

食品添加物の測定—合成着色料

石田 裕**

はじめに

色素とは色を有する化合物であり、何等かの目的をもって用いられるものをいうがその用途として、今日では食品、医薬品、香粧品、プラスチック、紙、布、皮革の染色など多岐にわたっている。本稿ではこれらの色素のうち特に食品に用いられる、食品用合成着色料の測定について述べる。

食品用として許可されるにはまずその安全性が実証されるか、または確かめられているものでなくてはならない。この点については既報¹⁾に示されているので本稿では述べないが、かつては安全であると考えられていた色素でも、新しい技術により安全性に疑義が生じるものもあり^{2~4)}、現在では様々な面からデータの洗い直しが行われている。

日本における化学的合成品たる法定許可色素はβ-カロテン、三二酸化鉄、二酸化チタン、水溶性アナトー、鉄および銅クロロフィリンナトリウムを除いては、いわゆる合成タール色素に属するものである。その数は基本的には赤色系7種、黄色系2種、青色系2種、緑色系1種となっており、比較的安定なこと、安価なこと、食品に対する染色性がよいことなどから特殊な用途を除いて合成タール色素が多用される (Table 1)。

合成着色料の染色的特性および構造的特性については染色的性質による分類として、酸性 (Acid Dyes)、塩基性 (Basic Dyes)、直接 (Direct Dyes)、媒染 (Mordant Dyes)、建染 (Vat Dyes)、酸化 (oxidation Dyes) 染料などがあるが、我が国で現在許可されている食用合成タール色素は、安全性の面からいわゆる酸

性色素に入るもののみである。酸性色素とは即ち官能基にカルボン酸 ($-\text{COO}^-$)、スルホン酸 (SO_3H^-)、フェノール性の OH^- のいずれかを持ち、塩にしない場合は酸性を呈する。基本的な骨格から Fig. 1 に示すとおり、アゾ系、キサンテン系、トリフェニルメタン系、インジゴイド系に分類され、また図から見られるように分子内に共役の二重結合が多く含まれる等の構造的特性により分光学的に発色が顕著に表われる。

試験方法

1. 合成タール色素の測定

一般的に添加物の測定というと、定量を考えがちであるが、着色料についてはほとんどの場合定性ですまされる。これは着色料については使用量の規制がないことも一因と考えられるが、むしろ食品の色は、その食品のイメージとの整合性が重要であり、かけはなれた着色あるいは行き過ぎた着色はかえってその食品の品位を下げ商品的にもメリットがないと考えられるからであろう。このことから定量的な面よりも、定性的な面が重視され以下にその実際について述べる。

2. 測定原理

測定原理を図に示すと Fig. 2 のとおりである。この図は羊毛染色法をモデルにしたものであるが、羊毛のかわりに官能基としてアミド基を有するポリアミドを用いても同様である。即ち弱酸性溶液中でアミド基- NH_3^+ は塩を形成する。ここに着色料 (酸性色素) が存在すると、イオンの交換が起り、色素はアミド基に結合する。この色素を結合した羊毛またはポリアミドを水洗することにより糖などのイオン性を持たない物質や無機塩を除去することが可能である。さらにアンモニア溶液中で溶出を行うことにより食品成分からの色素の分離が可能となる。この食品中の可溶性成分との分離は、後のクロマトグラフィーにおいて個々の色素

* 「教材研究」について……これは、一般学会誌や研究会誌にみられる調理科学関係の論文の中から、学校における調理実習に出現する頻度の高いものを選んで、実技指導にすぐ役立つようにわかりやすく解説することを試みたものである。

