

第六部会（カムベース）既存添加物自主規格検討結果報告書  
（第三版既存添加物自主規格の見直し）  
「パラフィンワックス」および「マイクロクリスタリンワックス」の  
自主規格追加案策定報告

日本食品添加物協会 第六部会  
研究者所属 株式会社 ロッテ

## 1 目的

既存添加物リスト No 336「パラフィンワックス」（以下、パラフィン）と既存添加物リスト No 419「マイクロクリスタリンワックス」（以下、マイクロ）は、原料や製法や成分が極めて近似しており、赤外スペクトル測定では区別が困難である。このため、100℃における動粘度値（平方ミリメートル毎秒、 $\text{mm}^2 \text{S}^{-1}$ ）により区分することを検討した。

また、現行自主規格に定められているパラフィンの純度試験の5項目（融点、重金属、鉛、ヒ素、紫外吸光度）の他、新たに硫酸呈色物とイオウ化合物の2項目の追加を検討した。

上記について試験法等の調査研究を行い、その測定結果をふまえて自主規格追加案を策定、妥当性に関して確認した。

## 2 動粘度測定法によるパラフィンおよびマイクロの識別化の検討

### 1) 装置

食品添加物公定書（第7版）一般試験法の28 粘度測定法・第1法・毛細管粘度計法に明記してあるウベローデ型粘度計を用いた。

### 2) 操作法

操作法は28 粘度測定法における第1法・毛細管粘度計法に明記されている方法と同一とした。ただし測定温度が $100 \pm 0.1^\circ\text{C}$ のため、恒温槽に入れる熱媒体材はポリエチレングリコールまたは流動パラフィンを使用した。

（一般試験法の28 粘度測定法・第1法・毛細管粘度計法により、パラフィンおよびマイクロの動粘度を測定する場合は、操作法に記述されている「恒温水槽」は「恒温槽」に変更する必要がある。）

### 3) 試料および測定結果

試料に用いたパラフィンならびにマイクロの上記操作法による試験検査結果については、4) ロット分析（動粘度測定値）の表中に示した。

総して、 $100 \pm 0.1^\circ\text{C}$ における動粘度はパラフィンが $5 \text{ mm}^2/\text{sec}$ 未満、マイクロが $9 \text{ mm}^2/\text{sec}$ 以上の測定結果になった。

4) ロット分析 (動粘度測定値)

① パラフィンワックス (測定温度 100±0 1℃、 単位 mm<sup>2</sup>/S)

製造会社	製品名	ロット No	測定 1	測定 2	測定 3	測定 4	測定 5	測定 6
日本精蠟	パラフィンワックス140	0041G03	4 070	4 079	4 069	4 080	4 092	4 073
		0023C03	4 045	4 075	4 059	4 051	4 062	4 073
		0608X02	4 102	4 073	4 065	4 092	4 085	4 071
エクソモビル	ESPAX140	WC3C04	4 237	4 234	4 233	4 234	4 233	4 233
		WC3C05	4 219	4 218	4 217	4 217	4 216	4 216
		WC3C06	4 225	4 226	4 224	4 225	4 224	4 224
新日石	135PW	YH3K2	3 937	3 968	3 948	3 982	3 941	3 951
		YH3L1	3 947	3 938	3 932	3 961	3 950	3 958

② マイクロクリスタリンワックス (測定温度 100±0 1℃、 単位 mm<sup>2</sup>/S)

製造会社	製品名	ロット No	測定 1	測定 2	測定 3	測定 4	測定 5	測定 6
日本精蠟	HI-MIC-1080	L800H03	14 73	14 68	14 69	14 60	14 52	14 71
		L800J03	14 55	14 59	14 69	14 64	14 68	14 65
		0760D03	14 73	14 82	14 78	14 80	14 85	14 74
エクソモビル	WAXREX2460	WB3-01	9 537	9 540	9 526	9 537	9 537	9 522
		WJ3-02	9 575	9 575	9 581	9 578	9 581	9 581
新日石	180MW	YH3J1	16 63	16 67	16 60	16 72	16 62	16 62
		YH3K1	16 47	16 46	16 45	16 44	16 45	16 48

5) 考察

既存添加物自主規格におけるパラフィンおよびマイクロの確認試験はいずれも赤外吸収スペクトルのみであり、しかも標準チャートが両者間で殆ど同一で両者の区別が困難である。よって両者の識別を明確するため、現行赤外吸収スペクトルの他、溶融時の動粘度を付け加えることが望ましいことが判明した。

この理由として

- i) 測定が簡単である事
- ii) 定義で「パラフィンワックス」は減圧蒸留して得られる潤滑油分画から作り、「マイクロクリスタリンワックス」は減圧蒸留残渣油から作るようになっており、従って当然後者の沸点が高く、高分子で当然のことながら溶融粘度も高くなる。したかつて定義と整合性がとれている。

なお、提示したデータより、確認試験として動粘度測定法によるパラフィンおよびマイクロの

識別は、「100±0.1℃における動粘度が9.00 mm<sup>2</sup>/sec未満のものかパラフィンワックス、9.00 mm<sup>2</sup>/sec以上かマイクロクリスタリンワックス」とする。

### 3 パラフィンにおける純度試験項目追加（硫酸呈色物、イオウ化合物）の検討

1) パラフィンについては硫酸呈色物、イオウ化合物のいずれも日本薬局方試験法と化粧品原料基準法の純度試験に含まれている。局方と粧原基の純度試験を参考に、以下の試験法によりパラフィンの硫酸呈色物ならびにイオウ化合物について測定、検証した。

#### (1) 硫酸呈色物

試料5gをネスラー管にとり、70℃の水浴上で加温して融解し、これに94.5～95.5%硫酸5mlを加える。これを70℃の水浴上で1分間加温した後、とり出して数秒間振り混ぜる。更に、この操作を3回行った後、70℃の水浴上で30秒間加温するとき、分離する硫酸層の色は、次の比較液の色より濃くない。

