを用いることが出来

る。即ち、スクワラン 70 mg を正確に量り、酢酸エチルを加えて溶かし 50ml とし内部標準とする。
試験液又は標準液 50ml に対してこの液 5 ml を加える。

貝殻焼成カルシウム

Calcinated Shell Calcium

定義 本品は、貝殻を焼成して得られたものである。成分は酸化カルシウムである。

含量 本品を強熱したものは、酸化カルシウム(CaO=56.08)91.0%以上を含む。

性状 本品は、白～灰白色の塊、粒又は粉末である。

確認試験 (1) 本品を水で潤すとき発熱し、これに約5倍量の水を加えたものは、アルカリ性を呈する。

(2) 本品1gに水20mlを混ぜ、酢酸(1→2)6mlを加えて溶かした液は、カルシウム塩の反応を呈する

純度試験 (1) 塩酸不溶物 0.50%以下

本品約5.0gを精密に量り、水少量を加えて崩壊し、水100mlを加えてかき混ぜながら液が酸性を呈するまで塩酸を滴下し、更に塩酸を1ml加える。この液を5分間煮沸し、冷後、ガラスろ過器(GP16)を用いてろ過し、残留物をろ液が硝酸銀溶液を加えても混濁しなくなるまで熱湯で洗い、105℃で恒量になるまで乾燥し、その重量を量る。

(2) 炭酸塩 本品1.0gに少量の水を加えて崩壊し、水50mlとよく混ぜ、しばらく放置し、上層の乳状液の大部分を傾斜して除き、残留物に過量の塩酸(1→4)を加えるとき、著しく泡だたない。

(3) 重金属 Pbとして $20\mu\text{g}/\text{g}$ 以下

本品0.5gをビーカーに量り、塩酸(1→4)10mlを加えてとかし、水浴上で蒸発乾固し、残留物に塩酸3滴を加え、熱湯10mlを加えて2分間加温し、

酢酸(1→20)2ml及び水20mlを加えて溶かし、必要があればろ過し、更に水を加えて50mlとし、検液とし、重金属試験法中の第三法より定量する。

(4) ヒ素 As_2O_3 として $4.0\mu\text{g}/\text{g}$ 以下

本品0.5gを量り、塩酸(1→4)5mlを加えて溶かし、検液とする。装置Bを用いる。

強熱減量 10%以下(予め径を約1mm以下に粉碎したもの0.5g, 900℃, 恒量)

定量法 本品を900℃で恒量になるまで強熱し、デシケーター(シリカゲル)中で放冷し、冷後、その約0.7gを精密に量り、塩酸(1→4)30mlを加え、加熱して溶かす。冷後、水を加えて正確に500mlとし、検液とし、カルシウム塩定量法中の第一法より定量する。

(株) エヌ・シー・コーポレーション

§ 自主規格案に関する分析結果

	LOT NO. 9814			LOT NO. 9909			LOT NO. 9915		
	1回	2回	3回	1回	2回	3回	1回	2回	3回
性状 *1	適	適	適	適	適	適	適	適	適
確認試験(1)*2	適	適	適	適	適	適	適	適	適
(2)*3	適	適	適	適	適	適	適	適	適
純度試験									
(1)塩酸不溶物 (%)	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
(2)炭酸塩 *4	適	適	適	適	適	適	適	適	適
(3)重金属 ($\mu\text{g/g}$)	1.70	1.70	1.70	2.20	2.20	2.20	1.40	1.40	1.40
(4)ヒ素	検出せず	検出せず	検出せず	検出せず	検出せず	検出せず	検出せず	検出せず	検出せず
強熱減量 (%)	0.30	0.32	0.32	0.28	0.26	0.29	0.04	0.02	0.02
定量法 (%)	97.03	96.78	96.89	96.91	96.88	96.99	97.25	96.90	97.08

*1: 目視により確認。

*2: 水を注ぐと激しく発熱し、5倍量の水を加えたものを青リトマス試験紙により確認。

*3: 炎色反応により確認。(橙赤色)

*4: 目視により確認。

卵殻焼成カルシウム

Calcinated Eggshell Calcium

本品は、卵殻を焼成して得られたものである。主成分は酸化カルシウムである。

含 量 本品を強熱したものは、酸化カルシウム (CaO=56.08) 95.0%以上を含む。

性 状 本品は、白～灰白色の粉末である。

確認試験 (1) 本品を水で潤すとき発熱し、これに5倍量の水を加えたものは、強アルカリ性を呈する。

(2) 本品1gに水20ml及び酢酸(1→3) 6mlを加えて溶かした液は、カルシウム塩の反応を呈する。

純度試験 (1) 塩酸不溶物 0.50%以下

本品約5.0gを精密に量り、水少量を加えて崩壊し、水100mlを加えてかき混ぜながら液が酸性を呈するまで塩酸を滴下し、更に塩酸を1ml加える。この液を5分間煮沸し、冷後、ガラスろ過器(G-4)を用いてろ過し、残留物をろ液が硝酸銀溶液を加えても混濁しなくなるまで熱湯で洗い、105°で恒量になるまで乾燥し、その重量を量る。

