

強熱残分 0.10%以下 (1 g)。

定量法 純度試験(3)で用いた試料溶液(2)につき、吸光度測定法により試験を行い、455nm 付近の吸収極大の波長における吸光度 A を測定する。

$$\beta\text{-カロテン (C}_{40}\text{H}_{56}\text{)}\text{の量 (mg)} = \frac{A}{2450} \times 200000$$

貯法

保存条件 遮光して、空気を不活性ガスで置換して保存する。

容器 密封容器。

投与経路 経口投与。

## 103319 還元麦芽糖水アメ

### Hydrogenated Maltose Starch Syrup

本品はデンプンに水を加えて加熱し、のり化する。これにアミラーゼを加えて加水分解し、精製したものを還元し、更に精製濃縮したものである。

本品は主としてマルチトール、D-ソルビトール及びオリゴ糖アルコールからなる。

本品を乾燥したものは定量するとき、マルチトール (C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>: 344.32) として 75.0~80.0%を含む。

性状 本品は無色透明の液で、においはなく、味は甘い。

確認試験

(1) 本品の水溶液 (1→5) 3 mL に塩化第二鉄試液 1 mL 及び水酸化ナトリウム試液 1.5 mL を加え、これを激しく振り混ぜるとき、液は褐色を呈し、更に水酸化ナトリウム試液を追加しても沈殿を生じない。

(2) 本品の水溶液 (1→1000) 2 mL に冷却しながらアントロンの酢酸エチル溶液 (1→50) 2 mL 及び硫酸 4 mL を加えた後、80℃で15分間加熱するとき、液の色は緑色一濃青色を呈する。

純度試験

(1) 遊離酸 本品5.0g をとり、新たに煮沸し冷却した水50mL に溶かし、フェーリング試液 1 滴及び0.01mol/L 水酸化ナトリウム試液0.5mL を加えて振り混ぜるとき、液の色は30秒間以上持続する赤色を呈する。

(2) 重金属 本品5.0g 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2.5mL を加える (5 ppm 以下)。

(3) ヒ素 本品1.0g をとり、第1法により検液を調製し、装置Bを用いる方法により試験を行う (2 ppm 以下)。

(4) ニッケル 本品の水溶液 (1→10) 5 mL にジメチルグルリオキシム試液 3 滴及びアンモニア試液 3 滴を加えて 5 分間放置するとき、赤色を呈しない。

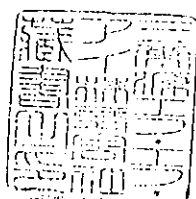
(5) 還元糖 本品1.0g をフラスコにとり、水25mL に溶かし、フェーリング試液 40mL を加え、3 分間穏やかに煮沸した後、放置して重酸化銅を沈殿させる。上澄液をガラスろ過器 (G4) でろ過し、フラスコ内の沈殿は洗液がアルカリ性を示さなくなるまで温湯で洗い、洗液はガラスろ過器でろ過する。次にフラスコ内の沈殿に硫酸第二鉄試液20mL を加えて溶かし、これを先のガラスろ過器でろ過し、水で洗い、洗液はろ液に合わせ、80℃に加熱し、0.02mol/L 過マンガン酸カリウム液で滴定するとき、その消費量は1.7mL 以下である。

## 参考資料 2

# 第十四改正 日本薬局方

THE JAPANESE PHARMACOPOEIA  
FOURTEENTH EDITION

財団法人 日本公定書協会 編集



**JiO** じほう

純度試験 類縁物質 本品 0.10 g をメタノール 10 mL に溶かし、試料溶液とする。この液 1 mL を正確に量り、メタノールを加えて正確に 100 mL 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用シリカゲルを用いて調製した薄層板にスポットする。次に 1-ブタノール/メタノール/酢酸 (100) 混液 (80 : 40 : 1) を展開溶媒として約 10 cm 展開した後、薄層板を風乾する。これに濃硫酸を均等に噴霧し、105  $^{\circ}$ C で 10 分間加熱するとき、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。

鉄 Fe 片状、板状、粒状、線状などに成型したもの。鉄 (Fe) 97.7 % 以上。磁石により吸引される。

鉄試験用アスコルビン酸 L-アスコルビン酸 を見よ。

鉄試験用酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液, pH 4.5 酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液, pH 4.5, 鉄試験用 を見よ。

鉄・フェノール試液 硫酸アンモニウム鉄 (II) 六水和物 1.054 g を水 20 mL に溶かし、硫酸 1 mL 及び過酸化水素 (30) 1 mL を加え、泡立ちが止むまで加熱した後、水を加えて 50 mL とする。この液 3 容量をメスフラスコにとり、冷却しながら硫酸を加えて 100 容量とし、鉄・硫酸溶液を製する。別にフェノールを再留し、初めの 10 % と、終わりの 5 % 容量を除いた留液を湿気を避けて約 2 倍容量の質量既知の乾燥共栓フラスコにとり、栓をして氷冷し、ガラス棒で表面の固まるのを防ぎながら完全に結晶させ、乾燥して質量を量る。このフラスコにフェノールの 1.13 倍質量の鉄・硫酸溶液を加え、密栓し、冷却せずに時々振り動かしてフェノールを溶かした後、激しく振り混ぜ、暗所に 16 ~ 24 時間放置する。この混液にその 23.5 % に相当する薄めた硫酸 (10  $\rightarrow$  21) を加え、よく混和し、乾燥共栓瓶に入れ、湿気を避けて暗所に保存する。この溶液は 6 箇月以内に使用する。

