

天産品を原料としているため、 $2.0\mu\text{g}/\text{g}$ の規格を設定した。

⑤遊離無機リン

液体品、粉末品

イノシトールヘキサリン酸が主成分として定義されているので、結合リン酸以外を遊離リン酸として1.0%以下の規格を設定した。

(5) 定量法

液体品、粉末品

全リン及び純度試験で求めた遊離無機リンの差から結合リンの百分率(%)を求め、これからフィチン酸の含量を計算する。

$$\begin{aligned} & \text{結合リン (\%)} \times \frac{660.04 \text{ (イノシトールヘキサリン酸の分子量)}}{30.97 \times 6 \text{ (リン酸の分子量} \times 6)} \\ & = \text{結合リン (\%)} \times 3.552 \end{aligned}$$

2010年1月28日付け国立医薬品食品衛生研究所からの「第9版食品添加物公定書新規収載既存添加物品目候補について」のフィチン酸に関する質問で、「第4版自主規格p. 426中段の計算式に「%」が2つあり、わかりにくい。文書表現に見直すとよいと指摘を受けている。

第4版自主規格では、

「フィチン酸 ( $\text{C}_6\text{H}_{18}\text{O}_{24}\text{P}_6$ ) の含量 = 結合リン (%)  $\times$  3.552 (%) となっており、係数3.552が%値であるという誤解を受けるため、上述の計算式に改めた。

品 名		簡 略 名	英 名
慣 用 名	別 名		Phytic acid
フィチン酸			
基原・製法・本質	米糠, トウモロコシ等より水で抽出し, 精製して得られたものである。成分はイノシトールヘキサリン酸である。		
①概要	フィチン酸はカルシウム, マグネシウム複塩であるフィチンとして植物体中に広く存在するが, 通常は米糠, トウモロコシ等から酸を用いて脱塩し, 水で抽出後精製して作られる。主成分はイノシトール六リン酸である。通常は水溶液の状態で流通している。		
②性状	淡黄～淡褐色のシロップ状液体である。		
③品質特性	加熱及び酸により加水分解する。100℃以上で着色するが, 120℃以下では短時間なら安定, 高濃度品は比較的安定である。 アルカリ性には安定であるが, カルシウム, マグネシウム等とは造塩して沈澱を生ずる。たん白質でも沈澱を生ずる。 特有の酸味を持ち, 酸味料の他, キレート作用による食品の改質に使用される。		
④溶解性	水, 95%エタノールに易溶, 無水エタノールに微溶である。		
⑤使用上の注意			
⑥保存上の注意	10℃以下の冷所に保存する。		
⑦使用対象食品	清涼飲料, 乳飲料, ねり製品, めん類, 水産・果実缶詰, 食油, 酒類, マーガリン, その他		
⑧備考	参考文献: 有機合成化学協会誌 25 (2) 167~179		

第九部会(調味料・苦味料)

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の整備に関する調査研究報告書

日本食品添加物協会 第九部会  
研究者所属：白鳥製薬株式会社  
味の素株式会社

1. 目的

「第9版食品添加物公定書」新規収載品目候補としての既存添加物「カフェイン（抽出物）」、実験的検証用成分規格（案）を制定するための調査を行い、新規収載・成分規格(案)を策定する。

2. 検討対象既存添加物

カフェイン（抽出物）

3. 成分規格（案）

「第4版 既存添加物自主規格」（平成20年10月 日本食品添加物協会）に収載されている「カフェイン（抽出物）」の規格をベースにして、成分規格（案）を策定した。

(1) 記載要領

- ・ 「第4版 既存添加物自主規格」（平成20年10月 日本食品添加物協会）に収載されている「カフェイン（抽出物）」の規格は、日局15に収載されている「無水カフェイン」をベースに制定したもので、ほぼ同一の規格である。市場に流通している「カフェイン（抽出物）」は「含量」で示すとおりカフェイン無水物で、カフェイン水和物ではない。
- ・ 乾燥減量の測定方法は日局15に記載されている乾燥減量（1g, 80℃, 4時間）に準拠して、試薬量を1gとした。
- ・ 平成20年度厚労科研費報告書（日本添加物協会）において、規格を一部修正した。  
（性状、確認試験（3）、純度試験 類縁物質、乾燥減量）  
添付資料1. 第4版既存添加物自主規格の試験法に関する検証結果報告  
添付資料2. 検証試験成績書
- ・ 実験的検定用規格(案)の策定に際しては、国立医薬品食品衛生研究所 食品添加物部 第2室 山崎室長の新規収載品目の選定作業に関する検討結果を反映させた。

