

Exp. No. 8565 ( 397-004 )  
FINAL REPORT

# 最 終 報 告 書

細葉山紫蘇抽出液 (Mosla Chinensis Maxim Extract) 商品名 : 紫蘇源  
のオオミジンコに対する急性遊泳阻害試験

試験番号 : 8565 ( 397-004 )

2004 年 10 月 19 日

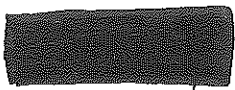
試験委託者

白 田 禎 喜



食品農医薬品安全性評価センター

Page 1 of 19

本試験報告書は  
原本より複写したものである。  
2004 年 10 月 19 日  
試験責任者 

## 陳 述 書

表 題：細葉山紫蘇抽出液 (Mosla Chinensis Maxim Extract) 商品名：紫蘇源  
のオオミジンコに対する急性遊泳阻害試験

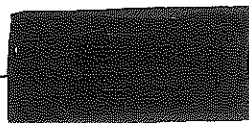
試験番号：8565 ( 397-004 )

本試験は、「農薬の毒性に関する試験の適正実施について」(平成 11 年 10 月 1 日  
11 農産第 6283 号農林水産省農産園芸局長通知) に準拠し実施した。

2004 年 10 月 19 日

所属：財団法人  
食品農医薬品安全性評価センター  
試験責任者

氏名：



## 信 頼 性 保 証 書

表 題：細葉山紫蘇抽出液 (Mosla Chinensis Maxim Extract) 商品名：紫蘇源の  
オオミジンコに対する急性遊泳阻害試験

試験番号：8565 ( 397-004 )

本試験は、「農薬の毒性に関する試験の適正実施について」(平成11年10月1日  
11 農産第 6283 号農林水産省農産園芸局長通知)に従って実施され、本最終報告書  
に記載された成績は、試験の生データを正確に反映していることを保証する。

なお、本試験の信頼性保証部門による調査記録を次頁に示す。

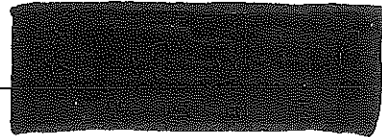
2004 年 10 月 19 日

所属：財団法人

食品農医薬品安全性評価センター

信頼性保証部門責任者

氏名：



## 調 査 記 録

| 調査項目                | 調査実施日                | 試験責任者および<br>運営管理者への報告日 | 調査<br>担当者 |
|---------------------|----------------------|------------------------|-----------|
| 試験計画書               | 2004 年 9 月 17 日      | 2004 年 9 月 21 日        | 中嶋        |
| 試験水の調製および暴<br>露操作開始 | 2004 年 9 月 22 日      | 2004 年 9 月 22 日        | 中嶋        |
| 再調査                 | 2004 年 9 月 30 日      | 2004 年 9 月 30 日        | 中嶋        |
| 生データおよび最終報<br>告書草案  | 2004 年 10 月 13, 14 日 | 2004 年 10 月 14 日       | 中嶋        |
| 生データおよび最終報<br>告書    | 2004 年 10 月 19 日     | 2004 年 10 月 19 日       | 中嶋        |

## 目 次

|                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------|----|
| 1. 要旨.....                                                       | 4  |
| 2. 表題.....                                                       | 5  |
| 3. 試験目的 .....                                                    | 5  |
| 4. 準拠したガイドラインおよび遵守した GLP.....                                    | 5  |
| 5. 試験番号 .....                                                    | 5  |
| 6. 試験施設 .....                                                    | 5  |
| 7. 試験委託者 .....                                                   | 5  |
| 8. 試験責任者 .....                                                   | 6  |
| 9. 試験責任者の署名および日付 .....                                           | 6  |
| 10. 被験物質管理責任者.....                                               | 6  |
| 11. 試験従事者 .....                                                  | 6  |
| 12. 試験日程 .....                                                   | 6  |
| 13. 被験物質 .....                                                   | 7  |
| 14. 試験生物 .....                                                   | 8  |
| 15. 試験方法 .....                                                   | 9  |
| 16. 結果の算出 .....                                                  | 11 |
| 17. 結果および考察.....                                                 | 12 |
| 18. 結論.....                                                      | 12 |
| 19. 試験関係資料の保管.....                                               | 13 |
| 20. 予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態<br>および試験計画書に従わなかったこと ..... | 13 |

## Figure and Tables

|          |                                                                                                     |    |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 1 | Concentration-Response Curve (Immobility).....                                                      | 14 |
| Table 1  | Immobility of <i>Daphnia magna</i> .....                                                            | 14 |
| Table 2  | EC <sub>50</sub> Values for <i>Daphnia magna</i> .....                                              | 15 |
| Table 3  | No Observed Effect Concentration (NOEC) and Lowest Concentration in<br>100% Immobility Values ..... | 15 |
| Table 4  | pH of Test Solutions.....                                                                           | 16 |
| Table 5  | Dissolved Oxygen Concentration (D.O.) in Test Solutions.....                                        | 16 |
| Table 6  | Temperature of Test Solutions .....                                                                 | 17 |
| 付属資料     | Elendt M4 培地調製方法.....                                                                               | 18 |

## 1. 要旨

### 1.1. 試験目的

細葉山紫蘇抽出液 (Mosla Chinensis Maxim Extract) 商品名：紫蘇源のオオミジンコ (ミジンコ) に対する急性遊泳阻害試験を行い、48 時間の 50% 遊泳阻害濃度 (EC<sub>50</sub>) および最大無影響濃度 (NOEC) を求めた。なお、本試験は「農薬の登録申請に係る試験成績について」ミジンコ類急性遊泳阻害試験 (2-7-2-1) (平成 12 年 11 月 24 日 12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知, 平成 13 年 6 月 26 日 13 生産第 1739 号農林水産省生産局長通知および平成 13 年 10 月 10 日 13 生産第 3986 号農林水産省生産局生産資材課長通知) に準拠して実施した。

### 1.2. 被験物質

細葉山紫蘇抽出液 (Mosla Chinensis Maxim Extract) 商品名：紫蘇源 (ロット番号：00C-160517)

有効成分    Thymol    6.2%

### 1.3. 試験方法

- 1) 試験生物    :    オオミジンコ (*Daphnia magna*) 生後 24 時間以内の幼体
- 2) 暴露方式    :    止水式
- 3) 暴露期間    :    48 時間
- 4) 試験濃度    :    10, 16, 25, 40, 64, 100 mg/L
- 5) 連    数    :    1 濃度区につき 4 連
- 6) 生物数    :    20 頭/1 濃度区 (1 連につき 5 頭)
- 7) 試験水量    :    1 容器 (1 連) につき 100 mL (20 mL/頭)
- 8) 照    明    :    室内光, 16 時間明 (午前 4 時～午後 8 時)
- 9) 水    質    :    水温                    20.1～20.8℃  
                  pH                    7.8～8.0  
                  溶存酸素濃度    7.1～7.6 mg/L

### 1.4. 結果

細葉山紫蘇抽出液 (Mosla Chinensis Maxim Extract) 商品名：紫蘇源のオオミジンコに対する 50% 遊泳阻害濃度 (EC<sub>50</sub>) は、24 時間で 58.9 mg/L (95% 信頼限界：52.3～65.4 mg/L) および 48 時間で 38.8 mg/L (95% 信頼限界：33.6～44.9 mg/L) であった。また、48 時間の最大無影響濃度 (NOEC) は 16 mg/L であった。

