

## アカキャベツ色素

Red Cabbage Color

ムラサキキャベツ色素

**定義** 本品は、キャベツ (*Brassica oleracea* Linné) の葉より弱酸性水溶液で抽出して得られたものであり、シアニジンアシルグリコシドを主成分とするものである。デキストリン又は乳糖を含むことがある。

**色 価** 本品の色価 ( $E_{1\text{cm}}^{10\%}$ ) は 50 以上で、その表示量の 90~110%を含む。

**性 状** 本品は、暗赤色の粉末、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、色価 50 に換算して 0.1g に相当する量を取り、クエン酸緩衝液 (pH3.0) 100ml に溶かした液は、赤~暗紫赤色を呈する。

(2) (1)の溶液に水酸化ナトリウム溶液 (1→25) を加えてアルカリ性にするとき、暗緑~薄い黄緑色に変わる。

(3) 本品をクエン酸緩衝液 (pH3.0) に溶かした液は、波長 520~540nm に極大吸収部がある。

**純度試験** (1) 重金属 Pb として  $40\mu\text{g/g}$  以下 (0.50g, 第2法, 比較液 鉛標準液 2.0ml)

(2) 鉛 Pb として  $8.0\mu\text{g/g}$  以下 (1.25g, 第1法)

(3) ヒ素  $\text{As}_2\text{O}_3$  として  $4.0\mu\text{g/g}$  以下 (0.50g, 第3法, 装置B)

**色価測定法** 色価測定法により次の操作条件で試験を行う。

操作条件

測定溶媒 クエン酸緩衝液 (pH3.0)

測定波長 波長 520~540nm の極大吸収部

## N-アセチルグルコサミン

N-Acetylglucosamine

C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>N<sub>0</sub>O<sub>6</sub>

分子量 221.21

2-Acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose [7512-17-6]

**定義** 本品は、キチンを塩酸及び酵素で加水分解し、分離して得られたものである。成分は、N-アセチル-D-グルコサミンである。

**含量** 本品を乾燥したものは、N-アセチル-D-グルコサミン (C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>N<sub>0</sub>O<sub>6</sub>) 95.0~101.5%を含む。

**性状** 本品は、白~類白色の結晶又は粉末で、においはなく、特有の甘味がある。

**確認試験** 本品の水溶液 (1→100) 0.5mlに、ホウ酸緩衝液(pH9.1)0.1mlを加え、90~100℃で3分間加熱し、急冷後、パラジメチルアミノベンズアルデヒド試液3.0mlを加え、37℃で20分間加温するとき、液は、赤紫色を呈する。

**純度試験** (1) 溶状 無色、澄明 (1.0g, 水20ml)

(2) 塩化物 Clとして0.30%以下 (0.10g, 比較液 0.01mol/L塩酸 0.85ml)

(3) 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)

(4) 鉛 Pbとして10μg/g以下 (1.0g, 第1法)

(5) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として2.0μg/g以下 (1.0g, 第3法, 装置B)

**乾燥減量** 1.0%以下 (105℃, 3時間)

**強熱残分** 0.30%以下 (2g, 600℃, 8時間)

**定量法** 本品を乾燥し、その約0.5gを精密に量り、水に溶かし、正確に50mlとする。ろ過又は遠心分離で不溶物を除き、検液とする。別に定量用N-アセチルグルコサミンを乾燥し、その約0.2gを精密に量り、水に溶かし正確に20mlとし、標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ10μl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N-アセチル-D-グルコサミンのピーク面積A<sub>T</sub>及びA<sub>S</sub>を測定し、次式により含量を求める。

N-アセチル-D-グルコサミン (C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>N<sub>0</sub>O<sub>6</sub>) の含量

$$= \frac{\text{定量用N-アセチルグルコサミンの採取量(g)}}{\text{試料の採取量(g)}} \times \frac{A_T}{A_S} \times 100(\%)$$

操作条件

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 5μm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4.6mm, 長さ25cmのステンレス管

カラム温度 室温

移動相 アセトニトリル/水混液 (3 : 1)

流量 N-アセチル-D-グルコサミンの保持時間が約10分になるように調整する。

## 〈試薬・試液〉

定量用*N*-アセチルグルコサミン  $C_8H_{15}NO_6$

*N*-アセチルグルコサミン，定量用を見よ。

*N*-アセチルグルコサミン，定量用  $C_8H_{15}NO_6$

性 状 白色の結晶性の粉末又は粉末である。

確認試験 本品の水溶液（1→100）0.5mlに，ホウ酸緩衝液（pH9.1）0.1mlを加え，90～100℃で3分間加熱し，急冷後，パラジメチルアミノベンズアルデヒド試液3.0mlを加え，37℃で20分間加温するとき，液は，赤紫色を呈する。

純度試験 (1) 比旋光度  $[\alpha]_D^{20} = +39^\circ \sim +42^\circ$ （2%，水，6時間後）

(2) 類縁物質 本品0.1gを水10mlに溶かし，検液とする。この液1.5mlを正確に量り，水を加えて正確に100mlとし，比較液とする。検液及び比較液をそれぞれ10 $\mu$ 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2倍までとする。

操作条件 「*N*-アセチルグルコサミン」の定量法を準用する。

乾燥減量 1.0%以下（105℃，3時間）

## ホウ酸緩衝液（pH9.1）

ホウ酸4.95gを水50mlに溶かし，水酸化カリウム溶液（7→100）でpH9.1に調整し，更に水を加えて100mlとする。（0.8mol/L）

## 〈参考情報〉

カラム充てん剤 YMC-Pack PA-03（株ワイエムシイ製）

液体クロマトグラフィー用アミノ基結合型シリカゲル

液体クロマトグラフィー用に製造したもの。

アミノ基結合型シリカゲル，液体クロマトグラフィー用

液体クロマトグラフィー用アミノ基結合型シリカゲルを見よ。

## 5'-アデニル酸

5'-Adenylic Acid

アデノシン5'-リン酸

C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>P

分子量 347.22

Adenosine 5'-monophosphoric acid [61-19-8]

**定 義** 酵母 (*Candida utilis*) の菌体より、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'-アデニル酸である。

**含 量** 本品を乾燥物換算したものは、5'-アデニル酸 (C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>P) 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 0.010g を塩酸 (1→1,000) 1,000ml に溶かした液は、波長 255~259nm に極大吸収部がある。

(2) 本品 0.25g を水酸化ナトリウム試液 1ml に溶かし、水 5ml を加えた液に、マグネシア試液 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 10ml とし、検液とする。

(2) 重金属 Pb として 10 μg/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。

(3) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> として 4.0 μg/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。

(4) 吸光比 本品 0.010g を量り、塩酸 (1→1,000) を加えて溶かし、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<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> 及び A<sub>3</sub> とするとき、A<sub>1</sub>/A<sub>2</sub> は 0.82~0.88, A<sub>3</sub>/A<sub>2</sub> は 0.19~0.23 である。

(5) 他の核酸分解物 本品 0.10g 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、1-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ィーを行い、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ィー用シリカゲル (蛍光剤入り) を 110℃ で 1 時間乾燥したものを使用する。

**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。

$$5\text{'-アデニル酸 (C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{O}_7\text{P) の含量} = \frac{0.2 \times 2.315 \times A}{\text{乾燥物換算した試料の採取量 (g)}} \times 100 (\%)$$

## L-アラビノース

L-Arabinose

C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>

分子量 150.13

L-Arabinofuranose [87-72-9]

**定義** 本品は、アラビアガム、ガティガム、コーンファイバー又はサトウダイコンのバルプ（シュガービートバルプ）の多糖類（アラビナン等）を、加水分解し、分離して得られたものである。成分はL-アラビノースである。

**含量** 本品を乾燥したものは、L-アラビノース（C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>）95.0～101.0%を含む。

**性状** 本品は、無～白色の結晶又は白～淡黄白色の結晶性の粉末で、においはなく、味は甘い。

**確認試験** (1) 本品の水溶液（1→20）2～3滴を沸騰したフェーリング試液5mlに加えるとき、赤色の沈殿を生じる。

(2) 本品1gを水3mlに溶かし、塩酸（1→4）/ジフェニルアミン・エタノール溶液（1→40）混液（5：2）3mlを加え、水浴中で5分間加熱するとき、液は、黄～淡だいたい色を呈する。

**純度試験** (1) 比旋光度  $[\alpha]_D^{20} = +95^\circ$  以上 本品約2gを精密に量り、水を加えて正確に50mlとし、室温で24時間放置後、旋光度を測定し、更に乾燥物換算を行う。

(2) 溶状 無色、ほとんど澄明（4.0g, 水20ml）

(3) 遊離酸 本品1.0gを、新たに煮沸し冷却した水10mlに溶かし、フェノールフタレイン試液1滴を加え、0.2mol/L水酸化ナトリウム溶液1滴を加えるとき、液は、紅色を呈する。

(4) 硫酸塩 SO<sub>4</sub>として0.005%以下（1.0g, 比較液 0.005mol/L硫酸0.10ml）

(5) 重金属 Pbとして20μg/g以下（1.0g, 第2法, 比較液 鉛標準液2.0ml）

(6) 鉛 Pbとして10μg/g以下（1.0g, 第1法）

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

**乾燥減量** 1.0%以下（105℃, 3時間）

**強熱残分** 0.20%以下（5g, 600℃, 8時間）

**定量法** 本品及び定量用L-アラビノースを乾燥し、それぞれ約2gを精密に量り、水/プロピレングリコール混液（4：1）10mlずつを正確に加える。更に水を加えて正確に50mlとし、それぞれ検液及び標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ10μl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-アラビノースとプロピレングリコールのピーク面積を測定し、プロピレングリコールのピーク面積に対するL-アラビノースのピーク面積比Q<sub>T</sub>及びQ<sub>S</sub>を求め、次式により含量を求める。

$$\text{L-アラビノース (C}_5\text{H}_{10}\text{O}_5\text{) の含量} = \frac{\text{定量用L-アラビノースの採取量 (g)}}{\text{試料の採取量 (g)}} \times \frac{Q_T}{Q_S} \times 100 (\%)$$

操作条件

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 7～11μmの液体クロマトグラフィー用強酸性陽イオン交換樹脂

カラム管 内径4～8mm, 長さ25～35cmのステンレス管

カラム温度 60～70℃の一定温度

移動相 水

流量 L-アラビノースの保持時間が10～15分になるように調整する。

### 〈試薬・試液〉

定量用アラビノース L-アラビノース，定量用を見よ。

L-アラビノース，定量用  $C_5H_{10}O_5$

性 状 白色の結晶又は粉末である。

純度試験 (1) 比旋光度  $[\alpha]_D^{20} = +103.0^\circ \sim +105.5^\circ$  (2g, 水, 50ml, 乾燥物換算) ただし，24時間放置後，測定する。

(2) 類縁物質 本品1.0gを水25mlに溶かし，検液とする。この液1mlを正確に量り，水を加えて正確に100mlとし，比較液とする。検液及び比較液をそれぞれ10 $\mu$ 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-アラビノース」の定量法の操作条件を準用する。

### 〈参考情報〉

カラム充てん剤 Shodex SUGAR SP0810

## myo-イノシトール

myo-Inositol

myo-イノシット

C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>

分子量 180.16

(1*R*,2*s*,3*S*,4*R*,5*r*,6*S*)-cyclohexane-1,2,3,4,5,6-hexol [87-89-8]

**定義** 本品は、イノシトールのうち、myo-イノシトールを成分とするものであり、イネ (*Oryza sativa* Linné) の種子より得られた米ぬか若しくはトウモロコシ (*Zea mays* Linné) の種子から得られたフィチン酸を分解したものより、又はサトウダイコン (*Beta vulgaris* Linné) の糖液又は糖蜜より、分離して得られたものである。

**含量** 本品を乾燥したものは、myo-イノシトール (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>) 97.0%以上を含む。

**性状** 本品は、白色の結晶又は結晶性の粉末で、においはなく、味は甘い。

**確認試験** 本品を乾燥し、赤外吸収スペクトル測定法中の臭化カリウム錠剤法により測定するとき、3,380cm<sup>-1</sup>、3,220cm<sup>-1</sup>、1,446cm<sup>-1</sup>、1,147cm<sup>-1</sup>、1,114cm<sup>-1</sup>及び1,049cm<sup>-1</sup>のそれぞれの付近に吸収帯を認める。

**純度試験** (1) 融点 223~227°C

(2) 溶状 無色、澄明 (1.0g, 水 10ml)

(3) 塩化物 Cl として 0.005%以下 (2.0g, 比較液 0.01mol/L 塩酸 0.30ml)

(4) 硫酸塩 SO<sub>4</sub>として 0.006%以下 (4.0g, 比較液 0.005mol/L 硫酸 0.50ml)

(5) 重金属 Pbとして 25 μg/g以下 (1.0g, 第1法, 比較液 鉛標準液 2.5ml)

(6) 鉄 Feとして 5.0 μg/g以下 (1.0g, 第1法, 比較液 鉄標準液 0.5ml)

(7) カルシウム 本品 1.0g を水 10ml に溶かし、シュウ酸アンモニウム溶液 (1→30) 1ml を加え、1分間放置するとき、液は澄明である。

(8) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として 2.0 μg/g以下 (1.0g, 第1法, 装置B)

(9) 還元性物質 本品 0.50g を水 10ml に溶かし、フェーリング試液 5ml を加えて3分間加熱した後30分間放置するとき、帯黄だいたい~赤色の沈殿を生じない。

**乾燥減量** 0.50%以下 (105°C, 4時間)

**強熱残分** 0.10%以下

**定量法** 本品及び定量用 myo-イノシトールを乾燥し、それぞれ約 0.2g を精密に量り、水 30ml と 1-プロパノール溶液 (3→25) 5ml ずつを正確に加えた後、水を加えて正確に 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 10 μl 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 1-プロパノールのピーク面積に対する myo-イノシトールのピーク面積比 Q<sub>T</sub>及び Q<sub>S</sub>を求め、次式により含量を求める。

myo-イノシトール (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>) の含量

$$= \frac{\text{定量用 myo-イノシトールの採取量 (g)}}{\text{試料採取量 (g)}} \times \frac{Q_T}{Q_S} \times 100 (\%)$$

操作条件

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 8  $\mu$ m の液体クロマトグラフィー用強酸性陽イオン交換樹脂

カラム管 内径8mm, 長さ30cm のステンレス管

カラム温度 65°C付近の一定温度

移動相 水

流量 *myo*-イノシトールの保持時間が約9分になるように調整する。

## 〈試薬・試液〉

**定量用 *myo*-イノシトール** *myo*-イノシトール, 定量用を見よ。

### ***myo*-イノシトール, 定量用**

性 状 本品は, 白色の結晶又は結晶性の粉末で, においはなく, 味は甘い。

確認試験 本品を 105°C, 4 時間乾燥し, 赤外吸収スペクトル測定法中の臭化カリウム錠剤法により測定するとき, 3,380 $\text{cm}^{-1}$ , 3,220 $\text{cm}^{-1}$ , 1,446 $\text{cm}^{-1}$ , 1,147 $\text{cm}^{-1}$ , 1,114 $\text{cm}^{-1}$  及び 1,049 $\text{cm}^{-1}$  のそれぞれの付近に吸収帯を認める。

