

酵素分解カンゾウ

既存添加物

Enzymatically Hydrolyzed Licorice Extract

定 義 本品は、カンゾウ抽出物(ウラルカンゾウ(*Glycyrrhiza uralensis* Fischer), チョウカカンゾウ(*Glycyrrhiza inflata* Batalin), ヨウカンゾウ(*Glycyrrhiza glabra* Linné), 又はそれらの近縁植物の根又は根茎から得られた, グリチルリチン酸を主成分とするものをいう。)を酵素分解して得られたものである。主成分はグリチルレチン酸-3-グルクロニドである。

含 量 本品を乾燥したものは, グリチルレチン酸-3-グルクロニド($C_{36}H_{54}O_{10}$ =646.81)とグリチルリチン酸($C_{42}H_{62}O_{16}$ =822.93)の和として 40.0%以上を含み, グリチルレチン酸-3-グルクロニドとグリチルリチン酸の和の 25%以上は, グリチルレチン酸-3-グルクロニドである。

性 状 本品は, 白~黄褐色の粉末である。

確認試験 本品につき, 定量法の操作条件で高速液体クロマトグラフィーを行うとき, 検液の主ピークの保持時間は, 標準液のグリチルレチン酸-3-グルクロニドとグリチルリチン酸のピークの保持時間と一致する。

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

乾燥減量 8.0%以下(105°C, 1時間)

強熱残分 15.0%以下

定 量 法 本品を乾燥し, その約 0.1g を精密に量り, 50vol%エタノールに溶かし, 正確に 100mL とし, 検液とする。別に定量用グリチルレチン酸-3-グルクロニド(別途水分を測定しておく)約 20mg 及びグリチルリチン酸標準品(別途水分を測定しておく)約 20mg を精密に量り, 50vol%エタノールに溶かし, 正確に 100mL とし, 標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ $20 \mu\text{L}$ ずつ量り, 次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行う。検液及び標準液の, グリチルレチン酸-3-グルクロニド並びにグリチルリチン酸のピーク面積 A_T , A_S 並びに A_T' , A_S' を測定し, 次式により含量を求める。

グリチルレチン酸-3-グルクロニド($C_{36}H_{54}O_{10}$)の含量(%)

$$= \frac{\text{無水物換算した定量用グリチルレチン酸-3-グルクロニドの採取量(g)} \quad A_T}{\text{試料の採取量(g)} \quad A_S} \times \frac{\quad}{\quad} \times 100$$

グリチルリチン酸($C_{42}H_{62}O_{16}$)の含量(%)

$$= \frac{\text{無水物換算したグリチルリチン酸標準品の採取量(g)} \quad A_T'}{\text{試料の採取量(g)} \quad A_S'} \times \frac{\quad}{\quad} \times 100$$

$$\text{構成比率(\%)} = \frac{\text{グリチルレチン酸-3-グルクロニドの含量}}{\text{グリチルレチン酸-3-グルクロニドの含量} + \text{グリチルリチン酸の含量}} \times 100$$

操作条件

検出器 紫外吸光光度計(測定波長 254nm)

カラム充てん剤 5~10 μ mの液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲル

カラム管 内径4~6mm, 長さ15~30cmのステンレス管

カラム温度 42°C

移動相 2%酢酸/アセトニトリル混液(1:1)

流量 グリチルレチン酸-3-グルクロニドの保持時間が約15分になるように調整する。

カラム選定 定量用グリチルレチン酸-3-グルクロニド5mg, 薄層クロマトグラフィー用グリチルリチン酸5mg及び「パラオキシ安息香酸プロピル」1mgを50%エタノールに溶かして20mLとする。この液20 μ Lにつき, 上記の操作条件で試験するとき, グリチルリチン酸, パラオキシ安息香酸プロピル, グリチルレチン酸-3-グルクロニドの順に溶出し, それぞれのピークが完全に分離するものを用いる。

[試薬・試液]

グリチルレチン酸-3-グルクロニド, 定量用

性状 本品は, 白色の結晶性の粉末である。

確認試験 本品約5mgを量り, 50vol%エタノール20mLに溶かし, 検液とする。検液2 μ Lにつき1-ブタノール/水/酢酸混液(7:2:1)を展開溶媒として薄層クロマトグラフィーを行うとき, Rf値約0.45付近に暗紫色のスポットを認める。ただし, 薄層板は, 担体として, 薄層クロマトグラフィー用シリカゲル(蛍光剤入り)を使用する。展開溶媒の先端が原線より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。

純度試験 (1) 水分 3.0%以下(0.1g)

(2) 類縁物質 本品10mgを50vol%エタノール20mLに溶かし, 検液とする。検液5mLを正確に量り, 50vol%エタノールを加えて正確に100mLとし, 比較液とする。検液及び比較液をそれぞれ20 μ Lずつ量り, 次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行い, ピーク面積を測定するとき, 検液の主ピーク以外のピークの合計面積は, 比較液の主ピーク面積より大きくない。ただし, 面積測定範囲は, 溶媒ピークの後ろから, 主ピークの保持時間の3倍までとする。

