

α-グルコシルトランスフェラーゼ測定結果

品名 6MT (基原: Arthrobacter globiformis 由来)

規格項目	規格	測定回数	製造番号		
			6MT01	6MT02	6MT03
性状	白～濃褐色の粉末若しくは粒状又はペースト状, 又は無～濃褐色の液状である。においはないか又は特異なおいがある。	①	褐色の液体で特異なおいがある	褐色の液体で特異なおいがある	褐色の液体で特異なおいがある
		②	褐色の液体で特異なおいがある	褐色の液体で特異なおいがある	褐色の液体で特異なおいがある
		③	褐色の液体で特異なおいがある	褐色の液体で特異なおいがある	褐色の液体で特異なおいがある
確認試験 (6)	試料液のマルトースのピーク面積は、比較液のマルトースのピーク面積より大きい	①	試料液のマルトースのピーク面積は、比較液のそれより大きかった	試料液のマルトースのピーク面積は、比較液のそれより大きかった	試料液のマルトースのピーク面積は、比較液のそれより大きかった
		②	試料液のマルトースのピーク面積は、比較液のそれより大きかった	試料液のマルトースのピーク面積は、比較液のそれより大きかった	試料液のマルトースのピーク面積は、比較液のそれより大きかった
		③	試料液のマルトースのピーク面積は、比較液のそれより大きかった	試料液のマルトースのピーク面積は、比較液のそれより大きかった	試料液のマルトースのピーク面積は、比較液のそれより大きかった
鉛	Pbとして 5.0 μg/g 以下	①	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下
		②	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下
		③	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下
ヒ素	As ₂ O ₃ として 4.0 μg/g 以下	①	4.0 μg/g 以下	4.0 μg/g 以下	4.0 μg/g 以下
		②	4.0 μg/g 以下	4.0 μg/g 以下	4.0 μg/g 以下
		③	4.0 μg/g 以下	4.0 μg/g 以下	4.0 μg/g 以下
細菌数	10,000/g 以下	①	10/g 以下	10/g 以下	10/g 以下
		②	10/g 以下	10/g 以下	10/g 以下
		③	10/g 以下	10/g 以下	10/g 以下
大腸菌	認めない	①	認めない	認めない	認めない
		②	認めない	認めない	認めない
		③	認めない	認めない	認めない
酵素活性 (α-グルコシルトランスフェラーゼ活性測定法第9法)	単位/ml	①	10,600	10,400	14,400
		②	10,500	11,000	12,400
		③	10,600	10,800	12,800
		④	10,000	10,600	13,900
		⑤	9,800	11,100	13,800
		⑥	10,500	10,800	14,100
	平均 (n=6)	10,333	10,783	13,567	
	標準偏差	344.5	256.3	786.6	
	CV (%)	3.33	2.38	5.80	
	最大値	10,600	11,100	14,400	
最小値	9,800	10,400	12,400		

・ 確認試験の測定条件

確認試験(6)に準じた。

カラム：Shodex SUGAR KS-801 8mm ϕ \times 300mm

カラム温度：50°C

移動相：水

流量：0.4ml/分

・ 酵素活性の測定条件

α -グルコシルトランスフェラーゼ活性測定法第9法に準じた。

試料液の調製に用いた緩衝液：2mmol/L 塩化カルシウムを含む 0.05mol/L 酢酸緩衝液(pH6.0)

基質溶液の調製に用いた緩衝液：2mmol/L 塩化カルシウムを含む 0.05mol/L 酢酸緩衝液 (pH 6.0)

・ 規格設定の根拠

①確認試験：酵素を基質マルトテトラオースに作用させたときの反応生成物6-マルトシルマルトテトラオースに、プルラーゼを作用させて生成するマルトースを液体クロマトグラフィーにより確認する。

②活性測定法：酵素を基質マルトテトラオースに作用させたときの転移反応により遊離するマルトースを液体クロマトグラフィーにより定量する。

α -グルコシルトランスフェラーゼ(6MT)
確認試験(6) クロマトグラム

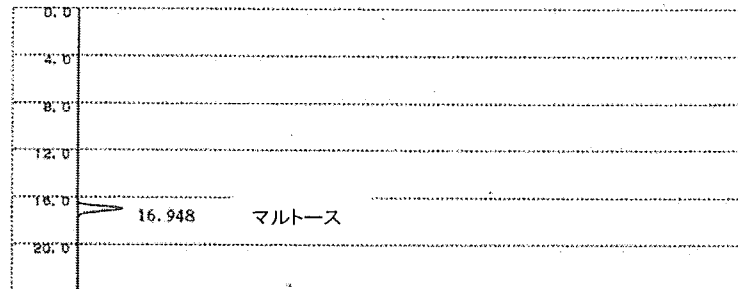


Fig.13 標準液(マルトース)