鉄・フェノール試液, 希 鉄・フェノール試液 10 mL に水 4.5 mL を加える。用時製する。

鉄粉 Fe [K 8262 : 1980, 還元鉄, 特級]

テトラエチルアンモニウムヒドロキシド試液  $(C_2H_5)_4NOH$  [K 8650 : 1964, テトラエチルアンモニウムヒドロキシド溶液 (10 %), 特級]

テトラクロロ金 (III) 酸四水和物  $HAuCl_4 \cdot 4H_2O$  [K 8127, 特級]

テトラクロロ金 (III) 酸試液 テトラクロロ金 (III) 酸四水和物 1 g を水 35 mL に溶かす。

テトラクロロ金試液 テトラクロロ金 (III) 酸試液 を見よ。

テトラサイクリン  $C_{22}H_{26}N_2O_6$ 。【医薬品各条, 「テトラサイクリン」】

テトラヒドロキシキノン  $C_6H_4O_4$ 。暗青色の結晶で、光によって黄色に変わる。エタノール (95) にやや溶けやすく、水にやや溶けにくい。

テトラヒドロキシキノン指示薬 テトラヒドロキシキノン 1 g に白糖 100 g を加え、均等に混和する。

テトラヒドロフラン  $CH_2(CH_2)_3CH_2O$  [K 9705, 特級]

テトラヒドロフラン, ガスクロマトグラフ用 テトラヒドロフランに硫酸鉄 (II) 七水和物を加えて蒸留する。

貯法 壺塞を封入し、冷暗所で保存する。

テトラフェニルホウ酸ナトリウム  $(C_6H_5)_4BNa$  [K 9521, テトラフェニルほう酸ナトリウム, 特級]

テトラフェニルポロンカリウム試液 フタル酸水素カリウム溶液 (1  $\rightarrow$  500) 50 mL に酢酸 (31) 1 mL を加える。この液にテトラフェニルホウ酸ナトリウム溶液 (7  $\rightarrow$  1000) 20 mL を加えてよく振り混ぜ、1 時間放置した後、生じた沈殿を洗す。沈殿の  $\frac{1}{3}$  量を取り、水 100 mL を加えて約 50  $^{\circ}$ C で振り混ぜながら 5 分間加温した後、急冷し、常温で時々振り混ぜ、2 時間放置した後、ろ過する。初めのろ液 30 mL を除く。

テトラフェニルポロンナトリウム テトラフェニルホウ酸ナトリウム を見よ。

テトラブチルアンモニウムヒドロキシド試液 テトラブチルアンモニウムヒドロキシド  $[(C_4H_9)_4NOH]$  : 259.48] を 13 g/dL 含む水溶液である。

含量 11.7 ~ 14.3 g/dL。定量法 あらかじめ水 15 mL を入れた共栓フラスコの質量を量り、これにテトラブチルアンモニウムヒドロキシド  $(C_4H_9)_4NOH$  約 0.3 g に対応する量を精密に量り、0.1 mol/L 塩酸で滴定する (指示薬: メチルレッド試液 3 滴)。

0.1 mol/L 塩酸 1 mL = 25.947 mg  $C_{16}H_{37}NO$

テトラブチルアンモニウムヒドロキシド試液, 40% テトラブチルアンモニウムヒドロキシド  $[(C_4H_9)_4NOH]$  : 259.48] を 40 g/dL 含む水溶液である。

含量 36 ~ 44 g/dL。定量法 本品 10 mL を正確に量り、1 mol/L 塩酸で滴定する (指示薬: メチルレッド試液 3 滴)。

1 mol/L 塩酸 1 mL = 259.47 mg  $C_{16}H_{37}NO$

テトラブチルアンモニウムヒドロキシド試液, 0.005 mol/L テトラブチルアンモニウムヒドロキシド試液 10 mL に水 700 mL を加え、薄めたリン酸 (1  $\rightarrow$  10) を加えて pH を 4.0 に調整した後、水を加えて 1000 mL とする。

テトラブチルアンモニウムヒドロキシド・メタノール試液 テトラブチルアンモニウムヒドロキシド  $[(C_4H_9)_4NOH]$  : 259.48] を 25 g/dL 含むメタノール溶液である。無色〜微黄色澄明の液で、アンモニア臭がある。

含量 22.5 ~ 27.5 g/dL。定量法 本品 15 mL を正確に量り、1 mol/L 塩酸で滴定する (指示薬: メチルレッド試液 3 滴)。

1 mol/L 塩酸 1 mL = 259.47 mg  $C_{16}H_{37}NO$

10 % テトラブチルアンモニウムヒドロキシド・メタノール試液 テトラブチルアンモニウムヒドロキシド  $[(C_4H_9)_4NOH]$  : 259.48] を 10 g/dL 含むメタノール溶液である。

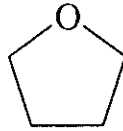
含量 9.0 ~ 11.0 g/dL。定量法 あらかじめ水 20 mL を入れた共栓フラスコに本品 2 mL を正確に量り、0.1 mol/L 塩酸で滴定する (指示薬: メチルレッド試液 3 滴)。