操作条件 「酵素分解カンゾウ」の定量法の操作条件を準用する。

定量用グリチルレチン酸-3-グルクロニド グリチルレチン酸-3-グルクロニド, 定量用を見よ。

規格対比表及び規格設定根拠

1.成分規格名：酵素分解カンゾウ

2.規格対比表

項目	第 9 版規格 (案)	第 4 版既存添加物自主規格
名称	酵素分解カンゾウ	酵素分解カンゾウ
含量	本品を乾燥したものは、グリチルレチン酸-3-グルクロニド($C_{36}H_{54}O_{10}=646.81$)とグリチルリチン酸($C_{42}H_{62}O_{16}=822.93$)の和として40.0%以上を含み、グリチルレチン酸-3-グルクロニドとグリチルリチン酸の和の25%以上は、グリチルレチン酸-3-グルクロニドである。	本品を乾燥したものは、グリチルレチン酸-3-グルクロニド($C_{36}H_{54}O_{10}=646.81$)とグリチルリチン酸($C_{42}H_{62}O_{16}=822.93$)の和として40.0%以上を含み、グリチルレチン酸-3-グルクロニドとグリチルリチン酸の和の25%以上は、グリチルレチン酸-3-グルクロニドである。
性状	本品は、白～黄褐色の粉末である。	本品は、白～黄褐色の粉末である。
確認試験	本品につき、定量法の操作条件で高速液体クロマトグラフィーを行うとき、検液の主ピークの保持時間は、標準液のグリチルレチン酸-3-グルクロニドとグリチルリチン酸のピークの保持時間と一致する。	本品 5～10mg を量り、50vol%エタノール 10ml に溶かし、検液とする。別に定量用グリチルレチン酸-3-グルクロニド及び薄層クロマトグラフィー用グリチルリチン酸 5mg を 50vol%エタノール 10ml に溶かし、対照液とする。これらの液の 2 μ l につき 1-ブタノール/水/酢酸混液(7:2:1)を展開溶媒として薄層クロマトグラフィーを行うとき、検液から得た数個のスポットの内 2 個は、対照液から得た 2 個の暗紫色のスポットと色調及び R _f 値が等しい。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(蛍光剤入り)を使用する。展開溶媒の先端が原線より 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。
純度試験		
(1) 鉛(Pb として)	2.0 μ g/g以下(5.0g, 第1法)	—
(2) ヒ素(As ₂ O ₃ として)	4.0 μ g/g以下(0.50g, 第3法, 装置B)	4.0 μ g/g以下(0.50g, 第3法, 装置B)
重金属(Pb として)	—	Pb として 10 μ g/g 以下(2.0g, 第 2 法, 比較液 鉛標準液 2.0ml)
乾燥減量	8.0%以下(105℃, 1 時間)	8.0%以下(105℃, 1 時間)
強熱残分	15.0%以下	15.0%以下
定量法	液体クロマトグラフィーの絶対検量線法	液体クロマトグラフィーの絶対検量線法

3.規格設定の根拠

- ① 定義は、第 9 版食品添加物公定書原案作成要領に従い、既存添加物リストの定義及び基原・製法・本質に準じて設定した。
- ② 含量は、第 4 版既存添加物自主規格での含量規格と同様にグリチルレチン酸-3-グルクロニドとグリチルリチン酸の和として 40.0%以上を含み、グリチルレチン酸-3-グルクロニドとグリチルリチン酸の和の 25%以上は、グリチルレチン酸-3-グルクロニドである、と設定した。

- ③ 性状は、市場流通している原体の性状を調査し決定した。
- ④ 確認試験は、第4版既存添加物自主規格で用いていた薄層クロマトグラフィーに代えて、定量法で用いている高速液体クロマトグラフィーによる方法を採用した(第9版食品添加物公定書原案作成要領案3.11.3 確認試験の簡略化に基づく)。試験は本品のピークの保持時間を標準物質と比較することにより行うものである。
- ⑤ 純度試験
- (1) 鉛 第4版既存添加物自主規格では重金属規格を設定したが、第9版案ではこれを鉛規格へ変更した。JECFAの一般的な規格値に合わせて「鉛 (Pb) 2.0 μ g/g以下」の規格を設定した。
- (2) ヒ素 公定書の一般的な規格に準じ「4.0 μ g/g 以下」と設定した。
- ⑥ 乾燥減量
- 市場流通している本品の乾燥減量は8.0%以下であるので、これを規格として設定した。
- ⑦ 強熱残分
- 本品は、「カンゾウ抽出物」を酵素分解して得られたものであることから、「カンゾウ抽出物」の強熱残分15.0%以下に準じて設定した。これは、第4版既存添加物自主規格と同様の設定である。
- ⑧ 定量法
- 第8版食品添加物公定書の「カンゾウ抽出物」の含量試験では、液体クロマトグラフィーによるグリチルリチン酸の定量法が採用されている。本品の主成分はグリチルリチン酸及びその構造近似物質のグリチルレチン酸-3-グルクロニドのため、「カンゾウ抽出物」の方法に準じ液体クロマトグラフィーによる方法を採用した。これは第4版既存添加物自主規格で設定した方法と同一である。

以上

別紙3

酵素分解カンゾウ： 第9版食品添加物公定書 規格裏付けデータ

項目		規格値	ロット	00605022	11102023
			繰返し		
含量	グリチルレチン酸・3- グルクロニド +グリチルリチン酸	40.0%以上	1	57.1%	56.4%
			2	57.3%	56.3%
			3	57.2%	56.2%
			4	57.3%	56.6%
			5	57.4%	56.4%
			6	57.4%	56.4%
			平均	57.3%	56.4%
	グリチルレチン酸・3- グルクロニドの割合	25%以上	1	34.0%	33.9%
			2	34.2%	33.8%
			3	34.1%	33.7%
			4	34.2%	34.1%
			5	34.3%	33.9%
			6	34.3%	33.8%
			平均	34.2%	33.9%
性状		白～黄褐色の粉末である	1	黄褐色の粉末	黄褐色の粉末
			2	黄褐色の粉末	黄褐色の粉末
			3	黄褐色の粉末	黄褐色の粉末
確認試験(HPLC)		保持時間が標品と一致する	1	標品と一致する	標品と一致する
			2	標品と一致する	標品と一致する
			3	標品と一致する	標品と一致する
純度試験	鉛	Pbとして 2.0 μg/g 以下	1	2.0 μg/g 以下	2.0 μg/g 以下
			2	2.0 μg/g 以下	2.0 μg/g 以下
			3	2.0 μg/g 以下	2.0 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
			2	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
乾燥減量		8.0%以下	1	5.7%	4.4%
			2	5.6%	4.5%
			3	5.7%	4.5%
			平均	5.7%	4.5%
強熱残分		15.0%以下	1	9.9%	10.6%
			2	10.1%	10.9%
			3	10.0%	10.8%
			平均	10.0%	10.8%

