

フルーツゼリーからパテントブルーVを検出した 違反事例

荻原 勉*, 青柳 陽子*, 天川 映子*,
安田 和男*

A Case Study on Detection of Patent Blue V Used in Fruit Jelly

Tsutomu Ogiwara*, Yoko Aoyagi*, Eiko Amakawa*
and Kazuo Yasuda*

Keywords: パテントブルーV patent blue V, フルーツゼリー fruit jelly, 指定外着色料 undesignated food color

はじめに

近年,我が国では,消費者ニーズの高まりから,多種多様な食品が市場に出回っている.同時に諸外国から種々の食品が輸入され,その件数もこの5年間で約40%上昇している¹⁾.こうした背景から,食品の安全性を確保するための一つの指標である,食品添加物の検査需要は増加する一方である.

食品添加物は,食品衛生法により,食品への使用に際し物質名,対象食品や使用量で規制されているが,使用量を超えたり,使用できない食品に用いたり,不許可の食品添加物を使用するなどの違反があとをたない²⁾.

そこで,今回,当研究室で実施した試験検査の中から,指定外着色料パテントブルーV(C.I.No.42051)が和菓子店の自家製フルーツゼリーから検出された珍しい事例について報告する.

実験方法

1. 試料

平成12年6月,多摩地域の和菓子店より収去された自家製フルーツゼリーである.本製品は緑色のゼリーで内部にキウイをスライスしたものが1枚入っており,原材料表示は糊料,香料,キウイ果汁,リキュール及び砂糖である.

2. 試薬

- 1)ペーパークロマトグラフィー(PC)用ろ紙:アドバンテック東洋(株)製No.50,12×30 cm,9本溝入り
- 2)薄層クロマトグラフィー(TLC)用プレート: MERCK社製キーゼルゲル60F₂₅₄,10×10 cm, MERCK社製RP-18F_{254S},10×10 cm
- 3)PC用展開溶媒: アセトン・3-メチル-1-ブタノール・水(6:5:5), *n*-ブタノール・エタノール・1%アンモニア水(6:2:3), 25%エタノール・5%アンモニア水(1:1)

ア水(6:2:3), 25%エタノール・5%アンモニア水(1:1)
4)TLC用展開溶媒: 酢酸エチル・メタノール・28%アンモニア水(3.3:1:1)³⁾, アセトニトリル・メタノール・酢酸エチル・クロロホルム・15%アンモニア水(2:2:2:1:1)³⁾,
メタノール・アセトニトリル・5%硫酸ナトリウム溶液(3:3:10)⁴⁾

5)色素標準品

パテントブルーV: シグマ社製 Patent Blue Violet(C.I.No.42051,以下PBV51と略す), シグマ社製 Patent Blue Violet(C.I.No.42045,以下PBV45と略す), グリーンS:シグマ社製Lissamine Green B(C.I.No.44090,以下GSと略す),プリリアントミリンググリーン:東京化成工業(株)製Patent Green(C.I.No.42100,以下BMGと略す),ギネアグリーンB:東京化成工業(株)製Guinea Green B(C.I.No.42085,以下GGBと略す),ライトグリーンSF黄口:東京化成工業(株)製Light green SF Yellowish(C.I.No.42095,以下LGSFYと略す),ナフトールエロ-S:東京化成工業(株)製Naphthol Yellow S(C.I.No.10316,以下NYSと略す),食用青色1号:第一化成工業(株)製(C.I.No.42090,以下B1と略す),食用黄色4号:高岡化学(株)製(C.I.No.19140,以下Y4と略す),食用赤色102号:高岡化学(株)製(C.I.No.16255,以下R102と略す),その他の試薬は,すべて市販特級品を使用した.

