

6. 確認試験（ロット分析）

ロット分析に用いたマスチックの試料は(株)中村カイロ協会がギリシャより輸入した 2000 年産の LargeNo.1、LargeNo.3、SmallNo.5 の 3 ロットを用いた。

確認試験（赤外吸収スペクトル）チャートは別添

		LargeNo.1	LargeNo.3	SmallNo.5
確認試験 (呈色反応)	1	適	適	適
	2	適	適	適
	3	適	適	適
純度試験 (酸価)	1	62.6	54.5	56.0
	2	58.6	54.4	58.5
	3	62.9	54.3	57.1
	Ave	61.4	54.4	57.2
純度試験 (重金属)	1	適	適	適
	2	適	適	適
	3	適	適	適
純度試験 (鉛)	1	適	適	適
	2	適	適	適
	3	適	適	適
純度試験 (ヒ素)	1	適	適	適
	2	適	適	適
	3	適	適	適
強熱残分	1	0.37	0.42	0.31
	2	0.31	0.40	0.43
	3	0.29	0.41	0.39
	Ave	0.32	0.41	0.38

平成13年2月

# 研究報告書

研究者所属：味の素株式会社  
品質保証部

## 1. 目的

既存添加物「酵素処理ナリンジン」「ナリンジン」「粗製海水塩化カリウム」及び「メチルチオアデノシン」について、自主規格作成のため、確認試験、純度試験法、定量法などについて調査研究を行ってきたが、この結果に基づき規格（案）を策定し、その妥当性について調査研究を行う。

## 2. 検討方法

確認試験、純度試験法、定量法の調査研究結果に基づき、「酵素処理ナリンジン」「ナリンジン」「粗製海水塩化カリウム」及び「メチルチオアデノシン」規格（案）を策定し、各3ロットについての繰り返し試験により規格（案）の妥当性について確認した。

## 3. 検討結果ならびに考察

各3ロットについての繰り返し試験を行った結果、各品目ともに試験作業上の問題は認められず、測定値全てが規格（案）に適合したことから、規格（案）の妥当性が確認された。

## 4. 規格案

別紙のとおり

以上

# 酵素処理ナリンジン

## Enzymatically modified Narinjin

**定義** 本品はナリンジンに $\alpha$ -グルコシル転移酵素等を用いてグルコースを付加して得られたものである。成分は $\alpha$ -グルコシルナリンジン等である。

**含量** 本品を乾燥物換算したものは、ナリンゲニン配糖体として30.0%以上を含む。

**性状** 本品は白色～薄黄白色粉末で、強い苦味がある。

**確認試験** (1)本品5mgに50vol%エタノール10mlを加えて溶かし塩化鉄(Ⅲ)試液(1.8→1000)1～2滴を加えるとき、液は褐色を呈する。

(2)本品10mgに水500mlを加えて溶かした液は波長280～285nmに極大吸収がある。

(3)本品約0.5gを量り水100mlを加える時、本品は澄明に溶解する。この液を検液とし、別にナリンジン(注1)約0.1gを採りHPLCの移動相100mlで溶解し標準液とする。下記条件でHPLC分析した時、本品はナリンジンのピークよりリテンションタイムの短いところにピークがあり、ナリンジンと同一の紫外部吸収スペクトルを有する。

(注1)ナリンジン(標準):ナリンジン自主規格適合品を用いる。

(HPLC条件)

検出器 : フォトダイオードアレイ(280nm、200～400nm)

カラム : ODSシリカゲル

カラム温度 : 45℃

移動相 : 水/メタノール/酢酸=65/30/5

流速 : 0.5ml/min

注入量 : 10 $\mu$ l

**純度試験** (1)重金属 Pbとして20 $\mu$ g/g以下(1.0g 第二法 比較液 鉛標準液 2.0ml)

(2)鉛 Pbとして10 $\mu$ g/g以下(1.0g 第一法)

(3)ヒ素:As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として2.0 $\mu$ g/g以下(1.0g 第三法 装置B)

**定量法** (1)ナリンゲニン定量法

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水で溶解し、必要があれば0.45 $\mu$ mメンブレンフィルターでろ過・水洗し、ろ液及び洗液を合わせ、100mlに定容する。この液1mlを正確に量り、0.085%リン酸溶液で100mlに定容し試料溶液とする。水を対照に波長280nmにおける吸光度Aを測定し、次式によりナリンゲニン量(ナリンゲニン換算量)を求める。

$$A = (C/26.8) \times (10,000/b) \times [100/(100-W)] \times 100 \times F (\%)$$

A: 試料のナリンゲニン含量(ナリンゲニン換算量)

b: 試料の採取量(mg)

C: 試料溶液の吸光度

F: ナリンゲニンへの換算係数 272/581=0.468

W: 試料の乾燥減量(%)

(2)配糖体中の糖定量法

本品約0.5gを精密に量り、水50mlに溶解する。この溶液を吸着樹脂(注2)50mlを用いて作った直径2.5cmの樹脂柱に注ぎ、1分間に3ml以下の速さで

流出させ、次いで水 250ml で洗浄する。

次に 80vol% エタノールを 1 分間に 3ml 以下の速さで通液し、吸着されている成分を溶出・回収する。この回収液をロータリーエバポレーターで濃縮乾固し、残留物に水を加えて溶解し全量を正確に 500ml とし、これを試料液とする。

#### アントロン比色法

試料液を水で 50 倍に希釈し検液とする。検液 0.5ml を正確に共栓付試験管にとり、これを氷水中で冷却しつつ、アントロン試薬(注 3)5ml を正確に加え、二液が完全に混合するまでよく振り混ぜる。ついで沸騰水浴中で正確に 10 分間加熱する。氷冷後、水を対照として波長 620nm の吸光度を測定し、予め作成したグルコース検量線から検液のグルコース濃度( $\mu\text{g/ml}$ )を求める。グルコース検量線はグルコース 10 $\mu\text{g/ml}$ , 30 $\mu\text{g/ml}$ , 50 $\mu\text{g/ml}$  の溶液につき検液と同様に操作し、得られたそれぞれの吸光度と濃度から作成する。次式によりナリングニン配糖体を構成する糖含量を求める。

$$B = \frac{b \times 0.9 \times 50 \times 500}{C \times 1000 \times 1000} \times 100$$

B : 試料中のナリングニン配糖体を構成する糖含量 (%)

b : 検量線より求めたグルコースの濃度( $\mu\text{g/ml}$ )

C : 試料採取量(g)