純度試験 類縁物質 本品 0.2g を水 20ml に溶かし, 検液とする。この液 1ml を正確に量り, 水を加えて正確に 100ml とし, 比較液とする。検液及び比較液をそれぞれ 10 $\mu$ 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, 各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面積の合計は, 比較液の主ピークの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約 2 倍までとする。

操作条件

「*myo*-イノシトール」の定量法の操作条件を準用する。

## 〈参考情報〉

### ***myo*-イノシトール**

和光純薬工業製 *myo*-イノシトール (*myo*-Inositol) (製品コード 092-00282) がある。

### **液体クロマトグラフィー用カラム**

昭和電工製 Shodex SUGAR KS-801 がある。



## 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-7-yl  $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-  
 $\beta$ -D-glucopyranoside trihydrate [153-18-4, ルチン無水物]

**定義** 本品は、ルチン（抽出物）のうちエンジュ（*Sophora japonica* Linné）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（ $C_{27}H_{30}O_{16}$ =610.52）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 0.02g をエタノール 10ml に溶かした液は、黄色を呈し、塩化鉄（Ⅲ）溶液（1 $\rightarrow$ 50）1～2滴を加えるとき、液は帯緑褐色に変わる。

(2) 本品 0.02g をエタノール 5ml に加温して溶かした液は、黄色を呈し、塩酸 2ml 及びマグネシウム末 0.05g を加えるとき、液は徐々に赤色に変わる。

(3) 本品 0.01g をエタノール 100ml に溶かした液は、波長 257nm 付近及び波長 361nm 付近に極大吸収部がある。

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

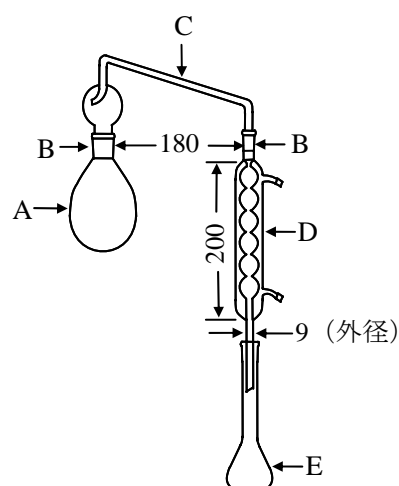
(2) 鉛 Pb として 5.0  $\mu$ g/g 以下（2.0g, 第1法）

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

(4) 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)

(単位 mm)

(ii) 操作法

本品約 5g 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。内標準溶液 2ml 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 2～3ml 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、内標準溶液は、*tert*-ブタノールの水溶液（1→1,000）とする。別にメタノール約 0.5g を精密に量り、水を加えて正確に 100ml とし、この液 5ml を正確に量り、水を加えて 100ml とする。この液 3ml 及び内標準溶液 2ml を正確に量り、水を加えて正確に 50ml とし、標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ 2.0 $\mu$ l 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 *tert*-ブタ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。

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

操作条件

検出器 水素炎イオン化検出器

カラム充てん剤 180～250 $\mu$ m 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 $^{\circ}$ C 付近の一定温度

注入口温度 200 $^{\circ}$ C 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 $^{\circ}$ C, 2 時間)

**強熱残分** 0.30%以下 (550 $^{\circ}$ C, 4 時間)

**定量法** 本品及び定量用ルチンを 135 $^{\circ}$ C で 2 時間乾燥し、それぞれ約 0.05g 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 5ml 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 $\mu$ 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。

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

操作条件

検出器 紫外吸光光度計 (測定波長 254nm)

カラム充てん剤 5～10 $\mu$ 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 3～6mm, 長さ 15～25cm のステンレス管

カラム温度 40 $^{\circ}$ 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。

### 〈参考情報〉

**ガスクロマトグラフィー用カラム**：180～250  $\mu\text{m}$  のスチレン-ジビニルベンゼン系多孔性樹脂  
Gaskuropack 54 60/80 メッシュ Cat. No. 1002-45406 (ジーエルサイエンス社製)

**液体クロマトグラフィー用カラム**：5～10  $\mu\text{m}$  のオクタデシルシリル化シリカゲル Inertsil ODS-3  
250×4.6mmI.D. Cat. No. 5020-01732 (ジーエルサイエンス社製)

### 〈試薬・試液〉

**定量用ルチン** ルチン，定量用を見よ。

**ルチン，定量用**  $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$

**性状** 本品は，淡黄～淡黄緑色の結晶性の粉末である。

**確認試験** 本品を赤外吸収スペクトル測定法中の臭化カリウム錠剤法により測定するとき，  
1,655 $\text{cm}^{-1}$ ，1,605 $\text{cm}^{-1}$ ，1,505 $\text{cm}^{-1}$ ，1,360 $\text{cm}^{-1}$ ，1,300 $\text{cm}^{-1}$ ，1,200 $\text{cm}^{-1}$ 及び810 $\text{cm}^{-1}$ のそれぞれの付近  
に吸収帯を認める。

**純度試験** (1) 比吸光度  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  (350nm 付近の極大吸収部) = 290 以上

本品を135℃，2時間乾燥し，その約0.05gを精密に量り，メタノールに溶かして正確に100ml  
とする。この液2mlを正確に量り，メタノールを加えて正確に100mlとし，紫外可視吸光度測  
定法により吸光度を測定する。

(2) 類縁物質 本品約0.05gをメタノール25mlに溶かす。この液5ml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，検液とする。別に検液1  
mlを正確に量り，メタノール5mlを加えた後，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，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，検液の主ピークと  
溶媒ピークとを除く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**

**検出器** 紫外吸光光度計 (測定波長 254nm)

**カラム充てん剤** 5～10  $\mu\text{m}$  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3～6mm，長さ15～25cmのステンレス管

**カラム温度** 40℃

**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。

**ホウ酸・水酸化ナトリウム緩衝液** ホウ酸12.36g及び水酸化ナトリウム4.00gを量り，合わせ，水  
を加えて溶かして1,000mlとする。

### 〈参考情報〉

**液体クロマトグラフィー用カラム**：5～10  $\mu\text{m}$  のオクタデシルシリル化シリカゲル Inertsil ODS-3

250×4.6mmI. D. Cat. No. 5020-01732 (ジーエルサイエンス社製)

## 貝殻焼成カルシウム

Calcinated Shell Calcium

**定義** 本品は、焼成カルシウムのうち、貝殻を焼成して得られたものである。主成分は酸化カルシウムである。

**含量** 本品を強熱したものは、酸化カルシウム (CaO=56.08) として 91.0%以上を含む。

**性状** 本品は、白～灰白色の塊、粒又は粉末である。

**確認試験** (1) 本品 1g に水 5ml を加え懸濁した液は、アルカリ性を呈する。

(2) 本品 1g に水 20ml 及び酢酸 (1→3) 10ml を加えて溶かした後、アンモニア試液で中和した液は、カルシウム塩の反応を呈する。

**純度試験** (1) 塩酸不溶物 0.50%以下

本品 5.0g を量り、水 100ml を加え、振り混ぜながら、それ以上溶けなくなるまで塩酸を滴加した後、5分間煮沸する。冷後、定量分析用ろ紙 (5種C) でろ過し、ろ紙上の残留物を、洗液が塩化物の反応を呈さなくなるまで熱湯でよく洗った後、ろ紙と共に強熱し、残留物の質量を量る。

(2) 炭酸塩 本品 1.0g に少量の水を加えて破砕し、水 50ml とよく混ぜ、しばらく放置し、上層の乳状液の大部分を傾斜して除き、残留物に過量の塩酸 (1→4) を加えるとき、著しく泡立たない。

(3) 重金属 Pb として  $10\mu\text{g/g}$  以下

本品 2.0g を量り、塩酸 (1→4) 20ml を加えて溶かし、水浴上で蒸発乾固する。残留物に水 40ml を加えて溶かし、必要があればろ過し、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。

(4) ヒ素  $\text{As}_2\text{O}_3$  として  $4.0\mu\text{g/g}$  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。

**強熱減量** 10.0%以下 (900°C, 30分間)

**定量法** 本品を強熱し、その約 1.5g を精密に量り、塩酸 (1→4) 30ml を加え、加熱して溶かす。冷後、水を加えて正確に 250ml とし、検液とする。カルシウム塩定量法の第 1 法により定量する。

0.05mol/L EDTA 溶液 1ml = 2.804mg CaO

## 活性白土

Activated Acid Clay

**定義** 本品は、酸性白土を硫酸処理して得られたものである。主成分は含水ケイ酸アルミニウムである。

**性状** 本品は、類白～灰色の粉末又は粒状である。

**確認試験** 本品1.0gに無水炭酸ナトリウム3.0g及びホウ酸0.4gを混和し、白金製又はニッケル製のろつぼに入れ、加熱して完全に融解する。冷後、泡が発生しなくなるまで塩酸を加えた後、更に塩酸10mlを加え、水浴上で、ろつぼ内のものがゼリー状になるまで加熱する。冷後、ろ過するとき、このろ液はアルミニウム塩の反応を呈する。

**純度試験** (1) 液性 pH2.0～6.0

本品10.0gを量り、水100mlを加え、蒸発する水を補いながら、水浴上で時々振り混ぜて2時間加熱し、冷後、直径47mmのメンブランフィルター（孔径 $0.45\mu\text{m}$ ）を用いて吸引ろ過する。ろ液が濁っているときは、同一フィルターで吸引ろ過を繰り返す。容器及びフィルター上の残留物を水で洗い、洗液をろ液に合わせ、水を加えて100mlとし、検液とする。

(2) 水可溶物 1.6%以下

(1)の検液50mlを量り、蒸発乾固し、残留物を $110^{\circ}\text{C}$ で2時間乾燥し、その質量を量る。

(3) 鉛 Pbとして $40\mu\text{g/g}$ 以下

本品1.0gを量り、塩酸（1→25）20ml及び水50mlを加えてよく振り混ぜた後、30分間緩やかに煮沸し、冷後ろ過する。残留物を水で洗い、洗液をろ液に合わせ、更に水を加えて100mlとし、A液とする。A液25mlを量り、水浴上で蒸発乾固した後、塩酸（1→10）を加えて溶かして20mlとし、検液とする。比較液は、鉛標準液1.0mlに塩酸（1→10）を加えて20mlとする。検液及び比較液につき、鉛試験法第1法により試験を行う。

(4) ヒ素  $\text{As}_2\text{O}_3$ として $4.0\mu\text{g/g}$ 以下

(3)のA液50mlを量り、水浴上で蒸発して5mlとし、検液とする。装置Bを用いる。

**強熱減量** 35.0%以下（ $110^{\circ}\text{C}$ 、3時間、次に $550^{\circ}\text{C}$ 、3時間）

## カードラン

Curdlan

$(C_6H_{10}O_5)_n$

(3→1)-β-D-Glucopyranan [54724-00-4]

**定義** 本品は、アグロバクテリウム属菌 (*Agrobacterium* biovar 1) 又はリゾビウム属菌 (*Rhizobium radiobacter*) の培養液から得られた、β-1,3-グルカンを主成分とするものである。

**含量** 本品は、カードラン80.0%以上を含む。

**性状** 本品は、白～淡黄褐色の粉末で、においはない。

**確認試験** (1) 本品0.2gに水5mlを加えてよくかき混ぜた後、水酸化ナトリウム溶液 (3→25) 1mlを加えて振り混ぜるとき、溶解する。

(2) 本品の2%懸濁液10mlを水浴中で10分間加熱するとき、ゲルを形成する。

(3) 本品の2%懸濁液10mlに硫酸5mlを加えて水浴中で30分間加熱した後、冷却する。この液1mlに水100ml及び炭酸バリウムを加えて中和した後、900×gで10分間遠心分離する。この上澄液1mlにフェーリング試液5mlを加え水浴中で5分間加熱するとき、赤色の沈殿を生じる。

**純度試験** (1) 液性 pH6.0～7.5 (1%懸濁液)

(2) 鉛 Pbとして0.5μg/g以下 (20g, 第1法)

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

(4) 総窒素 0.3%以下

本品約0.5g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試験を行う。

**乾燥減量** 10.0%以下 (60℃, 減圧, 5時間)

**強熱残分** 6.0%以下

**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1,000以下である。

また大腸菌は認めない。

**定量法** 本品約0.1gを精密に量り、0.1mol/L水酸化ナトリウム溶液を加えて振り混ぜて溶かし、正確に100mlとする。この液5mlを正確に量り、水を加えて正確に100mlとする。この液1mlを正確に量り、フェノール溶液 (1→20) 1ml及び硫酸5mlを加えて激しく振り混ぜた後、氷水中で冷やし、検液とする。対照液は、水0.1mlを用いて検液の場合と同様に操作し調製する。別にブドウ糖約0.1gを精密に量り、これを用いて検液の場合と同様に操作して標準液とする。検液及び標準液の波長490nmにおける吸光度A<sub>T</sub>及びA<sub>S</sub>を測定し、次式により含量を求める。

$$\text{カードランの含量} = \frac{\text{ブドウ糖の採取量 (g)}}{\text{試料の採取量 (g)}} \times \frac{A_T}{A_S} \times 0.900 \times 100 (\%)$$

### 〈試薬・試液〉

炭酸バリウム BaCO<sub>3</sub>

含 量 99.0%以上

性 状 本品は白色の粉末である。

純度試験 (1) ナトリウム 0.01%以下

本品1.0gに塩酸(1→10)を加えて溶かし100mlとし、検液とする。本品1.0gにナトリウム標準液(0.1mg/ml) 1ml, カリウム標準液(0.1mg/ml) 1ml, カルシウム標準液(0.1mg/ml) 1ml及びストロンチウム標準液(5.0mg/ml) 1mlを加え、次いで塩酸(1→10)を加えて溶かし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から検液の吸光度を差し引いた数値を超えない。

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

(2) カリウム 0.01%以下

(1)の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から検液の吸光度を差し引いた数値を超えない。

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

(3) カルシウム 0.01%以下

(1)の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から検液の吸光度を差し引いた数値を超えない。

操作条件

光源ランプ	カルシウム中空陰極ランプ
分析線波長	422.7nm
支燃性ガス	空気
可燃性ガス	アセチレン

(4) ストロンチウム 0.5%以下

(1)の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から検液の吸光度を差し引いた数値を超えない。

操作条件

光源ランプ	ストロンチウム中空陰極ランプ
分析線波長	460.7nm
支燃性ガス	空気
可燃性ガス	アセチレン

(5) 水酸化バリウム 0.02%以下

本品5gに二酸化炭素を含まない水50mlを加え、5分間振り混ぜる。定量用ろ紙(5種C)を用い



てろ過した後、ろ液を0.05mol/L塩酸で滴定する(指示薬 ブロモチモールブルー試液)。

0.05mol/L塩酸 1 ml = 4.284mg Ba(OH)<sub>2</sub>

定量法 本品約1gを精密に量り、水50ml及び1mol/L塩酸40mlを加えて煮沸し冷却する。この液を1mol/L水酸化ナトリウム溶液で滴定する(指示薬 ブロモチモールブルー試液)。別に空試験を行い補正する。