2. 表題

細葉山紫蘇抽出液 (Mosla Chinensis Maxim Extract) 商品名：紫蘇源のオオ  
ミジンコに対する急性遊泳阻害試験

3. 試験目的

細葉山紫蘇抽出液 (Mosla Chinensis Maxim Extract) 商品名：紫蘇源のオ  
オミジンコに対する急性遊泳阻害試験を行い、48 時間の 50%遊泳阻害濃度  
(EC<sub>50</sub>) および最大無影響濃度 (NOEC) を求めた。

4. 準拠したガイドラインおよび遵守した GLP

● ガイドライン：

「農薬の登録申請に係る試験成績について」 ミジンコ類急性遊泳阻害試  
験 (2-7-2-1) (平成 12 年 11 月 24 日 12 農産第 8147 号農林水産省農産園  
芸局長通知, 平成 13 年 6 月 26 日 13 生産第 1739 号農林水産省生産局長  
通知および平成 13 年 10 月 10 日 13 生産第 3986 号農林水産省生産局生  
産資材課長通知)

● GLP：

「農薬の毒性に関する試験の適正実施について」  
(平成 11 年 10 月 1 日 11 農産第 6283 号農林水産省農産園芸局長通知)

5. 試験番号

8565 ( 397-004 )

6. 試験施設

郵便番号 437-1213

静岡県磐田郡福田町塩新田字荒浜 582-2

財団法人食品農医薬品安全性評価センター (略称 安評センター)

電話番号 0538-58-1266 Fax 番号 0538-58-1393

7. 試験委託者

郵便番号 179-0074

東京都練馬区春日町 2-16-4

白 田 禎 喜

電話番号 03-3251-4611 Fax 番号 03-3251-4470

8. 試験責任者

[Redacted]

9. 試験責任者の署名および日付

2004 年 10 月 19 日

所属：財団法人  
食品農医薬品安全性評価センター  
試験責任者

氏名：

[Redacted]

10. 被験物質管理責任者

[Redacted] (第二試験部)

11. 試験従事者

[Redacted]

(以上、水生グループ)

12. 試験日程

|        |                  |
|--------|------------------|
| 試験開始日： | 2004 年 8 月 25 日  |
| 実験開始日： | 2004 年 9 月 22 日  |
| 実験完了日： | 2004 年 9 月 24 日  |
| 試験終了日： | 2004 年 10 月 19 日 |

13. 被験物質

- 13.1. 被験物質名  
細葉山紫蘇抽出液 (Mosla Chinensis Maxim Extract) 商品名：紫蘇源
- 13.2. ロット番号  
00C-160517
- 13.3. 有効成分濃度  
Thymol 6.2%
- 13.4. 製造年月日  
2004年5月12日
- 13.5. 有効期限  
2009年5月11日 (製造後5年)
- 13.6. 保管条件  
室温, 遮光, 密閉
- 13.7. 保管場所  
安評センター試験研究棟被験物質保管庫 (A-3)
- 13.8. 物質の状態  
白色～黄褐色の透明性の液体
- 13.9. 溶解性  
水に容易に混和する
- 13.10. 安定性  
有効期限内指定条件下で安定
- 13.11. 取り扱い上の注意  
特になし
- 13.12. 残余被験物質の処理  
残余被験物質は全て試験委託者に返却.

#### 14. 試験生物

試験には、オオミジンコ (学名 : *Daphnia magna*) の生後 15 日齢 (Lot No. 040907) の雌成体より産出された 24 時間齢以内の幼体を用いた。本種は、国立環境研究所より入手したものを当センターにおいて継代飼育しているものである。2004 年 8 月に基準物質 (重クロム酸カリウム, 試薬特級) を用いて急性遊泳阻害試験を行い、供試生物の感受性を確認した。その結果、基準物質による 48 時間の 50% 遊泳阻害濃度 (EC<sub>50</sub>) は 0.93 mg/L であり、当施設における背景データの範囲内 (0.74~1.34 mg/L) の値であった。

##### 14.1. 試験生物種選択理由

水産動植物影響試験に広く利用されており、入手および飼育の容易さを考慮して本種を使用した。

##### 14.2. 供試する幼体を得るためのミジンコの飼育方法

継代飼育中のミジンコから、育房内に幼体を抱え肉眼的に健康かつ十分な大きさの雌成体を選出し、別に用意したガラス製容器に移した。翌日、産出された幼体を別のガラス製容器に分けた。この幼体を供試ミジンコの親とし、下記の条件下で飼育した。親ミジンコが成熟し幼体を産出し始めたら 1 週間に 3 回以上換水し幼体を除去した。試験には生後 24 時間以内の幼体を用いた。

- 1) 飼育水 : 人工調製水 [Elendt M4 培地 (付属資料参照)]
- 2) 飼育密度 : 35 頭/約 800 mL (飼育水)
- 3) 水温 : 20±1°C
- 4) 照明 : 室内光, 16 時間明 (午前 4 時~午後 8 時)
- 5) 餌 : 単細胞緑藻類 (*Chlorella vulgaris*)  
(藻類培養液を遠心操作により、希釈水に置換して給餌した。)
- 6) 給餌量 : ミジンコ 1 頭あたり藻類を 0.15 mgC (有機炭素含量) / 日の割合で与えた。

## 15. 試験方法

### 15.1. 試験条件

下記の条件下で試験を行った.

- 1) 暴露方式 : 止水式
- 2) 暴露期間 : 48 時間
- 3) 連 数 : 1 濃度区につき 4 連
- 4) 生物数 : 20 頭/1 濃度区 (1 連につき 5 頭)
- 5) 試験水量 : 1 容器 (1 連) につき 100 mL (20 mL/頭)
- 6) 水 温 :  $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$
- 7) pH : 暴露期間中, pH の調整は行わなかった.
- 8) 照 明 : 室内光で 16 時間明 (午前 4 時~午後 8 時)
- 9) 給 餌 : 無給餌

### 15.2. 希釈水

人工調製水 [Elendt M4 培地, OECD 化学品テストガイドライン No. 211 オオミジンコ繁殖試験-1998 年 9 月採択 (付属資料参照)] を使用した.

### 15.3. 試験容器および機器

試験容器 : 蓋付きガラス製容器 ( $\phi$  75 mm  $\times$  60 mm)  
恒温槽 : Water Bath およびレイシークーラー LX-502NX  
水温計 : 佐藤計量器製作所 デジタル温度計 SK-1250MC II  
pH 計 : 新電元 ISFET pH METER KS723  
溶存酸素計 : メトラーポータブル溶存酸素計 MO128

### 15.4. 試験濃度の設定

本試験の濃度設定のため, 10~1000 mg/L の濃度範囲で 5 濃度 (公比約 3.2) を設定し, 1 試験区につき供試生物 10 頭を用いて予備試験を行った. 連数は 2 連 (1 連につき 5 頭) とした.

その結果は次頁の表の通りであり, 48 時間の最大無影響濃度 (NOEC) は 10 mg/L, 50% 遊泳阻害濃度 ( $\text{EC}_{50}$ ) は 30~100 mg/L, 100% 遊泳阻害最低濃度は 100 mg/L であった. したがって, 本試験では, 最低濃度を 10 mg/L, 最高濃度を 100 mg/L とし, 公比約 1.59 で 6 濃度 (10, 16, 25, 40, 64 および 100 mg/L) を設定した.