比較液 塩化第二鉄比色標準原液3.0mlに塩化第一コバルト比色標準原液1.5ml及び硫酸銅比色標準原液0.5mlを加えて振り混ぜる。

#### (2) イオウ化合物

試料4.0gに無水エタノール2mlを加え、水酸化ナトリウム溶液(1→5)に一酸化鉛を飽和した澄明な液2滴を加え、しばしば振り混ぜながら70℃で10分間加熱した後、放冷するとき、液は、暗色を呈しない。

#### 2) 試料および測定結果

試料に用いたパラフィンの上記分析法による試験検査結果については、3) ロット分析の表中に示した。

#### 3) ロット分析

##### ① 硫酸呈色物

製造会社	製品名	ロット No	測定 1	測定 2	測定 3
日本精蠟	パラフィンワックス115	—	適	適	適
	パラフィンワックス125	—	適	適	適
	パラフィンワックス155	—	適	適	適
イクソモビル	PARVAN 1351	WK3A12	適	適	適
		WK3A13	適	適	適
		WK3A14	適	適	適

## ② イオウ化合物

製造会社	製品名	ロット No	測定 1	測定 2	測定 3
日本精蝨	パラフィンワックス115	—	適	適	適
	パラフィンワックス125	—	適	適	適
	パラフィンワックス155	—	適	適	適
エクソモビル	PARVAN 1351	WK3A12	適	適	適
		WK3A13	適	適	適
		WK3A14	適	適	適

### 4) 考察

試験検査の結果、上記分析法によるパラフィンの硫酸呈色物ならびにイオウ化合物については、良好な結果となった。

よって、新たにパラフィンの純度試験に硫酸呈色物とイオウ化合物の2項目の追加することは、何ら問題かないことが判明した。

## パラフィンワックス

Paraffin Wax

パラフィン

**定義** 本品は、原油を減圧蒸留して得られる潤滑油分画より、冷時プロパンで脱レキし、脱ロウし、脱油したものより得られたもの、又は熱時エチルメチルケトンで処理し、溶剤を除去したものより得られたもので、 $C_{20} \sim C_{40}$ の炭化水素を含む。

**性状** 本品は、室温で無色、又は白色のやや澄明性を帯びた固体で、わずかに特異なにおいがある。

**確認試験** (1) 本品につき、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。

(2) 粘度測定法の第1法により、 $100 \pm 0.1^\circ\text{C}$ における動粘度は  $9 \text{ mm}^2/\text{sec}$  未満となる。ただし、恒温槽に入れる熱媒体材はポリエチレングリコールまたは流動パラフィンを使用する。

**純度試験** (1) 紫外部吸光度 紫外部吸光度を測定するとき、以下の値を超えない。

波長 (nm)	吸光度/cm光学距離
280~289	0.15
290~299	0.12
300~359	0.08
360~400	0.02

(2) 融点  $43 \sim 75^\circ\text{C}$  (融点測定法、第2種物質)

(3) 硫酸呈色物 本品5gをネスラー管にとり、 $70^\circ\text{C}$ の水浴上で加温して融解し、これに94.5~95.5%硫酸5mlを加える。これを $70^\circ\text{C}$ の水浴上で1分間加温した後、とり出して数秒間振り混ぜる。更に、この操作を3回行った後、 $70^\circ\text{C}$ の水浴上で30秒間加温するとき、分離する硫酸層の色は、次の比較液の色より濃くない。

比較液 塩化第二鉄比色標準原液3.0mlに塩化第一コバルト比色標準原液1.5ml及び硫酸銅比色標準原液0.5mlを加えて振り混ぜる。

(4) イオウ化合物 本品4.0gに無水エタノール2mlを加え、水酸化ナトリウム溶液(1→5)に一酸化鉛を飽和した澄明な液2滴を加え、しばしば振り混ぜながら $70^\circ\text{C}$ で10分間加熱した後、放冷するとき、液は、暗色を呈しない。

(5) 重金属 Pbとして $20 \mu\text{g/g}$ 以下(10g, 第2法, 比較液 鉛標準液2.0ml)

(6) 鉛 Pbとして $10 \mu\text{g/g}$ 以下(10g, 第1法)

(7) ヒ素  $\text{As}_2\text{O}_3$ として $2.0 \mu\text{g/g}$ 以下(10g, 第3法, 装置B)

強熱残分 0.10%以下(10g)

## マイクロクリスタリンワックス

Microcrystalline Wax

マイクロクリスタリンワックス

定 義 本品は、原油の減圧蒸留残渣油を、冷時プロパンで脱レキシ、脱ロウし、脱油し、分離して得られたもの、又は熱時フルフラールで処理後、フルフラールを除去したものより得られたものである。成分として C<sub>30</sub>~C<sub>60</sub> の分岐炭化水素を含む。

性 状 本品は、室温で無色、もしくは白色から黄色のやや澄明性を帯びた固体で、わずかに特異なおいかある。

確認試験 (1) 本品につき、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。

(2) 粘度測定法の第1法により、100±0.1℃における動粘度は 9 mm<sup>2</sup>/sec 以上となる。ただし、恒温槽に入れる熱媒体材はポリエチレングリコールまたは流動パラフィンを使用する。

純度試験 (1) 紫外部吸光度 紫外部吸光度を測定するとき、以下の値を超えない。

波長 (nm)	吸光度/cm光学距離
280~289	0.15
290~299	0.12
300~359	0.08
360~400	0.02

(2) 融点 70~95℃ (融点測定法、第2種物質)

(3) 重金属 Pbとして20μg/g以下 (10g, 第2法, 比較液 鉛標準液2.0ml)

(4) 鉛 Pbとして10μg/g以下 (10g, 第1法)

(5) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として20μg/g以下 (10g, 第3法, 装置B)

強熱残分 0.10%以下 (10g)