1 mol/L塩酸 1 ml = 98.67mg BaCO<sub>3</sub>

**硝酸ストロンチウム** Sr(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> K8554

〈標準液〉

**ナトリウム標準液** (0.1mg/ml) 塩化ナトリウム2.54gに水を加えて1,000mlとし、この液10mlに水を加えて100mlとする。

**カリウム標準液** (0.1mg/ml) 塩化カリウム1.91g に水を加えて1,000mlとし、この液10mlに水を加えて100mlとする。

**カルシウム標準液** (0.1mg/ml) 炭酸カルシウム2.50gに塩酸(1→10)100mlを加え、沸騰しない程度に加熱し、冷却後水を加えて1,000mlとし、この液10mlに水を加えて100mlとする。

**ストロンチウム標準液** (5.0mg/ml) 硝酸ストロンチウム2.42gに水を加えて200mlとする。

## カンゾウ抽出物

Licorice Extract

カンゾウエキス

グリチルリチン

リコリス抽出物

**定義** 本品は、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である。本品には, 粗製物と精製物がある。

## 粗製物

**含量** 本品を乾燥物換算したものは, グリチルリチン酸 ( $C_{42}H_{62}O_{16}=822.93$ ) 5.0%以上, 50.0%未満を含む。

**性状** 本品は, 黄~黒褐色の粉末, 薄片, 粒, 塊, ペースト又は液体である。

**確認試験** 本品0.01~0.10gを50%エタノール10mlに溶かし, 検液とする。別に薄層クロマトグラフィー用グリチルリチン酸5mgを50%エタノール10mlに溶かし, 対照液とする。これらの液2 $\mu$ 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い, 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(主波長254nm)下で観察するとき, 検液から得た数個のスポットのうち1個は, 対照液から得た暗紫色のスポット(グリチルリチン酸)と色調及びRf値が等しい。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(蛍光剤入り)を110°Cで1時間乾燥したものを使用する。

**純度試験** (1) 不溶物 本品を乾燥し, その5.0gを50%エタノール100mlに溶かし, 質量既知のろ紙を用いてろ過し, 50%エタノールで洗った後, 残留物を105°Cで5時間乾燥するとき, その量は1.25g以下である。

(2) 液性 pH2.5~7.0(固体試料1.0g又はペースト及び液体試料を乾燥したもの1.0g, 50%エタノール100ml)

(3) 重金属 Pbとして10 $\mu$ g/g以下(固体試料2.0g又はペースト及び液体試料を乾燥したもの2.0g, 第2法, 比較液 鉛標準液2.0ml)

(4) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として2.0 $\mu$ g/g以下(固体試料1.0g又はペースト及び液体試料を乾燥したもの1.0g, 第3法, 装置B)

**乾燥減量** 固体試料 8.0%以下(105°C, 2時間)

ペースト及び液体試料 60.0%以下(105°C, 5時間)

**強熱残分** 15.0%以下(固体試料又はペースト及び液体試料を乾燥したもの)

**定量法** 本品0.04~0.4gを精密に量り, 50%エタノールに溶かして正確に100mlとし, 検液とする。別にグリチルリチン酸標準品(別途水分を測定しておく)約0.02gを精密に量り, 50%エタノールに溶かして正確に100mlとし, 標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ20 $\mu$ 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リチン酸のピーク面積A<sub>T</sub>及びA<sub>S</sub>

を測定し、次式により含量を求める。

$$\begin{aligned} & \text{グリチルリチン酸 (C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_{16}) \text{ の含量} \\ & = \frac{\text{無水物換算したグリチルリチン酸標準品の採取量 (g)}}{\text{乾燥物換算した試料の採取量 (g)}} \times \frac{A_T}{A_S} \times 100 (\%) \end{aligned}$$

#### 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 $\mu$ 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 40℃

移動相 酢酸 (1→50) / アセトニトリル混液 (3 : 2)

流量 グリチルリチン酸の保持時間が約10分となるように調整する。

カラム選定 グリチルリチン酸標準品 5mg及び「パラオキシ安息香酸プロピル」1mgを50%エタノール20mlに溶かす。この液20 $\mu$ lにつき、上記の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。

#### 精製物

**含 量** 本品を乾燥物換算したものは、グリチルリチン酸 (C<sub>42</sub>H<sub>62</sub>O<sub>16</sub>=822.93) 50.0～80.0%を含む。

**性 状** 本品は、白～黄色の結晶又は粉末である。

**確認試験** 本品5～10mgを量り、以下「粗製物」の確認試験を準用する。

**純度試験** (1) 液性 pH2.5～5.0 (1.0g, 50%エタノール100ml)

(2) 重金属 Pbとして10 $\mu$ g/g以下 (2.0g, 第2法, 比較液 鉛標準液2.0ml)

(3) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として2.0 $\mu$ g/g以下 (1.0g, 第3法, 装置B)

**乾燥減量** 8.0%以下 (105℃, 2時間)

**強熱残分** 15.0%以下

**定 量 法** 本品0.02～0.04gを精密に量り、以下「粗製物」の定量法を準用する。

#### 〈標準品〉

##### グリチルリチン酸標準品

グリチルリチン酸日本薬局方標準品を用いる。

#### 〈試薬・試液〉

##### 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

液体クロマトグラフィー用に製造したもの。

### オクタデシルシリル化シリカゲル，液体クロマトグラフィー用

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を見よ。

### 薄層クロマトグラフィー用グリチルリチン酸

グリチルリチン酸，薄層クロマトグラフィー用を見よ。

### グリチルリチン酸，薄層クロマトグラフィー用 $C_{42}H_{62}O_{16} \cdot nH_2O$

性 状 白色の結晶性の粉末で，特異な甘味がある。熱湯又はエタノールに溶解やすく，ジエチルエーテルにほとんど溶けない。

融 点 213～218℃（分解）

純度試験 類縁物質 本品0.010gを水／エタノール混液（1：1）5mlに溶かし，検液とする。

この液1mlを正確に量り，水／エタノール混液（1：1）を加えて正確に100mlとし，対照液とする。検液及び対照液10 $\mu$ lにつき，「カンゾウ抽出物」の確認試験を準用し，試験を行うとき，検液から得たRf値約0.3の主スポット以外のスポットは，対照液から得たスポットより濃くない。

### 〈参考情報〉

#### 薄層クロマトグラフィー用グリチルリチン酸

和光純薬工業（株）製の「グリチルリチン生化学用（100mg）074-03481」、「グリチルリチン標準品生薬試験用（20mg）」がある。

## クチナシ青色素

Gardenia Blue

**定義** 本品は、クチナシ (*Gardenia augusta* Merrill 又は *Gardenia jasminoides* Ellis) の果実から得られたイリドイド配糖体とタンパク質分解物の混合物に β-グルコシダーゼを添加して得られたものである。デキストリン又は乳糖を含むことがある。

**色 価** 本品の色価 ( $E_{1\text{cm}}^{10\%}$ ) は 50 以上で、その表示量の 90~110%を含む。

**性 状** 本品は、暗紫~青色の粉末、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、色価 50 に換算して 0.2g に相当する量を取り、クエン酸緩衝液 (pH7.0) 100ml に溶かした液は、青~青紫色を呈する。

(2) 本品をクエン酸緩衝液 (pH7.0) に溶かした液は、波長 570~610nm に極大吸収部がある。

(3) 本品の表示量から、色価 50 に換算して 0.2g に相当する量を取り、水を加えて 100ml とし、この液 5ml に塩酸 1~2 滴を加えた後、次亜塩素酸ナトリウム試液 1~3 滴加えるとき、速やかに色が消える。

(4) 本品の表示量から色価 50 に換算して 0.2g に相当する量を取り、水を加えて 100ml とし、この液 5ml に水酸化ナトリウム溶液 (1→25) 5ml を加え、40~43°C で 20 分間加熱するとき、明らかな色の変化は認められない。

**純度試験** (1) 重金属 Pb として 40 μg/g 以下 (0.50g, 第 2 法, 比較液 鉛標準液 2.0ml)

(2) 鉛 Pb として 8.0 μg/g 以下 (1.25g, 第 1 法)

(3) 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)

(4) メタノール 0.10%以下 (色価 50 に換算)

本品の表示量から、色価 50 に換算して 1.00g に相当する量を 10ml のメスフラスコに正確に量り、水を加えて溶かし、内標準溶液 2ml を正確に加えた後、更に水を加えて 10ml とし、試料液とする。グラファイトカーボンミニカラム (500mg) にエタノール 4ml, 続いて水 10ml を注入し、流出液は捨てる。このカラムに正確に 1ml の試料液を注入し、流出液を 5ml のメスフラスコにとる。次に、水を注ぎ、流出液の総量が 5ml になるまで青色素が溶出しないような速さで流し、得られた流出液を検液とする。別にメタノール 0.50g を量り、水を加えて正確に 100ml とする。この液 10ml を正確に量り、水を加えて正確に 100ml とする。更にこの液 2ml を正確に量り、内標準溶液 2ml を正確に加えた後、水を加えて正確に 50ml とし、比較液とする。ただし、2-プロパノール 0.50g を量り、水を加えて 100ml とし、更にこの液 10ml を量り、水を加えて 100ml とし、内標準溶液とする。検液及び比較液をそれぞれ 2.0 μl 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とき、検液の 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の比は、比較液の 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の比を超えない。

操作条件

検出器 水素炎イオン化検出器

カラム充てん剤 180~250 μm 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 3~4 mm, 長さ 1~2 m のガラス管又はステンレス管

カラム温度 120°C 付近の一定温度

注入口温度 160～200℃

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2～4分になるように調整する。

**色価測定法** 色価測定法により次の操作条件で試験を行う。

操作条件

測定溶媒 クエン酸緩衝液 (pH7.0)

測定波長 波長 570～610nm の極大吸収部

#### 〈参考情報〉

**グラファイトカーボンミニカラム (500mg)** : SEP cartridge CARBOGRAPH 500mg/6 ml

Cat. No. 5010-23010 (ジーエルサイエンス社製)

**ガスクロマトグラフィー用カラム** : 180～250  $\mu$ m のスチレン-ジビニルベンゼン系多孔性樹脂

Gaskuropack 54 60/80 メッシュ Cat. No. 1002-45406 (ジーエルサイエンス社製)

**活栓** : ニードルチップ (ストップコックバルブ付き) (ウォーターズ社製)

#### 〈試薬・試液〉

**クエン酸緩衝液 (pH7.0)**

第1液 : クエン酸 21g を量り、水を加えて溶かし、1,000ml とする。

第2液 : リン酸二ナトリウム 71.6g を量り、水を加えて溶かし、1,000ml とする。

第1液 35 容量と第2液 165 容量とを混和する。必要ならば、更にいずれかの液を加えて pH7.0 に調整する。

**次亜塩素酸ナトリウム NaClO** 「次亜塩素酸ナトリウム」 ただし、有効塩素 5%以上のものを用いる。

**次亜塩素酸ナトリウム試液** 次亜塩素酸ナトリウムを有効塩素 5%としたものを用いる。

**グラファイトカーボンミニカラム (500mg)** 内径 10～15mm のポリエチレン製のカラム管に、グラファイトカーボン 500mg を充てんしたもの、又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

**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**

スチレン-ジビニルベンゼン系多孔性樹脂、ガスクロマトグラフィー用を見よ。

**スチレン-ジビニルベンゼン系多孔性樹脂、ガスクロマトグラフィー用**

ガスクロマトグラフィー用に製造したものを用いる。

## クチナシ赤色素

Gardenia Red

**定義** 本品は、クチナシ (*Gardenia augusta* Merrill 又は *Gardenia jasminoides* Ellis) の果実から得られたイリドイド配糖体のエステル加水分解物とタンパク質分解物の混合物に β-グルコシダーゼを添加して得られたものである。デキストリン又は乳糖を含むことがある。

**色価** 本品の色価 ( $E_{1\text{cm}}^{10\%}$ ) は 50 以上で、その表示量の 90~110%を含む。

**性状** 本品は、暗赤紫~赤色の粉末、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、色価 50 に換算して 0.2g に相当する量を取り、酢酸緩衝液 (pH4.0) 100ml に溶かした液は、赤~赤紫色を呈する。

(2) 本品を酢酸緩衝液 (pH4.0) に溶かした液は、波長 520~545nm に極大吸収部がある。

(3) 本品の表示量から、色価 50 に換算して 0.2g に相当する量を取り、水を加えて 100ml とし、この液 5ml に塩酸 1~2 滴を加えた後、次亜塩素酸ナトリウム試液 1~3 滴を加えるとき、速やかに色が消える。

(4) 本品の表示量から色価 50 に換算して 0.2g に相当する量を取り、水を加えて 100ml とし、検液とする。検液 5ml に水酸化ナトリウム溶液 (1→25) 5ml を加えてアルカリ性にするとき、濁りを生じる場合があるが、明らかな色の変化は認められない。また、検液 5ml に塩酸 1~3 滴を加えるとき、濁りを生じる場合があるが、明らかな色の変化は認められない。

**純度試験** (1) 重金属 Pb として 40 μg/g 以下 (0.50g, 第 2 法, 比較液 鉛標準液 2.0ml)

(2) 鉛 Pb として 8.0 μg/g 以下 (1.25g, 第 1 法)

(3) 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)

**色価測定法** 色価測定法により次の操作条件で試験を行う。

操作条件

測定溶媒 酢酸緩衝液 (pH4.0)

測定波長 波長 520~545nm の極大吸収部

### 〈試薬・試液〉

**酢酸緩衝液 (pH4.0)** 無水酢酸ナトリウム 2.95g を量り、水 900ml を加えて溶かし、酢酸を滴加して pH4.0 に調整した後、水を加えて 1,000ml とする。

## クチナシ黄色素

Gardenia Yellow

**定義** 本品は、クチナシ (*Gardenia augusta* Merrill 又は *Gardenia jasminoides* Ellis) の果実から得られた、クロシン及びクロセチンを主成分とするものである。デキストリン又は乳糖を含むことがある。

**色 価** 本品の色価 ( $E_{1\text{cm}}^{10\%}$ ) は 100 以上で、その表示量の 90~120%を含む。

**性 状** 本品は、黄~暗赤色の粉末、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) 本品の表示量から色価 100 に換算して 0.1g に相当する量を取り、0.02mol/L 水酸化ナトリウム溶液 100ml を加えるとき、黄色を呈する。

(2) 本品の表示量から色価 100 に換算して 0.1g に相当する量を取り、0.02mol/L 水酸化ナトリウム溶液 100ml を加えて 50°C の水浴中で 20 分間加温し、振り混ぜながら溶かした液は、波長 410~425nm に極大吸収部がある。

(3) 本品の表示量から色価 100 に換算して 0.1g に相当する量を取り、必要があれば水浴上で蒸発乾固し、冷後硫酸 5ml を加えるとき、青色を呈し、次いで紫色を経て褐色に変わる。

(4) 本品の表示量から色価 100 に換算して 1g に相当する量を取り、0.02mol/L 水酸化ナトリウム溶液 100ml を加えて 50°C の水浴中で 20 分間加温し、必要があれば振り混ぜて溶かし、検液とする。検液 5  $\mu$ l を量り、対照液を用いず、テトラヒドロフラン/アセトニトリル/シュウ酸溶液 (1 → 80) 混液 (8 : 7 : 7) を展開溶媒として薄層クロマトグラフィーを行い、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、風乾するとき、Rf 値が 0.4~0.6 付近に黄色のスポットを認める。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オクタデシルシリル化シリカゲルを 110°C で 1 時間乾燥したものを使用する。