## カフェイン（抽出物）

Caffeine (Extract)

**定義** 本品は、コーヒー (*Coffea arabica* Linné) の種子又はチャ (*Camellia sinensis* O. Kze.) の葉から得られた、カフェインを主成分とするものである。

**含量** 本品を乾燥したものは、カフェイン ( $C_8H_{10}N_4O_2=194.19$ ) 98.5%以上を含む。

**性状** 本品は、白色の針状結晶若しくは粉末又は両者の混合物であり、苦い又はやや苦い味がある。

**確認試験** (1) 本品の水溶液 (1→500) 2mLにタンニン酸試液を滴加するとき、白色の沈殿を生じ、この沈殿は更にタンニン酸試液を滴加するとき溶ける。

(2) 本品0.01gに過酸化水素試液10滴及び塩酸1滴を加えて水浴上で蒸発乾固するとき、残留物は黄赤色を呈する。また、これをアンモニア試液2～3滴を入れた容器の上にかざすとき、赤紫色に変わり、その色は水酸化ナトリウム試液2～3滴を加えるとき、消える。

(3) 本品0.01gを水に溶かし50mLとする。この液5mLに薄めた酢酸(31) (3→100) 3mL及び薄めたピリジン (1→10) 5mLを加えて混和した後、薄めた次亜塩素酸ナトリウム試液 (1→5) 2mLを加え、1分間放置する。これにチオ硫酸ナトリウム試液2mL及び水酸化ナトリウム試液5mLを加えるとき、黄色を呈する。

**純度試験** (1) 融点 235～238℃ (80℃, 4時間乾燥後)

(2) 塩化物 Clとして0.011%以下

本品2.0gを熱湯80mLに溶かし、20℃に急冷し、水を加えて100mLとし、試料液とする。試料液40mLに硝酸 (1→10) 6mL及び水を加えて50mLとする。これを検液とし、試験を行う。比較液には0.01mol/L塩酸0.25mLを加える。

(3) 硫酸塩  $SO_4$ として0.024%以下(2)の試料溶液40mLに塩酸 (1→4) 1mL及び水を加えて50mLとする。これを検液とし、試験を行う。比較液には0.005mol/L硫酸0.40mLを加える。

(4) 鉛 Pbとして2.0 $\mu$ g/g以下 (5.0g, 第1法) [規格適合性確認中]

(5) 類縁物質 本品0.10gをクロロホルム10mLに溶かし、検液とする。この液1mLを正確に量り、クロロホルムを加えて正確に10mLとする。この液1mLを正確に量り、クロロホルムを加えて正確に10mLとする。この液1mLを正確に量り、クロロホルムを加えて正確に10mLとし、標準液とする。これらの液につき、薄層クロマトグラフィーにより試験を行う。検液及び標準液10 $\mu$ Lずつを薄層クロマトグラフィー用シリカゲル（蛍光剤入り）を用いて調製した薄層板にスポットする。次にクロロホルム/95%エタノール混液 (9:1) を展開溶媒として約10cm展開した後、薄層板を風乾する。これに紫外線（波長254nm）を照射するとき、検液から得た主スポット以外のスポットは、標準液から得たスポットより濃くない。

(6) 硫酸呈色物 本品0.50gをとり、試験を行う。液の色は色の比色標準液Dより濃くない。

**乾燥減量** 8.5%以下 (1g, 80°C, 4時間)

**強熱残分** 0.1%以下 (0.5g)

**定量法** 本品を乾燥し、その約 0.4g を精密に量り、無水酢酸/酢酸混液 (6:1) 70mL に溶かし、0.1mol/L 過塩素酸で滴定する (指示薬 クリスタルバイオレット試液 3 滴)。ただし、滴定の終点は液の紫色が緑色を経て黄色に変わるときとする。同様の方法で空試験を行い、補正する。

0.1mol/L 過塩素酸1mL=19.42mg  $C_8H_{10}N_4O_2$

#### 試薬・試液等

酢酸(31)	酢酸[K 8355、酢酸、特級] 31.0g に水を加えて 100mL とする(5mol/L)。
タンニン酸試液	タンニン酸 1g をエタノール 1mL に溶かし、水を加えて 10mL とする。用時製する。