(注 2) 中間極性～無極性の多孔性吸着樹脂を用いる。

(注 3) アントロン試薬：アントロン 200mg を量り、硫酸 100ml に溶かし、これを冷却しながら、水 20ml 中に注意深く加えて混合する。

#### (3) ナリングニン配糖体含量の計算

$$\text{ナリングニン配糖体含量 (\%)} = A + B$$

確認試験

試験サンプル： 酵素処理ナリンジン

3ロット：M-02-0005      M-02-0015      M-02-0025

性状

Lot No	M-02-0005	M-02-0015	M-02-0025
色,におい	(適)	(適)	(適)

確認試験)

(1) (2) (3)

Lot No	M-02-0005	M-02-0015	M-02-0025
確認試験 (1)	褐色 (適)	褐色 (適)	褐色 (適)
確認試験 (2)	(適)	(適)	(適)

確認試験 (2)：別紙の吸収波長参照 Fig 1, 2, 3, 4

確認試験 (3) 次項HPLCのピークパターンより3ロット 適 Fig 5, 6, 7, 8

同一の紫外部吸収の確認は1ロット Fig 9, 10

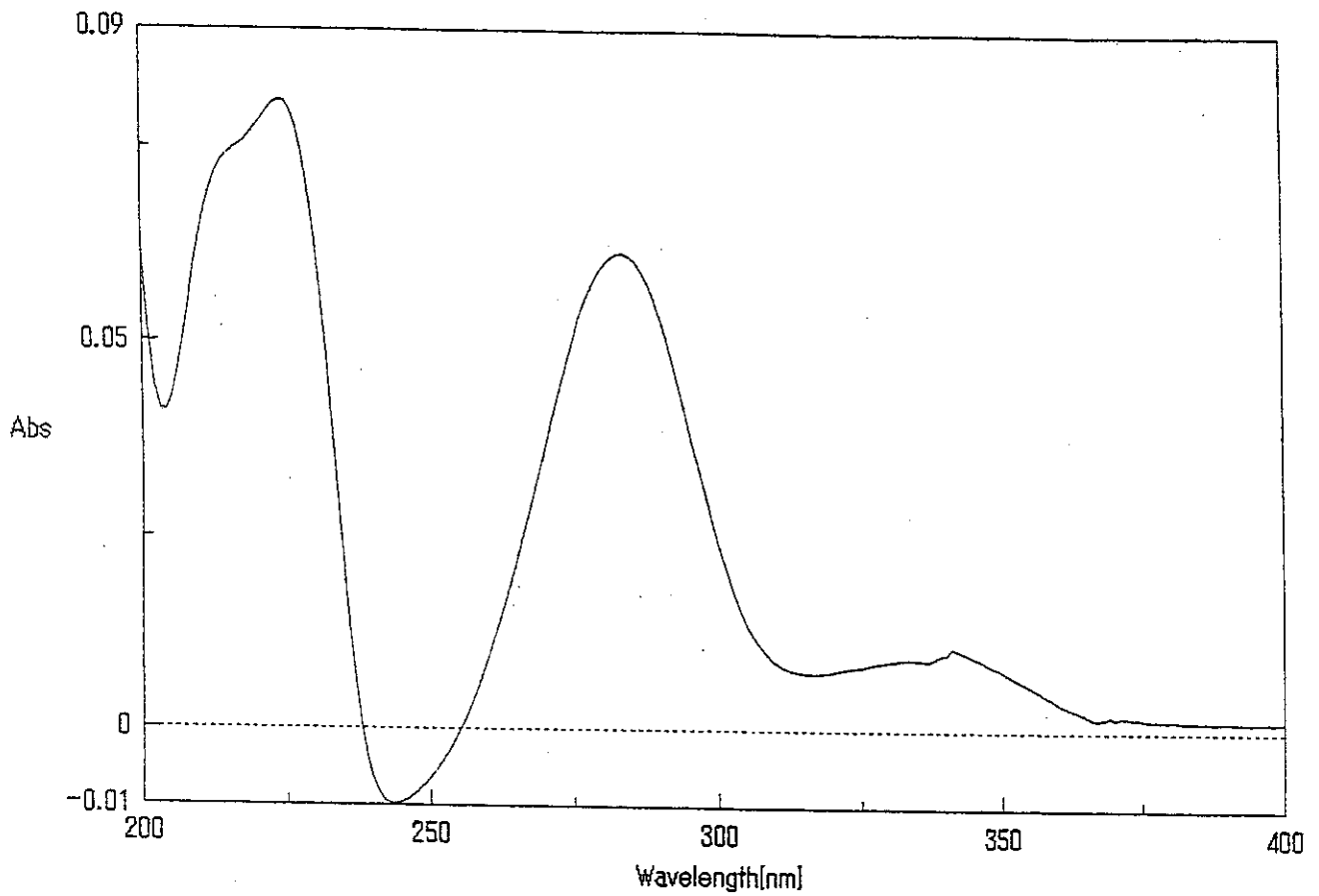
純度試験 (1), (2), (3)

Lot No	M-02-0005	M-02-0015	M-02-0025
重金属 Pbとして 20 $\mu$ /g以下	適	適	適
砒素 As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> として 2.0 $\mu$ /g 以下	適	適	適

(日本食品分析センター検査より)