** 東京農業大学短期大学部

食品添加物の測定—合成着色料

Table 1. 合成着色料の使用基準一覧

品 名	対象食品	使用量	使用制限	備 考	品 名	対象食品	使用量	使用制限	備 考
β -カロチン	バナナ, こんにゃく		こんぶ類, 食肉, 鮮魚介類(鰯肉を含む), 茶, 野菜類, 豆類, 野菜類及びわかめ類に使用してはならない	バナナの果柄の部分に限る	水溶性アナトール着色料*(化学的合成品及びこれを含む製剤を除く, 下欄参照)	こんぶ	0.15g/kg以下(無水物中: 銅として)	β -カロチンに同じ	
三酸化鉄					鉄クロロフイルリンナトリウム	野菜類, 果実類の貯蔵品	0.1g/kg以下(銅として)		
食用赤色2号					シロップ	0.064g/kg以下(〃)			
食用赤色2号アルミニウムレーキ					チューインガム	0.05g/kg以下(〃)			
食用赤色3号					魚肉ねり製品(魚肉すり身を除く)	0.04g/kg以下(〃)			
食用赤色3号アルミニウムレーキ					あめ類	0.02g/kg以下(〃)			
食用赤色40号					生菓子(菓子, パンを除く)	0.0064g/kg以下(〃)			
食用赤色40号アルミニウムレーキ					みつ豆詰又はみつ豆合成樹脂製容器・包装中の菓実	0.0004g/kg以下(〃)			
食用赤色102号					こんぶ	0.15g/kg以下(無水物中: 銅として)			
食用赤色104号					野菜類, 果実類の貯蔵品	0.1g/kg以下(銅として)			
食用赤色105号					チューインガム	0.05g/kg以下(〃)			
食用赤色106号					魚肉ねり製品(魚肉すり身を除く)	0.03g/kg以下(〃)			
食用黄色4号					生菓子(菓子, パンを除く)	0.0064g/kg以下(〃)			
食用黄色4号アルミニウムレーキ					みつ豆詰又はみつ豆合成樹脂製容器・包装中の菓実	0.0004g/kg以下(〃)			
食用黄色5号					こんぶ	0.15g/kg以下(無水物中: 銅として)			
食用黄色5号アルミニウムレーキ					野菜類, 果実類の貯蔵品	0.1g/kg以下(銅として)			
食用緑色3号					チューインガム	0.05g/kg以下(〃)			
食用緑色3号アルミニウムレーキ					魚肉ねり製品(魚肉すり身を除く)	0.03g/kg以下(〃)			
食用青色1号					生菓子(菓子, パンを除く)	0.0064g/kg以下(〃)			
食用青色1号アルミニウムレーキ					みつ豆詰又はみつ豆合成樹脂製容器・包装中の菓実	0.0004g/kg以下(〃)			
食用青色2号					こんぶ	0.15g/kg以下(無水物中: 銅として)			
食用青色2号アルミニウムレーキ					野菜類, 果実類の貯蔵品	0.1g/kg以下(銅として)			
タール色素の製剤					チューインガム	0.05g/kg以下(〃)			
二酸化チタン					魚肉ねり製品(魚肉すり身を除く)	0.03g/kg以下(〃)			
					生菓子(菓子, パンを除く)	0.0064g/kg以下(〃)			
					みつ豆詰又はみつ豆合成樹脂製容器・包装中の菓実	0.0004g/kg以下(〃)			

