

乾燥減量 60%以下 (120℃, 4時間)

定量法 本品約 0.2g を精密に量り, 水酸化ナトリウム試液 1ml を加えて溶かし, 水を加えて正確に 200ml とする。この液 2ml を正確に量り, 塩酸 (1→1,000) を加えて正確に 200ml とし, 検液とする。波長 257nm における検液の吸光度 A を測定し, 次式により含量を求める。

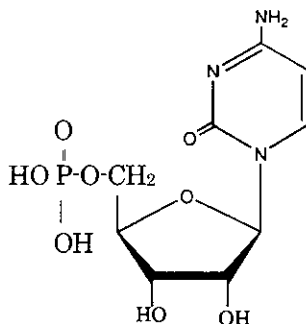
$$\text{5'-アデニル酸 (C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{O}_7\text{P) の含量} = \frac{0.2}{\text{試料の採取量(g)}} \times \frac{229.9 \times A}{100 - \text{乾燥減量(\%)}} \times 100 (\%)$$

5' - シチシル酸分析結果

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%	101.4	101.1	101.1	101.2	101.2	101.1	100.8	100.8	100.6
		101.1	100.9	101.2	101.1	100.8	101.2	100.9	100.7	100.8
確認試験	(1)波長 277～281nm 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)容状 無色、ほとんど澄明	無色 澄明	無色 澄明	無色 澄明	無色 澄明	無色 澄明	無色 澄明	無色 澄明	無色 澄明	無色 澄明
	(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 0.40～0.52	0.44	0.44	0.43	0.44	0.44	0.44	0.44	0.43	0.43
		280nm/260nm 1.85～2.20	2.13	2.12	2.13	2.13	2.13	2.13	2.14	2.13
	(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
乾燥減量	6.0%以下	2.0	2.0	2.0	3.2	3.3	3.2	3.1	3.0	3.1

5'-シチジル酸

5'-Cytidylic Acid



$C_9H_{14}N_3O_8P$

分子量 323.20

4-amino-1- β -D-ribofuranosyl-2(H)-pyrimidinone 5'-dihydrogen phosphate [63-37 6]

定 義 酵母 (*Candida utilis*) の菌体より、食塩存在下熱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'-シチシル酸である。

含 量 本品を乾燥物換算したものは、5'-シチシル酸 ($C_9H_{14}N_3O_8P$) 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 277~281nm に極大吸収部がある。

(3) 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、ほとんど澄明

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 20ml とし、検液とする。

(6) 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。

(7) 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。

(8) 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 0.40~0.52、 A_3/A_2 は 1.85~2.20 である。

(9) 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 1 μl 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。

乾燥減量 6.0%以下 (120℃, 4時間)

定量法 本品約 0.2g を精密に量り、水酸化ナトリウム試液 1ml を加えて溶かし、水を加えて正確に 200ml とする。この液 2ml を正確に量り、塩酸 (1→1,000) を加えて正確に 200ml とし、検液とする。波長 257nm における検液の吸光度 A を測定し、次式により含量を求める。

$$5\text{-シチシル酸 (C}_9\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_8\text{P) の含量} = \frac{0.2}{\text{試料の採取量(g)}} \times \frac{1243 \times A}{100 - \text{乾燥減量(\%)}} \times 100 (\%)$$

2) 粗製海水塩化マグネシウム

① 純度試験 (3)

これまでの報告では重金属の限度値をP bとして $10\mu\text{g/g}$ 以下としたが、日本食品添加物協会パブリックコメント等を行ったところ、P bとして $20\mu\text{g/g}$ 以下への変更要請があり、本年度検討を加えた。要請者は、本品は粗製物であり 多くの不純物が本品には含まれる都合上、P bとして $10\mu\text{g/g}$ 以下の規格は市場流通品が合格しない可能性があり、「塩化マグネシウム」との整合性もあわせて、 $20\mu\text{g/g}$ 以下への規格改正を要望していた。

② 含量について

上記同様、塩化マグネシウムを主成分とするとあるが、マグネシウム含量が10%未満にすぎない。残りの含有成分を明らかにされたい旨の要請があり、マグネシウム以外の成分である水分測定に係る検討を行った。