予備試験結果

| 設定濃度<br>(mg/L) | 動物数<br>(頭) | 累積遊泳阻害数 (阻害率) |          |
|----------------|------------|---------------|----------|
|                |            | 24 時間         | 48 時間    |
| 0              | 10         | 0 (0)         | 0 (0)    |
| 10             | 10         | 0 (0)         | 0 (0)    |
| 30             | 10         | 1 (10)        | 1 (10)   |
| 100            | 10         | 9 (90)        | 10 (100) |
| 300            | 10         | 10 (100)      | 10 (100) |
| 1000           | 10         | 10 (100)      | 10 (100) |

15.5. 試験水の調製

試験水調製用ビーカー (1 L 容) を必要数用意し、それぞれに十分に通気した希釈水を 500 mL ずつ入れた。

被験物質を 500 mg 秤量し、希釈水を加えて 50 mL に定容したものを各濃度区調製用の基準液とした。各濃度区の試験水調製用ビーカーに基準液の所定量を添加した後、テフロン棒で強く攪拌して試験水を調製した。

調製した試験水を各試験容器 (1 濃度区あたり 4 連) に 100 mL ずつ分注した。また、試験水調製後、試験水の状態 (外観等) を記録した。なお、対照区は希釈水のみとした。各試験水の調製方法は以下の通りである。

| 設定濃度<br>(mg/L) | 試験水量<br>(mL) | 被験物質<br>必要量<br>(mg) | 基準液添加量<br>( $\mu$ L) |
|----------------|--------------|---------------------|----------------------|
| 10             | 500          | 5.0                 | 500                  |
| 16             | 500          | 8.0                 | 800                  |
| 25             | 500          | 12.5                | 1250                 |
| 40             | 500          | 20.0                | 2000                 |
| 64             | 500          | 32.0                | 3200                 |
| 100            | 500          | 50.0                | 5000                 |

15.6. 試験操作

試験水の水溫、溶存酸素濃度、pH を測定後、先端が広口のスポイトを用いて供試ミジンコを投入し、その時点を暴露開始時とした。暴露開始後 24 および 48 時間にミジンコの遊泳状態を観察し、遊泳阻害数を記録した。

遊泳阻害の判定は、試験容器を穏やかに動かした後、15 秒間泳げない場合、遊泳阻害されたとみなした (ただし、遊泳とは水中を泳げることを意

味し、水底を這って動くものや水面で動くものは阻害に含めた。水面で動くものについては、水滴を落とす等の操作でミジンコを強制的に水中に沈め、再び浮上した場合は遊泳阻害に含めた。また、正常な遊泳でない場合でも 15 秒間に 1 回でも水中を遊泳した場合は、阻害に含めなかった。).

また、暴露期間中、全濃度区（ただし、各濃度区につき 1 試験容器）の試験水について、pH、溶存酸素濃度、水温を 1 日 1 回測定した。

## 16. 結果の算出

### 16.1. 50%遊泳阻害濃度 (EC<sub>50</sub>) の算出

暴露開始後 24 および 48 時間の遊泳阻害率 (%) を算出し、50%遊泳阻害濃度 (EC<sub>50</sub>) を推定した。

### 16.2. 最大無影響濃度 (NOEC) および 100%阻害最低濃度

暴露開始後 24 および 48 時間について、ミジンコが遊泳阻害を受けない最高濃度 [最大無影響濃度 (NOEC)] および全てのミジンコが遊泳阻害を受ける最低濃度 (100%阻害最低濃度) を求めた。

## 17. 結果および考察

### 17.1. 試験水の状態

試験水調製時、全ての濃度区で試験水は無色透明であり、被験物質成分の析出、沈殿等も認められなかった。

### 17.2. 50%遊泳阻害濃度 (EC<sub>50</sub>) [Table 1, 2]

細葉山紫蘇抽出液 (Mosla Chinensis Maxim Extract) 商品名：紫蘇源 (以下「紫蘇源」という) に 48 時間暴露したミジンコの遊泳阻害率は、10, 16, 25, 40, 64 および 100 mg/L 区でそれぞれ 0, 0, 15, 45, 95 および 100% であった。また、暴露期間中の対照区の遊泳阻害率は 0% であった。

紫蘇源のオオミジンコに対する 50% 遊泳阻害濃度 (EC<sub>50</sub>) は、24 時間で 58.9 mg/L (95% 信頼限界：52.3~65.4 mg/L), 48 時間で 38.8 mg/L (95% 信頼限界：33.6~44.9 mg/L) であった。

### 17.3. 最大無影響濃度 (NOEC) および 100% 遊泳阻害最低濃度 [Table 3]

紫蘇源に 48 時間暴露したミジンコの最大無影響濃度 (NOEC) は 16 mg/L であった。また、100% 遊泳阻害最低濃度は 100 mg/L であった。

### 17.4. 試験水の pH, 溶存酸素濃度および水温 [Table 4, 5, 6]

暴露期間中の試験水の pH は 7.8~8.0, 溶存酸素濃度は 7.1~7.6 mg/L, 水温は 20.1~20.8°C であった。また、暴露期間中の溶存酸素濃度の飽和濃度 (9.2 mg/L, 20°C, 760 mmHg) に対する割合は 77~83% であった。

### 17.5. 試験の妥当性

暴露期間中、対照区の遊泳阻害率は 0% であり、水面に浮いたミジンコも観察されなかった。また、試験水の溶存酸素濃度は飽和濃度の 60% 以上であったため、これらの数値は試験成立条件を満足しており、本試験の妥当性が確認された。

## 18. 結論

紫蘇源のオオミジンコに対する 50% 遊泳阻害濃度 (EC<sub>50</sub>) は、24 時間で 58.9 mg/L (95% 信頼限界：52.3~65.4 mg/L), 48 時間で 38.8 mg/L (95% 信頼限界：33.6~44.9 mg/L) であった。また、48 時間の最大無影響濃度 (NOEC) は 16 mg/L であった。

19. 試験関係資料の保管

本試験の下記資料は、安評センターにて当該農薬の登録後 15 年間保管する。その後の保管については試験委託者と安評センターで協議の上別途定める。

- 試験計画書 (正本)
- 被験物質に関する資料 (使用記録, 調製記録, その他)
- 試験データ
- 最終報告書 (正本)

20. 予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態および試験計画書に従わなかったこと

該当する事項はなかった。

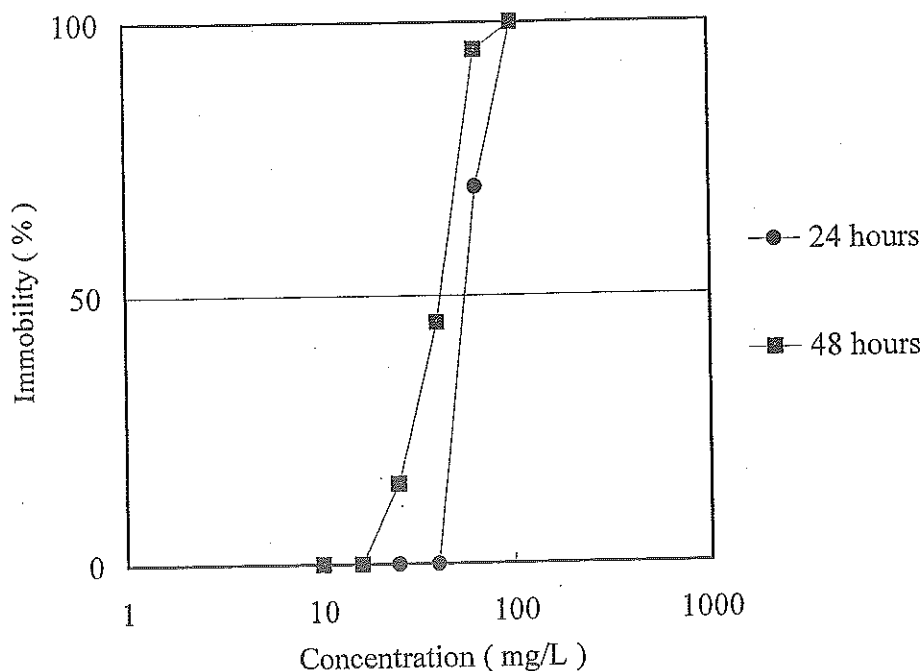


Figure 1. Concentration-Response Curve (Immobilty)

