

資料 1

平成14年7月19日

毒性部会長 黒川 雄二 殿

添加物部会長 山崎 幹夫 殿

食品添加物調査会

座長 廣瀬 雅雄

食品添加物の指定に関する調査会報告について

平成13年5月14日付厚生労働省発第119号をもって厚生労働大臣から諮問されたビオチンの指定について、食品添加物調査会において、審議を行った結果を別添のとおりまとめたのでこれを報告する。

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
添加物部会食品添加物調査会

1.開催年月日

平成13年 6月15日

平成13年 8月 7日

平成13年10月12日

平成14年 2月18日

平成14年 5月21日

2.委員名簿

氏名	所属
石綿 肇	国立医薬品食品衛生研究所大阪支所生物試験部長（～平成14年3月まで）
鈴木 勝士	日本獣医畜産大学生理学教授
関田 清司	国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター毒性部第二室長
出川 雅邦	静岡県立大学薬学部衛生化学教室教授
中澤 裕之	星薬科大学分析化学教室教授
林 眞	国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター変異遺伝部長
廣瀬 明彦	国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター総合評価研究室主任研究官
○ 廣瀬 雅雄	国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター病理部長
福島 昭治	大阪市立大学医学部長
山崎 壮	国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部第二室長（平成14年4月～）
吉池 信男	独立行政法人国立健康・栄養研究所研究企画・評価主幹

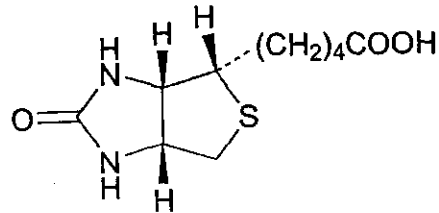
(○:調査会座長、合計11名)

ビオチンの指定について (案)

1. 品目名：ビオチン

2. 分子式及び分子量

構造式：



分子式及び分子量： $C_{10}H_{16}N_2O_3S$ 244.31

3. 用途:強化剤

4. 起源又は発見の経緯及び使用状況等について

本品は、L-トリメタファンとマロン酸ジエチルを縮合反応させ、臭化水素酸処理によりベンジル基を脱離後、ケン化により脱炭酸して得られる合成ビオチンである。

ビオチンはビタミンH、補酵素Rとも言われ、酵母の増殖に必要な因子であるビオスの一成分として最初に卵黄から分離されたビタミンB群の一種である。諸外国においては、米国ではビオチンはGRAS物質として位置づけられており、栄養成分として一般食品への添加が認められている。また、サプリメントに対する本品の使用は、食品・食品成分の扱いとされている。EUでは、ビオチンを含む栄養強化剤は添加物の範疇に含まれておらず、食品・食品成分として扱われている。

我が国では、ビオチンは、日本薬局方外医薬品規格に収載され、一般用医薬品及び医療用医薬品に使用されており、一般用医薬品ではビタミンB₂主薬製剤及びビタミンB₆主薬製剤等に、医療用医薬品においては、ビタミンの散剤やシロップ、他のビタミンとの配合剤等の他、たんぱくアミノ酸製剤(経腸成分栄養剤)、総合ビタミン剤(高カロリー輸液用)にも配合されている。

また、平成13年3月27日付け医薬発第243号厚生労働省医薬局長通知により、ビオチンは医薬品的効能効果を標ぼうしない限り食品等と認められる成分本質として位置づけられているところであるが、平成13年6月28日付け食基発第20号厚生労働省医薬局食品保健部基準課長通知等により、食品へ添加する場合にあっては、食品添加物としての指定を要することを明確にしているところであり、日本ロシュより食

品添加物としての指定要請がなされたものである。

5. 有効性／必要性について

(1) 栄養素としての機能

ビオチンは、哺乳動物において、カルボキシラーゼの補酵素として炭素固定反応や炭素転移反応に不可欠であり、脂肪酸の生合成や糖新生、アミノ酸代謝等に深く関与している。

ビオチン欠乏時の臨床症状としては、結膜炎、剥離性皮膚炎、皮膚や粘膜の灰色退色及び落屑、筋肉痛、疲労感などがみられ、それに伴う血糖値の上昇や生殖機能や酵素活性への影響等も報告されている。また、幼児の Leiner 病(落屑性紅皮症)もビオチンの代謝障害と関係があると考えられている。