#### (2) 鉛等

JECFA 規格が設定されていない品目なので、「2.0  $\mu$ g/g 以下」とする。

#### (3) 参考情報

なし。

#### (4) 検証試験に関する参考情報

なし。

#### (5) 試験条件等に関する表示事項

なし。

### 3. 現行規格 (「第 4 版 既存添加物自主規格」)

「第 4 版 既存添加物自主規格」(平成 20 年 10 月 日本食品添加物協会) に記載されている「カフェイン (抽出物)」の規格が現行規格である。

## カフェイン（抽出物）

Caffeine (Extract)

**定義** 本品は、コーヒー (*Coffea arabica* Linné) の種子又はチャ (*Camellia sinensis* O. Kze.) の葉から得られた、カフェインを主成分とするものである。

**含量** 本品を乾燥したものは、カフェイン ( $C_8H_{10}N_4O_2=194.19$ ) 98.5%以上を含む。

**性状** 本品は、白色の針状結晶若しくは粉末又は両者の混合物であり、わずかに苦味がある。

**確認試験** (1) 本品の水溶液 (1→500) 2mlにタンニン酸試液を滴加するとき、白色の沈殿を生じ、この沈殿は更にタンニン酸試液を滴加するとき溶ける。

(2) 本品0.01gに過酸化水素試液10滴及び塩酸1滴を加えて水浴上で蒸発乾固するとき、残留物は黄赤色を呈する。また、これをアンモニア試液2～3滴を入れた容器の上にかざすとき、赤紫色に変わり、その色は水酸化ナトリウム試液2～3滴を加えるとき、消える。

(3) 本品0.01gを水に溶かし50mlとする。この液5mlに薄めた酢酸 (3→100) 3ml及び薄めたピリジン (1→10) 5mlを加えて混和した後、薄めた次亜塩素酸ナトリウム試液 (1→5) 2mlを加え、1分間放置する。これにチオ硫酸ナトリウム試液2ml及び水酸化ナトリウム試液5mlを加えるとき、黄色を呈する。

**純度試験** (1) 融点 235～238℃ (80℃, 4時間乾燥後)

(2) 塩化物 Clとして0.011%以下

本品2.0gを熱湯80mlに溶かし、20℃に急冷し、水を加えて100mlとし、試料液とする。試料液40mlに硝酸 (1→10) 6ml及び水を加えて50mlとする。これを検液とし、試験を行う。比較液には0.01mol/L塩酸0.25mlを加える。

(3) 硫酸塩  $SO_4$ として0.024%以下(2)の試料液40mlに塩酸 (1→4) 1ml及び水を加えて50mlとする。これを検液とし、試験を行う。比較液には0.005mol/L硫酸0.40mlを加える。

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

(5) 類縁物質 本品0.10gをクロロホルム10mlに溶かし、検液とする。この液1mlを正確に量り、クロロホルムを加えて正確に100mlとする。この液1mlを正確に量り、クロロホルムを加えて正確に10mlとし、標準液とする。これらの液につき、薄層クロマトグラフィーにより試験を行う。検液及び標準液10 μlずつを薄層クロマトグラフィー用シリカゲル (蛍光剤入り) を用いて調製した薄層板にスポットする。次にクロロホルム/95%エタノール混液 (9:1) を展開溶媒として約10cm展開した後、薄層板を風乾する。これに紫外線 (波長254nm) を照射するとき、検液から得た主スポット以外のスポットは、標準液から得たスポットより濃くない。

(6) 硫酸呈色物 本品0.50gをとり、試験を行う。液の色は色の比色標準液Dより濃くない。

乾燥減量 8.5%以下 (1.0g, 80℃, 4時間)

強熱残分 0.10%以下 (0.5g)

定量法 本品を乾燥し、その約 0.4g を精密に量り、無水酢酸/酢酸混液 (6 : 1) 70ml に溶かし、0.1mol/L 過塩素酸で滴定する (指示薬 クリスタルバイオレット試液 3 滴)。ただし、滴定の終点は液の紫色が緑色を経て黄色に変わるときとする。同様の方法で空試験を行い、補正する。

0.1mol/L 過塩素酸1ml=19.42mg  $C_8H_{10}N_4O_2$

#### 4. 国立医薬品食品衛生研究所 食品添加物部 第2室 山崎室長の提案

国立医薬品食品衛生研究所 食品添加物部 第2室 山崎室長は新規収載品目の選定作業に関して下記の提案をされた。

(提 案)

