

「食品、添加物等の規格基準」の改正案の修正（案）

ウェランガム

Welan Gum

ウェラン多糖類

定義 本品は、スフィンゴモナス属細菌 (*Sphingomonas* sp. に限る。) の培養液から得られた、多糖類を主成分とするものである。ショ糖、ブドウ糖、乳糖、デキストリン又はマルトースを含むことがある。

性状 本品は、白～褐色の粉末で、わずかににおいがある。

確認試験 (1) 本品 1 g を水 100mL にかき混ぜながら加えるとき、粘稠な溶液となる。

(2) (1) の溶液 1 mL を量り、水を加えて 10mL とする。この液 2 mL にアセトン 5 mL を加え、よく振り混ぜるとき、白色綿状の沈殿を生じる。

(3) 水 9 mL に水酸化カルシウム 1 g を分散させた液に(1)の溶液 10mL を加えよくかき混ぜるとき、ゲルを生成することなく粘稠な溶液となる。

純度試験 (1) 鉛 Pb として $2\mu\text{g/g}$ 以下 (2.0 g, 第 1 法, 比較液 鉛標準液 4.0 mL, フレーム方式)

(2) ヒ素 As として $3\mu\text{g/g}$ 以下 (0.50 g, 第 3 法, 標準色 ヒ素標準液 3.0 mL, 装置 B)

(3) 2-プロパノール 0.50% 以下

(i) 装置

概略は次の図による。

A : ナス型フラスコ (300mL)

B : すり合わせ連結部

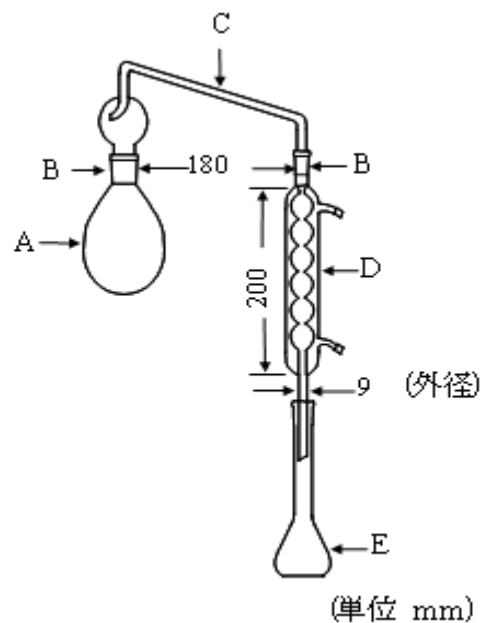
C : しぶき止め付き蒸留管

D : 冷却器

E : メスフラスコ (100mL)

(ii) 操作法

本品約 2 g をナス型フラスコ A に精密に量り、水 200mL、数個の沸騰石及びシリコーン樹脂約 1 mL を入れ、よく混和する。内標準液 4 mL を正確に量り、メスフラスコ E に入れ、装置を組み立てる。すり合わせ連結部を水でぬらす。泡がしぶき止め付き蒸留管 C に入らないように調整しながら



ら1分間に2～3mLの留出速度で蒸留して、留液約90mLを採り、水を加えて正確に100mLとし、検液とする。ただし、内標準液は、2-メチルー2-プロパノール溶液(1→1000)とする。別に、2-プロパノール約0.5gを精密に量り、水を加えて正確に50mLとする。この液5mLを正確に量り、水を加えて正確に50mLとする。この液10mL及び内標準液4mLを正確に量り、水を加えて正確に100mLとし、標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ2.0μLずつ量り、次の操作条件でガスクロマトグラフィーを行う。検液及び標準液の2-メチルー2-プロパノールのピーク面積に対する2-プロパノールのピーク面積比 Q_T と Q_S を求め、次式により2-プロパノールの量を求める。

$$\text{2-プロパノールの量 (\%)} = \frac{\text{2-プロパノールの採取量 (g)}}{\text{試料の採取量 (g)}} \times \frac{Q_T}{Q_S} \times 2$$

操作条件

検出器 水素炎イオン化検出器
 カラム充填剤 180～250μmのガスクロマトグラフィー用スチレン-ジビニルベンゼン系多孔性樹脂
 カラム管 内径3mm, 長さ2mのガラス管
 カラム温度 120℃付近の一定温度
 注入口温度 200℃付近の一定温度
 キャリヤーガス 窒素又はヘリウム
 流量 2-プロパノールの保持時間が約10分になるように調整する。