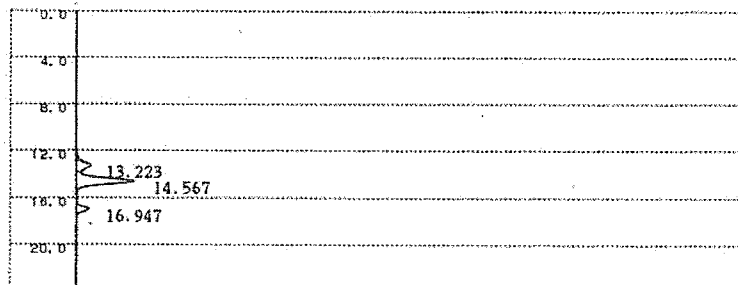


Fig.14 試料液(ブランク液)

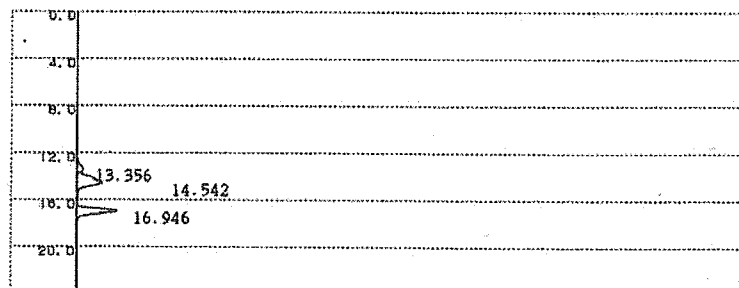


Fig.15 試料液(反応液)

ホスホジエステラーゼ

Phosphodiesterase

定 義 本品は、糸状菌 (Aspergillus niger, Penicillium citrinum) の培養物より得られた、核酸等のリン酸ジエステル結合を加水分解する酵素である。乳糖、デキストリン、ブドウ糖又はショ糖を含むことがある。

酵素特性 本品は、核酸等のリン酸ジエステル結合を加水分解してリン酸モノエステルを生成する。

ECナンバー (参考): EC3.1.30.1 Aspergillus nuclease S₁

性 状 本品は、白～濃褐色の粉末若しくは粒状又はペースト状、又は無～濃褐色の液状である。においはないか又は特異なにおいがある。

確認試験 酵素活性測定法のホスホジエステラーゼ活性測定法に準じて試験を行うとき、酵素活性を示す。

純度試験 (1) 鉛 Pbとして5.0 µg/g以下 (2.0g, 第1法)

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

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。

酵素活性測定法 酵素活性測定法のホスホジエステラーゼ活性測定法により試験を行う。但し、測定条件 (反応pH, 緩衝液の種類, 試料希釈液等) は、ホスホジエステラーゼの基原, 性質に応じて適切なものを選択する。

ホスホジエステラーゼ活性測定法

酵素を基質アデノシン-3'-モノホスフェートに作用させ、生成するリン酸を過塩素酸酸性下、リンモリブデン酸に変じ、それをアミドール試液によって還元し、生成するモリブデン青の青色を比色測定して求める方法である。

(1) 試料液

操作法により試験するとき、リン酸の増加が試料濃度に比例する範囲内の試料濃度になるように、本品に適量の水（又は適切な緩衝液、塩類溶液）を加えて溶かし試料液とする。その濃度は通例 0.09~0.43 単位/ml である。

(2) 基質溶液

あらかじめアデノシン-3'-モノホスフェート約 0.1g を精密に量り、105℃で4時間乾燥し、その減量を測定する。その換算した乾燥物 0.0183g に対応するアデノシン-3'-モノホスフェートを正確に量り、バルビタールナトリウム・塩酸緩衝液(pH5.0)10ml を加えて溶かし、メンブランフィルター(0.45 μm)でろ過する。用時調製する。

(3) リン酸検量線

リン酸水素二ナトリウム(無水)0.142g を正確に量り、水を加えて溶かし正確に 100ml(10 μmol/ml)とする。この液 1, 5, 10, 15 及び 20ml を正確に量り、水を加えてそれぞれ 100ml とする。この液 0.5ml を正確に量り、それぞれに 6%過塩素酸試液 4ml を加え、直ちに振り混ぜる。次にアミドール試液 0.4ml を加え振り混ぜた後、モリブデン酸アンモニウム試液(8.3→100)0.2ml を正確に加え振り混ぜる。この液につき、水を対照として波長 750nm における吸光度 A_1, A_2, A_3, A_4 及び A_5 を測定する。別に、水 0.5ml を量り、6%過塩素酸試液 4ml を加え振り混ぜて、以下同様に操作して得た液につき、水を対照として波長 750nm における吸光度 A_0 を測定する。横軸にそれぞれの液のリン酸濃度(μmol/ml)、縦軸に吸光度($A_n - A_0$)をとり、リン酸の検量線を作成し、リン酸のマイクロモル吸光係数(ϵ)を求める。

