

3) 0.5g/l 塩化カルシウム試液

500g/l 塩化カルシウム溶液に水を加えて、正確に 0.5g/l 塩化カルシウム試液になるように調製する。

通例、500g/l 塩化カルシウム溶液約 2.70g を量り、水を加えて正確に 2000ml とする。用時調製する。

4) 500g/l 塩化カルシウム溶液

塩化カルシウム ( $\text{CaCl}_2$ ) 500g を量り、水を加えて溶かして 1000ml とする。公定書「塩化カルシウム」の定量法で濃度を確認する。

同等品は Chr. Hansen A/S にて Item No. 424442, Calcium Chloride 50% がある。

5) 標準酵素

測定する酵素と同じ基原の種類「国際標準レンネット」を用いる。その酵素活性は、約 1000 IMCU/g (実測値表示) である。

標準品は、動物レンネットの標準品として Chr. Hansen A/S にて Item No. 120301,

Calf Rennet reference std. pwd. または Item No. 120401, Adult Bovine Rennet ref. std. pwd.,

*Rhizomucor miehei* の標準品として DSM Food Specialties にて Gb. code 1089410, REMCAT REF STANDARD,

*Rhizomucor pusillus* の標準品として SKW Biosystems にて Material 20212,

REMCAT Mucor Pusillus Standard がある。

レンネット測定結果

品名 名糖レンネット(基原: *Rhizomucor pusillus* 由来)

試験項目	規格	測定回数	製造番号		
			PH0601	PH0701	PH0901
性状	白～濃褐色の粉末、粒、顆粒あるいは無～濃褐色の液体、ペ-スト	①	淡黄褐～淡褐色の粉末	淡黄褐～淡褐色の粉末	淡黄褐～淡褐色の粉末
		②	淡黄褐～淡褐色の粉末	淡黄褐～淡褐色の粉末	淡黄褐～淡褐色の粉末
		③	淡黄褐～淡褐色の粉末	淡黄褐～淡褐色の粉末	淡黄褐～淡褐色の粉末
確認試験	(1) 酵素活性を示す (2) 凝乳による微粒片を生じる	①	(1) 酵素活性を示す (2) 凝乳による微粒片を生じる	(1) 酵素活性を示す (2) 凝乳による微粒片を生じる	(1) 酵素活性を示す (2) 凝乳による微粒片を生じる
		②	(1) 酵素活性を示す (2) 凝乳による微粒片を生じる	(1) 酵素活性を示す (2) 凝乳による微粒片を生じる	(1) 酵素活性を示す (2) 凝乳による微粒片を生じる
		③	(1) 酵素活性を示す (2) 凝乳による微粒片を生じる	(1) 酵素活性を示す (2) 凝乳による微粒片を生じる	(1) 酵素活性を示す (2) 凝乳による微粒片を生じる
重金属	Pbとして 40 μg/g以下	①	40 μg/g以下	40 μg/g以下	40 μg/g以下
		②	40 μg/g以下	40 μg/g以下	40 μg/g以下
		③	40 μg/g以下	40 μg/g以下	40 μg/g以下
鉛	Pbとして 10 μg/g以下	①	10 μg/g以下	10 μg/g以下	10 μg/g以下
		②	10 μg/g以下	10 μg/g以下	10 μg/g以下
		③	10 μg/g以下	10 μg/g以下	10 μg/g以下
ヒ素	As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> として 4.0 μg/g以下	①	4.0 μg/g以下	4.0 μg/g以下	4.0 μg/g以下
		②	4.0 μg/g以下	4.0 μg/g以下	4.0 μg/g以下
		③	4.0 μg/g以下	4.0 μg/g以下	4.0 μg/g以下
細菌数	50,000/g以下	①	100/g以下	100/g以下	100/g以下
		②	100/g以下	100/g以下	100/g以下
		③	100/g以下	100/g以下	100/g以下
大腸菌	認めない	①	認めない	認めない	認めない
		②	認めない	認めない	認めない
		③	認めない	認めない	認めない
酵素活性	単位/g	①	10,650	10,700	10,620
		②	10,890	10,630	10,820
		③	10,910	10,740	10,830
		④	11,080	10,710	10,470
		⑤	10,980	10,770	10,420
		⑥	11,040	10,890	10,540
	平均 (n=6)		10,925	10,740	10,617
	標準偏差		153	87	175
	CV (%)		1.40	0.81	1.65
	最大値		11,080	10,890	10,830
最小値		10,650	10,630	10,420	

確認試験の方法

- 粉乳溶液：レンネット活性測定法で用いる基質溶液。
- 試料溶液：レンネット活性測定法により約3単位/ml になるように試料を適量の水で溶かし試料溶液とした。
- 試験方法：粉乳溶液5mlに試料溶液 1mlを加えてよく混ぜ、32±1℃で1分間放置するとき基質溶液に凝乳による微粒片を生じる。