乾燥減量 15.0%以下(105℃, 2時間)

灰分 ~~10.0~~16.0%以下(乾燥物換算)

微生物限度 微生物限度試験法(試験法の適合性試験を除く。)により試験を行うとき、本品1gにつき、生菌数は5000以下、真菌数は500以下である。また、大腸菌及びサルモネラは認めない。ただし、生菌数試験及び真菌数試験は、本品1gをリン酸緩衝液、0.1%ペプトン水又はペプトン食塩緩衝液200mLと混合して均一に分散させたものを試料液とする。大腸菌試験は、本品1gをラウリル硫酸ブイオン培地300mLと混合して均一に分散させ、35±1℃で48±2時間培養したものを前培養液とする。サルモネラ試験は、本品1gを乳糖ブイオン培地300mLと混合して均一に分散させ、35±1℃で24±2時間培養したものを前培養液とし、この操作を5回行って得られた前培養液それぞれにつき試験を行う。

ラクトフェリン濃縮物

Lactoferrin Concentrates

定義 本品は、ほ乳類の乳から得られたラクトフェリンを主成分とするものである。

含量 本品を乾燥物換算したものは、窒素（N=14.01）14.0～16.5%を含み、ラクトフェリン85.0%以上を含む。

性状 本品は、淡赤だいたい～濃赤褐色の粉末で、においがいい。

確認試験 (1) 本品の水溶液（1→100）10mL に水酸化ナトリウム溶液（1→10）1mL を加え、更に硫酸銅（II）五水和物溶液（1→8）1滴を加えて振り混ぜるとき、青色の沈殿を生じ、液は紫色を呈する。

(2) 本品1gに水20mLを徐々に加えて溶かした後、10%塩酸試液を1mL加えるとき、溶液の赤色は消える。

pH 5.2～7.2（1.0g、水酸化カリウム試液（0.2mol/L）50mL）

純度試験 (1) 鉄 Feとして0.050%以下

本品0.50gを量り、水を加えて溶かし、塩酸1mL及び水を加えて100mLとし、検液とする。別に鉄標準液25mLを正確に量り、塩酸1mL及び水を加えて正確に100mL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を測定するとき、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 鉄中空陰極ランプ

分析線波長 248.3nm

支燃性ガス 空気

可燃性ガス アセチレン

(2) 鉛 Pbとして 2 μ g/g以下（2.0g、第1法、比較液 鉛標準液 4.0mL、フレイム方式）

(3) ヒ素 Asとして3 μ g/g以下（0.50g、第23法、標準色 ヒ素標準液 3.0mL、装置B）

乾燥減量 6.0%以下（105℃、5時間）

強熱残分 2.5%以下

定量法 (1) 窒素 本品約20mgを精密に量り、窒素定量法中のセミマイクロケルダール法により窒素を定量し、更に乾燥物換算を行う。

(2) ラクトフェリン

本品約0.1gを精密に量り、塩化ナトリウム溶液（3→100）を加えて溶かし、正確に50mLとし、検液とする。別に定量用ラクトフェリン約0.2gを精密に量り、塩化ナトリウム溶液（3→100）を加えて溶かし、正確に50mLとする。この液及びこの液5mLずつを正確に量り、塩化ナトリウム溶液（3→100）を加えてそれぞれ正確に10mL

及び20mLとした液を、3濃度の標準液とする。検液及び3濃度の標準液をそれぞれ25μL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。それぞれの標準液のラクトフェリンのピーク面積を測定し、検量線を作成する。この検量線と検液のラクトフェリンの面積から検液中のラクトフェリンの量（g）を求め、次式により含量を求める。

$$\text{ラクトフェリンの含量 (\%)} = \frac{\text{検液中の乾燥物換算したラクトフェリンの量 (g)}}{\text{乾燥物換算した試料の採取量 (g)}} \times \text{定量用ラクトフェリンの含量 (\%)}$$