(4) 操作法

基質溶液 0.4ml を正確に量り試験管に入れ、70±0.5℃で正確に 5 分間放置した後、試料液 0.1ml を正確に加え、直ちに振り混ぜる。この液を 70±0.5℃で正確に 15 分間放置した後、6%過塩素酸試液 4ml を正確に加え、直ちに振り混ぜる。次にアミドール試液 0.4ml を正確に加えて振り混ぜた後、モリブデン酸アンモニウム試液(8.3→100)0.2ml を正確に加え振り混ぜ、流水中で 15 分間放置する。この液につき、水を対照として波長 750nm における吸光度(A_T)を測定する。別に基質溶液 0.4ml を正確に量り、6%過塩素酸試液 4ml を正確に加え振り混ぜ、試料液 0.1ml を正確に加えて振り混ぜ、以下同様に操作したものにつき、水を対照として波長 750nm における吸光度(A_B)を測定する。

その酵素活性の単位は、操作法の条件で試験するとき、1分間に 1 μmol のリン酸を遊離する酵素量を 1 単位とする。

$$\text{本品中の酵素活性の単位 (単位/g 又は単位/ml)} = (A_T - A_B) \times \frac{1}{\epsilon} \times \frac{5.1}{0.1} \times \frac{1}{15} \times \frac{1}{W}$$

但し、

- A_T : 酵素反応液の吸光度
- A_B : 対照液の吸光度
- ϵ : マイクロモル吸光係数
- 5.1/0.1 : 反応系総液量 (ml) / 試料液量 (ml)
- 15 : 反応時間
- W : 試料液 1 ml 中の試料の量 (g 又は ml)

(5) 試薬・試液

1) アデノシン-3'-モノホスフェート

SIGMA 製 (製品番号 A0386)

2) アミドール

例えば和光純薬工業製 (製品番号 048-23462) 又は同等品が使用できる。

3) バルビタールナトリウム

例えば和光純薬工業製 (製品番号 021-00032) 又は同等品が使用できる。注：向精神薬

4) アミドール試液

アミドール 0.50g 及び亜硫酸水素ナトリウム 10.00g を量り、水を加えて溶かし 50ml とし、ろ過する。用時調製する。

5) 1 mol/L 塩酸試液

塩酸 90ml を測り、水を加えて 1,000ml とする。

6) 塩化ナトリウム試液(8.5→100)

塩化ナトリウム 8.50g を量り、水を加えて溶かし 100ml とする。

7) 6%過塩素酸試液

過塩素酸(60%)20ml を測り、水を加えて 200ml とする。

9) 1/7mol/L バルビタールナトリウム・酢酸ナトリウム試液

バルビタールナトリウム 5.88g 及び無水酢酸ナトリウム 2.34g を量り、水を加えて溶かし、200ml とする。

10) バルビタールナトリウム・塩酸緩衝液(pH5.0)

1/7mol/L バルビタールナトリウム・酢酸ナトリウム試液 100ml 及び塩化ナトリウム試液(8.5→100)40ml を測り、水 100ml を加え、1mol/L 塩酸試液で pH5.00 に調整した後、水を加えて 500ml とする。

11) モリブデン酸アンモニウム試液(8.3→100)

モリブデン酸アンモニウム 8.30g を量り、水を加えて溶かし 100ml とする。

ホスホジエステラーゼ測定結果

品名 スクレアーゼ「アマノ」

(基原: *Penicillium citrinum* 由来)

規格項目	規 格	測定回数	製造番号		
			RPD0450704K	RPD0451205DK	RPD0752706K
性状	白～濃褐色の粉末若しくは粒状又はペースト状, 又は無～濃褐色の液状である においは無いか又は特異なにおいが有る	3回	淡褐色の粉末 においは無い	淡褐色の粉末 においは無い	淡褐色の粉末 においは無い
確認試験	酵素活性を示す	①	酵素活性を示した	酵素活性を示した	酵素活性を示した
		②	酵素活性を示した	酵素活性を示した	酵素活性を示した
		③	酵素活性を示した	酵素活性を示した	酵素活性を示した
鉛	Pb として 5.0 μg/g 以下	①	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下
		②	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下
		③	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下
ヒ素	As ₂ O ₃ として 4.0 μg/g 以下	①	4.0 μg/g 以下	4.0 μg/g 以下	4.0 μg/g 以下
		②	4.0 μg/g 以下	4.0 μg/g 以下	4.0 μg/g 以下
		③	4.0 μg/g 以下	4.0 μg/g 以下	4.0 μg/g 以下
細菌数	10,000/g 以下	①	100/g 以下	100/g 以下	100/g 以下
		②	100/g 以下	100/g 以下	100/g 以下
		③	100/g 以下	100/g 以下	100/g 以下
大腸菌	認めない	①	認めない	認めない	認めない
		②	認めない	認めない	認めない
		③	認めない	認めない	認めない
酵素活性	単位/g	①	8,320	8,660	8,090
		②	8,220	8,660	8,300
		③	8,380	8,740	8,220
		④	8,350	8,610	8,220
		⑤	8,400	8,860	8,170
		⑥	8,430	8,710	8,070
	平均 (n=6)		8,350	8,710	8,180
	標準偏差		74	88	87
	CV (%)		0.89	1.01	1.06
	最大値		8,430	8,860	8,300
最小値		8,220	8,610	8,070	

* 確認試験の方法

酵素活性測定法に準じた。

* 酵素活性測定法の測定条件

試料液：ホスホジエステラーゼ活性測定法で 0.09～0.43 単位/ml になるように本品に水を加えて溶解し、試料溶液とした。(1→30000)

