

食用着色料の検出限界について

清宮 康子、山口玲子

(健康科学課)

要 旨 日本国内で食品への使用が許可されている 12 種類の食用着色料を含む 14 種類の着色料の検出下限値を薄層クロマトグラフィー (TLC) と高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によって確認した。TLC では、2.5ppm から 25ppm までの範囲内で確認された。HPLC では、赤色 105 号が 1ppm であった他は、全て 0.1ppm であった。

Key Words : 食用着色料, 薄層クロマトグラフィー

1. はじめに

近年、食用に用いられている着色料は、化学合成品であるタール色素から、天然色素へ移行する流れがあるが、天然色素は、タール色素と比較して値段が高いことや同程度の色調を得るには、多量を必要とすることなどから¹⁾化学合成品の着色料を使用している食品が現在でも多く存在する。また、外国では、日本において指定外着色料とされているものの使用を認めている国もあり、輸入食品に指定外着色料が使用されている可能性もある。このようなことを背景に、食品衛生法違反が散見される。

現在、食品における食用着色料の検査は、薄層クロマトグラフィー (TLC) において検出の可能性が示された場合のみ高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を使用して、検出の有無を判断しているが、その検出限界については検討されていなかった。今回、食用着色料の検出限界を知り、行政側により説得力のある情報提供を行うため、食用着色料と、外国で使用が認められているアズルピン S とパテントブルー V について検討を行ったので報告する。

2. 試薬

食用赤色 2 号、食用赤色 3 号、食用赤色 40 号、食用赤色 102 号、食用赤色 104 号、食用赤色 105 号、食用赤色 106 号、食用青色 1 号、食用青色 2 号、食用緑色 3 号、食用黄色 4 号、食用黄色 5 号：食品添加物公定書標準品 (財団法人 日本公定書協会)、アズルピン S：試薬一級 (和光純薬工業株式会社)、パテントブルー V カル

シウム塩：試験研究用 (シグマアルドリッチ)、その他の試薬は、必要に応じて特級、高速液体クロマトグラフ用を使用した。

3. 薄層板

TLC Silica gel 60 20cm×10cm (Merck)

4. 展開溶媒

酢酸エチル：メタノール：28%アンモニア水
(3：1：1)

5. 液体クロマトグラフィー (HPLC) 測定条件

HPLC：日本分光株式会社 JASCO GULLIVER SERIES (ポンプ) PU-980、(検出器) UV-970、(カラムオープン) CO-965、(オートサンプラー) AS-950-10、(データ処理) JASCO-BORWIN
カラム：Mightysil RP-18 GP 150-4.6 (5μm)

カラム温度：40℃

移動相：(A 液) メタノール：アセトニトリル：水＝(3:3:4)の混液に 0.5%となるように酢酸アンモニウムを加える。

(B 液) 0.5%酢酸アンモニウム

A 液・B 液 (1:9) 混液から (10:0) までの直線勾配を 30 分間行い、さらに 10 分間溶出させる。

注入量：20μL 流速：1mL/分

測定波長：赤色系色素 520nm、黄色系色素 450nm、青緑系色素 620nm

6. 方法

TLCは、各着色料を純水で1000ppmに溶解し、赤色3号、赤色105号、緑色3号、黄色5号の等量の混液、赤色106号、赤色40号、黄色4号と純水の等量混合液、赤色2号、赤色102号、赤色104号、青色1号の等量の混液を、作成し、純水で希釈し各着色料の濃度が100ppm、50ppm、25ppm、10ppm、5ppm、2.5ppm、1ppmの溶液を調製した。青色2号については、単独で100ppm、50ppm、25ppm、10ppm、5ppm、2.5ppm、1ppmの溶液を調製した。次に薄層板にそれぞれ0.2μLずつ10回スポットを行った。乾燥させた後、展開溶媒で飽和させたガラス製展開溶媒槽中で溶媒先端が原点から15cmに達するまで展開し、色の確認ができるスポット量の限界を識別した。青色1号は、呈色が遅く、青色2号は退色が早いため、青色2号は他の着色料とは別の薄層板にスポットした。TLCの結果の確認は、4人の検査員で行った。4人全員がスポットを肉眼で確認できる限界の濃度を検出限界濃度とした。

HPLCは、各着色料を1ppm、0.1ppm、0.01ppmに希釈してS/N比が3以上を検出とした。

7. 結果

代表的なTLC展開像を図1に示し、自然光下で確認した結果TLCの検出限界値及びHPLCの検出限界値を表1に示した。HPLCの検出限界は、全てTLCによる検出限界を下回った。HPLCの検出限界は、全てTLCによる検出限界を下回った。なお、赤色104号は、1ppmにおいても254nmの紫外線を照射するとスポットが蛍光を発していた。また、赤色106号は0.5ppmにおいても254nmの紫外線照射下で蛍光を発し、スポットの確認ができた。

