

# グアーガム酵素分解物自主規格（案）

Enzymatically Hydrolyzed Guar Gum

グアー-フラワー酵素分解物

グアルガム酵素分解物

**定義** 本品はグアーの種子を粉砕し、分解して得られた、多頭類を主成分とするものをいう。本品は、砂糖、グルコース、デキストリンを含むことがある。

**性状** 本品は、類白～微黄色の粉末又は粒で、わずかににおいがある。

**確認試験** (1) 本品20gにイソプロピルアルコール4m<sub>l</sub>を加えて良く湿らせた後、激しくかき混ぜながら水200m<sub>l</sub>を加え、更に均一に分散するまで激しくかき混ぜるとき、わずかに粘性のある液になる。この液を沸騰した水浴上で約10分間加熱した後、室温まで冷却するとき、その粘性は加熱前とほとんど変わらない。

(2) (1)で得た10%水溶液10m<sub>l</sub>にホウ酸ナトリウム溶液(1→20)2m<sub>l</sub>を加え、混和して放置するとき、ゼリー状にならない。

**純度試験** (1) 蛋白質 7.0%以下 本品0.15gを精密に量り、窒素定量法セミマイクロケルダール法により窒素の量を測定し、これに6.25を乗じて蛋白質の量を求める。(0.2mol/L硫酸1m<sub>l</sub>=0.1401mgN)

(2) 酸不溶物 7.0%以下 本品約2.0gを精密に量り、蒸留水150m<sub>l</sub>及び硫酸1.5m<sub>l</sub>を入れた300m<sub>l</sub>のビーカーに加える。このビーカーを時計皿でおおい、水浴中で6時間加熱する。時々ガラス攪拌棒を用いてビーカーの内壁に付いたものをすり落としながら蒸留水で洗い流し、蒸発によって失われた水の量を補正する。あらかじめ105℃で3時間乾燥したクロマトグラフィー用ケイソウ土約0.50gを精密に量り、試料液に加えて十分かくはんする。あらかじめ105℃で3時間乾燥したガラスろ過器(1G3)の重量を測定した後、このガラスろ過器を用いて、吸引濾過し、残留物を温水でガラスろ過器に洗い込む。残留物を集めたガラスろ過器を105℃で3時間乾燥後、デシケーター中で放冷し、総重量を量り、次式により酸不溶物を求める。

酸不溶物 = {総重量(g) - (クロマトグラフィー用ケイソウ土の重量(g) + ガラスろ過器の重量(g))} / 試料の採取量 × 100 (%)

(3) 重金属 Pbとして20.0μg/g以下(1.0g、第2法、比較液には鉛標準液2.0m<sub>l</sub>)

(4) 鉛 Pbとして10.0μg/g以下(1.0g、原子吸光度測定法)

(5) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として、4.0μg/g以下(0.5g、第3法、装置B)

**乾燥減量** 14.0%以下(105℃、3時間)

**灰分** 2.0%以下(800℃、5時間)

**微生物限度** 微生物限度試験法により試験を行うとき、本品1gにつき、細菌数は10,000以下である。また大腸菌は認めない。

# タラガム自主規格（案）

Tara gum

**定義** タラの種子から得られた、多糖類を主成分とするものをいう。

**性状** 本品は、白～淡黄色の粉末で、ほとんどにおいが無い。

**確認試験** (1) 本品1gを水100mlに溶解した液に少量のホウ酸ナトリウムを加えるときゲル状となる。

(2) 本品2gを500ml容のビーカーに入れ、イソプロピルアルコール約4mlで完全に湿らし、強 力に攪拌しながら水約200mlを加え、均一になるまで攪拌する。この分散液を沸騰水浴中で約10分間加熱攪拌し、放冷するとき粘度の著しい上昇がみられる。

**純度試験** (1) 蛋白質 3.5%以下

本品約0.2gを精密に量り、窒素定量法(2)セミマイクロケルダール法により窒素の量を測定し、これに5.7を乗じて蛋白質の量を求める。 $0.005\text{mol/L}$ 硫酸1ml=0.1401mg N