基 質：アデノシン-3'-モノホスフェート SIGMA、A0386 を使用した。

ラクトパーオキシダーゼ

Lactoperoxidase

定 義 本品は、脱脂生乳又は乳清より得られた酸化還元酵素である。乳糖，デキストリン，ブドウ糖又はショ糖を含むことがある。

酵素特性 本品は、過酸化水素の存在下で供与体を酸化する。

ECナンバー（参考）： EC1.11.1.7 Peroxidase

性 状 本品は、白～緑色又は白～濃褐色の粉末若しくは粒状又はペースト状，又は無色～緑色又は無色～濃褐色の液状である。においはないか又は特異なにおいがある。

確認試験 酵素活性測定法のラクトパーオキシダーゼ活性測定法に準じて試験を行うとき，酵素活性を示す。

純度試験 (1) 鉛 Pbとして5.0 µg/g以下 (2.0g, 第1法)

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

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。

酵素活性測定法 酵素活性測定法のラクトパーオキシダーゼ活性測定法により試験を行う。但し，測定条件（反応pH，緩衝液の種類，試料希釈液等）は，ラクトパーオキシダーゼの基原，性質に応じて適切なものを選択する。

ラクトパーオキシダーゼ活性測定法

酵素を発色溶液の存在下で基質である過酸化水素に作用させ、生成した色素の呈する色調の増加量を波長 413nm で測定して求める方法である。

(1) 試料液

操作法により試験するとき、色調の増加量が試料濃度に比例する範囲内の試料濃度になるように、本品に適量の水（又は適切な緩衝液、塩類溶液）を加えて溶かし試料液とする。その濃度は通例 0.02~0.2 単位/ml である。

(2) 基質溶液

過酸化水素 70 μ l を正確に量り、水を加えて正確に 50ml とする。用時調製する。

(3) 操作法

あらかじめ分光光度計の恒温セルホルダーを $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、波長を 413nm に設定する。石英セル（層長 10mm）に 0.1mol/L クエン酸緩衝液（pH5.5）3ml、発色溶液 0.2ml をそれぞれ正確に量り、 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で 5 分から 10 分間放置した後、試料液 0.1ml を正確に加え良く混和し、直ちに分光光度計に取り付ける。反応開始後、正確に 1 分及び 3 分（又は 2 分及び 4 分）間経過したとき吸光度 A_1 、 A_2 を測定する。

別に対照として、試料液の代わりに水又は 0.1mol/L クエン酸緩衝液（pH5.5）を用いて、同様に操作して Ab_1 、 Ab_2 を測定する。

その酵素活性の単位は、操作法の条件で試験するとき、1 分間に $1 \mu\text{mol}$ の ABTS を酸化する酵素量を 1 単位として、次式より算出される。

$$\text{本品中の酵素活性の単位 (単位/g 又は単位/ml)} = \frac{(A_2 - A_1) - (Ab_2 - Ab_1)}{2} \times \frac{1}{\epsilon} \times \frac{3.35}{0.1} \times \frac{1}{W}$$

但し、

A_1 , A_2	: 反応液の吸光度
Ab_1 , Ab_2	: 対照液の吸光度
2	: 反応時間 (分)
ϵ	: 分子吸光係数(38.34)
3.35	: 反応系総液量 (ml)
0.1	: 酵素反応液量 (ml)
W	: 試料液 1 ml 中の試料量 (g 又は ml)

(6) 試薬・試液

1) 発色溶液

ABTS (2,2'-アジノビス(3-エチルベンゾチアゾリン)-6-スルホン酸) 2 アンモニウム塩 0.04115g を量り、少量の水を加えて溶解し、更に水を加えて 10ml とする。用時調製する。

2) 0.1mol/L クエン酸緩衝液 (pH5.5)

第 1 液: クエン酸 2.1g を量り、水を加えて溶かして 1,000ml とする。

第 2 液: クエン酸ナトリウム 2.9g を量り、水を加えて溶かして 1,000ml とする。

第 1 液と第 2 液を混ぜ、pH5.5 に調整する。



ラクトパーオキシダーゼ測定結果

品名 ラクトパーオキシダーゼ (Lactoperoxidase)