Table 1. Immobilty of *Daphnia magna*

| Nominal<br>Concentration<br>( mg/L ) | Number<br>of<br><i>Daphnia</i> | Cumulative Number of Immobilized <i>Daphnia</i><br>(Percent of Immobilty) |            |
|--------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|------------|
|                                      |                                | 24 hours                                                                  | 48 hours   |
| 0                                    | 20                             | 0 ( 0 )                                                                   | 0 ( 0 )    |
| 10                                   | 20                             | 0 ( 0 )                                                                   | 0 ( 0 )    |
| 16                                   | 20                             | 0 ( 0 )                                                                   | 0 ( 0 )    |
| 25                                   | 20                             | 0 ( 0 )                                                                   | 3 ( 15 )   |
| 40                                   | 20                             | 0 ( 0 )                                                                   | 9 ( 45 )   |
| 64                                   | 20                             | 14 ( 70 )                                                                 | 19 ( 95 )  |
| 100                                  | 20                             | 20 ( 100 )                                                                | 20 ( 100 ) |

Table 2.  $EC_{50}$  Values for *Daphnia magna*

| Exposure<br>Period<br>( hours ) | $EC_{50}$<br>( mg/L ) | 95% Confidence Limits<br>( mg/L ) | Statistical Method |
|---------------------------------|-----------------------|-----------------------------------|--------------------|
| 24                              | 58.9                  | 52.3 - 65.4                       | Probit             |
| 48                              | 38.8                  | 33.6 - 44.9                       | Probit             |

Table 3. No Observed Effect Concentration (NOEC) and Lowest Concentration in 100% Immobility Values

| Exposure<br>Period<br>( hours ) | No Observed Effect<br>Concentration (NOEC)<br>( mg/L ) | Lowest Concentration in<br>100% Immobility<br>( mg/L ) |
|---------------------------------|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| 24                              | 40                                                     | 100                                                    |
| 48                              | 16                                                     | 100                                                    |

Table 4. pH of Test Solutions

| Nominal<br>Concentration<br>( mg/L ) | pH     |          |          |
|--------------------------------------|--------|----------|----------|
|                                      | 0 hour | 24 hours | 48 hours |
| 0                                    | 7.8    | 8.0      | 7.9      |
| 10                                   | 7.8    | 8.0      | 7.9      |
| 16                                   | 7.8    | 8.0      | 7.8      |
| 25                                   | 7.8    | 8.0      | 7.8      |
| 40                                   | 7.9    | 7.9      | 7.9      |
| 64                                   | 7.9    | 7.9      | 7.9      |
| 100                                  | 8.0    | 7.9      | 7.8      |

Table 5. Dissolved Oxygen Concentration (D.O.) in Test Solutions

| Nominal<br>Concentration<br>( mg/L ) | Dissolved Oxygen Concentration<br>( mg/L ) |          |          |
|--------------------------------------|--------------------------------------------|----------|----------|
|                                      | 0 hour                                     | 24 hours | 48 hours |
| 0                                    | 7.6                                        | 7.5      | 7.4      |
| 10                                   | 7.6                                        | 7.5      | 7.4      |
| 16                                   | 7.4                                        | 7.4      | 7.4      |
| 25                                   | 7.3                                        | 7.3      | 7.3      |
| 40                                   | 7.1                                        | 7.4      | 7.3      |
| 64                                   | 7.2                                        | 7.3      | 7.4      |
| 100                                  | 7.3                                        | 7.1      | 7.1      |

Table 6. Temperature of Test Solutions

| Nominal<br>Concentration<br>( mg/L ) | Temperature<br>( °C ) |          |          |
|--------------------------------------|-----------------------|----------|----------|
|                                      | 0 hour                | 24 hours | 48 hours |
| 0                                    | 20.7                  | 20.6     | 20.1     |
| 10                                   | 20.7                  | 20.6     | 20.2     |
| 16                                   | 20.7                  | 20.6     | 20.1     |
| 25                                   | 20.8                  | 20.6     | 20.1     |
| 40                                   | 20.8                  | 20.6     | 20.1     |
| 64                                   | 20.7                  | 20.6     | 20.1     |
| 100                                  | 20.7                  | 20.6     | 20.1     |

## Elendt M4 培地調製方法

## 1) 原液 (I) の調製

表 1 に従い、各試薬を秤量し、適量の超純水に加えて溶解した後、超純水で 1 L に定容する (1 試薬ずつ)。これを原液 (I) とする。

## 2) 21Fe-EDTA 溶液の調製

原液 (I) の  $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  溶液および  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  溶液の等量を混合して、直ちにオートクレーブ処理 ( $121^\circ\text{C}$ , 20 分間) する。これを 21Fe-EDTA 溶液とする。

## 3) 原液 (II) の調製

表 1 に従い、それぞれの原液 (I) および 21Fe-EDTA 溶液の規定量を適量の超純水に添加した後、超純水で 1 L に定容する。これを原液 (II) とする。

表 1. 原液 (I) および原液 (II) 調製方法

| 原液 (I)<br>試薬名                                       | 原液 (I)<br>物質<br>量 (mg/L) | 濃 度<br>M4 培地との関連 | 原液 (II)<br>原液 (I) 添加量<br>(mL/L) |
|-----------------------------------------------------|--------------------------|------------------|---------------------------------|
| $\text{H}_3\text{BO}_3$                             | 57190                    | 20000 倍          | 1.0                             |
| $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$           | 7210                     | 20000 倍          | 1.0                             |
| $\text{LiCl}$                                       | 6120                     | 20000 倍          | 1.0                             |
| $\text{RbCl}$                                       | 1420                     | 20000 倍          | 1.0                             |
| $\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$           | 3040                     | 20000 倍          | 1.0                             |
| $\text{NaBr}$                                       | 320                      | 20000 倍          | 1.0                             |
| $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 1260                     | 20000 倍          | 1.0                             |
| $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$           | 335                      | 20000 倍          | 1.0                             |
| $\text{ZnCl}_2$                                     | 260                      | 20000 倍          | 1.0                             |
| $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$           | 200                      | 20000 倍          | 1.0                             |
| $\text{KI}$                                         | 65                       | 20000 倍          | 1.0                             |
| $\text{Na}_2\text{SeO}_3$                           | 43.8                     | 20000 倍          | 1.0                             |
| $\text{NH}_4\text{VO}_3$                            | 11.5                     | 20000 倍          | 1.0                             |
| $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  | 5000                     | 2000 倍           | -                               |
| $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$           | 1991                     | 2000 倍           | -                               |
| 21Fe-EDTA 溶液                                        | -                        | 1000 倍           | 20.0                            |

