

とし、これを検液とする。検液 2.0 μ l を FTD 検出器付きのガスクロマトグラフで分析を行うとき、ジメチルホルムアミドのピーク面積は、標準液（ジメチルホルムアミド 0.1 μ g/ml テトラヒドロフラン溶液）2.0 μ l のジメチルホルムアミドのピーク面積を超えない。

標準液（ジメチルホルムアミド 0.1 μ g/ml テトラヒドロフラン溶液）

100ml の全量フラスコにジメチルホルムアミド 100mg を量り取り、テトラヒドロフランで正確に 100ml とする（ジメチルホルムアミド 1,000 μ g/ml 溶液）。これの 1ml を 100ml の全量フラスコに取り、テトラヒドロフランで正確に 100ml とする（ジメチルホルムアミド 10 μ g/ml 溶液）。更にこれの 1ml を 100ml の全量フラスコに取り、テトラヒドロフランで正確に 100ml とする（ジメチルホルムアミド 0.1 μ g/ml 溶液）。

試薬

- ・ジメチルホルムアミド
- ・テトラヒドロフラン

操作条件

カラム フューズドシリカキャピラリーカラム 内径：0.32mm 長さ：30m
液相：ポリエチレングリコール 膜厚：0.5 μ m

検出器 窒素リン検出器（NPD：Nitrogen Phosphorus Detector
*別名 FTD：Flame Thermoionic Detector）

カラム温度 40 $^{\circ}$ C（2分）—— 20 $^{\circ}$ C/min————> 160 $^{\circ}$ C（2分）

注入口温度 180 $^{\circ}$ C

検出器温度 325 $^{\circ}$ C

キャリアーガス ヘリウム 150kPa（コンスタントプレッシャー）

試料注入量 1.0 μ l をオートインジェクターでスプリットレス注入、1.0 分後パージ開始
上記条件で測定したときのジメチルホルムアミドの保持時間は約 6.4 分である。

4. 補足：窒素・リン検出器（NPD）使用上の注意事項

検出器に窒素およびリンの選択的検出器である窒素リン検出器（NPD：Nitrogen Phosphorus Detector）を用いることにより、前処理することなく、試料を直接ガスクロマトグラフ分析して 1 mg/kg 濃度の DMF を容易に定量することができた。

但し、検出器は窒素・リン以外は殆ど感度が無く、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。よ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 $^{\circ}$ 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。

以上

「プロピレングリコール脂肪酸エステル」分析試験法の有害溶剤代替検討報告

日本食品添加物協会第十部会

研究者：太陽化学株式会社

理研ビタミン株式会社

1. 目的

第7版食品添加物公定書「プロピレングリコール脂肪酸エステル」の確認試験(2)に使用されるクロロホルムをより安全な溶剤に代替する検討を行う。

2. 試験-1

(1) 供試試料

予備試験として、メタノール/グリセリン混液(9:1)及びメタノール/プロピレングリコール混液(9:1)を使用しグリセリン及びプロピレングリコール単体について展開分離の可能な溶剤系を検索する試験を行った。

(2) 試験方法

第7版食品添加物公定書「プロピレングリコール脂肪酸エステル」確認試験(2)の試験法は、展開溶媒として「n-ブタノール/メタノール/クロロホルム混液(5:3:2)」(表1-A)を使用しているが、これに対し、表1のB~Eについて試験した。Bは現行試験法からクロロホルムのみを削除した混合溶媒、Cはグリセリン脂肪酸エステルの確認試験(1)で使用している混合溶媒、D・EはCのアセトンを変更した混合溶媒である。

(3) 試験結果

試験結果は表1及び薄層クロマトグラフィー写真(写真1~5)に示した。

表1 試験-1 試験結果

	混合溶媒	混合比率	展開分離状態
A	n-ブタノール/メタノール/クロロホルム	5:3:2	良好
B	n-ブタノール/メタノール	5:3	良好
C	アセトン/水	9:1	良好
D	メタノール/水	9:1	やや劣る
E	エタノール/水	9:1	良好

いずれの溶媒系においてもプロピレングリコール及びグリセリン共に良好な展開が得られたが、メタノール/水(9:1)は他の溶媒系に比べ分離度がやや劣ることが認められた。

アセトン／水混液（9：1）で展開したときの、メタノール／プロピレングリコール混液（9：1）及びメタノール／グリセリン混液（9：1）に対するスポットは次のようであった。

①メタノール／プロピレングリコール混液（9：1）

R_f 値=0.7~0.8 黒褐色のスポット

②メタノール／グリセリン混液（9：1）

R_f 値=0.5~0.6 黄褐色のスポット

(4) 考察

プロピレングリコール脂肪酸エステルの確認試験（2）で使用するn-ブタノール／メタノール／クロロホルムの代替溶媒について数種の系に可能性を見出したが、グリセリン脂肪酸エステルの確認試験（1）に使用するアセトン／水混液（9：1）を使用するのが適当と考える。

3. 試験-2

(1) 試験試料

試験-1の結果を実際の製品で確認すべく、プロピレングリコールステアリン酸エステル（リケマールPS-100：理研ビタミン）、プロピレングリコールラウリン酸エステル（リケマールPL-100：理研ビタミン）及びプロピレングリコールパルミチン酸エステル（リケマールPP-100：理研ビタミン）について試験した。リケマールPS-100は油脂とプロピレングリコールとのエステル交換反応によるもので少量のグリセリン脂肪酸エステルを含むものであり、リケマールPL-100及びリケマールPP-100は脂肪酸とプロピレングリコールとのエステル化反応によるものでグリセリン脂肪酸エステルを含まない。

(2) 試験方法

第7版食品添加物公定書「プロピレングリコール脂肪酸エステル」確認試験（2）の試験法に準じ、薄層クロマトグラフィーの展開溶媒をn-ブタノール／メタノール／クロロホルム混液（5：3：2）をアセトン／水（9：1）に替えて試験した。