(2) 澱粉 本品0.1gに水10mlを加えて加熱攪拌溶解し、放冷後ヨウ素試液2滴を加えると青色を呈さない。

(3) 酸不溶物 5%以下

本品約2.0gを精密に量り、蒸留水150mlと濃硫酸1.5mlを入れた300ml容のビーカーに加える。このビーカーを時計皿で被い、沸騰水浴中で6時間加熱する。この間、時々ガラス攪拌棒を用いてビーカーの内壁に付いたものを擦り落としながら蒸留水で洗い流し、蒸発によって失われた水の量を補正する。あらかじめ105℃で3時間乾燥したろ過助剤約0.50gを精密に量り、試料液に加えて十分攪拌する。105℃で3時間乾燥した重量既知のガラスフィルターを用いてこの液をろ過し、残留物を温水で数回ガラスフィルターに洗い込む。残留物を集めたガラスフィルターを105℃で3時間乾燥後、デシケーター中で放冷し秤量して総重量を求め、次式により酸不溶物を求める。（加工ユーケマ藻類の純度試験（5）を準用する。）

酸不溶物 = {総重量 - (ろ過助剤 + ガラスフィルター重量)} / 試料の採取量 × 100 (%)

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

(5) 鉛 10μg/g以下（鉛試験法、原子吸光度測定法）

(6) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として4.0μg/g以下（0.5g, 第3法, 装置B）

**乾燥減量** 15.0%以下（105℃, 5時間）

**灰分** 1.5%以下（550℃, 1時間）

# オリゴグルコサミン自主規格 (案)

Oligo-glucosamine

**定義** 「キトサン」を塩酸又は酵素(キトサナーゼ)で加水分解し、精製して得られたD-グルコサミンの1-6量体の混合物からなる。

**含量** 本品を乾燥したものは、オリゴグルコサミン75%以上を含む。

**性状** 淡黄褐色-褐色の結晶又は粉末

**確認試験** (1) 本品の1%水溶液0.5mlにアセチルアセトン試液1.0mlを加え、90-100℃で1時間加熱し、冷却後エタノール10mlとエーリッヒ試液1.0mlを加え混合する。室温に1時間静置すると赤-赤紫色を呈する。

(2) 本品の1%水溶液1.0mlにニンヒドリン試液1.0mlを加え、水浴上で加熱するとき、液は紫-青紫を呈する。

**純度試験** (1) 溶状 無色-淡黄褐色、ほとんど澄明(1.0g、水50ml)

(2) 塩化物 17%以下

本品0.1gを正確に量り、約30mlの水に溶解する。指示薬として5%クロム酸カリウム5滴を加え、0.1mol/L硝酸銀で滴定する。溶液が黄色から赤褐色に変化したところを終点とする。

(3) 重金属 Pbとして20.0μg/g以下(1.0g、第2法、比較液鉛標準液2.0ml)

(4) 鉛 10.0μg/g以下

(5) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として、4.0μg/g以下(0.5g、第3法、装置B)

**乾燥減量** 12%以下(105℃、3時間)

**強熱残留物** 1%以下(2g、600℃、8時間)

**微生物限度** 微生物限度試験法により試験を行うとき、本品1gにつき、細菌数は3000以下である。また大腸菌は認めない。

**定量法** 本品0.1gを正確に量り、0.1mol/L水酸化ナトリウム溶液に溶解して100mlとする。濾過又は遠心分離で不溶物を除き試料溶液とする。この溶液0.5mlに亜硫酸ナトリウム液0.5mlと33%酢酸0.5mlを加え、十分に混合して室温に10分間静置する。スルファミン酸アンモニウム液0.5mlを加え、10分毎に攪拌しながら30分間処理する。5%塩酸2.0mlとインドール液0.2mlを加え、沸騰湯浴中で5分間加熱する。水冷後エタノール2.0mlを加え、十分に混合して492nmの吸光度を測定する。別に標準液としてグルコサミン塩酸塩を用いて作成した検量線から含量を求める。