(2) 必要性

ビオチンは、レバー、魚肉、ナッツ類等の天然の食品中にも含まれているが、調理過程で消失しやすいこと、また、食物中のビオチンは主にタンパクと結合した状態で存在しているため、生体内に吸収するためにはビオチニダーゼにより加水分解される必要があることなどから、天然食品からの摂取のみではビオチンが充足できていない可能性がある。

また、第六次改定の「日本人の栄養所要量」において新たに所要量が設定され、さらに、平成13年3月27日付食新発第17号通知「保健機能制度の創設に伴う取扱い及び改正等について」において、栄養機能食品として機能に関する表示を行うことができる栄養成分と位置づけられるなど、ビオチンの栄養素としての必要性は一般的に認識されているものと考えられる。

上記を含め別紙1に示した試験成績が提出されている。

6. 安全性について

(1) 動物実験結果について

(ア) 単回投与毒性試験

マウスに10g/kgの用量で経口投与した試験においては、LD₅₀は10g/kg以上であった。

マウスに1g/kgの用量で単回静脈内投与した試験においては、毒性症状の発現は認められなかった。

(イ) 反復投与毒性試験

7週齢群及び14週齢群のマウス(各群10~15匹)に、d-又はd l-ビオチンを各々1日1mgの用量で、また対照として生理食塩水0.2mlを60日間連日経口投与した試験においては、各群ともに投与に起因する影響は認められなかった。

平均体重141gのラット雄5匹に、d-ビオチンを1日50mgの用量で10日間経口投与した試験においては、毒性症状は認められず、赤血球数、

白血球数及びヘモグロビン量、また剖検時の肉眼的所見においても投与による影響はみられなかった。

ラット雄各群5匹に、d-又はd 1-ビオチンを各々1日5mgの用量で、また対照として生理食塩水1mlを120日間連日経口投与した試験では、試験終了時の平均体重において、対照群に比べd 1-ビオチン群で48g、d-ビオチン群で35gの減少が認められたが、その他の一般症状、血液学的検査等においては投与に起因する影響はみられなかった。

体重6~10.8kgのイヌ4匹に、d-ビオチンを1日10mgの用量で10日間静脈内投与した試験においては、一般症状、体重、尿検査及び血球数等について、投与による影響はみられなかった。また、1匹を剖検した結果、肉眼的所見において組織の変化は認められなかった。

(ウ) 変異原性試験

微生物 (*Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 及び *Escherichia coli* WP2 *uvrA*) を用いた復帰突然変異試験においては、d-ビオチンは33.3、100.0、333.3、1000.0、3333.3及び10000.0 μ g/プレートの用量において、変異原性を示さなかった。

L5178Yマウスリンフォーマ細胞を用いた突然変異試験では、ビオチンは0.5、0.9、1.3、1.7、2.1及び2.5mg/mlの用量において、代謝活性の有無にかかわらず、変異原性を示さなかった。更に、代謝活性系において、1.5、1.7、1.9、2.1、2.3、2.5mg/mlの用量で試験した場合においても、突然変異の誘発は認められなかった。

(2) 体内動態について

ラット6匹に、D-カルボニル-¹⁴Cビオチンを54pmol/gの用量で投与した試験では、全放射活性の98%以上が尿中に排泄された。尿中全放射活性の90%以上が、ビオチン、ビスノルビオチン、及び硫酸ビオチンであり、投与後24時間では、未変化体ビオチンが全放射活性の51%、ビスノルビオチンが29%、硫酸ビオチンが10%であった。これらとヒト10検体から得られたデータを比較した場合、両者の代謝プロファイルは類似していた。

ラットに、ウレイド基をラベルした¹⁴Cビオチンを13.5 μ gの用量で腹腔内投与した試験では、投与後3日間での総排泄量は全放射活性の87%であり、そのうち約85%が投与後24時間以内に尿中に排泄された。糞中からは投与後3日間で全放射活性の約7%が回収され、また、投与3~6日後で、肝臓に約5~8%の放射活性が残存していた。その他の臓器では放射活性の残存はわずかであるか、あるいは検出されなかった。