## 4) 栄養素原液の調製

表 2 に従い、各試薬を秤量し、適量の超純水に加えて溶解した後、超純水で 1 L に定容する (1 試薬ずつ)。これを栄養素原液とする。

## 5) ビタミン原液の調製

- a. 表 2 に従い、3 種のビタミンを秤量し、まとめて適量の超純水に加えて溶解した後、超純水で 1 L に定容する。これをビタミン原液とする。
- b. 調製したビタミン原液を 1 mL ずつサンプルチューブ等に分注し、冷蔵保存 (2 ~ 6°C) する。

## 6) M4 培地の調製

- a. 表 2 に従い、適量の超純水に原液 (II) および各栄養素原液の規定量を添加した後、超純水で 10 L に定容する。これを M4 培地とする。
- b. M4 培地を使用する際には、使用する直前にビタミン原液の規定量を表 2 に従って添加する。

表 2. 栄養素原液、ビタミン原液および M4 培地調製法

| 原液名・試薬名                                              | 物質<br>量<br>(mg/L) | 濃 度<br>M4 培地との関連 | M4 培地<br>(mL/10 L) |
|------------------------------------------------------|-------------------|------------------|--------------------|
| 〈栄養素原液〉                                              |                   |                  |                    |
| CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O                | 293800            | 1000 倍           | 10                 |
| MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O                | 246600            | 2000 倍           | 5                  |
| KCl                                                  | 58000             | 10000 倍          | 1                  |
| NaHCO <sub>3</sub>                                   | 64800             | 1000 倍           | 10                 |
| Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> · 9H <sub>2</sub> O | 50000             | 5000 倍           | 2                  |
| NaNO <sub>3</sub>                                    | 2740              | 10000 倍          | 1                  |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                      | 1430              | 10000 倍          | 1                  |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>                      | 1840              | 10000 倍          | 1                  |
| 〈ビタミン原液〉                                             |                   | 10000 倍          | 1                  |
| Thiamine hydrochloride                               | 750               | 10000 倍          | -                  |
| Cyanocobalamine (B <sub>12</sub> )                   | 10                | 10000 倍          | -                  |
| Biotine                                              | 7.5               | 10000 倍          | -                  |
| 〈原液 (II)〉                                            |                   | 20 倍             | 500                |

|       |    |                   |                      |
|-------|----|-------------------|----------------------|
| マウス   | 静脈 | LD <sub>50</sub>  | 7,560 mg/kg          |
| ラット   | 経口 | LD <sub>50</sub>  | 27,500 mg/kg         |
| ラット   | 皮下 | LD <sub>50</sub>  | 20,160 mg/kg         |
| モルモット | 経口 | LD <sub>50</sub>  | 7,750 mg/kg          |
| モルモット | 皮下 | LD <sub>100</sub> | 15,750 mg/kg         |
| ウサギ   | 経口 | LD                | 26,460 mg/kg         |
| イヌ    | 皮下 | LD                | 9,008 ~ 11,260 mg/kg |

[Spector, W. S.: *Handbook of Toxicology* Vol. 1, W. B. Saunders Co. (1965)]

## グリセリン脂肪酸エステル

### Glycerol Esters of Fatty Acids

**定義** 本品は、脂肪酸とグリセリン又はポリグリセリンのエステル及びその誘導体である。本品には、グリセリン脂肪酸エステル、グリセリン酢酸脂肪酸エステル、グリセリン乳酸脂肪酸エステル、グリセリンクエン酸脂肪酸エステル、グリセリンコハク酸脂肪酸エステル、グリセリンジアセチル酒石酸脂肪酸エステル、グリセリン酢酸エステル、ポリグリセリン脂肪酸エステル及びポリグリセリン縮合リシノール酸エステルがある。(注1)

**性状** 本品は、無～褐色の粉末、薄片、粗末、粒状若しくはろう状の塊、半流動体、又は液体で、においがなく又は特異なにおいがある。(注2)

**確認試験** (1) 本品約 5 g (グリセリン酢酸エステルの場合は 1.5 g) にエタノール製水酸化カリウム試液 50 ml を加え、還流冷却器を付け、水浴中で 1 時間加熱した後、ほぼ乾固状態になるまでエタノールを留去する。次に塩酸 (1 → 10) 50 ml を加えてよく振り混ぜ、生じた脂肪酸を石油エーテル/メチルエチルケトン混液 (7 : 1) 40 ml ずつで 3 回抽出して分離する。この水層をよくかき混ぜ、水酸化ナトリウム溶液 (1 → 9) を加えてほぼ中性にした後、水浴中で減圧下に濃縮する。これに約 40°C のメタノール 20 ml を加えてよく振り混ぜた後、冷却してろ過し、ろ液のメタノールを水浴中で留去する。この残留物のメタノール溶液 (1 → 10) を検液とする。検液 5  $\mu$ l につき、メタノール/グリセリン混液 (9 : 1) を対照液とし、アセトン/水混液 (9 : 1) を展開溶媒として薄層クロマトグラフィーを行うとき、グリセリンエステルの場合は対照液と同位置に褐色のスポットを認め、また、ポリグリセリンエステルの場合は対照液と同位置以下に褐色のスポット又は褐色の帯状のスポットを認める。ただし、薄層板は、担体として薄層クロマトグラ

フィー用シリカゲルを 110°C で 1 時間乾燥したものを使用し、展開溶媒の先端が原線より 15 cm の高さに上昇したとき展開をやめ、風乾し、110°C で 10 分間加熱して溶媒を除き、冷後、チモール・硫酸試液を噴霧した後、110°C で 20 分間加熱して呈色させる。(注3)

(2) グリセリン酢酸エステルの場合を除き、(1) で分離して得た石油エーテル・メチルエチルケトン層を合わせ、溶媒を留去するとき、油状物又は白～黄白色の固体が残る。この残留物 0.1 g にエーテル 5 ml を加えて振り混ぜるとき溶ける。(注4)

(3) グリセリン脂肪酸エステル及びポリグリセリンエステルの場合を除き、(1) の検液 5 ml に水 50 ml を加えて振り混ぜた液は、グリセリン酢酸脂肪酸エステル及びグリセリン酢酸エステルの場合は酢酸塩の反応、グリセリン乳酸脂肪酸エステルの場合は乳酸塩の反応、グリセリンクエン酸脂肪酸エステルの場合はクエン酸塩(2)の反応、グリセリンコハク酸脂肪酸エステルの場合はコハク酸塩の反応、グリセリンジアセチル酒石酸脂肪酸エステルの場合は酢酸塩及び酒石酸塩の反応を呈する。(注5)

(4) ポリグリセリン縮合リシノール酸エステルの場合、(1) で分離して得た石油エーテル・メチルエチルケトン層を合わせ、この液を水 50 ml ずつで 2 回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで脱水し、ろ過し、減圧下で加温して溶媒を除去する。残留物約 1 g を精密に量り、油脂類試験法の水酸基価の試験を行うとき、その値は、150 ～ 170 である。ただし、酸価の測定には残留物約 0.5 g を用いる。(注6)

純度試験 (1) 酸価 グリセリン脂肪酸エステル 6.0 以下(油脂類試験法)  
 グリセリン酢酸脂肪酸エステル 6.0 以下(油脂類試験法)  
 グリセリン乳酸脂肪酸エステル 6.0 以下(油脂類試験法)  
 グリセリン酢酸エステル 6.0 以下(油脂類試験法)  
 ポリグリセリン脂肪酸エステル 12 以下(油脂類試験法)  
 ポリグリセリン縮合リシノール酸エステル 12 以下(油脂類試験法)  
 グリセリンクエン酸脂肪酸エステル 100 以下(油脂類試験法)  
 グリセリンコハク酸脂肪酸エステル 60 ～ 120(油脂類試験法)  
 グリセリンジアセチル酒石酸脂肪酸エステル 60 ～ 120(油脂類試験法)(注7)