操作条件

検出器 紫外外部吸収検出器（測定波長 280nm）

カラム充填剤 5 μm の液体クロマトグラフィー用ブチル化ポリビニルアルコールポリマーゲル

カラム管 内径 4.6mm, 長さ 15cm のステンレス管

カラム温度 30～40℃の一定温度

移動相 A 塩化ナトリウム溶液（3→100）／アセトニトリル（HPLC用）／トリフルオロ酢酸混液（9000：1000：3）

移動相 B 塩化ナトリウム溶液（3→100）／アセトニトリル（HPLC用）／トリフルオロ酢酸混液（5000：5000：3）

濃度勾配 A：B（50：50）から（0：100）までの直線濃度勾配を25分間行う。

流量 0.8mL／分

試薬・試液等

塩化カリウム試液（0.2mol/L） 塩化カリウム 14.9g を量り、水を加えて 1000mL とする。

pH が 5.2～7.2 であることを確認する。

ラクトフェリン、定量用 本品は、牛の乳から得られたラクトフェリンを主成分とするものである。本品は、淡赤黄色～黄赤色の結晶性の粉末又は粉末である。

比吸光度 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ （280 nm）=12.0～13.5（乾燥物換算）

本品 0.1g を精密に量り、水を加えて溶かして 200mL とした後、孔径 0.45μm のメンブレンフィルターでろ過し、検液とする。この液の波長 280nm における吸光度を測定し、更に乾燥物換算を行う。

純度試験 (1) 鉄 Fe として 0.005～0.05%

本品 1.0g を磁製のろつばに量り、硫酸 0.2mL を加えて徐々に加熱して炭化させた後、ガスバーナーで強く加熱して灰化後、放冷する。これに塩酸（2→3）5mL を加え、加熱して溶かし、更に水を加えて 50mL とし、ろ過する。このろ液 2mL をとり、水を加えて

10mL とし検液とする。別に鉄標準液 2 mL ずつを正確に量り、塩酸（2→3）0.2mL を加え、更に水を加えてそれぞれ正確に 10mL 及び 100mL とした液を、2 濃度の標準液とする。検液及び 2 濃度の標準液につき、次の操作条件で原子吸光度を測定し、検量線を作成する。この検量線と検液の鉄の原子吸光度から、検液中の鉄濃度を求め、更に試料中の鉄量（%）を求める。

操作条件

光源ランプ 鉄中空陰極ランプ

分析線波長 248.3nm

支燃性ガス 空気

可燃性ガス アセチレン

(2) 類縁物質 本品 0.1 g を量り、塩化ナトリウム溶液（3→100）で正確に 50mL にし、検液とする。検液 250 μ L を量り、「ラクトフェリン濃縮物」の定量法次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行う。本品のピーク面積と総ピーク面積からラクトフェリンの含量を求めるとき、95.0%以上である。別に空試験を行い補正する。

操作条件

~~検出器 紫外吸光光度計（測定波長 280nm）~~

~~カラム充填剤 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 4.6mm、長さ 15cm のステンレス管~~

~~カラム温度 室温~~

~~移動相 A 塩化ナトリウム試液（0.5mol/L）／アセトニトリル（HPLC用）／トリフルオロ酢酸混液（9000：1000：3）~~

~~移動相 B 塩化ナトリウム試液（0.5mol/L）／アセトニトリル（HPLC用）／トリフルオロ酢酸混液（5000：5000：3）~~

~~濃度勾配 A：B（50：50）から、（0：100）までの直線濃度勾配を 25 分間行い、（50：50）までの直線濃度勾配を 10 分間行う。~~

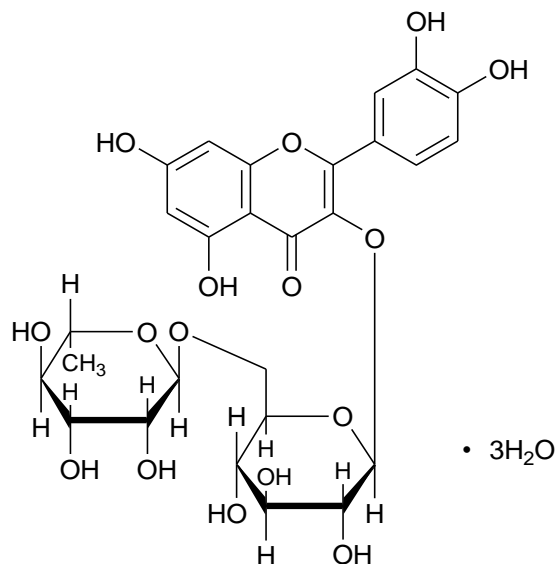
~~流量 1.0mL/分~~

乾燥減量 6.0 %以下（105 $^{\circ}$ C、5 時間）

エンジュ抽出物

Enju Extract

Japanese Pagoda Tree Extract



$C_{27}H_{30}O_{16} \cdot 3H_2O$

分子量 664.56

5,7-Dihydroxy-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-4-oxo-4H-chromen-3-yl