**純度試験** (1) 重金属 Pb として 40  $\mu$ g/g 以下 (0.50g, 第 2 法, 比較液 鉛標準液 2.0ml)

(2) 鉛 Pb として 8.0  $\mu$ g/g 以下 (1.25g, 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)

(4) ゲニポシド 0.5%以下 (色価 100 に換算)

本品の表示量から色価 100 に換算して 1.0g に相当する量を量り、水/アセトニトリル混液 (17:3) を加えて正確に 25ml とし、必要があれば遠心分離し、その上澄液を検液とする。別にゲニポシドをデシケーターで 24 時間乾燥した後、その約 0.01g を精密に量り、水/アセトニトリル混液 (17:3) に溶かし、正確に 100ml とする。更にこの液 1ml, 5ml, 10ml を正確に量り、水/アセトニトリル混液 (17:3) を加えて、それぞれ正確に 100 ml とした液を標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ 10  $\mu$ 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。それぞれの標準液のゲニポシド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ゲニポシドのピーク面積から検液中のゲニポシドの濃度 ( $\mu$ g/ml) を求め、次式によりゲニポシドの量を求める。

$$\text{ゲニポシドの量 (色価 100 に換算)} = \text{検液中のゲニポシド濃度 } (\mu\text{g/ml}) \times 0.0025 (\%)$$

操作条件



検出器 紫外吸光光度計 (測定波長 238nm)

カラム充てん剤 5 μm 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 4～5 mm, 長さ 15～30cm のステンレス管

カラム温度 40℃

移動相 水/アセトニトリル混液 (17:3)

流量 ゲニポシドの保持時間が約 15 分になるように調整する。

**色価測定法** 本品の表示量から、色価 100 に換算して約 5 g に相当する量を精密に量り、0.02mol/L 水酸化ナトリウム溶液 50ml を加えて 50℃ の水浴中で 20 分間加温し、必要があれば振り混ぜながら溶かし、水を加えて正確に 100ml とする。その 1 ml を正確に量り、50vo1%エタノールを加えて正確に 100ml とし、必要があれば遠心分離し、その上澄液を検液とする。50vo1%エタノールを対照として、410～425nm の極大吸収部における、液層の長さ 1 cm での吸光度 A を測定し、次式により色価を求める。

$$\text{色価} = \frac{A \times 1,000}{\text{試料の採取量 (g)}}$$

#### 〈参考情報〉

薄層板：メルク社製 RP-18F 254S

#### 〈試薬・試液〉

テトラヒドロフラン  $C_4H_8O$  K9705 : 1996

ゲニポシド  $C_{17}H_{24}O_{10}$

性状 本品は、白色の結晶または結晶性の粉末で、においが無い。

確認試験 本品約 5 mg を精密に量り、メタノールを加えて溶かして正確に 10ml とする。この液 1 ml を正確に量り、メタノールを加えて 10ml とした液の吸光度を測定するとき、波長 238nm 付近に極大吸収部がある。

純度試験 (1) 比吸光度  $E_{1cm}^{1\%}$  (240nm 付近の極大吸収部) = 249～269

本品約 0.01g を精密に量り、メタノール (1→2) を加えて溶かし、正確に 500ml とする。

この液の 240nm 付近の極大吸収部における吸光度を測定する。

(2) 類縁物質 本品約 0.01g を精密に量り、水/アセトニトリル混液 (17:3) を加えて溶かし、正確に 100ml とし、検液とする。検液 2 ml を正確に量り、水/アセトニトリル混液 (17:3) 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 μl 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、比較液の主ピークの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約 2 倍までとする。

操作条件

検出器 紫外吸光光度計 (測定波長 238 nm)

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 ~ 5 mm, 長さ 15 ~ 30 cm のステンレス管

温度 40°C

移動相 水 / アセトニトリル混液 (17: 3)

流量 ゲニポシドの保持時間が約 15 分になるように調整する。

#### **薄層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**

オクタデシルシリル化シリカゲル, 薄層クロマトグラフィー用を見よ。

#### **オクタデシルシリル化シリカゲル, 薄層クロマトグラフィー用**

薄層クロマトグラフィー用に製造したもの。

## 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-グルコシルステビオシドを主成分とする。

**含量** 本品を乾燥物換算したものは、α-グルコシルステビオール配糖体及び未反応のステビオール配糖体（ステビオシド、ズルコシドA、レバウジオシドA、レバウジオシドC）の総量として80.0%以上を含み、α-グルコシルステビオール配糖体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、においはないかわずかに特有のにおいがあり、強い甘味がある。

**確認試験** (1) 本品0.1gを水20mlに溶かし、検液とする。検液10μlにつき、「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、ステビオシド又はレバウジオシドAより遅い保持時間に複数のピークを認める。ただし、定量用ステビオシド及びレバウジオシドAのそれぞれ5mgを水10mlに溶かし、標準液とする。

(2) (1)の検液の残りの液に、グルコアミラーゼ20,000単位を加え、55℃で約45分間放置し、室温まで冷却した後、検液とする。検液10μl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、(1)でステビオシド又はレバウジオシドAより遅い保持時間に認められた複数のピークの面積は減少し、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が増大する。

**純度試験** (1) 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)

(2) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として2.0μg/g以下 (1.0g, 第3法, 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) α-グルコシルステビオール配糖体及び未反応のステビオール配糖体の総量の定量

本品約1gを精密に量り、水50mlに溶かす。この溶液をアクリル酸エステル系吸着用樹脂又はスチレン-ジビニルベンゼン系吸着用樹脂50mlを充てんした内径約25mmのガラス管に注ぎ、1分間に3ml以下の速さで流出させ、次いで水250mlで洗浄した後、50vol%エタノール250mlを1分間に3ml以下の速さで流す。この溶出液を約100mlまで濃縮し、酢酸緩衝液 (pH4.5) 40mlを正確に加え、更に水を加えて約180mlとする。この液を55℃で約5分間放置した後、グルコアミラーゼ20,000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、水を加えて正確に200mlとし、検液とする。別に定量用ステビオシドを乾燥し、その約0.1gを精密に量り、水に溶かして正確に200mlとし、ステビオシド標準液とする。検液及びステビオシド標準液をそれぞれ10μlずつ量り、「ステビア抽出物」の定量法を準用してステビオール配糖体量を求める。次に、検液20μlを量り、D-グルコース定量用発色試液3mlを正確に加えて振り混ぜた後、37℃で正確に5分間放置する。室温まで冷却した後、波長505nmにおける吸光度を測定する。対照液は、水20μlを用いて検液と同様に操作して調製する。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 (pH4.5) 40mlを正確に量り、水を加えて約180mlとしたものを55℃で約5分間放置した後、グルコアミラーゼ20,000単位を加え、55℃で約45分間放置し、更に95℃で約30分間加熱し、室温まで冷却し、水を加えて正確に200mlとした液とする。空試験液を検液と同様に操作して、吸光度を測定する。別にブドウ

糖約 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、標準液とする。これらの標準液につき、検液と同様に操作して吸光度を測定し、検量線を作成する。この検量線と補正した検液の吸光度から検液中の D-グルコース濃度を求め、次式により検液中の  $\alpha$ -グルコシル残基量を求める。

$$\alpha\text{-グルコシル残基量} = \frac{\text{検液中の D-グルコース濃度 (mg/ml)} \times 200}{\text{乾燥物換算した試料の採取量 (g)} \times 1,000} \times 0.900 \times 100 (\%)$$

$\alpha$ -グルコシルステビオール配糖体及び未反応のステビオール配糖体の総量を次式により求める。

$$\alpha\text{-グルコシルステビオール配糖体及び未反応のステビオール配糖体の総量} (\%)$$

$$= \text{ステビオール配糖体量} (\%) + \alpha\text{-グルコシル残基量} (\%)$$

## (2) $\alpha$ -グルコシルステビオール配糖体の定量

本品約 1 g を精密に量り、水を加えて正確に 200 ml とし、検液とする。検液及び(1)のステビオシド標準液 10  $\mu$  l ずつにつき、「ステビア抽出物」の定量法を準用してステビオール配糖体量を測定し、その値を未反応のステビオール配糖体量とする。次式により  $\alpha$ -グルコシルステビオール配糖体の含量を求める。

$$\alpha\text{-グルコシルステビオール配糖体含量} (\%)$$

$$= \text{ステビオール配糖体量} (\%) + \alpha\text{-グルコシル残基量} (\%) - \text{未反応のステビオール配糖体量} (\%)$$

## 〈試薬・試液〉

### 酢酸緩衝液 (pH4.5)

第 1 液：酢酸 6.0 g に水を加えて、1,000 ml とする。

第 2 液：無水酢酸ナトリウム 8.2 g を量り、水に溶かし 1,000 ml とする。

第 1 液と第 2 液を混ぜ、両液を用いて pH4.5 に調整する。

### 定量用ステビオシド

ステビオシド、定量用を見よ。

### ステビオシド、定量用 $C_{38}H_{60}O_{18}$

性状 本品は、白色の粉末である。

確認試験 本品 0.6 g を水 100 ml に溶かし、1-ブタノール 100 ml を加え、よく振り混ぜた後、放置する。1-ブタノール層 5 ml を試験管にとり、アントロン試液 5 ml を管壁に沿って静かに加え層積するとき、接界面は、青～緑色を呈する。

純度試験 類縁物質 本品 0.05 g をアセトニトリル/水混液 (4 : 1) 50 ml に溶かし、検液とする。この液 1 ml 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 100 ml とし、比較液とする。検液及び比較液をそれぞれ 20  $\mu$  l ずつ量り、次の操作条件で液体クロマトグラフィを行い、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2倍までとする。

#### 操作条件

「ステビア抽出物」の定量法の操作条件を準用する。

ただし、流量は、ステビオシドの保持時間が約10分になるように調整する。

乾燥減量 5.0%以下 (105°C, 2時間)

#### レバウジオシドA $C_{44}H_{70}O_{23}$

性状 本品は、白色の結晶又は結晶性の粉末である。

比旋光度  $[\alpha]_D^{20} = -20 \sim -24^\circ$  本品を110°Cで2時間乾燥し、その0.05gをメタノール50mlに溶かし、旋光度を測定する。

融点 239~244°C

#### グルコアミラーゼ

*Aspergillus niger* から得られた、白~褐色の粉末又は淡黄~濃褐色の液体である。においはないか又は特異なにおいがある。本品の1単位は、デンプンを基質として、pH4.5, 40°Cにおいて60分間に1mgのブドウ糖を生成する酵素量とする。

#### ブドウ糖定量用発色試液

フェノール0.50g, ムタロターゼ130単位, グルコースオキシダーゼ9,000単位, ペルオキシダーゼ650単位及び4-アミノアンチピリン0.1gをリン酸緩衝液(pH7.1)に溶かし、正確に1,000mlとする。2~10°Cで保存し、1ヶ月以内に使用する。

#### リン酸緩衝液(pH7.1)

第1液: リン酸二ナトリウム21.2gを量り、水に溶かし1,000mlとする。

第2液: リン酸一カリウム8.2gを量り、水に溶かし1,000mlとする。

第1液2容量と第2液1容量とを混和し、両液を用いてpHを7.1に調整する。

#### ムタロターゼ

ブタ腎臓から得られたもので、白色の50%グリセロール懸濁液である。本品の1単位は、 $\alpha$ -D-グルコースを基質として、pH7.2, 25°Cにおいて1分間に1 $\mu$ molの $\beta$ -D-グルコースを生成する酵素量とする。

#### グルコースオキシダーゼ

*Penicillium* 属から得たもので、白色の粉末である。本品の1単位は、D-グルコースを基質として、pH7.0, 25°Cにおいて1分間に1 $\mu$ molのD-グルコノ-1,5-ラクトンを生成する酵素量とする。

#### ペルオキシダーゼ

西洋ワサビから得たもので、赤褐色の粉末である。本品の1単位は、過酸化水素を基質として、pH7.0, 25°Cにおいて1分間に1 $\mu$ molの水を生成する酵素量とする。

## 〈参考情報〉

### ブドウ糖定量用発色試液

グルコース測定試薬であるグルコース CII-テストワコー(和光純薬工業社製 体外診断用医薬品 製品コード 439-90901 ; 437-90902)を使用することができる。本製品は、ムタロターゼで $\alpha$ -D-グルコースを $\beta$ 型に変換するとともに、グルコースオキシダーゼにより $\beta$ -D-グルコースを酸化して発生させた過酸化水素と、ペルオキシダーゼの作用で発色試薬(フェノール, 4-アミノアンチピリン)を縮合, 発色させ、その吸光度を測定することによりグルコースを定量する酵素法試薬キットである。

### グルコアミラーゼ

Sigma-Aldrich 社製 Amyloglucosidase (製品コード A-3042)  
天野エンザイム社 グルクザイム NL4.2 ー液状糖化酵素ーがある。

### ムタロターゼ

和光純薬工業製 Mutarotase , from Pig Kidney・・・ムタロターゼ, ブタ腎臓製 [オリエンタル酵母] (製品コード 305-506991 ; 301-50693 ; 309-50694) がある。

### グルコースオキシダーゼ

和光純薬工業製 Glucose Oxidase , from Microorganism(GOD)・・・グルコースオキシダーゼ, 微生物製・・・凍結乾燥品 [オリエンタル酵母] (製品コード 304-50661 ; 300-50663 ; 308-50664) がある。

### ペルオキシダーゼ

和光純薬工業製 Peroxidase , from Horseradish Roots (POD)・・・ペルオキシダーゼ, わさび製・・・凍結乾燥品 [オリエンタル酵母] (製品コード 303-50991) がある。

### アクリル酸エステル系吸着用樹脂

オルガノ株式会社製 アンバーライト XAD-7 HP がある。

### スチレン-ジビニルベンゼン系吸着用樹脂

三菱化学株式会社製 ダイヤイオン HP-20 がある。

## 酵素処理イソクエルシトリン

Enzymatically Modified Isoquercitrin

糖転移イソクエルシトリン

**定 義** 本品は、「ルチン酵素分解物」とでん粉又はデキストリンの混合物に、シクロデキストリン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。主成分は $\alpha$ -グルコシルイソクエルシトリンである。