別紙 4

既存添加物名簿番号 (176)

品名	名称	酵素分解カンゾウ (「カンゾウ抽出物」を酵素分解して得られた,グリチルレチン3-0-グルクロニドを主成分とするものをいう。)
	別名	酵素分解甘草, 甘草甘味料
簡略名又は類別名		カンゾウ
英名		Enzymatically hydrolyzed licorice extract
基原・製法・本質		「カンゾウ抽出物」を, 酵素分解して得られたものである。主甘味成分はグリチルレチン酸-3-グルクロニドである。
用途		甘味料
概要		カンゾウ抽出物の成分であるグリチルリチンにβ-グルクロニターゼを作用させ, 1モルのグルクロン酸を除去するよう部分加水分解して得られた, グリチルレチンモノグルクロニドである。
性状		白色～淡黄色の粉末で, においがなく, 強い持続性のある甘味がある。
品質特性		グリチルリチンの約5倍, 砂糖の約1000倍の甘味を有する。耐熱性に優れ, 耐光性, 耐酸性も良好である。グリチルリチンと同様塩かどを取り塩なれ効果を有する。
溶解性		水に溶けやすく, エタノールに極めて溶けにくく, 希エタノールに溶けやすい。
使用上の注意		酸性域でゲルを形成するか沈殿を生じる。
保存上の注意		高温多湿を避ける。
主な使用対象食品		醤油, 味噌, 漬物, 佃煮, 珍味, 練り製品, 各種飲料, 氷菓, 乳製品, ココア製品, 卵製品等
備考		国内規格: 「日添協・自主規格」

L-ラムノース

研究者所属：アルプス薬品工業株式会社

1. 緒言

本報告は、既存添加物「L-ラムノース」について、アルプス薬品工業株式会社にて、第 9 版食品添加物公定書新規収載既存添加物候補品目の成分規格案策定結果を基にまとめたものである。

2. 目的

第 9 版食品添加物公定書新規収載候補品目として成分規格案を作成する。

3. 検討経過・内容

「L-ラムノース」の規格について、第 3 版既存添加物自主規格収載の規格を一部修正した案に基づき国立医薬品食品衛生研究所での実験的検証が行われ、同案は妥当であるとの見解が得られ、カテゴリー4(検証結果に基づき規格を改善することで第 9 版の新規収載候補になる。)に分類された。

第 4 版既存添加物自主規格では、本品が持っている水和水の取扱い方を見直し、水分規格を乾燥減量規格に改め明確にした。

その後、実験的検証からのコメント及び実情を勘案した見直しを行い(旋光度測定の見直し、塩化物、重金属規格の省略、鉛規格の追加等)、「平成 21 年度 食品・添加物等規格基準に関する試験検査等の実施について」で報告した。

更に第 9 版食品添加物公定書原案作成要領に従った見直しを行い第 9 版食品添加物公定書収載案を作成した。ここでの大きな見直しは確認試験の簡略化であり、方法を TLC によるものから、定量法で用いている HPLC によるものに改めた。

4. 成分規格案

別紙 1 に示す。

5. 今後の課題

定義、基原は、「・・・又は大豆油、菜種油若しくはコーン油を発酵、濃縮分離して得られたものを、・・・」となっている。国立医薬品食品衛生研究所の見解でも述べられているように、定義のこの部分は科学的知見から見て「正しい」表記となっているかどうか疑問がある。現在の製造工程に合わせ、改めて定義を検討する必要があるのではなかろうか。

以上

「第9版 食品添加物公定書」新規収載候補品目資料

1. 成分規格名(食品添加物名)

L-ラムノース

2. 成分規格(案)概要

規格項目	規格概要
定義	本品は、ルチン(抽出物)(アズキ(<i>Vigna angularis</i> Ohwi et H. Ohashi)の全草、エンジュ(<i>Sophora japonica</i> Linné)のつぼみ若しくは花又はソバ(<i>Fagopyrum esculentum</i> Moench)の全草から得られた、ルチンを主成分とするものをいう。)又はミカン科アマダイダイ(<i>Citrus sinensis</i> Osbeck)若しくはミカン科ウンシュウミカン(<i>Citrus unshiu</i> Marcov.)の果皮、樹皮若しくは花に含まれる配糖体、又は大豆油、菜種油若しくはコーン油を発酵、濃縮分離して得られたものを、加水分解し、分離して得られたものである。成分はL-ラムノースである。
含量	本品を乾燥したものは、L-ラムノース(C ₆ H ₁₂ O ₅ ・H ₂ O)98.0～101.5%を含む。
性状	本品は、白色の結晶又は結晶性の粉末で、においがなく又はわずかににおいがあり、味は甘い。
確認試験	
本品につき、定量法の操作条件で高速液体クロマトグラフィーを行うとき、検液の主ピークの保持時間は、標準液のL-ラムノースのピークの保持時間と一致する。	
示性値	
比旋光度	$[\alpha]_D^{20} = +7.7 \sim +8.6$ (乾燥後, 2g, 水, 50mL, 約1時間後に測定)
純度試験	
(1) 溶状	無色, 澄明(1g, 水10mL)
(2) 硫酸塩 (SO ₄ として)	0.048%以下(0.50g, 比較液 0.005mol/L硫酸0.50mL)
(3) 鉛 (Pbとして)	2.0 μg/g以下(5.0g, 第1法)
(4) ヒ素 (As ₂ O ₃ として)	2.0 μg/g以下(1.0g, 第3法, 装置B)
乾燥減量	0.25%以下(24時間)
強熱残分	0.10%以下(500～550℃, 3時間)
定量法	液体クロマトグラフィーの絶対検量線法

3. 成分規格(案)