・平成 20 年度厚労科研費報告書 (日本食品添加物協会) で提案されている改正案を検証対象とする。

但し、

性状 「わずかに苦味がある。」 → 「苦い又はやや苦い味がある。」

純度試験(5) 類縁物質は、検液を 10 倍希釈→10 倍希釈→10 倍希釈→標準液とし、「第 4 版 既存添加物自主規格」の標準液と同じ希釈率に変更する。

(回 答)

・山崎室長の提案に準じて、純度試験(5) 類縁物質の分析に関する記載を修正した。

#### 5. まとめ

1) 「第 4 版 既存添加物自主規格」(平成 20 年 10 月 日本食品添加物協会) に収載されている「カフェイン (抽出物)」の規格をベースにし、国立医薬品食品衛生研究所 食品添加物部 第 2 室 山崎室長の提案を踏まえて、「第 9 版食品添加物公定書」新規収載品目候補としての成分規格 (案) を策定した。

2) 成分規格 (案) ・純度試験 鉛の妥当性は今後確認する。

以 上

添付資料1

第4版既存添加物自主規格の試験法に関する検証結果報告書

部会名		会社名・所属	白鳥製薬株式会社 品質保証部			
氏名	高師美穂	TEL	043-242-7631	Eメール	miho-t@shiratori-pharm.co.jp	

1. 検証対象となる成分規格名及び検証試験実施の有無(不足する場合は別添してください。)

	成分規格名(『フィチン酸(液体品)』のように記入)	検証実施	
		実施	省略
1	カフェイン(抽出物)	○	
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			

2. 検証試験実施結果(不足する場合は別添してください。)

	成分規格名	実施項目		実施区分			問題点
		全部	一部	新規	手持	外部	
1	カフェイン(抽出物)	○					
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							



3. 検証試験成績書(別紙様式にて作成の上、別添してください。)  
別添のとおり

4. 問題点の有無及び内容(有の場合は別添してください。)  
有(別添のとおり)

5. 成分規格(試験法)修正要望内容(有の場合は別添してください。)  
有(別添のとおり)

6. 参考資料等((別添してください。)  
別添のとおり

]

以上

## 「4. 問題点の内容」、「5. 成分規格(試験法)修正要望内容」及び「6. 参考資料等」について

### 4. 問題点の内容

性状 弊社のカフェイン(抽出物)[茶の素]は無水物であるため、味は『わずかに苦い』ではなく、『苦い』です。

日本薬局方の「無水カフェイン」の味は『苦い』、「カフェイン水和物」は『やや苦い』となっています。

確認試験(3) 弊社からお送りした資料では、薄めた酢酸(31)(3→100)となっていますが、既存添加物自主規格では薄めた酢酸(3→100)となっています。いずれの方法でもチオ硫酸ナトリウム試液2mL及び水酸化ナトリウム試液5mLを加えるとき、黄色を呈しました。

純度試験 類縁物質 従来の弊社では、試料溶液 1mL を正確に量り、クロロホルムを加えて正確に 10mL とする。この液 1mL を正確に量り、クロロホルムを加えて正確に 10mL とし、標準溶液としています。試料溶液は主スポット以外にスポットを認めなかったことから、既存添加物自主規格に従って標準溶液を調製し直すことはせず、従来の弊社の方法で試験した結果を記載しています。

乾燥減量 従来の弊社の試験手順では、5g で試験を実施していました(お送りした資料では 1g)、既存添加物自主規格に従って試験した結果は 0.1% でした。従来の弊社の試験手順で実施した結果は 0.0% で、既存添加物自主規格に従って実施した結果とほとんど同じでした。

### 5. 成分規格(試験法)修正要望内容(有の場合は別添してください。)

性状 カフェイン(抽出物)には、無水物及び水和物があり、味の規格を『わずかに苦い』ではなく、『苦い又はやや苦い』に変更してください。

日本薬局方の「無水カフェイン」の味は『苦い』、「カフェイン水和物」は『やや苦い』となっています。

確認試験(3) 従来の弊社の試験手順では、薄めた酢酸(31)(3→100)を使いますが、既存添加物自主規格では薄めた酢酸(3→100)となっています。いずれの方法でもチオ硫酸ナトリウム試液2mL及び水酸化ナトリウム試液5mLを加えるとき、黄色を呈しましたが、日本薬局方と手順を合わせるために『薄めた酢酸(31)(3→100)』としてください。