(3) 結果

①プロピレングリコールのスポットが薄く不鮮明であり、検出できない場合も生じた（写真6）。

②また、第7版食品添加物公定書「プロピレングリコール脂肪酸エステル」確認試験（2）試験法中に記載される「・・・留去して粘性物を得る。この粘性物のメタノール溶液（1→10）を検液とし、・・・」の粘性物が得られなかった。

(4) 考察

第7版食品添加物公定書「プロピレングリコール脂肪酸エステル」確認試験（2）

の試験法は次のように記載され、下線部分の3回の「留去」または「濃縮」の工程がある。

本試験法の検液調製操作は第7版食品添加物公定書「グリセリン脂肪酸エステル」確認試験（1）のそれと同じ方法であるが、3回の留去・濃縮工程によりグリセリンは留去されないが、プロピレングリコールは留去され得るものと想定される。

第7版食品添加物公定書「プロピレングリコール脂肪酸エステル」確認試験（2）

本品約5gにエタノール製水酸化カリウム試液50mlを加え、還流冷却器を付け、水浴中で1時間加熱した後、ほぼ乾固状態になるまでエタノールを留去する。次に塩酸（1→4）50mlを加えてよく振り混ぜ、生じた脂肪酸を石油エーテル／メチルエチルケトン混液（7：1）40mlずつ3回抽出して分離する。この水層をよくかき混ぜ、水酸化ナトリウム溶液（1→25）を滴下してほぼ中性にした後、水浴中で減圧したに濃縮する。これに約40℃のメタノール20mlを加えてよくかき混ぜた後、冷却してろ過し、ろ液のメタノールを水浴中で留去して粘性物を得る。この粘性物のメタノール溶液（1→10）を検液とし、（以下、略）。

4. 試験－3

（1）試験試料

リケマールPS-100について、試験－2の考察を立証すべく試験した。

（2）試験方法

- ①本品約5gにエタノール製水酸化カリウム試液50mlを加え、還流冷却器を付け、水浴中で1時間加熱して得られた液のメタノール溶液（1→4）を検液として薄層クロマトグラフィーを行った。
- ②本品約5gにエタノール製水酸化カリウム試液50mlを加え、還流冷却器を付け、水浴中で1時間加熱した後、ほぼ乾固状態になるまでエタノールを留去する。得られた残留物のメタノール溶液（1→4）を検液として薄層クロマトグラフィーを行った。
- ③本品約5gにエタノール製水酸化カリウム試液50mlを加え、還流冷却器を付け、水浴中で1時間加熱した後、ほぼ乾固状態になるまでエタノールを留去する。次に塩酸（1→4）50mlを加えてよく振り混ぜ、生じた脂肪酸を石油エーテル／メチルエチルケトン混液（7：1）40mlずつ3回抽出して分離する。この水層をよくかき混ぜ、水酸化ナトリウム溶液（1→25）を滴下してほぼ中性にした後、水浴中で減圧下に濃縮する。得られた残留物のメタノール溶液（1→4）を検液として薄層クロマトグラフィーを行った。

（3）試験結果

試験方法①及び②においては対照液プロピレングリコールのスポットと同位置に黄褐色のスポットが得られた（写真7）が、試験方法③においては対照液の

プロピレングリコールのスポットと同位置にスポットは認められなかった。
試験方法③にあつては「水浴中で減圧下に濃縮する」を「常圧下で濃縮」しても同様であつた。

(4) 考察

プロピレングリコール脂肪酸エステルを加水分解して生じたプロピレングリコールは加水分解に使用したエタノール製水酸化カリウム由来の含水エタノールの留去では留去されないが、脂肪酸除去後の水溶液を濃縮する工程で減圧下または常圧下に関係なく留去される。

従つて、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試験を行うべきである。上記試験法①は最も簡略な方法であり、残存する加水分解により生成した脂肪酸カリウム塩はプロピレングリコールの展開に影響を与えない。

5. 結論

以上の結果より下記の提案をする。

確認試験(2) 本品約5gにエタノール製水酸化カリウム試液50mlを加え、還流冷却器を付け、水浴中で1時間加熱する。この液のメタノール溶液(1→5)を検液とし、検液5μlにつき、メタノール/プロピレングリコール混液(9:1)及びメタノール/グリセリン混液(9:1)を対照液とし、アセトン/水混液(9:1)を展開溶媒として薄層クロマトグラフィーを行うとき、対照液のプロピレングリコールと同位置に黄褐色のスポットを認める。また、更にもう1つのスポットを認める場合であっても、対照液のグリセリンと同位置のスポットである。ただし、薄層板には、担体として薄層クロマトグラフィー用シリカゲルを110℃で1時間乾燥したものを使用し、展開溶媒の先端が原線より15cmの高さに上昇したとき展開をやめ、風乾し、110℃で10分間加熱して溶媒を除き、冷後、チモール・硫酸試液を噴霧した後、110℃で20分間加熱して呈色させる。

