

平成14年度厚生労働省生活安全総合研究事業
「食品用香料及び天然添加物の化学的安全性確保に関する研究」

天然添加物規格設定及び有害試薬使用の排除のための研究

— 食品添加物規格試験法の改善に関する試験検査 —

(有害試薬使用の排除のための研究)

平成15年3月

日本食品添加物協会

平成14年度厚生労働省生活安全総合研究事業
「食品用香料及び天然添加物の化学的安全性確保に関する研究」
天然添加物規格設定及び有害試薬使用の排除のための研究
一 食品添加物規格試験法の改善に関する試験検査一
(有害試薬使用の排除のための研究)

正誤表

ページ	行	誤	正
11	下から2	確認試験(1)および(2)の結果	確認試験(1)の結果
13		ニンジンカロテン確認試験(2)	ページ全体を削除
15		βカロテン確認試験(1)	ページ全体を削除

研究報告書

食品添加物規格試験法の改善に関する試験検査 (有害試薬使用排除のための研究)

研究者 浅野貞男 所属 日本食品添加物協会 役職 常務理事

1. はじめに

平成10年度以降、国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部において、「第7版食品添加物公定書」記載試験法の中で有害試薬を使用している試験項目の調査、及び代替試験法について国内外の食品添加物、医薬品等における試験法を比較し、適用の可能性が考えられる代替試験法の有無について調査が行われてきた。

この調査結果に基づき、昨年度から代替試験法案の市場流通品への適用可否について調査研究するとともに、適用不可能なものにあつては、改めて代替試験法の開発検討を行ってきた。

本年度は、昨年度からの継続を含め、15品目(12試験項目)について本調査研究を行った。

2. 実施方法

これまで、国立医薬品食品衛生研究所において調査研究を行ってきた代替試験法案について、当協会顧問である山田隆先生のご指導を得ながら、技術委員会の委員が中心となって推進した。技術委員会と各部会が連動し、当協会の会員の中から当該食品添加物と関連の深い会員(製造、流通又は使用している会員)を選定し、それぞれの添加物について検討を進めた。

得られた結果を各部会毎にまとめることとした。

3. 調査結果の概要

(1) 検討品目と試験法の概要

本年度調査研究を行なった品目、試験法、検討結果の概要は表-1のとおりである。

表-1 調査検討品目と検討結果の概要

分類	食品添加物名	規格項目と試験法の概要	提示された検討案	検討結果の概要
着色料	β-カロテン	確認試験(1)クロホルム溶液(1→1,000)10ml は、だいたい色を呈し、この液に三塩化アンチモン試液 1mlを加えるとき、緑青色を呈する。 確認試験(2)本品のクロホルム溶液(1→250)及びシクロヘキサン 1,000mlを加えた液は、………極大吸収部がある。	1. クロホルム→トルエンへの変更可否を検討。 2. 三塩化アンチモン試液(調製にクロホルムを用いる)の変更の可否を検討。	1クロホルムに替えて、テラヒドロフランで代替可能性が示唆された。 但し、本品はICHQ3Cガイドラインにおいてクラス2に分類し直されることが勧告されているため、薬添規1998で規格化されている