アセチルアセトン試液：1.25mol/L炭酸ナトリウム水溶液48.5mlにアセチルアセトン(特級)1.5mlを溶解する。

エーリッヒ試液：塩酸(特級)30mlと96%エタノール30mlの混液にp-ジメチルアミノベンズアルデヒド(特級)1.6gを溶解する。

亜硝酸ナトリウム液：亜硝酸ナトリウム5.0gを100mlの蒸留水に溶解する（使用時調製）

33%酢酸：氷酢酸33mlを蒸留水で100mlに希釈する。

スルファミン酸アンモニウム液：スルファミン酸アンモニウム12.5gを100mlの蒸留水に溶解する。

5%塩酸：塩酸（特級）14mlを蒸留水で100mlに希釈する。

インドール液：インドール1.0gを100mlのエタノールに溶解する（冷蔵保存）。

グルコサミン塩酸液：試薬特級

# グルコサミン自主規格（案）

Glucosamine

**定義** 「キチン」を塩酸で加水分解し、分離して得られたものである。成分はグルコサミンである。

**含量** 本品を乾燥したものは、D-グルコサミン ( $C_6H_{13}NO_5$ ) 80%以上を含む。

**性状** 白色-類白色の結晶又は粉末でにおいが無い。

**確認試験** (1) 本品の1%水溶液0.5mlにアセチルアセトン試液1.0mlを加え、90-100℃で1時間加熱し、冷却後エタノール10mlとエーリッヒ試液1.0mlを加え混合する。室温に1時間静置すると赤-赤紫色を呈する。

(2) 本品の1%水溶液1.0mlにニンヒドリン試液1.0mlを加え、水浴上で加熱するとき、液は紫-青紫を呈する。

**純度試験** (1) 溶状 無色、澄明 (1.0g、水20ml)

(2) 液性 pH3-5 (10g、水100ml)

(3) 塩化物 17%以下

本品0.1gを正確に量り、約30mlの水に溶解する。指示薬として5%クロム酸カリウム5滴を加え、0.1mol/L硝酸銀溶液で滴定する。溶液が黄色から赤褐色に変化したところを終点とする。

(4) 重金属 Pbとして10.0 $\mu$ g/g以下 (1.0g、第2法、比較液鉛標準液2.0ml)

(5) 鉛 10.0 $\mu$ g/g以下

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

**乾燥減量** 0.5%以下(105℃、3時間)

**強熱残留物** 0.3%以下(2g、600℃、8時間)

**微生物限度** 微生物限度試験法により試験を行うとき、本品1gにつき、細菌数は3000以下である。また大腸菌は認めない。

**定量法** 本品0.1gを正確に量り、水に溶解して1000mlとする。この0.3mlを取り、水0.7mlとアセチルアセトン試液1.0mlを加え、十分に混合する。1.0mlの水で試験管の内壁を洗い込み、栓をして沸騰水中で20分間加熱する。冷却後、エタノール6mlとエーリッヒ試液1.0mlを加え、十分に混合して65-70℃で10分間加熱する。冷却後530nmの吸光度を測定する。別に標準液としてグルコサミン塩酸塩を用いて検量線を作成し、製品中のグルコサミン量を計算する。

アセチルアセトン試液：1.25mol/L炭酸ナトリウム水溶液48.5mlにアセチルアセトン（特級）1.5mlを溶解する。

エーリッヒ試液：塩酸（特級）30mlと96%エタノール30mlの混液にp-ジメチルアミノベンズアルデヒド（特級）1.6gを溶解する。

## 酸化防止剤

(チャ抽出物、酵素処理ヘスペリジン、  
酵素処理ルチンの自主規格改訂案)

## 第五部会

## チャ抽出物

tea extract

### 定義

本品は、ツバキ科チャ (*Camellia sinensis* O.KZE.) の葉あるいはこれより製した茶より、室温時、温時又は熱時、水、酸性水溶液、含水エタノール、エタノール、含水メタノール、メタノール、アセトン、酢酸エチル又はグリセリン水溶液で抽出したものより得られたものである。成分としてカテキン類あるいはその重合物を含む。なお、チャの葉の処理方法によりウーロンチャ抽出物、紅茶抽出物と呼ばれるものがある。