0.1 mol/L 塩酸 1 mL = 25.947 mg  $C_{16}H_{37}NO$

テトラブチルフェノールフタレインエチルエステルカリウム塩 テトラブチルフェノールフタレインエチルエステルカリウムを見よ。

## 参考資料 3

既存化学物質安全性(ハザード)評価シート(要約版)

整理番号	99-11	官報公示 整理番号	5-53	CAS 番号	109-99-9
名 称	テトラヒドロフラン 別名：オキソラン、オキサシクロペンタン、テトラエチレンオキシド、THF		構造式		
分子式	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O		分子量	72.11	
<p>市場で流通している商品(代表例)<sup>1)</sup></p> <p>純 度 : 99%以上</p> <p>不純物 : 不明</p> <p>添加剤又は安定剤：ヒドロキノン、4-tert-ブチル-p-クレゾール、他</p>					
<p>物理・化学的性状データ</p> <p>外 観：無色もしくは白色液体<sup>2, 3)</sup></p> <p>融 点：-108.5°C<sup>4, 5)</sup></p> <p>沸 点：65°C<sup>5)</sup></p> <p>引 火 点：-14.5°C<sup>3)</sup></p> <p>発 火 点：321°C<sup>3, 5)</sup></p> <p>爆 発 限 界：2.3~11.8%<sup>5)</sup></p> <p>比 重：d<sub>4</sub><sup>20</sup>0.8892<sup>4, 5)</sup></p> <p>蒸気密度：2.49(空気 = 1)</p> <p>蒸 気 圧：15 Pa (0.11 mmHg) (10°C)<sup>2)</sup>、19.3 kPa (145 mmHg) (20°C)<sup>3)</sup></p> <p>分配係数：log Pow；0.47(実測値)<sup>6)</sup>、0.46(計算値)<sup>6)</sup></p> <p>加水分解性：加水分解を受けやすい化学結合なし</p> <p>解離定数：解離基なし</p> <p>スペクトル：主要マススペクトルフラグメント m/z 42(基準ピーク, 1.0)、41(0.52)、72(0.29)<sup>7)</sup></p> <p>吸脱着性：文献なし</p> <p>粒度分布：該当せず</p> <p>溶解性：テトラヒドロフラン/水；30%(25°C)<sup>8)</sup> アルコール、エーテル、ベンゼンなどの有機溶媒に混和。</p> <p>換算係数：1 ppm = 3.00 mg/m<sup>3</sup> (気体, 20°C) 1 mg/m<sup>3</sup> = 0.334 ppm</p> <p>そ の 他：安定剤が存在しないと空気中で酸化され、無色爆発性の過酸化物を生じる。</p>					

## 総合評価

### 1) 危険有害性の要約

本物質は、ヒトにおいて皮膚、眼及び粘膜に対して刺激性を示す。実験動物では反復暴露により副腎の肥厚、肝臓の肝細胞の肥大、逸脱酵素活性の上昇、皮膚・粘膜の炎症等の影響が報告されている。変異原性・遺伝毒性については、*in vitro*、*in vivo*とも陽性の結果が報告されている。発がん性については、いずれの機関においても評価されていないが、実験動物ではマウスで肝細胞腺腫/癌の発生率が有意に増加したほか、ラットで腎細胞腺腫/癌の発生率の増加傾向がみられる。生殖・発生毒性については、母動物に毒性のみられる量で胎児毒性は認められているが、催奇形性はみられていない。

本物質は環境中に放出された場合、大気中ではOHラジカルとの反応が関与しており、半減期は1日以内と計算される。水圏では生分解される。環境庁のモニタリングデータでは大気中から検出されている。水圏環境生物に対する急性毒性は弱い。

### 2) 指摘事項

- (1) ヒトの皮膚、眼及び粘膜に対して刺激性を示す。
- (2) ヒトへの急性暴露で肝臓及び中枢神経障害が認められている。
- (3) 実験動物において反復暴露で肝臓、副腎、皮膚、粘膜等への影響が認められている。
- (4) 実験動物においてマウスで肝細胞腺腫/癌の発生率が有意に増加し、ラットで腎細胞腺腫/癌の発生率の増加傾向がみられる。
- (5) 爆発性過酸化物を生じることがあるので、取り扱い等には注意が必要である。

平成11年12月作成

参考資料

- 1) (社)日本化学工業協会調査資料(1999).
- 2) Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals, 3rd. Ed., Van Nostrand Reinhold Co.(1996).
- 3) IPCS, International Chemical Safety Cards (1990).
- 4) The Merck Index, 12th. Ed., Merck & Co., Inc.(1996).
- 5) 有機合成化学協会編, 有機化学物辞典, 講談社(1985).
- 6) 分配係数計算用プログラム“C Log P”, アダムネット(株).
- 7) NIST Library of 54K Compounds.
- 8) Hazardous Substances Data Bank(HSDB), U.S. National Library of Medicine(1998).