α -L-rhamnopyranosyl-(1→6)- β -D-glucopyranoside trihydrate [153-18-
4250249-75-3, ルチン無水物3水和物]

定義 本品は、ルチン（抽出物）のうちエンジュ (*Styphnolobium japonicum* (L.) Schott (*Sophora japonica* L.)) のつぼみ又は花より、水、エタノール又はメタノールで抽出し、溶媒を除去して得られたものである。主成分はルチンである。

含量 本品を乾燥したものは、ルチン ($C_{27}H_{30}O_{16}$) 95.0~105.0%を含む。

性状 本品は淡黄～淡黄緑色の結晶性の粉末で、においがないか又はわずかに特異なにおいがある。

確認試験 (1) 本品 20mg をエタノール (95) 10mL に溶かした液は、黄色を呈し、塩化鉄 (III) 六水和物溶液 (1→50) 1~2滴を加えるとき、液は、帯緑褐色に変わる。
(2) 本品 20mg をエタノール (95) 5mL に加温して溶かした液は、黄色を呈し、塩酸 2mL 及びマグネシウム粉末 50mg を加えるとき、液は、徐々に赤色に変わる。
(3) 本品 10mg をエタノール (95) 100mL に溶かした液は、波長 257nm 付近及び 361nm 付近に極大吸収部がある。

純度試験 (1) 鉛 Pb として $2\mu\text{g/g}$ 以下 (2.0g, 第1法, 比較液 鉛標準液 4.0mL, フレーム方式)
(2) ヒ素 As として $3\mu\text{g/g}$ 以下 (0.50g, 第3法, 標準色 ヒ素標準液 3.0mL, 装置B)
(3) メタノール 0.015%以下

(i) 装置

概略は次の図による。

A：ナス型フラスコ（200mL）

B：すり合わせ連結部

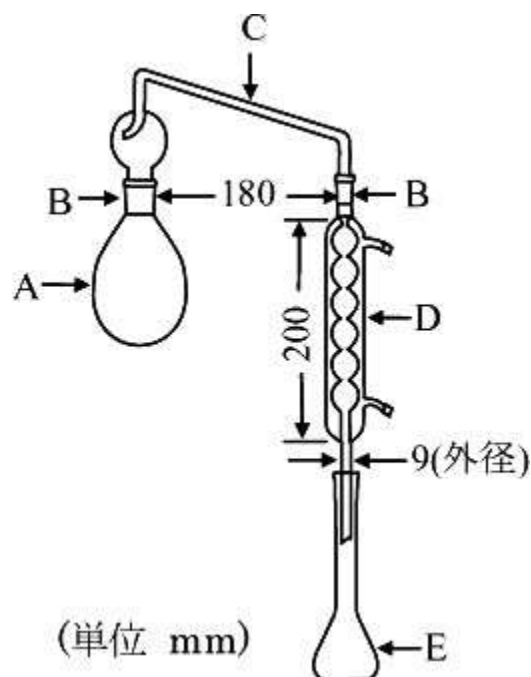
C：しぶき止め付き蒸留管

D：冷却器

E：メスフラスコ（50mL）

(ii) 操作法

本品約 5 g をナス型フラスコ A に精密に量り、ホウ酸・水酸化ナトリウム緩衝液 100mL を入れ、よく混和し、沸騰石を加える。内標準液 2 mL を正確に量り、メスフラスコ E に入れ、装置を組み立てる。すり合わせ連結部を水でぬらす。1 分間に 2～3 mL の留出速度で、留分が約 45mL になるまで蒸留する。この留分に水を加えて正確に 50mL とし、検液とする。ただし、内標準液は、2-メチル-2-プロパノール溶液（1→1000）とする。別にメタノール約 0.5 g を精密に量り、水を加えて正確に 100mL とし、この液 5 mL を正確に量り、水を加えて 100mL とする。この液 3 mL 及び内標準液 2 mL を正確に量り、水を加えて 50mL とし、標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ 2.0μL ずつ量り、次の操作条件でガスクロマトグラフィーを行う。検液及び標準液の 2-メチル-2-プロパノールのピーク面積に対するメタノールのピーク面積比 Q_T 及び Q_S を求め、次式によりメタノールの量を求める。



$$\text{メタノールの量 (\%)} = \frac{\text{メタノールの採取量 (g)}}{\text{試料の採取量 (g)}} \times \frac{Q_T}{Q_S} \times 0.15$$