**含 量** 本品を乾燥したものは、 $\alpha$ -グルコシルイソクエルシトリンをルチン ( $C_{27}H_{30}O_{16}=610.52$ ) として60.0%以上を含む。

**性 状** 本品は、黄～黄だいたい色の粉末、塊又はペースト状で、わずかに特異なおいがある。

**確認試験** (1) 本品5mgを水10mlに溶かした液は、黄～黄だいたい色を呈し、塩化鉄(III)溶液(1→50)1～2滴を加えるとき、液の色は黒褐色に変わる。

(2) 本品5mgを水5mlに溶かした液は、黄～黄だいたい色を呈し、塩酸2ml及びマグネシウム末0.05gを加えるとき、液の色は徐々にだいたい～赤色に変わる。

(3) 本品0.1gを0.5mol/L硫酸100mlに溶かし、2時間煮沸し、冷却するとき、黄色の析出物を生じる。

(4) 本品0.01gをリン酸溶液(1→1,000)500mlに溶かした液は、波長255nm付近及び波長350nm付近に極大吸収部がある。

(5) 本品0.1gを水20mlに溶かし、検液とする。検液5 $\mu$ lにつき定量用ルチンのメタノール溶液(1→20)2 $\mu$ lを対照液とし、1-ブタノール/酢酸/水混液(4:2:1)を展開溶媒として薄層クロマトグラフィーを行い、展開溶媒の先端が原線より約15cmの高さに上昇したとき展開をやめ、風乾した後、塩化鉄(III)・塩酸試液を噴霧するとき、定量用ルチンの主スポットよりも大きいRf値を示す褐色のスポットを認め、また、定量用ルチンの主スポットと同じ、又は小さいRf値を示す褐色のスポットを複数認める。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°Cで1時間乾燥したものを使用する。

**純度試験** (1) 重金属 Pbとして10 $\mu$ g/g以下(2.0g, 第2法, 比較液 鉛標準液2.0ml)

(2) 鉛 Pbとして5.0 $\mu$ g/g以下(2.0g, 第1法)

(3) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として2.0 $\mu$ g/g以下(1.0g, 第3法, 装置B)

**乾燥減量** 50.0%以下(135°C, 2時間)

**定 量 法** 本品を乾燥し、その約0.05gを精密に量り、水に溶かして正確に100mlとする。必要があればろ過する。この液4mlを正確に量り、リン酸溶液(1→1,000)を加えて正確に100mlとし、検液とする。別に定量用ルチンを135°Cで2時間乾燥し、その約0.05gを精密に量り、メタノールに溶かして正確に100mlとする。この液4mlを正確に量り、リン酸溶液(1→1,000)を加えて正確に100mlとし、標準液とする。検液及び標準液につき、紫外可視吸光度測定法により、リン酸溶液(1→1,000)を対照として、波長351nmにおける吸光度A<sub>T</sub>及びA<sub>S</sub>を測定し、次式によりルチンとして $\alpha$ -グルコシルイソクエルシトリンの含量を求める。

$$\alpha\text{-グルコシルイソクエルシトリンの含量 (ルチン } (C_{27}H_{30}O_{16}) \text{ として)}$$
$$= \frac{\text{定量用ルチンの採取量 (g)}}{\text{試料の採取量 (g)}} \times \frac{A_T}{A_S} \times 100 (\%)$$

## 〈試薬・試液〉

**定量用ルチン** ルチン，定量用を見よ。

**ルチン，定量用**  $C_{27}H_{30}O_{16} \cdot 3H_2O$

**性 状** 本品は，淡黄～淡黄緑色の結晶性の粉末である

**確認試験** 本品を赤外吸収スペクトル測定法中の臭化カリウム錠剤法により測定するとき， $1,655\text{cm}^{-1}$ ， $1,605\text{cm}^{-1}$ ， $1,505\text{cm}^{-1}$ ， $1,360\text{cm}^{-1}$ ， $1,300\text{cm}^{-1}$ ， $1,200\text{cm}^{-1}$ 及び $810\text{cm}^{-1}$ のそれぞれの付近に吸収帯を認める。

**純度試験** (1) 比吸光度  $E_{1\%}^{1\text{cm}}$  (350nm 付近の極大吸収部) = 290 以上

本品を  $135^\circ\text{C}$ ，2時間乾燥し，その約 0.05g を精密に量り，メタノールに溶かして正確に 100ml とする。この液 2ml を正確に量り，メタノールを加えて正確に 100ml とし，紫外可視吸光度測定法によりこの液の吸光度を測定する。

(2) 類縁物質 本品約 0.05g をメタノール 25ml に溶かす。この液 5ml 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，検液とする。別に検液 1ml を正確に量り，メタノール 5ml を加えた後，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，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，検液の主ピークと溶媒ピークとを除く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**

**検出器** 紫外吸光光度計 (測定波長 254nm)

**カラム充てん剤** 5～10  $\mu\text{m}$  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** 内径 3～6 mm，長さ 15～25cm のステンレス管

**カラム温度**  $40^\circ\text{C}$

**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。

## 〈参考情報〉

**液体クロマトグラフィー用カラム:** 5～10  $\mu\text{m}$  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 Inertsil ODS-3 250×4.6mm I.D. Cat.No. 5020-01732 (ジエールサイエンス社)



## 酵素処理ヘスペリジン

Enzymatically Modified Hesperidin

糖転移ヘスペリジン

糖転移ビタミンP

**定義** 本品は、柑橘類の果皮、果汁又は種子より、アルカリ性水溶液で抽出して得られるヘスペリジンに、シクロデキストリン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。

**含量** 本品を乾燥したものは、総ヘスペレチン配糖体として30.0%以上を含む。

**性状** 本品は、ごくうすい黄～黄褐色粉末で、わずかに特異なおいがある。

**確認試験** (1) 本品5mgを水10mlに溶かし、希塩化鉄(Ⅲ)試液1～2滴を加えるとき、液は褐色を呈する。

(2) 本品0.5gを水/アセトニトリル/酢酸混液(80:20:0.01)100mlに溶かし、検液とする。別に定量用モノグルコシルヘスペリジン0.05gを水/アセトニトリル/酢酸混液(80:20:0.01)250mlに溶かし、標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ10 $\mu$ 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とき、本品はモノグルコシルヘスペリジンの位置に波長280～286nmに極大吸収部を有するピークを認める。

操作条件

検出器 フォトダイオードアレイ検出器(測定波長 280nm, 200～400nm)

カラム充てん剤 5～10 $\mu$ 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3.9～4.6mm, 長さ15～30cmのステンレス管

カラム温度 40 $^{\circ}$ C

移動相 水/アセトニトリル/酢酸混液(80:20:0.01)

流量 モノグルコシルヘスペリジンの保持時間が約15分になるように調整する。

**純度試験** (1) 溶状 澄明(0.5g, 水100ml)

(2) 重金属 Pbとして20 $\mu$ g/g以下(1.0g, 第2法, 比較液 鉛標準液2.0ml)

(3) 鉛 Pbとして10 $\mu$ g/g以下(1.0g, 第1法)

(4) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として2.0 $\mu$ g/g以下(1.0g, 第3法, 装置B)

**乾燥減量** 6.0%以下(2.7kpa以下, 120 $^{\circ}$ C, 2時間)

**定量法** (1) ヘスペリジン及びモノグルコシルヘスペリジンの定量

乾燥した本品約1gを精密に量り、水100mlに溶かす。この液をアクリル酸エステル系吸着用樹脂50mlを充てんした内径約25mmのガラス管に注ぎ、1分間に2.5ml以下の速さで流出させた後、水250mlで洗浄する。次に、50vol%エタノール200mlを1分間に2.5ml以下の速さで流し、吸着画分を溶出する。この溶出液を濃縮して全量を約40mlとする。この液にグルコアミラーゼ10,000単位を添加し、55 $^{\circ}$ Cで正確に30分間放置する。更に95 $^{\circ}$ Cで30分間加熱した後、室温まで冷却し、水を加えて正確に50mlとし、A液とする。この液3mlを正確に量り、水/アセトニトリル/酢酸混液(80:20:0.01)を加えて正確に50mlとし、検液とする。別に乾燥した定量用モノグルコシルヘスペリジン約0.05gを精密に量り、水/アセトニトリル/酢酸混液(80:20:0.01)に溶かして正確に250mlとし、標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ10 $\mu$ 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。検液のヘスペリジン及びモノグルコシルヘスペリジンのピーク面積A<sub>TH</sub>及びA<sub>TM</sub>並

びに標準液のモノグルコシルヘスペリジンのピーク面積 $A_S$ を測定し、次式によりヘスペリジン及びモノグルコシルヘスペリジンの含量を求める。ただし、モノグルコシルヘスペリジンに対するヘスペリジンの相対保持時間は約1.1である。

ヘスペリジンの含量＝

$$\frac{\text{乾燥した定量用モノグルコシルヘスペリジンの採取量 (g)} \times \frac{A_{TH}}{A_S} \times \frac{10}{3} \times 0.790 \times 100}{\text{乾燥した試料の採取量 (g)}} \quad (\%)$$

モノグルコシルヘスペリジンの含量＝

$$\frac{\text{乾燥した定量用モノグルコシルヘスペリジンの採取量 (g)} \times \frac{A_{TM}}{A_S} \times \frac{10}{3} \times 100}{\text{乾燥した試料の採取量 (g)}} \quad (\%)$$

#### 操作条件

検出器 紫外吸光光度計 (測定波長 280nm)

カラム充てん剤 5～10 $\mu$ 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3.9～4.6mm, 長さ15～30cmのステンレス管

カラム温度 40℃

移動相 水/アセトニトリル/酢酸混液 (80:20:0.01)

流量 モノグルコシルヘスペリジンの保持時間が約15分になるように調整する。

#### (2) グルコアミラーゼ処理により遊離する $\alpha$ -グルコシル残基量の定量

定量法(1)で得られたA液を検液とする。検液20 $\mu$ lを量り、D-グルコース定量用発色試液3mlを正確に加えて振り混ぜた後、37℃で正確に5分間放置する。室温まで冷却した後、波長505nmにおける吸光度を測定する。対照液は、水20 $\mu$ lを用いて検液の場合と同様に操作して調製する。空試験を行い補正する。ただし、空試験液は、水約40mlにグルコアミラーゼ10,000単位を添加し、55℃に30分間放置した後、95℃で約30分間加熱し、室温まで冷却し、水を加えて正確に50mlとした液とする。空試験液を検液と同様に操作して吸光度を測定する。別にブドウ糖約1gを精密に量り、水に溶かして正確に100mlとする。この液5ml, 10ml, 20ml及び30mlを正確に量り、水を加えてそれぞれ正確に100mlとし、標準液とする。この標準液につき、検液と同様に操作して吸光度を測定し、検量線を作成する。この検量線と補正した検液の吸光度から検液中のD-グルコース濃度を求め、次式によりグルコアミラーゼ処理により遊離する $\alpha$ -グルコシル残基量を求める。

$$\frac{\text{グルコアミラーゼ処理により遊離する } \alpha\text{-グルコシル残基量}}{\text{検液中のD-グルコース濃度 (mg/ml)} \times 50} \times 0.900 \times 100 \quad (\%)$$

$$= \frac{\text{乾燥した試料の採取量 (g)} \times 1,000}{\text{乾燥した試料の採取量 (g)} \times 1,000} \quad (\%)$$

#### (3) 総ヘスペレチン配糖体の含量 (乾燥物)

次の計算式により総ヘスペレチン配糖体の含量を求める。

総ヘスペレチン配糖体の含量 (乾燥物) (%)

= ヘスペリジンの含量 (%) + モノグルコシルヘスペリジンの含量 (%) + グルコアミラーゼ処理により遊離する  $\alpha$ -グルコシル残基量 (%)

## (試薬・試液)

### 定量用モノグルコシルヘスペリジン

モノグルコシルヘスペリジン, 定量用を見よ。

### モノグルコシルヘスペリジン, 定量用

性 状 本品は, 淡黄～黄褐色の粉末で, わずかに特異なおいがある。

確認試験 (1) 本品 5 mg を水 10 ml に溶かし, 希塩化鉄 (III) 試液 1～2 滴を加えるとき, 液は褐色を呈する。

(2) 本品 0.01 g を水 500 ml に溶かした液は, 波長 280～286 nm に極大吸収部がある。

乾燥減量 6.0%以下 (2.7 kPa 以下, 120°C, 2 時間)

純度試験 類縁物質 本品約 0.1 g を精密に量り, 水/アセトニトリル/酢酸混液 (80:20:0.01) に溶かして正確に 200 ml とし, 検液とする。検液 1 ml を正確に量り, 水/アセトニトリル/酢酸混液 (80:20:0.01) に溶かして正確に 50 ml とし, 比較液とする。検液及び比較液をそれぞれ 10  $\mu$  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面積の合計は, 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

「酵素処理ヘスペリジン」の定量法の操作条件を準用する。

### 塩化鉄 (III) 試液

塩化鉄 (III) 9 g を水に溶かし, 100 ml とする。

### 塩化鉄 (III) 試液, 希

塩化鉄 (III) 試液 2 ml に水を加えて 100 ml とする。用時調製する。

### 希塩化鉄 (III) 試液

塩化鉄 (III) 試液, 希を見よ。

### グルコアミラーゼ

*Aspergillus niger* から得られた, 白～褐色の粉末又は淡黄～濃褐色の液体である。においはないか又は特異なおいがある。本品の 1 単位は, デンプンを基質として, pH 4.5, 40°C において 60 分間に 1 mg のブドウ糖を生成する酵素量とする。

### ブドウ糖定量用発色試液

フェノール 0.50g, ムタロターゼ 130 単位, グルコースオキシダーゼ 9,000 単位, ペルオキシダーゼ 650 単位及び 4-アミノアンチピリン 0.1g をリン酸緩衝液 (pH7.1) に溶かし, 正確に 1,000ml とする。2~10°C で保存し, 1 ヶ月以内に使用する。

#### リン酸緩衝液 (pH7.1)

第 1 液: リン酸二ナトリウム 21.2g を量り, 水に溶かし 1,000ml とする。

第 2 液: リン酸一カリウム 8.2g を量り, 水に溶かし 1,000ml とする。

第 1 液 2 容量と第 2 液 1 容量とを混和し, 両液を用いて pH を 7.1 に調整する。

#### ムタロターゼ

ブタ腎臓から得られたもので, 白色の 50% グリセロール懸濁液である。本品の 1 単位は,  $\alpha$ -D-グルコースを基質として, pH7.2, 25°C において 1 分間に 1  $\mu$ mol の  $\beta$ -D-グルコースを生成する酵素量とする。

#### グルコースオキシダーゼ

*Penicillium* 属から得たもので, 白色の粉末である。本品の 1 単位は, D-グルコースを基質として, pH7.0, 25°C において 1 分間に 1  $\mu$ mol の D-グルコノ-1,5-ラク톤を生成する酵素量とする。

#### ペルオキシダーゼ

西洋ワサビから得たもので, 赤褐色の粉末である。本品の 1 単位は, 過酸化水素を基質として, pH 7.0, 25°C において 1 分間に 1  $\mu$ mol の水を生成する酵素量とする。

#### 〈参考情報〉

##### 計算式の係数 0.790 の計算

$$0.790 = \frac{\text{ヘスペリジンの分子量 (610.57)}}{\text{モノグルコシルヘスペリジンの分子量 (772.71)}}$$

#### 定量用モノグルコシルヘスペリジン

林原生物化学研究所製 モノグルコシルヘスペリジンがある。

#### ブドウ糖定量用発色試液

グルコース測定試薬であるグルコース CII-テストワコー (和光純薬工業社製 体外診断用医薬品 製品コード 439-90901 ; 437-90902) を使用することができる。本製品は、ムタロターゼで  $\alpha$ -D-グルコースを  $\beta$  型に変換するとともに、グルコースオキシダーゼにより  $\beta$ -D-グルコースを酸化して発生させた過酸化水素と、ペルオキシダーゼの作用で発色試薬 (フェノール, 4-アミノアンチピリン) を縮合、発色させ、その吸光度を測定することによりグルコースを定量する酵素法試薬キットである。