雄のラットに、ウレイド基をラベルした¹⁴Cビオチンを5、40 μ g/kg又は10mg/kgの用量で腹腔内投与した試験では、投与後24時間以内で投与量のほぼ100%が排泄され、そのうち90%以上が投与後12時間以内に尿中に排泄された。呼気及び糞中からは放射活性はほとんど検出されなかった。

通常食あるいはビオチン欠乏食を摂取した雄ラットから単離した肝臓を用いて d- [8,9-³H(N)] ビオチンの取り込みを検討した試験においては、ビオチン欠乏食を摂取したラットから得られた細胞においては、ビオチンの取り込みの減少が認められた。ビオチンの取り込みは著しく温度の影響を受けた。また、³H-ビオチンの取り込みはナトリウムイオン濃度に依存しており、acid-anion キャリアーによって促進された。

ヒトとラットにおいて、ビオチンの総排泄量は摂取量よりも多く、これは結腸内微生物によりビオチンが生合成されているためと考えられた。

また、ビオチンの吸収に関してはいくつかの文献報告がなされており、ヒト及びラットにおけるビオチンの主要吸収部位は近位、中位小腸であり、ビオチンが高濃度に存在する場合には単純拡散により吸収されるが、低濃度の場合には輸送担体を介して吸収されると報告されている。

以上のような試験成績等を基に、ほ乳動物では、ビオチンは以下のような生体内挙動を示すと考えられている。

食品中のビオチンはそのほとんどがタンパクと共有結合しており、生体内に吸収するためには遊離型ビオチンに加水分解される必要があり、腠液中の消化酵素による分解を経て、最終的にビオチニダーゼにより遊離型に分解される。ビオチンの吸収は主に空腸で行われ、高濃度の場合には単純拡散であるが、低濃度の場合には輸送担体を介して能動的に吸収される。血中に移行したビオチンはビオチニダーゼに結合し、各細胞に供給される。肝臓では拡散と特殊な担体仲介系により取り込まれ、その後ビオチニダーゼを介した回路により効率的に再利用されている。腎臓では糸球体において遊離型ビオチンとしてろ過され、排泄されるが、その一部は近位尿管で再吸収され再利用される。

(3) ヒトにおける臨床試験成績について (医薬品としての臨床試験)

(ア) 皮膚科での臨床試験

皮膚科の患者を対象とした臨床試験において、ビオチンを 60mg/日の用量で3週間経口投与した症例、及び 100mg/日の用量で3週間筋肉内投与した症例では、副作用は認められなかった。

皮膚症状がみられる3ヶ月齢以下の乳児30例を対象とした臨床試験においては、ビオチンを2~6mg/日の用量で7~28日間経口投与した9例、5mg/日の用量で5~17日間筋肉内投与した15例、及び投与回数を減らして経口投与と筋肉内投与を併用した6例において、副作用はみられず、大部分の症例において皮膚症状の改善が認められた。

(イ) 爪異常症に対する臨床試験

18~48歳の爪異常症の患者5例に、ビオチンを120mg/日の用量で40日間経口投与した臨床試験においては、副作用はみられず、症状の一部に緩

解が認められた。

(ウ) 禿頭症に対する臨床試験

17～51歳の禿頭症の成人女性患者28例に、ビオチンを10mg/日の用量で28日間経口投与した臨床試験においては、毛根の状態や皮脂分泌量には特段の影響はみられなかったが、副作用も認められなかった。