着色料 (続き)	デュナリエラカロテン	確認試験(1)……クロロホルム 5ml を……だいたい色を呈する。 確認試験(2)…色価1に相当する量の本品を含むクロロホルム溶液を調製し、この液 1ml に三塩化アンチモン試液 3ml を……	上に同じ。	シクロヘキサン、その他有機溶媒との混液での可能性を今後の検討課題とした。 2. 三塩化アンチモン試液の代替については、昨年度報告済みである。
	ニンジンカロテン	確認試験(1)……クロロホルム 5ml を……だいたい色を呈する。 確認試験(2) デュナリエラカロテンを準用		
	パーム油カロテン	確認試験(1)……クロロホルム 5ml を……だいたい色を呈する。 確認試験(2) デュナリエラカロテンを準用		
	カラメル I	純度試験(7) 4-メチルイミダゾール 本品の固形分 10g 相当量を精密に量り、……クロロホルム/エタノール混液(4:1) 100ml を加え、……15分間放置する。…残留物にアセトンを加えて 5ml とする。その 2μl を検液としエーテル/クロロホルム/メタノール混液(4:1:1) を展開溶媒として薄層クロマトグラフィーにより試験を行うとき、……スポットを認めない。	提示された代替案なし。 JECFA 法は、ジクロロメタンで抽出し、GC 法で分析している。	クロロホルムの代替試薬として酢酸エチルを選択するとともに、JECFA カラメル規格の純度試験の抽出溶媒であるジクロロメタンを酢酸エチルに替えてカラムクロマト管抽出を行い、JECFA 法の GC 法に従って試験したところ、代替可能と判断された。
	カラメル III	純度試験(8) 4-メチルイミダゾール カラメル I の純度試験(7) を準用する。		
	カラメル IV	純度試験(9) 4-メチルイミダゾール カラメル I の純度試験(7) を準用する。		
ビタミン	ビタミン A 脂肪酸エステル ビタミン A 油	確認試験(1): 本品 50mg にクロロホルムを加えて溶かし、その 1ml 当たりビタミン A を約 3μg 含むように調製した後、この液 1ml に三塩化アンチモン試液 5ml を加えるとき、液は、青色を呈し、その液は、直ちに退色する。 純度試験(2) クロロホルム不溶物: 本品 0.5g を量り、クロロホルム 3.0ml を加えて溶かすとき、不溶物を認めない	確認試験(1)については、JECFA 法を検討。 純度試験(2)については提示された代替案なし。	確認試験(1)については昨年度報告済みである。 純度試験(2)についてはトルエンでの代替が可能と判断されたが、本規格は現在流通している製品の品質実態に即したものは言えず、削除して差し支えないものと考えている。

ガム ペース	ポリイソ ブチレン	純度試験(5)総不飽和物:本品約 0.5 g を精密に量り、あらかじめ四塩化炭素 100 ml を入れた 500 ml のフラスコに入れ、フラスコを密栓し、一夜放置し、本品を完全に溶解する。この液にトリクロロ酢酸・四塩化炭素溶液(1→5)5 ml を加え、更にヨウ素・四塩化炭素試験液 20 ml 及び酢酸第二水銀・酢酸溶液(3→100)20ml を加える。	四塩化炭素→シクロヘキサンを用いる薬添規1998の方法について検討。	昨年度は、次善の策として、四塩化炭素及び酢酸第二水銀を、クロロホルムとウイス液で代替する方法について報告した。本年度は、このクロロホルムをシクロヘキサンに代替する方法を検討し、代替可能と判断された。
乳化剤	グリセリン 脂肪酸 エステル	純度試験(4)ポリオキシエチレン:本品 1.0gを量り、……1時間煮沸する。次に水浴上又は減圧下でほぼ半固形状態になるまでエタノールを留去し、……チオシアン酸アンモニウム・硝酸コバルト試液 15ml を加えてよく振り混ぜた後、クロロホルム 10mlを加え、再び振り混ぜ、放置するとき、クロロホルム層は、青色を呈さない。	提示された代替案なし。	昨年度も代替可能な溶媒系を見出すことが出来なかった。本年度は、ソルビタン脂肪酸エステルの純度試験(4)ポリオキシエチレン試験法により呈色した青色の吸光スペクトルを測定することによる検出の可能性を検討したが、代替可能な溶媒及び試験法は見出し得なかった。
	プロピレ ングリコ ール脂肪 酸エステ ル	確認試験(2):……、n- ブタノール/メタノール/クロロホルム混液(5:3:2)を展開溶媒として薄層クロマトグラフィーを行うとき……		アセトン/水混液(9:1)で代替可能と判断された。但し、TLC 法は、(脂肪酸除去後の)水溶液を濃縮する前の工程で行う必要がある。
	シヨ糖脂 肪酸エス テル	純度試験(2)ジメチルホルムアミド:……、水 10ml ずつで3回洗い、洗液は、分液漏斗中の液に合わせる。この液にクロロホルム/二硫化炭素混液(20:1)10ml 及びアンモニア試液5ml を加え、2分間激しく振り混ぜる。		昨年度は、DMF をジメチルアミンに加水分解し、GCにて測定する方法を報告したが、この方法は前処理操作が煩雑等の問題があった。本年度は、試料をテトラヒドロフランに溶解し、DMF を直接GCにて測定する方法を検討したところ、良好な結果が得られた。