### グルコアミラーゼ

Sigma-Aldrich 社製 Amyloglucosidase (製品コード A-3042)  
天野エンザイム社製 グルコザイム NL.42 -液状糖化酵素-がある。

### ムタロターゼ

和光純薬工業社製 Mutarotase , from Pig Kidney・・・ムタロターゼ, ブタ腎臓製 [オリエンタル酵母] (製品コード 305-506991 ; 301-50693 ; 309-50694) がある。

### グルコースオキシダーゼ

和光純薬工業社製 Glucose Oxidase , from Microorganism(GOD)・・・グルコースオキシダーゼ, 微生物製・・・凍結乾燥品 [オリエンタル酵母] (製品コード 304-50661 ; 300-50663 ; 308-50664), 天野エンザイム社製 GO "Amano" II がある。

### ペルオキシダーゼ

和光純薬工業社製 Peroxidase , from Horseradish Roots (POD)・・・ペルオキシダーゼ, わさび製・・・凍結乾燥品 [オリエンタル酵母] (製品コード 303-50991), 天野エンザイム社製 PO "Amano" III がある。

### アクリル酸エステル系吸着用樹脂

オルガノ株式会社製 アンバーライト XAD-7 HP がある。

## 酵素分解レシチン

Enzymatically Decomposed Lecithin

**定義** 本品は、アブラナ(*Brassica rapa* Linné 又は *Brassica napus* Linné) 若しくはダイズ(*Glycine max* Merrill) の種子から得られた植物レシチン又は卵黄から得られた卵黄レシチンから得られた、ホスファチジン酸及びリゾレシチンを主成分とするものである。酵素分解植物レシチンと酵素分解卵黄レシチンがある。

**性状** 本品は、白～褐色の粉末、粒若しくは塊又は淡黄～暗褐色の粘稠な液体で、特異なおいがある。

**確認試験** (1) 本品 1 g を分解フラスコに入れ、これに粉末とした硫酸カリウム 5 g、硫酸銅 0.5 g 及び硫酸 20 ml を加える。次にフラスコを約 45° に傾け、泡立ちがほとんどやむまで穏やかに加熱し、更に温度を上げて沸騰させ、内容物が青色の澄明な液となった後、更に 1～2 時間加熱する。冷後、等容量の水を加え、この液 5 ml にモリブデン酸アンモニウム溶液 (1→5) 10 ml を加えて加熱するとき、黄色の沈殿を生じる。

(2) 脂肪酸 本品 1 g にエタノール製水酸化カリウム試液 25 ml を加え、1 時間還流後、氷冷するとき、カリウム石けんの沈殿又はにごりを生ずる。

**純度試験** (1) 酸 価 65 以下 本品約 2 g を精密に量り、酵素分解植物レシチンの場合はトルエン 50 ml に溶かして検液とし、酵素分解卵黄レシチンの場合はメタノール 50 ml を加えて、60℃以下の水浴中で加温して溶かして検液とし、油脂類試験法中の酸価の試験を行う。

(2) アセトン可溶物 60%以下 本品約 2 g を精密に量り、50 ml 目盛付共栓遠心管に入れ、酵素分解植物レシチンの場合はトルエン 3 ml を加え、酵素分解卵黄レシチンの場合はメタノール 3 ml を加え、必要があれば 60℃以下の水浴中で加温して、溶かす。この液にアセトン 15 ml を加えてよくかき混ぜた後、氷水中に 15 分間放置する。これにあらかじめ 0～5℃に冷却したアセトンを加えて 50 ml とし、よくかき混ぜ、氷水中に 15 分間放置した後、毎分約 3,000 回転で 10 分間遠心分離し、上層液をフラスコにとる。なお、共栓遠心管の沈殿物に 0～5℃のアセトンを加えて 50 ml とし、氷水中で冷却しながらよくかき混ぜた後、同様に遠心分離する。この上層液を先のフラスコに合わせ、水浴上で蒸留し、残留物を 105℃で 1 時間乾燥し、その質量を精密に量る。

(3) 過酸化物価 10 以下

本品約 5 g を精密に量り、250 ml 共栓三角フラスコに入れ、クロロホルム/酢酸混液 (2 : 1) 35 ml を加え、静かに振り混ぜて溶解又は均一に分散する。次に窒素を通じて器内の空気を十分に置換し、窒素を通じながらヨウ化カリウム試液 1 ml を正確に量って加える。次に窒素をとめ、直ちに栓をして 1 分間振り混ぜた後、暗所に 5 分間放置する。この液に水 15 ml を加え、再び栓をして激しく振り混ぜた後、0.01 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液で滴定し (指示薬 デンプン試液)、次式によって過酸化物価を求める。別に空試験を行い、補正する。

$$\text{過酸化物価} = \frac{0.01 \text{ mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液の消費量 (ml)}}{\text{試料の採取量 (g)}} \times 10$$

(4) 重金属 Pb として 40 μg/g 以下 (0.50 g, 第 2 法, 比較液 鉛標準液 2.0 ml)

(5) 鉛 Pb として 10 μg/g 以下 (1.0 g, 第 2 法)

(6) ヒ素  $\text{As}_2\text{O}_3$ として  $4.0 \mu\text{g/g}$ 以下 (0.5g, 第3法, 装置B)

**乾燥減量** 4.0 %以下 (105°C, 1時間)。

本品が粉末の場合は, 乾燥減量測定法により試験を行う。本品が粒若しくは塊又は粘稠な液体の場合には, 本品約 3g をあらかじめ質量を精密に量った海砂約 15g 及び質量を精密に量った小ガラス棒と共にひょう量瓶に入れて, その質量を精密に量り, 小ガラス棒を用いて速やかに粉碎して 2 mm 以下の大きさにし, 若しくは均一に混合した後, 小ガラス棒と共に加熱し, 乾燥減量を測定する。

## 酵母細胞壁

Yeast Cell Wall

**定義** 本品は、サッカロミセス属菌 (*Saccharomyces cerevisiae*) の細胞壁から得られた、多糖類を主成分とするものである。

**性状** 本品は、類白～類茶褐色の粉末又は懸濁液で、わずかに特異なおいがある。

**確認試験** (1)本品の粉末試料 1g に水 100ml を加え、かくはん器により高速でかき混ぜて得た懸濁液又は本品の懸濁試料を 200～400 倍の顕微鏡で観察するとき、長径 1～12 $\mu$ m の卵型又は扁平形の単細胞若しくはこれらが破碎された断片を認める。

(2) 本品の粉末試料 1g 又は懸濁液試料を乾燥したものの 1g に、リン酸緩衝液 (pH6.8) 50ml を加え、かくはん器により高速でかき混ぜた後、30 分間放置するとき膨潤する。

**純度試験** (1) 重金属 Pb として 20 $\mu$ g/g 以下 (粉末試料 1.0g 又は懸濁液試料を乾燥したものの 1.0g, 第 2 法, 比較液 鉛標準液 2.0ml)

(2) 鉛 Pb として 5.0 $\mu$ g/g 以下 (粉末試料 2.0g 又は懸濁液試料を乾燥したものの 2.0g, 第 1 法)

(3) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> として 2.0 $\mu$ g/g 以下 (粉末試料 1.0g 又は懸濁液試料を乾燥したものの 1.0g, 第 3 法, 装置 B)

(4) 総窒素 5.6%以下 (乾燥物換算, 約 1.0g, セミマイクロケルダール法)

(5) デンプン 本品の粉末試料 1.0g 又は懸濁液試料を乾燥したものの 1.0g を量り、ヨウ素試液 1 滴加え、これを検鏡するとき、黒紫色に染まる粒子を認めないか又は認めてもわずかである。

**乾燥減量** 粉末試料 8.0%以下 (120℃, 2 時間)

懸濁液試料 92.0%以下 (120℃, 2 時間)

**灰分** 10.0%以下 (粉末試料 1.0g 又は懸濁液試料を乾燥したものの 1.0g)

**微生物限度** 微生物限度試験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。



## 骨炭

### Bone Charcoal

**定義** ウシ (*Bos taurus* Linné) の骨を、炭化し、粉碎して得られたものである。主成分はリン酸カルシウム及び炭末である。

**性状** 本品は、黒色の粉末又は粒で、におい及び味がない。

**確認試験** (1) 本品を、粉末の場合はそのまま、粒の場合はよく粉碎し、その約 0.1g を量り、希メチレンブルー試液 10ml 及び塩酸(1→4) 2滴を加え、よく振り混ぜた後、乾いた定量分析用ろ紙(5種C)でろ過した液は、無色である。

(2) 本品を、粉末の場合はそのまま、粒の場合はよく粉碎し、その約 0.5g を量り、試験管に入れ、試験管口に送風しながら直火で加熱するとき、火炎を生じないで燃焼し、発生するガスを水酸化カルシウム試液中に通すとき、白濁を生じる。

(3) 本品を灰化し、その 0.1g に塩酸(1→7) 10 ml を加え、加温して溶かし、振り混ぜながらアンモニア試液 2.5 ml を加えた後、シュウ酸アンモニウム溶液(1→30) 5 ml を加えるとき、白色の沈殿を生じる。

(4) 本品を灰化し、その 0.1g に希硝酸 5 ml を加え、加温して溶かし、モリブデン酸アンモニウム試液 2 ml を加えるとき、黄色の沈殿を生じる。

**純度試験** 本品を、粉末の場合はそのまま、粒の場合はよく粉碎し、110～120℃で3時間乾燥した後、その 4.0g を量り、硝酸(1→100)0.1ml を加えた水 180ml を加え、わずかに沸騰が持続する程度に約 10 分間加熱する。冷後、水を加えて 200ml とし、乾いた定量分析用ろ紙(5種C)でろ過する。初めのろ液約 30ml を捨て、残りのろ液をA液として次の(1)～(4)の試験を行う。

(1) 塩化物 Cl として 0.53%以下

A液 1.0ml を量り、検液とする。比較液には 0.01mol/L 塩酸 0.30ml を用いる。

(2) 硫酸塩 SO<sub>4</sub>として 0.48%以下

A液 2.5ml を量り、検液とする。比較液には 0.005mol/L 硫酸 0.50ml を用いる。

(3) 鉛 Pbとして 10 μg/g 以下

A液 50ml を量り、水浴上で蒸発乾固し、残留物に硝酸(1→150)10ml を加えて溶かし、検液とする。比較液は、鉛標準液 1.0ml に硝酸(1→150)を加えて 10ml とする。検液及び比較液につき、鉛試験法第1法により試験を行う。

(4) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として 4.0 μg/g 以下

A液 25ml を量り、水浴上で蒸発乾固し、試料とする。第2法、装置Bを用いる。

## サイリウムシードガム

Psyllium Seed Gum

サイリウムハスク

**定義** ブロンドサイリウム(*Plantago ovata* Forsskål)の種皮から得られた、多糖類を主成分とするものをいう。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** 本品は類白～淡黄褐色の粉体又は粒で、においがいいか、わずかに特有なにおいがある。

**確認試験** 本品2gを400ml ビーカーに入れ、200mlの水を加え、80℃で10分間かき混ぜて溶かし、室温まで放冷するとき、流動性のある特有のゾルまたはゲル状となる。

**純度試験** (1) 重金属 Pbとして40 $\mu$ g/g以下(0.5g, 第2法, 比較液 鉛標準液2.0ml)

(2) 鉛 Pbとして10 $\mu$ g/g以下(1.0g, 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)

(4) たん白質 2.0%以下

本品約1g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試験を行う。

0.005mol/L硫酸1ml=0.8754mg たん白質

**乾燥減量** 12.0%以下(105℃, 5時間)

**灰分** 5.0%以下(乾燥物換算)

**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。

## 酸性白土

Acid Clay

**定義** 本品は、モンモリロナイト系粘土鉱物を、精製して得られたものである。主成分は含水ケイ酸アルミニウムである。

**性状** 本品は灰白～黄褐色の粉末又は粒状である。

**確認試験** (1) 本品1.0gに無水炭酸ナトリウム3.0g及びホウ酸0.4gを混和し、白金製又はニッケル製のろつぼに入れ、加熱して完全に融解する。冷後、泡が発生しなくなるまで塩酸を加えた後、更に塩酸10mlを加え、水浴上で、ろつぼ内のものがゼリー状になるまで加熱する。冷後、ろ過するとき、このろ液はアルミニウム塩の反応を呈する。

(2) 本品2.0gを、水100mlを入れた100ml共栓メスシリンダーに数回に分けて加え、24時間放置するとき、下層に分離する沈降物は15ml以下である。

**純度試験** (1) 液性 pH4.0～10.0

本品10.0gを量り、水100mlを加え、蒸発する水を補いながら、水浴上でときどき振り混ぜて2時間加熱し、冷後、直径47mmのメンブランフィルター（孔径0.45 $\mu$ m）を用いて吸引ろ過する。ろ液が濁っているときは、同一フィルターで吸引ろ過を繰り返す。容器及びフィルター上の残留物は、水で洗い、洗液をろ液に合わせ、水を加えて100mlとし検液とする。

(2) 水可溶物 0.50%以下

(1)の検液50mlを量り、蒸発乾固し、残留物を110℃で2時間乾燥し、その質量を量る。

(3) 鉛 Pbとして40 $\mu$ g/g以下

本品1.0gを量り、塩酸（1→25）20ml及び水50mlを加えてよく振り混ぜた後、30分間緩やかに煮沸し、冷後ろ過する。残留物を水で洗い、洗液をろ液に合わせ、更に水を加えて100mlとし、A液とする。A液25mlを量り、水浴上で蒸発乾固した後、塩酸（1→10）を加えて溶かして20mlとし、検液とする。比較液は、鉛標準液1.0mlに塩酸（1→10）を加えて20mlとする。検液及び比較液につき、鉛試験法第1法により試験を行う。

(4) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として4.0 $\mu$ g/g以下

(3)のA液50mlを量り、水浴上で蒸発して5mlとし、検液とする。装置Bを用いる。

**強熱減量** 35.0%以下（110℃、3時間、次に550℃、3時間）

## シアノコバラミン

Cyanocobalamin

ビタミンB<sub>12</sub>

C<sub>63</sub>H<sub>88</sub>CoN<sub>14</sub>O<sub>14</sub>P

分子量 1355.37

Coα-[α-(5,6-Dimethylbenzo-1H-imidazol-1-yl)]-Coβ-cyanocobamide [68-19-9]

**定義** 本品は、放線菌 (*Streptomyces*) 又は細菌 (*Agrobacterium*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Propionibacterium* 又は *Rhizobium*) の培養液より、分離して得られたものである。成分はシアノコバラミンである。