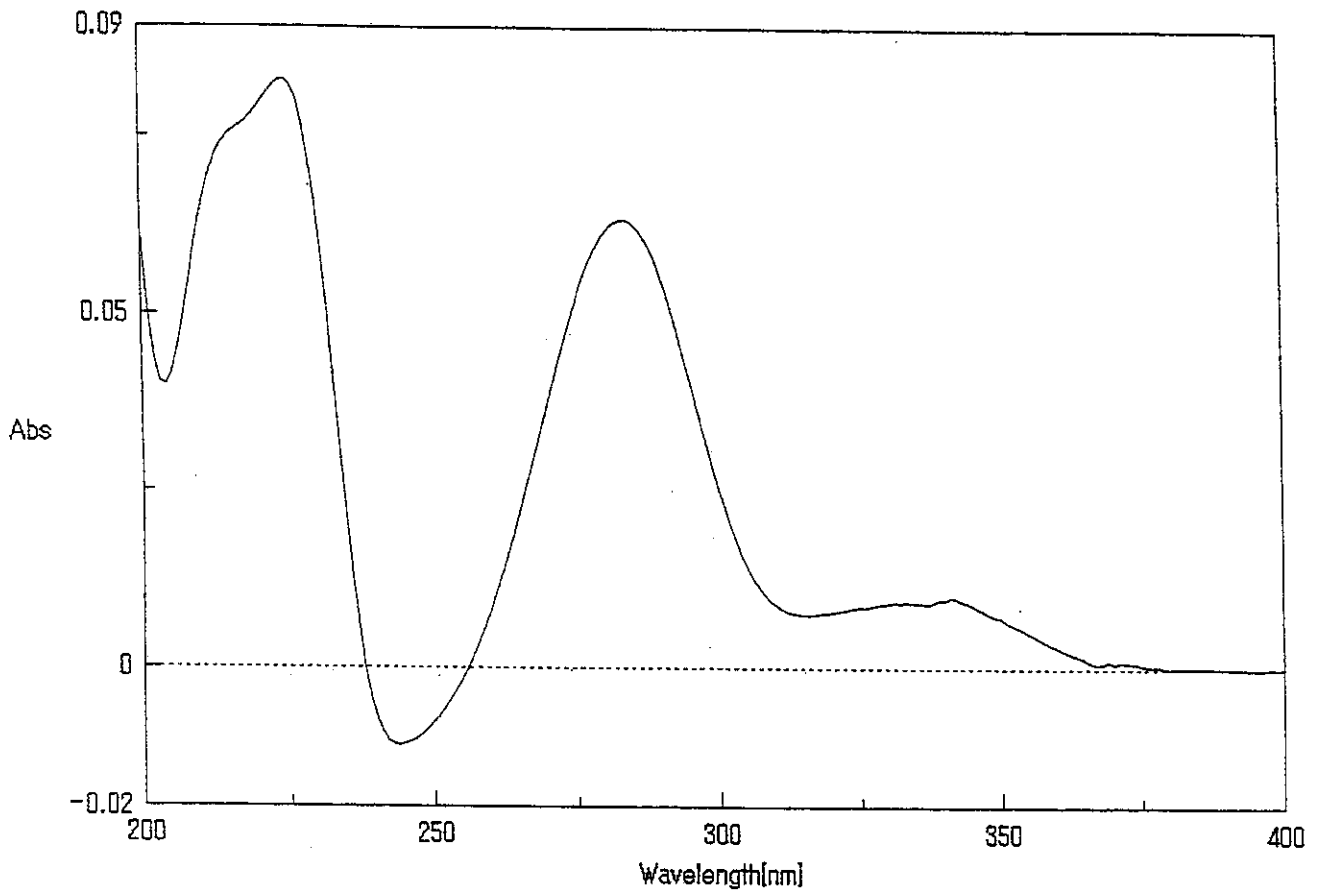
日本食品分析センター値 (別紙)

(2) のPbの純度試験は省略



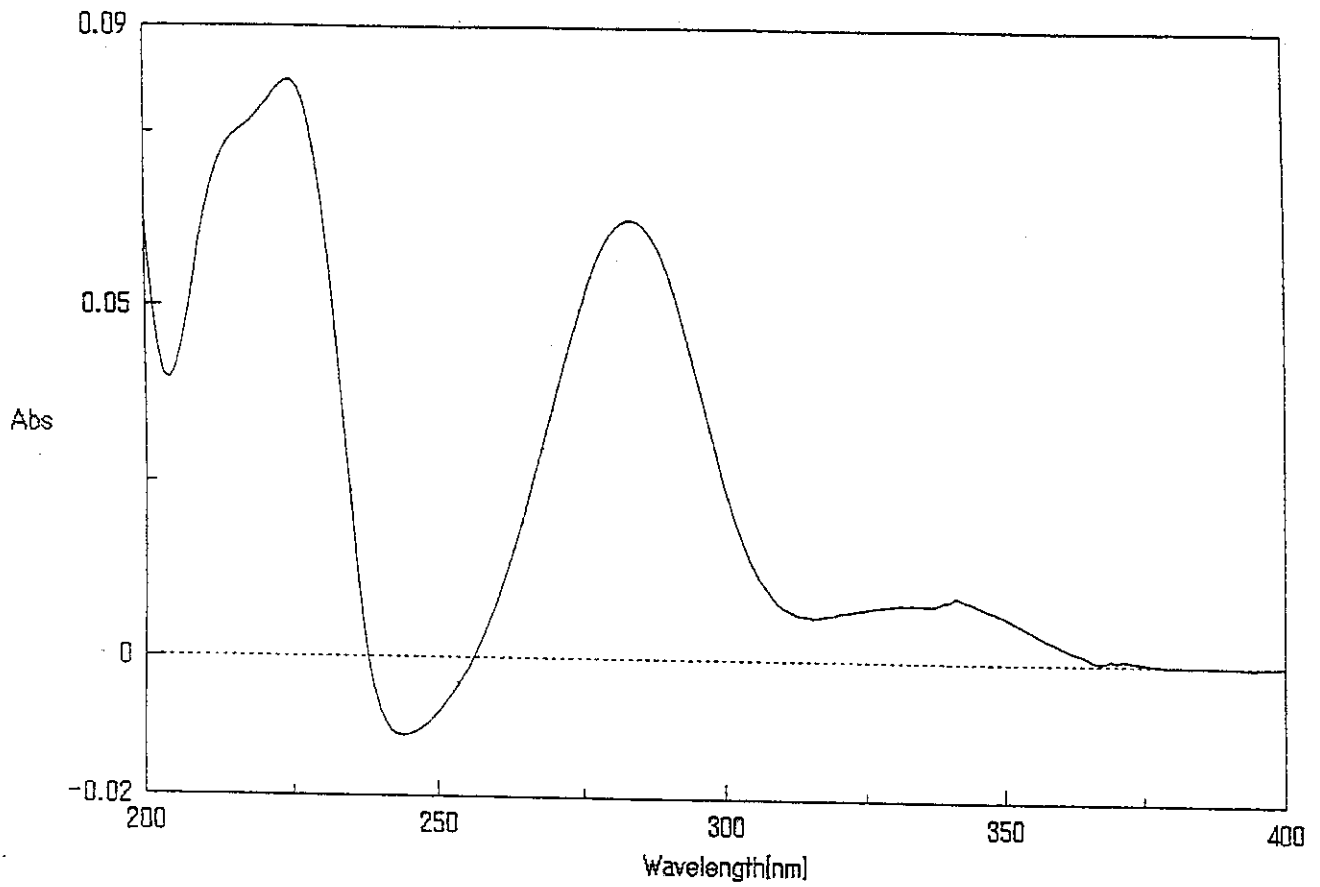
日時	01/01/17 14:33
ファイル名	Memory#1
機種名	V-550
シリアル番号	C0295891
バンド幅	1.0 nm
レスポンス	Medium
測定範囲	400 - 200 nm
データ取込間隔	1nm
走査速度	400nm/min
試料番号	930
繰返し回数	1
試料名	M-02-0005
測定者	
コメント	酵素処理リゾソーム