平成16年2月

第九部会（調味料 苦味料）既存添加物自主規格検討結果報告書  
（第三版既存添加物自主規格の見直し）  
—— ヘタインの確認試験（及び定量法）の見直し——

日本食品添加物協会 第九部会  
研究者所属 味の素株式会社  
日本甜菜製糖株式会社

- 1 目的  
既存添加物について自主規格策定を行ってきたか、「ヘタイン」について定量法の見直しを検討した。
- 2 検討結果及び考察  
確認試験（及び定量法）の液体クロマトグラフ法の操作条件を検討した結果、溶離液の流速を変更することを可能と判断した。

別紙に自主規格（案）及び試験結果を報告する。

以 上

第九部会（調味料）既存添加物「ヘタイン」自主規格第三版の検討結果報告書  
－確認試験（及び定量法）の見直しについて－

## 1 目的

- ・既存添加物「ヘタイン」自主規格における確認試験（及び定量法）の液体クロマトグラフ法の操作条件において、第三版編集時の作業ミスにより掲載内容が不適切である事が判明したので、当該分析カラム（Shodex製 USP pak MN-431）の適切な使用条件を検証した。

## 2 検証

## (1) 操作条件の比較

- ・確認試験（及び定量法）における液体クロマトグラフ法の操作条件について、分析カラムメーカー取扱説明書と自主規格第三版掲載内容を比較した（表1参照）。取扱説明書では流量は0.6ml/min以下、圧力は35kg/cm<sup>2</sup>以下で使用となっているが、自主規格第三版では流量を1ml/minと掲載している。

表1 分析カラムメーカー取扱説明書と自主規格第三版の操作条件の比較

	分析カラムメーカー取扱説明書（別紙参照）	自主規格第三版
検出器		示差屈折計
カラム名称	Shodex USPpak MN-431 (木国薬局方第23版に準拠したマンニトール分析用カラム)	－
サイズ(カラム管)	4.0φ×250mm	内径4mm、長さ25cm
カラム充填剤	ステレンンビニルヘンセン共重合体 (Ca型)	同左
溶離液(移動相)	純水	水
流量	0.6ml/min以下	1ml/min
圧力	35kg/cm <sup>2</sup> 以下	－
温度	30～85℃	70℃
注入量		5μl

## (2) 適正条件の確認

当該分析カラムの適正な使用条件を確認する目的で、流量と圧力の関係を調査した。

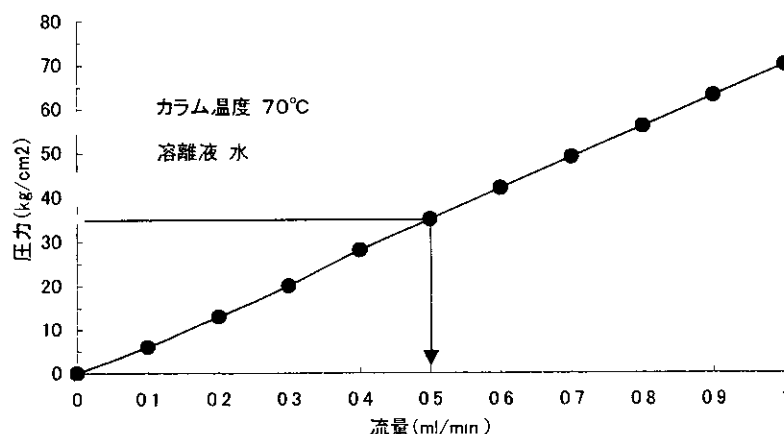


図1 Shodex USPpak MN-431カラムを用いた場合の流量と圧力の関係



- ・カラム温度70℃で取扱説明書の圧力35kg/cm<sup>2</sup>以下にするには、流量を0.5ml/min以下にする必要があった(図1参照)。よって以後、流量0.5及び1.0ml/minにおける比較試験を実施した。

### (3) 定量性の確認

ヘタイン標準品を用いて流量0.5及び1.0ml/minにおける検量線を作成した。

表2 流量0.5及び1.0ml/minにおけるヘタインの検量線

濃度 (W/V%)	流量0.5ml/min の面積		流量1.0ml/min の面積	
0.5	2,304,900	平均値(2反復)	1,113,800	平均値(2反復)
	2,298,600	2,301,750	1,115,500	1,114,650
1.0	4,530,300	平均値(2反復)	2,225,000	平均値(2反復)
	4,558,500	4,544,400	2,212,200	2,218,600

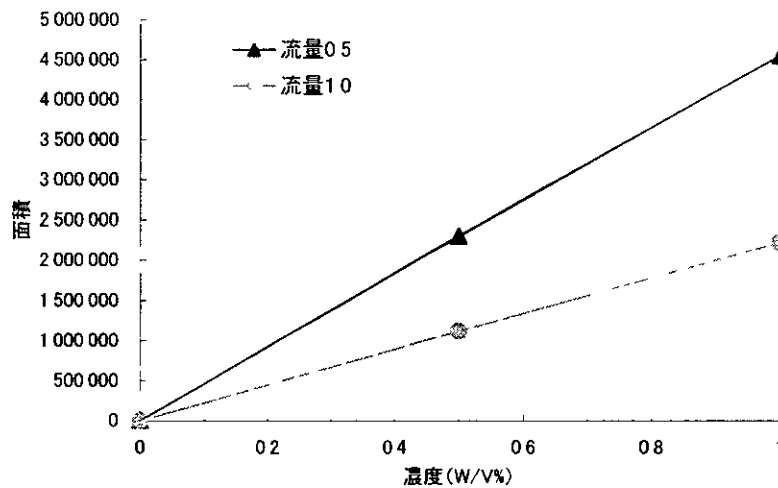


図2 流量0.5及び1.0ml/minにおけるヘタイン標準品の検量線

どちらの流量においても直線性があり、この濃度範囲における定量性は確認された(図2参照)。

### (4) 安定性の確認

流量0.5及び1.0ml/minにおけるヘタイン3ロットの繰り返し測定を行い安定性を確認した。

表3 流量0.5ml/minにおけるヘタイン3ロットの測定結果

ロット番号	濃度 (W/V%)	面積	含有量 (%)	平均値 (%)
050611	1.0	4,529,409	99.4	平均値(6反復)
		4,520,963	99.2	
		4,533,179	99.5	標準偏差
		4,517,422	99.1	
		4,516,299	99.1	
		4,535,638	99.5	
050612	1.0	4,528,780	99.4	平均値(6反復)
		4,510,443	99.0	
		4,512,668	99.0	標準偏差
		4,518,918	99.2	
		4,533,462	99.5	
		4,510,235	99.0	
050613	1.0	4,521,905	99.2	平均値(6反復)
		4,495,852	98.7	
		4,518,132	99.2	標準偏差
		4,499,938	98.8	
		4,515,880	99.1	
		4,529,278	99.4	