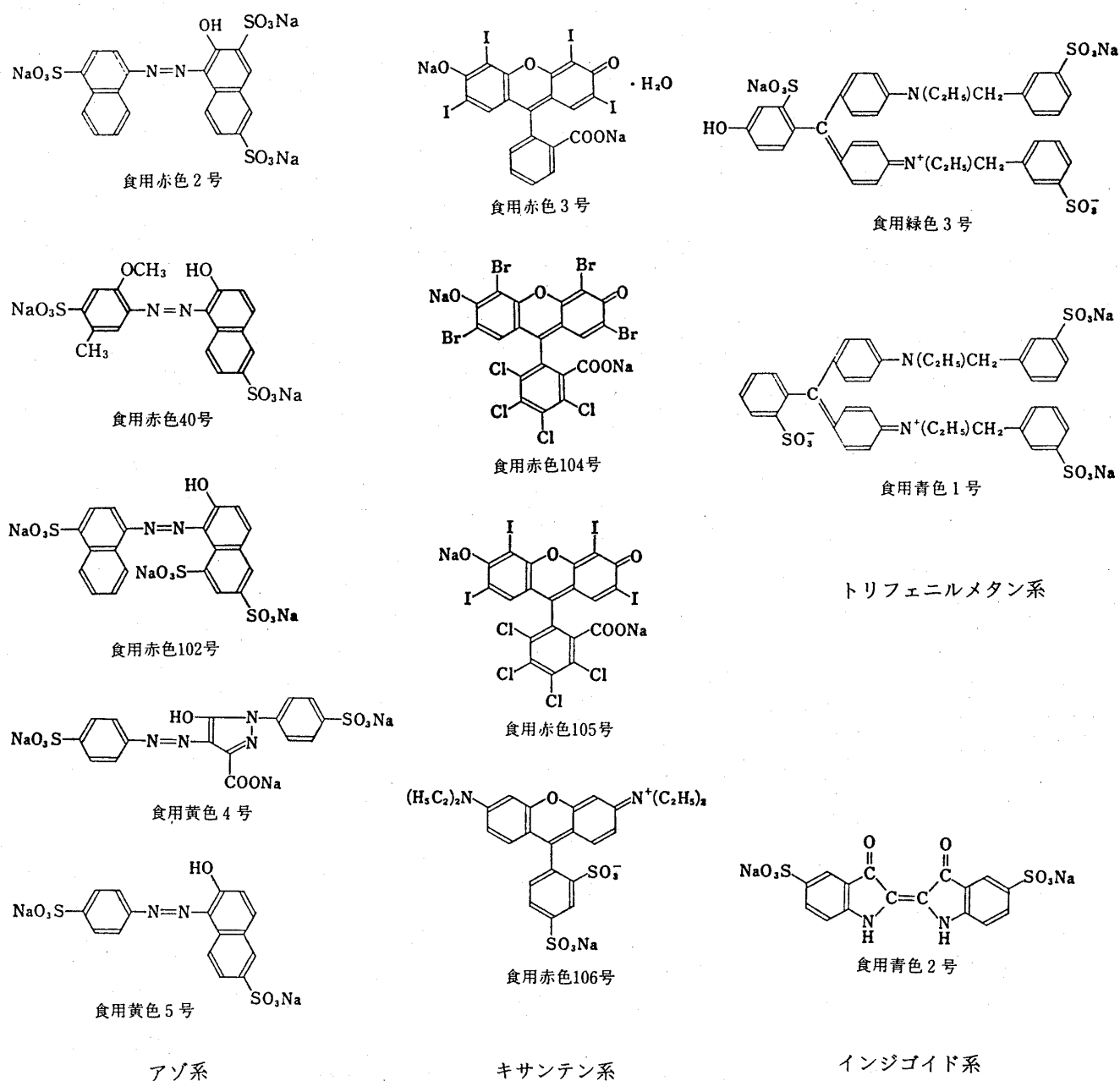


Fig. 1 合成タール色素の基本骨格と各色素の構造

の分離同定上重要な意味を持つ。

3. 合成タール色素定性の実際

本稿の目的は教材研究ということから、学校教育や消費者教育に用いるということを念頭に置いておく必要があり、一般的な食品のなかで、比較的操作が簡単なものを実験材料に選び、その測定法の解説を行うこととした。