Fig.1 M-02-0005 の紫外部吸収スペクトル



日時	01/01/17 14:45
ファイル名	Memory#1
機種名	V-550
シリアル番号	C0295891
バンド幅	1.0 nm
レスポンス	Medium
測定範囲	400 - 200 nm
データ取込間隔	1nm
走査速度	400nm/min
試料番号	933
繰返し回数	1
試料名	M-02-0015
測定者	
コメント	酵素処理リゾソム

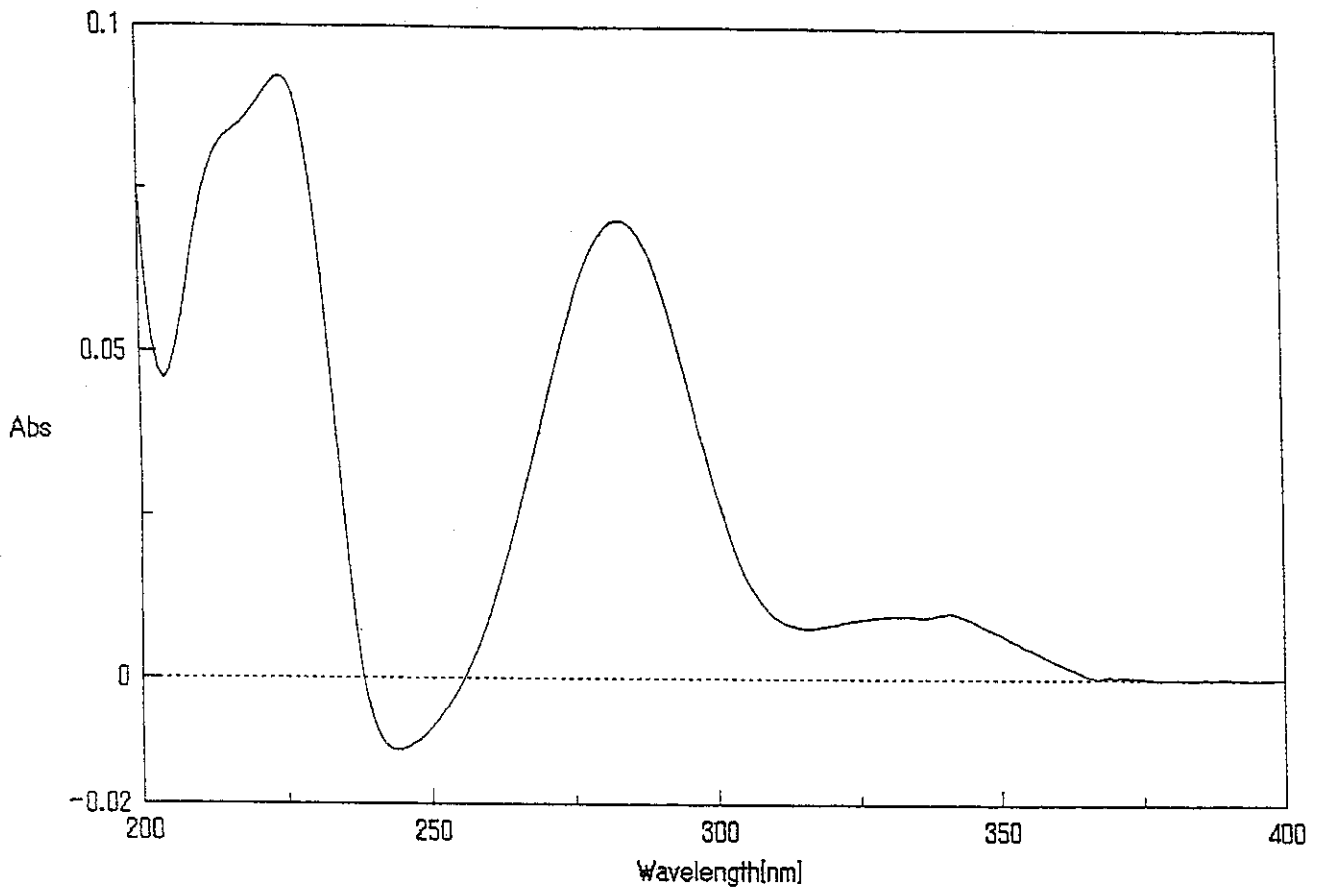
Fig.2 M-02-0015の紫外外部吸収スペクトル



日時	01/01/17 14:49
ファイル名	Memory#1
機種名	V-550
シリアル番号	C0295891
バンド幅	1.0 nm
レスポンス	Medium
測定範囲	400 - 200 nm
データ取込間隔	1nm
走査速度	400nm/min
試料番号	934
繰返し回数	1
試料名	M-02-0025
測定者	
コメント	酵素処理ナリジン