(2) 重金属 Pb として 10 µg/g 以下(2.0 g, 第 2 法, 比較液 鉛標準液 2.0 ml)  
 (注8)

(3) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> として 4.0 µg/g 以下(0.50 g, 第 3 法, 装置 B)(注9)

(4) ポリオキシエチレン 本品 1.0 g を量り、200 ml のフラスコに入れ、エタノール製水酸化カリウム試液 25 ml を加え、すり合わせの還流冷却器を付け、水浴上で時々振り混ぜながら 1 時間煮沸する。次に、水浴上又は減圧下でほぼ乾固状態になるまでエタノールを留去し、硫酸(3 → 100) 20 ml を加えて加温しながらよく振り混ぜる。これにチオシアン酸アンモニウム・硝酸コバルト試液 15 ml を加え、よく振り混ぜた後、クロロホルム 10 ml を加え、再び振り混ぜ、放置するとき、クロロホルム層は、青色を呈さない。

(注10)

強熱残分 1.5 % 以下(注11)

## 注

**改正の要点** 本品は昭和 56 年（環食化第 31 号）で成分規格が一部改正され、脂肪酸とグリセリンのエステルのほか、その特定の誘導体が含まれることになった。いずれも国際規格として **F/W**、外国の規格として **FCC** に記載されている。**食添V** でこれらを明確化するため、定義及び各々の確認試験が新設され、かつ純度試験中の酸価が個々に定められた。**食添VII** では記載方法及び試験方法の一部を改正した。

**注1** 本品は食用油脂に由来する脂肪酸とグリセリンのエステル及びその誘導体と定義された。脂肪酸の種類はトール油脂肪酸などを排除するため、食用油脂に由来するものと規定した。グリセリンと脂肪酸のエステルは、モノ、ジ、トリエステルの 3 種があるが、乳化剤としてはモノエステル（モノグリセリド）が主体で、モノ・ジエステルの混合物（モノ・ジグリセリド）がある。またモノグリセリドの有機酸エステルとしては、酢酸、乳酸、クエン酸、コハク酸、ジアセチル酒石酸の各エステルがあり、またグリセリンを 2 ～ 10 モル重合させたポリグリセリンと脂肪酸のエステル、ポリグリセリンとリシノール酸を 2 ～ 7 モル縮合させた縮合リシノール酸のエステルが含まれている。

なお、諸外国にはこれ以外にもモノグリセリドの誘導体を乳化剤として認めているものがあるが、わが国では上記以外の誘導体は認められていない。

**注2** 本品は脂肪酸及び有機酸の種類、またエステル化度の違いにより各種のものがある。したがって色調は無～褐色まであり、形状も各種が認められている。においは少ないが、わずかな脂肪酸臭又は有機酸臭がする場合がある。

**注3** グリセリン又はポリグリセリンの確認である。本品をアルカリ液でけん化分解した後、脂肪酸を抽出除去し、残った水相を濃縮して得た粘質物を薄層クロマトグラフィーにかける。対照にグリセリンを用いると、グリセリン脂肪酸エステル及びその有機酸エステルではグリセリンと同一位置に、ポリグリセリン脂肪酸エステル又はポリグリセリン縮合リシノール酸エステルでは、ポリグリセリンが対照グリセリンの褐色スポット位置より下に、褐色のスポット又は褐色の帯状のスポットとして認められ、テーリング状態はポリグリセリンの重合度により異なるが、すべて褐色であり、他のショ糖、ソルビトール、プロピレングリコールなどと区別される。

**注4** 脂肪酸の確認であり、オレイン酸、リノール酸など不飽和脂肪酸は油滴に、パルミチン酸、ステアリン酸など飽和脂肪酸は固体となるが、すべてエーテルに可溶である。

**注5** 有機酸の誘導体では、その有機酸の確認を共通試験法に従い行う。

**注6** ポリグリセリン縮合リシノール酸エステルでは、分離した脂肪酸がリシノール酸であることを確認する。リシノール酸は天然油脂の主要脂肪酸中唯一の水酸基を持っているので、その水酸基価が **F/W** に準じて、150 ～ 170 と定められた。

なお、水酸基価の測定は一般試験法中の油脂類試験法による。

**注7** 酸価とは通常油脂中の遊離脂肪酸量を、油脂 1 g を中和するに要した水酸化カリウムの mg 数で表したものである。**食添IV** では 6 以下であり、昭和 56 年改正時 120 以

下となった。これは有機酸エステルの場合、遊離脂肪酸、遊離有機酸だけでなく、多塩基酸の場合は結合有機酸も酸価を持つので、その値が高くなるためである。

これらを明確化するため、国際規格に準じて下記のように個別に定められている。

| 品 名                  | 酸 価        |
|----------------------|------------|
| グリセリン脂肪酸エステル         | } 6.0 以下   |
| グリセリン酢酸脂肪酸エステル       |            |
| グリセリン乳酸脂肪酸エステル       |            |
| グリセリン酢酸エステル          |            |
| ポリグリセリン脂肪酸エステル       | } 12 以下    |
| ポリグリセリン縮合リシノール酸エステル  |            |
| グリセリンクエン酸脂肪酸エステル     | 100 以下     |
| グリセリンコハク酸脂肪酸エステル     | } 60 ~ 120 |
| グリセリンジアセチル酒石酸脂肪酸エステル |            |