2003年3月

規格項目	規格	測定回数	製造番号		
			10152026	10228226	10238441
性状	本品は、白～緑色又は白～濃褐色の粉末若しくは粒状又はペースト状、又は無色～緑色又は無色～濃褐色の液状である。においはないか又は特異なにおいがある。	①	淡褐色の粉末で僅かに特異なにおいがある	淡褐色の粉末で僅かに特異なにおいがある	淡褐色の粉末で僅かに特異なにおいがある
		②	淡褐色の粉末で僅かに特異なにおいがある	淡褐色の粉末で僅かに特異なにおいがある	淡褐色の粉末で僅かに特異なにおいがある
		③	淡褐色の粉末で僅かに特異なにおいがある	淡褐色の粉末で僅かに特異なにおいがある	淡褐色の粉末で僅かに特異なにおいがある
確認試験	酵素活性を示す	①	酵素活性を示す	酵素活性を示す	酵素活性を示す
		②	酵素活性を示す	酵素活性を示す	酵素活性を示す
		③	酵素活性を示す	酵素活性を示す	酵素活性を示す
鉛	Pbとして 5.0 μg/g 以下	①	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下
		②	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下
		③	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下
ヒ素	As ₂ O ₃ として 4.0 μg/g 以下	①	4.0 μg/g 以下	4.0 μg/g 以下	4.0 μg/g 以下
		②	4.0 μg/g 以下	4.0 μg/g 以下	4.0 μg/g 以下
		③	4.0 μg/g 以下	4.0 μg/g 以下	4.0 μg/g 以下
細菌数	10,000/g 以下	①	1,000/g 以下	1,000/g 以下	1,000/g 以下
		②	1,000/g 以下	1,000/g 以下	1,000/g 以下
		③	1,000/g 以下	1,000/g 以下	1,000/g 以下
大腸菌	認めない	①	認めない	認めない	認めない
		②	認めない	認めない	認めない
		③	認めない	認めない	認めない
酵素活性	IU/g	①	370,000	300,000	280,000
		②	260,000	300,000	280,000
		③	280,000	320,000	280,000
		④	290,000	330,000	290,000
		⑤	280,000	340,000	290,000
	平均(n=5)	300,000	320,000	280,000	
	標準偏差	42778	5477	17888	
	CV(%)	14.26%	1.96%	5.59%	
最大値	370000	290000	340000		
最小値	260000	280000	300000		

* 確認試験の方法

ラクトパーオキシダーゼ活性測定法に準じた。



Kudan Vidas Bldg. 3F
1-10-9 Kudan Kita, Chiyoda-ku
Tokyo 102-0073
Japan
Telephone +81 3 5276 0441
Fax message +81 3 5276 0445
www.dmv-international.com

ラクトパーオキシダーゼ測定結果

品名 lactoperoxidase (脱脂生乳由来)

規格項目	規格	測定回数	製造番号		
			28-May-05	27-Apr-05	28-Jun-03
性状	白～緑色又は白～濃褐色の粉末若しくは粒状又はペースト状、又は無色～緑色又は無色～濃褐色の液状である。	①	淡褐色の粉末で僅かに特異なおいがある	淡褐色の粉末で僅かに特異なおいがある	淡褐色の粉末で僅かに特異なおいがある
		②	淡褐色の粉末で僅かに特異なおいがある	淡褐色の粉末で僅かに特異なおいがある	淡褐色の粉末で僅かに特異なおいがある
		③	淡褐色の粉末で僅かに特異なおいがある	淡褐色の粉末で僅かに特異なおいがある	淡褐色の粉末で僅かに特異なおいがある
確認試験	酵素活性を示す	①	酵素活性を示す	酵素活性を示す	酵素活性を示す
		②	酵素活性を示す	酵素活性を示す	酵素活性を示す
		③	酵素活性を示す	酵素活性を示す	酵素活性を示す
鉛	Pbとして 5.0 μg/g以下	①	5.0 μg/g以下	5.0 μg/g以下	5.0 μg/g以下
		②	5.0 μg/g以下	5.0 μg/g以下	5.0 μg/g以下
		③	5.0 μg/g以下	5.0 μg/g以下	5.0 μg/g以下
ヒ素	As ₂ O ₃ として 4.0 μg/g以下	①	4.0 μg/g以下	4.0 μg/g以下	4.0 μg/g以下
		②	4.0 μg/g以下	4.0 μg/g以下	4.0 μg/g以下
		③	4.0 μg/g以下	4.0 μg/g以下	4.0 μg/g以下
細菌数	10,000/g以下	①	100/g以下	100/g以下	100/g以下
		②	100/g以下	100/g以下	100/g以下
		③	100/g以下	100/g以下	100/g以下
大腸菌	認めない	①	認めない	認めない	認めない
		②	認めない	認めない	認めない
		③	認めない	認めない	認めない
酵素活性	単位/g	①	410000	220000	390000
		②	400000	230000	380000
		③	410000	240000	400000
		④	440000	240000	400000
		⑤	420000	240000	430000
	平均 (n=5)	420000	230000	400000	
	標準偏差	15165	89442	18708	
	CV (%)	3.61%	3.89%	4.68%	
最大値	440000	240000	430000		
最小値	400000	220000	380000		

* 確認試験の方法

ラクトパーオキシダーゼ活性測定法に準じた。上位二桁で丸めた。

リポキシゲナーゼ

Lipoxygenase

リポキシダーゼ

定 義 本品は、植物油粕より、又は糸状菌 (*Rhizopus*) の培養物より得られた、*cis,cis*-1,4-ペンタジエン構造を有する不飽和脂肪酸に分子状酸素を添加し、ヒドロペルオキシド基を導入する酸化還元酵素である。乳糖、デキストリン、ブドウ糖又はショ糖を含むことがある。