純度試験 類縁物質 環境に配慮し、廃棄する試薬の量を減らすために標準溶液の調製法を『試料溶液 1mL を正確に量り、クロロホルムを加えて正確に 10mL とする。この液 1mL を正確に量り、クロロホルムを加えて正確に 10mL とし、標準溶液とする』に変更してください。

### 6. 参考資料等(別添してください。)

- 1 日本薬局方の「無水カフェイン」及び「カフェイン水和物」の規格及び試験方法の写しを添付します。

## 添付資料 2

## 検証試験成績書様式

## 検証試験成績書

品名(商品名)	茶の素					
ロット番号	NS-081108					
成分規格名(収載名)	カフェイン(抽出物)					
試験年月日(試験場所)	2008年12月16日					
	試験省略(×)	試験結果 (実測値の出る項目は実測値を記載)	忠実性の確認(○×)	試験可否(○×)	問題点(有無)	判定(適・不適)
性状		白色の結晶性の粉末で、味は苦い	△	△ <sup>※1</sup>	有 <sup>※1</sup>	不適 <sup>※1</sup>
確認試験(1)		白色の沈殿→溶けた	○	○	無	適
確認試験(2)		黄赤色→赤紫色→消えた	○	○	無	適
確認試験(3)		黄色を呈した	○	○	無 <sup>※2</sup>	適
純度試験						
・融点		237℃	○	○	無	適
・塩化物		0.011 %以下	○	○	無	適
・硫酸塩		0.024 %以下	○	○	無	適
・重金属		10 ppm以下	○	○	無	適
・類縁物質		主スポット以外のスポットは、標準溶液から得たスポット(0.1%相当)より濃くない	○ <sup>※3</sup>	○	無	適
・硫酸呈色物		色の比較液 D より濃くない	○	○	無	適
乾燥減量		0.1 %	○	○	無 <sup>※4</sup>	適
強熱残分		0.01 %	○	○	無	適
含量		99.9 %	○	○	無	適

※1 弊社のカフェイン(抽出物)[茶の素]は無水物であるため、味は『わずかに苦い』ではなく、『苦い』です。

日本薬局方の「無水カフェイン」の味は『苦い』、「カフェイン水和物」は『やや苦い』となっています。

※2 弊社からお送りした資料では、薄めた酢酸(31)(3→100)となっていますが、既存添加物自主規格では薄めた酢酸(3→100)となっています。いずれの方法でもチオ硫酸ナトリウム試液2mL及び水酸化ナトリウム試液5mLを加えるとき、黄色を呈しました。

※3 従来の弊社では、試料溶液 1mL を正確に量り、クロロホルムを加えて正確に 10mL とする。この液 1mL を正確に量り、クロロホルムを加えて正確に 10mL とし、標準溶液としています。試料溶液は主スポット以外にスポットを認めなかったことから、既存添加物自主規格に従って標準溶液を調製し直すことはせず、従来の弊社の方法で試験した結果を記載しています。

※4 従来の弊社の試験手順では、5g で試験を実施していました(お送りした資料では 1g)。既存添加物自主規格に従って試験した結果は 0.1% でした。従来の弊社の試験手順で実施した結果は 0.0% で、既存添加物自主規格に従って実施した結果とほとんど同じでした。

平成23年2月

第10部会（乳化剤）  
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の  
整備に関する調査研究報告書

日本食品添加物協会 第10部会

1. 研究目的及び研究方法

植物性ステロールについて、第9版食品公定書に新規収載することを目指し、第4版既存添加物自主規格収載の規格を参考に検証用規格案を策定した。

2. 検討結果及び考察

検証用規格の作成にあたり、国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部よりいただいた意見を反映させて検討、作成した。

第4版既存添加物自主規格ではパックドカラムを用いた分析であるところをキャピラリーカラムに変更した。カラムの変更に伴い成分含量規格も実態に沿って変更した。定量法は自主規格では絶対検量線法であったものを内部標準法に変更した。

また、植物ステロールについては、エステル体の存在を確認するための薄層クロマトグラフを試験に取り入れた。

規格案の妥当性については国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部のご意見をいただきながら引き続き検討を行っていく。