操作条件

検出器 水素炎イオン化検出器

カラム充填剤 180～250μm のガスクロマトグラフィー用スチレン-ジビニルベンゼン系多孔性樹脂

カラム管 内径 3 mm, 長さ 2 m のガラス管

カラム温度 120℃付近の一定温度

注入口温度 200℃付近の一定温度

注入方式 全量注入法

キャリアーガス 窒素又はヘリウム

流量 メタノールの保持時間が約 2 分になるように調整する。

乾燥減量 9.0%以下 (135°C, 2時間)

強熱残分 0.3%以下 (550°C, 4時間)

定量法 本品及び定量用ルチンを 135°Cで2時間乾燥し、それぞれ約 50mg ずつを精密に量り、メタノールに溶かし、正確に 50mL とする。それぞれの液 5 mL を正確に量り、水／アセトニトリル／リン酸混液 (800 : 200 : 1) を加えて正確に 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 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う。検液及び標準液のルチンのピーク面積 A_T 及び A_S を測定し、次式により含量を求める。

$$\text{ルチン (C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}) \text{ の含量 (\%)} = \frac{\text{定量用ルチンの採取量 (g)} \quad A_T}{\text{試料の採取量 (g)} \quad A_S} \times 100$$

操作条件

検出器 紫外吸光光度計 (測定波長 254nm)

カラム充填剤 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 3~6 mm, 長さ 15~25cm のステンレス管

カラム温度 40°C

移動相 水／アセトニトリル／リン酸混液 (800 : 200 : 1)

流量 ルチンの保持時間が 8~12 分になるように調整する。

粗製海水塩化マグネシウム

Crude Magnesium Chloride (Sea Water)

塩化マグネシウム含有物

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、塩化マグネシウム ($\text{MgCl}_2=95.21$) として 12.0~30.0% 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 (1 mol/L) 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 (1 mol/L) 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 4.8% 以下

本品 0.25 g を量り、水を加えて溶かして 100 mL とする。この液 2.0 mL を量り、検液とする。比較液には、0.005 mol/L 硫酸 0.50 mL を用いる。

(2) 臭化物 Br として 2.5% 以下

本品 1.0 g を量り、水を加えて溶かして 500 mL とする。この液 10 mL を量り、水を加えて 100 mL とする。更にこの液 2 mL を量り、水 3 mL、フェノールレッド試液 (pH4.7) 2 mL 及び *p*-トルエンスルホンクロロアミドナトリウム三水和物溶液 (1→10000) 1 mL を加え、直ちに混和し、2 分間放置後、0.1 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液 0.15 mL を加えて混和した後、水を加えて 10 mL とし、検液とする。別に臭化カリウムを 110°C で 4 時間乾燥した後、その 2.979 g を量り、水を加えて溶かして正確に 1000 mL とし、更にこの液 1 mL を正確に量り、水を加えて正確に 1000 mL とする。この液 5 mL を正確に量り、フェノールレッド試液 (pH4.7) 2 mL 及び *p*-トルエンスルホンクロロアミドナトリウム三水和物溶液 (1→10000) 1 mL を加え、直ちに振り混ぜる。以下検液の調製と同様に操作し、比較液とする。検液及び比較液につき、水を対照として波長 590 nm 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) 鉛 Pb として 2 µg/g 以下 (2.0 g, 第 5 法, 比較液 鉛標準液 4.0 mL, フレーム方式)

本品に塩酸 (1→4) 20 mL を加え、時計皿等で覆い、穏やかに 5 分間沸騰させる。冷後、試料液とする。なお、試料が溶けない場合は、蒸発乾固した後、残留物に塩酸 (1→4) 20 mL を加え、穏やかに 5 分間沸騰させる。冷後、試料液とする。

(4) 亜鉛 Zn として 70 µg/g 以下

本品 4.0 g を量り、水を加えて 40 mL とし、試料液とする。試料液 30 mL を量り、酢酸 5 滴及びヘキサシアノ鉄 (II) 酸カリウム三水和物溶液 (1→20) 2 mL 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 14 mL を量り、試料液 10 mL

