

米由来ポリアミン溶液

本品は、イネ *Oryza sativa* Linné (*Gramineae*) の胚芽からクエン酸水溶液で抽出して得られた抽出物に1,3-ブチレングリコールを加えた水溶性溶液である。本品は、定量するとき、ポリアミンを0.004 %以上含む。

製造方法

イネ *Oryza sativa* Linné (*Gramineae*)の胚芽にクエン酸水溶液を加えて抽出した後、得られた抽出物にクエン酸ナトリウムを溶解した精製水を加え、さらに1,3-ブチレングリコールを加え、混合し、ろ過して製品とする。

原料 米胚芽1 kg → 製品 約5～6 kg

性状

本品は淡黄色の液体で、わずかに特異なおいがある。

純度試験

・ 重金属

本品 1.0 g をとり、第 2 法により操作し、試験を行うとき、その限度は、10 ppm 以下である。ただし、比較液には、鉛標準液 1.0 mL をとる。

・ ヒ素

本品 1.0 g をとり、第 3 法により試料溶液を調製し、試験を行うとき、その限度は、1 ppm 以下である。

定量法

ポリアミン

ポリアミンはガラスと結合する性質を持つため、ポリアミンを含んだ試料を直接扱う器具はポリプロピレン製を使用すること。プトレスシン(和光純薬、1級)、スペルミジン(和光純薬、生化学用)、スペルミン(和光純薬、試薬用)をそれぞれ0.1 mol/L塩酸[K8180、特級]で溶解し、120 μMに調製する。それぞれの溶液を等量ずつ混合し、ポリアミン標準溶液とする(プトレスシン、スペルミジン、スペルミンはそれぞれ最終濃度40 μM)。本品2 gを精密に量りとり、水を加えて溶解し、正確に5 gとし、分析試料溶液とする。1,7-ヘプタンジアミン(和光純薬、生化学用) 0.013 gに0.1 mol/L塩酸を加えて溶解し、0.05 mMに調製し、内部標準液とする(0.05 mM 1,7-ヘプタンジアミン溶液)。炭酸ナトリウム十水和物 [K8624、特級] 約125 gに水 50 mLを加えて60°Cに加温して溶解し、飽和炭酸ナトリウム溶液とする。ダンシルクロライド(和光純薬、生化学用) 0.03 gにアセトン[K8034、特級] 3 mLを加えて溶解し、1 w/v % ダンシルクロライド溶液とする。L-プロリン[K9107、特級] 1.0 gに水を10 mL加えて溶解し、10 w/v% プロリン溶液とする。

水360 μL、ポリアミン標準溶液または分析試料溶液20 μL、内部標準液20 μL、飽和炭酸ナトリウム溶液200 μL、ダンシルクロライド溶液200 μLを合わせ、5分間よく混合する。直ちに60°C(±1°C)にて1時間(±3分)水浴で

遮光しながら加温する。1時間加温後、遮光にて室温で10～12分間放冷する。放冷後、プロリン溶液200 μLを加え、遮光しながらよく混合する。直ちに60°C(±1°C)にて30分間(±2分)水浴で遮光しながら加温する。30分加温後、遮光にて室温で10～12分間放冷する。この溶液をラベル化溶液とする。

ラベル化溶液を30°Cで加温し、窒素ガス[Z3253:F1] を3分間当ててアセトン除去する。アセトン除去後、トルエン [K8680、特級] 600 μLを加え、20分間よく混合する。室温(22～24°C)、10,000 ppmで1分間遠心し、上層のトルエン層を丁寧に500 μL採取する。採取したトルエン層を30°Cで遮光しながら加温し、窒素ガスを30～40分間当ててトルエンを完全に除去する。トルエン除去後、メタノール[K8891、特級] 300 μLを加え、よく混合・溶解する。

前記の前処理を行ったポリアミン標準溶液、分析試料溶液それぞれ10 μLにつき、次の条件で液体クロマトグラフィーにより試験を行う。分析試料溶液及び標準溶液から得たピーク高さから本品中に含まれる各ポリアミン含量を求め、その質量百分率を算出するとき、その合計は0.004%以上である。