6)色素標準溶液の調製

PC及びTLC用色素標準溶液:5)の色素標準品の各々100mgをとり,それぞれ水に溶かし100mLとしたものを用いた.
HPLC用色素混合標準溶液:PBV51, PBV45及びB1の各々100mgをとり,それぞれ水に溶かし100mLとした.これらを適宜水で希釈した後,混合したものを用いた.
LC/MS用色素標準溶液:PBV51及びPBV45の各々100mgをと

* 東京都立衛生研究所多摩支所理化学研究科 190-0023 東京都立川市柴崎町3-16-25

* Tama Branch Laboratory, The Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health,
3-16-25,
Shibasaki-cho, Tachikawa, Tokyo 190-0023 Japan

り、それぞれ水に溶かし100mLとした後、適宜水で希釈して用いた。

3. HPLC装置及び測定条件

Hewlett Packard社製1100を用いた。検出器：同社製ダイオードアレイ検出器(DAD), カラム: Chemcosorb5-ODS-UH (Chemco社製, 粒径5 μm , 4.6 mm i.d. \times 150 mm), 移動相: 0.02 mol/L酢酸アンモニウム・メタノール(1:1)⁵⁾, 流速: 0.5 mL/min, 検出波長: 630 nm, 300~700 nm(DAD), カラム温度: 40 $^{\circ}\text{C}$, 注入量: 20 μL 。

4. LC/MS装置及び測定条件

Waters社製ZMD型を使用した。ネガティブESI(-), 質量範囲:m/z200~1,000, コーン電圧: 20~40 V, 脱溶媒温度: 120 $^{\circ}\text{C}$, ソースブロック温度: 250 $^{\circ}\text{C}$, 移動相: 水・メタノール(1:1), 流速: 0.2 mL/min。

5. 試験溶液の調製

キウイの部分をつりつぶしたものとゼリー部分を合わせて約20 gとり, 5~10倍量の水を加え, 水浴上で時々かく拌しながら加温して色素を抽出した。不溶物はろ過または遠沈して除き, ろ液を1 mol/L酢酸及び1%アンモニア水でpH 4~5に調整し試料溶液とした。これに脱脂羊毛を約0.1 g入れ, 水浴上で加温して色素を吸着させた後, 取り出して水洗した。次いでこの羊毛を1%アンモニア水中に入れ, 水浴上で加温して色素を溶出させた。得られた色素抽出液を水浴上で蒸発乾固し, 少量の水に溶解したものを試験溶液とした。

結 果

1. PCによる定性分析

試験溶液をろ紙にスポットし, PC用展開溶媒, 及びを用いて展開したところ, いずれの場合も黄色及び青色の2つのスポットが検出された。

黄色のスポットは, 及びでいずれもY4とRf値及び色調が一致した。青色のスポットは, でRf値0.62を示しB1のRf値0.43と明らかに分離したことから, 指定外着色料であることが疑われた⁶⁾。なお, 及びではRf値にわずかに差がみられたが, B1と明確な分離は得られなかった。

次に, 指定外着色料を確認するために試験溶液をろ紙にスポットし, で展開した後, 青色スポット部分を水で抽出して青色色素を精製し青色色素試験溶液とした。

青色色素試験溶液をを用いて, 再度, PCによる定性分析を行った。同時に青色系の指定外色素についてもPCを行った。その結果, 青色色素のRf値は0.43であり, PBV51, PBV45, GS及びBMGのRf値はそれぞれ0.43, 0.53, 0.32及び0.66を示し, 青色色素はPBV51とよく一致した。また, 色調も類似していた。

我が国で過去に許可されていたGGB及びLGSFYは, Rf値が青色色素と近似していたが, この青色色素はアンモニア蒸気で脱色しないが, GGB及びLGSFYはアンモニア蒸気により脱色するため容易に判別出来た⁷⁾。なお, 及びではPBV51, PBV45, GS及びBMGとの相互分離は困難であった。

2. TLCによる定性分析

PC法で精製した青色色素試験溶液を用いて, TLCによる定性分析を行った。

RP18プレートでTLC展開溶媒を用いた場合には, 青色色素のRf値は0.04, PBV51及びPBV45のRf値はそれぞれ0.04及び0.06であり, 本条件においても青色色素はPBV51と一致した。なお, LGSFY, GS及びB1のRf値はそれぞれ0.16, 0.19及び0.14, また, GGB及びBMGは原点にとどまったため, これらの色素と分離できた。