3. 規格案

（別紙1）、（別紙2）のとおり。

なお、（別紙2）本文に記載の別添資料1～3については省略。

(別紙1)

## 植物性ステロール

Vegetable Sterol

**定 義** 本品は、油糧種子から得られた、フィトステロールを主成分とするものである。

## 精製植物性ステロール

**含 量** 本品は、フィトステロール 85.0～102.0%を含む。

**性 状** 本品は、白～わずかに黄色を帯びた結晶性の粉末、粉末、薄片、粗末、もしくは粒状で、ほとんどにおいがない。

**確認試験** 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。

**純度試験** (1) 融点 131～151℃

(2) 溶状 微濁～澄明

本品0.50gを共栓フラスコに量り、温無水エタノール50mlを加えて、60～70℃の水浴中で加温して溶かし、20～40℃で2時間放置する。

(3) 酸価 5.0以下（油脂類試験法）

ただし、溶媒には、無水エタノール/トルエン混液（1：1）100mlを用い、加温して溶かし検液とする。温時試験を行う（油脂類試験法）

(4) 鉛 1.0 μg/g以下（2.0g, 第1法）

(5) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として4.0 μg/g以下（0.50g, 第3法, 装置B）

**乾燥減量** 3.0%以下（105℃, 2時間）

**強熱残分** 0.50%以下

**定 量 法** 本品約 60mg 及び定量用スチグマステロール約 25mg を精密に量り、それぞれに内標準溶液(5- $\alpha$ -コレスタンの酢酸エチル溶液 (1 → 1 0 0 0)) 15ml を正確に加えて溶解し、酢酸エチルを加えて正確に 20ml とし、試料溶液及び標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液 2 μl ずつを正確にとり、次の条件でガスクロマトグラフィーにより試験を行い、試料溶液の内標準物質のピーク面積に対するフィトステロール成分（ブラシカステロール、カンペステロール、カンペスタノール、スチグマステロール、 $\beta$ -シトステロール、 $\beta$ -シトスタノール）のピーク総面積の比  $Q_T$  及び標準溶液の内標準物質のピーク面積に対する定量用スチグマステロールのピーク面積の比  $Q_s$  を求め、次式により含量を求める。

$$\text{フィトステロールの含量}(\%) = \frac{\text{定量用スチグマステロールの採取量}(\text{mg})}{\text{試料の採取量}(\text{mg})} \times \frac{Q_T}{Q_S} \times 100$$

#### 操作条件

検出器 水素炎イオン化検出器

カラム 内径0.25mm, 長さ30mのケイ酸ガラス製の細管にガスクロマトグラフィー用ジメチルポリシロキサンを0.25 $\mu$ mの厚さで被覆したもの。

カラム温度 280℃

注入口温度 290℃

キャリアーガス ヘリウム

注入方式 スプリット比(50:1)

流量 スチグマステロールの保持時間が約12分になるように調整する。

相対保持時間 ブラシカステロール, カンペステロール, カンペスタノール,  $\beta$ -シトステロール,  $\beta$ -シトスタノール及び内標準の5 $\alpha$ -コレスタンのスチグマステロールに対する相対保持時間は, 下記のとおりである。

成分	相対保持時間
5 $\alpha$ -コレスタン	0.53
ブラシカステロール	0.85
カンペステロール	0.95
カンペスタノール	0.96
スチグマステロール	1.00
$\beta$ -シトステロール	1.12
$\beta$ -シトスタノール	1.13

### 植物ステロール

**含 量** 本品は, フィトステロール50.0%以上、85.0%未満を含む。

**性 状** 本品は、白～褐色の結晶性の粉末、粉末、薄片、粗末、粒状もしくはロウ状の塊、又は半流動体で、においがなく又は特異なにおいがある。

**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。

(2) 本品 0.1g を酢酸エチル 10ml に溶かし、その 1 $\mu$ 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ィー法により試験を行うとき、Rf 値約 0.05 及び約 0.90 のスポットを主成分とする。ただし、薄層板は、担体として薄層クロマトグラフィー法用シリカゲルを 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。

**純度試験** (1) 酸価 5.0 以下 (油脂類試験法)

ただし、溶媒には、無水エタノール/トルエン混液 (1:1) 100ml を用い、加温して溶かし、検液とする。温時試験を行う (油脂類試験法)。

(2) 鉛 1.0 $\mu$ g/g 以下 (2.0g, 第1法)