Fig.3 M-02-0025 の紫外部吸収スペクトル



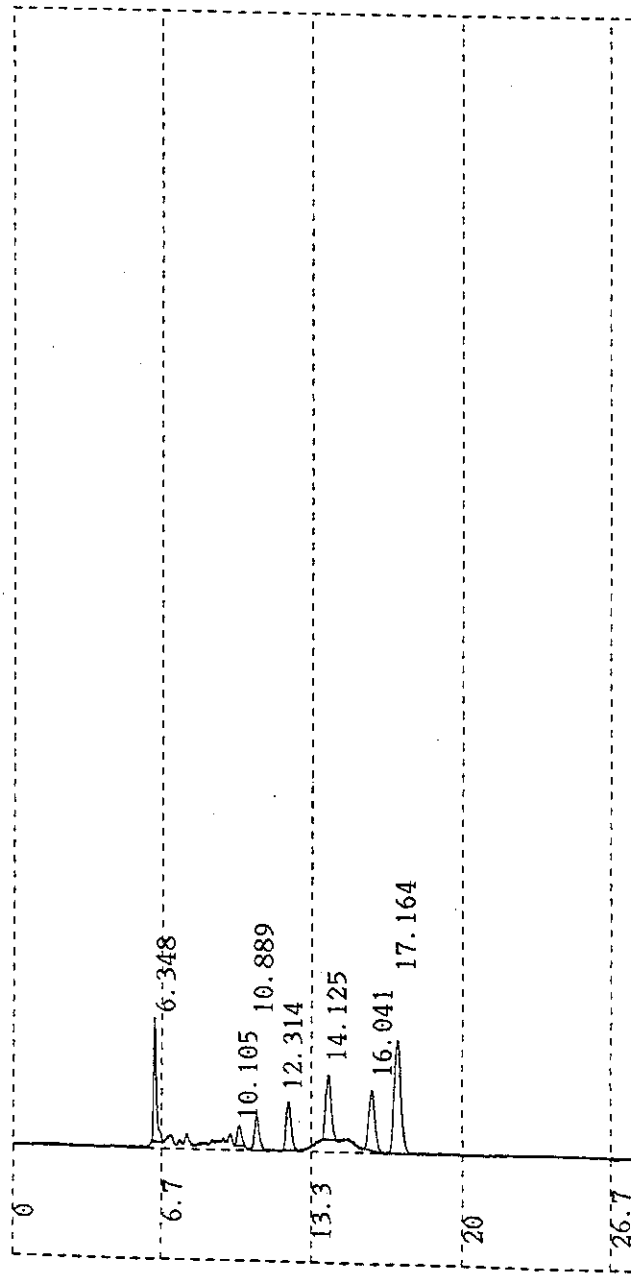


日時	01/01/17 15:16
ファイル名	Memory#1
機種名	V-550
シリアル番号	C0295891
バンド幅	1.0 nm
レスポンス	Medium
測定範囲	400 - 200 nm
データ取込間隔	1nm
走査速度	400nm/min
試料番号	941
繰返し回数	1
試料名	ガリウム標品
測定者	
コメント	

Fig.4 標品ガリウムの紫外外部吸収スペクトル

M-02-0005

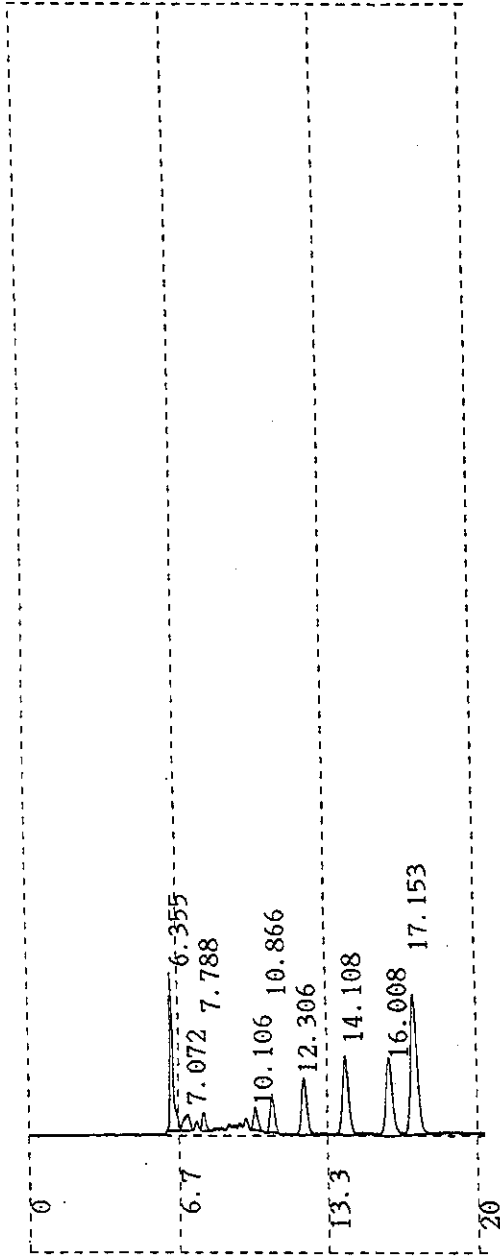
CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=9 クロマト=1:CHR1.C00 12/08/02 14:52:47



CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	6.348	119673	13899	S		14.881	
	5	10.105	31723	2366			3.9447	
	6	10.889	58520	3876			7.2768	
	7	12.314	82672	5357			10.2801	
	8	14.125	126095	7268			15.6796	
	9	16.041	131331	6789			16.3307	
	10	17.164	254183	12585			31.607	
TOTAL				804197	52140		100	

Fig.5 M-02-0005 のHPLC分析

M-02-0015  
 CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=10 クロマト=1:@CHRM1.C00 12/08/02 15:23:46



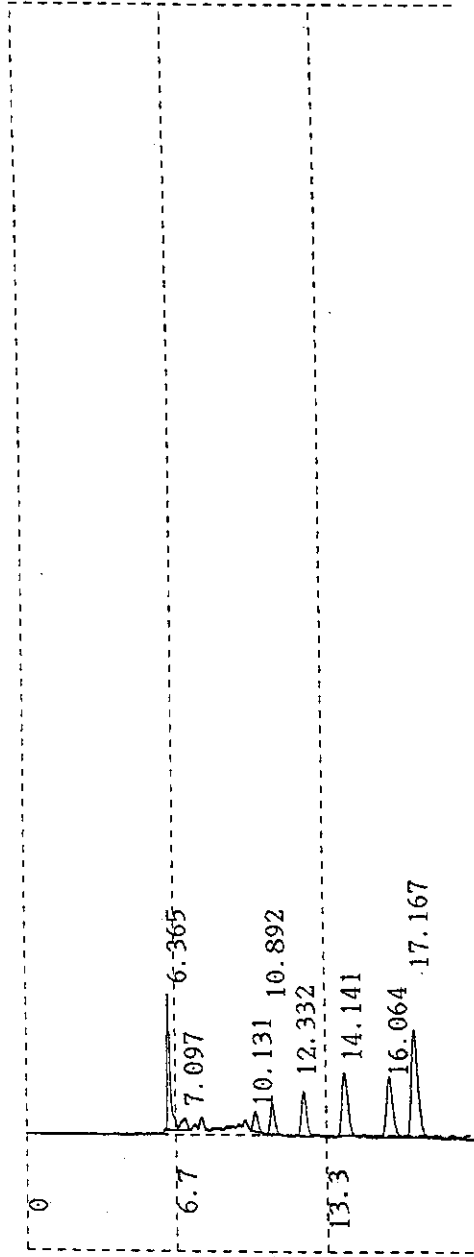
\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME	
1	1	6.355	158260	17332			15.2237		
1	2	7.072	33227	1761	V		3.1962		
1	4	7.788	23875	2016	V		2.2966		
1	8	10.106	34179	2461			3.2878		
1	9	10.866	56949	3859			5.4781		
1	10	12.306	98790	6070			9.503		
1	11	14.108	153295	8410			14.7461		
1	12	16.008	171265	8324			16.4746		
1	13	17.153	309726	15133	V		29.7938		
TOTAL							1039565	65366	100