上記を含め別紙1に示した試験成績が提出されている。

調査会においては、安全性に関して提出された資料の多くは、非常に古く、試験内容の詳細が示されていない等、当該資料のみをもって毒性学的な評価を行うことは困難であることを指摘した。ただし、ビオチンは、1) 海外において食品成分等として食品に広く用いられていること、2) 我が国においても長期服用も含めた一般用医薬品等としての使用経験も長く、これまでに副作用の報告はほとんどなされていないこと、及び3) ビオチンは水溶性のビタミンB群に属し、基本的には長期投与による蓄積性はないと考えられることから、ビオチンの安全性については基本的に問題はないと考えられた。しかしながら、食品添加物としての使用においては、医薬品の場合とは異なり、食品の長期摂取に起因する特に発がん性の発現が最大の懸念点と考えられることから、この点をさらに補完するために、少なくとも哺乳動物の培養細胞を用いた変異原性試験データを示す必要があると指摘した。この結果、マウスリンフォーマ細胞を用いた突然変異試験成績が追加提出され、上記(3)に示す通り、本試験においては変異原性は認められず、当該結果及び蓄積性等に関する知見を含めた総合的評価として、ビオチンによる長期毒性及び発がん性の発現は考え難いと判断した。

以上より、毒性に関する資料は、他の指定添加物に比べ必ずしも十分とは言えないものの、食品添加物としてのビオチンの安全性については特段の問題ないものと評価した。

7. 一日摂取許容量 (ADI) の設定

ビオチンについては、上記の通り、特段の毒性は確認されていないことから、ADIは設定しなかった。

8. 一日摂取量について

海外における文献では、カナダにおける食事調査では62 μ g/日、米国の若年女性では39.9 μ g/日等と報告されている。

我が国におけるビオチンの摂取量については、これまでに広範囲な調査は実施されておらず、詳細は不明であるが、通常の食生活においては過剰量を摂取することはないと考えられ、栄養強化の目的でビオチンを添加した食品を追加摂取したとしても、使用基準により用途を保健機能食品に限定することにより、過剰な摂取は避けられるものと考えられる。また、仮に過剰量が摂取された場

合でも、上記6. 安全性の項に示す通り、保健衛生上の危害が発現する懸念は少ないものと考えられる。

9. 使用基準（案）について

保健機能食品制度において、ビオチンは、栄養機能食品として機能に関する表示；「ビオチンは、皮膚や粘膜の健康維持を助ける栄養素です。」を行うことができる栄養成分とされており、規格基準としては「上限値 500 μ g、下限値 10 μ g」が設定されている。ビオチンの食品添加物としての使用目的は栄養成分の強化であることから、その主旨上、栄養機能食品としての規格基準の範囲内で使用されることが適当と考えられる。

また、本品については、一般食品用の添加物として指定するためにはデータが不足しているため、「保健機能食品であって、カプセル、錠剤等通常の食品形態でない食品の成分となる物質の指定及び使用基準改正に関する指針について」に基づき、指定要請がなされている。しかしながら、上記6. 安全性の項に示す通り、安全性に特段の問題はないと考えられ、更に保健機能食品の範囲内で常識的な使い方をする場合においては、その安全性は十分に確保できると考えられることから、剤型をカプセル、錠剤等に限定するまでの必要性は低いと判断した。

従って、ビオチンの使用基準については、下記のとおり設定することが適切であると考えられる。

ビオチンは、保健機能食品以外の食品に使用してはならない。

10. 成分規格

成分規格は、日本薬局方外医薬品規格を参考に、別紙2のとおり設定することが適切である。

別紙 1

添付資料一覧

資料 番号	題名	出典	年号
1	Über das Bios-Problem. Darstellung von Krystallisiertem Biotin aus Eigelb	Z. Physiol.	1936, Vol.242
2	A FURTHER NOTE ON THE IDENTITY OF VITAMIN H WITH BIOTIN	SCIENCE	December 27, 1940
3	日本薬局方外医薬品規格	(財) 日本公定書協会	1997
4	化粧品原料基準 第二版	薬事日報社	1982
5	飼料添加物の成分規格等収載書 第 10 版	(社) 日本科学飼料協会	2000
6	§ 182.5159 Biotin	Code federal regulation	1987
	米国の食品添加物及び着色料	食品添加物マニュアル	1997
7	一般薬 日本医薬品集	(財) 日本医薬情報セン ター 編	2000
7-1	薬発第 90 号 ビタミン主薬製剤製 造 (輸入) 承認基準について	厚生省薬務局長通知	1988
7-2	ビタミン主薬製剤製造 (輸入) 承 認基準: 有効成分表/配合ルール表	医薬品製造指針	1992
8	医療薬 日本医薬品集	(財) 日本医薬情報センタ ー 編	2000
9	D-Biotin Manufacturing principle	F. Hoffmann-La Roche LTD.	1972
9-1	試験成績書	ロシュ・ビタミン・ジャ パン (株)	2000~2001
9-2	確認試験: スペクトルチャート	ロシュ・ビタミン・ジャ パン (株)	2001
10	d-Biotin Pure, Stability data	製造元資料	1998
	第 7 版 食品添加物公定書	日本食品添加物協会	1999
11	THE MERCK INDEX	MERCK & CO., Inc.	1989
12	ビオチン 定量	ビタミンの事典	1996
13	ビオチン	最新栄養学 第 7 版	1997
14	ビオチン	新・食品分析法	1996
15	食品中ビオチンの定量法の検討	(財) 日本食品分析セン ター	1993
15-1	ビオチンの微生物定量法	食新発第 17 号	2001