③ 検討結果

検討の結果、重金属については、要望通りP bとして $20\mu\text{g/g}$ 以下とした。含量については、本品の水分をカルフィッシャー法で測定したところ、本品には60~70%の水分が含まれることを確認した。これに加え、含量規定のマグネシウム(25~85%)から算出される塩化マグネシウム(約10~35%)を加えると、大半の成分を塩化マグネシウム及び水分で満たすことが明らかとなった。なお、水分の含量については規格化しないこととした。

以下に自主規格案を報告する。

粗製海水塩化マグネシウム

Crude Magnesium Chloride (Sea Water)

定 義 本品は、海水から塩化カリウム及び塩化ナトリウムを析出分離して得られた、塩化マグネシウムを主成分とするものである。

含 量 本品は、マグネシウム (Mg) 25~85%を含む。

性 状 本品は、無〜淡黄色の液体で、苦味がある。

確認試験 (1) 本品に水酸化ナトリウム試液を加えるとき、白色のゲル状の沈殿を生じ、この一部にヨウ素試液を加えるとき、沈殿は暗褐色に染まる。また、他の一部に過量の水酸化ナトリウム試液を加えても沈殿は溶けない。

(2) 本品は、塩化物(1)の反応を呈する。

純度試験 (1) 硫酸塩 SO_4 として48%以下

本品0.25gを量り、水を加えて溶かして100mlとする。この液20mlを量り、試料液とする。比較液には、0.005mol/l 硫酸0.50mlを用いる。

(2) 臭化物 Brとして40%以下

本品10gを量り、水を加えて溶かして1,000mlとする。この液50mlを量り、水を加えて100mlとする。この液5mlを量り、希フェノールレッド試液2ml及びヒクロラミンT溶液(1→10,000)1mlを加え、直ちに混和し、2分間放置後、1mol/l チオ硫酸ナトリウム溶液0.15mlを加えて混和した後、水を加えて10mlとし、検液とする。別に臭化カリウムを110℃で4時間乾燥した後、その2.979gを正確に量り、水を加えて溶かして正確に1,000mlとし、更に、この液1mlを正確に量り、水を加えて正確に1,000mlとする。この液5mlを正確に量り、以下、検液と同様に操作し、比較液とする。検液及び比較液につき、波長590nmにおける吸光度を測定するとき、検液の吸光度は比較液の吸光度よりも大きくない。

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

(4) 亜鉛 Znとして70μg/g以下

本品40gを量り、水を加えて40mlとし、試料液とする。試料液30mlを量り、酢酸5滴及びひフェロシアン化カリウム溶液(1→20)2mlを加えて振り混ぜ、10分間放置するとき、その液の濁度は、亜鉛標準液14mlを量り、試料液10ml及びひ水を加えて30mlとし、酢酸5滴及びひフェロシアン化カリウム溶液(1→20)2mlを加えて振り混ぜ、10分間放置した液の濁度以下である。

(5) カルシウム Caとして40%以下

定量法のA液20mlを正確に量り、水を加えて100mlとし、酒石酸溶液(1→5)0.2mlを加え、更に2,2',2''-ニトリロトリエタノール溶液(3→10)10ml、水酸化カリウム溶液(1→10)10mlを加え、5分間放置した後、直ちに0.01mol/l EDTA溶液で滴定し、(指示薬 NN指示薬約0.1g)その消費量をbmlとする。終点は、液の赤紫色が完全に消失して青色となるときとし、次式により含量を求める。

$$\text{カルシウム (Ca) の含量} = \frac{b \text{ (ml)} \times 0.4008}{\text{試料採取量 (g)}} \text{ (\%)}$$

(6) ナトリウム Naとして40%以下

本品10gを量り、水を加えて溶かして1,000mlとする。この液10mlを量り、水を加えて200mlとし、検液とする。別に塩化ナトリウムを130℃で2時間乾燥した後、その2.542gを正確に量り、水を加えて溶かして正確に1,000mlとする。この液2mlを正確に量り、水を加えて正確に1,000mlとし、比較液とする。検液及び比較液につき、次の操作条件で原子吸光度測定法により試験を行うとき、検液の吸光度は比較液の吸光度以下である。