8. まとめ

HPLCの検出限界値は、TLCの検出限界値を下回り、HPLCは、確実にTLCの結果を確認できることが分かった。

現在、本研究所の食品検査は、抽出精製後、通常TLCの検査結果から化学合成品の食用着色料の使用が疑われた場合にHPLC測定を実施し、確認を行っている。よって、TLCの検出下限値が本研究所における着色料の検出限界値となる。

赤色104号と赤色106号は、紫外線照射下において蛍光を発することが知られているが、自然光下肉眼でスポットが確認できなかったとしても紫外線を照射し、確認することによって検出限界値が下がり、感度のよい検査をすることができる。紫外線照射下での判

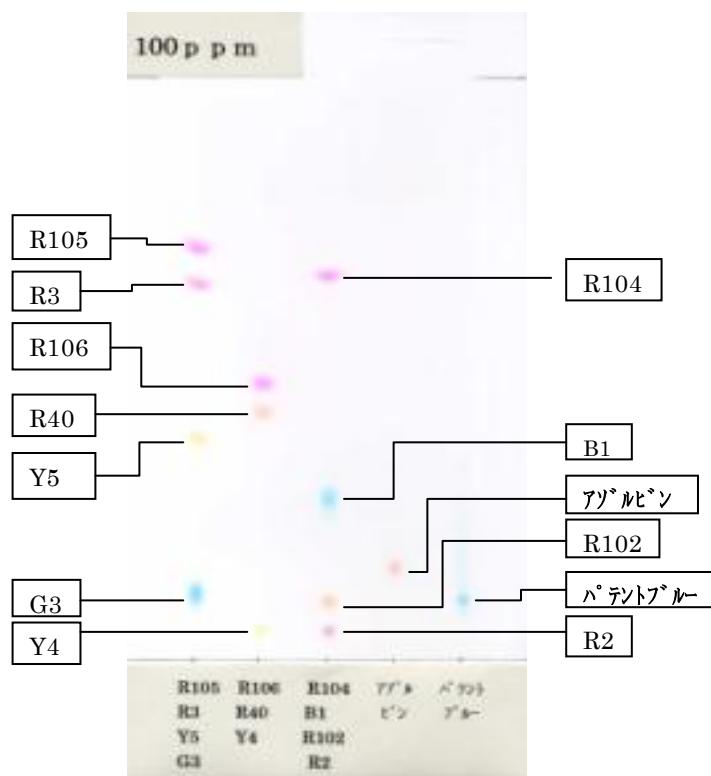


図1 代表的なTLC展開像

表1 各着色料の検出限界

着色料名	TLC	HPLC
	溶液濃度 (ppm)	溶液濃度 (ppm)
赤色2号	10	0.1
赤色3号	5	0.1
赤色40号	25	0.1
赤色102号	10	0.1
赤色104号	2.5	0.1
赤色105号	2.5	1
赤色106号	2.5	0.1
青色1号	5	0.1
青色2号	25	0.1
緑色3号	5	0.1
黄色4号	25	0.1
黄色5号	25	0.1
アゾールビンS	10	0.1
パテントブルーV	10	0.1

注) TLCの検出限界は、自然光下で確認した結果を示した。

定の重要性を再認識した。

文献によれば、食用着色料の使用量は、食品により異なるが概ね、食用赤色 2 号は、10～100ppm、食用赤色 3 号は、2～100ppm、食用赤色 102 号は、2～150ppm、食用赤色 104 号は、5～80ppm、食用赤色 106 号は、2～30ppm、食用青色 1 号は、2～30ppm、食用黄色 4 号は 1～150ppm、食用黄色 5 号は 10～150ppm、食用緑色 3 号は、20～150ppm（外国での使用例）²⁾と示されている。

本研究所で用いている標準作業書に従ってこれらを検査した場合、抽出・精製等で損失がなかったとすると理論的にはほとんど検出をすることができるが、文献²⁾によるデータと比較すると、清涼飲料水に用いられている黄色 4 号については、検出が困難な場合が考えられた。

今回用いた試液は、試薬の水溶液であり、実際に通常行っている検査の試料液には、糖やタンパクなどの夾雑物が多く含まれている。実際の食品検査では、これらの影響によって展開が阻害されることも考えられる。また、抽出精製の際の損失も考えられる。実際の食品に添加して検討を行った場合今回の実験値と異なった結果となることも予想される。今回の結果を参考値とし、今後通常検査をおこなっている食品への添加を行い、実際の検出限界を知る必要がある。

文 献

- 1) 伊藤澄夫, 大石充男, 岸弘子, 他: 衛生試験法・注解, 金原出版(株), 東京, 2010, pp.370,371,381.
- 2) 青木幸, 安達慶一, 安部信義, 他: カラーケミカル辞典, 飛田満彦 他(編), (株)シーエムシー, 東京, 1988, pp.65,75,262,263, 397,398,444,445,464,465,469,470.