以上

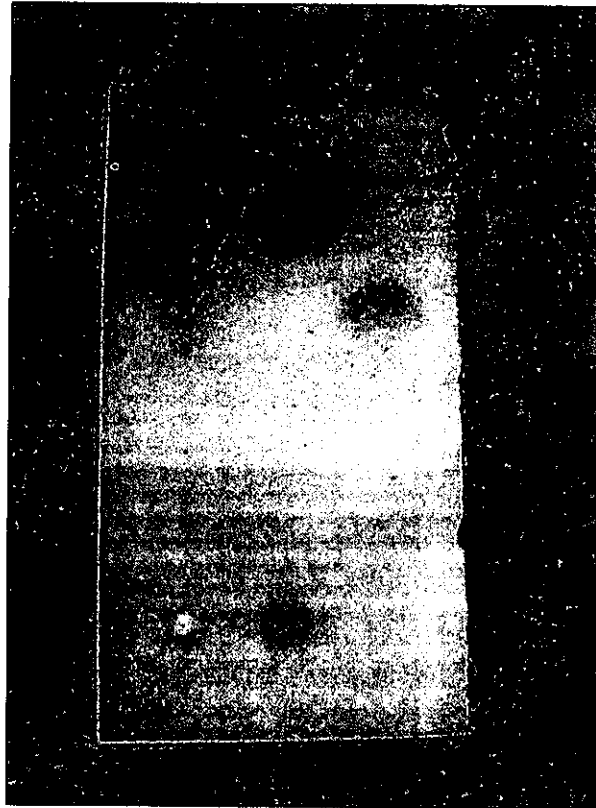


写真7：試験-3② TLC写真

左：リケマールPS-100 中央：プロピレングリコール 右：グリセリン
展開溶媒：アセトン/水混液（9：1）

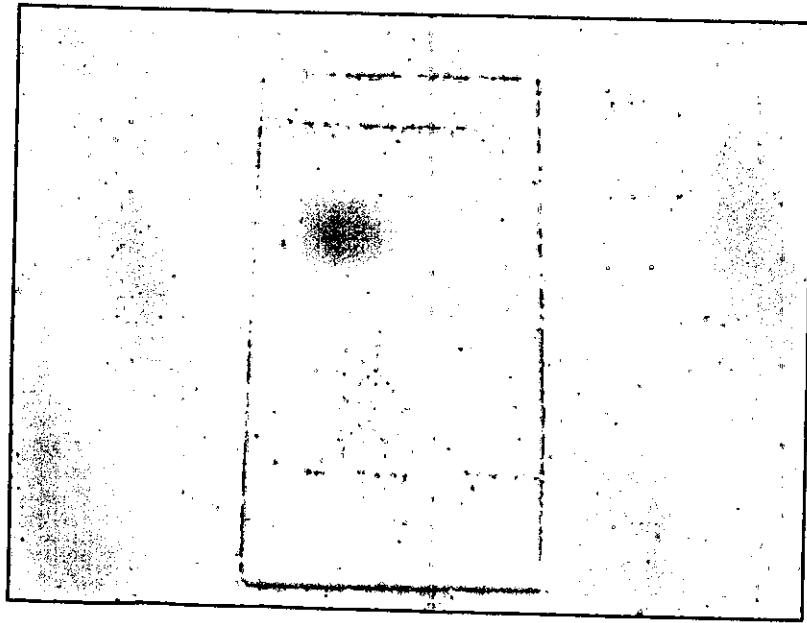


写真1：試験-1 TLC写真

左：プロピレングリコール 右：グリセリン

展開溶媒：n-ブタノール/メタノール/クロロホルム混液（5：3：2）

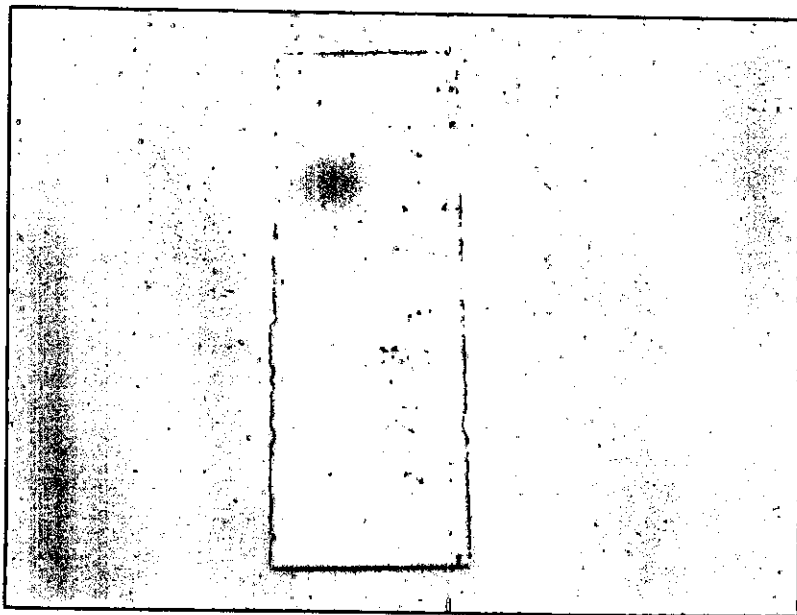


写真2：試験-1 TLC写真

左：プロピレングリコール 右：グリセリン

展開溶媒：n-ブタノール/メタノール混液（5：3）

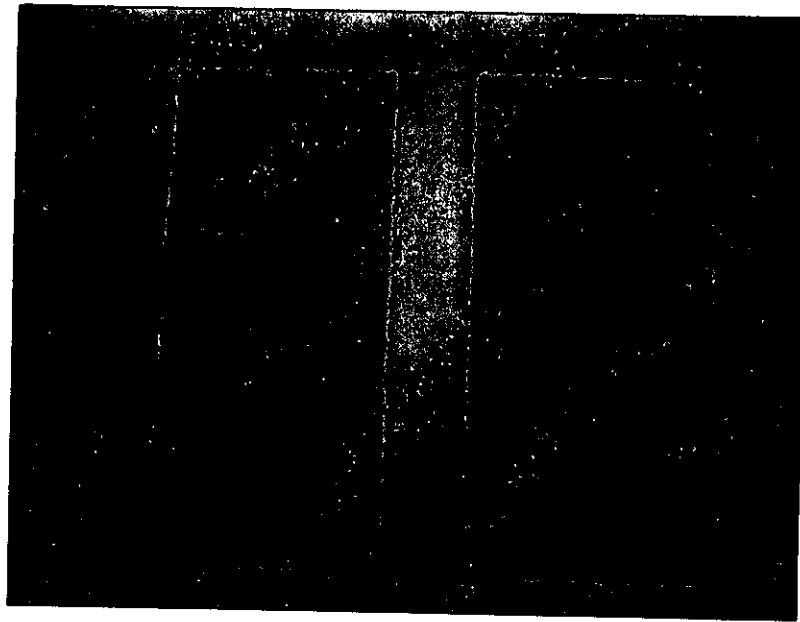


写真3：試験-1 TLC写真
左：プロピレングリコール 右：グリセリン
展開溶媒：アセトン/水混液（9：1）

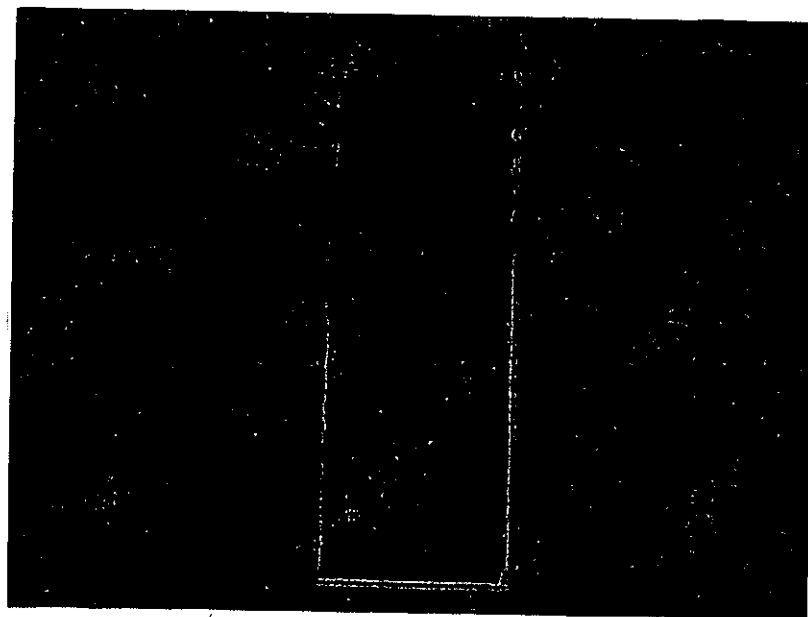


写真4：試験-1 TLC写真
左：プロピレングリコール 右：グリセリン
展開溶媒：メタノール/水混液（9：1）

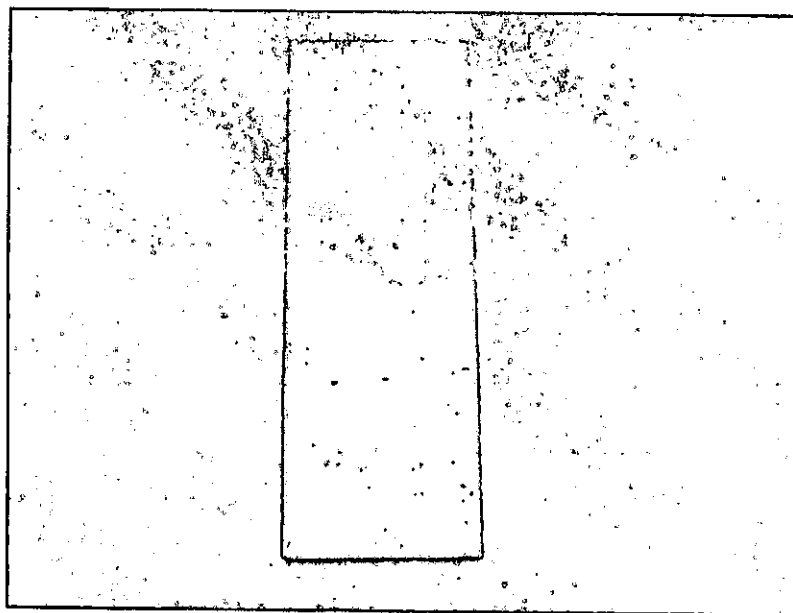


写真5：試験-1 TLC写真

左：プロピレングリコール 右：グリセリン

展開溶媒：エタノール/水混液（9：1）