**含量** 本品を乾燥物換算したものは、シアノコバラミン (C<sub>63</sub>H<sub>88</sub>CoN<sub>14</sub>O<sub>14</sub>P) 96.0~102.0%を含む。

**性状** 本品は、暗赤色の結晶又は粉末である。

**確認試験** (1) 定量法の検液及び標準液につき、紫外可視吸光度測定法により吸収スペクトルを測定するとき、本品の吸収スペクトルは標準品の吸収スペクトルと同一波長のところに同様の強度の吸収を認める。

(2) 本品 1mg に硫酸水素カリウム 0.05g を加えて混和し、強熱して融解する。冷後、融解物をガラス棒で砕き、水 3ml を加え、煮沸して溶かす。フェノールフタレイン試液 1滴を加え、液が淡赤色を呈するまで水酸化ナトリウム溶液 (1→20) を滴加し、酢酸ナトリウム 0.5g、酢酸 (3→50) 0.5ml 及び 1-ニトロソ-2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸二ナトリウム溶液 (1→500) 0.5ml を加えるとき、液は直ちに赤~だいたい赤色を呈し、塩酸 0.5ml を追加し、1分間煮沸しても液の色は消えない。

(3) 本品 5mg を 50ml の蒸留フラスコにとり、水 5ml を加えて溶かし、次亜リン酸 2.5ml を加えた後、短い冷却器を付け、冷却器の先端を試験管に入れた水酸化ナトリウム溶液 (1→50) 1ml 中に浸す。次いで、10分間穏やかに煮沸し、留液 1ml を得るまで蒸留する。試験管中の液に硫酸第一鉄アンモニウム飽和溶液 4滴を加えて穏やかに振り混ぜ、フッ化ナトリウム 0.03g を加えて沸騰するまで加熱した後、直ちに硫酸 (1→6) を液が澄明になるまで滴加し、更に硫酸 (1→6) 3~5滴を追加するとき、液は青~青緑色を呈する。

**純度試験** (1) 溶状 (0.020g, 水, 赤色, 澄明)

(2) プソイドシアノコバラミン 本品 1.0mg を水 20ml に溶かし、分液漏斗に入れ、*m*-クレゾール/四塩化炭素混液 (1 : 1) 5ml を加え、1分間激しく振り混ぜた後、放置して下層を別の分液漏斗に移し、硫酸 (1→7) 5ml を加え、激しく振り混ぜた後静置する。必要があれば遠心分離するとき、上層は無色か、又は比較液より濃くない。

比較液 : 0.02mol/L 過マンガン酸カリウム液 0.6ml に水を加えて 1,000ml とする。

**乾燥減量** 12.0%以下 (0.050g, 0.67kPa 以下, 乾燥剤 酸化リン (V), 100℃, 4時間)

**定量法** 本品約 0.02g を精密に量り、水に溶かし、正確に 1,000ml とし、検液とする。別にあらかじめ乾燥減量を測定したシアノコバラミン標準品約 0.02g を精密に量り、水に溶かし、正確に 1,000ml とし、標準液とする。検液及び標準液につき、水を対照として波長 361nm における吸光度 A<sub>T</sub> 及び A<sub>S</sub> を測定し、次式により含量を求める。

シアノコバラミン ( $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$ ) の含量

$$= \frac{\text{乾燥物換算したシアノコバラミン標準品の採取量 (g)} \quad A_T}{\text{乾燥物換算した試料の採取量 (g)} \quad A_S} \times 100 (\%)$$

〈試薬・試液〉

1-ニトロソ-2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸二ナトリウム  $C_{10}H_5NNa_2O_8S_2$  [K 8714]

次亜リン酸  $H_3PO_2$  [ホスフィン酸 K 8440 : 1994]

m-クレゾール  $C_7H_8O$  [K 4305]

シアノコバラミン標準品

シアノコバラミン日本薬局方標準品を用いる。

## α-シクロデキストリン

α-Cyclodextrin

α-サイクロデキストリン

C<sub>36</sub>H<sub>60</sub>O<sub>30</sub>

分子量 972.85

Cyclomaltohexaose [10016-20-3]

**定義** 本品は、デンプンを酵素処理し、非還元性環状デキストリンとして得られたものであり、シクロデキストリンのうち6個のD-グルコースの単位からなる環状オリゴ糖である。

**含量** 本品を乾燥したものは、α-シクロデキストリン (C<sub>36</sub>H<sub>60</sub>O<sub>30</sub>) 98.0%以上を含む。

**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、わずかに甘味がある。

**確認試験** 本品 0.2g にヨウ素試液 2ml を加え、水浴中で加温して溶かした後室温に放置するとき、暗青緑色の沈殿を生じる。

**純度試験** (1) 比旋光度  $[\alpha]_D^{20} = +147 \sim +152^\circ$

本品を乾燥し、その約 1g を精密に量り、水を加えて正確に 100ml とし、30 分以内に旋光度を測定する。

(2) 溶状 無色、澄明 (0.50g, 水 50ml)

(3) 塩化物 Cl として 0.018%以下 (0.50g, 比較液 0.01mol/L 塩酸 0.25ml)

(4) 重金属 Pb として 5.0 μg/g 以下 (4.0g, 第2法, 比較液 鉛標準液 2.0ml)

(5) 鉛 Pb として 1.0 μg/g 以下 (10.0g, 第1法)

(6) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> として 1.3 μg/g 以下 (1.5g, 第2法, 装置B)

(7) 還元物質 本品を乾燥し、その 1.0g を正確に量り、水 25ml に溶かし、フェーリング試液 40ml を加え、3 分間穏やかに煮沸する。冷後、沈殿がなるべくフラスコ内に残るように注意しながら、上澄液をガラスろ過器 (1G4) を用いてろ過し、沈殿を温水で洗液がアルカリ性を呈さなくなるまで洗い、洗液を先のガラスろ過器を用いてろ過し、ろ液は捨てる。沈殿に硫酸第二鉄試液 20ml を加えて溶かし、これを先のガラスろ過器を用いてろ過した後、水洗し、ろ液及び洗液を合わせ、80°C に加熱し、0.02mol/L 過マンガン酸カリウム溶液で滴定するとき、その消費量は 3.2ml 以下である。

**乾燥減量** 14.0%以下 (105°C, 0.67kPa 以下, 4 時間)

**強熱残分** 0.10%以下 (550°C)

**定量法** 本品を乾燥し、その約 0.5g を精密に量り、加熱した水約 35ml を加えて溶かし、冷後、水を加えて正確に 50ml とし、検液とする。別に定量用 α-シクロデキストリンを乾燥し、約 0.7g を精密に量り、加熱した水約 45ml を加えて溶かし、冷後、水を加えて正確に 50ml とし、標準液とする。更にこの標準液 5ml ずつを正確に量り、水を加えてそれぞれ正確に 10ml 及び 20ml とし、標準液とする。検液及び 3 濃度の標準液をそれぞれ 10 μl 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 α-シクロデキスト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 α-シクロデキストリンのピーク面積から検液中の α-シクロデキストリンの量 (g) を求め、次式により含量を求める。

α-シクロデキストリンの含量

検液中の α-シクロデキストリンの量 (g)

$$= \frac{\quad}{\text{試料の採取量 (g)}} \times 100(\%)$$

#### 操作条件

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 9～10 $\mu$ mの液体クロマトグラフィー用強酸性陽イオン交換樹脂

カラム管 内径5～10mm, 長さ20～50cmのステンレス管

カラム温度 50～80℃の一定温度

移動相 水

流量 0.3～1.0ml/分の一定量

#### 〈試薬・試液〉

定量用 $\alpha$ -シクロデキストリン  $\alpha$ -シクロデキストリン, 定量用を見よ。

$\alpha$ -シクロデキストリン, 定量用  $C_{36}H_{60}O_{30}$

性状 本品は, 白色の結晶または結晶性の粉末で, においがなく, わずかに甘味がある。

確認試験 本品0.2gにヨウ素試液2mlを加え, 水浴中で加温して溶かした後, 室温に放置するとき, 青紫色の沈殿を生じる。

純度試験 (1) 比旋光度  $[\alpha]_D^{20} = +147 \sim +152^\circ$  本品を乾燥し, その約1gを精密に量り, 水を加えて正確に100mlとし, 旋光度を測定する。

(2) 類縁物質 本品約1.5gをとり, 水を加えて溶かして100mlとし, 検液とする。この液1mlを正確に量り, 水を加えて正確に100mlとし, 比較液とする。検液及び比較液20～100 $\mu$ lにつき, 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, 検液中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

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 液体クロマトグラフィー用強酸性陽イオン交換樹脂

カラム管 内径5～10mm, 長さ20～50cmのステンレス管

カラム温度 50～80℃の一定温度

移動相 水

## γ-シクロデキストリン

γ-Cyclodextrin

γ-サイクロデキストリン

C<sub>48</sub>H<sub>80</sub>O<sub>40</sub>

分子量 1297.14

Cyclomaltooctaose [17465-86-0]

**定義** 本品は、デンプンを酵素処理し、非還元性環状デキストリンとして得られたものであり、シクロデキストリンのうち8個のD-グルコース単位からなる環状オリゴ糖である。

**含量** 本品を乾燥したものは、γ-シクロデキストリン (C<sub>48</sub>H<sub>80</sub>O<sub>40</sub>) 98.0%以上を含む。

**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、わずかに甘味がある。

**確認試験** 本品 0.2g にヨウ素試液 2ml を加え、水浴中で加温して溶かした後室温に放置するとき、赤褐色の沈殿を生じる。

**純度試験** (1) 比旋光度  $[\alpha]_D^{20} = +172 \sim +178^\circ$

本品を乾燥し、その約 1g を精密に量り、水を加えて正確に 100ml とし、30 分以内に旋光度を測定する。

(2) 溶状 無色、澄明 (0.50g, 水 50ml)

(3) 塩化物 Cl として 0.018%以下 (0.50g, 比較液 0.01mol/L 塩酸 0.25ml)

(4) 重金属 Pb として 5.0 μg/g 以下 (4.0g, 第2法, 比較液 鉛標準液 2.0ml)

(5) 鉛 Pb として 1.0 μg/g 以下 (10.0g, 第1法)

(6) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> として 1.3 μg/g 以下 (1.5g, 第2法, 装置B)

(7) 還元物質 本品を乾燥し、その 1.0g を正確に量り、水 25ml に溶かし、フェーリング試液 40ml を加え、3 分間穏やかに煮沸する。冷後、沈殿がなるべくフラスコ内に残るように注意しながら、上澄液をガラスろ過器 (1G4) を用いてろ過し、沈殿を温水で洗液がアルカリ性を呈さなくなるまで洗い、洗液を先のガラスろ過器を用いてろ過し、ろ液は捨てる。沈殿に硫酸第二鉄試液 20ml を加えて溶かし、これを先のガラスろ過器を用いてろ過した後、水洗し、ろ液及び洗液を合わせ、80°C に加熱し、0.02mol/L 過マンガン酸カリウム溶液で滴定するとき、その消費量は 3.2ml 以下である。

**乾燥減量** 14.0%以下 (105°C, 0.67kPa 以下, 4時間)

**強熱残分** 0.10%以下 (550°C)

**定量法** 本品を乾燥し、その約 0.5g を精密に量り、加熱した水約 35ml を加えて溶かし、冷後、水を加えて正確に 50ml とし、検液とする。別に定量用 γ-シクロデキストリンを乾燥し、約 0.7g を精密に量り、加熱した水約 45ml を加えて溶かし、冷後、水を加えて正確に 50ml とし、標準液とする。更にこの標準液 5ml ずつを正確に量り、水を加えてそれぞれ正確に 10ml 及び 20ml とし、標準液とする。検液及び 3 濃度の標準液をそれぞれ 10 μl 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 γ-シクロデキスト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 γ-シクロデキストリンのピーク面積から検液中の γ-シクロデキストリンの量 (g) を求め、次式により含量を求める。

γ-シクロデキストリンの含量



$$\text{検液中の } \gamma\text{-シクロデキストリンの量 (g)} \\ = \frac{\quad}{\text{試料の採取量 (g)}} \times 100 (\%)$$

操作条件

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 9～10 $\mu$ mの液体クロマトグラフィー用強酸性陽イオン交換樹脂

カラム管 内径5～10mm, 長さ20～50cmのステンレス管

カラム温度 50～80℃の一定温度

移動相 水

流量 0.3～1.0ml/分の一定量

〈試薬・試液〉

定量用 $\gamma$ -シクロデキストリン  $\gamma$ -シクロデキストリン, 定量用を見よ。

$\gamma$ -シクロデキストリン, 定量用  $C_{48}H_{80}O_{40}$

性状 本品は, 白色の結晶または結晶性の粉末で, においがなく, わずかに甘味がある。

確認試験 本品0.2gにヨウ素試液2mlを加え, 水浴中で加温して溶かした後, 室温に放置するとき, 青紫色の沈殿を生じる。

純度試験 (1) 比旋光度  $[\alpha]_D^{20} = +172 \sim +178^\circ$  本品を乾燥し, その約1gを精密に量り, 水を加えて正確に100mlとし, 旋光度を測定する。

(2) 類縁物質 本品約1.5gをとり, 水を加えて溶かして100mlとし, 検液とする。この液1mlを正確に量り, 水を加えて正確に100mlとし, 比較液とする。検液及び比較液20～100 $\mu$ lにつき, 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, 検液中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

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 液体クロマトグラフィー用強酸性陽イオン交換樹脂

カラム管 内径5～10mm, 長さ20～50cmのステンレス管

カラム温度 50～80℃の一定温度

移動相 水

乾燥減量 14.0%以下 (105℃, 0.67kPa以下, 4時間)

## 5'-シチジル酸

5'-Cytidylic Acid

$C_9H_{14}N_3O_8P$

分子量 323.20

Cytidine 5'-monophosphoric acid [63-37-6]

**定義** 酵母 (*Candida utilis*) の菌体より、食塩存在下、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'-シチジル酸である。

**含量** 本品を乾燥物換算したものは、5'-シチジル酸 ( $C_9H_{14}N_3O_8P$ ) 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 0.010 g を塩酸 (1→1,000) 1,000ml に溶かした液は、波長 277~281nm に極大吸収部がある。

(2) 本品 0.25 g を水酸化ナトリウム試液 1ml に溶かし、水 5ml を加えた液に、マグネシア試液 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 0.50 g 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。

(2) 重金属 Pb として  $10\mu\text{g/g}$  以下

本品 2.0 g 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。

(3) ヒ素  $As_2O_3$  として  $4.0\mu\text{g/g}$  以下

本品 0.50 g 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。

(4) 吸光比 本品 0.010 g 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。

(5) 他の核酸分解物 本品 0.10 g 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  $1\mu\text{l}$  を量り、対照液を用いず、1-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ィーを行い、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ィー用シリカゲル (蛍光剤入り) を  $110^\circ\text{C}$  で 1 時間乾燥したものを使用する。

**乾燥減量** 6.0%以下 ( $120^\circ\text{C}$ , 4 時間)

**定量法** 本品約 0.2 g 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 100ml とし、検液とする。波長 280nm 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。

$$0.2 \times 1.224 \times A$$

$$5'\text{-シチジル酸 } (C_9H_{14}N_3O_8P) \text{ の含量} = \frac{\quad}{\quad} \times 100 (\%)$$

乾燥物換算した試料の採取量 (g)

## しらこたん白抽出物

Milt Protein

しらこたん白

しらこ分解物

プロタミン

**定 義** 本品は、アイナメ (*Hexagrammos otakii* Jordan et Starks), カラフトマス (*Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum)), シロザケ (*Oncorhynchus keta* (Walbaum)), ベニザケ (*Oncorhynchus nerka* (Walbaum)), カツオ (*Katsuwonus pelamis* (Linnaeus)) 又はニシン (*Clupea pallasii* Valenciennes) の精巢から得られた、塩基性タンパク質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、プロタミンとして50%以上を含む。