乳化剤 (続き)	レシチン	純度試験(4)過酸化物質価: 本品約5gを精密に量り、250 ml 共栓三角フラスコに入れ、 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。(以下 略)	n-ヘキサンと2-ブ ロパノールの混液で の代替検討	昨年度検討したが、 代替案が見出せなかつた。 本年度も有力な代替 案が無く、検討出来 なかつた。
	酵素分解 レシチン (第三版 自主規格 収載品)	水分:2.0%以下(1g、直接 滴定)ただし、水分測定用メタ ノールの代わりに、 <u>クロロホル ム/メタノール混液(4:1)</u> を 用いる。 (酵素分解レシチンの水分規 格は4.0%以下)		昨年度、水分試験に 使用されるクロロホル ムの代替検討を行っ たが、良好な代替溶 剤を見出し得なかつた。 本年度は、水分規格 を乾燥減量規格へ変 更するとした場合の 妥当性及び試験法の 検討を行い、変更可 能と判断された。
製造用剤	シリコー ン樹脂	純度試験(1)抽出シリコーン 油の屈折率:本品15gを量り、 ソックスレー抽出器に入れ、 <u>四 塩化炭素</u> 150mlで3時間抽出 し、……………屈折率を測定す る。 純度試験(2)抽出シリコーン 油の動粘度:(1)の検液の 25°Cにおける動粘度を測定す る。 純度試験(4)二酸化ケイ素: (1)で抽出した後の残留物を 約100°Cで1時間乾燥し、その 重量を測る。	医薬品添加物規格 1998の「ジメチル ポリシロキサン・二 酸化ケイ素混合物」 の純度試験(試験 法及び規格値)の 適用可否	現行ソックスレー抽出 法において、四塩化 炭素の代替試薬とし てヘキサンを使用す る方法は不相当であ った。 薬添規の方法(ヘキ サンを使用し、遠心 分離する方法)では、 純度試験(1)及び (2)は適用可能と判 断されたが、純度試 験(4)は適用不可と 判断された。 純度試験(4)につい ては、ヘキサン抽出 残分について窒素ガ ス気流中で熱分解を 行う方法で対応でき ることが示唆された。

(2)調査研究結果の概要

(1)着色料

1-1. β -カロテン、デュナリエラカロテン、ニンジンカロテン、パーム油カロテン

①カロテノイド系着色料の確認試験において、有害試薬であるクロロホルムと三塩化アンチモンの使用がある。三塩化アンチモンの代替については昨年度報告した。

本年度はクロロホルムの代替について検討した結果、クロロホルムに替えてテトラヒドロフランでの代替可能性が示唆された。

②テトラヒドロフランはICHQ3Cガイドラインにおいてクラス2に分類し直されることが勧告されているため、薬添規1998で規格化されているシクロヘキサン、その他有機溶媒との混液での代替可能性を今後の検討課題としたい。

1-2. カラメルⅠ、カラメルⅢ、カラメルⅣ

純度試験の4-メチルイミダゾール試験法では有害試薬であるクロロホルムを使用しており、この代替について検討した。

クロロホルムの代替試薬として酢酸エチルを選択するとともに、JECFAカラメル規格の純度試験4-メチルイミダゾール試験の抽出溶媒であるジクロロメタンを酢酸エチルに替えてカラムクロマト管抽出を行い、JECFA法のGC法に従って試験したところ、代替可能と判断された。

(2)ビタミン (ビタミンA 脂肪酸エステル、ビタミンA 油)

確認試験(1)の試験法では、有害試薬であるクロロホルムと三塩化アンチモンの使用があるが、この代替については昨年度報告済みである。

純度試験(2)のクロロホルム不溶物試験法ではクロロホルムを使用しており、この代替について検討した。クロロホルムに替えてトルエンでの代替が可能と判断されたが、本規格は現在流通している製品の品質実態に即したものとは言えず、削除して差し支えないものとする。

(3)ガムベース (ポリイソブチレン)

純度試験(5)の総不飽和物の試験法では有害試薬である四塩化炭素及び酢酸第二水銀を使用している。ポリイソブチレンはガムベース用の食品添加物の他、工業用の原料としても製造加工される。昨年度は、食品添加物としてのポリイソブチレンにも工業用途のポリイソブチレンにも共通する測定方法を検討し、次善の策として、四塩化炭素及び酢酸第二水銀を、クロロホルムとウイス液で代替する方法について報告した。