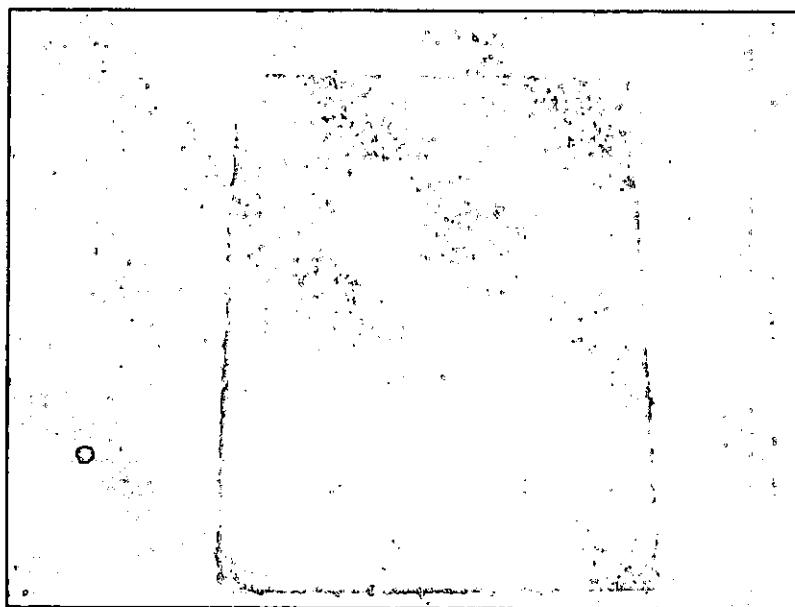


写真6：試験-2 TLC写真

左よりグリセリン、プロピレングリコール、リケマールPL-100、リケマールPP-100、リケマールPS-100（展開溶媒：アセトン/水混液（9：1））

平成 15 年 2 月

「レシチン」分析試験法の有害溶剤代替検討報告

日本食品添加物協会第十部会

研究者：花王株式会社

キュービー株式会社

太陽化学株式会社

ツルーレシチン工業株式会社

日清オイリオ株式会社

株式会社ホーネンコーポーション

1. 目的

第 7 版食品添加物公定書「レシチン」及び第三版既存添加物自主規格「酵素分解レシチン」の水分規格を乾燥減量規格へ変更するための試験方法策定検討を行う。

平成 13 年度において、第 7 版食品添加物公定書「レシチン」の水分試験に使用されるクロロホルムをより安全な溶剤に代替する試験を行ったが代替溶剤を見出すに至らなかった。一方、第 4 版食品添加物公定書「大豆リン脂質」成分規格（註 1）においては水分規格ではなく乾燥減量規格であったこと、また、JECFA「レシチン(LECITHIN)」及び「部分加水分解レシチン(LECITHIN, PARTIALLY HYDROLYZED)」規格では乾燥減量規格であることから、水分規格を乾燥減量規格へ変更する妥当性及び試験方法の検討を行うこととした。第三版既存添加物自主規格「酵素分解レシチン」にあっても「レシチン」と同じ水分規格及び試験溶剤であることから、合わせて検討した。