(3) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として 4.0 $\mu$ g/g 以下 (0.50g, 第3法, 装置B)

**乾燥減量** 3.0% 以下 (105℃, 2 時間)

**強熱残分** 0.50% 以下

**定量法** 本品のフィトステロール約 60mg に対応する量を精密に量り、無水エタノール 70ml 及び水酸化カリウム溶液 (9→10) 10ml を加え、還流冷却器を付け、沸騰水浴中で 60 分間加熱して加水分解する。終了後、速やかに冷却した後、分液漏斗 A に移し、フラスコは水 25ml ずつで 2 回、更にジエチルエーテル 35ml ずつで 2 回洗い、洗液を分液漏斗 A に移し、激しく振り混ぜた後静置する。水層を分液漏斗 B に移し、ジエチルエーテル 50ml を加え、激しく振り混ぜた後静置する。水層を先のフラスコに移し、エチルエーテル層を分液漏斗 A に合わせる。フラスコの水層を分液漏斗 B に移し、フラスコは水 10ml, ジエチルエーテル 25ml ずつで 2 回洗い、洗液を分液漏斗 B に入れ激しく振り混ぜた後静置する。分液漏斗 B の水層を除去し、ジエチルエーテル層を分液漏斗 A に合わせる。分液漏斗 B は水 25ml ずつで 2 回洗い分液漏斗 A に入れる。これを 2~3 回静かに倒立した後静置し、分離した水層を除く。水 50ml ずつで、洗液がフェノールフタレイン試液で呈色しなくなるまで水洗いする。水をできるだけ除き、ジエチルエーテル抽出液を 300ml ナス型フラスコに移し、分液漏斗 A はジエチルエーテル 10ml ずつで 2 回洗い、洗液はナス型フラスコへ加え、約 40℃の水浴中でジエチルエーテルを留去する。残留物に直ちにジエチルエーテル 3~5ml を加えて軽く振り混ぜる。約 60℃の水浴中で溶媒を減圧留去した試料につき、精製植物性ステロールの定量法の条件でガスクロマトグラフィーを行う。

(別紙2)

規格対比表及び規格設定の根拠

1. 成分規格名：植物性ステロール
2. 規格対比表

項目	第9版規格案		JECFA	FCC	既存添加物自主規格	
	精製植物性ステロール	植物ステロール			精製植物性ステロール	植物ステロール
含量	85.0 ~ 102.0%	50.0%以上 85.0%未満	フリーステロール、フィタノール:フリーステロールとフィタノールの合計が95%以上 ステロールエステル、スタノールエステル:けん化されたステロール、スタノールが55%以上 ステロール、スタノールのフリーとエステルの混合物:フリーステロール、スタノールが55~95%の範囲	フィトステロールエステル 86.0%以上 フリーフィトステロール9.0%以下 上記の合計95.0%以上 (脱メチルステロール59.0%以上 アシルグリセリド 5.0%以上)	87.3 ~ 102.0%	67.9%以上 87.3%未満



性状	白～わずかに黄色を帯びた結晶性の粉末、粉末、薄片、粗末、粒状でない。	白～褐色の結晶性の粉末、粉末、薄片、粗末、粒状、ロウ状の塊、半流動体でないか特異なにおいがある。	流動性のある白～僅かに黄色がかった粉末、錠剤。黄白色の液体。	淡黄色で、室温において粘ちょうな液体～ロウ状の固体。温度を上げると澄明な液体となる。	白～わずかに黄色を帯びた結晶性の粉末、粉末、薄片、粗末、粒状でない。	白～褐色の結晶性の粉末、粉末、薄片、粗末、粒状、ロウ状の塊、半流動体でないか特異なにおいがある。
確認試験						
(1)	本品 5mg をヘキサソール 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、青色を経て緑色になる。	本品 5mg をヘキサソール 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、青色を経て緑色になる。	GC 分析時の主要ピークの相対保持時間が、標準のβ-シトステロール/シトスタノールのピークの相対保持時間と一致する。(1.066 と 1.073)	GC 分析時の主要ピークの相対保持時間が、内標準液ピークから導き出される相対保持時間と一致する。	本品 5mg をヘキサソール 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、青色を経て緑色になる。	本品 5mg をヘキサソール 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、青色を経て緑色になる。
(2)	—	薄層クロマトグラフ法により試験を行うと	—	IR スペクトル	—	—