Fig.6 M-02-0015 の HPLC 分析

M-02-0025

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=11 クロマト=1:@CHRM1.C00 12/08/02 15:47:11



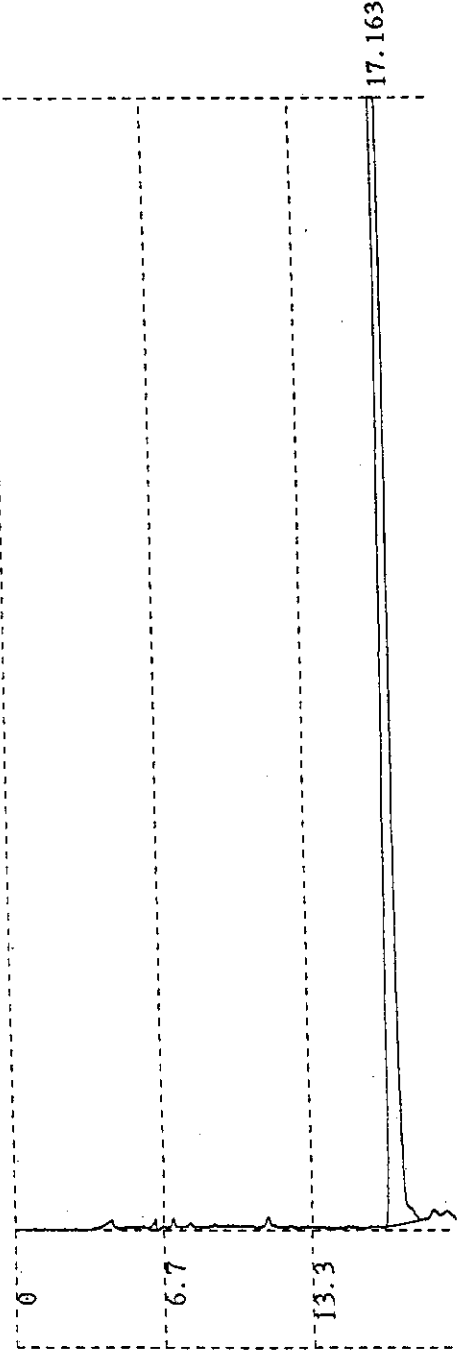
\*\* 定量計算結果 \*\*

CH PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	6.365	134690	15098			16.2395	
2	7.097	23843	1303	V		2.8747	
5	10.131	30268	2210			3.6494	
6	10.892	48364	3418			5.8312	
7	12.332	84479	5094			10.1856	
8	14.141	124722	6996			15.0377	
9	16.064	136185	6742			16.4198	
10	17.167	246846	12011	V		29.7621	
TOTAL						829397	52871
							100

Fig.7 M-02-0025 のHPLC分析

カリジジン標品

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=7 クロマト=1:CHRMI.C00 12/08/02 14:05:05



CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	4	17.163	4431371	226717			100	
TOTAL			4431371	226717			100	

Fig.8 標品カリジジンのHPLC分析

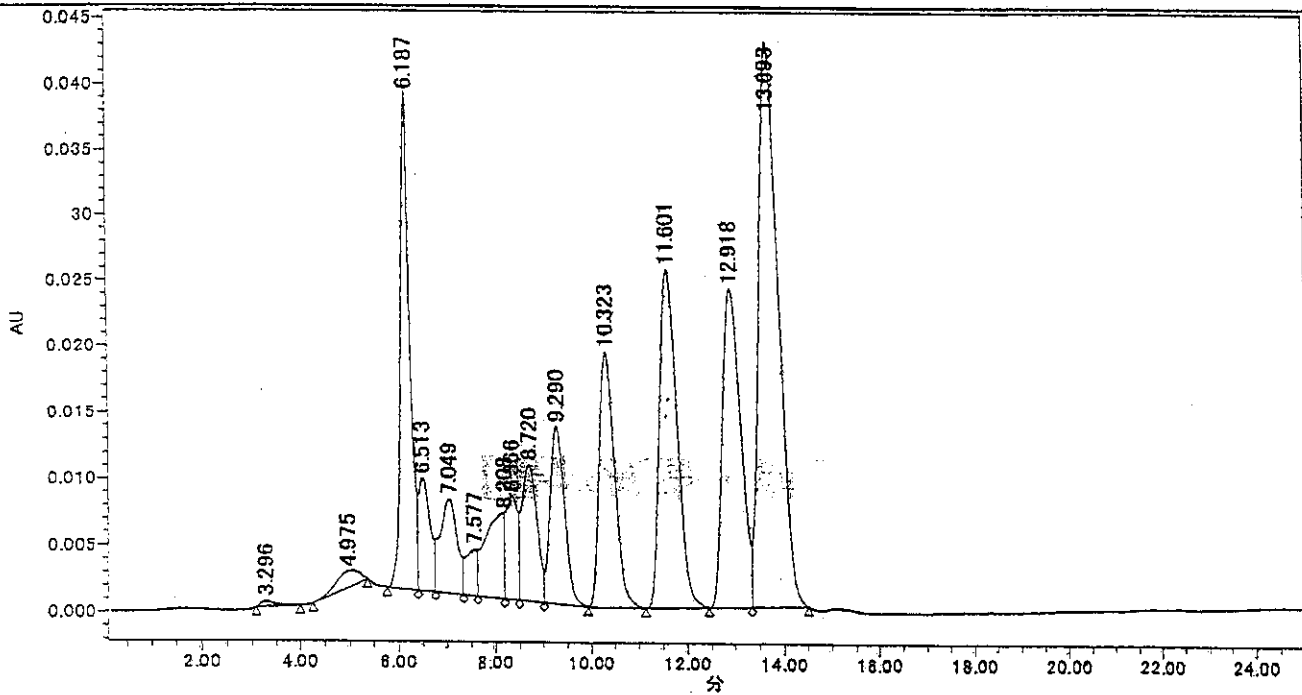


Fig 9.