（註 1）第 4 版食品添加物公定書「大豆リン脂質」成分規格：「乾燥減量」試験法

「本品 3g を海砂（2号）15g および小ガラス棒と共にひょう量ビンにいれてはかり、70～80° でよくかき混ぜた後、さらに 105° で 1 時間乾燥するとき、その減量は 2 % 以下でなければならない。」

2. 試験及び結果

（1）試験－1：卵黄レシチン（塊状）

① 試験

卵黄レシチンについて、第 4 版食品添加物公定書「大豆リン脂質」乾燥減量試験法に準じて試験した。ただし、70～80℃加熱は 30 分間とし、10 分間隔で混合処理を行った。

試験は同一試料について 3 回繰り返した。

対照として第7版食品添加物公定書「レシチン」水分試験法による水分測定試験を行った。

② 結果

試験結果を表1に示した。

表1：試験-1の結果

水分 (%)	乾燥減量 (%)			
	1回目	2回目	3回目	平均
0.91	0.85	0.90	0.94	0.90

③ 考察

- ・ 水分と乾燥減量はほぼ同じ値を示し、規格及び試験法変更は可能と考えられる。
- ・ ただし、卵黄レシチンは塊状であるため海砂処理は必要である。加熱処理の必要性については確認が必要である。

(2) 試験-2：植物レシチン（粉末）及び酵素分解植物レシチン（粉末）

① 試験

粉末高純度植物レシチン（3ロット）及び粉末酵素分解植物レシチン（2ロット）について、第7版食品添加物公定書「レシチン」水分試験法による水分測定及び乾燥減量試験（3g，105℃，1時間。70～80℃処理なし。海砂処理なし）による乾燥減量測定を行った。

② 結果

試験結果を表2に示した。

表2：試験-2の結果

試料	ロット	水分 (%)	乾燥減量 (%)
植物レシチン	A	1.5	1.3
	B (吸湿)	2.8	2.7
酵素分解植物レシチン	C	1.8	1.6
	D	1.7	1.2
	E	1.7	1.4

③ 考察

- ・ 水分と乾燥減量はほぼ同じ値を示し、規格及び試験法の変更は可能と考えられる。
- ・ 本試験によれば、粉末レシチンについては70～80℃加熱前処理及び海砂の使用は不要と考える。

(3) 試験-3：各種レシチン

① 試験

植物レシチン（ペースト、粉末）、分別レシチン（塊状）、酵素分解レシチン（ペ

ースト、粉末) について、第7版食品添加物公定書「レシチン」水分試験法による水分測定、乾燥減量第1法(海砂使用, 3g, 105℃)及び乾燥減量第2法(海砂不使用, 70℃で加温処理-混合処理, 105℃)による乾燥減量測定を行った。ただし、乾燥減量測定は1時間乾燥⇒30分冷却⇒測定⇒1時間乾燥⇒30分冷却⇒測定⇒1時間乾燥⇒30分冷却⇒測定の1時間間隔での変化を試験した。

同一ロットについて日を変えて3回の試験を行った。

② 結果

試験結果を表3に示した。

表3：試験-3の結果

試料	繰返し	水分 (%)	乾燥減量第1法 (%)			乾燥減量第2法 (%)		
			1 h	2 h	3 h	1 h	2 h	3 h
植物レシチン (ペースト)	1	0.14	0.12	0.12	0.12	0.11	0.13	0.13
	2	0.16	0.13	0.12	0.13	0.13	0.12	0.13
	3	0.13	0.15	0.15	0.16	0.14	0.13	0.15
	平均	0.14	0.13	0.13	0.14	0.13	0.13	0.14
植物レシチン (粉末)	1	0.57	0.60	0.57	0.60	0.42	0.50	0.49
	2	0.61	0.60	0.59	0.59	0.50	0.50	0.54
	3	0.59	0.63	0.63	0.60	0.52	0.54	0.57
	平均	0.59	0.61	0.60	0.60	0.48	0.51	0.53
酵分レシチン (ペースト)	1	0.47	0.37	0.42	0.37	0.49	0.47	0.46
	2	0.49	0.57	0.55	0.53	0.46	0.46	0.49
	3	0.48	0.58	0.54	0.57	0.51	0.54	0.57
	平均	0.48	0.51	0.50	0.49	0.49	0.49	0.51
酵分レシチン (粉末)	1	0.94	0.88	0.87	0.90	0.81	0.79	0.83
	2	0.97	0.99	1.00	1.01	1.08	1.04	1.10
	3	0.96	0.98	0.98	0.99	0.91	0.94	1.00
	平均	0.96	0.95	0.95	0.97	0.93	0.92	0.98
分別レシチン (塊状)	1	1.10	0.88	0.93	0.99	0.98	0.91	0.97
	2	1.20	1.01	0.97	0.96	1.16	1.14	1.11
	3	1.17	0.98	0.98	1.08	1.27	1.22	1.28
	平均	1.16	0.96	0.96	1.01	1.14	1.09	1.12

③ 考察

- ・ ペーストレシチン(酵素分解レシチン)の乾燥減量については海砂の使用の有無を問わず乾燥1時間で平衡に達する。従って、海砂は必要としない。
- ・ 粉末レシチン(酵素分解レシチン)では海砂不使用の場合は1時間で平衡に達するが、海砂使用の場合には平衡に達するのに2時間以上を要する。これ