		き、R f 値約 0.05 及び 0.90 のスポット を主成分と する。				
純度試験						
(1)融点	131 ~ 151°C	—	記載なし	記載なし	131 ~ 151°C	—
(2)溶状	微濁 ~ 澄 明	—	水に不溶。フ ィトステロ ールとフィ トスタノー ルはアセト ンと酢酸エ チルに溶解。 フィトステ ロールエス テルとフィ トスタノー ルエステル はヘキサン、 イソオクタ ン、2-プロパ ノールに溶 解。	記載なし	微濁	—
(3)酸価	5.0 以下	5.0 以下	記載なし	0.2g KOH/ kg 以下	5.0 以下	5.0 以下
(4)鉛	1.0 μg/g 以下	1.0 μg/g 以下	1mg/kg 以 下	0.1mg/kg 以 下	—	—
(5)ヒ素	4.0 μg/g 以下 As 2O3 とし て	4.0 μg/g 以下 As 2O3 と して	3mk/kg 以 下	記載なし	4.0 μg/g 以下 As 2O3 とし て	4.0 μg/g 以下 As 2O3 と して

重金属	—	—	記載なし	記載なし	10 μg/g 以下 Pbとして	10 μg/g 以下 Pbとして
カドミウム	設定せず	設定せず		記載なし	—	—
乾燥減量	3.0%以下	3.0%以下	4%以下（カールフィッシュャー法）	0.1%以下	3.0%以下	3.0%以下
強熱残分	0.50%以下	0.50%以下		記載なし	0.50%以下	0.50%以下
定量法	キャピラリーカラムを用いたガスクロマトグラフ法。5α・コレステタンを用いた内部標準法。	けん化後にキャピラリーカラムを用いたガスクロマトグラフ法。5α・コレステタンを用いた内部標準法。	けん化後にTMS化を行い、キャピラリーカラムを用いたガスクロマトグラフ法。5α・コレステタンを用いた内部標準法。	けん化後にTMS化を行い、キャピラリーカラムを用いたガスクロマトグラフ法。β・コレステノールを用いた内部標準法。	パックドカラムを用いたガスクロマトグラフ法。スチグマステロールで検量線をたてる絶対検量線法	けん化後にパックドカラムを用いたガスクロマトグラフ法。スチグマステロールで検量線をたてる絶対検量線法。

### 3. 規格設定の根拠

- (1) 含量 定量に用いるカラムをパックドカラムからキャピラリーカラムに変更することで成分の分離性能が良くなる。そのため見た目の含量が下がるため、精製植物性ステロールの規格値も下限を低くした。植物性ステロールの上限も精製植物性ステロールの規格値変更に伴い、変更した。下限は100%ステロールエステルを想定した値と流通している製品の分析値から設定した。JECFA規格は95%以上であるが、これはJECFAが19成分を定量の対象にしているのに対し、本規格では6成分を定量の対象としていることによる。(別添資料 1)

また、植物ステロールの上限の値は精製植物性ステロールの下限値の見直しに伴う。

また、植物ステロールの下限の値はエステル体が100%であるものを考慮して設定した。

(2) 性状 自主規格と同じ

(3) 確認試験

① 呈色試験は自主規格と同じ。

② 植物性ステロールについて、エステル体が含有していることを確認するための薄層クロマトグラフィー法を採用した。フリー体とエステル体の2成分を主成分とすることで、フリー体のみを低含量品を排除する。(別添資料 2)

(4) 純度試験

①精製植物性ステロールの溶状について流通している製品が、澄明になるものがあるため範囲を広げた。

②重金属規格は国際整合性の方針に従い、鉛規格とした。規格値はJECFAに準じた。

③その他の規格は自主規格から変更していない。

④カドミウムは検出限界以下であるため規格を設けなかった。

(5) 定量法

パックドカラムからキャピラリーカラムへ分析法を変更して、JECFA法に近づけた。自主規格では絶対検量線法であったが、内部標準法により定量を行う。内標準物質はJECFAで用いられている5- $\alpha$ -コレスタンを使用する。分析方法は可能な限りJECFAに沿ったものとしている。しかし、JECFAがカラムを連結して分析するなど特殊な手法をとっており、この点については汎用性を重視してJECFA法とは異なっている。また、ガスクロマトグラフィー法では試料のTMS化などの前処理を行う必要はないと判断した(別添資料 3)。