酵素活性の測定法：レンネット活性測定法

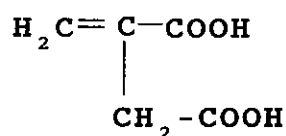
## 酸味料

(イタコン酸自主規格改定案)

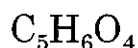
## 第八部会

## イタコン酸

### Itaconic Acid



分子量 130.1



### Methylenesuccinic acid [CAS No. 97-65-4]

**定義** 本品は、澱粉、粗糖等を原料とし、麹菌の一種 (*Aspergillus terreus*) で発酵させた後分離、精製して得られたものである。

**含量** 本品を乾燥物換算したものは、イタコン酸 ( $\text{C}_5\text{H}_6\text{O}_4$ ) 99.0%以上を含む。

**性状** 本品は、無色透明な結晶、粒若しくは塊、又は白色の結晶性粉末若しくは粉末で、臭いがなく、酸味がある。

**確認試験** (1) 本品の水溶液 (1→20) は酸性である。

(2) 本品 0.05 g に 0.005mol/l 硫酸を加えて溶かして 100ml とし、試料液とする。別にイタコン酸 0.05 g に 0.005mol/l 硫酸を加えて溶かして 100ml とし、比較液とする。

検液及び比較液について、液体クロマトグラフィーを行うとき、検液の主ピークと比較液のイタコン酸ピークの保持時間が一致する。

**純度試験** (1) 重金属 Pb として  $10\mu\text{g/g}$  以下 (2.0g、第2法、比較液 鉛標準液 2.0ml)

(2) ヒ素  $\text{As}_2\text{O}_3$  として  $4.0\mu\text{g/g}$  以下 (0.25g、第1法、装置 B)

(3) 塩化物 Cl として 0.007% 以下 (0.5g、比較液 0.005N 塩酸 0.1ml)

(4) 硫酸塩  $\text{SO}_4$  として 0.01% 以下 (0.5g、比較液 0.005N 硫酸 0.1ml)

**乾燥減量** 0.5% 以下 (2g、100℃、2時間)

**強熱残分** 0.10% 以下 (2g)

**定量法** 本品約 2 g を精密に量り、水を加えて溶かし、更に水を加えて正確に 250ml とする。この液 25ml を正確に量り、0.1N 水酸化ナトリウム溶液で滴定する。(指示薬フェノールフタレイン試液 2~3 滴) 乾燥物換算を行う。

0.1mol/l 水酸化ナトリウム溶液 1ml = 6.505mg  $\text{C}_5\text{H}_6\text{O}_4$

## イタコン酸含量分析結果

### 1. 分析方法

検体約2gを精密には量り取り、水を加えて溶かし、更に水を加えて正確に250mlとするこの液25mlを正確に量り、0.1N水酸化ナトリウム溶液で滴定する。

(指示薬フェノールフタレイン試液2～3滴)

乾燥物換算を行う。

0.1N水酸化ナトリウム溶液 1ml = 6.505mg C<sub>5</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub>

3ロットを準備し各6回繰り返し試験を行う。

### 2. 検体

扶桑化学工業(株)製のイタコン酸 Lot No. 20042、20046、20050の3ロット

### 3. 結果

ロット番号	20042	20046	20050	ロット間平均
1	99.92	99.92	99.91	
2	99.94	99.96	99.94	
3	99.94	99.91	99.87	
4	99.97	99.96	99.98	
5	99.94	99.91	99.93	
6	99.91	99.91	99.94	
平均値	99.94	99.93	99.93	99.93
最大値	99.97	99.96	99.98	99.97
最小値	99.91	99.91	99.87	99.90
メジアン	0.06	0.05	0.11	0.07

## 平成12年度・第9部会関連自主規格調査報告書

日本添加物協会  
第9部会長  
味の素(株)

### 第2版自主規格の見直し

#### 1. レイシ抽出物

抽出に用いるクロロホルムを酢酸エチルに変えることが可能であること、炭酸水素ナトリウム試液の濃度は0.6mol/lが適当であること等が明らかとなった。

なお、標準溶液としてマンネンタケ子実体を用いることとした。

#### 2. ベタイン

第7版食品添加物公定書の書式に合わせるとともに、確認試験法として、従来の液体クロマトグラフィーのカラム充填剤を変更したこと、赤外線吸収スペクトル測定を加えたこと、市販の試薬ベタイン(無水)の純度にバラツキがあるので、あらかじめ過塩素酸滴定により高純度(99%以上)であることを確認したものを標準品として用いることとした。

#### 3. タウリン(抽出物)

第7版食品添加物公定書の書式に合わせるとともに、含量として98.5%~102.0%を98.5%以上に変えること、塩酸(1+5)を希塩酸5滴及び亜硝酸ナトリウムに変更すること、水酸化ナトリウム溶液及びニトロプルシドナトリウム溶液を日本薬局方第8改正に準拠させた。