本年度は、このクロロホルムをシクロヘキサンに代替する方法を検討した結果、工業用途のポリイソブチレンではクロロホルムの使用は欠かせないが、食品添加物用途のポリイソブチレンでは、クロロホルムをシクロヘキサンに代替することが可能と判断された。

〈4〉乳化剤

4-1. グリセリン脂肪酸エステル

純度試験(4)のポリオキシエチレンの試験法では有害試薬であるクロロホルムを使用している。昨年度もこのクロロホルムに代替可能な溶媒系を見出すことが出来なかった。

本年度は、ソルビタン脂肪酸エステルの純度試験(4)ポリオキシエチレン試験法により呈色した青色の吸光スペクトルを測定することによる検出の可能性を検討したが、代替可能な溶媒及び試験法は見出し得なかった。

4-2. プロピレングリコール脂肪酸エステル

確認試験(2)の試験法では、薄層クロマトグラフィーの展開溶媒にクロロホルムを使用している。クロロホルムを使用しない展開溶媒について検討した結果、アセトン/水混液(9:1)で代替可能と判断された。

但し、プロピレングリコールを確実に検出するためには「(脂肪酸除去後の)水溶液を濃縮する」前の工程で薄層クロマトグラフィーを行う必要がある。

4-3. ショ糖脂肪酸エステル

純度試験(2)のジメチルホルムアミドの試験法では、有害試薬であるクロロホルムを使用している。昨年度は、ジメチルホルムアミドをジメチルアミンに加水分解し、GCにて測定する方法を報告したが、この方法は前処理操作が煩雑等の問題があった。

本年度は、試料をテトラヒドロフランに溶解し、ジメチルホルムアミドを直接GCにて測定する方法を検討したところ、良好な結果が得られた。

但し、検出器として用いる窒素、リンの選択的検出器であるNPD(Nitrogen Phosphorus Detector)は、窒素、リン以外は殆ど感度がなく、選択性があるためガスクロマトグラムのベースラインは平坦でも、キャピラリーカラムは相当汚染されていると考えられる。従って、カラムの頻繁なコンディショニングが必要で、15サンプルに1回程度の割合で一晩のエージング(180°Cで逆方向にキャリアーガスを流す)を実施する必要がある。

4-4. レシチン(酵素分解レシチン(既存添加物)を含む)

純度試験(4)の過酸化物質の試験法で使用されるクロロホルム/酢酸混液(2:1)の代替については、昨年度の検討において、n-ヘキサン/2-プロパノール混液等を検討したが、乳化及び粘度が増加するため測定し難く、測定結果も現行法と比較し、かなりばらつくことが判明し、現行試験法の溶媒の種類のみを単純に変更しても難しいと考えられた。

本年度も有力な代替案が無く、検討出来なかった。

水分規格の試験法についても、昨年度の検討において、n-ヘキサン/2-プロパノール混液を用い、現行法で追試した結果は測定不可能であり、代替は困難と考えられた。

水分に関しては、第4版食品添加物公定書までは、乾燥減量を採用していた経緯があるし、

JECFAでも採用していることから、本年度は、水分規格を乾燥減量規格へ変更するとした場合の妥当性及び試験法の検討を行い、変更可能と判断された。

〈5〉製造用剤 (シリコン樹脂)

純度試験(1)の試験法において、有害試薬である四塩化炭素を使用している。また、純度試験(2)及び(4)の試験において、純度試験(1)の検液を使用している。

これら試験法における四塩化炭素の代替について検討した。

- ①現行ソックスレー抽出法において、四塩化炭素の代替試薬としてヘキサンを使用する方法は不相当であった。
- ②薬添規の方法(ヘキサンを使用し、遠心分離する方法)では、純度試験(1)及び(2)は適用可能と判断されたが、純度試験(4)は適用不可と判断された。
- ③純度試験(4)については、ヘキサン抽出残分について窒素ガス気流中で熱分解を行う方法で対応できることが示唆された。

4. 今後の課題

本年度は、着色料7品目、ビタミン2品目、ガムベース1品目、乳化剤4品目、製造用剤1品目の合計15品目(12試験項目)について、有害試薬・試液の代替調査研究を行った。