及び水を加えて 30mL とし、酢酸 5 滴及びヘキサシアノ鉄 (II) 酸カリウム三水合物溶液 (1→20) 2 mL 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 4.0%以下

定量法の A 液 20mL を正確に量り、水を加えて 100mL とし、L (+) - 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 エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム溶液で滴定し (指示薬 NN 指示薬約 0.1 g), その消費量を b mL 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、次式によりカルシウムの量を求める。

$$b \times 0.4008$$

$$\text{カルシウム (Ca) の量 (\%)} = \frac{\quad}{\quad}$$

試料の採取量 (g)

(6) ナトリウム Na として 4.0%以下

本品 1.0 g を量り、水を加えて溶かし、1000mL 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°C で 2 時間乾燥した後、その 2.542 g を量り、水を加えて溶かし、正確に 1000mL とする。この液 2 mL を正確に量り、水を加えて正確に 1000mL 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光度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°C で 2 時間乾燥した後、その 1.907 g を量り、水を加えて溶かして正確に 1000mL とする。この液 3 mL を正確に量り、水を加えて正確に 1000mL 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光度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 As として 3 µg/g 以下 (0.50 g, 第 1 法, 標準色 ヒ素標準液 3.0mL, 装置 B)

定量法 本品約 2 g を精密に量り，水を加えて正確に 200mL とし，A液とする。A液 5 mL を正確に量り，水 50mL 及びアンモニウム緩衝液 (pH10.7) 5 mL を加え，0.01mol/L エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム溶液で滴定し (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，液の赤色が青色に変わるときとする。純度試験(5)で得た消費量 b mL を用い，次式により含量を求める。

$$(a - 0.25b) \times 3.8038$$

$$\text{塩化マグネシウム (MgCl}_2\text{) の含量 (\%)} = \frac{\text{試料の採取量 (g)}}{\text{試料の採取量 (g)}}$$

α-グルコシルトランスフェラーゼ処理ステビア

α-Glucosyltransferase Treated Stevia

酵素処理ステビア

定義 本品は、「ステビア抽出物」に、α-グルコシルトランスフェラーゼを用いてD-グルコースを付加して得られたものである。α-グルコシル化ステビオール配糖体を主成分とする。

含量 本品を乾燥物換算したものは、α-グルコシル化ステビオール配糖体4種（ステビオシド、レバウジオシドA、レバウジオシドC及びズルコシドA各々のα-グルコシル化物）及びそれらの未反応のステビオール配糖体4種の合計量として80.0%以上を含み、かつ、α-グルコシル化ステビオール配糖体4種の合計量として65.0%以上を含む。

性状 本品は白～淡黄色の粉末、薄片又は粒で、においがいいか又はわずかに特異なにおいがあり、強い甘味がある。

確認試験 (1) 本品0.1gを水/アセトニトリル混液(7:3)100mLに溶かし、検液とする。検液及び定量法の標準液Aをそれぞれ10μLずつ量り、「ステビア抽出物」の定量法の操作条件で液体クロマトグラフィーを行うとき、検液では、レバウジオシドAより早い保持時間に複数のピークを認める。

(2) 定量法の検液A10μLにつき、(1)と同じ操作条件で液体クロマトグラフィーを行うとき、レバウジオシドAより早い保持時間に認められるピークの合計面積は、(1)の検液の場合より小さく、ステビオシド又はレバウジオシドAのいずれか、あるいは両方のピーク面積は、(1)の検液の場合より大きい。

純度試験 (1) 鉛 Pbとして1μg/g以下(4.0g, 第1法, 比較液 鉛標準液4.0mL, フレーム方式)

(2) ヒ素 Asとして1μg/g以下(1.5g, 第3法, 標準色 ヒ素標準液3.0mL, 装置B)

乾燥減量 6.0%以下(105℃, 2時間)

強熱残分 1.0%以下

定量法 (1) グルコアミラーゼ処理後のステビオール配糖体4種の合計量

本品約0.1gを精密に量り、水20mLに溶かし、酢酸緩衝液(pH4.5)10mLを正確に加える。この液にグルコアミラーゼ2000単位を加え、55℃で約45分間放置する。更に95℃で約30分間加熱した後、室温まで冷却し、水/アセトニトリル混液(7:3)を加えて正確に100mLとし、検液Aとする。別に定量用ステビオシド及び定量用レバウジオシドAを乾燥し、それぞれ約50mgずつを精密に量り、水/アセトニトリル混液(7:3)に溶かして正確に100mLとし、標準液Aとする。検液A及び標準液Aについて「ステビア抽出物」の定量法を準用し、ステビオール配糖体4種(ステビオシド、レバウジオシドA、レバウジオシドC及びズルコシドA)の合計量を求める。