医 薬 審 第 1 8 3 0 号  
平成 1 2 年 1 2 月 2 7 日

(別記の団体) 御中

厚生省医薬安全局審査管理課長

医薬品の残留溶媒ガイドラインの改正(案)について

近年、優れた医薬品の研究開発の促進と患者への迅速な提供を図るため、新医薬品の承認審査資料の国際的ハーモナイゼーション推進の必要性が指摘されています。このような要請に応えるため、日米EU医薬品規制調和国際会議(ICHH)が組織され、ハーモナイゼーションの促進を図るための活動が行われています。

今般、この活動の一環として、別添のとおり「医薬品の残留溶媒ガイドラインの改正(案)」がまとまりましたのでお送りいたします。本案につきましては、寄せられた御意見をもとにICHHにおいて検討及び修正を加え最終内容とし、ガイドラインとして公表する予定です。

つきましては、本案について御意見がありましたら、平成13年3月30日(金)までに下記宛て理由を付して御提出いただきますよう御連絡申し上げます。なお、意見につきましては、ガイドライン(案)の内容に関するものと翻訳に関するものを分けて御提出下さい。なお、新省設置に伴い、平成13年1月6日より意見提出先の住所及び電話番号が次のように変更になりますのでご注意ください。

記

[意見提出先]

〒100-8045

東京都千代田区霞ヶ関1-2-2

厚生省医薬安全局審査管理課

TEL 03-3503-1711

FAX 03-3597-9535

担当：佐藤 大作（内線 2 7 4 5）

（平成 1 3 年 1 月 6 日以降）

〒100-8916

東京都千代田区霞ヶ関 1-2-2

厚生労働省医薬局審査管理課

TEL 03-5251-1111 FAX 03-3597-9535

担当：佐藤 大作（内線 2 7 4 5）

## 医薬品の残留溶媒ガイドライン (改正案) テトラヒドロフラン (Tetrahydrofuran) の PDE 値について

ICH Q3C ガイドラインは、1997年12月に合意に達した。Q3Cの作業部会のメンバーは、信頼できかつより適切な毒性試験データが部会に提出された場合には、permissible daily exposure (PDE 値)を改正するという合意している。1999年、いくつかの残留溶媒についてPDE値更新の具体的作業を開始することで三極間の合意が得られ、そのための作業部会が組織された。この合意は、溶媒のPDE値の見直しを行い、それに基づいてガイドラインに含まれているPDE値の変更に関するガイドラインの小幅な改正を行うことを念頭に置いている。また、適切な毒性試験データに基づいて新たな溶媒とそのPDE値を追加することについても合意している。

当作業部会は、昨年後半及び本年前半に、溶媒テトラヒドロフランに関する新しい毒性試験データについて検討した。検討に用いられたデータは、米国国家毒性計画(NTP)によって発表された情報であり、数種の遺伝子障害性試験とげっ歯類への吸入曝露による2つの発がん性試験の結果をまとめたものである。データは、作業部会のメンバーに解析のために送付された。

### 動物を用いた毒性試験

遺伝子障害性試験は、サルモネラ菌(*Salmonella typhimurium*)、CHO細胞(Chinese hamster ovary cells)、ショウジョウバエ(*Drosophila melanogaster*)、マウス骨髄細胞及びマウス末梢血細胞を用いて行われた。*in vitro*試験は、酵素誘導された肝S9による代謝活性化系の存在及び非存在下で行われた。雄マウスの赤血球を用いた試験での偽陽性結果を除けば、実施したすべての試験で遺伝子障害性は認められなかった。

各群雌雄50匹のラットに0, 200, 600, 1800ppmの濃度のテトラヒドロフランで1日6時間、週5日の条件で105週間吸入曝露した。同一条件でマウス雌雄各50匹を用いた実験も行った。この条件下で、雄ラットの腎腫瘍発生頻度の増加(腎細胞腺腫と腎細胞がんの合計)が、また雌マウスの肝腫瘍発生頻度の増加(肝細胞腺腫と肝細胞がんの合計)が認められ、テトラヒドロフランの発がん性が明確に示された。雌ラットと雄マウスに対する発がん性は認められなかった。

最も感受性の高い動物種である雄ラットのテトラヒドロフランの最小曝露量

200ppm を PDE 値の算出に用いた。

単位を ppm から mg/L に変換すると、

$200\text{ppm} \times 72.10 / 24.45 = 589.8 \text{ mg/m}^3 = 0.59 \text{ mg/L}$  (ppm x テトラヒドロフランの分子量 / 標準状態(STP)での 1 g mole の気体体積 (単位:L))

一週間平均曝露濃度 (24hr/day, 7days/week) に換算して、

$$0.59 \times 6 \times 5 / 24 \times 7 = 0.105 \text{ mg/L}$$

一日曝露量は、

$0.105 \times 290 / 0.425 = 71.65 \text{ mg/kg}$  (ラットの一日呼吸量を 290L、成熟ラットの体重を 0.425 kg とする)

$$\text{PDE 値} = 71.65 \times 50 / (5 \times 10 \times 1 \times 10 \times 1) = 7.165 \text{ mg/day} = 7.2 \text{ mg/day}$$

$$\text{濃度限度値 (ppm)} = \frac{1000 \times \text{PDE 値}}{\text{曝露量}} = \frac{1000 \times 7.2}{10\text{g}} = 720 \text{ ppm}$$