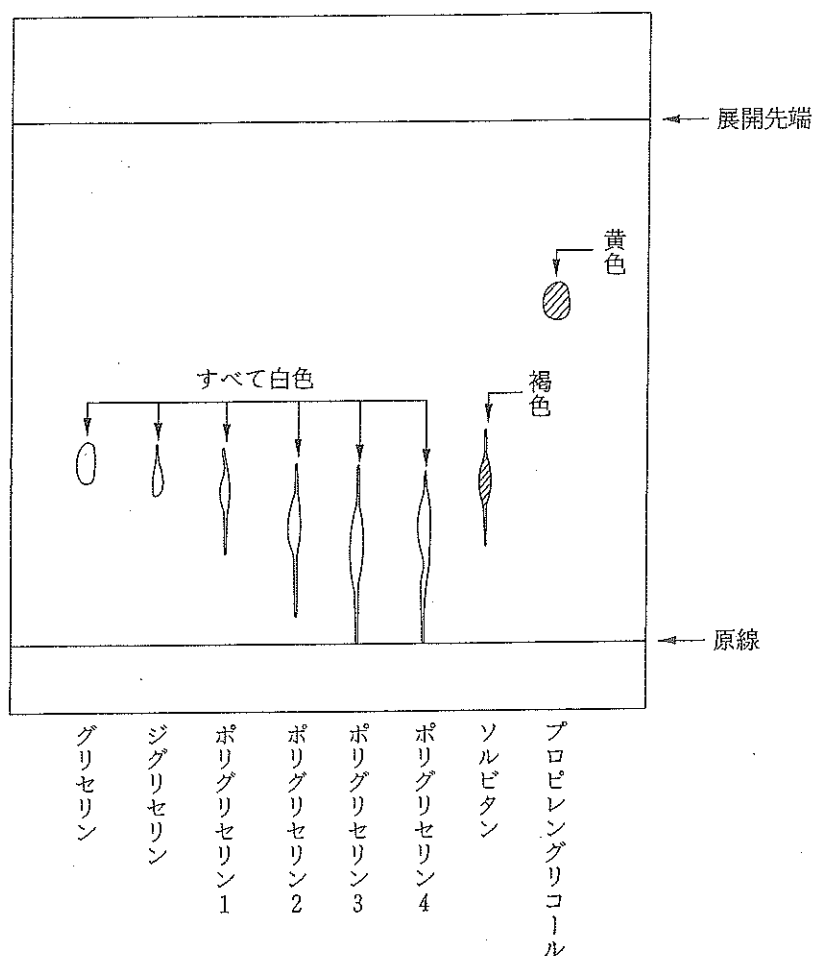
〔注8〕 F/W に準じて限度値である。

〔注9〕 F/W に準じて限度値である。

〔注10〕 わが国でポリオキシエチレン系乳化剤が許可されていないので、これの混入を防止するためである。昭和 56 年の改正時に本試験法も改正された。〔食添Ⅳ〕の直接測定法では、ポリグリセリン脂肪酸エステルの場合、呈色するものがあり、判別できないので、〔食添Ⅴ〕で加水分解して得た水溶液側につき、呈色反応を行う方法に改正された。

〔注11〕 反応に使用されたアルカリ触媒は、脂肪酸塩として残存するので、その量を規定したものである。分子蒸留した高純度品の強熱残分は非常に少ないが、反応品は自己乳化性を良くするため意図的に残存させたものは多くなり、強熱残分 1.5 % はステアリン酸ナトリウム換算約 6 % に相当する。

〔F/W〕では石ケン 6 % 以下と規定している。



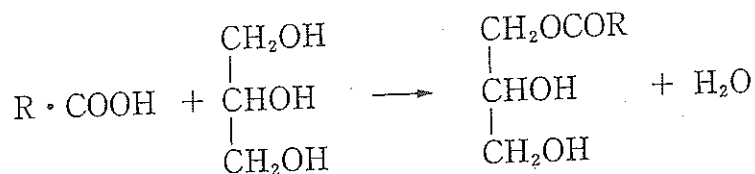
### 解 説

**〔来歴〕** 油脂がグリセリンと脂肪酸から構成されていることは、既に 1823 年 Chevereul により確認されたが、これはトリグリセリドである。乳化剤として一般に用いられるのはモノグリセリドであり、その合成は 1854 年 Berthelot により初めて行われた。その後、各種の合成法が発表された。モノグリセリドの工業的製造は 1910 年頃から行われ、1930 年になってこれを用いたマーガリン、ショートニングが生産されている。1950 年 Kuhrt が分子蒸留法による高純度モノグリセリドの製法を発表し、その後はこの高純度モノグリセリド有機酸エステルが食品添加物として認められており、更に米国ではエチレンオキサイドを付加したエトキシ化モノ・ジグリセリドがパン用などの乳化剤として利用され、またグリセリンを重合させて水溶性を増加させたポリグリセリン脂肪酸エステルが各国で繁用されている。これらのため、わが国でも昭和 56 年 6 月規格の一部改正によって酢酸モノグリセリド、乳酸モノグリセリド、クエン酸モノグリセリド、ジアセチル酒石酸モノグリセリド、コハク酸モノグリセリド、ポリグリセリン脂肪酸エステル、ポリグリセリン縮合リシノール酸エステルがモノグリセリド誘導体として認められ、実用化されている。

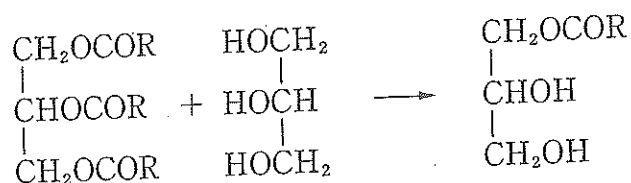
**〔製法〕** モノグリセリドの合成法としてはグリセリンと脂肪酸を反応させる方法、油脂

とグリセリンを反応させる方法、あるいは、アセトングリセリン、ハロヒドリン、アリルエステル、その他種々の化合物から合成する方法が開発されているが、工業的には次の方法である。

(1) グリセリンに脂肪酸を作用させる方法：過量のグリセリンを脂肪酸と共に触媒の存在下で直接加熱して反応させる。



(2) 油脂とグリセリンを反応させる方法：油脂とグリセリンを触媒の存在下で加熱反応させる。



(1), (2) の方法では無差別に反応するのでモノ、ジ及びトリグリセリドの混合物となり、これはモノグリセリド含量 40 ~ 50 % で、この製品を反応モノグリセリドと呼んでいる。分子蒸留法により蒸留した含量 90 % 以上の製品を蒸留モノグリセリドと呼んでいる。また反応モノグリセリドに脂肪酸アルカリ塩を加え、水に対する親和力を増したものを自己乳化型モノグリセリドと呼ぶ場合がある。ジグリセリドの界面活性剤としての性能は、モノグリセリドの 1/100 である。

モノグリセリドは 2 個の遊離水酸基を持つので、有機酸などと容易に反応して各種誘導体を生成する。酢酸モノグリセリドは、モノグリセリドと無水酢酸又はトリアセチンを反応させ、同様に乳酸モノグリセリド、クエン酸モノグリセリド、コハク酸モノグリセリドは、モノグリセリドに乳酸、クエン酸、コハク酸のそれぞれを反応させて製造する。またジアセチル酒石酸モノグリセリドは、モノグリセリドと無水ジアセチル酒石酸を、ポリグリセリン脂肪酸エステル及びポリグリセリン縮合リシノール酸エステルは、グリセリンを加熱重合したポリグリセリンと脂肪酸又は縮合リシノール酸を反応させて作る。ポリグリセリンの重合度は  $n = 2 \sim 10$  であり、重合度及びエステル化度の相違により各種の誘導体ができる。グリセリン酢酸エステルは、グリセリンと氷酢酸又は無水酢酸との反応で得られる。

**用途** モノグリセリドはレシチンと共に最も古くから広範な用途に用いられており、世界各国においても食品用乳化剤の過半数を占めている。乳化剤は分子中に親水基と親油基を持ち、そのバランスにより水と油の界面に配列して界面張力を下げることにより、乳化、分散、起泡、消泡、可溶化、浸湿その他の機能を持っている。モノグリセリドは油に

溶け、水に溶けにくい親油性界面活性剤である。マーガリンに用いると水の乳化を安定化し、水の分離を防止すると共に、調理に用いたときの水の飛びはね spattering を防止する効果があり、レシチンと共に 0.2 ~ 0.5 % 程度添加される。乳飲料、アイスクリーム、生クリームなどには乳化安定のため o/w 型乳化剤を 0.2 ~ 0.5 % 使用する。アイスクリームなどにこれを用いると、乳脂肪球の凝集を生じさせ、オーバーランを調整する。このため口当たりのよい組織を作り、保型性を増加する効果がある。ケーキ、ビスケットなどには、モノグリセリドの起泡力を利用したケーキ用起泡剤が用いられ、豆腐の製造には消泡力を利用した豆腐用消泡剤が用いられる。またモノグリセリドはデンプン中のアミロース、アミロペクチンと強固な複合体を作り、デンプン粒を保護し、糊化を防ぎ、また老化を防ぐのでデンプン質食品の改質に役立つ。インスタントマッシュポテトには粘着と糊化防止に 0.3 % 程度添加される。パン類では生地機械耐性を良くし、多量生産に耐える生地にすると同時に柔らかいパンを作る。またパンの硬化防止にも役立つ。ケーキ、マカロニ、スパゲティー、めん類にも同様の目的で用いられる。その他チューインガム、あめ菓子、各種ねり製品など種々の食品に広く用いられている。