酵素特性 本品は、*cis,cis*-1,4-ペンタジエン構造を有する不飽和脂肪酸に分子状酸素を添加し、ヒドロペルオキシド基を導入する酸化還元酵素で、ジオキシゲナーゼに分類される。

ECナンバー (参考): EC1.13.11.12 Lipoxygenase

性 状 本品は、白～濃褐色の粉末若しくは粒状又はペースト状、又は無～濃褐色の液状である。においはないか又は特異なにおいがある。

確認試験 酵素活性測定法のリポキシゲナーゼ活性測定法に準じて試験を行うとき、酵素活性を示す。

純度試験 (1) 鉛 Pbとして5.0 $\mu\text{g/g}$ 以下 (2.0g, 第1法)

(2) ヒ素 As_2O_3 として4.0 $\mu\text{g/g}$ 以下 (0.50g, 第3法, 装置B)

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。

酵素活性測定法 酵素活性測定法のリポキシゲナーゼ活性測定法により試験を行う。但し、測定条件 (反応pH, 緩衝液の種類, 試料希釈液等) は、リポキシゲナーゼの基原, 性質に応じて適切なものを選択する。

リポキシゲナーゼ活性測定法

酵素を基質リノール酸に作用させた時、分子状酸素が導入され、その際生成するヒドロペルオキシド基の234nmにおける吸光度の増加を測定して求める方法である。

(1) 試料液

操作法により試験するとき、234nmにおける吸光度の増加が試料濃度に比例する範囲内の試料濃度になるように、本品に適量の水（又は適切な緩衝液、塩類溶液）を加えて溶かし試料液とする。試料液が濁っている場合は、ろ紙ろ過、あるいは遠心分離で清澄液を得る。その濃度は通例 100~200 単位/ml である。

(2) 基質溶液

アンモニア水 1.41ml 及びリノール酸 2.80g を 30℃に保温した 0.1mol/L 硼砂-塩酸緩衝液（pH9.0）で溶かし、正確に 100ml とする。この 0.1mol/L リノール酸アンモニウム液を、0.1mol/L 硼砂-塩酸緩衝液（pH9.0）で正確に 500 倍希釈して基質溶液とする。

(3) 操作法

基質溶液を三角フラスコに入れ、 $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に保持する。これに先端を極細にしたガラス管の先端を浸し、酸素ガスを 5 分間吹き込み、基質溶液中の溶存酸素を飽和にさせる。

この基質溶液 3ml を正確に量り、試験管に入れ、 $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で 5 分間放置した後、試料液 0.3ml を正確に加え、直ちに振り混ぜ、反応を開始する。試料液を加えた時をスタートとし、正確に 1 分後に、 $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に保持されたキュベットセルに移し、3 分後と 5 分後の波長 234nm における吸光度（ A_5 、 A_3 ）を測定する。この時の吸光度計の 0 点調整は基質溶液を用いて行う。

その酵素活性の単位は、操作法の条件で試験するとき、波長 234nm における吸光度の値を 1 分間に 0.001 増加させる酵素量を 1 単位とする。

$$\text{本品中の酵素活性の単位 (単位/g 又は単位/ml)} = \frac{(A_5 - A_3)}{2} \times \frac{1}{0.001} \times \frac{1}{W}$$

但し、

- A_5 : 酵素反応開始 5 分後の吸光度
- A_3 : 酵素反応開始 3 分後の吸光度
- 2 : 反応時間 (分)
- 0.001 : 1 単位に相当する 234nm における吸光度差
- W : 試料液 1 ml 中の試料の量 (g 又は ml)

(4) 試薬・試液

1) アンモニア水

食品添加物公定書第 7 版、C 試薬・試液等 1. 試薬・試液に記載のアンモニア水を使用する。

2) リノール酸 (試薬)

例えば、和光純薬工業株式会社製 (製品番号 128-03611) 又は同等品が使用できる。

3) 0.1mol/L 硼砂-塩酸緩衝液 (pH9.0)

硼砂 (四ホウ酸ナトリウム十水和物、試薬特級) 38.1g を量り、水を加えて 600ml とし、1 mol/L 塩酸溶液で pH9.0 に調整し、水を加えて 1,000ml とする。

リポキシゲナーゼ測定結果

品名 リポキシゲナーゼ-BOC (基原:植物(大豆)油粕由来)