別紙1のとおり

4. 国際規格等(JECFA, FCC, 日局, 局外規, 外原規, 薬添規, 及び第4版既存添加物自主規格)の有無及び規格設定の根拠

別紙2のとおり

国際規格等: 第4版既存添加物自主規格

5. 試験法検証作業完了項目

性状, 示性値, 純度試験(1)・(2), 強熱残分, 定量法

6. 裏付け資料

別紙3のとおり

7. 特性, 溶解性, 用途等

別紙4(既存添加物名簿収載品目リスト注解書(日本食品添加物協会))のとおり

8. 特記事項

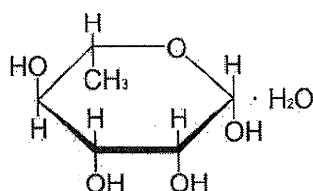
定義は、「・・・又は大豆油、菜種油若しくはコーン油を発酵、濃縮分離して得られたものを、・・・」としている。この部分は科学的知見から見て「正しい」表記となっているかどうか疑問がある(国衛研の見解)。現在の製造工程に合わせて改めて定義を検討する必要があるのではなかろうか。

以上

L-ラムノース

既存添加物

L-Rhamnose

 $C_6H_{12}O_5 \cdot H_2O$

分子量 182.17

L-Rhamnose monohydrate [3615-41-6]

定 義 本品は、ルチン(抽出物)(アズキ(*Vigna angularis* Ohwi et H. Ohashi)の全草, エンジュ(*Sophora japonica* Linné)のつぼみ若しくは花又はソバ(*Fagopyrum esculentum* Moench)の全草から得られた, ルチンを主成分とするものをいう。)又はミカン科アマダイダイ(*Citrus sinensis* Osbeck)若しくはミカン科ウンシュウミカン(*Citrus unshiu* Marcov.)の果皮, 樹皮若しくは花に含まれる配糖体, 又は大豆油, 菜種油若しくはコーン油を発酵, 濃縮分離して得られたものを, 加水分解し, 分離して得られたものである。成分はL-ラムノースである。

含 量 本品を乾燥したものは, L-ラムノース($C_6H_{12}O_5 \cdot H_2O$)98.0~101.5%を含む。

性 状 本品は, 白色の結晶又は結晶性の粉末で, においがなく又はわずかににおいがあり, 味は甘い。

確認試験 本品につき, 定量法の操作条件で高速液体クロマトグラフィーを行うとき, 検液の主ピークの保持時間は, 標準液のL-ラムノースのピークの保持時間と一致する。

示 性 値 比旋光度 $[\alpha]_D^{20} = +7.7 \sim +8.6^\circ$ (乾燥後, 2g, 水, 50mL, 約1時間後に測定)

純度試験 (1) 溶状 無色, 澄明(1g, 水 10mL)

(2) 硫酸塩 SO_4 として0.048%以下(0.50g, 比較液 0.005mol/L硫酸 0.50mL)

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

(4) ヒ素 As_2O_3 として $2.0 \mu\text{g/g}$ 以下(1.0g, 第1法, 装置B)

乾燥減量 0.25%以下(24時間)

強熱残分 0.10%以下(500~550°C, 3時間)

定 量 法 本品及び定量用L-ラムノースを乾燥し, それぞれ約0.5gを精密に量り, それぞれをアセトニトリル/水混液(4:1)に溶かし, 正確に50mLとし, 検液及び標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ $10 \mu\text{L}$ ずつ量り, 次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行う。検液及び標準液のL-ラムノースのピーク面積 A_T 及び A_S を測定し, 次式により含量を求める。

L-ラムノース($C_6H_{12}O_5 \cdot H_2O$)の含量(%)

$$= \frac{\text{定量用 L-ラムノースの採取量(g)}}{\text{試料の採取量(g)}} \times \frac{A_T}{A_S} \times 100$$

操作条件

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 約 $5\mu\text{m}$ の液体クロマトグラフィー用アミノ基結合型シリカゲル

カラム管 内径 $4\sim 6\text{mm}$ 、長さ $15\sim 30\text{cm}$ のステンレス管

カラム温度 35°C 付近の一定温度

移動相 アセトニトリル/水混液(4:1)

流量 L-ラムノースの保持時間が約 8 分になるように調整する。

カラムの選定 定量用 L-ラムノース 0.8g 及びスクロース 0.08g をアセトニトリル/水混液(4:1) 50mL に溶かす。この液 $20\mu\text{L}$ につき、上記の操作条件で試験するとき、L-ラムノース、スクロースの順に溶出し、それぞれのピークが完全に分離するものを用いる。

試薬・試液

定量用 L-ラムノース L-ラムノース、定量用を見よ。

L-ラムノース、定量用 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_5 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 本品は、白色の結晶である。

純度試験 (1) 比旋光度 $[\alpha]_D^{20} = +7.7\sim +8.6^\circ$ (乾燥後, 2g , 水, 50mL , 約 1 時間後に測定)

(2) 類縁物質 本品 0.5g をアセトニトリル/水混液(4:1) 50mL に溶かし、検液とする。検液 1mL を正確に量り、アセトニトリル/水混液(4:1)を加えて正確に 100mL とし、比較液とする。検液及び比較液をそれぞれ $20\mu\text{L}$ ずつ量り、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、ピーク面積を測定するとき、検液の主ピーク以外のピークの合計面積は、比較液の主ピーク面積より大きくない。ただし、面積測定範囲は、主ピークの保持時間の 2 倍までとする。

操作条件 「L-ラムノース」の定量法の操作条件を準用する。

スクロース $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ [K 8383]