表4 流量1 0ml/min におけるヘタイン3ロットの測定結果

ロット番号	濃度 (W/V%)	面積	含有量 (%)	平均値
050611	1 0	2,219,377	99.9	平均値(6反復) 99.6 標準偏差 0.3
		2,211,822	99.6	
		2,209,685	99.5	
		2,218,625	99.9	
		2,203,421	99.2	
		2,213,670	99.7	
050612	1 0	2,213,074	99.7	平均値(6反復) 99.5 標準偏差 0.4
		2,218,116	99.9	
		2,209,051	99.5	
		2,213,050	99.7	
		2,206,337	99.4	
		2,191,927	98.7	
050613	1 0	2,215,375	99.8	平均値(6反復) 99.6 標準偏差 0.3
		2,216,662	99.8	
		2,208,324	99.4	
		2,200,467	99.1	
		2,211,464	99.6	
		2,216,517	99.8	

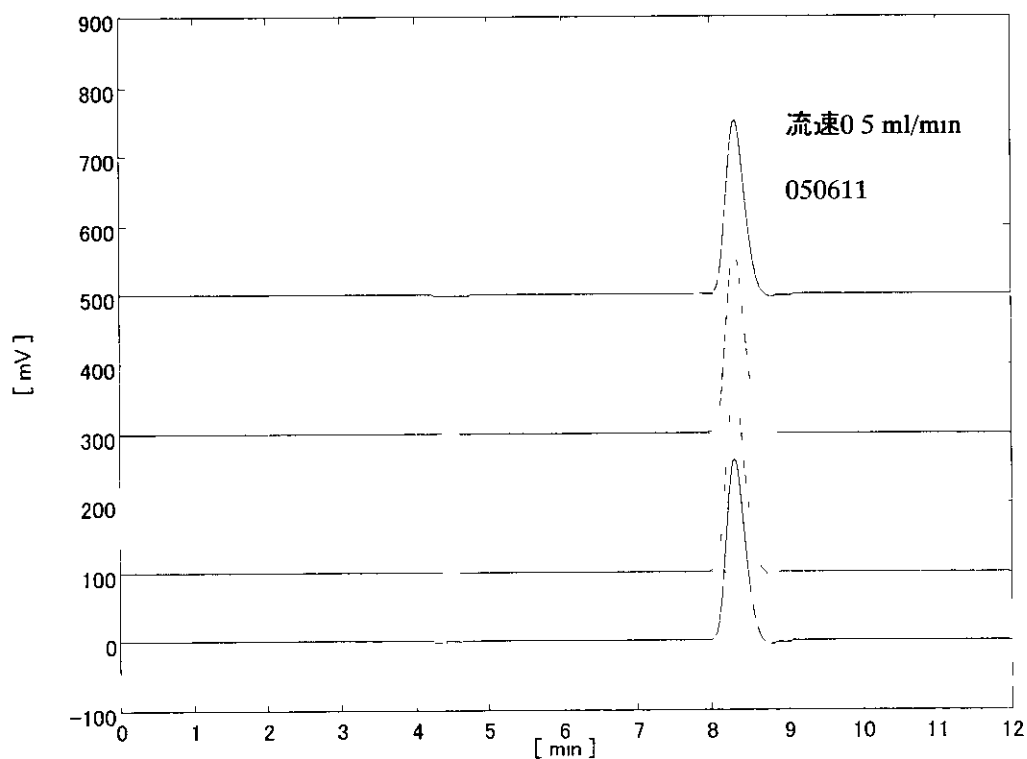


図3 流量0.5ml/min におけるヘタイン (ロット050611) のクロマトグラム

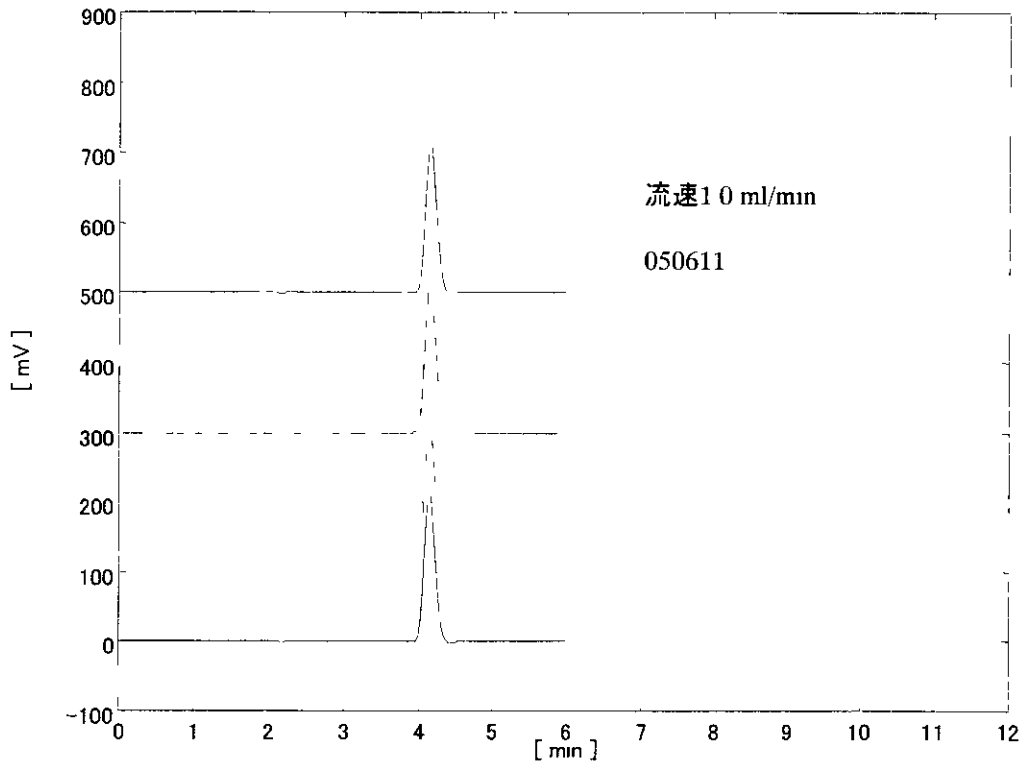


図4 流量10ml/minにおけるベタイン（050611）のクロマトグラム

流量0.5及び10ml/min共に安定した良好な結果が得られている（表3,4、図3,4参照）。

### 3 結論

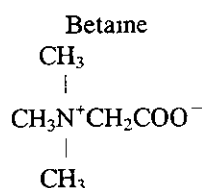
- ・確認試験（及び定量法）における液体クロマトグラフ法の操作条件については、検量線の直線性及び繰り返し試験の安定性において流量の違いによる差は認められなかったが、分析カラムの信頼性から取扱説明書の条件（圧力）を考慮した流量の変更が必要と判断する（表5参照）。

表5 確認試験（及び定量法）における液体クロマトグラフ法の操作条件の変更

	自主規格第三版	変更後
検出器	示差屈折計	示差屈折計
カラム充填剤	スチレンビニルホモポリマー共重合体（Ca型）	スチレンビニルホモポリマー共重合体（Ca型）
カラム管	内径4mm 長さ25cm	内径4mm、長さ25cm
カラム温度	70℃	70℃
移動相	水	水
流量	1ml/min	0.5ml/min
注入量	5μl	5μl

以上

## ベタイン



C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>

分子量 117.15

**定義** 本品は、アカザ科サトウダイコン (*Beta vulgaris* LINNE var *rapa* D MORTIER) の糖蜜より、分離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<sub>5</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>) 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で、わずかににおいがあり、甘みとわずかな苦味を呈する。

**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法により試験を行うとき、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 μmのメンブランフィルターを用いてろ過した後、試験に供する。

操作条件