規格項目	規格	測定回数	製造番号		
			310-170721	310-120100	310-170527
性状	白～濃褐色の粉末若しくは粒状又はペースト状、又は無～濃褐色の液状である。においはないか又は特異なにおいがある。	①	淡褐色の粉末で僅かに特異なにおいがある	淡褐色の粉末で僅かに特異なにおいがある	淡褐色の粉末で僅かに特異なにおいがある
		②	淡褐色の粉末で僅かに特異なにおいがある	淡褐色の粉末で僅かに特異なにおいがある	淡褐色の粉末で僅かに特異なにおいがある
		③	淡褐色の粉末で僅かに特異なにおいがある	淡褐色の粉末で僅かに特異なにおいがある	淡褐色の粉末で僅かに特異なにおいがある
確認試験	酵素活性を示す	①	酵素活性を示す	酵素活性を示す	酵素活性を示す
		②	酵素活性を示す	酵素活性を示す	酵素活性を示す
		③	酵素活性を示す	酵素活性を示す	酵素活性を示す
鉛	Pbとして 5.0 μg/g 以下	①	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下
		②	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下
		③	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下
ヒ素	As ₂ O ₃ として 4.0 μg/g 以下	①	4.0 μg/g 以下	4.0 μg/g 以下	4.0 μg/g 以下
		②	4.0 μg/g 以下	4.0 μg/g 以下	4.0 μg/g 以下
		③	4.0 μg/g 以下	4.0 μg/g 以下	4.0 μg/g 以下
細菌数	10,000/g 以下	①	100/g 以下	100/g 以下	100/g 以下
		②	100/g 以下	100/g 以下	100/g 以下
		③	100/g 以下	100/g 以下	100/g 以下
大腸菌	認めない	①	認めない	認めない	認めない
		②	認めない	認めない	認めない
		③	認めない	認めない	認めない
酵素活性 (リポキシゲナーゼ活性測定法)	単位/g	①	103,300	1,413,500	997,200
		②	105,800	1,537,100	969,700
		③	103,400	1,448,600	943,900
		④	107,000	1,459,800	900,100
		⑤	103,100	1,551,300	911,400
		⑥	103,000	1,566,600	949,600
	平均 (n=6)	104,300	1,496,200	945,300	
	標準偏差	1,701	63,396	36,060	
	CV (%)	1.63	4.24	3.81	
	最大値	107,000	1,566,600	997,200	
最小値	103,000	1,413,500	900,100		

* 確認試験の方法

リポキシゲナーゼ活性測定法に準じた。

* 酵素活性測定法の条件

試料液 : 本品に水を加えて溶解し、試料液とした。

製造番号 310-170721 (1→700)

製造番号 310-120100 (1→10,000)

製造番号 310-170527 (1→6,000)

第十三部会（製造用剤）既存添加物自主規格案検討結果報告書

日本食品添加物協会 第十三部会

1. 研究目的

高級脂肪酸の規格案を策定するための調査検討を行い、今回はステアリン酸について規格及び試験方法を策定した。更にこの規格及び試験方法の妥当性を検証すべく、市場流通品につき分析検討を行った。

2. 検討結果及び考察

規格及び試験方法、それに基づく市場流通品の分析結果を添付する。規格及び試験方法は、公定規格である日本薬局方及び医薬品添加物規格を参考に策定した。その結果、全試験項目について問題なく試験を行うことができ、規格値にも合格していた。これにより、本規格及び試験方法の妥当性が確認された。なお、赤外吸収スペクトルでの確認試験についての追加検討を行ったが、パルミチン酸の混在量で試験結果が異なる為、波形による規定も不可能であると判断して見送った。

「ステアリン酸」分析結果

研究者：日本食品添加物協会 第十三部会

		サンプル1			サンプル2			サンプル3		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
性状	白～淡黄色の粉末，薄片，粒，ろう状の塊	適	適	適	適	適	適	適	適	適
純度試験	(1)融点 56～72℃	69	69	69	68	68	69	69	69	69
	(2)酸化 194～210	196	196	197	197	197	197	197	196	197
	(3)ヨウ素化 4.0以下	0.7	0.7	0.7	0.9	0.9	0.9	0.7	0.7	0.8
	(4)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
	(5)ヒ素 2.0μg/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
乾燥減量	0.10%以下	0.05	0.02	0.01	0.00	0.03	0.03	0.03	0.01	0.04

ステアリン酸

Stearic Acid

定 義 本品は、動植物性油脂又は動植物性硬化油脂を加水分解して得られた高級脂肪酸のうち主としてステアリン酸とパルミチン酸からなる。

性 状 本品は白～淡黄色の粉末、薄片、粒、ろう状の塊である。

純度試験 (1) 融点 56～72℃

(2) 酸価 194～210

本品約1gを精密に量り、中和エタノール／エーテル混液（1：1）100mlに溶かし、これにフェノールフタレイン試液を指示薬として、30秒間持続する淡紅色を呈するに至るまで0.1mol/L水酸化カリウム溶液で滴定する。滴定中に混濁を生ずるときは、中和エタノール／エーテル混液（1：1）を追加してこれを溶かす。0.1mol/L水酸化カリウム溶液のml数aから次式により酸価を求める。

$$\text{酸価} = (a \times 5.611) / \text{試料の採取量 (g)}$$

(3) ヨウ素価 4.0以下

本品3.0gを小ガラス容器に正確に量り、500mlの共栓フラスコ中に容器と共に入れ、シクロヘキサン20mlを加えて溶かし、正確にウイス試液25mlを加え、よく混和する。密栓して遮光し20～30℃で30分間時々振り混ぜて放置する。次にヨウ化カリウム溶液（1→10）20ml及び水100mlを加えて振り混ぜた後、遊離したヨウ素を0.1mol/Lチオ硫酸ナトリウム液で滴定する（指示薬：デンプン試液1ml）。同様の方法で空試験を行う。

$$\text{ヨウ素価} = (a - b) \times 1.269 / \text{試料の採取量 (g)}$$

ただし、a：空試験における0.1mol/Lチオ硫酸ナトリウム液の消費量（ml）

b：試料を用いたときの0.1mol/Lチオ硫酸ナトリウム液の消費量（ml）

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

(5) ヒ素 As₂O₃として2.0μg/g以下（1.0g、第3法、装置B）

強熱残分 0.10%以下（1g）

2006年2月23日

研究年月日 : 平成17年1月～平成18年2月
研究者名 : 日本食品添加物協会 第二部会
三栄源エフ・エフ・アイ(株), OCI(株), (株)第一化成, ダイワ化成(株), ヤエガキ醗酵
技研(株)