規格対比表及び規格設定根拠

1.成分規格名：L-ラムノース

2.規格対比表

項目	第9版規格(案)	第4版既存添加物自主規格
名称	L-ラムノース	L-ラムノース
含量	本品を乾燥したものは、L-ラムノース(C ₆ H ₁₂ O ₅ ・H ₂ O)98.0～101.5%を含む。	本品を乾燥したものは、L-ラムノース(C ₆ H ₁₂ O ₅ ・H ₂ O)98.0～101.5%を含む。
性状	本品は、白色の結晶又は結晶性の粉末で、においがなく又はわずかににおいがあり、味は甘い。	本品は、白色の結晶又は結晶性の粉末で、においはないか又はわずかににおいがあり、味は甘い。
確認試験	本品につき、定量法の操作条件で高速液体クロマトグラフィーを行うとき、検液の主ピークの保持時間は、標準液のL-ラムノースのピークの保持時間と一致する。	本品 0.20g を水 10ml に溶かし、検液とする。別に、定量用 L-ラムノース 0.20g を水 10ml に溶かし、対照液とする。検液及び対照液の 2 μl を量り、アセトン/1-ブタノール/水混液(5:4:1)を展開溶媒として薄層クロマトグラフィーを行うとき、検液は対照液と同じ R _f 値に青色スポットを認める。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約 10cm の高さに上昇したとき展開をやめ、風乾した後、ナフトレゾルシン・リン酸試液を均等に噴霧し、80℃で 10 分間加熱した後、観察する。
示性値		
比旋光度	$[\alpha]_D^{20} = +7.7 \sim +8.6^\circ$ (乾燥後, 2g, 水, 50mL, 約1時間後に測定)	—
純度試験		
(1) 溶状	無色, 澄明(1g, 水10mL)	無色, 澄明(1g, 水, 10ml)
(2) 硫酸塩(SO ₄ として)	0.048%以下(0.50g, 比較液 0.005mol/L硫酸 0.50mL)	0.048%以下(0.50g, 比較液 0.005mol/L硫酸 0.50ml)
(3) 鉛(Pbとして)	2.0 μg/g以下(5.0g, 第1法)	—
(4) ヒ素(As ₂ O ₃ として)	2.0 μg/g以下(1.0g, 第1法, 装置B)	2.0 μg/g以下(1.0g, 第1法, 装置B)
比旋光度	—	$[\alpha]_D^{20} = +7.7 \sim +8.6^\circ$ (乾燥後, 2.25 g, 水, 50ml, 約 1 時間後に測定)
塩化物(Clとして)	—	0.047%以下(0.30g, 比較液 0.01mol/L 塩酸 0.40ml)
重金属(Pbとして)	—	10 μg/g 以下(1.0g, 第 1 法, 比較液 鉛標準液 1.0ml)
乾燥減量	0.25%以下(24 時間)	0.25%以下(24 時間)
強熱残分	0.10%以下(500～550℃, 3 時間)	0.10%以下(500～550℃, 3 時間)
定量法	液体クロマトグラフィーの絶対検量線法	液体クロマトグラフィーの絶対検量線法

3.規格設定の根拠

① 定義は、第9版食品添加物公定書原案作成要領に従い、既存添加物リストの定義及び基原・製法・本質

に準じて設定した。

- ② 含量:L-ラムノースは、植物に含まれる配糖体を加水分解して得られる糖である。加水分解後、糖以外の成分は水に溶解しないためろ過により除去される。得られた水溶液を濃縮し、L-ラムノースの結晶を生成させ、母液を分離することにより含量が高くなる。

第4版既存添加物自主規格での含量規格と同様に98.0～101.5%と設定した。

- ③ 性状は、市場流通している原体の性状を調査し決定した。
- ④ 確認試験は、第4版既存添加物自主規格で用いていた薄層クロマトグラフィーに代えて、定量法で用いている高速液体クロマトグラフィーによる方法を採用した(第9版食品添加物公定書原案作成要領案3.11.3 確認試験の簡略化に基づく)。試験は本品のピークの保持時間を標準物質と比較することにより行うものである。

- ⑤ 示性値

比旋光度 L-ラムノースは不斉炭素原子を持ち旋光性を示す。本品の含量規格は98.0～101.5%であり不純物が少なく、旋光度は示性値として物質の特定に利用できる。第4版既存添加物自主規格では純度試験の項目としていたが第9版案では示性値の項目を設けた。

- ⑥ 純度試験

- (1) 溶状 製造工程中に活性炭を用いた脱色工程があり、その際のろ過不良を確認するために設定した。
- (2) 硫酸塩 製造工程中で硫酸を使用しているため硫酸が除去されていることを確認する目的で設定した。また、第4版既存添加物自主規格では塩化物規格を設定していたが、製造工程の改良で塩化物を使用しない工程としたので設定の根拠が薄くなり省略した。
- (3) 鉛 第4版既存添加物自主規格では重金属の規格を設定したが、第9版案ではこれを鉛規格へ変更した。JECFAの一般的な規格値に合わせて「鉛(Pb)2.0 μg/g以下」の規格を設定した。
- (4) ヒ素 本品は植物成分に含まれる配糖体がある程度精製したものから、加水分解、精製の工程を経て得られるものであり、ヒ素混入の可能性は極めて低い。公定書の最も一般的な規格に準じ「2.0 μg/g以下」と設定した。

- ⑦ 乾燥減量

本品は水溶液から単離されるので、付着水分の測定が必要である。本品は一分子の水和水を持つが、乾燥減量試験は付着水のみを量る試験である。市場流通している本品の乾燥減量は0.25%以下であるので、これを規格として設定した。

