札幌市衛研年報 9 号 1981

食品中の天然着色料の分析について

Detection of Natural Dyes in Foods

花井　潤師　　西野　茂幸　　吉田　俊一
小塚信一郎　　白石由美子　　青木　　襄
高杉　信男

Junji Hanai, Shigeyuki Nishino, Shun-ichi Yoshida
Shin-ichiro Kozuka, Yumiko Shiroishi, Minoru Aoki
and Nobuo Takasugi

ポリアミドバッチ法による水溶性天然着色料の分析と，薄層クロマトグラフィー（以下「TLC」）及び高速液体クロマトグラフィー（以下「HPLC」）による油溶性天然着色料の分析を行った。

水溶性天然着色料は，ポリアミドバッチ法で行い，4種の溶出溶媒を用いることによって，アントシアニン系色素他4群に分割することができた。また，油溶性天然着色料は，HPLCによって，高脂肪試料についても分離確認することができた。

本法により，市販食品中の天然着色料の分析を行ったところ，16種の色素が検出された。

1. 緒　　言

近年，天然食品への志向を受けて，天然着色料の使用が増大しているが，食肉及び鮮魚介類以外の食品への規制はない。

一方，その分析法として，溶媒抽出法，[1)2)] カラムクロマトグラフ法，[2)3)4)] 及びポリアミドバッチ法[5)6)] などがあるが，各種の食品に適用可能な系統分析法はなく，また，その公定法も未制定である。

そこで，我々は，水溶性天然着色料の分析に一部改良のポリアミドバッチ法を，また，油溶性天然着色料の分析にTLCおよびHPLCを用い，実用的な系統分析法を確立し，併せて市販食品の分析にも応用したので報告する。

なお，β−カロチン，ノルビキシン，リボフラビンはいずれも化学的合成品であるが，本実験では天然品扱いとした。

2. 方　　法

2−1　試　　料

天然着色料の使用が予想される菓子類，清涼飲料水，アイスクリーム類，畜産・水産食品，めん類，その他の食品の計74検体の市販食品を対象とした。

2−2　試薬類

(1) ポリアミド：ポリアミドC—100（40〜100 mesh），カラムクロマトグラフィー用（和光純薬製）

(2) 溶出溶媒：①メタノール　②1N酢酸−メタノール（2：8）　③0.1N塩酸−メタノール（2：8）　④1%アンモニア−メタノール（2：8）

すべて特級品を用いた。特記のない場合，以下同じ。

(3) プレート：ⓐDC−Alufolien Cellulose

(Merk社製, 20×20cm, 以下同じ) Art.5552
ⓑDC−Alufolien Polyamide 11 F_{254} Art.5555 ⓒDC−Alufolien Kieselgel 60 Art.5553
いずれも7×2cmに切って使用した。

(4) 展開溶媒：㋑n−ブタノール・酢酸・水(4：1：5) ㋺イソアミルアルコール・アセトン・水(5：6：5) ㋩イソプロパノール・ギ酸・水(7：1：3) ㊁クロロホルム・酢酸エチル・(1：1または5：1) ㋭クロロホルム・メタノール(5：1)

(5) 発色試薬：(i)10%水酸化ナトリウム溶液 (ii)1%塩化第2鉄溶液 (iii)濃硫酸

(6) カラム：μBondapak C18 3.9mm×30cm (Waters社製)

(7) HPLC溶媒：液体クロマトグラフ用メタノール(和光純薬製)

2−3 装置

高速液体クロマトグラフ・日立638−50型
検出器：日立波長可変流動光度計
スターラー：㈱和科盛製ミニスター

2−4 標準色素

1) β−カロチン(特級, 和光純薬製) 2) リボフラビン(一級, 和光純薬製) 3) サフラワーイエロー：カーサミン(東京化成製) 4) パプリカ色素：オーレオレンジパプリカ(食品添加物用, 以下同じ, 東京田辺製) 5) クルクミン：ウィンナーエローコンク(キリヤ化学製) 6) ビキシン：アンナットEXG(アイゼン製) 7) クロロフィル：ステレオン1号(東京田辺製) 8) クロシン：イエロシンL(東京田辺製) 9) ラッカイン酸：キドレニンS(東京田辺製) 10) カルミン酸：コチニールエキストラ(アイゼン製) 11) ベタニン：スルチアN(東京田辺製) 12) モナスカス：モナスレッドLAR(アイゼン製) 13) コーン色素：サンレッドNo.5(三栄化学製) 14) 赤キャベツ色素：サンレッドRCC(三栄化学製) 15)ブドウ果汁色素：サンレッドG(三栄化学製) 16)ノルビキシン：アンナット−A(アイゼン製)

2−5 試験溶液の調製

2−5−1 水溶性天然着色料

荻原らの方法[5]により調製した試料溶液にポリアミド1gを加え, スターラーで15分間攪拌し, 色素を吸着させた。次いで, ガラスフィルター(3G3)で吸引ろ過し, ポリアミドを十分水洗したのち, 図1に従って順次色素を溶出させ, 溶出液を減圧濃縮後, 試験溶液とした。