## サンプル情報

サンプル名: α/Narin.H  
 サンプルの種類:  
 バイアル: 2  
 注入#: 1  
 注入量: 10.00 ul  
 分析時間: 25.00 分  
 サンプルセット名: 自主規格

分析担当者: System  
 分析日: 01/01/24 午前 10:18:13  
 取り込みメソッドセット: 220.400  
 解析日: 01/01/24 午後 12:00:06  
 解析メソッド: PDA280nm  
 チャンネル名: 波長 Ch1  
 解析チャンネルの説明: PDA 280.0 nm

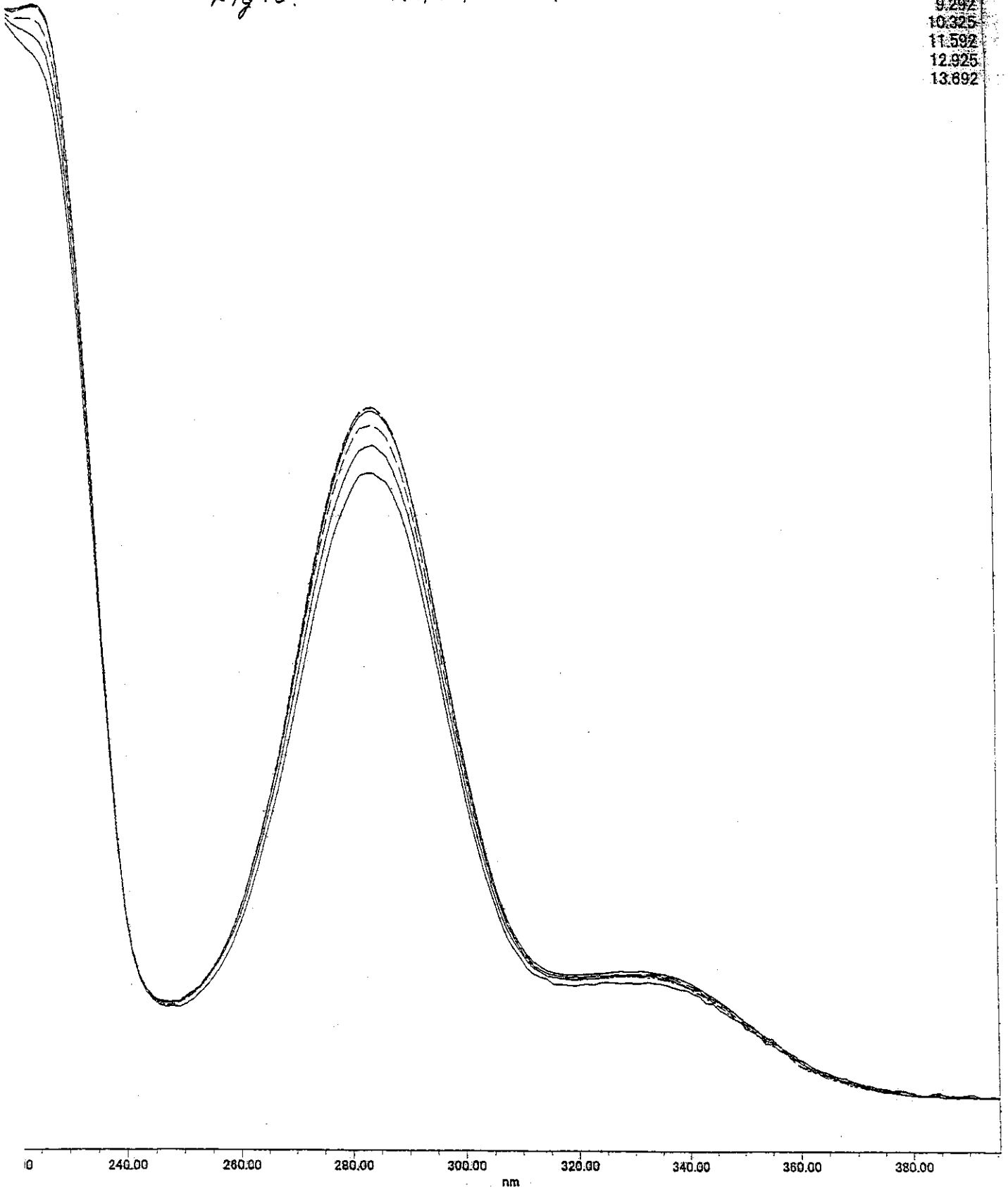


	保持時間	面積	%面積	高さ
1	3.296	9233	0.20	422
2	4.975	40212	0.88	1238
3	6.187	491605	10.74	37772
4	6.513	136482	2.98	8451
5	7.049	172462	3.77	7032
6	7.577	57177	1.25	3485
7	8.208	174141	3.81	6388
8	8.366	127515	2.79	7732
9	8.720	224746	4.91	10231
10	9.290	276632	6.05	13293
11	10.323	429711	9.39	19118
12	11.601	624984	13.66	25496
13	12.918	619774	13.54	23956
14	13.693	1491208	26.03	42758

Fig 10.

$\alpha$ G+リンゼンH.

8.375  
8.725  
9.292  
10.325  
11.592  
12.925  
13.692



0 240.00 260.00 280.00 300.00 320.00 340.00 360.00 380.00

nm

- 名前: 保持時間: 8.375
- 名前: 保持時間: 8.725
- 名前: 保持時間: 9.292
- 名前: 保持時間: 10.325
- 名前: 保持時間: 11.592
- 名前: 保持時間: 12.925
- 名前: 保持時間: 13.692

定量法による含量分析

1) M-02-0005

分析回数	リゾニン量 (%)	リゾニン配糖体 中の糖含量 (%)	リゾニン配糖体 含量 (%)
1	7.21	27.41	34.62
2	7.62	26.58	34.20
3	7.38	26.10	33.48
4	7.50	26.94	34.44
5	8.23	26.40	34.63
6	7.62	27.80	35.42

2) M-02-0015

分析回数	リゾニン量 (%)	リゾニン配糖体 中の糖含量 (%)	リゾニン配糖体 含量 (%)
1	8.80	27.04	35.84
2	9.09	27.72	36.81
3	9.44	27.23	36.67
4	8.95	28.04	36.99
5	8.39	28.40	36.79
6	8.51	28.84	37.35

3) M-02-0025

分析回数	リゾニン量 (%)	リゾニン配糖体 中の糖含量 (%)	リゾニン配糖体 含量 (%)
1	8.28	27.23	35.51
2	7.80	28.10	35.90
3	7.74	26.98	34.72
4	7.59	27.45	35.04
5	7.12	26.60	33.72
6	8.16	26.10	34.26