次に, シリカゲルプレートで展開溶媒, 及びを用いて展開したところ, 及びでは青色色素, PBV51及びPBV45のRf値は, それぞれ0.05, 0.05及び0.32, 及びでは0.32, 0.32及び0.68を示し, PBV51はPBV45と分離でき, 青色色素とPBV51のRf値は一致した。

3. HPLCによる分析

フルーツゼリー及びこの製品の原材料の香料製剤から前述の方法により色素を抽出し, PCを用いて精製し, 得られた青色色素試験溶液をHPLCにより分析した。

図1にフルーツゼリーからの青色色素, 香料製剤からの青色色素及びPBV51, PBV45, B1の色素混合標準溶液のクロマトグラムを示した。B1, PBV45及びPBV51の保持時間は3.9分, 10.0分, 16.4分と相互分離し, フルーツゼリー及び香料製剤の青色色素のピークの保持時間はいずれも16.4分であり, PBV51と一致した。

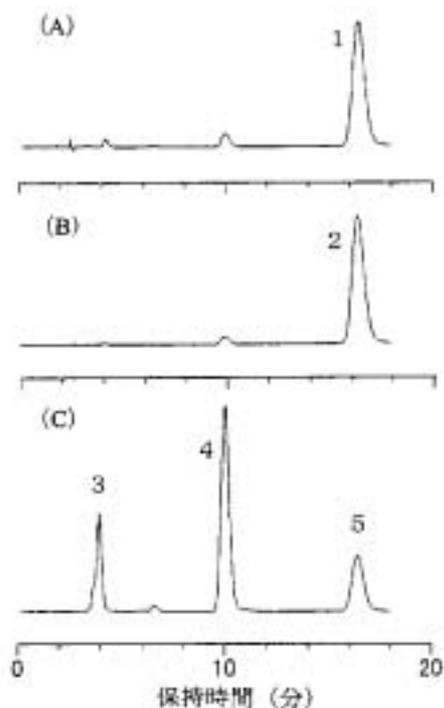


図1. フルーツゼリー(A)及び香料製剤(B)中の青色色素及び青色色素混合標準溶液(C)のHPLCクロマトグラム
1: フルーツゼリーの青色色素, 2: 香料製剤の青色色素, 3: 食用青色1号, 4: パテントブルーV(C.I.No.42045) 5: パテントブルーV(C.I.No.42051)

フルーツゼリー及び香料製剤から抽出された16.4分のピークについてDADを用いて、吸収スペクトルを測定した。その結果は図2に示したようにいずれの青色色素も最大吸収波長及び吸収波形ともにPBV51と一致した。

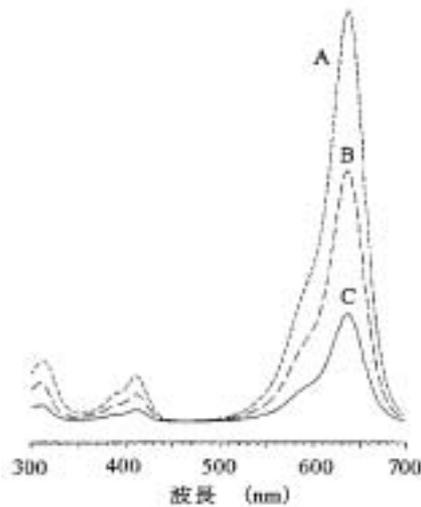


図2. フルーツゼリー及び香料製剤中の青色色素及びパテントブルーV標準溶液の吸収スペクトル
A: フルーツゼリーの青色色素, B: 香料製剤の青色色素, C: パテントブルーV(C. I. No. 42051)標準溶液