結論：

テトラヒドロフランの PDE 値は、これまで 121 mg/day と 50mg/day 以上であり、この溶媒はクラス 3 に分類されていた。今回の慢性毒性／発がん性試験のデータに基づいて算出したテトラヒドロフランの PDE 値は 7.2 mg/day である。従って、テトラヒドロフランを ICH Q3C ガイドライン（医薬品の残留溶媒ガイドライン）中の表 2 すなわちクラス 2 に分類し直すことを勧告する。クラス 2 に属する溶媒は遺伝子障害性を示さない発がん性物質で、テトラヒドロフランはげっ歯類において非遺伝子障害性発がん性物質であることから、テトラヒドロフランをこのクラスに分類することが妥当である。

平成15年1月

## カラメル中の4-メチルイミダゾールの試験方法の検討

日本食品添加物協会第2部会

研究者：日本カラメル工業会

天野実業株式会社

池田糖化工業株式会社

昭和化学工業株式会社

仙波糖化工業株式会社

森田フードシステム株式会社

### 1. 目的

第7版食品添加物公定書収載品目のカラメル純度試験4-メチルイミダゾール（以下4-MEI）試験における有害試薬クロロホルムの代替試薬及び試験方法の検討を目的とする。

### 2. 検討方法

第7版食品添加物公定書収載品目のカラメルⅠ，カラメルⅢ，カラメルⅣ純度試験4-MEI試験（以下公定書法）において、クロロホルムに代替可能な有機溶媒について検討を行い、併せて試験方法の検討を行った。クロロホルムの代替試薬として酢酸エチルを選択し、JECFAカラメル規格の純度試験4-MEI試験（以下JECFA法）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比較検討を行った。公定書法のクロロホルム／エタノール混液を抽出溶媒とした振とう抽出検体による薄層クロマトグラフィー法（TLC法）を従来法、以下に述べる酢酸エチルを抽出溶媒としたカラムクロマト管抽出検体によるガスクロマトグラフィー法（GC法）を新法として、比較検討した。

#### (1) 抽出操作及び試験方法

クロロホルムの代替試薬として酢酸エチルを選択したが、公定書法での酢酸エチル／エタノール混液による振とう抽出では混和してしまい4-MEIの抽出操作が不可能であるため、JECFA法のカラムクロマト管による抽出法を用いた。また、JECFA法では抽出溶媒に有害試薬であるジクロロメタンを使用しているため、最終的な代替試薬として酢酸エチルを選択した。

##### ①従来法

公定書法に従ってクロロホルム／エタノール混液で振とう抽出し、以下公定書法に従って検液を調製した。その検液を公定書法カラメルⅠ，カラメルⅢ，カラメルⅣのTLC法に従って試験した。

##### ②新法

JECFA法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による抽出を行い、以下JECFA法に従って検液を調製した。その検液をJECFA法のGC法に従って試験した。

### ③比較検討

- i) カラメルⅠ, カラメルⅢ, カラメルⅣの各2品目を従来法及び新法で3ロット3回の試験を行い、比較した。
- ii) カラメルⅠについては、TLC法による4-MEIの検出限界とされている $20\mu\text{g/g}$ を検証するため、カラメルに4-MEI $10\mu\text{g/g}$ 相当を添加した検体と4-MEI $20\mu\text{g/g}$ 相当を添加した検体それぞれについて、従来法と新法で3ロット3回の試験を行い、比較した。

### 3. 検討結果

- (1) カラメルⅠ, カラメルⅢ, カラメルⅣの各2品目について、従来法及び新法で3ロット3回試験した結果では、従来法は限度値以下(カラメルⅠ:不検出, カラメルⅢ: $0.30\text{mg/g}$ 以下, カラメルⅣ: $1.0\text{mg/g}$ 以下)という定性的な測定値に対して、新法は定量値として示された。新法は従来法と比べ同等以上の試験結果が得られ、クロロホルムの代替試薬に酢酸エチルを使用した新法は有効であることが判った。
- (2) カラメルⅠについては、カラメルに4-MEI $10\mu\text{g/g}$ 相当を添加した検体では従来法で判定不可、新法で定量値として検出され、4-MEI $20\mu\text{g/g}$ 相当を添加した検体では従来法で検出、新法で定量値として検出された。カラメルⅢ, カラメルⅣについては、従来法で検出できる検体は新法でも同様に検出することが可能である。
- (3) 上記の試験結果を(別紙1)に示す。

今後の課題: ガスクロマトグラフィー法の諸条件の検討が必要となる。

- 参考資料:
1. 4-メチルイミダゾール試験方法の比較
  2. 第7版食品添加物公定書カラメルⅠ~カラメルⅣ
    1. JECFA カラメル規格(2000)
    2. 4-メチルイミダゾール規格(案)

(別紙1)

## 4-メチルイミダゾール TLC, GC 試験結果

平成15年1月  
日本キャラメル工業会

## キャラメルI

現物基準  $\mu\text{g/g}$ 

		ロット1			ロット2			ロット3		
		1-1	1-2	1-3	2-1	2-2	2-3	3-1	3-2	3-3
キャラメルA	従来法	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
	新法	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
キャラメルA +4-MEI(10 $\mu\text{g/g}$ )添加	従来法	判定不可	判定不可	判定不可	判定不可	判定不可	判定不可	判定不可	判定不可	判定不可
	新法	7	7	6	7	6	6	4	4	4
キャラメルA +4-MEI(20 $\mu\text{g/g}$ )添加	従来法	検出	検出	検出	検出	検出	検出	検出	検出	検出
	新法	18	15	14	13	14	14	14	14	14