今回の調査研究は、昨年度と同様に事前に提案された代替試験法の妥当性を中心に検討したが、結果は前項で概要報告したとおり、代替可能なものばかりではなく、今後さらに検討しなければならない課題も多い。例えば、着色料のカロテン関係では、テトラヒドロフランの代替検討を残しているし、グリセリン脂肪酸エステル(ポリオキシエチレン)、レシチンの純度試験(過酸化物質)等は試験法全体の見直しが必要となる。これらの代替試験法については、今後、更に時間をかけた検討を必要とするが、現時点では、これら代替試験法の開発は極めて難しいと判断している。

また、今回、代替可能と判断した試験法についても、公的な試験法とするには更なる試験データの蓄積が必要と考えられるので、今後ともデータの蓄積に傾注していきたいと考えている。

なお、本作業にあたり、当協会顧問である山田 隆先生には多大なご指導をいただいた。この場をお借りし、心より感謝申し上げる次第である。

以上

— 目 次 —

1-1. 着色料	1
・β-カロテン	・デュナリエラカロテン
・ニンジンカロテン	・パーム油カロテン
— 確認試験(1)、(2)におけるクロロホルムの代替 —	
1-2. 着色料	41
・カラメル I、III、IV	
— 純度試験(4-メチルイミダゾール)におけるクロロホルムの代替 —	
2. ビタミン	64
・ビタミンA脂肪酸エステル	・ビタミンA油
— 純度試験(2)におけるクロロホルムの代替 —	
3. ガムベース	67
・ポリイソブチレン	
— 純度試験(5)におけるクロロホルム(四塩化炭素の代替品)の代替 —	
4. 乳化剤	76
・グリセリン脂肪酸エステル	
— 純度試験(4)におけるクロロホルムの代替 —	
・ショ糖脂肪酸エステル	
— 純度試験(2)におけるクロロホルムの代替 —	
・プロピレングリコール脂肪酸エステル	
— 確認試験(2)におけるクロロホルムの代替 —	
・レシチン、酵素分解レシチン*	
— 水分試験におけるクロロホルムの代替 —	
(水分規格を乾燥減量規格に変更)	
* 第三版 既存添加物 自主規格収載品)	
6. 製造用剤	105
・シリコーン樹脂	
— 純度試験(1)、(2)、(4)における四塩化炭素の代替 —	

以上

平成15年2月

着色料における有害試薬クロロホルム代替検討

日本食品添加物協会 第二部会
研究者：三栄源エフ・エフ・アイ株式会社
ヤマガキ醸酵技研株式会社
株式会社タイショーテクノス
長谷川香料株式会社
ライオン株式会社

1. 目的

食品添加物公定書第7版におけるカロテノイド系着色料の確認試験において、有害試薬「クロロホルム」及び三塩化アンチモンの使用がある。これら有害試薬の代替検討について平成13年度から検討を進めている。

平成13年度は、三塩化アンチモンの代替について報告した。本年度は、クロロホルムの代替について検討したので報告する。

2. 検討対象添加物

β -カロテン、デュナリエラカロテン、ニンジンカロテン、パーム油カロテン、について検討する。ただし、確認法にクロロホルムの使用のないトウガラシ色素、マリーゴールド色素は除く。

3. 検討方法

クロロホルムに代替可能な有機溶媒について検討。

色素溶解可能な有機溶媒について確認試験を実施し、可能性について検討。

4. 検討規格について

β -カロテン

確認試験 (1) 「本品のクロロホルム溶液(1→1000)10ml は、だいたい色を呈し、この液に三塩化アンチモン試液 1ml を加えるとき、緑青色を呈する。」

(2) 「本品のクロロホルム溶液(1→250)0.5ml にシクロヘキサン 1,000ml を加えた液は、波長 454~456nm および 482~484nm に極大吸収部がある。」

平成13年度報告により、確認試験(1)は下記の内容で検討した。

(1) 本品のクロロホルム溶液(1→1000)10ml は、だいたい色を呈し、この液をアセトンで希釈した液(1→25)5ml に5%亜硝酸ナトリウム溶液 1ml, 続けて 0.5mol/l 硫酸 1ml を添加するとき、直ちに脱色する。