16	日本薬局方外医薬品規格	(財) 日本公定書協会	1997
17	ビオチン	最新栄養学 第7版	1997
18	Human Biotin Deficiency	The Ame. J. Cli. Nut.	1968, Vol.21
19	OBSERVATION ON THE "EGG WHITE INJURY" IN MAN	JAMA	1942, Vol.118
20	ビオチン欠乏症の生殖生理機能へ及ぼす影響	ビタミン	1990, Vol.64
21	ビオチン欠乏妊娠マウスにおけるビオチン量およびビオチンダーゼ活性の変動	ビタミン	1994, Vol.68
22	Die Biotinausscheidung im Harn Bei hautgesunden und Hautkranken Kindern	Int. Z. Vitaminforsch	1950, Vol.22
23	調整粉乳における食品添加物としてのビオチン添加の重要性	JJPEN	1998, Vol.20
24	人工栄養児における血清および尿中ビオチン量とビオチン摂取量に関する研究	平成9年度特殊シロ改良開発部会、第一部会共同研究報告	1997
25	CODEX COMMITTEE ON NUTRITION AND FOODS FOR SPECIAL DIETARY USES	Codex alimentarius commission	1998
26	先天性ビオチン代謝異常	代謝	1990, Vol.27
27	ビオチン欠乏の関連する疾患	医学のあゆみ	1995, Vol.175
28	ビオチン	最新栄養学 第7版	1997
29	BIOTIN BIOASSAY	Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.	1980, Vol.6
30	B-Complex Vitamin Content of Cheddar Cheese	J. Nutrition	1965, Vol.86
31	BIOTIN CONTENT OF MEAT AND MEAT PRODUCTS	J. Nutrition	1943, Vol.26
32	EFFECT OF PROCESSING ON NUTRITIVE VALUE OF FOOD	Handbook of Nutritive Value of Processed Food	1982
33	Stability Data	F. Hoffmann-La Roche LTD.	2000
34	ビオチン 結合物質	ビタミンの事典	1996
35	ビオチンの安全性に関する文献調査	化学物質の安全性調査 (化学工業日報社)	1982
35-1	Morphological and biochemical effects of excessive amounts of biotin on embryonic development in mice	Experientia	1996, Vol. 52
35-2	ビタミンを摂りすぎると	からだの科学	

35-3	EFFECTS OF AN ACUTE DOSE OF BIOTIN ON THE REPRODUCTIVE ORGANS OF THE FEMALE RAT	Curr. Sci.	1973, Vol. 42
36	Effect of Biotin on Certain physiological Functions	Proc. Soc. Exp. Biol. Med.	1942
37	STUDY ON THE PHARMACOLOGY OF BIOTIN	Arch. pharmacodyn Int.	1948
38	総括研究報告書	(財) 日本公定書協会	1997
39	Biotin	HANDBOOK OF VITAMINS(2 nd Edition)	1991
40	The role of Biotin in monitoring the toxicity of chemicals to the Ames tester strains	OEFZS Ber. Nr. 4103	1981
	(d)-Biotin:toxicity in laboratory animals and tolerance in human beings	R+D MEMORANDUM No. B-102347	1990
40-1	Bacterial mutagenicity testing of 49 food ingredients gives very few positive results	Mutation Research	1991, Vol.260
40-2	Microbial Mutagenesis Testing of Substances ; Compound Report : F76-041, D-biotin	SRI International	1979
40-3	ビオチンの L5178Y マウスリンフォーマ細胞を用いる突然変異試験	(財) 食品薬品安全センター 秦野研究所 ロシュ・ビタミン・ジャパン (株) 委託	2002
41	ビオチン	最新栄養学 [第7版]	1997
42	ビオチン回路	ビタミンの事典	1996
43	哺乳動物におけるビオチン回路の意義とその役割	ビタミン	1991, Vol.65
44	ビオチンの代謝	代謝	1990, Vol.27
45	実験的肝障害時におけるビオチン代謝	ビタミン	1958, Vol.14
46	実験的糖尿病のビオチン代謝	ビタミン	1958, Vol.14
47	Biotin : Metabolism and Physiology	A Guide to the Vitamins	1975, Vol.133
48	The Absorption of Some B-Group Vitamins by Surviving Rat Intestine Preparations	Quart. J. Exptl. Physiol.	1962, Vol.47