## キャラメルI

現物基準  $\mu\text{g/g}$ 

		ロット1			ロット2			ロット3		
		1-1	1-2	1-3	2-1	2-2	2-3	3-1	3-2	3-3
キャラメルB	従来法	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
	新法	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
キャラメルB +4-MEI(10 $\mu\text{g/g}$ )添加	従来法	判定不可	判定不可	判定不可	判定不可	判定不可	判定不可	判定不可	判定不可	判定不可
	新法	9	9	9	8	9	9	8	9	9
キャラメルB +4-MEI(20 $\mu\text{g/g}$ )添加	従来法	検出	検出	検出	検出	検出	検出	検出	検出	検出
	新法	15	17	18	17	18	19	17	18	18

## キャラメルIII

固形物換算 $\text{mg/g}$ 

		ロット1			ロット2			ロット3		
		1-1	1-2	1-3	2-1	2-2	2-3	3-1	3-2	3-3
キャラメルC	従来法	0.30以下検出	0.30以下検出	0.30以下検出	0.30以下検出	0.30以下検出	0.30以下検出	0.30以下検出	0.30以下検出	0.30以下検出
	新法	0.039	0.031	0.030	0.104	0.105	0.100	0.036	0.035	0.033

## キャラメルIII

固形物換算 $\text{mg/g}$ 

		ロット1			ロット2			ロット3		
		1-1	1-2	1-3	2-1	2-2	2-3	3-1	3-2	3-3
キャラメルD	従来法	0.30以下検出	0.30以下検出	0.30以下検出	0.30以下検出	0.30以下検出	0.30以下検出	0.30以下検出	0.30以下検出	0.30以下検出
	新法	0.031	0.031	0.030	0.031	0.028	0.030	0.027	0.029	0.028

## キャラメルIV

固形物換算 $\text{mg/g}$ 

		ロット1			ロット2			ロット3		
		1-1	1-2	1-3	2-1	2-2	2-3	3-1	3-2	3-3
キャラメルE	従来法	1.0以下検出	1.0以下検出	1.0以下検出	1.0以下検出	1.0以下検出	1.0以下検出	1.0以下検出	1.0以下検出	1.0以下検出
	新法	0.158	0.162	0.162	0.149	0.147	0.160	0.191	0.196	0.192

## キャラメルIV

固形物換算 $\text{mg/g}$ 

		ロット1			ロット2			ロット3		
		1-1	1-2	1-3	2-1	2-2	2-3	3-1	3-2	3-3
キャラメルF	従来法	1.0以下検出	1.0以下検出	1.0以下検出	1.0以下検出	1.0以下検出	1.0以下検出	1.0以下検出	1.0以下検出	1.0以下検出
	新法	0.323	0.345	0.340	0.314	0.315	0.316	0.326	0.317	0.320

### 4-メチルイミダゾール試験方法の比較

日本カラメル工業会

	食品添加物公定書第7版	J E C F A 法	新法
抽出溶媒	炭酸ナトリウム(1→5) クロホルム/エタノール混液 (4:1)	3.0N水酸化ナトリウム溶液 ジクロロメタン	3.0mol/l水酸化ナトリウム溶液 酢酸エチル
抽出方法	分液漏斗による振とう 抽出	セライト545充填カラムクロマト管 による抽出	セライト545充填カラムクロマト管 による抽出
検液用溶媒	アセトン	テトラヒドロフランまたはアセトン	アセトン
内部標準	無し	2-メチルイミダゾール	2-メチルイミダゾール
試験法	T L C	G C	G C



第7版

# 食品添加物公定書

1999

## ガティガム

Gum Ghatti

(9000-28-6)

**定 義** ガティノキの分泌液から得られた、多糖類を主成分とするものである。

**性 状** 本品は、灰～帯赤灰色の粉末若しくは粒又は淡～暗褐色の塊で、ほとんどにおいが無い。

**確認試験** (1) 本品1gに水5mlを加えるとき、粘りような液体となる。

(2) 本品の水溶液(1→100)5mlに薄めた塩基性酢酸鉛試液(2→100)0.2mlを滴下したとき、沈殿は生じないか又はごくわずかの沈殿を生じるが、これにアンモニア試液0.5mlを加えると、乳白色の沈殿を生じる。

(3) 本品の水溶液(1→50)をクロマトグラフィー用ケイソウ土でろ過した溶液は、左旋性を示す。

**純度試験** (1) 重金属 Pbとして40 $\mu$ g/g以下(0.50g, 第2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1法)

(3) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として4.0 $\mu$ g/g以下(0.50g, 第3法, 装置B)

**乾燥減量** 14.0%以下(105℃, 5時間)

**灰 分** 6.0%以下

**酸不溶性灰分** 1.0%以下

**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。

## カラメル I

Caramel I (plain)