操作条件

光源ランプ ナトリウム中空陰極ランプ

分析線波長 589.0nm

支燃性ガス 空気

可燃性ガス アセチレン

(7) カリウム Kとして6.0%以下

純度試験(6)の検液を用いて、試験を行う。別に塩化カリウムを 105℃で2時間乾燥した後、その 1.907g を正確に量り、水を加えて溶かして正確に 1,000ml とする。この液 3ml を正確に量り、水を加えて正確に 1,000ml とし、比較液とする。検液及び比較液につき、次の操作条件で原子吸光度測定法により試験を行うとき、検液の吸光度は比較液の吸光度以下である。

操作条件

光源ランプ カリウム中空陰極ランプ

分析線波長 766.5nm

支燃性ガス 空気

可燃性ガス アセチレン

(8) ヒ素 As₂O₃ として40μg/g以下(0.5g, 第1法, 装置B)

定量法 本品約2gを精密に量り、水を加えて正確に200mlとし、A液とする。A液5mlを正確に量り、水50ml及びアンモニア 塩化アンモニウム緩衝液(pH10.7) 5mlを加え、0.01mol/l EDTA溶液で滴定し(指示薬 エリオクロムブラックT試液2滴)、その消費量a mlを求める。終点は、液の赤色か青色に変わる時とする。純度試験(5)で得た消費量をb mlを用い、次式により含量を求める。

$$\text{マグネシウムの (Mg) 含量} = \frac{(a - 0.25b) \times 0.9724}{\text{試料の採取量 (g)}} (\%)$$

試薬・試液の追加

フェノールレット試液、希 硝酸アンモニウム溶液 25mgに水を加えて235mlにした液に2 mol/l 水酸化ナトリウム溶液 105ml 及び酢酸 24gに水を加えて200mlとした液 135mlを加える。この液に、フェノールレット 33mgを2 mol/l 水酸化ナトリウム溶液 15mlに溶かした後に水を加えて100mlとした液 25mlを加える。必要ならばpHを4.7に調整する。

3) ヘム鉄

① 含量について

第3版既存添加物自主規格に記載した品目の見直し。主成分はヘム鉄であるとあるか 乾燥物換算したものは、鉄 (Fe=55.85) 1.0~2.6%を含むに過ぎない。残りの含有成分を明らかにされたい旨の要請があり、鉄以外の成分であるたん白質に係る検討を行った。

② 検討結果

検討の結果、本品のたん白質を窒素定量法のケルダール法で測定したところ、本品にはおおよそ13%の窒素が含まれることを確認した。この値に6.25を乗してたん白質の量を仮に算出するなら、約80~85%となる。これに加え、含量規定の鉄(1.0~2.6%)を加えると、大半の成分を鉄及びたん白質で満たすことが明らかとなった。なお、たん白質の含量については規格化しないこととした。

以下に自主規格案を報告する。

ヘム鉄

Heme Iron

定 義 本品は、ヘモグロヒンをタンパク分解酵素で処理したものより、分離して得られたものである。主成分はヘム鉄である。

含 量 本品を乾燥物換算したものは、鉄 (Fe=55.85) 1.0~2.6%を含む。

性 状 本品は、褐色~異褐色の粉末又は粒で、においがないか又はわずかに特有なにおいがある。

確認試験 (1) 本品10mgに硫酸(1→20) 1ml及び硝酸 1mlを加えて溶かし、水浴上で蒸発乾固する。残留物を塩酸(1→2) 10mlに溶かした液にチオシオン酸アンモニウム溶液(2→25)を加えるとき、液は赤色を呈し、これに塩酸を加えて酸性とすると液の赤色は退色しない。

(2) 本品5mgにピリジン・水酸化ナトリウム試液10mlを加えて溶かし、次亜硫酸ナトリウム0.1gを加えるとき、液は赤色を呈する。

(3) 本品10mgに硝酸 5mlを加えて加熱するとき、液は黄色を呈し、冷後、アンモニア水を加えてアルカリ性とするとき、液は橙黄色を呈する。

純度試験 (1) 重金属 Pbとして20 μ g/g以下(1.0g, 第2法, 比較液 鉛標準液 2.0ml)

(2) ヒ素 As₂O₃として4.0 μ g/g以下(0.50g, 第3法, 装置B)