#### 4. カフェイン抽出物

第7版食品添加物公定書の書式に合わせた。

以上

# レイシ抽出物

## Mannenkake extract

本品は、サルノコシカケ目マンネンタケ(*Ganoderma lucidum* KARST.)の菌糸体若しくは子実体、又はその培養液より、水、エタノール又は二酸化炭素で抽出して得られたものである。

性 状 本品は、黄色～褐色の粉末又は褐色の液体で特有の臭いと苦味を有する。

### 確認試験

本品約1.0gをとり、水100mlを加え、5分間振り混ぜた後、エタノール100mlを加えて、よく振り混ぜた後ろ過する。残留物を希エタノール200mlで同様に操作する。ろ液を合わせ減圧下に濃縮し、全量を10ml以下とする。濃縮物を水200mlに分散させ、クロロホルム50mlで3回抽出する。クロロホルム層を合わせ、炭酸水素ナトリウム試液50mlで3回抽出する。水層を合わせ2mol/l塩酸試液にてpH3に調整し、クロロホルム50mlで3回抽出する。クロロホルム層を合わせ減圧下でクロロホルムを留去する。得られた残留物にエタノール10mlを加えて溶解し、試料溶液とする。別にマンネンタケ子実体約10gを取り、水100mlを加え、30分間加熱した後、エタノール100mlを加えて、よく振り混ぜた後ろ過する。以下、試料溶液の調製と同様に操作して、標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液10 $\mu$ lにつき、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行うとき、試料溶液のクロマトグラムは標準溶液のクロマトグラムと同様の特有なクロマトグラムを示す。

### 操作条件

検出器；紫外吸光検出器（測定波長 254nm）

カラム充填剤；5～10 $\mu$ mの化学結合型オクタデシルシラン

カラム管；内径4～6mm、長さ15～30cmのステンレス管

カラム温度；40 $^{\circ}$ C

移動相；2%酢酸/アセトニトリル混液（2：1）

### 純度試験

- (1) 液性 pH4.5～5.5（粉末試料1.0g又は液状試料を乾燥させたもの1.0g、水100ml）
- (2) 重金属 Pbとして20 $\mu$ g/g以下（粉末試料1.0g又は液状試料を乾燥させたもの1.0g、第2法 比較液鉛標準液2.0ml）
- (3) ヒ素 As<sub>203</sub>として2.0 $\mu$ g/g以下（粉末試料1.0g又は液状試料を乾燥させたもの1.0g、

第3法, 装置B)

水分 粉末試料: 8.0%以下(0.1g, 直接滴定)

乾燥減量 液体試料: 60.0%以下(1.0g, 105°C, 5時間)

強熱残分 20.0%以下(粉末試料 2.0g 又は液状試料を乾燥させたもの 2.0g)



# ベタイン

## Betaine

### 定 義

本品は、アカザ科サトウダイコン (*Beta vulgaris* L.var.rapa) の糖蜜より、分離精製して得られたものである。成分はベタインである。

### 含 量

本品を乾燥したものは、ベタイン ( $C_5H_{11}NO_2=117.15$ ) 98.0~102.0%を含む。

### 性 状

本品は、吸湿性と潮解性がある白色の結晶性粉末で、僅かににおいがあり、甘味と僅かな苦みを呈する。

### 確認試験

(1) 本品の水溶液 (1→100) とベタイン (標準品) の水溶液 (1→100) につき、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行うとき、本品の保持時間は標準品の保持時間と一致する。

なお、試料及び標準品の溶液を $0.45\mu m$ のメンブランフィルターを用いて濾過した後、試験に供する。

操 作 条 件

検 出 器 示差屈折計

カラム充填剤 スチレンジビニルベンゼン共重合体 ( $Ca^{2+}$ -型)

カラム管 内径4mm、長さ25cm

カラム温度  $70^{\circ}C$

移 動 相  $0.001mol/l$  硝酸カルシウム

流 速  $1ml/min$

注 入 量  $5\mu l$

(2) 本品を赤外線吸収スペクトル測定法の臭化カリウム錠剤法により測定するとき、 $1,490\sim 1,470cm^{-1}$ 、 $1,410\sim 1,390cm^{-1}$ 、 $1,330cm^{-1}$ 、 $1,240cm^{-1}$ 、 $1,130cm^{-1}$ 、 $980cm^{-1}$ 、 $930cm^{-1}$ 、 $890cm^{-1}$ のそれぞれの付近に吸収帯を認める。

### 純度試験

(1) 溶 状 無色、澄明 (1.0g、水10ml)

(2) 液 性 pH 5.0~7.0 (1.0g、水20ml)

(3) 塩化物 Clとして 0.005% 以下 (1.0g、比較液  $0.01mol/l$ 塩酸0.15ml)

(4) 硫酸塩  $SO_4$ として 0.01% 以下 (1.0g、比較液  $0.01mol/l$ 硫酸0.10ml)

(5) 重金属 Pbとして  $5.0\mu g/g$  以下 (1.0g、第1法、比較液 鉛標準液0.5ml)

(6) ヒ 素  $As_2O_3$ として  $4.0\mu g/g$  以下 (0.5g、第1法、装置B)