# 粗製海水塩化カリウム

## Crude Potassium Chloride (Sea Water)

**定義** 本品は、海水を濃縮し、塩化ナトリウムを析出分離させた後、そのろ液を、室温まで冷却し、析出分離させたものである。主成分は塩化カリウムである。

**含量** 本品を乾燥したものは、塩化カリウム(KCl) 60.0~85.0%を含む。

**性状** 本品は、無色の結晶又は白色の粉末で、においがなく、塩味がある。

**確認試験** 本品は、カリウム塩の反応及び塩化物の反応(1)を呈する。

**純度試験** (1) 遊離酸及び遊離アルカリ 本品 1.0g を量り、新たに煮沸し冷却した水 20ml を加えて溶かし、フェノールフタレイン試液 2 滴を加え、この液について次の試験を行う。

(i) 液が無色ならば、0.02mol/l 水酸化ナトリウム溶液 2.0ml を加えるとき、紅色を呈する。

(ii) 液が紅色ならば、その色は、0.02mol/l 塩酸 2.0ml を加えるとき消える。

(2) 硫酸塩  $\text{SO}_4$  として 4.8%以下

本品 0.25g を量り、水を加えて溶かして 100ml とする。この液 2.0ml を量り、試料液とする。比較液には、0.005mol/l 硫酸 0.50ml を用いる。

(3) 重金属 Pb として  $10 \mu\text{g/g}$  以下 (2.0g, 第 1 法, 比較液 鉛標準液 2.0ml)

(4) カルシウム Ca として 5.0%以下

本品約 2.5g を精密に量り、水を加えて溶かして正確に 50ml とし、これを検液とし、カルシウム塩定量法の第 1 法により定量する。

0.05mol/l EDTA 溶液 1ml = 2.004mg Ca

(5) マグネシウム Mg として 3.0%以下

純度試験(4)のカルシウム塩定量用の検液 10ml を正確に量り、水 50ml 及びアンモニア・塩化アンモニウム緩衝液 (pH10.7) 5ml を加え、0.05mol/l EDTA 溶液で滴定する (指示薬 エリオクロムブラック T 試液 2 滴)。終点は、液の赤色が青色に変わるときとする。次式によりマグネシウム量を求める。

$$\text{マグネシウム量} = \frac{(a-b) \times 1.215}{\text{試料採取料(g)} \times 1,000} \times 100 (\%)$$

ただし、a : 0.05mol/l EDTA 溶液の消費量(ml)

b : 純度試験(4)で得た 0.05mol/l EDTA 溶液の消費量(ml)

(6) ナトリウム Na として 15%以下

本品 1.0g を量り、水を加えて溶かして 1,000ml とする。この液 2.0ml を量り、水を加えて 100ml とし、検液とする。別に塩化ナトリウムを 130℃で 2 時間乾燥した後、その 2.542g を正確に量り、水を加えて溶かして正確に 1,000ml とする。この液 3.0ml を正確に量り、水を加えて正確に 1,000ml とし、比較液とする。検液及び比較液につき、次の操作条件でフレイム方式の原子吸光度により測定するとき、検液の吸光度は、比較液の吸光度以下である。

操作条件

光源ランプ ナトリウム中空陰極ランプ  
分析線波長 589.0nm  
支燃性ガス 空気  
可燃性ガス アセチレン

(7) ヒ素  $\text{As}_2\text{O}_3$  として  $4.0 \mu\text{g/g}$  以下 (0.50g, 第1法, 装置B)

乾燥減量 10.0%以下 (140℃, 2時間)

定量法 本品を乾燥し, その約 0.2g を精密に量り, 水を加えて溶かして正確に 1,000ml とする。この液 5ml を正確に量り, 水を加えて正確に 100ml とし, 検液とする。別に塩化カリウムを 105℃ で 2 時間乾燥し, この 1.907g を正確に量り, 水を加えて溶かして正確に 1,000ml とする。この液の適量を正確に量り, 水を加えて 1ml 中にカリウム (K: 39.10)  $3.0 \sim 5.0 \mu\text{g}$  を含むように正確に薄め, 標準液とする。検液及び標準液につき, 次の操作条件でフレイム方式の原子吸光度測定法により試験を行い, 標準液より得た検量線より検液中のカリウム量を求め, 次式により塩化カリウムの含量を求める。

$$\text{塩化カリウム(KCl)の含量} = \frac{\text{カリウム量}(\mu\text{g/ml}) \times 0.03813}{\text{試料採取料(g)}} \times 100 (\%)$$

操作条件

光源ランプ カリウム中空陰極ランプ  
分析線波長 766.5nm  
支燃性ガス 空気  
可燃性ガス アセチレン

粗製海水塩化カリウム分析報告書

徳島県鳴門市撫養町黒崎字松島53

鳴門塩業株式会社

項目	規格値	A-1	A-2	A-3
遊離酸及び 遊離アルカリ	限度内	適合	適合	適合
硫酸塩 (SO <sub>4</sub> )	4.8%以下	適合	適合	適合
重金属 (Pb)	10μg/g以下	適合	適合	適合
カルシウム (Ca)	5.0%以下	0.642%	0.664%	0.628%
マグネシウム (Mg)	3.0%以下	0.140%	0.159%	0.119%
ナトリウム (Na)	15.0%以下	9.304%	9.525%	9.189%
ヒ素 (As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	4.0μg/g以下	適合	適合	適合
乾燥減量	10.0%以下	2.038%	2.090%	1.098%
含量 (KCl)	60.0 ~85.0%	78.627%	77.063%	76.461%

粗製海水塩化カリウム分析報告書

徳島県鳴門市撫養町黒崎字松島53

鳴門塩業株式会社

項目	規格値	B-1	B-2	B-3
遊離酸及び 遊離アルカリ	限度内	適合	適合	適合
硫酸塩 (SO <sub>4</sub> )	4.8%以下	適合	適合	適合
重金属 (Pb)	10μg/g以下	適合	適合	適合
カルシウム (Ca)	5.0%以下	0.609%	0.618%	0.597%
マグネシウム (Mg)	3.0%以下	0.211%	0.197%	0.199%
ナトリウム (Na)	15.0%以下	10.654%	10.758%	10.514%
ヒ素 (As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	4.0μg/g以下	適合	適合	適合
乾燥減量	10.0%以下	3.140%	2.819%	2.770%
含量 (KCl)	60.0 ~85.0%	72.495%	72.137%	71.807%