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 スチレンジビニルヘンゼン共重合体 (Ca型)

カラム管 内径4mm, 長さ25cm

カラム温度 70℃

移動相 水

流量 0.5ml/分

注入量 5 μl

(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、1,490~1,470cm<sup>-1</sup>, 1,410~1,390cm<sup>-1</sup>, 1,330cm<sup>-1</sup>, 1,240cm<sup>-1</sup>, 1,130cm<sup>-1</sup>, 980cm<sup>-1</sup>, 930cm<sup>-1</sup>, 890cm<sup>-1</sup>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 pH5.0~7.0 (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<sub>4</sub>として0.01%以下 (1.0g, 比較液 0.005mol/l 硫酸0.20ml)

(5) 重金属 Pbとして5.0 μg/g以下 (4.0g, 第1法, 比較液 鉛標準液2.0ml)

(6) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として4.0 μg/g以下 (0.50g, 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** 本品を乾燥し、その約1gを精密に量り、水に溶解して正確に100mlとしたものを試料溶液とする。同様に乾燥させた定量用ベタイン0.5g及び1.0gを精密に量り水に溶解して正確に100mlとしたものを標準溶液とする。確認試験と同様の操作条件で液体クロマトグラフ法により試験を行い、標準溶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。

$$\text{ベタインの含量} = \frac{\text{検量線から求めた試料中のベタイン量 (g)}}{\text{試料採取量 (g)}} \times 100 (\%)$$

平成16年3月

第十部会（乳化剤）既存添加物自主規格案検討結果報告  
（第三版既存添加物自主規格の見直し）  
——「植物性ステロール」確認試験の検討——

日本食品添加物協会 第十部会  
研究者所属 理研ヒタミン株式会社

1 目的

既存添加物「植物性ステロール」の自主規格は第三版既存添加物自主規格に「精製植物性ステロール」と「植物ステロール」とに分けて収載されている。前者はステロール単体であるか後者はステロール脂肪酸エステルを含有する。仮に両者を識別する必要がある場合を想定して、薄層クロマトグラフ法により識別する方法を検討した。

2 検討内容及び結果

(1) 供試試料

大豆粗油を水蒸気蒸留して得られた留分より分離精製したステロール及びステロール脂肪酸エステルを使用した。

(2) 薄層クロマトグラフ法による試験

①薄層板

市販の TLC アルミニウムシート（MERCK 社，シリカゲル 60 F<sub>254</sub>，20×20cm）を 110℃，1 時間乾燥して使用した。

②試料溶解用溶媒

「植物性ステロール」自主規格においては，試料溶解溶媒として，確認試験ではヘキサン，定量法では酢酸エチルが使用されている。本試験ではステロール単体に対する溶解性の高い酢酸エチルを採用した。