### 乾燥減量

2.0% 以下 (105℃、3時間)

## 強熱残分

0.10% 以下 (500℃、3時間)

## 定量法

### (1) 過塩素酸滴定法

105℃で乾燥させた本品約0.2gを精秤し、酢酸（非水滴定用）50mlに溶解したものを試料とする。ガラス電極を指示電極とし、0.1mol/lの過塩素酸溶液（酢酸溶媒）によって電位差滴定（非水滴定）を行う。データ処理装置を組み入れた自動滴定装置を用いるか、または滴定したときの電位差の変化を測定し滴定曲線を描き、終点を求める。なお、同一条件で空試験を行って滴定量を補正する。

0.1mol/lの過塩素酸溶液（酢酸溶媒）1mlはベタイン0.011715gに相当するので、次式によりベタイン含量を定量する。

$$\text{ベタイン含量 (\%)} = \frac{(\text{試料溶液の滴定量} - \text{空試験の滴定量}) \times 0.011715}{\text{試料の秤取量}}$$

### (2) 液体クロマトグラフィー法

105℃で乾燥させた本品約1gを精秤し水に溶解して100mlとしたものを試料とする。同様に乾燥させたベタイン（標準品）0.5g及び1.0gを精秤し水に溶解して100mlとしたものを標準液とする。確認試験と同様の操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、標準液の濃度に対して得られたピーク面積から検量線を作成し、この検量線と試料のピーク面積から、次式によりベタイン含量を定量する。

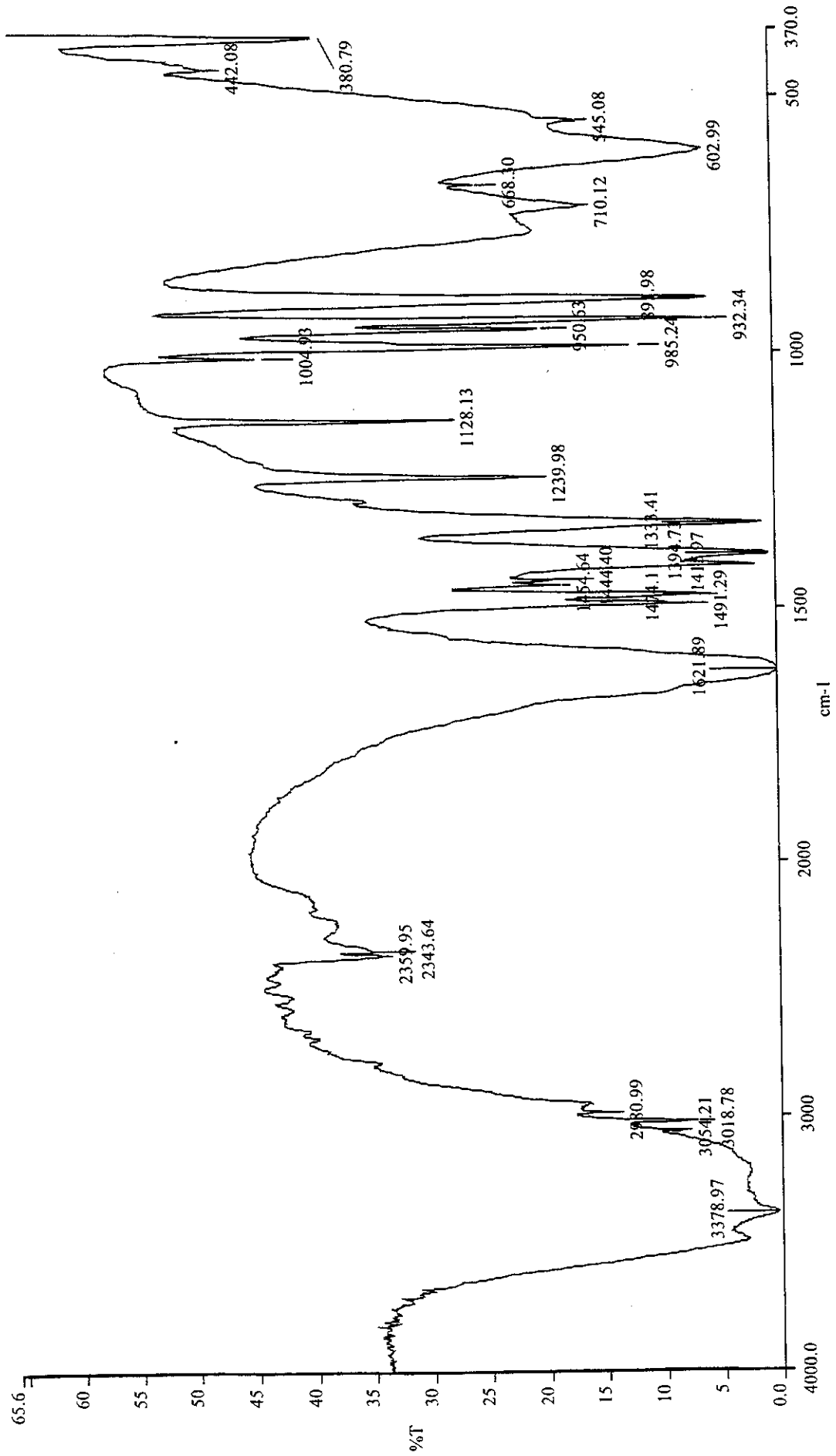
$$\text{ベタイン含量 (\%)} = \frac{\text{検量線から求めた試料中のベタイン量}}{\text{試料の秤取量}} \times 100$$