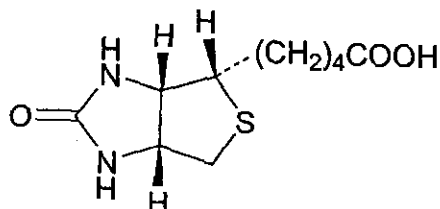
49	Tissue and Intracellular Distribution of Biotin-“COOH” in Rat and Chicks	J. Biol. Chem.	1963, Vol.238
50	Biotin : 7.2. Degradation	Prog. Fd. Nutr. Sei.	1977, Vol.2
51	Metabolism of Carbonyl-labeled ¹⁴ C-Biotin in the Rat	J. nutrition	1972, Vol.102
52	Metabolism, in the Rat, of Biotin Injected Intraperitoneally as a Avidin-Biotin Complex	Proc. Soc. Exp. Biol. Med.	1973, Vol.142
53	Urinary Excretion of Biotin and Metabolites in the Rat (要約)	Proc. Soc. Exp. Biol. Med.	1973, Vol.142
54	Urinary Excretion of Biotin and Mmetabolism in the rat	Proc. Soc. Exp. Biol. Med.	1973, Vol.142
55	Biotin	PHARMACOLOGY OF MICRONUTRIENTS	1988
56	Biotin : The Nail Strengtheners		
	*Brittle Nails : Response to Daily Biotin Supplementation	THERAPEUTICS FOR THE CLINICIAN	1993, Vol.51
	*Treatment of brittle fingernails and onychoschizia with biotin : Scanning electron microscopy	J.of the American Academy of Dermatology	1990, Vol23
	*Biotin	SCIENTIFIC LITERATURE REVIEW	1997
57	Dermatite seborrhoide et Biotine	Intern. Z. Vitaminforsh	1957, Vol.28
58	ビオチン 所要量	第六次改訂 日本人の栄養所要量 食事摂取基準	1999
58-1	ビタミンの分類	三訂 ビタミン	1980
59	年齢階級別 食品群別摂取量	平成 11 年国民栄養調査結果の概要について	1999
60	食品中のビオチン含量		
	*Lesser Known Vitamins in Foods	J. of The Amer. Dietetic Association	1961, Vol.31
	*ANALYSIS OF BIOTIN LABELS IN SELECTED FOODS USING A RADIOMETRIC-MICROBIOLOGICAL METHOD	NUTRITION REPORTS INTERNATIONAL	1985, Vol.32

	*Bestimmung des Biotingehalts in Lebensmitteln mit Hilfe eines Proteinbindungsassays	Deut. Lebensmittel-Rundschau	1986, Vol.82
	*BIOTIN CONTENT OF MEAT AND MEAT PRODUCTS	J. Nutrition	1943, Vol.26
	*EFFECT OF PROCESSING ON NUTRITIVE VALUE OF FOOD : MILK AND MILK PRODUCTS	Handbook of Nutritive Value of Processed Foods	1982
	*B-Complex Vitamin Content of Cheddar Cheese	J. Nutrition	1965, Vol.86
61	米国の食品添加物及び着色料	食品添加物マニュアル	1997
62	Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B ₆ , Folate, Vitamin B ₁₂ , Panthothenic Acid, Biotin, and Choline	NATIONAL ACADEMY PRESS	1998