試料 0.1g を酢酸エチル 10ml に溶かして試料溶液とし，その 5 μl を用いて試験した。

②展開溶媒混合系の選択

展開溶媒としてはヘキサンをヘースとして，酢酸エチル，アセトン及びエタノールの混合効果を試験した。

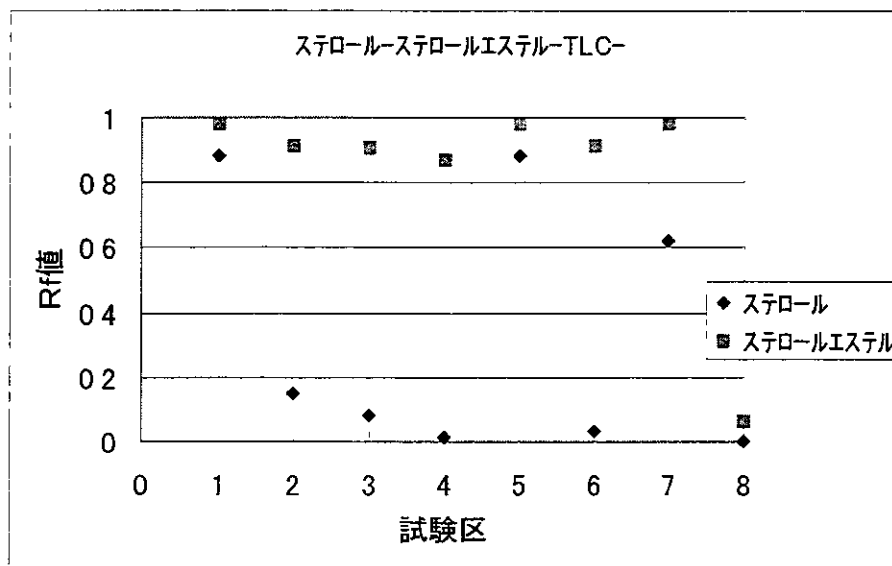
試験は，展開溶媒の先端が原点より 15cm の高さに上昇したとき展開をやめ，風乾した後，50%硫酸溶液を噴霧し，110℃，10 分間乾燥して観察し R<sub>f</sub> 値を測定する。試験結果を表 1 及び図 1 に示した。

試験結果より，展開溶媒系としてはヘキサンに少量の酢酸エチル又はアセトンの併用系が使用できると考えられ，その中でもヘキサン/酢酸エチル混液（95/5）系（試験区 3）が適当と評価した。

表1 展開溶媒混合系と結果

試験区	溶媒				R <sub>f</sub> 値	
	ヘキサン	酢酸エチル	アセトン	エタノール	単体	エステル
1	70	30	—	—	0.879	0.983
2	90	10	—	—	0.146	0.912
3	95	5	—	—	0.079	0.907
4	98	2	—	—	0.014	0.871
5	70	—	30	—	0.879	0.983
6	98	—	2	—	0.033	0.914
7	95	—	—	5	0.621	0.979
8	100	—	—	—	0	0.06

図1 展開溶媒混合系とスポットの位置関係図



③その他成分の分析

上記の結果を基にヘキサン 酢酸エチル混液 (95 5) を展開溶媒として、原料より持ち込まれる可能性のある成分として、植物油脂脱臭留出物及び菜種油の分離の可能性を試験した。結果を図2に示した。

結果から、ステロール単体、ステロールエステルと、トリクリセライト、トコフェロールという植物油脂脱臭留出物中の主要な成分との分離性はありと評価される。

④R<sub>f</sub>値の確認

R<sub>f</sub>値の変動試験を兼ねて、ステロール単体とステロールエステルの混合比率を変えて上記の条件で試験し、比率による影響を考察した。

結果を図3に示した。また、各スポットの上下端における $R_f$ 値を表2に示した。  
ステロール単体は移動が小さく $R_f$ 値の変動は認められず、ステロールエステルは濃度相関で $R_f$ 値の変動が見られるがその幅は小さい。スポットの中心点を取れば、それぞれの $R_f$ 値は約0.05及び0.90付近といえる。

表2 ステロール単体/ステロールエステル混合比と $R_f$ 値

単体/エステル		100/0	90/10	80/20	60/40	40/60	20/80	0/100
単体の $R_f$ 値	上端	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	
	下端	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	
エステルの $R_f$ 値	上端		0.89	0.90	0.90	0.91	0.92	0.93
	下端		0.84	0.83	0.83	0.82	0.82	0.84

### 3 確認試験案

以上より、ステロール単体とステロールエステルとを識別する必要があるとすれば、次の確認試験法への改定を提案する。

#### (1) 精製植物ステロール

確認試験 (1) 本品5mgをヘキサン2mlに溶かし、無水酢酸1ml及び硫酸1滴を加えて振り混ぜるとき、下層は初め赤色を呈し、青色を経て緑色に変わる。

確認試験 (2) 本品0.1gを酢酸エチル10mlに溶かし、その5 $\mu$ lにつきヘキサン/酢酸エチル混液(95/5)を展開溶媒として薄層クロマトグラフ法により試験を行なうとき、 $R_f$ 値約0.05にスポットを認める。ただし、薄層板は、担体として薄層クロマトグラフ法用シリカゲルを110℃で1時間乾燥して使用する。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、風乾した後、50%硫酸溶液を噴霧し、110℃で10分間乾燥する。

#### (2) 植物ステロール

確認試験 (1) 本品5mgをヘキサン2mlに溶かし、無水酢酸1ml及び硫酸1滴を加えて振り混ぜるとき、下層は初め赤色を呈し、青色を経て緑色に変わる。

確認試験 (2) 本品0.1gを酢酸エチル10mlに溶かし、その5 $\mu$ lにつきヘキサン/酢酸エチル混液(95/5)を展開溶媒として薄層クロマトグラフ法により試験を行なうとき、 $R_f$ 値約0.05及び約0.90にスポットを認める。ただし、薄層板は、担体として薄層クロマトグラフ法用シリカゲルを110℃で1時間乾燥して使用する。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、風乾した後、50%硫酸溶液を噴霧し、110℃で10分間乾燥する。

以上

図2 その他成分の分析

左から 植物油脱臭留出物、菜種油、植物ステロール、ステロールエステル  
展開溶媒 ヘキサン/酢酸エチル混液 (95/5)