---

## \* ベタイン（標準品）について

市販されている試薬ベタイン（無水）の純度規格値は各社とも98.0%以上であるが、現在、特級及び分析用グレードは市販されていない。

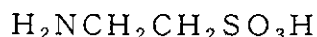
よって、(1)の過塩素酸滴定により高純度（99%以上）を確認したベタインを標準品とすることが望ましい。



タウリン (抽出物)

taurine (extract)

タウリン



$\text{C}_2\text{H}_7\text{NO}_3\text{S}$

分子量 : 125.15

aminoethylsulfonic acid [107-35-7]

**定義** 本品は、魚介類又は哺乳動物の肉及び臓器より、水抽出し、精製して得られたものである。成分はタウリンである。

**含量** 本品を乾燥したものはタウリン ( $\text{C}_2\text{H}_7\text{NO}_3\text{S}$ ) 98.5%以上を含む。

**性状** 本品は、白色の結晶性の粉末で、においはない。

**確認試験** (1) 本品の水溶液 (1→20) 5 ml に希塩酸 5 滴および亜硝酸ナトリウム試液 (1→10) 5 滴を加えるとき、泡だち、発生するガスは無色である。

(2) 本品 0.5 g に水酸化ナトリウム試液 7.5 ml を加え、徐々に加熱して蒸発乾固し、さらに 500°C で 2 時間強熱して分解し、残留物に水 5 ml を加え、振り混ぜたのち、ろ過し、ニトロプルシドナトリウム試液を 1 滴を加えるとき、液は赤紫色を呈する。

**純度試験** (1) 溶状 本品 0.5 g に水 20 ml を加えて溶かすとき、液は無色透明である。

(2) 塩化物 本品 1.0 g をとり、試験を行う。比較液には 0.01 mol/l 塩酸 0.30 ml を加える (Cl として 0.01% 以下)。

(3) 硫酸塩 本品 1.5 g をとり、試験を行う。比較液には 0.01 mol/l 硫酸 0.23 ml を加える ( $\text{SO}_4$  として 0.015% 以下)。

(4) アンモニウム 本品 0.10 g をフラスコにとり、水 70 ml を加えて溶かし、酸化マグネシウム 1 g を加え、蒸留装置に連結する。受器には 0.1 mol/l 塩酸 2 ml を入れたネスラー管を用い、冷却器の下端をこの液に浸し、留液 40 ml を得るまで蒸留する。留液に水酸化ナトリウム試液 5 ml および水を加えて 50 ml とし、ネスラー試液 0.5 ml を加えるとき、液の色はつぎの比較液より濃くない ( $\text{NH}_4$  として 0.02% 以下)。

比較液：アンモニウム標準液 2.0 ml をネスラー試験管にとり、水酸化ナトリウム試液 5 ml および水を加えて 50 ml とし、ネスラー試液 0.5 ml を加える。

(5) 硫酸呈色物

本品 0.10 g を硫酸 1 ml に溶かすとき、液は無色である。

(6) 重金属 本品 1.0 g をとり、第 1 法により操作し、試験を行う。比較液には鉛標準液 2.0 ml を加える (Pb として 20  $\mu\text{g/g}$ )

(7) ヒ素 本品 2 g をとり、水 5 ml および硝酸 1 ml を加えて溶かし、水 5 ml および硫酸 1 ml を加える。以下第 2 法、装置 B により操作し、試験を行う ( $\text{As}_2\text{O}_3$  として 4.0  $\mu\text{g/g}$  以下)。

**乾燥減量** 0.20% 以下 (105°C, 2 時間)

**強熱残分** 0.50% 以下 (1g)

**定量法** 本品を乾燥し、その約 0.2 g を精密に量り、水 50 ml を加えて溶かし、ホルマリン 5 ml を加え、0.1 mol/l 水酸化ナトリウム液で滴定する (指示薬：フェノールフタレイン試液 3 滴)。同様の方法で空試験を行い補正する。

0.1 mol/l 水酸化ナトリウム液 1ml = 12.515mg  $\text{C}_2\text{H}_7\text{NO}_3\text{S}$

タウリン 日本水産株式会社

## カフェイン（抽出物）

Caffeine (extract)

### 定 義

本品は、アカネ科コーヒー (Coffea arabica LINNE等) の種子 (コーヒー豆) 又はツバキ科チャ (Camellia sinensis O.KZE.) の葉より、水又は二酸化炭素で抽出し、分離精製して得られたものである。成分はカフェインである。