(1) 試料

液体試料としては、ジュース、シロップ類、個体試料としては漬物、キャンデー類がよい (いずれもあらかじめ表示を確認し使用が明らかなものを用いる)。

蒲鉾やソーセージなどの蛋白性食品は、色素の結合性が強く溶出しにくいので教材としては向かない。

(2) 試薬および器材

溶出および展開溶剤：アンモニア、エタノール、酢酸、アセトン、イソamilアルコール、n-ブタノールは試薬特級を用いたほうがよい。

合成着色料標準液：東京化成工業(株)製を 50% エタノールで溶解 0.01%~0.05% のものを作成する。

染色用羊毛：蛍光増白剤未処理の白色毛糸をエーテルで脱脂し、着色料および蛍光染料を含まない中性洗剤で煮熱後水洗、乾燥しておく。

食品添加物の測定—合成着色料

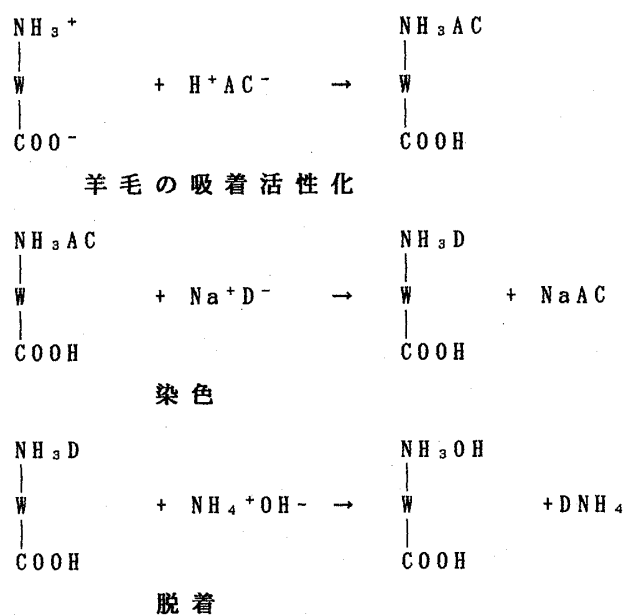


Fig. 2 合成タール色素(酸性色素)の羊毛に対する染色と脱着

W=羊毛, D=色素, AC=CH₃COO

展開用口紙は, 東洋口紙 No. 50 クロマトグラフィー用スリット入りを用いる。(薄層を用いる場合は Kieselgel 60 プレート)

展開槽, スポット用ガラスキャピラリー, ドライヤ

(3) 測定方法

Scheme 1 に従い行う。液体試料の場合は直接酢酸酸性にした後羊毛を加え加温染色するが, 固体の場合は試料を細切しアンモニア溶液を加えアルカリ性にした後加温溶出, ろ過後加温濃縮し, アンモニアをほぼ除去する。次いで液体試料と同様に酢酸酸性にした後

羊毛を加え加温染色する。染色羊毛は水道水で十分に洗浄した後アンモニア・アルコール溶液中で色素を加温脱着, 濃縮しクロマトグラフィー用口紙にキャピラリーを用いてスポットする。この時に色が明瞭でない場合は, さらに加温濃縮する。この口紙に標準色素溶液もスポットし, 風乾後, 展開槽に静置し各展開溶液で展開する。

(4) 使用色素の同定

標準色素との展開位置の比較により同定を行うが, 一般的に一種類の展開溶液ですべて分離することは困難である。Fig. 3 に色素の各溶剤による展開模式を示すので参考にさせていただきたい。また色素中には, 紫外線を照射することによりケイ光を発する色素, 例えば赤色 104 号(緑黄色のケイ光), 106 号(淡黄色のケイ光)がありこの点の確認も同定の一助として有効な方法である。

教育研究における問題点

以上の方法により食品中の着色料の定性は可能であるが, 時間的に液体試料を用いた場合でも色素の確認を含め最低 4 時間が必要である。しかし 4 時間という時間は授業時間の構成および集中力の点からみても好ましくなく出来れば 3 時間以内に終了できることが望ましい。そこで染色および溶出に電子レンジを用いた結果, 単純に約 1 時間短縮させることが可能であった。加熱条件による染色率および溶出率の比較⁵⁾については Table 2, 3 に示した。なおこの方法を Scheme 2 に従来法との比較で紹介する。また教育現場で用いることを念頭におき分析のタイムスケジュールを Scheme 1 に付記した。

液体試料(20~40ml)^{*1}
 — 4% 酢酸 5ml 加
 — 脱脂羊毛加
 — 湯浴加熱 30~60min.
 染色羊毛
 水洗
 — 1% アンモニア・アルコール(3:7) 溶液 10~20ml 加
 — 湯浴加熱 10~20min.
 色素脱着
 加温濃縮 30min.
 PC または TLC^{*2} (60~90min.)^{*3}

* 1 固形試料からの色素の抽出
 固形試料
 細切
 — 1% アンモニア溶液加 アルカリ性確認
 加温抽出 20min.
 ・ろ過
 抽出色素溶液(液体試料)
 アンモニア加温留去 30~60min.

* 2 ろ紙: 東洋ろ紙 No. 50
 薄層プレート: Kieselgel 60

* 3 展開溶液 1) アセトン: イソアミルアルコール: 水=6:5:5
 2) 25% エタノール: 5% アンモニア=1:1
 3) n-ブタノール: エタノール: 1% アンモニア=6:2:3