**含量** 本品を定量するとき、緑茶抽出物はカテキン類として 20%以上、ウーロンチャ抽出物、紅茶抽出物はカテキン重合物として 20%以上であり、その表示量の 90~120% を含む。

**性状** 本品は淡黄~黒褐色の粉末、ペースト又は液体で、わずかに特有のにおいがある。

**確認試験** (1) 本品 0.1g を 50%エタノール 10ml に溶かし、この溶液に塩化第二鉄 (1→50) 2~3 滴を加えるとき、緑紫~黒紫色を呈する。

(2) 本品の水溶液は波長 265~280nm に極大吸収部がある。

**純度試験** (1) 重金属 Pb として 40 μg/g 以下 (1.0g, 第 2 法, 比較液 鉛標準液 4.0ml)

(2) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> として 4.0 μg/g 以下 (0.5g, 第 2 法, 装置 B)

(3) 鉛 10 μg/g 以下 (1.0g, 第 1 法)

**残留溶媒** (1) メタノール 50 μg/g 以下

(2) アセトン 30 μg/g 以下

### 定量法

#### (1) 緑茶抽出物

本品 30~200mg を精密に量り、水を加えて、必要があれば加温して溶かし、更に水を加えて正確に 100ml とする。この液 5ml に酒石酸鉄試薬 5ml を加え、セーレンゼンのリン酸緩衝液 (pH7.5) を加えて正確に 25ml として試験溶液とする。試験溶液は、試料溶液の代わりに水を用いた物を対照とし、540nm の吸光度を測定する。別に、没食子酸エチルの 5~25mg/100ml 水溶液を 5mg おきに 5 段階づくり、この 5ml を用いて試料の場合と同様に操作して発色させた液の 540nm の吸光度を測定し検量線を作成する。試験溶液の吸光度と検量線から、次式によってカテキン含量を求める。

$$\text{カテキン含量 (\%)} = G \times 1.5 \times 100 / \text{試料採取量(mg)}$$

$$G: \text{試験溶液中の没食子酸エチル濃度(mg/100ml)}$$

酒石酸鉄試薬：硫酸第一鉄 (7 水塩) 100mg と酒石酸カリウム・ナトリウム 500mg を水に溶かして 100ml とする。

セーレンゼンのリン酸緩衝液 (pH7.5)：0.066 mol/l リン酸水素二ナトリウム溶液 (11.867g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O/l) と 0.066 mol/l リン酸二水素カリウム溶液 (9.073gKH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/l) を混合して pH7.5 に調整する。

没食子酸エチル：水から再結晶し、得られた結晶を 100℃にて 1 時間乾燥したものを使用する。

(2) ウーロンチャ抽出物、紅茶抽出物

本品 10～50 mg を精密に量り、これを 50% (v/v)エタノール 1 ml で溶解し、さらに水を加えて正確に 100 ml として試験溶液とする。(+)・カテキン標準溶液及び試験溶液をそれぞれ 0.15 ml 取り、それぞれに水 1.35 ml と FD (あるいは FC) 試薬 0.5 ml を加え混合する。なお(+)・カテキン標準溶液のブランクとしてカテキン溶液のかわりに水 0.15 ml を用い、試験溶液のブランクには、FD (あるいは FC) 試薬のかわりに水 0.5 ml を用いる。3 分後に 10%炭酸ナトリウム溶液を 1 ml ずつ加え混合する。30℃の恒温水槽中に 1 時間放置後、700 nm の吸光度を測定する。(+)・カテキン標準溶液の測定値から検量線を作成し、これを用いて試験溶液中のカテキン重合物を求める。なお実験操作上不都合があれば、各溶液の添加量は容量比に準じて対応可能とする。

$$\text{カテキン重合物含量 (\%)} = C/100 \times \text{試料採取量(mg)}$$

C：試験溶液中のカテキン重合物量

(+)・カテキン標準溶液：(+)・カテキン<sup>(\*)</sup>を正確に秤量した後、50% (v/v)エタノール 1 ml で溶解し、さらに水を加えて 100 ml に定容する。具体的には 5 段階(50, 75, 100, 125, 150 μg/ml) の濃度の溶液をそれぞれ準備し、この溶液を標準溶液とする。