- ⑧ 強熱残分

公定書の一般的な規格に準じ「0.10%以下」と設定した。

- ⑨ 定量法

糖の定量分析に一般的に用いられる液体クロマトグラフィーを用いる定量法を設定した。

以上

別紙3

レラムノース：第9版食品添加物公定書 規格裏付けデータ

項目	規格値	ロット	6C22T	6C23T	6C24T	
		繰返し				
含量	98.0～101.5%	1	100.5%	98.5%	99.1%	
		2	99.7%	100.6%	98.9%	
		3	99.9%	98.8%	99.0%	
		4	98.6%	99.2%	100.7%	
		5	99.0%	99.9%	98.8%	
		6	98.6%	99.8%	98.8%	
		平均	99.4%	99.5%	99.2%	
性状	白色の結晶又は結晶性の粉末で、においはないか、又はわずかににおいがあり、味は甘い。	1	白色の結晶で、においはなく、味は甘い	白色の結晶で、においはなく、味は甘い	白色の結晶で、においはなく、味は甘い	
		2	白色の結晶で、においはなく、味は甘い	白色の結晶で、においはなく、味は甘い	白色の結晶で、においはなく、味は甘い	
		3	白色の結晶で、においはなく、味は甘い	白色の結晶で、においはなく、味は甘い	白色の結晶で、においはなく、味は甘い	
確認試験 (HPLC)	保持時間が標品と等しい	1	標品と等しい	標品と等しい	標品と等しい	
		2	標品と等しい	標品と等しい	標品と等しい	
		3	標品と等しい	標品と等しい	標品と等しい	
示性値	比旋光度 $[\alpha]_D^{20} = +7.7 \sim +8.6^\circ$	1	+8.1°	+8.2°	+8.1°	
		2	+8.1°	+8.1°	+8.1°	
		3	+8.1°	+8.1°	+8.1°	
純度試験	溶状	無色、澄明	1	無色、澄明	無色、澄明	無色、澄明
			2	無色、澄明	無色、澄明	無色、澄明
			3	無色、澄明	無色、澄明	無色、澄明
	硫酸塩	SO ₄ として 0.048%以下	1	0.048%以下	0.048%以下	0.048%以下
			2	0.048%以下	0.048%以下	0.048%以下
			3	0.048%以下	0.048%以下	0.048%以下
	鉛	Pbとして 2.0μg/g以下	1	2.0μg/g以下	2.0μg/g以下	2.0μg/g以下
			2	2.0μg/g以下	2.0μg/g以下	2.0μg/g以下
			3	2.0μg/g以下	2.0μg/g以下	2.0μg/g以下
	ヒ素	As ₂ O ₃ として 2.0μg/g以下	1	2.0μg/g以下	2.0μg/g以下	2.0μg/g以下
			2	2.0μg/g以下	2.0μg/g以下	2.0μg/g以下
			3	2.0μg/g以下	2.0μg/g以下	2.0μg/g以下
乾燥減量	0.25%以下	1	0.00%	0.00%	0.00%	
		2	0.00%	0.06%	0.00%	
		3	0.00%	0.02%	0.05%	
		平均	0.00%	0.03%	0.02%	
強熱残分	0.10%以下	1	0.00%	0.02%	0.00%	
		2	0.00%	0.00%	0.00%	
		3	0.00%	0.00%	0.03%	
		平均	0.00%	0.01%	0.01%	

別紙 4

既存添加物名簿番号 (465)

品名	名称	L-ラムノース
	別名	
簡略名又は類別名		ラムノース
英名		L-Rhamnose
基原・製法・本質		「ルチン(抽出物)」又はミカン科アマダイダイ (<i>Citrus sinensis</i> OSBECK) 若しくはミカン科ウンシュウミカン (<i>Citrus unshiu</i> MARCOV.) の果皮、樹皮若しくは花に含まれる配糖体、または大豆油、菜種油若しくはコーン油を発酵、濃縮分離して得られたものを、加水分解し、分離して得られたものである。
用途		甘味料
概要		「ルチン(抽出物)」またはミカン科アマダイダイもしくはミカン科ウンシュウミカンの果皮、樹皮もしくは花に含まれる配糖体、または大豆油もしくはコーン油を発酵、濃縮分離して得られたものを加水分解し、分離精製して得られたものであり、6炭糖(C ₆ H ₁₂ O ₆ , 分子量164.16)である。
性状		白色の結晶又は結晶性粉末で、ほとんどにおいはない。
品質特性		グルコースとほぼ同等の甘味を呈し、甘味料として利用される他、アミノ酸、たん白質と熱反応して香気を生成するプロセスフレーバーの原料となる。
溶解性		水に溶けやすく、無水エタノールにやや溶けやすく、エーテルにほとんど溶けない。
使用上の注意		
保存上の注意		気密容器に保存する。
主な使用対象食品		食肉製品、菓子類、魚肉製品等
備考		

第二部会(着色料)

第 9 版食品添加物公定書新規収載既存添加物及び一般飲食品添加物候補品目
の成分規格整備に関する調査研究報告

日本食品添加物協会 第二部会
研究者所属 対象品目に記載

1. 目的

第 9 版食品添加物公定書新規収載既存添加物及び一般飲食品添加物候補品目

2. 検討対象既存添加物・一般飲食品添加物

〔既存添加物〕

○アナトー色素	研究者所属：	三栄源エフ・エフ・アイ株式会社 ダイワ化成株式会社 OCI 株式会社 株式会社第一化成 キリヤ化学株式会社 ヤエガキ醗酵技研株式会社
○カカオ色素	研究者所属：	三井製糖株式会社 グリコ栄養食品株式会社
○カロブ色素	研究者所属：	株式会社タイショーテクノス
○コウリヤン色素	研究者所属：	OCI 株式会社 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社
○タマネギ色素	研究者所属：	OCI 株式会社 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社
○タマリンド色素	研究者所属：	ヤエガキ醗酵技研株式会社
○紅麹黄色素	研究者所属：	ヤエガキ醗酵技研株式会社
〔一般飲食品添加物〕		
○赤ダイコン色素	研究者所属	理研ビタミン株式会社 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社 三菱化学フーズ株式会社 ヤエガキ醗酵技研株式会社
○エルダベリー色素	研究者所属	日農化学工業株式会社 長谷川香料株式会社 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社
○シソ色素	研究者所属	日農化学工業株式会社 保土谷化学工業株式会社
○ブドウ果汁色素	研究者所属	癸巳化成株式会社 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社