(2) 炭酸塩 本品2.0gを量り、水50mlを加えてよく振り混ぜた後、塩酸(1→4) 25mlを加えるとき、著しく泡立たない。

(3) 重金属 Pbとして40 μ g/g以下

本品0.5gを量り、塩酸(1→4) 10mlを加えて溶かし、水浴上で蒸発乾固した後、酢酸(1→20) 2ml及び水20mlを加えて溶かし、必要があればろ過し、水を加えて50mlとし、検液とする。比較液は、鉛標準液2.0mlに酢酸(1→20) 2ml及び水を加えて500mlとする。

(4) ヒ素 As₂O₃として4.0 μ g/g以下

本品0.25gを量り、塩酸(1→4) 5mlを加えて溶かし、検液とする。装置Bを用いる。

定量法 本品を900°で恒量になるまで強熱し、デシケーター(シリカゲル)中で放冷し、その約1.5gを精密に量り、塩酸(1→4) 30mlを加えて溶かし、冷後、水を加えて正確に250mlとし、検液とし、カルシウム塩定量法の第1法より定量する。

0.05M EDTA 溶液 1 ml=2.8041mgCaO

2000年2月

栃木工場 品質管理

TEM (卵殻焼成カルシウム) の依頼試験結果

自主規格案に基づき、試験した結果は以下のとおりである。

なお、この試験は平成12年2月18日に当工場・品質管理で実施されたものである。

試験項目		Lot No.	241J	311J	072J
含量	<EDTA法> 95.0%以上		96.3	97.3	97.4
			97.8	97.4	97.2
			97.3	97.5	97.1
性状	白～灰白色の粉末	適合	適合	適合	
確認試験	(1)アルカリ性を呈する	適合	適合	適合	
	(2)カルシウム塩の反応	適合	適合	適合	
純度試験	(1)塩酸不溶物 0.5%以下	適合	適合	適合	
	(2)炭酸塩	適合	適合	適合	
	(3)重金属 40ppm以下	適合	適合	適合	
	(4)ヒ素 4ppm以下	適合	適合	適合	

試験結果は、いずれのロットも、自主規格案に適合することが確認された。

以上

別添

平成11年度 厚生科学研究報告書

香料化合物のガスクロマトグラフィー
による含量測定法の検討

日本香料工業会

川村 洋

平成11年度 厚生科学研究報告書

香料化合物のガスクロマトグラフィー
による含量測定法の検討

平成12年3月

厚生科学研究 山田班

日本香料工業会

川村 洋

目 次

	頁
はじめに	1
A. 研究目的	2
B. 研究方法	3
1. 試料の選定	4
2. 測定条件	4
1) GC測定条件	4
2) GC装置の適正試験	5
3. 測定方法	6
1) GC法による含量測定法の種類	6
2) 本研究における測定法	7
C. 結果と考察	11
1. 香料化合物12品目のGC測定	11
2. GC測定条件と含量値	15
3. 公定書法含量と「面積百分率法」測定値との比較	16
4. 「面積百分率法」と内標準法との比較	18
5. 難揮発性および不揮発性物質の簡易検査法	21
おわりに	25
資料	
表-1 ガスクロマトグラフ測定条件	27
表-2 GC装置の適性試験結果	28
表-3 GC装置の適性試験結果の6社平均値	29
表-4 標準香料化合物および内標準物質	30
表-5 香料化合物のGC含量測定結果（「面積百分率法」）	31
表-6 香料化合物のGC含量測定結果（内標準法）	34
表-7 香料化合物のGC法による含量測定検討結果	37
表-8 難揮発性物質および不揮発性物質を含む試料の判別試験 （難揮発性物質および不揮発性物質と仮定したBenzyl benzoate の含量測定）	38
ガスクロマトグラム	39
資料-1 「GAS CHROMATOGRAPHIC (GC) ASSAY OF FLAVOUR CHEMICALS」(JECFA, Compendium of food Additives specifications, Addendum 7)	52
資料-2 仮訳「フレーバーケミカルのガスクロマトグラフィー定量法」	55

平成 11 年度厚生科学研究

香料化合物のガスクロマトグラフィーによる含量測定法の検討

研究報告書

研究要旨

香料化合物の含量定量法は、国際的規格である JECFA 規格においてもガスクロマトグラフィー（以下、GC 法）が基本的な定量法となっているが、日本における食品添加物公定書による香料の含量定量法は未だ化学的測定法のみとなっている。香料化合物の国際的な安全性評価および規格化が JECFA を中心に始まっている今日、GC 法について検討しておくことが重要であると判断し、GC 法について実測による研究を行った。

食品衛生法施行規則別表第 2 に収載されている香料化合物のうち代表的 12 品目を対象に、公定書に定められた化学的測定法、JECFA 試験法記載の GC 内標準法および内標準を使用しない、いわゆる面積百分率法により、それぞれの測定値を比較検討した。香料化合物個々の特性と GC 法による各成分の分離条件やカラム適性などの具体的検証を行い、それらの結果に基づき「面積百分率法」適用の有効性について考察した。