本品には、結晶物 (1 水塩) 及び無水物がある。

### 含 量

本品を乾燥したものは定量するとき、カフェイン ( $C_8H_{10}N_4O_2=194.19$ ) 98.5%以上を含む。

### 性 状

本品は、白色の針状結晶又は粉末、もしくは両者の混合物であり、わずかに苦味がある。

### 確認試験

- (1) 本品の水溶液 (1→500) 2mlにタンニン酸試液を添加するとき、白色の沈殿を生じ、この沈殿は更にタンニン酸を添加するとき溶ける。
- (2) 本品0.01gに過酸化水素試液10滴及び塩酸 1 滴を加えて水浴上で蒸発乾固するとき、残留物は黄赤色を呈する。また、これをアンモニア試液 2～3 滴を入れた容器の上にかざすとき、赤紫色に変わり、その色は水酸化ナトリウム試液 2～3 滴を加えるとき、消える。
- (3) 本品0.01gを水に溶かし50mlとする。この液 5 mlに薄めた酢酸 (3→100) 3 ml及び薄めたピリジン液 (1→10) 5 mlを加えて混和した後、薄めた次亜塩素酸ナトリウム試液 (1→5) 2 mlを加え、1 分間放置する。これにチオ硫酸ナトリウム試液 2 ml及び水酸化ナトリウム試液 5 mlを加えるとき、黄色を呈する。

タンニン試液 タンニン酸1gをエタノール1mlに溶かし、水を加えて10mlとする。  
用事調整する。

### 純度試験

- (1) 融 点 235～238℃
- (2) 塩化物 Cl として0.011%以下
- (3) 硫酸塩  $SO_4$  として0.024%以下

本品2.0gを熱湯80mlに溶かし、20℃に急冷し、水を加えて100mlとし、試料溶液とする。試料溶液40mlに希硝酸6ml及び水を加えて50mlとする。これを検液とし、試験を行う。比較液には、0.01mol/l塩酸0.25mlを加える。比較液の呈する混濁より濃くない。

(2)の試料溶液40mlに希塩酸1ml及び水を加えて50mlとする。これを検液とし、試験

を行う。比較液には、0.005mol/l硫酸0.40mlを加える。比較液の呈する混濁より濃くない。

(4) 重金属 Pbとして10 $\mu$ g/g以下

本品2.0gをとり、第2法により操作し、試験を行う。比較液には鉛標準液2.0mlを加える。比較液の呈する色より濃くない。

(5) 類縁物質 本品0.10gをクロロホルム10mlに溶かし、試料溶液とする。この液1mlを正確に量り、クロロホルムを加えて正確に100mlとする。この液1mlを正確に量り、クロロホルムを加えて正確に10mlとし、標準溶液とする。これらの液につき、薄層クロマトグラフィー法により試験を行う。試料溶液及び標準溶液10 $\mu$ lずつを薄層クロマトグラフィー用シリカゲル(蛍光剤入り)を用いて調製した薄層板にスポットする。次にクロロホルム・エタノール混液(9:1)を展開溶媒として約10cm展開した後、薄層板を風乾する。これに紫外線(主波長254nm)を照射するとき、試料溶液から得た主スポット以外のスポットは、標準溶液から得たスポットより濃くない。

(6) 硫酸呈色物 本品0.5gをとり、硫酸5mlに溶かしたとき、色調は比較液Dより濃くない。

**乾燥減量** 無水物 0.5%以下 (80 $^{\circ}$ , 4時間)

結晶物 0.5~8.5% (80 $^{\circ}$ , 4時間)

**強熱残留物** 0.1%以下 (0.5g)

**定量法** 本品を乾燥し、その約0.4gを精密に量り、無水酢酸・酢酸混液(6:1)70mlに溶かし、0.1mol/l過塩素酸で滴定する(指示薬:塩化メチルロザニリン試液3滴)。ただし、滴定の終点は液の紫色が緑色を経て黄色に変わるときとする。同様の方法で空試験を行い、補正する。

0.1mol/l過塩素酸 1ml = 19.419mg  $C_8H_{10}N_4O_2$

平成13年3月17日

## 第10部会（乳化剤）既存添加物自主規格検討結果報告

日本食品添加物協会  
第10部会

### 1. 目的

既存添加物の内、乳化剤品目の自主規格について、第二版化学的合成品以外の食品添加物自主規格及び追補収載品目については、その定義、規格あるいは試験方法の見直しを行い、また自主規格の制定されていない品目についての規格設定を行うことを目的として検討を進めた。