3. 成分規格案

各既存添加物・一般飲食品添加物の説明に記載のとおり

なお、本研究については、2011 年 2 月 18 日時点の規格案で報告する。アナトー色素
及びカロブ色素については進捗途中である。

以上

「第9版 食品添加物公定書」新規収載候補品目資料

研究年月日：2010年4月～2011年2月17日

研究者名：日本食品添加物協会 第二部会

三栄源エフ・エフ・アイ株式会社

ダイワ化成株式会社

OCI株式会社

株式会社第一化成

キリヤ化学株式会社

ヤエガキ醗酵技研株式会社

1. 成分規格名(食品添加物名)

アナトー色素

2. 成分規格(案)概要

規格項目	規格概要
定義	本品は、ベニノキ(<i>Bixa orellana</i> Linné)の種子の被覆物から得られたもので、ノルビキシンを主成分とするものとビキシンを主成分とするものがあり、それぞれをノルビキシン及びビキシンと称する。
含量(色価)	ノルビキシン：本品は、ノルビキシン($C_{24}H_{28}O_4$)が15%(含量1%=色価($E_{1cm}^{10\%}$)287として)以上で、表示量の90～120%を含む。 ビキシン：本品は、ビキシン($C_{25}H_{30}O_4$)が25%(含量1%=色価($E_{1cm}^{10\%}$)309として)以上で、その表示の90～120%を含む。
性状	ノルビキシン：本品は、赤褐～暗褐色の粉末、塊、ペースト又は液体で、わずかに特異なおいがある。 ビキシン：本品は、赤褐～暗褐色の粉末、塊、ペースト又は液体で、わずかに特異なおいがある。
確認試験 ノルビキシン	
(1) 本品の表示量から、ノルビキシン含量15%に換算して0.1gに相当する量を量り、水50mLを加えて振り混ぜるとき、ほとんど溶けない。	
(2) 本品をノルビキシン15%に換算し0.01g量り、N,N-ジメチルホルムアミド25mLを加えて溶かした後、必要があれば遠心分離又はろ過し、アセトニトリル25mLを加えて検液とする。検液10 μ Lを量り、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行うとき、ノルビキシンは保持時間5～10分付近に主色素成分ピークを認め、ビキシンは保持時間25～30分付近に主色素成分ピークを認める。	
操作条件	
検出器 可視吸光光度計(測定波長460nm)	
カラム充てん剤 5 μ mの液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲル	
カラム管 内径4～5mm、長さ15～30cmのステンレス管	
カラム温度 35 $^{\circ}$ C	
移動相 アセトニトリル/酢酸(1→50)混液(65：35)	
流量 ノルビキシンの保持時間が5～10分付近になるように調整する。	
(3) 本品に水酸化カリウム溶液(1→200)を加えて溶かした液は、波長448～456nmと波長476～484nmに極大吸収部がある。	
確認試験 ビキシン	
(1) (1) 本品の表示量から、ビキシン含量25%に換算して0.04gに相当する量を量り、水50mLを加えて振り混ぜるとき、ほとんど溶けない。	

(2) 本品の表示量から、ビキシシ 25%に換算し 0.02g 量り、N,N-ジメチルホルムアミド 25mL を加えて溶かした後、必要があれば遠心分離又はろ過し、その 5mL を正確に量り、N,N-ジメチルホルムアミドを加えて 25mL とし、アセトニトリル 25mL を加えて検液とする。検液 10 μ L を量り、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行うとき、ノルビキシシは保持時間 5~10 分付近に主色素成分ピークを認め、ビキシシは保持時間 25~30 分付近に主色素成分ピークを認める。

操作条件

検出器 可視吸光光度計(測定波長 460nm)

カラム充てん剤 5 μ m の液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲル

カラム管 内径 4~5mm, 長さ 15~30cm のステンレス管

カラム温度 35 $^{\circ}$ C

移動相 アセトニトリル/酢酸(1 \rightarrow 50)混液(65 : 35)

流量 ビキシシの保持時間が 25~30 分付近になるように調整する。

(3) 本品にアセトンを加えて溶かした液は、波長 452~460nm と波長 482~490nm に極大吸収部がある。

純度試験 ノルビキシシ

(1)鉛 Pbとして	2.0 μ g/g 以下(5.0g, 第 1 法)
(2)ヒ素 As ₂ O ₃ として	4.0 μ g/g 以下(0.50g, 第 3 法, 装置 B)
(3)水銀 Hgとして	1.0 μ g/g 以下

純度試験 ビキシシ

(1)鉛 Pbとして	ノルビキシシの純度試験(1)を準用する。
(2)ヒ素 As ₂ O ₃ として	ノルビキシシの純度試験(2)を準用する。
(3)水銀 Hgとして	ノルビキシシの純度試験(3)を準用する。
(4) ノルビキシシ	7%以下

3. 成分規格(案)

別紙 1 のとおり

4. 国際規格等(JECFA、FCC、日局、局外規、外原規、薬添規、及び第4版既存添加物自主規格)の有無及び規格設定の根拠

国際規格等の有無:有 (別紙 2 対比表のとおり)

規格設定の根拠:別紙記載の通り

5. 試験法検証作業完了項目

性状、確認試験(1)~(3)、純度試験(1)~(4)及び色価
未添付

6. 裏付け資料

別紙3のとおり

7. 特性、溶解性、用途等

未添付

8. 特記事項

なし

以上

別紙 1

アナトー色素

既存添加物

Annatto Extract

定義 本品は、ベニノキ(*Bixa orellana* Linné)の種子の被覆物から得られたもので、ノルビキシンを主成分とするものとビキシンを主成分とするものがあり、それぞれをノルビキシン及びビキシンと称する。

ノルビキシン

Norbixin

含量(色価) 本品は、ノルビキシン($C_{24}H_{28}O_4$)が15%(含量1% = 色価($E_{1cm}^{10\%}$)287として)以上で、表示量の90~120%を含む。