<sup>(\*)</sup> (+)・カテキンは 100℃、1 時間処理し、乾燥したものを使用する。

Folin-Denis (FD) 試薬：タングステン酸ナトリウム 25 g、リンモリブデン酸 5 g、リン酸 12.5 ml に水 180 ml を加えて 2 時間煮沸還流し、冷却後、水で 1 リットルとする。

Folin-Ciocalteu (FC) 試薬：タングステン酸ナトリウム 20 g とモリブデン酸ナトリウム 5 g を量り取り、水約 140 ml、85%リン酸 10 ml と塩酸 20 ml を加え、10 時間還流冷却器を付けて煮沸する。次に硫酸リチウム 30 g と水 10 ml を加え、臭素を微量加え、冷却器を付けずに 15 分間煮沸。その後冷却し、水を加えて全量 200 ml とし、ろ過後、密栓保存する。

10% (w/v)炭酸ナトリウム溶液：炭酸ナトリウム (無水、特級) 5 g に水を加え溶解し、50 ml に定容する。

微生物 (1) 一般細菌 10,000 個/g 以下

(2) 大腸菌 陰性



# 酵 素 処 理 ヘ ス ペ リ ジ ン

Enzymatically modified Hesperijin

**定義** 本品はヘスペリジンに $\alpha$ -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 $\alpha$ -グルコシルヘスペリジン等である。

**含量** 本品は乾燥物換算したものは、ヘスペレチン配糖体として40.0%以上を含む。

**性状** 本品は淡黄～黄褐色粉末で、わずかに特有のにおいがある。

**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280～286nm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、別にヘスペリジン約0.2gを採り水酸化ナトリウム溶液(1→500)50mlで溶解する。この液10mlをHPLCの移動相で40mlにし標準液とする。下記条件でHPLC分析した時、本品はヘスペリ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、ヘスペリジンと同一の紫外吸収スペクトルを有する。

(注1) ヘスペリジン(標準)：ヘスペリジン自主規格適合品を用いる。

(HPLC条件)

検出器	: フォッ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/アセトリル=80/20
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) ヘスペレチン定量法

測定する吸光度が0.3～0.7の範囲になるように本品(試料)を精密に量り0.05mol/l水酸化ナトリウムで溶解し、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、波長286nmにおける吸光度Cを測定し、次式によりヘスペレチン量(ヘスペレチン換算量)を求める。

$$A = (C/25.2) \times (10,000/b) \times [100/(100-W)] \times 100 \times F \quad (\%)$$

- A : 試料のヘスペレチン量 (ヘスペレチン換算量)  
 b : 試料の採取量 (mg)  
 C : 試料溶液の吸光度  
 F : ヘスペレチンへの換算係数 302/610=0.495  
 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。次式によりヘスペレチ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 : 試料中のヘスペレチ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) ヘスペレチン配糖体含量の計算

$$\text{ヘスペレチン配糖体含量 (\%)} = A + B$$

# 酵 素 処 理 ル チ ン

## Enzymatically modified Rutin

本品はルチンに $\alpha$ -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 $\alpha$ -グルコシルルチン等である。

含 量：本品は乾燥物換算したものは、クエルセチン配糖体として70.0%以上を含む。

性 状：本品は黄～黄褐色粉末で、わずかに特有のにおいがある。

- 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0.085%リン酸溶液500mlを加えて溶かした液は、波長257～261nm及び350～355nm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、別にルチン(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、本品はルチンのピークよりリテンションタイムが短いところにピークがあり、ルチンと同一の紫外部吸収スペクトルを有する。

(HPLC条件)

検出器	: フォトダイオードアレイ (254nm、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：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) クエルセチン定量法