(2) グルコアミラーゼ処理により遊離する α -グルコシル残基の量

本品約 1 g を精密に量り、水 50 mL に溶かす。この液をアクリル酸エステル系吸着用樹脂又はスチレンージビニルベンゼン系吸着用樹脂 50 mL を充填した内径約 25 mm のガラス管に注ぎ、1 分間に 3 mL 以下の速さで流出させた後、水 250 mL で洗浄する。次に、50 vol% エタノール 250 mL を 1 分間に 3 mL 以下の速さで流し、得られた流出液を約 100 mL になるまで濃縮し、酢酸緩衝液 (pH 4.5) 40 mL を正確に加え、更に水を加えて約 180 mL とする。この液を 55°C で約 5 分間放置した後、グルコアミラーゼ 20000 単位を加え、55°C で約 45 分間放置する。更に 95°C で約 30 分間加熱した後、室温まで冷却し、水を加えて正確に 200 mL とし、検液 B とする。検液 B 20 μ L を量り、D-グルコース定量用発色試液 3 mL を正確に加えて振り混ぜた後、37°C で正確に 5 分間放置する。室温まで冷却した後、水 20 μ L を用いて検液 B と同様に操作した液を対照として、波長 505 nm における吸光度を測定する。別に空試験を行い補正する。ただし、空試験液は、酢酸緩衝液 (pH 4.5) 40 mL を正確に量り、水を加えて約 180 mL としたものを 55°C で約 5 分間放置した後、グルコアミラーゼ 20000 単位を加え、55°C で約 45 分間放置し、更に 95°C で約 30 分間加熱し、室温まで冷却し、水を加えて正確に 200 mL とした液とする。空試験液を検液 B と同様に操作して、吸光度を測定する。別に D (+)-グルコース約 1 g を精密に量り、水に溶かして正確に 100 mL とする。この液 5 mL、10 mL、20 mL 及び 30 mL を正確に量り、水を加えてそれぞれ正確に 100 mL とし、標準液 B とする。これらの標準液 B につき、検液 B と同様に操作して吸光度を測定し、検量線を作成する。検液 B 中の D (+)-グルコース濃度を検量線から求め、次式によりグルコアミラーゼ処理により遊離する α -グルコシル残基の量を求める。

グルコアミラーゼ処理により遊離する α -グルコシル残基の量 (%)

$$= \frac{\text{検液 B 中の D (+)-グルコース濃度 (mg/mL)} \times 200}{\text{乾燥物換算した試料の採取量 (g)} \times 1000} \times 0.900 \times 100$$

(3) 未反応のステビオール配糖体 4 種の合計量

本品約 0.5 g を精密に量り、水/アセトニトリル混液 (7 : 3) を加えて正確に 100 mL とし、検液 C とする。検液 C 及び (1) の標準液 A について「ステビア抽出物」の定量法を準用し、未反応のステビオール配糖体 4 種 (ステビオシド、レバウジオシド A、レバウジオシド C 及びズルコシド A) の合計量を求める。

(4) α -グルコシル化ステビオール配糖体 4 種及び未反応のステビオール配糖体 4 種の含量

次式により α -グルコシル化ステビオール配糖体 4 種及び未反応のステビオール配糖体 4 種の含量を求める。

α -グルコシル化ステビオール配糖体 4 種及び未反応のステビオール配糖体 4 種の含量 (%)

=グルコアミラーゼ処理後のステビオール配糖体4種の合計量 (%)
+グルコアミラーゼ処理により遊離する α -グルコシル残基の量 (%)

(5) α -グルコシル化ステビオール配糖体4種の含量

次式により α -グルコシル化ステビオール配糖体4種の含量を求める。

α -グルコシル化ステビオール配糖体4種の含量 (%)
=グルコアミラーゼ処理後のステビオール配糖体4種の合計量 (%)
+グルコアミラーゼ処理により遊離する α -グルコシル残基の量 (%)
-未反応のステビオール配糖体4種の合計量 (%)