カラメル

**定 義** 本品は、でん粉加水分解物、糖蜜又は糖類の食用炭水化物を、熱処理して得られたもの、又は酸若しくはアルカリを加えて熱処理して得られたもので、亜硫酸化合物及びアンモニウム化合物を使用していないものである。

**性 状** 本品は、暗褐～黒色の粉末、塊、ペースト又は液体で、においが無いか又はわずかに特異なおいがあり、味が無いか又はわずかに特異な味がある。

**確認試験** (1) 本品の水溶液(1→100)は、淡褐～黒褐色を呈する。

(2) あらかじめ測定する吸光度が約0.5になるように本品を量り、0.025mol/l塩酸を加えて正確に100mlとし、必要があれば遠心分離し、その上澄液を用い、A液とする。A液20mlを量り、弱塩基性ジエチルアミノエチル架橋セルロース陰イオン交換体0.20g(0.7meq/g交換容量、セルロース交換容量に比例して使用量を調整する)を加えてよく振り混ぜた後、遠心分離し、上澄液を採り、B液とする。A液及びB液を0.025mol/l塩酸を対照とし、液層の長さ1cmで波長560nmにおける吸光度( $X_A$ )及び( $X_B$ )を測定するとき、 $(X_A - X_B) / X_A$ は0.75以下を示す。

(3) 本品0.20～0.30gを量り、0.025mol/l塩酸を加えて正確に100mlとし、必要があれば遠心分離し、その上澄液を用い、C液とする。C液40mlを量り、強酸性ホスホリル架橋セルロース陽イオン交換体2.0g(0.85meq/g交換容量、セルロース交換容量に比例して使用量を調整する)を加えてよく振り混ぜた後、遠心分離

し、上澄液をとり、D液とする。C液及びD液を0.025mol/l塩酸を対照とし、液層の長さ1cmで波長560nmにおける吸光度( $X_c$ )及び( $X_D$ )を測定するとき、 $(X_c - X_D) / X_c$ は0.50以下を示す。

純度試験 (1) 重金属 Pbとして25 $\mu$ g/g以下(2.0g, 第2法, 比較液 鉛標準液5.0ml)

(2) 鉛 Pbとして2 $\mu$ g/g以下(5.0g, 第1法)

(3) ヒ素  $As_2O_3$ として1.0 $\mu$ g/g以下(2.0g, 第3法, 装置B)

(4) 固形物含量 55%以上

あらかじめ海砂30.0gを量り、ひょう量皿に入れ、その合計重量( $W_s$ )を精密に量る。本品1.5~2.0g( $W_c$ )を精密に量り、少量の水を加えてよくかき混ぜ、水浴上で乾固するまで加熱し、恒量になるまで60°Cで5時間減圧乾燥し、その重量( $W_f$ )を精密に量り、次式により固形物含量を算出する。

$$\text{固形物含量} = \frac{W_f - W_s}{W_c} \times 100 (\%)$$

(5) 総硫黄 0.3%以下(固形物換算)

酸化マグネシウム1~3g又は硝酸マグネシウム6.4~19.2g, 白糖1g及び硝酸50mlを蒸発皿に採り、本品5~10gを加え、水浴上でペースト状になるまで濃縮する。冷えた電気炉(約25°C)に蒸発皿を入れ、徐々に加熱(525°C以下)し、全ての二酸化窒素の発煙が無くなるまで加熱を続ける。蒸発皿を冷却し、塩酸(1→2.5)で溶解し、中和し、更に5mlを加える。ろ過し、沸騰するまで加熱し、10%塩化バリウム溶液5mlを滴下しながら加える。100mlまで濃縮し、一夜放置し、定量分析用ろ紙(5種C)を用いてろ過し、温湯で洗浄し、ろ紙及び残留物をあらかじめ重量を測定したるつばに入れ、恒量になるまで強熱して硫酸バリウムとして重量を精密に量る。次式により総硫黄を求め、更に固形物換算する。別に空試験を行う。

$$\text{総硫黄} = \frac{\text{硫酸バリウムの量 (g)} \times 0.1374}{\text{試料の採取量 (g)}} \times 100 (\%)$$

(6) 総窒素 4.0%以下(固形物換算)(約1.0g, ケルダール法)

(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、炭酸ナトリウム溶液(1→5)10mlを加えて溶かし、更に炭酸ナトリウム溶液(1→5)10mlを用いて250mlの分液漏斗に洗い込み、クロロホルム/エタノール混液(4:1)100mlを加え、2分間強く振り混ぜた後15分間放置する。下層を300mlの三角フラスコに移し、上層はクロロホルム/エタノール混液(4:1)100mlを用いて同様に操作する。下層を合わせ、無水炭酸カリウム10gを加え、時々強く振り混ぜ、10分間放置した後、乾燥ろ紙でろ過し、ろ液を250mlの分液漏斗に入れる。ろ紙上の残留物をクロロホルム/エタノール混液(4:1)10mlで洗い、洗液をろ液に合わせる。この液に0.25mol/l硫酸15mlを加え、約2分間振り混ぜた後、静置し、水層を取る。更に、0.25mol/l硫酸15mlずつを用い、この操作を2回繰り返す。全水層を合わせ、炭酸カリウムを少量ずつ加え、溶液のpHを約9とした後、250mlの分液漏斗に移し、フラスコを水5mlずつで3回洗い、洗液を先の分液漏斗に加え、更にクロロホルム/エタノール混液(4:1)100mlを加え、2分間強く振り混ぜた後、15分間放置し、下層を取る。上層はクロロホルム/エタノール混液(4:1)100mlを用いて同様に操作する。下層を合わせ、40°C以下で蒸発乾固する。残留物にアセトンを加えて溶かし5mlとする。その2 $\mu$ l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、検液と同様に操作して対照液から得たスポットに対応するスポットを認めない。