計算方法

(i) 標準溶液中のプトレスシン、スペルミジン、スペルミンの面積係数を次式で算出する(n=3)。

$$\text{プトレスシン面積係数} = (RS_1 / RC_1) / (IRS / IRC)$$

$$\text{スペルミジン面積係数} = (RS_2 / RC_2) / (IRS / IRC)$$

$$\text{スペルミン面積係数} = (RS_3 / RC_3) / (IRS / IRC)$$

RS_1 : 標準溶液中のプトレスシンの面積値

RS_2 : 標準溶液中のスペルミジンの面積値

RS_3 : 標準溶液中のスペルミンの面積値

IRS : 内部標準液の面積値

RC_1 : 標準溶液中のプトレスシンの濃度(nmol/mL)

RC_2 : 標準溶液中のスペルミジンの濃度(nmol/mL)

RC_3 : 標準溶液中のスペルミンの濃度(nmol/mL)

IRC : 標準溶液中の内部標準液の濃度(nmol/mL)

(ii) 分析試料溶液中のプトレスシン、スペルミジン、スペルミンの面積比を次式で算出する。

$$\text{プトレスシンと内部標準液の面積比} = TS_1 / ITS$$

$$\text{スペルミジンと内部標準液の面積比} = TS_2 / ITS$$

$$\text{スペルミンと内部標準液の面積比} = TS_3 / ITS$$

TS_1 : 分析試料溶液中のプトレスシンの面積値

TS_2 : 分析試料溶液中のスペルミジンの面積値

TS_3 : 分析試料溶液中のスペルミンの面積値

ITS : 分析試料溶液中の内部標準液の面積値

(iii) 分析試料溶液中のプトレスシン、スペルミジン、スペルミンのモル濃度(nmol/mL)を次式で算出する。

プトレスシンのモル濃度(nmol/mL) = $B_1 \times A_1 \times C$

スペルミジンのモル濃度(nmol/mL) = $B_2 \times A_2 \times C$

スペルミンのモル濃度(nmol/mL) = $B_3 \times A_3 \times C$

A_1 : プトレスシンの面積係数

A_2 : スペルミジンの面積係数

A_3 : スペルミンの面積係数

B_1 : プトレスシンの面積比

B_2 : スペルミジンの面積比

B_3 : スペルミンの面積比

C : 分析試料溶液中の内部標準物質濃度(nmol/mL)

(iv) 分析試料溶液中のポリアミン含量の質量百分率を次式で算出する。

(分子量 プトレスシン: 88.15、スペルミジン: 145.25、スペルミン: 202.34)

ポリアミン含量(%)

$$= M_R \times [(D_1 \times 88.15) + (D_2 \times 145.25) + (D_3 \times 202.34)] / M_S \times 10^{-6} \times 100$$

M_R : 分析試料溶の液量(g)

M_S : 秤量した分析試料量(g)

D_1 : プトレスシンのモル濃度(nmol/mL)

D_2 : スペルミジンのモル濃度(nmol/mL)

D_3 : スペルミンのモル濃度(nmol/mL)

試験条件

検出器 : 蛍光検出器(励起波長 365 nm、蛍光波長 510 nm)

カラム : 内径 4.6 mm、長さ 25 cm のステンレス管に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充てんする。

カラム温度 : 40°C

移動相 : A 液:水、 B 液:メタノール

グラジエント条件 :

時間(分)	0.00	23.00	23.01	33.00	33.01	43.00
A 液(%)	40	5	0	0	40	40
B 液(%)	60	95	100	100	60	60

各保持時間は、プトレスシンは約 12 分、内部標準は約 15 分、スペルミジンは約 18 分、スペルミンは約 22 分である。

流量 : 1.5 mL/min

衛生試験法 一般生菌試験法に従い、試料原液を希釈液で 10 倍希釈し試験を行うとき、一般生菌数は 1×10^2 個/g 以下である。

真菌数

衛生試験法 真菌一般試験法に従い、試料原液を希釈液で 10 倍希釈し試験を行うとき、真菌数は 1×10^2 個/g 以下である。

大腸菌群

衛生試験法 大腸菌群試験法に従い、上記一般生菌数で使用した 10 倍希釈液 1mL を試料溶液とし試験を行うとき、大腸菌群は陰性である。

この規格及び試験方法において、別に規定するものの他は、外原規 通則及び一般試験法を準用するものとする。

製品名：オリザポリアミン-LC(BG30) 製造業者：オリザ油化株式会社 愛知県一宮市北方町沼田 1
--

発行日：2016 年 1 月 13 日

改訂日：2016 年 1 月 27 日