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50mlを加えて溶解し、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。別にルチン(注1)を135℃で2時間乾燥し、約0.2gを精密に量り、99%メタノール800mlを加え加熱して溶かし冷後メタノールで100mlに定容する。この液1mlを正確に量り0.085%リン酸溶液を加えて100mlに定容し標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液につき、0.085%リン酸溶液を対照とし、波長351nmにおける吸光度A<sub>1</sub>及びA<sub>2</sub>を測定し次式によりクエルセチン量(クエルセチン換算量)を求める。

$$A = \frac{A_1 \times a_2}{A_2 \times a_1} \times 100 \times F (\%)$$

- A : 試料のクエルセチン量 (クエルセチン換算量)  
 A<sub>1</sub> : 試料溶液の吸光度  
 A<sub>2</sub> : 標品ルチン溶液の吸光度  
 a<sub>1</sub> : 試料の採取量(mg)  
 a<sub>2</sub> : 標品ルチンの採取量(mg) (無水物として)  
 F : クエルセチンへの換算係数 302/610=0.495  
 (注1) ルチン (標準): 自主規格適合品を用いる。

## (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 (μg/ml) を求める。グルコース検量線はグルコース 10 μg/ml, 30 μg/ml, 50 μg/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。次式によりクエルセチ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 : 試料中のクエルセチ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(μg/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

(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) クエルセチン配糖体含量の計算

$$\text{クエルセチン配糖体含量} = A + B$$

平成 13 年 2 月 16 日

## 自主規格改訂案

(有害試薬代替)

「ウルシロウ」

「コメヌカロウ」

「ホホバロウ」

「モクロウ」

「ラノリン」

研究期間 平成 12 年 9 月 1 日～平成 13 年 1 月 31 日

研究報告者 株式会社ロッテ 中央研究所

### 1. 目的

既存添加物リスト No50「ウルシロウ」、No194「コメヌカロウ」、No415「ホホバロウ」、No447「モクロウ」、No463「ラノリン」5品目の自主規格の確認試験または純度試験において、有害試薬(クロロホルム、四塩化炭素)が使用されているため、これらを有害性の少ない試薬へ代替検討を行った。

### 2. 検討方法

#### 1) 対象試験項目および試薬

品目	試験項目	現行有害試薬	代替試薬
ウルシロウ	純度試験 ヨウ素価	クロロホルム	シクロヘキサン
コメヌカロウ	純度試験 ヨウ素価	四塩化炭素	シクロヘキサン
ホホバロウ	純度試験 ヨウ素価	クロロホルム	シクロヘキサン
モクロウ	純度試験 ヨウ素価	クロロホルム	シクロヘキサン
ラノリン	確認試験	クロロホルム	シクロヘキサン
	純度試験 ヨウ素価	クロロホルム	シクロヘキサン

#### 2) 試料

品目	メーカー	試料
ウルシロウ	(株)日本チユルブ°ロダクツ	精製ウルシロウ W1201131、W1201133、W1206131
コメヌカロウ	横関油脂工業(株)	精製ライスワックス 1205151、1205152、1207141
ホホバロウ	ミツバ貿易(株)	ホホバール 811258、812261、812262
モクロウ	(株)日本チユルブ°ロダクツ	精製モクロウ W1207131、W1207132、W1207133
ラノリン	クローダジャパン(株)	スーパーラノリン 605052、608122、612072

### 3. 検討結果

#### 1) ヨウ素価

シクロヘキサンに代替した場合、5品目共、全体にヨウ素価の値が幾分低く出る傾向があるが、規格値の変更が必要なレベルではないと考えられる。

・ウルシロウ 規格値 5～40

	W1201131	W1201133	W1206131
クロロホルム	① 18.2	① 18.3	① 17.9
	② 18.0	② 18.6	② 17.5
	③ 18.1	③ 18.5	③ 17.4
	Ave 18.1	Ave 18.5	Ave 17.6
シクロヘキサン	① 17.4	① 17.7	① 17.3
	② 17.4	② 17.7	② 17.0
	③ 17.5	③ 17.1	③ 17.0
	Ave 17.4	Ave 17.5	Ave 17.1