### 2. 検討内容

第二版自主規格に記載されている「酵素分解レシチン」、「植物性ステロール」及び「ユッカフォーム抽出物」については、その定義、規格内容、試験方法等について見直しを行い、それぞれの添加物の定義内容から、より現実と本質に即した規格を設定することに努めた。具体的には、「酵素分解レシチン」については、植物レシチンを原料とするものと、卵黄レシチンを原料とするものではその溶剤への溶解特性が異なることから、「酵素分解植物レシチン」と「酵素分解卵黄レシチン」とに区分した規格を設定した。「植物性ステロール」については、第二版自主規格は高度に精製したものであるが、これと共に、食品添加物としての現実性及び機能性等を考慮して「精製植物性ステロール」と「植物性ステロール」の2つの品質区分を設定した。「ユッカフォーム抽出物」については、有効成分であるサポニンの種類を特定して定量法を設定し、併せて、従来を改善して有害溶剤を使用しない確認試験法を確立した。

新たな品目の規格としては、「ダイズサポニン」と「胆汁末」の2品目について検討し設定した。この2品目については未だ不完全さを残すが、今後更に情報入手に努めより妥当性のある規格への改善をはかりたい。

## ユッカフォーム抽出物

Yucca foam extract

Yucca josha tree

**定 義** 本品は、ユリ科ユッカ・アラボレセンス(*Yucca arborescens* TREL.)又はユリ科ユッカ・シジゲラ(*Yucca schdigera* ROEZL ex Ortgies)の全草より、熱時水で、又は室温時～微温時含水エタノール又は含水イソプロピルアルコールで抽出して得られたものである。その主成分はサポニンである。

**含 量** 本品の乾燥したものはユッカサポニン3.0%以上を含む

**性 状** 本品は、黄色～褐色の粉末又は褐色の液体で特有の臭いと味を有する。

### 確認試験

(1) 本品約0.6gに90%メタノール10mLを加えて激しく振り混ぜた後ろ過する。ろ液5 $\mu$ lを量り、対照液を用いず、酢酸エチル/エタノール/水/酢酸混液(40:16:8:1)を展開溶媒として薄層クロマトグラフィーを行うとき、Rf値が0.40～0.60付近に連なる紫褐色のスポットが4個検出される。ただし、薄層板は坦体として薄層クロマトグラフィー用シリカゲル(粒径5～7 $\mu$ m)を110℃で1時間乾燥したものを使用し、展開溶媒の先端が約8cmの高さに上昇したとき展開をやめ、風乾した後、薄めた硫酸(1→5)を均等に噴霧し、110℃で10分間加熱した後、観察する。

(2) 本品約0.6gを取り、水 10mL及び2mol/L塩酸10mLを加え、沸騰水浴中で3時間加熱分解を行う。冷後、ジエチルエーテル80mLで2回抽出し、エーテル層を集め留去する。乾固物を酢酸エチル10mLに溶かし、試料溶液とする。別に、サルササポゲニン約10mgを酢酸エチルに10mLに溶かし、標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液5 $\mu$ lづつを量り、ヘキサン/酢酸エチル混液(2:1)を展開溶媒として薄層クロマトグラフィーを行うとき、標準溶液と同じRf値に黄緑色のスポットが検出される。ただし、薄層板は坦体として薄層クロマトグラフィー用シリカゲル(粒径5～7 $\mu$ m)を110℃で1時間乾燥したものを使用し、展開溶媒の先端が約8cmの高さに上昇したとき展開をやめ、風乾した後、アニスアルデヒド硫酸試液を均等に噴霧し、110℃で10分間加熱した後、観察する。

### 純度試験

- (1) 液 性 pH3.5～5.0 (粉末試料 1.0g又は液状試料を乾燥させたもの1.0g、水100ml)  
(2) 重金属 Pbとして20 $\mu$ g/g以下(粉末試料 1.0g又は液状試料を乾燥させたもの1.0g、第2法 比較液鉛標準液2.0mL)  
(3) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として 2.0 $\mu$ g/g以下(粉末試料1.0g又は液状試料を乾燥させたもの1.0g、第3法、装置B)

**水 分** 液体製品：60%以下 (1.0g、105℃、5時間)

**乾燥減量** 粉末製品：8.0%以下 (0.1g、直接滴定)

**強熱残分** 5.0%以下(粉末試料 2.0g又は液状試料を乾燥させたもの2.0g)

**残留溶剤** 50 $\mu$ g/g以下(イソプロピルアルコール)

試料10gをナス型フラスコに精秤して取り、液体クロマトグラフィー用ヘキサン11mLを加えて蒸留管を取りつける。試料を入れたナス型フラスコを150℃の油浴中にて加熱し、蒸留されてくる留分を氷水浴中に冷却したフラスコ中に捕集し、室温に戻した後、ヘキサンを加えて正確に10mLとし試験液とする。対象とするイソプロピルアルコール10～20mgを精秤し、ヘキサンを加えて正確に100mLとしたものを標準原液とし、適宜ヘキサンで希釈して標準液とする。

標準液をガスクロマトグラフィーにかけ、アルコール量に応じて得られるピーク面積から検量線



を作成する。

[測定条件]