他方、モノグリセリド誘導体は次のような特色を持ち、それぞれの領域で利用されている。すなわち酢酸モノグリセリドは油脂に起泡性を与えたり、ガスの透過しにくい薄くて柔軟なフィルムを作る性質があるので、食品の可食性コーティング剤として用いられる。乳酸モノグリセリドは起泡力が強く、保存性もあるのでケーキ用乳化剤として好適である。クエン酸モノグリセリドは、親水性で耐酸性の o/w 型乳化剤であり、酸化防止剤のシナージストとしての需要がある。コハク酸モノグリセリドとジアセチル酒石酸モノグリセリドは、パン生地を改良する生地調整剤として開発されたもので、パン用に用いられるほか親水性の乳化剤としても使われている。ポリグリセリン脂肪酸エステルは、グリセリンの重合度、脂肪酸の種類、エステル化度により、親油性から親水性乳化剤まで幅広い各種製品がある。ポリグリセリン縮合リシノール酸エステルは親水性乳化剤として、粘度低下の目的でチョコレート類に使われている。グリセリン酢酸エステルは、可塑剤や溶剤として用いられる。本品には使用基準が設けられていない。なお、モノグリセリドとその誘導体の HLB と ADI を次表に示す。

| 乳 化 剤                   | HLB       | ADI (mg/kg) |
|-------------------------|-----------|-------------|
| モノグリセリド                 | 3 ～ 5     | 制限しない       |
| 酢酸モノグリセリド               | 2.5 ～ 3.5 | 〃           |
| 乳酸モノグリセリド               | 3 ～ 4     | 〃           |
| クエン酸モノグリセリド             | 9         | 〃           |
| コハク酸モノグリセリド             | 5 ～ 7     | —           |
| ジアセチル酒石酸モノグリセリド         | 8 ～ 10    | 0 ～ 50      |
| ポリグリセリンエステル             | 2 ～ 16    | 0 ～ 25      |
| ポリグリセリン縮合<br>リシノール酸エステル | 3 以下      | 0 ～ 7.5     |

【F/W】の評価は A (1) に分類されている。

【代謝】 食品中の脂肪は主としてトリグリセリドであるが、膵液のリパーゼでモノ、ジグリセリドに変わり腸管上皮内に取り込まれ吸収されるが、この過程で再びトリグリセリドに変換する。ジグリセリドはモノ及びトリグリセリドに組織内で変わり、モノグリセリドもジ及びトリグリセリド合成に利用されるが、グリセリンと脂肪酸に容易に代謝されることは少ない。長鎖脂肪酸の不飽和型のトリグリセリドは血漿コレステロールレベルを低下させ、飽和脂肪酸型のトリグリセリドの大量摂取は消化もおそく、血中コレステロール値の上昇を起こす [Frager, A. C. : *Chem. & Ind.* 1438 (1962)]。

【毒性】 実際に適用しうる量では急性毒性の発現は見られない。

#### 亜急性毒性

飼料にグリセリンモノステアリン酸エステルを 5, 10 及び 15 % 添加し、ハムスターに 22 ～ 28 週間与えた。15 % レベルでは若干の体重減少と肝臓の肥大が見られたが、著明な病理学的変化は観察されなかった [Orten, J. M., Dajani, R. N. : *Fd. Res.* 22, 529 (1957)]。

#### 慢性毒性

唯一の脂肪源としてグリセリン脂肪酸エステルを飼料に 15 及び 25 % 添加し、ラットに 3 世代にわたり与えた。各世代に初期体重増加の異常は見られず、生殖及び乳汁分泌期間も正常であった [Ames, S. R., et al. : *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 28, 31 (1951)]。また 2 年間にわたりラットにグリセリンモノステアリン酸エステルを飼料に 25 % 添加して与えた。体重増加及び生存率に悪影響は見られなかったが、肝臓の重量増加と腎臓の石灰化が観察された [Fitzhugh, O. G., et al. : *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1, 315 (1959)]。

ラウリン酸グリセリド混合物 (40 % モノラウリン, 45 % ジラウリン, 15 % トリラウリン) を 2 年間飼料に 25 % 添加してラットに与えたが、ラウリン酸グリセリドに起因すると考えられる組織病理学的変化は認められなかった [Fitzhugh, O. G., et al. : *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2, 59 (1960)]。

モノ、ジグリセリドは通常の食事にも含まれ、毎日摂取されている。また、脂肪含有

食物の消化吸収中にトリグリセリドからも作られる。特にモノ、ジグリセリドに関連した有害な結果は認められない〔WHO Fd. Add. Ser. No. 5, 238 (1974)〕。

## グリセロリン酸カルシウム

### Calcium Glycerophosphate

$C_3H_7CaO_6P$

分子量 210.14

[27214-00-2]

含 量 本品を乾燥物換算したものは、グリセロリン酸カルシウム ( $C_3H_7CaO_6P$ ) 98.0 % 以上を含む。

性 状 本品は、白色の粉末で、においがなく、わずかに苦味がある。(注1)

確認試験 本品 1 g に 5°C 以下の水 10 ml を加え、よく振り混ぜ、検液とする。(注2)

(1) 検液を煮沸するとき、白色の結晶を析出する。(注3)

(2) 検液 3 ml に酢酸鉛試液 2 ~ 3 滴を加えるとき、白色の凝乳状の沈殿を生じ、これに硝酸 3 ml を追加するとき、沈殿は溶ける。(注4)

(3) 検液は、カルシウム塩の反応及びグリセロリン酸塩の反応を呈する。

純度試験 (1) 溶状 わずかに微濁 (1.0 g, 水 50 ml) (注5)

(2) エタノール可溶物 1.0 % 以下

本品 1.0 g を量り、無水エタノール 25 ml を加えて振り混ぜてろ過する。ろ液を水浴上で蒸発し、残留物を 60°C で 1 時間乾燥し、その重量を量る。(注6)

(3) 遊離アルカリ 本品 1.0 g を量り、水 60 ml を加えて溶かし、フェノールフタレイン試液 5 滴を加えて 0.05 mol/l 硫酸で滴定するとき、その消費量は、1.5 ml 以下である。(注7)

(4) 塩化物 Cl として 0.071 % 以下 (0.25 g, 比較液 0.01 mol/l 塩酸 0.50 ml)

(5) 硫酸塩  $SO_4$  として 0.048 % 以下 (0.50 g, 比較液 0.005 mol/l 硫酸 0.50 ml)

(6) リン酸塩  $PO_4$  として 0.040 % 以下

本品 1.0 g を量り、硝酸 (1 → 10) 10 ml を加えて溶かし、冷モリブデン酸アンモニウム試液 10 ml を加えて 10 分間放置するとき、その液の濁度は、次の比較液の濁度より濃くない。比較液は、リン酸一カリウム 0.192 g を量り、水 100 ml を加えて溶かし、この液 3.0 ml を量り、硝酸 (1 → 10) を加えて 100 ml とする。この液 10 ml を量り、冷モリブデン酸アンモニウム試液 10 ml を加えて 10 分間放置する。(注8)

(7) 重金属 Pb として 20 µg/g 以下