乾燥減量 5.0%以下(105℃, 5時間)

強熱残分 11.0%以下

定 量 法 本品約10gを精密に量り、硫酸(1→20) 5ml及び硝酸 5mlを加えて潤し、徐々に加熱してほとんど灰化した後、強熱する。残留物に塩酸(1→2) 10mlを加え、不溶物がほとんど無くなるまで煮沸した後、水 20mlを加えてろ過する。不溶物を水洗し、洗液をろ液に合わせ、水を加えて正確に100mlとする。この液、25mlを正確に量り、共栓フラスコに入れ、ヨウ化カリウム 2gを加え、直ちに密栓して暗所に15分間放置した後、水 100mlを加え、遊離したヨウ素を0.1mol/lチオ硫酸ナトリウム溶液で滴定する(指示薬 デンプン試液)。別に空試験をして補正し、更に乾燥物換算を行う。

0.1mol/lチオ硫酸ナトリウム溶液 1ml=5.585mg Fe

平成15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16年3月

日本食品添加物協会

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、一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、カロテノイド系着色料5品目について本調査研究を行った。

本調査研究は今年度をもって終了することから、平成13年度以降、実施・報告してきた調査結果に基づき、第8版公定書への規格試験法改定案を併せ報告することとした。

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

本年度調査研究を行った品目、試験法、検討結果の概要は次のとおりである。

(1) 検討目的

- 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平成13年度に報告した。
 - ・クロロホルムの代替については昨年度研究においてテトラヒドロフランでの代替可能性を報告した。
- 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か勧告され

ているため、今年度はテトラヒドロフランの代替方法について検討した。

(2) 検討品目(カロテノイド系着色料5品目)

【平成14年度継続検討品目 テトラヒドロフランの代替】

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

【平成15年度新規追加品目 三塩化アンチモンの代替】

水溶性アナトー

(3) 調査研究結果の概要

- ・テトラヒドロフランをアセトン/シクロヘキサン混液(1:1)で代替し、①アセトンで希釈した後5%亜硝酸ナトリウム、次いで、硫酸を加えることにより脱色するのを確認する(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)か、又は②シクロヘキサンで希釈したときの極大吸収部で確認する(β-カロテン)ことで代替可能と判断した。
- ・水溶性アナトーについては、5%亜硝酸ナトリウム、硫酸による脱色を確認する方法で三塩化アンチモンを代替できることが確認された。

4 第8版公定書への規格試験法改定案

過去3年間にわたり、本調査研究を実施しその結果を報告してきた。本調査研究が今年度をもって終了することから、これまでの調査結果に基づき、第8版公定書への規格試験法改定案を報告することとした。

規格試験法改定案を提案する品目は次のとおりである。【 】内は報告年度である。

(1) 着色料

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

(確認試験(1)又は(2)における三塩化アンチモンの代替)【H13】

(確認試験(1)及び(2)におけるクロロホルムの代替)【H15】

1-2 水溶性アナトー【H15】、トウガラシ色素及びマリーゴールド色素【H13】

(確認試験における三塩化アンチモンの代替)

1-3 カラメルⅠ、Ⅲ及び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)【H14】

(2) 増粘安定剤

・ダンマル樹脂

(確認試験(2)及び純度試験(3)におけるクロロホルムの代替)【H13】

(3) 酸化防止剤・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)におけるクロロホルム、三塩化アンチモンの代替)【H13】