・コメヌカロウ 規格値 20以下

	1205151	1205152	1207141
クロロホルム	① 8.5	① 10.7	① 11.1
	② 8.8	② 11.0	② 11.2
	③ 8.8	③ 11.2	③ 10.5
	Ave 8.7	Ave 11.0	Ave 11.0
シクロヘキサン	① 8.2	① 10.5	① 10.8
	② 8.3	② 11.0	② 10.2
	③ 8.3	③ 11.0	③ 10.1
	Ave 8.3	Ave 10.8	Ave 10.4

・ホホバロウ 規格値 70～100

	811258	812261	812262
クロロホルム	① 85.5	① 82.5	① 82.5
	② 87.	② 82.6	② 82.2
	③ 86.1	③ 82.2	③ 81.7
	Ave 86.3	Ave 82.4	Ave 82.1
シクロヘキサン	① 82.3	① 81.9	① 81.5
	② 83.3	② 80.9	② 81.0
	③ 83.0	③ 81.5	③ 81.1
	Ave 82.9	Ave 81.4	Ave 81.2

・モクロウ 規格値 5～30

	W1207131	W1207132	W1207133
クロロホルム	① 11.4	① 11.8	① 12.5
	② 11.8	② 11.5	② 11.9
	③ 11.6	③ 11.5	③ 12.0
	Ave 11.6	Ave 11.6	Ave 12.1
シクロヘキサン	① 10.2	① 10.5	① 10.8
	② 11.0	② 10.4	② 11.2
	③ 11.0	③ 10.5	③ 11.1
	Ave 10.7	Ave 10.5	Ave 11.0

・ラノリン 規格値 18～36

	605052	608122	612072
クロロホルム	① 27.8	① 28.6	① 28.6
	② 26.9	② 28.7	② 28.6
	③ 27.1	③ 28.8	③ 28.0
	Ave 27.3	Ave 28.7	Ave 28.4
シクロヘキサン	① 25.3	① 25.5	① 25.2
	② 25.0	② 25.8	② 25.5
	③ 25.2	③ 25.4	③ 25.3
	Ave 25.2	Ave 25.6	Ave 25.3

2) 確認試験 (ラノリン)

単純代替で問題なしと考えられる。

	605052	608122	612072
クロロホルム	① 適合	① 適合	① 適合
	② 適合	② 適合	② 適合
	③ 適合	③ 適合	③ 適合
シクロヘキサン	① 適合	① 適合	① 適合
	② 適合	② 適合	② 適合
	③ 適合	③ 適合	③ 適合

4. 結論 (自主規格改訂案)

# ウルシロウ

Urushi wax

**定 義** ウルシの実から得られた、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 5～40

本品約 1.0g を 500ml 共栓付きフラスコに精密に量り、シクロヘキサン 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。ヨウ化カリウム溶液 (1→10) 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 (1→100) 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。

$$\text{ヨウ素価} = (A - B) \times 1.269 \times f / C$$

但し、 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)

C : 試料採取量 (g)

f : 0.1mol/l チオ硫酸ナトリウム溶液の力価

(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** 0.30% 以下 (1.0g)



# コメヌカロウ

## Rice Bran Wax

コメヌカワックス、ライスワックス

**定 義** イネ科イネ (*Oryza sativa* L.) の米糠油より分離、精製して得られたもので、成分はリグノセリン酸ミリシルである。

**性 状** 本品は淡黄～淡褐色の薄片または塊で、特有のにおいがある。

**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、同一波長のところに同様の強度の吸収を認める。

**純度試験** (1) 融点 70～83℃ (融点測定法、第2種物質)

(2) 遊離脂肪酸 10%以下

本品をその推定遊離脂肪酸量に対応する採取量に準じて250mlの測定用フラスコに量り取り、規定量のエタノールを加えて加温溶解し検液とする。以下油脂類試験法中の遊離脂肪酸の試験を行う。ただし滴定は温時に行う。

(3) けん化価 70～160

本品約3gを精密に量り、けん化用フラスコに入れ、キシレン25mlを加えて静かに振り混ぜ、完全に澄清になるか僅かに濁る程度に試料を溶かす。この液にエタノール50mlと0.5mol/lエタノール製水酸化カリウム溶液25mlを加える。規定の方法で2時間けん化後、フェノールフタレイン試液数滴を加え0.5mol/l塩酸で滴定する。なお本試験と並行して空試験を行う。

$$\text{けん化価} = (A - B) \times 28.05 \times f / C$$

但し、 A : 空試験の0.5mol/l塩酸使用量 (ml)