カラム：PEG600、φ2mm×2m、ガラスパックドカラム

温度設定：インジェクター温度 150℃

カラム温度：135℃

移動相：He、40mL/分

検出器：FID

試験液を上記ガスクロマトグラフィー条件にて分析し、得られたイソプロピルアルコール分相当ピーク面積を検量線と照らし合わせてアルコール濃度を求め、次式によってイソプロピルアルコール含量を算定する。

$$\text{イソプロピルアルコール含量}(\mu\text{g/g}) = \frac{\text{試料溶液中の有機溶媒量}(\mu\text{g/mL}) \times 10}{\text{試料秤取量}(\text{g})}$$

**定量法** 液状試料、粉末試料共に約 200mg を正確に量り取り、水5mLに溶かし合成吸着樹脂20mLを内径15mmのガラス管に充填したカラムに通液する。水100mL、水・メタノール3：2) 混液100mLの順に洗浄を行い、水・メタノール（1：19）混液100mLで溶出する。溶媒を留去後、乾固物をエタノールに溶かし正確に20mLとする。本液10mLを正確にとり、2mol/L塩酸10mLを加え、沸騰水浴中で3時間加熱分解を行う。冷後、ジエチルエーテル80mLで2回抽出し、エーテル層をあわせて水20mLで洗浄した後、無水硫酸ナトリウム約20gを加えて脱水後、エーテルを留去する。乾固物を酢酸エチルに溶かし正確に50mLとする。本液10mLをとり、酢酸エチルを加えて正確に50mLとし、試料溶液とする。

別に、サルササポゲニン約5mgを正確に量り取り、エタノールに溶かし正確に20mLとする。本液10mLを正確にとり、酢酸エチルを加えて正確に250mLとし、基準溶液とする。

空試験として酢酸エチル、試料溶液及び基準溶液 2mLづつをとり、0.5%アニスアルデヒド酢酸エチル試液及び濃硫酸・酢酸エチル(1：1)混液 1mLづつを加え、60℃の水浴中で10分間緩やかに振り混ぜる。水で冷却後、酢酸エチルを対照とし、430nmにおける吸光度を測定し、得られた吸光値よりサルササポゲニンの量を求め、ユッカサポニンへの換算計数を乗じてユッカサポニン量とする。

$$\text{ユッカサポニン含量}(\%) = \frac{\text{試料溶液の吸光値} - \text{空試験の吸光値}}{\text{基準溶液の吸光値} - \text{空試験の吸光値}} \times \frac{\text{サルササポゲニン秤取量}(\text{mg})}{\text{試料秤取量}(\text{mg})} \times F \times 100$$

F：2.09 (871.47/416.62)

871.47：換算するユッカサポニンの分子量

416.62：サルササポゲニンの分子量

(試薬・試液等)

- ・サルササポゲニン；純度98%以上。シグマ社製のものがある。
- ・アニスアルデヒド硫酸試液；エタノール9mlに、p-アニスアルデヒド0.5ml及び硫酸0.5mlを加えてよく混和する。
- ・合成吸着樹脂；スチレンージビニルベンゼン系のハイポーラスポリマー。三菱化成（株）製のダ

イヤイオンHP-20がある。

0.5%アニスアルデヒド酢酸エチル試液；p-アニスアルデヒド0.5mlと酢酸エチル99.5mlを混合して調製する。

## 酵素分解レシチン Enzymatically decomposed lecithin

**定 義** 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、特有のにおいがある。

### 1. 「酵素分解植物レシチン」

#### 確認試験

##### (1) リ ン

本品1 gを分解フラスコに入れ、これに粉末とした硫酸カリウム5 g、硫酸銅0.5 g及び硫酸20 ml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5 mlにモリブデン酸アンモニウム溶液(1→5)10 ml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1 gを0.5 mol/lのエタノール性水酸化カリウム25 mlで1時間環流後、室温又は、0℃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2 gを精密に量り、トルエン50 mlを加えて溶かし、0.1 mol/l水酸化カリウム液であらかじめ中和したエタノール50 ml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2 gを精密に量り、50 ml目盛付共栓遠心管に入れ、トルエン3 mlを加えて溶かし、アセトン15 ml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0～5℃に冷却したアセトンを加えて50 ml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℃のアセトンを加えて50 ml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、水浴上で溶媒を加熱留去し、残留物を105℃で1時間乾燥し、その重量を精密に量る。

##### (3) 過酸化物質 10以下

本品約5 gを精密に量り、250 ml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)35 ml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1 ml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75 mlを加え、再び栓をして激しく振り混ぜた後、0.01 mol/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質を求め、別に空試験を行ない、補正する。

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

##### (4) 鉛 10 μg/g以下 (第2法)

##### (5) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として4.0 μg/g以下 (0.5 g、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℃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℃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℃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℃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℃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、水浴上で溶媒を加熱留去し、残留物を105℃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 = {0.01mol/lチオ硫酸ナトリウム溶液の消費量(ml) / 試料の採取量(g)} × 10

#### (4) 鉛 10μg/g以下(第2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)

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。