デュナリエラカロテン

確認試験 (1) 本品の表示量から、色価 2,500 に換算して 50mg に相当する量を取り、クロロホルム 5ml を加えて溶かした液は、だいたい色を呈する。

(2) 「本品の表示量から、1ml 当たり β -カロテンとして約 40 μ g に相当する量の本品を含むクロロホルム溶液又は色価 1 に相当する量の本品を含むクロロホルム溶液を調製し、この液 1ml に三塩化アンチモン試液 3ml を加えるとき、液は直ちに青色を呈する。」

平成 13 年度報告により、確認試験 (2) は下記の内容で検討した。

- (2) 本品の表示量から、1ml 当たり β -カロテンとして約 1000 μg に相当する量の本品を含むクロロホルム溶液を調製し、この液をアセトンで希釈した液(1→25)5ml に 5%亜硝酸ナトリウム溶液 1ml、続けて 0.5mol/l 硫酸 1ml を添加するとき、直ちに脱色する。

ニンジンカロテン

- 確認試験 (1) 「本品の表示量から、色価 200 に換算して 1g に相当する量を取り、クロロホルム 10ml を加えて溶かした液は、だいたい色を呈する。」
(2) 「デュナリエラカロテン」の確認試験 (2) を準用する。ただし、液は直ちに暗青色を呈する。」

「デュナリエラカロテン」の確認試験 (2) では、「本品の表示量から、1ml 当たり β -カロテンとして約 40 μg に相当する量の本品を含むクロロホルム溶液又は色価 1 に相当する量の本品を含むクロロホルム溶液を調製し、この液 1ml に三塩化アンチモン試液 3ml を加えるとき、液は直ちに青色を呈する。」

平成 13 年度報告により、確認試験 (2) は下記の内容で検討した。

- (2) 本品確認試験 (1) で調製したクロロホルム溶液をアセトンで希釈した溶液(1→25)5ml に 5%亜硝酸ナトリウム溶液 1ml、続けて 0.5mol/l 硫酸 1ml を添加するとき、直ちに脱色する。

パーム油カロテン

- 確認試験 (1) 本品の表示量から、色価 7,500 に換算して 15mg に相当する量を取り、クロロホルム 5ml を加えて溶かした液は、だいたい色を呈する。
(2) 「デュナリエラカロテン」の確認試験 (2) を準用する。
「デュナリエラカロテン」の確認試験 (2) では、「本品の表示量から、1ml 当たり β -カロテンとして約 40 μg に相当する量の本品を含むクロロホルム溶液又は色価 1 に相当する量の本品を含むクロロホルム溶液を調製し、この液 1ml に三塩化アンチモン試液 3ml を加えるとき、液は直ちに青色を呈する。」

平成 13 年度報告により、確認試験 (2) は下記の内容で検討した。

- (2) 本品の表示量から、1ml 当たり β -カロテンとして約 1000 μg に相当する量の本品を含むクロロホルム溶液を調製し、この液をアセトンで希釈した液(1→25)5ml に 5%亜硝酸ナトリウム溶液 1ml、続けて 0.5mol/l 硫酸 1ml を添加するとき、直ちに脱色する。

5. 検討結果

- 1) 予備試験として溶解性の確認については、有害試薬等の考慮無しに可能性のある有機溶媒について検討した (別紙 1)。その結果、候補としてテトラヒドロフランが検討した溶媒中で溶解性に優れていることが判った。
- 2) 検討規格について確認試験を実施。結果について (別紙 2) にて報告。その結果、本試験法でクロロホルム代替案として可能性があることが示唆された。

6. 今後の課題

候補としてテトラヒドロフランを検討したが、平成 12 年 12 月 27 日付け医薬審第 1830 号に

より、ICH Q3C ガイドラインにおいてクラス2に分類し直されることが勧告されているため、引き続き医薬品添加物規格 1998 で規格化されている、シクロヘキサン、その他有機溶媒との混液での可能性を今後の課題とした。

(参考資料1) 医薬審第 1830 号

(参考資料2) 医薬品添加物規格 1998

7. 試薬・試液の設定

テトラヒドロフラン $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2\text{O}$ [K 9705, 特級]

(参考資料3) 第十四改正日本薬局方

8. 改定規格案

β -カロテン

確認試験 (1) 本品のテトラヒドロフラン溶液(1→1000)10ml は、だいたい色を呈し、この液をアセトンで希釈した液(1→25)5ml に5%亜硝酸ナトリウム溶液 1ml, 続けて0.5mol/l 硫酸 1ml を添加するとき、直ちに脱色する。