B : 本試験の0.5mol/l塩酸使用量 (ml)

C : 試料採取量 (g)

f : 0.5mol/l塩酸の力価

(4) ヨウ素価 20以下

本品約1.0gを500ml共栓付きフラスコに精密に量り、シクロヘキサン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。ヨウ化カリウム溶液(1→10)20mlおよび水100mlを加えよく振り混ぜる。指示薬としてデンプン溶液(1→100)を数滴加え、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行う。

$$\text{ヨウ素価} = (A - B) \times 1.269 \times f / C$$

但し、 A : 空試験の0.1mol/lチオ硫酸ナトリウム溶液使用量 (ml)

B : 本試験の0.1mol/lチオ硫酸ナトリウム溶液使用量 (ml)

C : 試料採取量 (g)

f : 0.1mol/lチオ硫酸ナトリウム溶液の力価

(5) 重金属 Pbとして40μg/g以下(0.5g、第2法、比較液 鉛標準液2.0ml)

(6) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として4μg/g以下(0.25g、第3法、装置B)

**強熱残分** 0.30%以下(1.0g)

# 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  $n_D^{20}$  : 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 500ml 共栓付きフラスコに精密に量り、シクロヘキサン 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。ヨウ化カリウム溶液 (1→10) 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 (1→100) 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。

$$\text{ヨウ素価} = (A - B) \times 1.269 \times f / C$$

但し、 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)

C : 試料採取量 (g)

f : 0.1mol/l チオ硫酸ナトリウム溶液の力価

(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** 0.30%以下 (1.0g)

# 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 500ml 共栓付きフラスコに精密に量り、シクロヘキサン 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。ヨウ化カリウム溶液 (1→10) 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 (1→100) 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。

$$\text{ヨウ素価} = (A - B) \times 1.269 \times f / C$$

但し、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)

C：試料採取量 (g)

f：0.1mol/l チオ硫酸ナトリウム溶液の力価

(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** 0.30% 以下 (1.0g)

# ラノリン

Lanolin

羊毛ロウ

**定義** ウシ科ヒツジ (*Ovis aries* L.) の毛に付着するロウ様物質を、脱水、精製して得られたものである。主成分は  $C_{12}$ ~ $C_{32}$  の  $\alpha$ -ヒドロキシ酸と高級アルコールとのエステルである。

**性状**：本品は、淡黄色～微黄褐色の粘性のあるペースト状の物質で、わずかに特有のにおいがある。

**確認試験** 本品のシクロヘキサン溶液 (2W/V%) 5ml に無水酢酸 1ml および硫酸 2 滴を加えるとき、液は緑色を呈する。

**純度試験** (1) 融点 36~43°C (融点測定法、第 2 種物質)

(2) 酸価 1.12 以下

本品約 5g を精密に量り、キシレン/エタノール混液 (1 : 1) 80ml 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。但し、滴定は、温時に行う。

(3) ヨウ素価 18~36

本品約 0.8g を 500ml 共栓付きフラスコに精密に量り、シクロヘキサン 10ml を加えて試料を溶かし、ウィイス液 25ml を加え暗所に 30 分放置する。次にヨウ化カリウム溶液 (1→10) 20ml および水 100ml を加え振り混ぜ、指示薬としてデンプン溶液 (1→100) 数滴を加え、0.1mol/l チオ硫酸ナトリウム溶液で滴定する。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。

$$\text{ヨウ素価} = (A - B) \times 1.269 \times f / C$$

但し、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)

C : 試料採取量 (g)

f : 0.1mol/l チオ硫酸ナトリウム溶液の力価

(4) 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)

(5) ヒ素  $\text{As}_2\text{O}_3$  として  $4.0 \mu\text{g/g}$  以下 (0.25g、第 3 法、装置 B)

**強熱残分** 0.10%以下 (1.0g)