別紙 2

成分規格 (案)

名称 ビオチン

C₁₀H₁₆N₂O₃S 244.31化学名 5-[(3a*S*,4*S*,6a*R*)-hexahydro-2-oxothieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl]pentanoic acid

CAS 番号 58-85-5

含 量 本品を乾燥したものは、ビオチン (C₁₀H₁₆N₂O₃S) 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、におい及び味はない。

確認試験

- (1) 本品のエタノール溶液(1 → 10000) 5 ml に p-ジメチルアミノシンナムアルデヒド試液 1 ml 及び硫酸 3 滴を加えて振り混ぜるとき、液は、だいたい～赤色を呈する。
- (2) 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、3316 cm⁻¹、1708 cm⁻¹、1687 cm⁻¹、1481 cm⁻¹、1320 cm⁻¹ 及び 1274 cm⁻¹ のそれぞれの付近に吸収帯を認める。

純度試験

- (1) 比旋光度 $[\alpha]_D^{20} = + 89 \sim + 93^\circ$ (0.4g、希水酸化ナトリウム試液、20ml、乾燥物換算)
- (2) 溶状 無色、澄明 (1.0 g、0.5mol/l 水酸化ナトリウム試液 10ml)
- (3) 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)
- (4) ヒ素 As₂O₃ として 2.8 μg/g 以下

本品 0.70 g をケルダールフラスコに入れ、硝酸 5 ml 及び硫酸 2 ml を加えて、フラスコの口に小漏斗をのせ、白煙が発生するまで注意して加熱する。冷後、硝酸 2 ml ずつを 2 回加えて加熱し、更に過酸化水素 2 ml ず

つを数回加えて液が無色～微黄色となるまで加熱を続ける。冷後、飽和シュウ酸アンモニウム溶液 2 ml を加え、再び白煙が発生するまで加熱濃縮する。冷後、水を加えて 5ml とし、これを検液とし、装置 B を用いる方法により試験を行う。

(5) 類縁物質

本品 0.10 g を量り、アンモニア水 (7 → 100) を加えて溶かし、正確に 10 ml とし、検液とする。検液 1 ml を正確に量り、アンモニア水 (7 → 100) を加えて正確に 500 ml とし、標準液とする。検液及び標準液 5 μ l につき、n-ブタノール/水/酢酸混液 (5 : 2 : 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、赤色の単一スポットを認めるか、又は他のスポットを認めても標準液から得たスポットより濃くない。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を使用し、展開溶媒の先端が約 10 cm の高さに上昇したとき展開をやめ、風乾し、更に 105 $^{\circ}$ C で 30 分間乾燥した後、p-ジメチルアミノシンナムアルデヒドのエタノール溶液 (1 → 500) と硫酸のエタノール溶液 (1 → 50) の等容量混液を均等に噴霧する。

乾燥減量 0.50 % 以下 (105 $^{\circ}$ C、4 時間)

強熱残分 0.10 % 以下

定量法

本品を乾燥し、その約 0.25 g を精密に量り、0.1 mol/l 水酸化ナトリウム溶液 20 ml を正確に加えて溶かし、過量の水酸化ナトリウムを 0.1 mol/l 塩で滴定する(指示薬：フェノールフタレイン試液 2 滴)。同様の方法で空試験を行う。

0.1 mol/l 水酸化ナトリウム液 1 ml = 24.431 mg $C_{10}H_{16}N_2O_3S$

試薬・試液

- ・ p-ジメチルアミノシンナムアルデヒド試液：4-ジメチルアミノシンナムアルデヒドのエタノール溶液 (1 → 2000) 10ml に、用時、酢酸 1 ml を加える。
- ・ 水酸化ナトリウム試液、希：水酸化ナトリウム 4.3g を新たに煮沸して冷却した水に溶かし、1000ml とする。用時製する(0.1mol/l)。
- ・ 水酸化ナトリウム試液、0.5mol/l：水酸化ナトリウム 22g を水に溶かし、1000ml とする。ポリエチレン瓶に保存する。