合成着色料の一般的測定法

Scheme 1. 合成タール色素の測定法

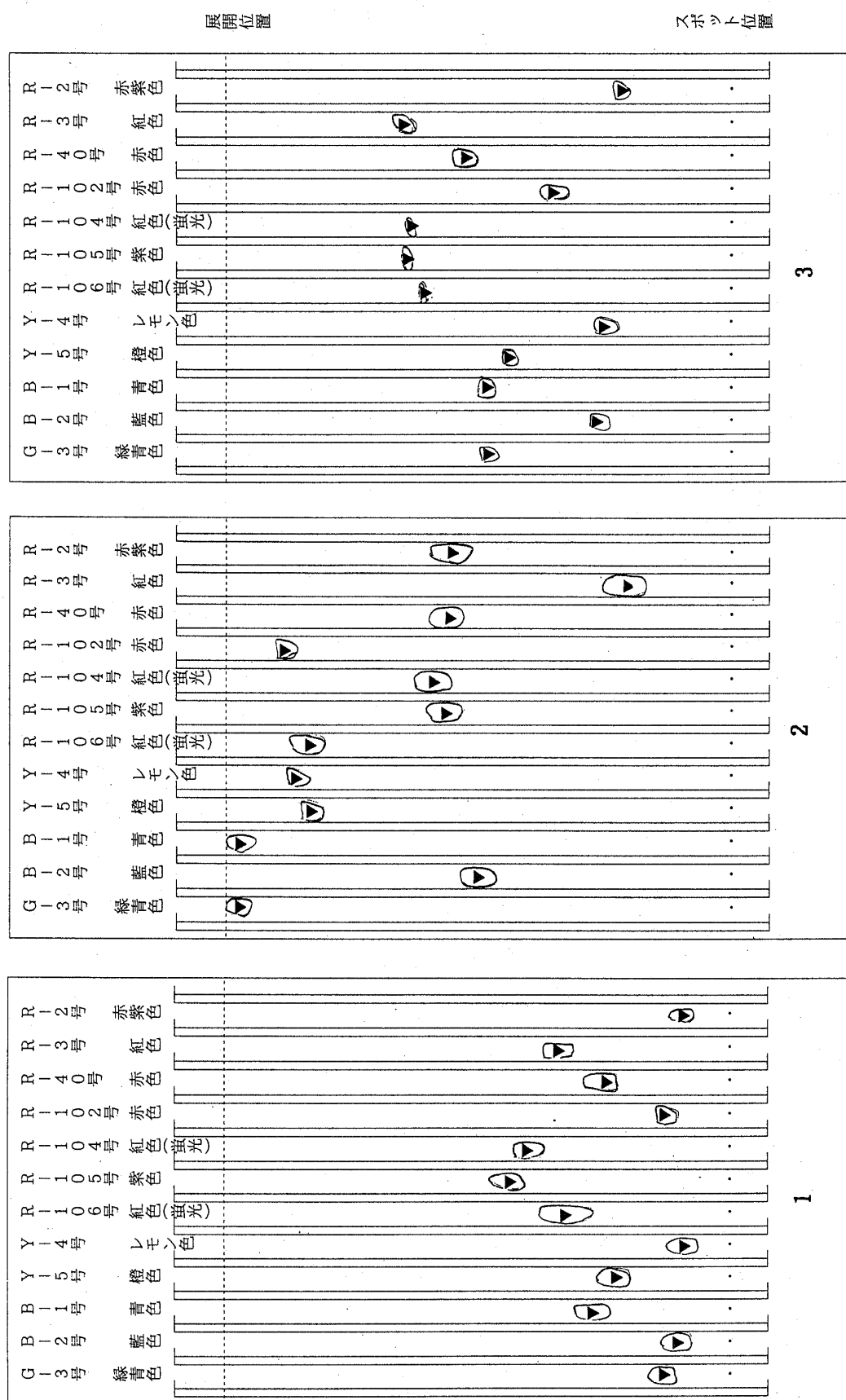


Fig. 3 合成タール色素の各展開溶剤における展開模式

- 展開溶液 1) アセトン:イソアミルアルコール:水=6:5:5
 2) 25% エタノール:5% アンモニア=1:1
 3) n-ブタノール:エタノール:1% アンモニア=6:2:3