は海砂の混合により試料の厚みが増したためと考えられる。従って、粉末レシチンの場合、海砂は必ずしも必要でないが、海砂を使用する場合は、試料量を減らすか、試料の層厚を調整する必要があると考えられる。

- ・ 分別レシチンにおいては海砂不使用の場合は水分含量が低い値を示した。これは試料が塊状で粒子径が大きいため粒内部が乾燥されなかったためと考えられる。従って、塊状レシチンの場合は、海砂を使用し混合処理する必要がある。
- ・ いずれの場合も条件が整えられれば、乾燥時間は1時間で十分である。

(4) 試験－4：植物レシチン(ペースト)及び酵素分解レシチン(粉末)

① 試験

植物レシチン(ペースト)及び酵素分解植物レシチン(粉末)について、第7版食品添加物公定書「レシチン」水分試験法及び第4版食品添加物公定書「大豆リン脂質」乾燥減量試験法(ただし、70～80℃の加熱処理は省略)に準じて試験した。

② 結果

試験結果を表4に示した。

表4：試験－4の結果

繰返し	植物レシチン		酵素分解植物レシチン	
	水分(%)	乾燥減量(%)	水分(%)	乾燥減量(%)
1	0.175	0.185	1.858	1.403
2	0.180	0.195	1.972	1.441
3	0.193	0.219	1.883	1.554
平均	0.18	0.20	1.90	1.47

③ 考察

- ・ 酵素分解レシチンにおいて乾燥減量がやや低い値を示したが、粉末の酵素分解レシチンは吸湿性が大きいことを考慮すると絶対値的には大きな差ではないと考えられ、両試験法は近似するものと考えられる。

(5) 試験－5：植物レシチン(ペースト)及び酵素分解レシチン(粉末)

① 試験

植物レシチン(ペースト)及び酵素分解植物レシチン(粉末)における乾燥減量試験について、海砂の有無と試料層厚の影響を試験した(表5)。

秤量瓶、シリコーン棒及び海砂を105℃、1時間加熱した後デンケータ中で30分間放冷して風袋重量を測定した。ペーストレシチンについては試料を秤量しオープン中で80℃、5分間加熱し均一になるように混合した後、105℃、1時間の乾燥を行なった。

註2) 第7版食品添加物公定書「一般試験法9. 乾燥減量試験法」においては、「厚

さ5 mm以下の層となるように広げる」とされている。

JECFA「LOSS OF DRYING」では「約5 mm、嵩高い場合は10 mm以下とする」とされている。

表5：試験－5の試験区

試験区	試料量	海砂量	秤量瓶外径	測定試料厚み
A	3 g	15g	6 cm	約5 mm
B	3 g	15g	5 cm	約10mm
C	3 g	0g	5 cm	約5 mm

② 結果

試験結果を表6に示した。

表6：試験－5の結果

試料	試験区	繰返し			
		1	2	3	平均
植物レシチン（ペースト）	A	0.1138	0.1155	0.0964	0.1086
	B	0.0886	0.0843	0.0890	0.0873
	C	0.0494	0.0641	0.0776	0.0637
酵素分解レシチン（粉末）	A	0.7267	0.6839	1.0127	0.8078
	B	0.7210	0.7484	0.8928	0.7874
	C	0.6935	0.6787	0.9303	0.7675

それぞれについて分散分析を行なった。

・ 植物レシチン

$$F_0 \text{ (観測された分散比)} = 14.27 > F(2, 4, 0.05) = 5.14$$

危険率5%で秤量瓶の外径の違いによって試験結果に差が認められた。

・ 酵素分解レシチン

$$F_0 = 0.06 < F(2, 4, 0.05) = 5.14$$

危険率5%で試験結果に差は認められなかった。

③ 考察

- ・ 酵素分解レシチン（粉末）においては海砂は必要としない。
- ・ 植物レシチン（液状）においては、海砂混合で層厚5 cmが最も高い数値を示し、3試験区の中では最も正確度が高いように思われる。

(6) 試験－6：植物レシチン（ペースト）

① 試験

植物レシチン（ペースト）について、第7版食品添加物公定書「レシチン」水分測定法による水分、第4版食品添加物「大豆リン脂質」乾燥減量測定法による乾燥減量及び第4版食品添加物「大豆リン脂質」乾燥減量測定法での海砂不使用での乾燥減量を測定した。各試験区共に5回の繰返し試験を行った。

② 結果

結果を測定の平均値で表 7 に示した。

表 7 : 試験 - 6 の結果

試験法	水分 (%)	乾燥減量 (%)	S D	C V (%)
水分	0.36		0.028	7.9
乾燥減量 (海砂あり)		0.19	0.011	5.7
乾燥減量 (海砂なし)		0.10	0.017	16.8

- ・ 測定値は、水分 > 乾燥減量 (海砂あり) > 乾燥減量 (海砂なし) の順に高い値を示した。

③ 考察

- ・ 海砂使用による乾燥減量がより水分値に近く、バラツキも小さく正確度は高いと考えられる。

(7) 試験 - 7 : 酵素分解レシチン (ホスファチジン酸タイプ)

① 試験

水分の異なる酵素分解レシチン (ホスファチジン酸タイプ) 2 試料 (A 及び B) を調製し、第 7 版食品添加物公定書「レシチン」水分試験法による水分、第 4 版食品添加物公定書「乾燥減量」試験法による乾燥減量及び第 4 版食品添加物公定書「乾燥減量」試験法において海砂を使用しない方法による乾燥減量測定を行った。

② 結果

試験結果を表 8 に示した。

表 8 : 試験 - 7 の結果

繰返し	試料 A			試料 B		
	水分	乾燥減量 海砂あり	乾燥減量 海砂なし	水分	乾燥減量 海砂あり	乾燥減量 海砂なし
1	0.19 %	0.19 %	0.21 %	0.47 %	0.44 %	0.46 %
2	0.19	0.16	0.19	0.47	0.43	0.43
3	0.19	0.19	0.21	0.48	0.44	0.48
平均	0.19	0.18	0.20	0.48	0.44	0.46