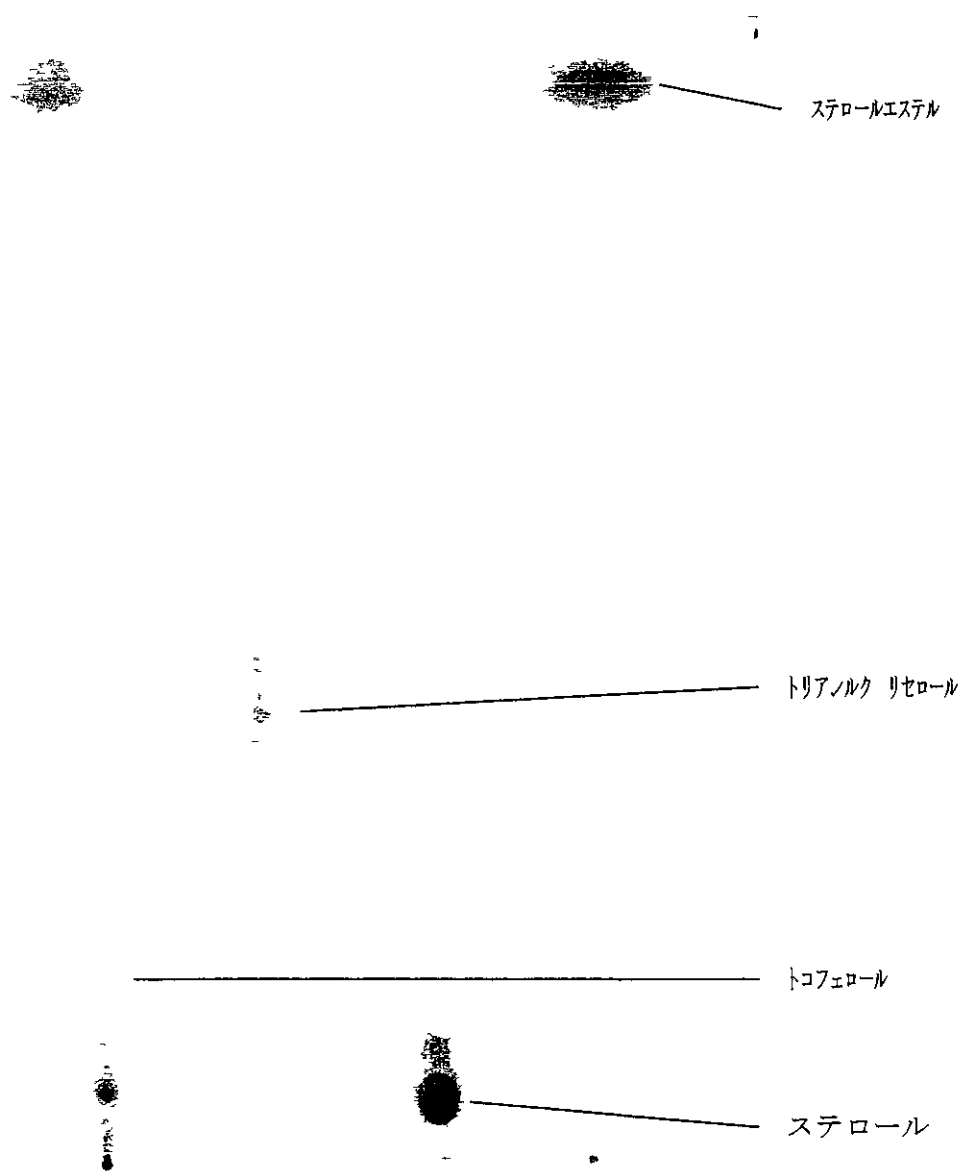
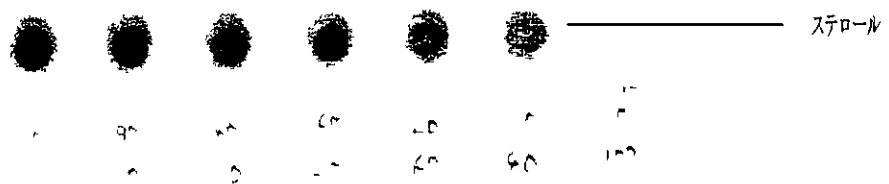




図3 ステロール単体とステロールエステルの比率

展開溶剤 ヘキサン/酢酸エチル混液 (95 5)



混合比率							
ステロール単体	100	90	80	60	40	20	0
ステロールエステル	0	10	20	40	60	80	100

## 第十三部会（製造用剤等）既存添加物自主規格案検討結果報告

### 一 既策定自主規格案の見直し一

日本食品添加物協会 第十三部会

研究者 富田製菓株式会社

日本新菓株式会社

赤穂化成株式会社

シェイティフース株式会社

ヤマサ醤油株式会社

#### 1 研究目的

既存添加物に対し、自主規格の策定検討を進めてきたが、以下の4品目につき、過去に策定 報告した自主規格案が実際の運用の中で疑義が生じたことから、今回見直しを行った。

#### 2 検討対象品目

- 1) 5'-アデニル酸
- 2) 5'-シチシル酸
- 3) 粗製海水塩化マグネシウム
- 4) ヘム鉄

#### 3 検討内容及び検討結果

##### 1) 5'-アデニル酸及び5'-シチシル酸

###### ① 確認試験 (2)

5'-アデニル酸及び5'-シチシル酸ともに、リン酸塩の定性反応に供する液の調製時、本品に水酸化ナトリウム試液を加えて溶かした液に、マグネシア試液 を加えた後、硝酸を加え、煮沸した後、水酸化ナトリウム溶液を加えて中和することになっていたが、この中和に要する水酸化ナトリウム溶液が若干でも過量に入りすぎると、リン酸塩の定性反応が陽性とならないため、水酸化ナトリウム溶液で中和する操作を省略した。なお、リン酸の定性反応(2)は中性から硝酸酸性で進行する。