食品添加物の測定—合成着色料

Table 2. 加熱条件による染色率の比較

色 素 名	マイクロ波加熱		湯浴加熱 95°C
	染色濃度(%)		染色濃度(%)
	2分加熱	3分加熱	20分加熱
R-2 アマランス	84	90	100
R-3 エリスロシン	100	100	100
R-102 ニューコクシン	100	100	100
R-104 フロキシシン	99	100	100
R-105 ローズベンガル	99	100	100
R-106 アシッドレッド	75	82	97
Y-4 タートラジン	85	92	98
Y-5 サンセットエロー	66	75	96
B-1 プリリアントブルー	55	68	65
B-2 インジゴカルミン	85	98	98
G-3 ファストグリーン	84	92	92
R-40 アルレーレッド	75	100	98
アゾルビン	78	100	100

注：添加色素量 5mg/50ml (0.5% 酢酸)

使用染色物質=脱脂羊毛 0.5g

Table 3. 加熱条件による脱着率の比較

	赤色 102 号 キサンテン系	黄色 4 号 アゾ系	青色 1 号 トリフェニルメタン系
95°C 湯浴 20 分	95% 以上	95% 以上	95% 以上
電子レンジ 強 2 分	90%	86%	88%

可染物：羊毛 0.1g 色素：各 1mg

溶出溶剤：2% アンモニア：エタノール=6：4 溶液 50ml

まとめ

一般的な食品中の合成着色料の測定は本試験法を用いることにより充分可能である。しかし①加熱により

液体試料 (20~40ml) *1

— 4% 酢酸 5ml 加

— 脱脂羊毛加

— 電子レンジ加熱 1~2min.

染色羊毛

水洗

— 1% アンモニア・アルコール (3：7)
溶液 10~20ml 加

— 電子レンジ加熱 0.5~1.0min.

色素脱着

加熱濃縮 30min.

PC または TLC *2 (60~90min.)

簡易迅速測定法

注意点：突沸防止のため 100ml または 200ml のビーカーを用い沸石を入れ時計皿またはラップをする。

* 1 固形試料からの色素の抽出

固形試料

細切

— 1% アンモニア溶液加 アルカリ性確認

加熱抽出 電子レンジ加熱 1~2min.

ろ過

抽出色素溶液 (液体試料)

アンモニア加熱留去 30~60min.

* 2 ろ紙：東洋ろ紙 No. 50

薄層プレート：Kieselgel 60

* 3 展開溶液 1) アセトン：イソアミルアルコール：水=6：5：5

2) 25% エタノール：5% アンモニア=1：1

3) n-ブタノール：エタノール：1% アンモニア=6：2：3

Scheme 2. 電子レンジを用いた合成タール色素の測定法

分解しやすい色素 (青色 2 号等) の測定, ② コンタミネーション等による微量の色素の検出, ③ 表示外色素の検出, ④ 指定外色素の検出に対してはポリアミドカラムの使用や濃縮, クリーンアップのくりかえし, あるいは分光光度計, クロマトスキャナー等による吸収波長の確認, 液体クロマトグラフィーを用いての分離分析をしなければならない。筆者が実際に依頼試験に携わってきたなかで, ①②③については年間数十件みられたが④については輸入キャンデーに許可外色素アゾルビンが検出されたのが 1 件, 現在は許可色素となったが指定以前に輸入キャンデーから赤色 40 号が検出されたのが 1 件, 指定の取り消された着色料については, 国内産の駄菓子から赤色 103 号が検出された等数件みられる程度であった。

本文で紹介した試験法については教材的な色彩を強く出したが, さらに詳細な分析を必要とする場合には既報^{6~9)}を参照願いたい。

文 献

- 1) 石館守三, 鈴木郁生, 谷村顕雄: “第六版食品添加物公定書解説”, D 544~D 642 廣川書店 (1992)
- 2) Kada, T., et al.: *Mutation Res.* **16**, 165 (1972)
- 3) Broun, J. P., Dietrich, P. S.: *Mutation Res.* **56**, 249 (1978)
- 4) Munzner, R., Wever, J.: *Arch. Toxicol.* **60**, 328 (1987)
- 5) 石田裕ら: 第 45 回日本家政学会要旨集, 116 (1993)
- 6) 谷村顕雄ら: “食品中の食品添加物分析法解説書”, 260~315 講談社サイエンティフィク (1992)
- 7) 日本薬学会編: “衛生試験法・注解”, 500~547 金原出版 (1990)
- 8) 外海泰秀ら: 食品衛生学雑誌, **25**, 10 (1984)
- 9) 大戸幹也ら: 食品衛生学雑誌, **29**, 192 (1988)