③ 考察

乾燥減量両法においては若干のバラツキがあるが、共に水分と近似した値を示し、測定法の変更は可能と考えられる。

3. 総括

- ・ 各社それぞれの立場から試料の性状・物性、海砂の有無等試験条件について乾燥減量について試験を行なった。

- ・ ペースト状及び粉末試料においては、全体的には測定数値の高い順に水分（第 7 版食品添加物公定書「レシチン」水分試験法） \geq 乾燥減量（海砂あり） \geq 乾燥減量（海砂なし）の傾向が認められた。しかし、その測定値の絶対値差は小さく、また、実際に流通している製品水分は食品添加物公定書及び既存添加物自主規格の規格値より十分に低いことから、海砂なし乾燥減量試験法で代替可能と考える。
- ・ 塊状試料においては、粒子内部の水分の蒸発をはかるために細粒化を行うことが必要と考える。
- ・ 乾燥減量測定時の試料層厚は測定値に影響を及ぼすことから、第 7 版食品添加物公定書「一般試験法」乾燥減量に記載される「5 cm 以下」とすることが適当と考える。
 - ・ 乾燥条件は「105℃，1 時間」で可と考える。

4. 乾燥減量規格（案）

以上より、下記の乾燥減量規格を提案したい。

(1) 食品添加物公定書「レシチン」

乾燥減量 2.0%以下 (3.0g, 105℃, 1時間)

試料の厚みが5 mm 以下になるようにひょう量瓶の径を選択する。

試料が塊状あるいは高粘度の場合にあっては海砂 15g を加えて、速やかに 2 mm 以下に粉碎または均質に混合して測定試料とする。

(2) 既存添加物自主規格「酵素分解レシチン」

乾燥減量 4.0%以下 (3.0g, 105℃, 1時間)

試料の厚みが5 mm 以下になるようにひょう量瓶の径を選択する。

試料が塊状あるいは高粘度の場合にあっては海砂 15g を加えて、速やかに 2 mm 以下に粉碎または均質に混合して測定試料とする。

有害試薬・試液の代替試験方法に係る研究報告書
（「シリコーン樹脂」の純度試験で用いる四塩化炭素について）

日本食品添加物協会第十三部会

研究者：富田製薬株式会社

信越化学株式会社

1. 現状及び目的

シリコーン樹脂の純度試験(1)抽出シリコーン油の屈折率は、規格が $n_D^{25} = 1.400 \sim 1.410$ となっており、その試験方法は、「本品 15g を量り、ソックスレー抽出器に入れ、四塩化炭素 150ml で 3 時間抽出し、抽出液を水浴上で蒸発し、検液とし、屈折率を測定する。」となっている。この試験には有害な試薬である四塩化炭素が用いられている。また、純度試験(2)及び(4)においても純度試験(1)の検液を使用し、試験を行っている。

以上より、有害試薬である四塩化炭素を使用しない試験方法を検討した。

2. 検討方法及び試験試料

1) 検討方法

- ① 従来の方法であるソックスレー抽出法で四塩化炭素の代替試薬としてヘキサンを使用して試験を行う。
- ② 医薬品添加物規格（1998 年）の「ジメチルポリシロキサン・二酸化ケイ素混合物」の純度試験の方法を参考に試験を行う。
- ③ 医薬品添加物規格（1998 年）の「ジメチルポリシロキサン・二酸化ケイ素混合物」の純度試験の方法に加え、残留物を窒素ガス気流中で熱分解を行う方法

2) 試験試料

粘度の違う 2 種類の試料を用意し、上記検討方法の①、②及び③の試験方法について、各 3 ロットについて繰り返し試験を行い、有害試薬である四塩化炭素を使用しない試験方法を検討した。

試料 A：ジメチルポリシロキサン（粘度約 100mm²/s） ……約 92 部
二酸化ケイ素（平均粒子径 1.4μm, 表面積 300m²/g） ……約 8 部
試料 B：ジメチルポリシロキサン（粘度約 1,000mm²/s） ……約 92 部
二酸化ケイ素（平均粒子径 1.4μm, 表面積 300m²/g） ……約 8 部

3. 検討結果

1) 従来ソックスレー抽出法において、抽出溶媒を四塩化炭素からヘキサンに変える方法

抽出溶剤にヘキサンを使用し、四塩化炭素と比較して検討を行った。抽出条件は、現行法に準じて行い、ソックスレー用円筒ろ紙には、東洋濾紙株式会社製 No. 5 C（特製品）を用いた。

シリコーン油の屈折率を測定するためには、使用した溶媒にてシリコーン樹脂が効率よく抽出されることが条件である。これを確認すべく、屈折率測定に先立ち、四塩化炭素及びヘキサンでの抽出残分の測定を行い、その結果を表 1 及び表 2 に示した。現在用いられている四塩化炭素を用いた場合、抽出操作後の抽出残分は約 2～4% であり、シリコーン樹脂が効率よく抽出されていたが、ヘキサンを用いる

と 80%以上が残留しており、屈折率を測定するシリコーン樹脂が十分に抽出されないことが明らかとなった。特に、ジメチルポリシロキサン の粘度が高い試料Bでは約 95%の抽出残分があった。

表1 四塩化炭素における抽出残分中のシリコーン樹脂残存量測定結果

製品名	Lot	測定1 (%)	測定2 (%)	測定3 (%)	平均 (%)
試料A	No. 1	2.3	1.8	2.0	2.0
	No. 2	2.0	2.5	2.3	2.3
	No. 3	2.2	2.1	2.5	2.3
試料B	No. 1	4.3	3.5	3.8	3.9
	No. 2	3.7	4.0	3.5	3.7
	No. 3	4.1	3.3	3.8	3.7