— 薄層クロマトグラフ法に変更 —

(純度試験(2)におけるクロロホルムの代替)【H14】

・粉末ビタミンA

(確認試験におけるクロロホルム、三塩化アンチモンの代替)【H13】

(4)ガムヘース・光沢剤

・シェラック

(純度試験(4)、(5)におけるクロロホルムの代替)【H13】

ポリイソブチレン

(純度試験(5)における四塩化炭素、酢酸第二水銀の代替)【H14】

(純度試験(6)におけるヘンゼンの代替)【H13】

(5)乳化剤

シヨ糖脂肪酸エステル

(純度試験(2)におけるクロロホルムの代替)【H14】

ソルヒタン脂肪酸エステル

(純度試験(4)におけるクロロホルムの代替)【H13】

・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)【H14】

(純度試験(4)におけるクロロホルムの代替)【H13】

・レシチン

(水分試験におけるクロロホルムの代替)【H14】

—水分規格を乾燥減量規格に変更—

(6)強化剤

・グルコン酸亜鉛

・硫酸亜鉛

(純度試験(1)におけるシアン化カリウムの代替)【H13】

—重金属規格を鉛規格に変更—

(7)調味料

塩化カリウム

(純度試験(2)におけるクロロホルムの代替)【H13】

(8)製造用剤

・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)【H14】

・モルホリン脂肪酸塩

(確認試験(1)におけるヘンゼンの代替)【H13】

(9)香料

・1 8-シネオール

(純度試験(6)における硝酸第二水銀の代替)【H13】

5 今後の課題

本年度は、着色料5品目の有害試薬・試液の代替調査研究を行った。

今回の調査研究は、昨年度報告の継続検討及び一昨年度の研究で取り残した品目についての研究ではあったが、初期の目標を達し得たものと考えている。

過去3年間、本調査研究に取り組んできた。遺憾ではあるが、必ずしも100%満足のいく成果は得られなかった。

やむを得ず規格項目を変更したものもあった。レシチンにおける水分規格の乾燥減量規格への変更、グルコン酸亜鉛・硫酸亜鉛における重金属規格の鉛規格への変更等である。

また、ビタミンA脂肪酸エステルにおける純度試験(2)のクロロホルム不溶物のように、現在流通している製品実態に即さない規格については、当該規格の削除を提案したものもある。

特にクロロホルムは多数の品目に使用されており、代替法を見出せない品目もあった。今後、更に検討すべき課題も多い。

例えば、グリセリン脂肪酸エステルにおける純度試験(4)のポリオキシエチレン試験で使用されるクロロホルムの代替、レシチンにおける純度試験(4)の過酸化物質試験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。

なお、過去3年間の調査研究の結果に基づき代替可能と判断した試験法について、第8版公定書への規格試験法改定案を提案したが、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なものもあると考えられ、出来れば第三者による検証を実施いただければ幸甚である。

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ます次第である。

以上

— 目 次 —

1 今年度調査結果の概要	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(→テトラヒドロフラン)の代替)	
・水溶性アナトー	
(確認試験(1)Ⅱにおける三塩化アンチモンの代替)	
2 第8版公定書への規格試験法改定案	
(1)着色料	29
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	
(確認試験(1)、(2)におけるクロロホルム、三塩化アンチモンの代替)	
1-2 ト水溶性アナトー、トウガラシ色素、マリーゴールド色素	
(確認試験における三塩化アンチモンの代替)	
1-3 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)増粘安定剤	32
・ダンマル樹脂	
(確認試験(2)及び純度試験(3)におけるクロロホルムの代替)	
(3)酸化防止剤・ビタミン	33
・ビタミンA脂肪酸エステル	
(確認試験(1)におけるクロロホルム、三塩化アンチモンの代替)	
(純度試験(2)におけるクロロホルムの代替)	
・ビタミンA油	
(確認試験におけるクロロホルム、三塩化アンチモンの代替)	
(純度試験(2)におけるクロロホルムの代替)	
・粉末ビタミンA	
(確認試験におけるクロロホルム、三塩化アンチモンの代替)	
(4)ガムヘース・光沢剤	34
・シェラック	
(純度試験(4)、(5)におけるクロロホルムの代替)	

<ul style="list-style-type: none"> ・ポリイソブチレン <ul style="list-style-type: none"> (純度試験(5)における四塩化炭素、酢酸第二水銀の代替) (純度試験(6)におけるヘンゼンの代替) 	
(5) 乳化剤	35
<ul style="list-style-type: none"> ・シヨ糖脂肪酸エステル <ul style="list-style-type: none"> (純度試験(2)におけるクロロホルムの代替) ・ソルビタン脂肪酸エステル <ul style="list-style-type: none"> (純度試験(4)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 <ul style="list-style-type: none"> (確認試験(2)及び純度試験(4)におけるクロロホルムの代替) ・レシチン <ul style="list-style-type: none"> (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— 	
(6) 強化剤	37
<ul style="list-style-type: none"> ・グルコン酸亜鉛 ・硫酸亜鉛 <ul style="list-style-type: none"> (純度試験(1)におけるシアン化カリウムの代替) 	
(7) 調味料	37
<ul style="list-style-type: none"> ・塩化カリウム <ul style="list-style-type: none"> (純度試験(2)、(3)におけるクロロホルムの代替) 	
(8) 製造用剤	38
<ul style="list-style-type: none"> シリコーン樹脂 <ul style="list-style-type: none"> (純度試験(1)、(2)、(4)における四塩化炭素の代替) ・モルホリン脂肪酸塩 <ul style="list-style-type: none"> (確認試験(1)におけるヘンゼンの代替) 	
(9) 香料	39
<ul style="list-style-type: none"> ・1, 8-シネオール <ul style="list-style-type: none"> (純度試験(6)における硝酸第二水銀の代替) 	