「面積百分率法」ではおおむね良好な結果を得た。

はじめに

欧州連合(EU)の統合や世界規模の食品貿易の広がりの中で、食品および食品添加物の安全性および規格基準そのものにも国際的整合性が強く求められている。

厚生科学研究「食品添加物の規格基準の国際的整合性に関する研究」の一環として日本香料工業会では平成 6 年度より香料の規格基準について研究を行ってきた。

この研究過程において、香料化合物の安全性と規格上もっとも重要な項目である「含量」の測定方法について、国際的な整合性を図る必要性が認識されて来た。

我が国の食品添加物公定書には各食品添加物の規格項目に含量の規格が定められており、香料化合物では 78 品について規格基準が定められている。

EU は最近の委員会条例案 (Draft COMMISSION REGULATION) におい

て、フレーバー物質の登録リスト（2800 品目余）とその安全性評価手順（現行の JECFA の評価アプローチの適用）および規格設定などを規定し、その採択を待っている。このリストはフレーバー物質のポジティブリストとして 2004 年の完成と実施を目指している。こうした国際的動向と相まって、国際的基準となる JECFA の規格基準のうちフレーバー物質のガスクロマトグラフィーによる含量測定法の検討を行った。

A. 研究目的

食品添加物公定書第七版では、78 品目の香料化合物と 18 の類が指定され、78 品目についてはその規格が定められているが、含量の測定方法は全て化学的な試験法によることとなっている。しかし、国際的にも日常の品質管理業務あるいは香料成分の分析試験においては、ガスクロマトグラフィー（以下、GC 法）がより簡便で信頼性のある方法として一般的に導入されている。GC 法は食品添加物公定書に、物質の特定や濃度の測定試験法として採用されているが、香料化合物の含量の測定には適用されていない。

また、国際的規格書である、FAO/WHO 合同食品添加物専門家委員会 (JECFA) の **Compendium of food additive specifications**（以下、「JECFA 規格」）あるいは米国の食品添加物規格書である **Food chemical codex**（以下、「FCC 規格」）においても、香料化合物の含量測定法に GC 法を基本として採用している。

そこで、今年度の厚生科学研究として食品添加物公定書において規格基準が定められている香料化合物を対象に、「JECFA 規格」および「FCC 規格」の GC 法を指標として、化学的測定と比較し GC 法の有用性を検証することを試み、あわせて GC 法における内標準物質を使用する方法および内標準物質を使用しないピーク面積の百分率から求める二つの測定法を比較検討した。これにより香料化合物の含量測定法である GC 法の有用性と問題点を明らかにし、さらに国際的規格基準における試験法として国際整合性に寄与することを研究目的とした。

【この報告書で引用した略号】

JECFA : FAO/WHO 合同食品添加物専門家委員会

JECFA 規格 : JECFA が設定した食品香料化合物 (flavouring agents) の規格および試験法で、**Compendium of food additive specifications, Addendum 7** までに収載されているもの。

FCC : 「**FOOD CHEMICALS CODEX**」

GC 法 : ガスクロマトグラフィー

GC : ガスクロマトグラムまたはガスクロマトグラフ

「面積百分率法」: 「ガスクロマトグラフィーにおいて内標準物質を使用せず直接注入して得られた総ピーク面積を 100 としたとき、目的成分の面積百分率を含量とする方法」

「JECFA 試験法」: 上記「JECFA 規格」の Addendum 7 に収載されている試験法のうち「GAS CHROMATOGRAPHIC (GC) ASSAY OF FLAVOUR CHEMICALS」をいう。

B. 研究方法

GC 法で測定可能な試料は揮発性化合物であり、香料化合物は総て揮発性化合物である。多くの香料化合物は製造工程の最終段階で蒸留精製され、それ故、難揮発性あるいは不揮発性成分は除去される。従って、一般には適正な条件で測定さえされれば被検成分と共存物（揮発性成分）すべてが GC 法で検出される。

被検成分と共存物は総じて分子量および構造が近いので、それらの GC 法での検出応答が近似することから、ピーク面積として算出された検出応答比を重量比と読み替えても殆ど問題はない。このことから、蒸留精製された香料化合物中の被検成分含量は、GC 法で検出された総ピーク面積値に対する被検成分のピーク面積値の百分率をもって含量とみなすことができる。この面積の百分率をもって含量値とみなす方法は、JECFA および FCC の規格基準において香料の含量測定法にも採用され既に実施されている。

本報文中ではこの含量測定法を「面積百分率法」とし、以下のように定義した。

即ち、「面積百分率法」とは、「GC 法において内標準物質を使用せず化合物を直接注入して得られた総ピーク面積を 100 としたとき、目的成分の面積百分率を含量とする方法」とした。

本研究では、「JECFA 規格」および FCC の試験法で香料の含量測定法として収載している方法を基に、「面積百分率法」および内標準法（内標準物質を使用する方法）における測定結果から含量測定法に於ける再現性、正確性、測定機器による測定差、官能基による測定の難易などを比較検討して「面積百分率法」の信頼性の検証を行った。

また、難揮発性および不揮発性成分が混在していると思われる場合を想定し、簡便な独自の検証方法（難揮発性物質の簡易判別法）も併せて検討した。更には