ただし、薄層板は担体として薄層クロマトグラフィー用シリカゲルを用い、担体と炭酸水素ナトリウム溶液(2→25)の懸濁液(1:2)を、厚さ0.2mmに塗布し、一夜風乾後120°Cで2時間乾燥したものを使用し、展開溶媒の先端が原線より約15cmの高さに上昇したとき、展開をやめ、風乾した後、スルファニル酸試液と亜硝酸ナトリウム溶液(1→200)の混液(1:1)を噴霧し、10分間放置して呈色させ、自然光下で上方から観察する。対照液は4-メチルイミダゾール0.10gを水に溶かして250mlとし、2.0 $\mu$ lを用いる。

## カラメルII

Caramel II(caustic sulfite process)

カラメル

**定 義** 本品は、でん粉加水分解物、糖蜜又は糖類の食用炭水化物に、亜硫酸化合物を加えて、又はこれに酸若しくはアルカリを加えて熱処理して得られたもので、アンモニウム化合物を使用していないものである。

**性 状** 本品は、暗褐～黒色の粉末、塊、ペースト又は液体で、においがなく又はわずかに特異なおいがあり、味がなく又はわずかに特異な味がある。

**確認試験** (1) 本品の水溶液(1→100)は、淡褐～黒褐色を呈する。

(2) カラメルIの確認試験(2)を準用する。ただし、その値は0.50以上である。

(3) 本品0.10gを量り、水を加えて正確に100mlとし、必要があれば遠心分離し、その上澄液を用い、A液とする。A液5mlを量り、水を加えて正確に100mlとし、B液とする。A液を水を対照とし、液層の長さ1cmで波長560nmにおける吸光度( $X_A$ )を、又B液を水を対照とし、液層の長さ1cmで波長280nmにおける吸光度( $X_B$ )をそれぞれ測定するとき、 $X_B \times 20 / X_A$ は50以上を示す。

**純度試験** (1) 重金属 Pbとして $25\mu\text{g/g}$ 以下 (2.0g, 第2法, 比較液 鉛標準液5.0ml)

(2) 鉛 Pbとして $2\mu\text{g/g}$ 以下 (5.0g, 第1法)

(3) ヒ素  $\text{As}_2\text{O}_3$ として $1.0\mu\text{g/g}$ 以下 (2.0g, 第3法, 装置B)

(4) 固形物含量 65%以上

カラメルIの純度試験(4)を準用する。

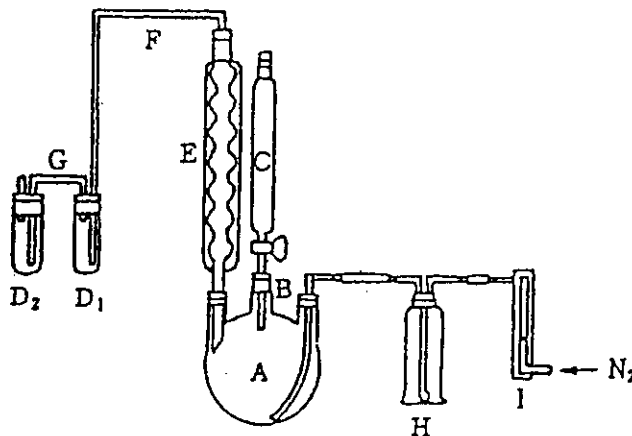
(5) 総硫黄 2.5%以下 (固形物換算)

カラメルIの純度試験(5)を準用する。

(6) 総窒素 0.2%以下 (固形物換算) (約1.0g, ケルダール法)

(7) 二酸化硫黄 0.2%以下 (固形物換算)

(i) 装置 概略は、次の図による。



A: 三つ口フラスコ (1L)

B: 栓 (シリコン製)

C: 分液漏斗 (円筒形, 100ml 容量)

D: 受器 (遠沈管, 50ml 容量)

E: アリーマン氏冷却管 (300mm)

F, G: 接続管

H: ガス洗浄瓶 (250ml 容量)

I: 流量計

(ii) 操作法

三つ口フラスコ(A)に水180ml及びリン酸(1→4)25mlを入れ、受器(D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>)には過酸化水素試液20mlずつを入れる。次に窒素(アルカリ性ピロガロール溶液で酸素を除いたもの)を流量 $200 \pm 10\text{ml/分}$ で通じながら、冷却管(E)から還流してくる水滴が1分間に80～90滴になるようにマントルヒーターの温度を制御しながら三つ口フラスコ(A)を加熱し、約3分間煮沸する。冷却後、本品約10gを精密に量り、三つ口フラスコ(A)中に速やかに入れ、先の窒素を流量 $200 \pm 10\text{ml/分}$ で通じながら三つ口フラスコ(A)を加熱して静かに沸騰させ、60分間加熱を続けた後、冷却管(E)の水を止め、しばらく加熱を続け、接続管(F)の冷却管側に水蒸気の水滴が付き、冷却管(E)の上部が60～70℃に達したとき、受器(D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>)を取り外し、接続