(2) 本品のテトラヒドロフラン溶液(1→250)0.5ml にシクロヘキサン 1,000ml を加えた液は、波長 454~456nm および 482~484nm に極大吸収部がある。

デュナリエラカロテン

確認試験 (1) 本品の表示量から、色価 2,500 に換算して 50mg に相当する量を取り、テトラヒドロフラン 5ml を加えて溶かした液は、だいたい色を呈する。

(2) 本品の表示量から、1ml 当たり β -カロテンとして約 1000 μg に相当する量の本品を含むテトラヒドロフラン溶液を調製し、この液をアセトンで希釈した液(1→25)5ml に5%亜硝酸ナトリウム溶液 1ml, 続けて0.5mol/l 硫酸 1ml を添加するとき、直ちに脱色する。

ニンジンカロテン

確認試験 (1) 本品の表示量から、色価 200 に換算して 1g に相当する量を取り、テトラヒドロフラン 10ml を加えて溶かした液は、だいたい色を呈する。

(2) 本品確認試験(1)で調製したテトラヒドロフラン溶液をアセトンで希釈した液(1→25)5ml に5%亜硝酸ナトリウム溶液 1ml, 続けて0.5mol/l 硫酸 1ml を添加するとき、直ちに脱色する。

パーム油カロテン

確認試験 (1) 本品の表示量から、色価 7,500 に換算して 15mg に相当する量を取り、テトラヒドロフラン 5ml を加えて溶かした液は、だいたい色を呈する。

(2) 本品の表示量から、1ml 当たり β -カロテンとして約 1000 μg に相当する量の本品を含むテトラヒドロフラン溶液を調製し、この液をアセトンで希釈した液(1→25)5ml に5%亜硝酸ナトリウム溶液 1ml, 続けて0.5mol/l 硫酸 1ml を添加するとき、直ちに脱色する。

【参考資料】

テトラヒドロフラン関係資料 (参考資料4)

以上

別紙－ 1

公定書カロテノイド含量測定でのクロロホルム除去の件

試料

パームカロテン (30%含量)
デュナリエラカロテン (30%含量)
合成βカロテン (油懸濁品 30%含量)

試験溶媒

クロロホルム
ジクロロメタン
キシレン
石油エーテル
1,4-ジオキサン
DMF (NNジメチルホルムアミド)
アセチルアセトン
エチルセロソルブ (エチレングリコールモノエチルエーテルアセテート)
アセトン
メタノール
トルエン
シクロヘキサン
テトラヒドロフラン
DMSO (ジメチルスルホキシド)
ジエチルエーテル
2,2,4-トリメチルペンタン
酢酸エチル
エタノール

溶解濃度

133mg / 10ml (カロテン濃度 40mg / 10ml)

		評 価		
		パームカロテン	デュナリエラカロテン	合成βカロテン
溶媒	クロロホルム	○	○	○
	ジクロロメタン	○	○	○
	キシレン	○	○	△ → ○
	石油エーテル	○	△ → ×	△ → ×
	1,4-ジオキサン	○	△	△
	DMF (NNジメチルホルムアミド)	△ → ×	△ → ×	×
	アセチルアセトン	○ → △	△ → ×	△ → ×
	エチルセロソルブ	○ → ×	△	△ → ×
	アセトン	△ → ×	△ → ×	△ → ×
	メタノール	×	×	×
	トルエン	○	○	○
	シクロヘキサン	○	△	△
	テトラヒドロフラン	○	○	○
	DMSO	×	×	×
	ジエチルエーテル	○	△ → ×	△ → ×
	2,2,4-トリメチルペンタン	○		△ → ×
	酢酸エチル	○	△ → ×	△ → ×
エタノール	×	△ → ×	×	