表2 ヘキサンにおける抽出残分中のシリコーン樹脂残存量測定結果

製品名	Lot	測定1 (%)	測定2 (%)	測定3 (%)	平均 (%)
試料A	No. 1	83.0	84.0	82.0	83.0
	No. 2	81.5	83.0	81.0	81.8
	No. 3	82.0	81.0	81.5	81.5
試料B	No. 1	95.0	94.0	95.5	94.8
	No. 2	94.0	95.5	93.5	94.3
	No. 3	95.0	94.0	96.0	95.0

以上のようにヘキサンによる抽出の場合、抽出効率が四塩化炭素に比べ極端に悪く、シリコーン樹脂がほとんど抽出できないことが明らかとなり、従来方法であるソックスレー抽出法で四塩化炭素の代替試薬としてヘキサンを使用して試験を行うことは不可能であることが判明した。

2) 医薬品添加物規格(1998年)に準じる遠心分離法

医薬品添加物規格に本品に酷似する物質、「ジメチルポリシロキサン・二酸化ケイ素混合物」が収載されている。この試験方法によると、純度試験(1)は、「本品約 30g をとり、ヘキサン 400ml を加えてよく振り混ぜた後、遠心分離管に分取し、遠心分離する。上澄液を分取し、水浴上でヘキサンを減圧留去して得た粘性の液を検液とし、次の試験を行う。(以下省略)」となっている。本方法は、有害試薬である四塩化炭素を用いず、ヘキサンを用いる試験方法のため、食品添加物「シリコーン樹脂」への適用を検討した。

表3 遠心分離条件

回転数	時間		
	10min	20min	30min
3,000	試料A 白濁	白濁	白濁
	試料B 白濁	白濁	白濁
5,000	試料A 白濁	白濁	白濁
	試料B 白濁	白濁	白濁
7,000	試料A 白濁	白濁	少し白濁
	試料B 白濁	白濁	白濁
10,000	試料A 僅か白濁	透明	透明
	試料B 白濁	僅か白濁	透明

(試料：ヘキサン=20g/100ml)

表4 試料量を変化させた場合の溶解残分の測定結果

比率	製品	
	試料A (%)	試料B (%)
20g/100ml	12.0	17.8
10g/100ml	12.1	17.6
5g/100ml	12.3	17.9
2g/100ml	11.7	18.1

(ヘキサンで2回洗浄, 2回遠心分離した。)

まず、遠心分離の回転数と時間の検討を行った。結果、粘度の高い試料Bは10,000回転/30分間で液が透明になることが確認された(表3)。次に、粘度測定に使用するオイル量を確保するため、試料/溶剤の比率の検討を行った(表4)。2g/100mlでも20g/100mlでも抽出残分は同じであったことから、20g/100mlで検討を行うことにした。

純度試験(1)のシリコーン油の屈折率について、溶媒であるヘキサンを蒸発させ、更に105℃で乾燥した後、測定した結果(表5)、抽出されにくい試料Bにおいても屈折率は規格値に適合することが確認された(試料Aの結果は省略)。純度試験(2)のシリコーン油の動粘度について、試料Aは112~117 mm²/s及び試料Bは1,050~1,070 mm²/sの結果が得られた(表6)。配合オイルの粘度(表7)に比べて、試料Bでは高い傾向を示したが、規格値(100~1,100mm²/s)に適合することが確認された。

表5 ヘキサン抽出分(オイル)の屈折率測定結果

製品名	規格値	原料オイル	抽出オイル
試料B	1.400~1.410 (25℃)	1.4035	1.4035
		1.4035	1.4034

表6 ヘキサン抽出分(オイル)の粘度測定結果

製品名	Lot	測定1	測定2	測定3	3回の平均
試料A	No. 1	115	120	115	117
	No. 2	120	115	115	117
	No. 3	110	115	110	112
試料B	No. 1	1050	1080	1070	1070
	No. 2	1030	1050	1070	1050
	No. 3	1080	1060	1070	1070

(単位: mm²/s, 25°C)

表7 使用オイルの製造時粘度

製品名	Lot	使用オイルLot	粘度
試料A	No. 1	208042	112
	No. 2	209460	114
	No. 3	209462	110
試料B	No. 1	208232	995
	No. 2	209248	1010
	No. 3	210263	1010

(単位: mm²/s, 25°C)

次に、残留物を用い、純度試験(4)の二酸化ケイ素の重量を測定したところ、試料Aが約12%、試料Bが約18%となった(表8)。配合量に対して試料Aは約1.5倍、試料Bは2倍以上の数値が得られ、本試験法は誤差が多いことが分かった。残留物中のシロキサンを測定したところ、多量の未抽出成分が残存していることが確認された。純度試験(4)の二酸化ケイ素量の規格値は15%以下となっていることから、粘度の高いジメチルポリシロキサンを使用した製品の場合、この方法で試験を行うことで、不適合となってしまうこと明らかとなり、抽出残留物からシロキサンを除く方法等について何らかの検討の必要性が示唆された。

表8 遠心分離ヘキサン溶解残分の測定結果

製品名	Lot	測定1 (%)	測定2 (%)	測定3 (%)	平均 (%)
試料A	No. 1	12.2	12.0	11.9	12.0
	No. 2	12.1	12.5	11.8	12.1
	No. 3	12.3	11.9	12.1	12.1
試料B	No. 1	18.8	17.8	18.0	18.2
	No. 2	17.5	18.0	18.3	17.9
	No. 3	17.3	18.3	17.7	17.8

(ヘキサンで2回洗浄, 2回遠心分離した。)

3) 医薬品添加物規格(1998年)の「ジメチルポリシロキサン・二酸化ケイ素混合物」の純度試験の方法に加え、残留物を窒素ガス気流中で熱分解を行う方法

純度試験(4)の二酸化ケイ素量の測定法を、ヘキサン抽出残分に残存するシロキサンを除去する方法について、窒素ガス気流中で熱分解を行う方法で検討を行った。以下に示す条件によって熱分解を行っ