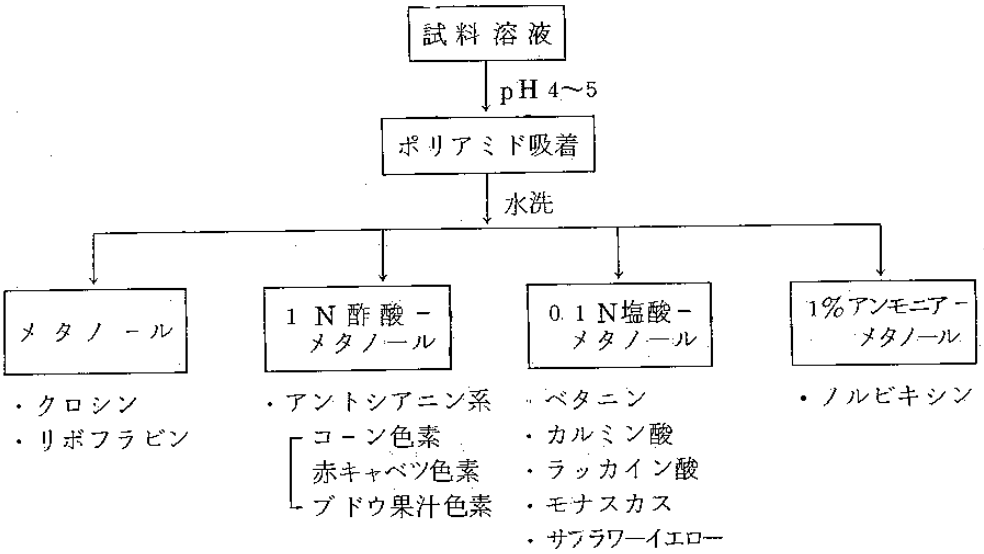

図1 水溶性天然着色料のポリアミドからの溶出

2－5－2　油溶性天然着色料

衛生試験法・注解[1]（以下「注解」）により，試料から色素を抽出し，抽出液を減圧濃縮後，試験溶液とした。

2－6　色素の分離確認

2－6－1　水溶性天然着色料

プレートはⓐまたはⓑを，展開溶媒は㋑，㋺，㋩のいずれかを用い，約5cm展開した。プレート上のスポットの色調を，自然光または紫外線下で標準品と比較し，さらに，発色試薬による変化[7]によって再確認した。

2－6－2　油溶性天然着色料

ⓒのプレート及び㊁の展開溶媒を用い，水溶性天然着色料と同様に確認したが，ビキシンについては，㋭の展開溶媒を用い確認を行った。

また，HPLCは(6)のカラムを用い，移動相を100％メタノールとし，流量2ml/分の条件で行った。

3. 結果と考察

3－1　水溶性天然着色料

3－1－1　溶出溶媒の検討

従来のポリアミドバッチ法[5)6)]ではいずれも，水洗後，塩酸－メタノールなどの強酸混液の溶出溶媒のみで色素を溶出させている。

しかし，我々は色素を分割して溶出させるために，水洗後，メタノール，弱酸性の酢酸－メタノール，塩酸－メタノール，及び弱アルカリ性のアンモニアーメタノールの4種の溶媒を用いた。

その結果，クロシン，リボフラビンはメタノールで，ノルビキシンはアンモニアーメタノールで選択的に溶出され，その他の色素は塩酸－メタノールで溶出されたが，TLCの効果上，アントシアニン系色素の溶出には酢酸－メタノールを用いた。

3－1－2　アントシアニン系色素の溶出条件の検討

荻原ら[5]は，ポリアミドからの溶出溶媒として塩酸－メタノールを用いているが，この際のアントシアニン系色素のTLCの挙動は標準品と異なり，確認は困難であった。

そこで，アントシアニン系色素のうち，コーン色素によって，弱酸であるギ酸または酢酸とメタノールの混液による溶出条件を検討した。

まず，ギ酸の濃度を0.1N，0.5N，1N，2Nとし，メタノールとの体積比が2：8の混液を調製し，ポリアミドから色素を溶出させた。その結果，0.5N以上の濃度では塩酸混液による溶出よりも劣るけれども，その溶出はほぼ一定となった。しかし，溶出液を減圧濃縮後，TLCの挙動を見たところ，標準品とは異なりその確認はできなかった。

次いで，酢酸の濃度を0.1N，0.5N，1N，2N，5Nとし，上記と同様にメタノール混液を調製して検討したところ，ギ酸混液よりも色素の溶出は劣るが，1N以上の濃度ではTLCに必要な溶出が見られ，その挙動も標準品と一致した。また，他のアントシアニン系色素についても同様に検討したところ，色素の溶出及びTLCの挙動ともに良好であり，この溶媒はアントシアニン系色素の溶出に極めて適していると考えられる。