性状 本品は、赤褐~暗褐色の粉末、塊、ペースト又は液体で、わずかに特異なおいがある。

確認試験 (1) 本品の表示量から、ノルビキシン含量15%に換算して0.1gに相当する量を量り、水50mLを加えて振り混ぜるとき、ほとんど溶けない。

(2) 本品をノルビキシン15%に換算し0.01g量り、N,N-ジメチルホルムアミド25mLを加えて溶かした後、必要があれば遠心分離又はろ過し、アセトニトリル25mLを加えて検液とする。検液10 μ Lを量り、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行うとき、ノルビキシンは保持時間5~10分付近に主色素成分ピークを認め、ビキシンは保持時間25~30分付近に主色素成分ピークを認める。

操作条件

検出器 可視吸光光度計(測定波長 460nm)

カラム充てん剤 5 μ mの液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲル

カラム管 内径4~5mm, 長さ15~30cmのステンレス管

カラム温度 35 $^{\circ}$ C

移動相 アセトニトリル/酢酸(1 \rightarrow 50)混液(65 : 35)

流量 ノルビキシンの保持時間が5~10分付近になるように調整する。

(3) 本品に水酸化カリウム溶液(1 \rightarrow 200)を加えて溶かした液は、波長448~456nmと波長476~484nmに極大吸収部がある。

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

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

(3) 水銀 Hgとして1.0 μ g/g以下

本品1.0gを量り、硫酸5mL, 硝酸5mLを加え、還流冷却器を付け、静かに加熱し、5時間煮沸する。溶液が澄明となったら加熱を止め、澄明にならない場合は放冷後硝酸5mLを加え再び加熱する。必要があれば硝酸5mLの添加を繰り返す。放冷後、水10mL, 過マンガン酸カリウム1.5gを加え、水浴上で加熱する。溶液が紫色を呈しない場合は、更に過マンガン酸カリウムを加え、この操作を繰り返す。放冷後、紫色が消えるまで塩酸ヒドロキシルアミン溶液(1 \rightarrow 5)を加

えた後、水を加えて正確に 150mL とし、検液とする。検液を原子吸光分析装置の検水瓶に入れ、塩化第一スズ・塩酸試液 10mL を加え、直ちに原子吸光分析装置を連結し、ダイヤフラムポンプを作動させて空気を循環させ、記録計の指示が急速に上昇して一定値を示した時の吸光度を測定する。このとき得られた吸光度は、水銀標準液 10mL を量り、本品と同様に操作して得られた吸光度よりも大きくない。

操作条件

光源ランプ 水銀中空陰極ランプ

分析線波長 253.7nm

キャリアガス 空気

定量法(色価測定法) 本品を精密に量り、水酸化カリウム溶液(1→200)を加えて溶解し、正確に 100mL とする。その 1mL を正確に量り、水酸化カリウム溶液(1→200)を加えて正確に 100mL とし、検液とする。色価測定法により次の操作条件で試験を行う。又、色価を 287 で除してノルピキシン含量を求める。

操作条件

測定溶媒 水酸化カリウム溶液(1→200)

測定波長 波長 476~484nm の極大吸収部

ビキシシ

Bixin

含 量(色価) 本品は、ビキシシ($C_{25}H_{30}O_4$)が $\geq 25\%$ (含量 $1\% = \text{色価}(E_{1\text{cm}}^{10\%})309$ として)以上で、その表示の $90\sim 120\%$ を含む。

性 状 本品は、赤褐～暗褐色の粉末、塊、ペースト又は液体で、わずかに特異なおいがある。

確認試験 (1) 本品の表示量から、ビキシシ含量 25% に換算して 0.04g に相当する量を量り、水 50mL を加えて振り混ぜるとき、ほとんど溶けない。

(2) 本品の表示量から、ビキシシ 25% に換算し 0.02g 量り、 N,N -ジメチルホルムアミド 25mL を加えて溶かした後、必要があれば遠心分離又はろ過し、その 5mL を正確に量り、 N,N -ジメチルホルムアミドを加えて 25mL とし、アセトニトリル 25mL を加えて検液とする。検液 $10\ \mu\text{L}$ を量り、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行うとき、ノルビキシシは保持時間 $5\sim 10$ 分付近に主色素成分ピークを認め、ビキシシは保持時間 $25\sim 30$ 分付近に主色素成分ピークを認める。

操作条件

検出器 可視吸光光度計(測定波長 460nm)

カラム充てん剤 $5\ \mu\text{m}$ の液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲル

カラム管 内径 $4\sim 5\text{mm}$ 、長さ $15\sim 30\text{cm}$ のステンレス管

カラム温度 35°C

移動相 アセトニトリル/酢酸(1→50)混液(65 : 35)

流量 ビキシシの保持時間が $25\sim 30$ 分付近になるように調整する。

(3) 本品にアセトンを加えて溶かした液は、波長 $452\sim 460\text{nm}$ と波長 $482\sim 490\text{nm}$ に極大吸収部がある。

純度試験 (1) 鉛 ノルビキシシの純度試験(1)を準用する。

(2) ヒ素 ノルビキシシの純度試験(2)を準用する。

(3) 水銀 ノルビキシシの純度試験(3)を準用する。

(4) ノルビキシシ 7% 以下

本品を 0.02g 量り、 N,N -ジメチルホルムアミド 25mL を加えて溶かした後、必要があれば遠心分離又はろ過し、その 5mL を正確に量り、 N,N -ジメチルホルムアミドを加えて 25mL とし、アセトニトリル 25mL を加えて検液とする。別にノルビキシシ 7% に換算し 0.02g 量り、以下検液の場合と同様に操作し、比較液とする。検液及び比較液をそれぞれ $10\ \mu\text{L}$ ずつ量り、次の条件で液体クロマトグラフィーを行うとき、検液のノルビキシシのピーク高さは、比較液のノルビキシシのピーク高さを超えない。

操作条件

検出器 可視吸光光度計(測定波長 460nm)

カラム充てん剤 $5\ \mu\text{m}$ の液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲル

カラム管 内径 $4\sim 5\text{mm}$ 、長さ $15\sim 30\text{cm}$ のステンレス管

カラム温度 35°C

移動相 アセトニトリル/酢酸(1→50)混液(65 : 35)