###### ② 純度試験 (6)

5'-アデニル酸及び5'-シチシル酸ともに、公定書に記載されている類縁物質（「5'-イノシン酸二ナトリウム」等）との試験方法の整合性を考慮し、一昨年報告を行った HPLC 法から薄層クロマトグラフ法へ、試験方法を変更した。

###### ③ 検討結果

今回見直しを行った規格及び試験方法、それに基づく市場流通品の分析結果（3ロット分各3回）を添付する。今回検討に供した市場流通品が、問題なく試験可能であり、しかも合格していた。これにより 本規格及び試験方法の妥当性が証明された。

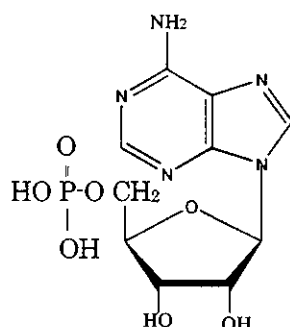
以下に自主規格案及び試験結果を報告する。

5' - アデニル酸分析結果

試験項目		サンプル1			サンプル2			サンプル3		
		1回	2回	3回	1回	2回	3回	1回	2回	3回
性状	無～白色の結晶又は白色の結晶性の粉末	適	適	適	適	適	適	適	適	適
含量	<吸光度法> 98.0～102.0%	99.7 99.6	99.9 99.7	99.9 99.8	99.3 99.5	99.5 99.4	99.6 99.3	99.0 99.2	99.3 99.3	99.0 99.0
確認試験	(1)波長 255～259nmに極大吸収部がある	陽性	陽性	陽性	陽性	陽性	陽性	陽性	陽性	陽性
	(2)リン酸塩(2)の反応を呈する	陽性	陽性	陽性	陽性	陽性	陽性	陽性	陽性	陽性
純度試験	(1)溶状 無色、ほとんど透明	無色 透明	無色 透明	無色 透明	無色 透明	無色 透明	無色 透明	無色 透明	無色 透明	無色 透明
	(2)重金属 10μg/g以下	限度内	限度内	限度内	限度内	限度内	限度内	限度内	限度内	限度内
	(3)ヒ素 4.0μg/g以下	限度内	限度内	限度内	限度内	限度内	限度内	限度内	限度内	限度内
	(4)吸光比 250nm/260nm 0.82～0.88	0.84	0.84	0.84	0.84	0.83	0.84	0.84	0.84	0.84
	280nm/260nm 0.19～0.23	0.22	0.21	0.22	0.21	0.21	0.22	0.21	0.21	0.22
(5)他の核酸分解物 一つのスポットのみを認める	限度内	限度内	限度内	限度内	限度内	限度内	限度内	限度内	限度内	限度内
乾燥減量	6.0%以下	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	4.9	5.0	5.0	5.0

## 5'-アデニル酸

5'-Adenylic Acid  
アデノシン5'-リン酸



$C_{10}H_{14}N_5O_7P$

分子量 347.22

6-amino-9-β-D-ribofuranosyl-9(H)-purine 5' dihydrogen phosphate [61-19-8]

**定義** 酵母 (*Candida utilis*) の菌体より、熱時水で抽出した核酸を酵素で加水分解した後、分離して得られたものである。成分は5'-アデニル酸である。

**含量** 本品を乾燥物換算したものは、5'-アデニル酸 ( $C_{10}H_{14}N_5O_7P$ ) 98.0~102.0%を含む。

**性状** 本品は、無~白色の結晶又は白色の結晶性の粉末である。

**確認試験** (1) 本品 10mg に塩酸 (1→1,000) 1,000ml を加えて溶かした液は、波長 255~259nm に極大吸収部がある。

(2) 本品 0.25g に水酸化ナトリウム試液 1ml を加えて溶かし、水 5ml を加えた液に、マクネシア試液 2ml を加えるとき、沈殿を生じない。次に、硝酸 7ml を加え、10分間煮沸した液は、リン酸塩(2)の反応を呈する。

**純度試験** (1) 溶状 無色、ほとんど透明

本品 0.50g を量り、水酸化ナトリウム試液 2ml を加えて溶かし、水を加えて 10ml とし、検液とする。

(2) 重金属 Pb として  $10\mu\text{g/g}$  以下

本品 2.0g を量り、水酸化ナトリウム試液 8ml 及び水 30ml を加えて溶かし、酢酸 (1→20) 又はアンモニア試液で中和し、更に酢酸 (1→20) 2ml 及び水を加えて 50ml とし、検液とする。比較液は、鉛標準液 2ml を正確に量り、酢酸 (1→20) 2ml 及び水を加えて 50ml とする。

(3) ヒ素  $As_2O_3$  として  $40\mu\text{g/g}$  以下

本品 0.50g を量り、塩酸 (1→4) 5ml を加えて溶かし、検液とする。装置 B を用いる。

(4) 吸光比 本品 10mg を量り、塩酸 (1→1,000) を加えて溶かして 1,000ml とする。この液の波長 250nm、260nm 及び 280nm における吸光度をそれぞれ  $A_1$ 、 $A_2$  及び  $A_3$  とするとき、 $A_1/A_2$  は 0.82~0.88、 $A_3/A_2$  は 0.19~0.23 である。

(5) 他の核酸分解物 本品 100mg を量り、水酸化ナトリウム試液 0.5ml を加えて溶かし、水を加えて 20ml とし、検液とする。検液 1μl を量り、対照液を用いず、n-プロパノール/アンモニア試液/アセトン混液 (6:5:2) を展開溶媒として薄層クロマトグラフ法を行うとき、一つのスポットのみを認める。ただし、薄層板には、担体として薄層クロマトグラフ法用シリカゲル (蛍光剤入り) を 110℃ で 1時間乾燥したものを使用する。展開溶媒の先端が原線より約 10cm の高さに上昇したとき展開をやめ、風乾した後、暗所で紫外線 (波長約 250nm) 下で観察する。