3－2　油溶性天然着色料

3－2－1　β－カロチン及びパプリカ色素の分離確認

β－カロチン及びパプリカ色素は，低脂肪試料ではTLCが可能であったが，高脂肪試料では脂肪による妨害を受けた。

そこで，HPLCを行ったところ，β－カロチンは11分後に溶出し，パプリカ色素は図2のようなクロマトグラムを示した。この際，さらに多量の脂肪を含有する試料の場合，パプリカ色素はけん化を必要としたが，図3に示すクロマトグラムにより確認することができた。

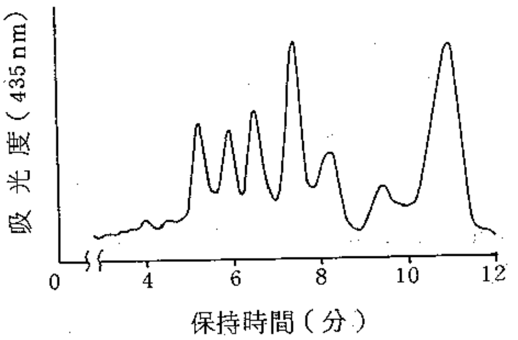

図２　パプリカ色素のクロマトグラム

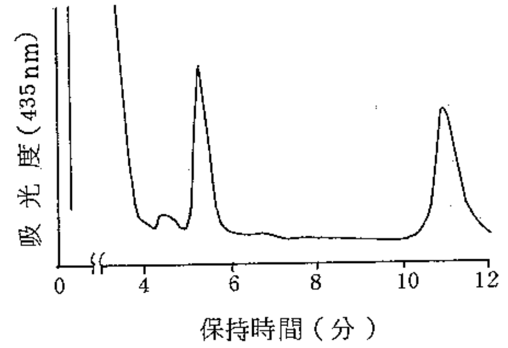

図３　パプリカ色素のけん化後のクロマトグラム

3－2－2　ビキシン及びその他の色素の分離確認

ビキシンもβ－カロチン及びパプリカ色素と同様に脂肪の妨害をうけるため，エーテル層からアルカリ性で水層に転溶させ，次いで，酸性にしてエーテルに再転溶させたのち，エーテル層を減圧濃縮し，TLCを行った。しかし，クルクミン，クロロフィルは本実験の試料ではその必要がなく，それぞれエーテル，メチルエチルケトン抽出のみで良好な結果を得た。

3－3　市販食品への応用

本分析法により昭和57年２月から７月までに購入した市販食品74検体を分析した結果，表１に示す16種の天然着色料を検出した。今回の調査では，カルミン酸，コーン色素及び油溶性色素の使用頻度が高かった。

4.　結　　語

(1)　水溶性天然着色料の系統分析法としてポリア

表１　市販食品中の天然着色料

食品群（検体数）	検出色素数															
	油溶性					水溶性										
	β－カロチン	パプリカ色素	クルクミン	ビキシン	クロロフィル	クロシン	リボフラビン	コーン色素	赤キャベツ色素	ブドウ果汁色素	ベタニン	カルミン酸	ラッカイン酸	モナスカス	サフラワーイエロー	ノルビキシン
菓子類（36）	4	6	1	3	1	4		7	1	2	5	5		1	3	1
清涼飲料水（6）	1	1							1		1	1	1			
アイスクリーム類（9）				2			2	2			1	3				
畜産・水産食品（9）				3								1				
めん類（6）					1	1	3					1		5		
その他（8）	3	1	2		1						1	2				

ミドバッチ法を採用し，溶出溶媒に酢酸－メタノール他を用いることにより，アントシアニン系色素を始めとして4群に分割することができた。

(2) 油溶性天然着色料の分析には，従来のTLCに加えHPLCを試みることにより，高試肪の試料についても良好な結果を得た。

(3) 本法により，市販食品74検体の天然着色料の分析を行った結果，16種の色素を検出し，本分析法の実用分析としての有用性を確認した。

5. 文　　献

1) 日本薬学会：衛生試験法・注解，374～375(1980)金原出版

2) 渡部久美子，桐ケ谷忠司，日高利夫，上条昌弥，鈴木幸夫，河村太郎：横浜衛研年報，20，55～61 (1981)

3) 今村正男，新谷　勛，丸山武紀：食衛試，8 (2) 135～140 (1967)

4) Lehmann, G.; Collet, P.; Hahn, H.G.; Ashworth, M.R.F.; J.Assoc.Offic.Anal.Chem., 53 (6) 1182～1189 (1970)

5) 荻原　勉，野沢竹志，平田恵子，天川映子，大石充男，関　博磨：食衛試，21 (3) 207～213 (1980)

6) 本田喜善，堀内遼一，串間奉文：宮崎県衛研年報，22，16～18 (1980)

7) 谷村顕雄，片山　脩，遠藤英美，黒川和男，吉積智司：天然着色料ハンドブック，529～534 (1979)光琳