**性 状** 本品は、白～淡黄色の粉末で、わずかに特有の味がある。

**確認試験** (1) 本品 1 mg を水 2 ml に溶かし、 $\alpha$ -ナフトール 0.1 g をエタノール溶液 (7→10) 100 ml に溶かした液 5 滴及び次亜塩素酸ナトリウム試液 5 滴を加えた後、水酸化ナトリウム溶液 (1→20) を加えてアルカリ性とするとき、液は鮮赤色を呈する。

(2) 本品 5 mg に水 1 ml を加え加温して溶かし、水酸化ナトリウム溶液 (1→10) 1 滴及び硫酸銅溶液 (1→7) 2 滴を加えるとき、液は青紫色を呈する。

**純度試験** (1) 溶状 無～淡黄色、混濁 (0.5 g, 水 50 ml, 5 分間かき混ぜる)

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

(3) ヒ素  $\text{As}_2\text{O}_3$  として  $4.0 \mu\text{g/g}$  以下 (0.50 g, 第 3 法, 装置 B)

**乾燥減量** 7.0% 以下 (100°C, 3 時間)

**灰 分** 15.0% 以下

**定 量 法** 本品約 0.1～0.15 g を精密に量り、試料とし、窒素定量法中のケルダール法により定量する。次式により含量を求める。

$0.05\text{mol/L}$  硫酸 1 ml = 1.401 mg N

窒素量 (mg)  $\times$  3.19

$$\text{プロタミンの含量} = \frac{\text{窒素量 (mg)} \times 3.19}{\text{乾燥物換算した試料の採取量 (g)} \times 1,000} \times 100(\%)$$

### 〈試薬・試液〉

$\alpha$ -ナフトール 1-ナフトールを見よ。

1-ナフトール  $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{OH}$  [K 8698] 遮光して保存する。

## ステビア抽出物

Stevia Extract

ステビアエキス

ステビオサイド

ステビオシド

レバウジオシド

レバウディオサイド

**定義** 本品は、ステビア (*Stevia rebaudiana* Bertoni) の葉から抽出して得られた、ステビオール配糖体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、ステビオール配糖体 80.0%以上を含む。

**性状** 本品は、白～淡黄色の粉末、薄片又は粒で、においはないかわずかに特有のにおいがあり、強い甘味がある。

**確認試験** 本品 0.5g を水 100ml に溶かし、検液とする。定量用ステビオシド及びレバウジオシドAのそれぞれ 5mg を水 10ml に溶かし、標準液とする。検液及び標準液につき、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、検液の主ピークの保持時間は、標準液のステビオシド及びレバウジオシドAの両方あるいは一方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 (5.0 g, 第1法)

(2) ヒ素  $\text{As}_2\text{O}_3$  として 2.0  $\mu\text{g/g}$  以下 (1.0g, 第3法, 装置B)

**乾燥減量** 6.0%以下 (105°C, 2時間)

**強熱残分** 1.0%以下

**定量法** 本品 0.06~0.12g を精密に量り、アセトニトリル/水混液 (4 : 1) に溶かして正確に 100ml とし、検液とする。別に定量用ステビオシドを乾燥し、その約 0.05g を精密に量り、アセトニトリル/水混液 (4 : 1) に溶かして正確に 100ml とし、標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ 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。検液のステビオシドのピーク面積  $A_a$ , レバウジオシドAのピーク面積  $A_c$ , レバウジオシドAの保持時間を 1.00 としたとき、相対保持時間 0.25~0.30 に溶出するピーク (ズルコシドA) の面積  $A_b$ , 0.63~0.69 に溶出するピーク (レバウジオシドC) の面積  $A_d$ , 及び標準液のステビオシドのピーク面積  $A_s$  を測定し、次式によりステビオール配糖体の含量を求める。

$$\text{ステビオシドの含量} = \frac{\text{定量用ステビオシドの採取量 (g)}}{\text{乾燥物換算した試料の採取量 (g)}} \times \frac{A_a}{A_s} \times 100 (\%)$$

$$\text{ズルコシドAの含量} = \frac{\text{定量用ステビオシドの採取量 (g)}}{\text{乾燥物換算した試料の採取量 (g)}} \times \frac{A_b \times 0.98}{A_s} \times 100 (\%)$$

$$\text{レバウジオシドAの含量} = \frac{\text{定量用ステビオシドの採取量(g)} \quad A_c \times 1.20}{\text{乾燥物換算した試料の採取量(g)} \quad A_s} \times \frac{A_c \times 1.20}{A_s} \times 100 (\%)$$

$$\text{レバウジオシドCの含量} = \frac{\text{定量用ステビオシドの採取量(g)} \quad A_d \times 1.18}{\text{乾燥物換算した試料の採取量(g)} \quad A_s} \times \frac{A_d \times 1.18}{A_s} \times 100 (\%)$$

$$\begin{aligned} \text{ステビオール配糖体の含量} (\%) &= \text{ステビオシドの含量} (\%) + \text{ズルコシドAの含量} (\%) \\ &+ \text{レバウジオシドAの含量} (\%) + \text{レバウジオシドCの含量} (\%) \end{aligned}$$

#### 操作条件

検出器 紫外吸光光度計 (測定波長 210nm)

カラム充てん剤 5 $\mu$ 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 4.6mm, 長さ 15cm のステンレス管

カラム温度 40 $^{\circ}$ C

移動相 アセトニトリル/水混液 (4 : 1)

流量 レバウジオシドAの保持時間が約 21 分になるように調整する。

#### 〈試薬・試液〉

ステビオシド, 定量用  $C_{38}H_{60}O_{18}$

性 状 白色の粉末

確認試験 本品 0.6g を水 100ml に溶かし, 1-ブタノール 100ml を加え, よく振り混ぜた後, 放置する。1-ブタノール層 5 ml を試験管にとり, アントロン試液 5 ml を管壁に沿って静かに加え層積するとき, 接界面は, 青~緑色を呈する。

純度試験 類縁物質 本品 0.05g をアセトニトリル/水混液 (4 : 1) 50ml に溶かし, 検液とする。この液 1 ml 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 $\mu$ 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 2 倍までとする。

操作条件 「ステビア抽出物」の定量法の操作条件を準用する。ただし, 流量は, ステビオシドの保持時間が約 10 分になるように調整する。

乾燥減量 5.0%以下 (105 $^{\circ}$ C, 2 時間)

定量用ステビオシド ステビオシド, 定量用を見よ。

レバウジオシド A  $C_{44}H_{70}O_{23}$

性 状 本品は, 白色の結晶又は結晶性の粉末である。

比旋光度  $[\alpha]_D^{24} = -20 \sim -24^\circ$  本品を 110℃で 2 時間乾燥し、その 0.05g をメタノール 50ml に溶かし、旋光度を測定する。

融 点 239～244℃

**液体クロマトグラフィー用アミノ基結合型シリカゲル** アミノ基結合型シリカゲル，液体クロマトグラフィー用を見よ。

**アミノ基結合型シリカゲル，液体クロマトグラフィー用** 液体クロマトグラフィー用に製造したもの。

〈参考情報〉

カラム充てん剤 Uniscil Q NH<sub>2</sub> 又は同等品

カラム充てん剤 Wakosil 5NH<sub>2</sub> 又は同等品

## スピルリナ色素

Spirulina Color

スピルリナ青色素

**定義** 本品は、スピルリナ (*Spirulina platensis* Geitler) の全藻から得られた、フィコシアニンを主成分とするものである。デキストリン又は乳糖を含むことがある。

**色 価** 本品の色価 ( $E_{1\text{cm}}^{10\%}$ ) は 25 以上で、その表示量の 90~110%を含む。

**性 状** 本品は、青色の粉末又は液体で、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、色価 25 に換算して 0.4g に相当する量を取り、クエン酸緩衝液 (pH6.0) 100ml に溶かした液は、青色を呈し、赤色の蛍光を発する。

(2) (1)の溶液を、90℃で 30 分間加熱するとき、蛍光は消える。

(3) (1)の溶液 5ml に微粉末にした硫酸アンモニウム 3.3g を少量ずつ加えて溶かし、静置するとき、青色の不溶物を生じる。

(4) (1)の溶液 5ml に塩化鉄 (III) 試液 1ml を加えて 20 分間放置するとき、青緑~暗紫色に変わる。

(5) (1)の溶液 5ml に次亜塩素酸ナトリウム試液 0.1ml を加えるとき、液の色は淡黄色に変わる。

(6) 本品をクエン酸緩衝液 (pH6.0) に溶かした液は、波長 610~630nm に極大吸収部がある。

**純度試験** (1) 重金属 Pb として 40  $\mu\text{g/g}$  以下 (0.50g, 第 2 法, 比較液 鉛標準液 2.0ml)

(2) 鉛 Pb として 8.0  $\mu\text{g/g}$  以下 (1.25g, 第 1 法)

(3) ヒ素  $\text{As}_2\text{O}_3$  として 4.0  $\mu\text{g/g}$  以下 (0.50g, 第 3 法, 装置 B)

**色価測定法** 色価測定法により次の操作条件で試験を行う。

操作条件

測定溶媒 クエン酸緩衝液 (pH6.0)

測定波長 波長610~630nmの極大吸収部

### 〈試薬・試液〉

**塩化鉄 (III) 試液** 塩化鉄 (III) 9g を量り、水を加えて溶かして 100ml とする。

### クエン酸緩衝液 (pH6.0)

第 1 液: クエン酸 21g を量り、水を加えてとかし、1,000ml とする。

第 2 液: リン酸二ナトリウム 71.6g を量り、水を加えてとかし、1,000ml とする。

第 1 溶液 72 容量と第 2 液 128 容量とを混和する。必要ならば、更にいずれかの液を加えて pH を 6.0 に調整する。

**次亜塩素酸ナトリウム試液** 次亜塩素酸ナトリウムを有効塩素 5% としたものをを用いる。

### 〈参考情報〉

カラム充てん剤 Uniscil Q  $\text{NH}_2$  又は同等品

## 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  $\text{SO}_4$  として 4.8% 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 2.0ml を量り、検液とする。比較液には、0.005mol/L 硫酸 0.50ml を用いる。

(2) 臭化物 Br として 2.5% 以下

本品 1.0g を量り、水を加えて溶かして 500ml とする。この液 10ml を量り、水を加えて 100ml とする。更にこの液 2ml を量り、水 3ml、希フェノールレッド試液 2ml 及びクロラミンT溶液 (1→10,000) 1ml を加え、直ちに混和し、2分間放置後、0.1mol/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、希フェノールレッド試液 2ml 及びクロラミンT溶液 (1→10,000) 1ml を加え、直ちに振り混ぜる。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、水を対照として波長 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 20  $\mu\text{g/g}$  以下 (1.0g, 第2法, 比較液 鉛標準液 2.0 ml)

(4) 亜鉛 Zn として 70  $\mu\text{g/g}$  以下

本品 4.0g 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 及び水を加えて 30ml とし、酢酸 5 滴及び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 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、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。

$$b \times 0.4008$$

$$\text{カルシウム (Ca) の量} = \frac{\quad}{\text{試料の採取量 (g)}} (\%)$$



(6) ナトリウム Naとして4.0%以下

本品1.0gを量り、水を加えて溶かし、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、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<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として4.0μg/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。

$$\text{塩化マグネシウム (MgCl}_2\text{) の含量} = \frac{(a - 0.25b) \times 3.803}{\text{試料の採取量(g)}} \quad (\%)$$

〈試薬・試液〉

**希フェノールレッド試液** フェノールレッド試液、希を見よ。

**フェノールレッド試液, 希**

第1液: フェノールレッド33mgを量り、水酸化ナトリウム溶液(2→25)1.5ml及び水を加えて溶かし、100mlとする。

第2液: 硫酸アンモニウム25mgを量り、水235mlを加えて溶かし、水酸化ナトリウム溶液(2→25)105ml及び酢酸(3→25)135mlを加えて混和する。

第1液1容量と第2液19容量とを混和し、必要があれば、水酸化ナトリウム溶液又は酢酸を加えて、pH4.7に調整する。

## タウリン (抽出物)

Taurine (extract)

タウリン

$C_2H_7NO_3S$

分子量125.15

2-Aminoethanesulfonic acid [107-35-7]

**定義** 本品は、魚介類又は哺乳動物の臓器又は肉から得られた、タウリ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タウリン ( $C_2H_7NO_3S$ ) 98.5%以上を含む。

**性状** 本品は、白色の結晶性の粉末で、においはない。

**確認試験** (1) 本品の水溶液 (1→20) 5 mlに希塩酸 5 滴および亜硝酸ナトリウム試液 (1→10) 5 滴を加えるとき、泡立ち、発生するガスは無色である。

(2) 本品0.5gに水酸化ナトリウム試液7.5mlを加え、徐々に加熱して蒸発乾固し、さらに500°Cで2時間強熱して分解し、残留物に水5mlを加え、振り混ぜた後、ろ過し、ニトロプルシドナトリウム試液1滴を加えるとき、液は赤紫色を呈する。

**純度試験** (1) 溶状 無色、澄明 (0.5g, 水20ml)

(2) 塩化物  $Cl$ として0.011%以下 (1.0g, 比較液 0.01mol/L 塩酸0.30ml)

(3) 硫酸塩  $SO_4$ として0.014%以下 (1.5g, 比較液 0.005mol/L 硫酸0.45ml)

(4) アンモニウム  $NH_4$ として0.02%以下

本品0.10gをフラスコにとり、水70mlを加えて溶かし、酸化マグネシウム1gを加え、蒸留装置に連結する。受器にはホウ酸溶液 (1→200) 10mlを入れて冷却器の下端をこの液に浸し、1分間5～7mlの留出速度に調節しながら留分30mlを得るまで蒸留し、水を加えて50mlとする。この液30mlをネスラー管にとり、フェノール・ペンタシアノニトロシル鉄(Ⅲ)酸ナトリウム試液6.0mlを加えて混和する。次に次亜塩素酸ナトリウム・水酸化ナトリウム試液4mlおよび水を加えて50mlとし、混和した後60分間放置する。このとき液の呈する色は比較液の色より濃くない。比較液はアンモニウム標準液2.0mlを試料と同様に操作して調製する。

(5) 硫酸呈色物

本品0.10gを94.5～95.5%硫酸1mlに溶かすとき、呈色しない。

(6) 重金属  $Pb$ として20  $\mu g/g$ 以下 (1.0g, 第1法, 比較液 鉛標準液2.0ml)

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

**乾燥減量** 0.20%以下 (105°C, 2時間)

**強熱残分** 0.50%以下 (1.0g)

**定量法** 本品を乾燥し、その約0.2gを精密に量り、水50mlを加えて溶かし、ホルマリン5mlを加え、0.1mol/L水酸化ナトリウム液で滴定する (指示薬 フェノールフタレイン試液3滴)。別に空試験を行い補正する。

0.1mol/L 水酸化ナトリウム液 1 ml = 12.52mg  $C_2H_7NO_3S$