以上

1. 今年度調査結果について

【カロテノイド系着色料の有害試薬（テトラヒドロフラン）代替検討】

研究年月日 平成15年11月～平成16年1月
研究者名 日本食品添加物協会 第二部会
アイゼン保土谷(株), 三栄源エフ・エフ・アイ(株), (株)タイショーテクノス, 長谷川香料(株), ヤエガキ醸造技研(株), ライオン(株)

指定添加物 着色料における有害試薬クロロホルム代替検討

目的 第7版食品添加物公定書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」の使用があり、これの代替について、テトラヒドロフランにより行い、平成14年度に報告した。しかし、その後の調査でテトラヒドロフランは、permissible daily exposure (PDE 値) が改正され、クラス3からICH Q3C ガイトライン中の表-2すなわちクラス2へ変更された。そこで、テトラヒドロフランよりも危険性・毒性が低く、且つ確認試験として優れた溶媒について検討したので報告する。

検討指定添加物 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。但し、確認法にクロロホルムの使用の無いトウカラシ色素、マリーゴールド色素は除く。

検討方法 テトラヒドロフランより安全性・毒性が低く、且つ確認試験として代替可能な有機溶媒を探索し、色素の溶解が可能な有機溶媒について確認試験を実施して、代替の可能性について検討した。

【検討規格について（平成14年厚生科学研究報告を基とする）】

＜ 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、たいたい色を呈し、この液をアセトンで希釈した液(1→25ml) 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1000ml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、たいたい色を呈する。
(2) 本品の表示量から、1ml当たり β -カロテンとして約1,000 μ g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。

<ニンシンカロテン>

- 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、たいたい色を呈する。
- (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、テトラヒドロフラン5mlを加えて溶かした液はたいたい色を呈する。
- (2) 本品の表示量から、1ml当たりβ-カロテンとして約1000μg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。

検討結果

- (1) 以前行った予備試験で比較的溶解度の高かった「シクロヘキサン」をベースに、別の溶媒を混合する系にて試験した結果、アセトン・シクロヘキサン混液(1:1)が、着色料の溶解性に有効であることがわかった。
- (2) アセトン・シクロヘキサン混液(1:1)を用いて各カロテン色素について確認試験を実施した。結果については、別紙-1にて報告する。

【改訂規格案】

<β-カロテン>

- 確認試験 (1) 本品のアセトン・シクロヘキサン混液(1:1)の溶液(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) 本品のアセトン・シクロヘキサン混液(1:1)溶液(1→250)0.5mlにシクロヘキサン1000ml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、アセトン・シクロヘキサン混液(1:1)5mlを加えて溶かした液は、たいたい色を呈する。
- (2) 本品の表示量から、1ml当たりβ-カロテンとして約1000μgに相当する量の本品を含むアセトン・シクロヘキサン混液(1:1)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。

<ニンシンカロテン>

- 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、アセトン・シクロヘキサン混液(1:1)10mlを加えて溶かした液は、たいたい色を呈する。
- (2) 本品確認試験(1)で調製したアセトン・シクロヘキサン混液(1:1)溶液をアセトンで希釈した液(1→2.5)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7500に換算して15mgに相当する量を取り、アセトン・シクロヘキサン混液(1:1)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1000μgに相当する量の本品を含むアセトン・シクロヘキサン混液(1:1)溶液を調製し、この液をアセトンで希釈した液(1→2.5)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。

以上

別紙－1