133mg / 10ml

○ 溶解
 △ 懸濁
 × 不溶(沈殿)
 △ → × 懸濁のち分離

	評 価			備 考	
	①	②	③		
	パームカロン	トコナリエカロン	カセロカロン		
A	クロホルム	○	○	○	いずれも透明に溶解
B	ジクロロメタン	○	○	○	いずれも透明に溶解
C	キシレン	○	○	△ → ○	③懸濁、1晩後溶解
D	石油エーテル	○	△ → ×	△ → ×	②、③懸濁後沈殿する
E	1,4-ジオキサン	○	△	△	①溶解。②、③懸濁
F	DMF (NNジメチルホルムアミド)	△ → ×	△ → ×	×	①、②懸濁後沈殿、③不溶物生じる
G	アセチルアセトン	○ → △	△ → ×	△ → ×	①溶解後不溶物生じる。②、③懸濁後沈殿する
H	エチルセロソルブ	○ → ×	△	△ → ×	①溶解後沈殿物生じる。②懸濁。③懸濁後沈殿する
I	アセトン	△ → ×	△ → ×	△ → ×	①、②溶解後沈殿物生じる。①は50ml以上のアセトンで溶解 ③沈殿物多し
J	メタノール	×	×	×	いずれも不溶。①、②わずかに溶解、③全く不溶
K	トルエン	○	○	○	いずれも透明に溶解
L	シクロヘキサン	○	△	△	①溶解。②、③懸濁
M	テトラヒドロフラン	○	○	○	いずれも透明に溶解
N	DMSO	×	×	×	いずれも不溶。(カロテンが上に浮く)
O	ジエチルエーテル	○	△ → ×	△ → ×	②、③懸濁後沈殿する
P	2,2,4-トリメチルペンタン	○		△ → ×	②、③懸濁後沈殿する
Q	酢酸エチル	○	△ → ×	△ → ×	②、③懸濁後沈殿する
R	エタノール	×	△ → ×	×	いずれも不溶。①わずかに溶解。②懸濁後沈殿 ③全く不溶

○ 溶解
△ 懸濁
× 分離(沈殿)
△ → × 懸濁のち分離

133mg / 10ml

2002年11月11日

三栄源I7・I7・AI株式会社

公定書加ナイト含量測定での加味除去の件

目的)

食品添加物公定書第7版での加ナイト群の分析に加味を使用しているが、この加味を除去し、代替可能な溶媒があるか、トマト色素およびβ-カロチンについて検討を行った。

試料)

トマト色素
β-カロチン

溶媒)

ジクロロメタン	トルエン
キシレン	シクロヘキサン
石油エーテル	テトラヒドロフラン
1,4-ジオキサン	DMSO
DMF	ジエチルエーテル
アセチルアセトン	2,2,4-トリメチルペンタン
エチルセロソルブ	酢酸エチル
アセトン	エタノール
メタノール	

方法)

1. トマト色素

自主規格の「トマト色素」項での色価測定法に基づき、トマト色素0.05gに対して、溶媒1mlを添加した時のトマト色素溶解状態を評価基準に従い評価した。

2. β-カロチン

食品添加物公定書第7版の「β-カロチン」項での純度試験(5)に基づき、β-カロチン40mgに対して溶媒10mlを添加した時の、β-カロチン溶解状態を評価基準に従い評価した。また、評価基準が「少し溶解可能」である溶媒については「溶解可能」になるよう溶媒添加量を上げ、その添加量を求めた。

評価基準 ○；溶解可能
 △；少し溶解可能
 ×；溶解不可能

結果)

下記の表に、トマト色素及びβ-カロチンに対する検討結果を示した。

溶媒	トマト色素	β-カロチン	
		評価	溶解可能溶媒添加量
クロロホルム	○	○	10ml
ジクロロメタン	○	○	10ml
トルエン	○	△～×	—
キシレン	○	△	18ml
シクロヘキサン	△	△	65ml
石油エーテル	△	△～×	—
テトラヒドロフラン	○	○	10ml
1,4-ジオキサン	○	△	70ml
DMSO	×	×	—
DMF	○	×	—
ジエチルエーテル	△～×	△～×	—
アセチルアセトン	△～○	△	75ml
2,2,4-トリメチルペンタン	△	△～×	—
エチルセロソルブ	△	×	—
酢酸エチル	△	△～×	—
アセトン	△～×	△～×	—
エタノール	×	×	—
メタノール	×	×	—

トマト色素とβ-カロチンの規格分析においてジクロロメタン、テトラヒドロフランは等量で、キシレン、シクロヘキサン、1,4-ジオキサン、アセチルアセトンは溶媒量を増やせば、クロロホルム代替することが可能と思われる。

以上

別紙－ 2