アナトー色素の公定規格化の検討

目的 : 第三版既存添加物自主規格に記載の「アナトー色素」について、第8版食品添加物公定書掲載に向けた成分規格の策定を目的として、自主規格項目の見直しとそれに伴う試験法の見直しを行うと共に、その改訂規格案について、メーカー各社および第三者機関での評価を実施し妥当性の検証を行った。

検討添加物 : アナトー色素

検討方法 : 成分規格案の妥当性について第三者機関およびメーカー各社において、全規格項目の試験を実施し、結果を比較検討した。

【検討規格について】

<アナトー色素> 別紙2 参照

検討結果 : 確認試験および純度試験ともに、公定規格の試験法として妥当であると考えられる。

今後の対応 : 最終的には、「アナトー色素」については、現在の JECFA の規格 (FNP52 Add.11(2003)) は暫定であること、および継続審議中であることから、第9版公定書以降にて掲載の検討がなされることとなった。

JECFA での審議の進捗を踏まえて、第9版以降の公定書掲載のために、更に規格・試験法の検討を進める。

添付報告書

別紙1	「第8版 食品添加物公定書」新規収載候補品目概要
別紙2	「アナトー色素」規格案
別紙3-1	検証データ (ノルピキシン)
別紙3-2	検証データ (ピキシン)
別紙4	「国際規格対比表」

以上

別紙 1

「第8版 食品添加物公定書」新規候補品目概要

1. 食品添加物名

アナトー色素

2. 成分規格(案)概要

(1)ノルビキシンを主成分とするもの

規格項目	規格概要
色価	カテノイド ¹ 15.0%以上 色価 4,305 以上 表示量の 90 ~120%
性状	赤褐～暗褐色の粉末, 塊, ペースト又は液体で, わずかに特異なにおい
確認試験	
(1) 水/N,N-ジメチルホルムアミド/酢酸混液(50:50:1)での色調:黄～だいたい色	
(2) 水分を蒸発させ, 冷後これに硫酸:暗青色	
(3)分光分析:極大吸収部 波長 448～456nm と波長 476～484nm(水酸化カリウム溶液(1→200))	
(4) 液体クロマトグラフィー:移動相 アセトニトリル/酢酸(1→50)混液(65:35)、5 μ m のオクタデシルシリル化シリカゲル、測定波長 460nm、保持時間 5～10 分付近にノルビキシンの主色素成分ピーク	
純度試験	
(1)鉛(Pb)	2.0 μ g/g以下
(2)ヒ素(As ₂ O ₃)	4.0 μ g/g以下
(3)水銀	1.0 μ g/g以下
(4)残留溶媒(カテノイド ¹ 含量 15.0%に換算)	アセトン 30 μ g/g以下, 2-プロパノール 100 μ g/g以下, ヘキサン 25 μ g/g以下, メタノール 50 μ g/g以下

(2)ビキシンを主成分とするもの

規格項目	規格概要
色価	カテノイド ¹ 10.0%以上 色価 3,090 以上 表示量の 90 ~120%
性状	赤褐～暗褐色の粉末, 塊, ペースト又は液体で, わずかに特異なにおい
確認試験	
(1) 水/N,N-ジメチルホルムアミド/酢酸混液(50:50:1)での色調:黄～だいたい色	
(2) 水分を蒸発させ, 冷後これに硫酸:暗青色	
(3)分光分析:極大吸収部 波長 452～460nm と波長 482～490nm(アセトン)	
(4) 液体クロマトグラフィー:移動相 アセトニトリル/酢酸(1→50)混液(65:35)、5 μ m のオクタデシルシリル化シリカゲル、測定波長 460nm、保持時間 25～30 分付近にビキシンの主色素成分ピーク	
純度試験	
(1)鉛(Pb)	2.0 μ g/g以下
(2)ヒ素(As ₂ O ₃)	4.0 μ g/g以下
(3)水銀	1.0 μ g/g以下
(4)残留溶媒(カテノイド ¹ 含量 10.0%に換算)	アセトン 30 μ g/g以下, 2-プロパノール 100 μ g/g以下, ヘキサン 25 μ g/g以下, メタノール 50 μ g/g以下

3. 成分規格(案)

別紙のとおり

4. 国際規格 (JECFA及びCFR/FCC)の有無
有

5. 試験法検証作業完了項目
完了

以上