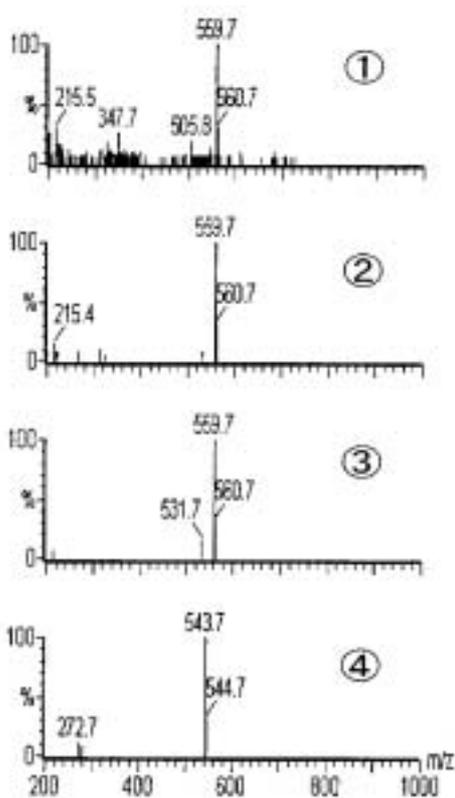


図3. フルーツゼリー及び香料製剤中の青色色素及びパテントブルーV標準溶液のマススペクトル
①: フルーツゼリーの青色色素
②: 香料製剤の青色色素
③: パテントブルーV(C. I. No. 42051)標準溶液
④: パテントブルーV(C. I. No. 42045)標準溶液

4. LC/MSによる分析

LC/MSの直接導入法を用いて負イオンモードにより、フルーツゼリー及び原材料の香料製剤から得られた青色色素試験溶液、PBV51及びPBV45のマススペクトルを測定し図3に示した。

これらの青色色素()のベースピークは、 m/z 559.7であり、そのフラグメンテーションはPBV51と一致し、中沢ら⁸⁾が報告した標準品のスペクトルと同様のパターンを示した。なお、PBV45のベースピークは m/z 543.7であり、PBV51とは明らかに差が認められた。

5. 香料等原材料の分析

フルーツゼリーの原材料のうち、着色料が使われる可能性のある濃緑色(液状)の香料製剤及び淡黄色のリキュールについてフルーツゼリーと同様の方法により着色料の分析を行った。その結果、前述したように香料製剤からPBV51が検出され、さらにY4も検出された。なお、リキュールから着色料は検出されなかった。

考 察

フルーツゼリーから抽出された青色色素を、PC、TLC、HPLC及びLC/MSを用いて分析した結果、指定外着色料であるPBV51であることが確認された。そこで、原料として使用された緑色の香料製剤を分析したところ、同着色料が検出されたことから、この青色色素は香料製剤由来のものであることが判明した。

通常、香料の使用量は、製品の全体量と比較すると少ないため、香料に着色料が添加された場合、その着色料が最終製品から検出されることは予測しがたい。今回、東京都衛生局生活環境部食品保健課(現健康局食品医薬品安全部食品監視課)の調査でフルーツゼリー製造時の香料製剤の配合割合は、全量2,600 gに数滴とのことであったが、ゼリー中のキウイの緑色を強調するため、実際はかなり多量に添加されたことが推定される。

香料の原産国は表示に記載されていなかったが、後日の調査でフランス産であることが判明した。PBV51は欧州諸国で広く用いられている合成着色料であるが、わが国では許可されていない。従って、輸入品のキャンデー、チョコレートやリキュールなどでの違反事例は少なくない⁹⁾。しかし、我が国において和菓子店の自家製生菓子から検出された例はない。本報告のような国産の食品に外国産の原料が使用されるだけでなく、近年は通信販売や個人輸入による購入、また、手軽に海外旅行が可能になり、容易に外国製品が入手できる時代背景があるため、今後も不許可食品添加物に関する違反食品が流通する可能性は十分ある。

従って、保健所等による継続した幅広い監視・指導及び食品衛生の啓発活動が必要であると考え。

本調査は、衛生局生活環境部食品保健課及び関連の保健所と協力して実施したものである。

文 献

- 1) JAFAN編集委員会：JAFAN，22，98，2002，東京．
- 2) 東京都衛生局生活環境部食品保健課編：平成12年度食品衛生関係違反処理集計表，32-40，2002，東京都衛生局生活環境部食品保健課，東京．
- 3) 尾関尚子，岡 尚男，猪飼誉友，他：食衛誌，34，542-545，1993．
- 4) 日本薬学会編：衛生試験法・注解2000，332-333，2000，金原出版，東京．
- 5) 神蔵美枝子，義平邦利，富田 勲，他：日本食品衛生学会，第56回学術講演会要旨集，43，1988．
- 6) 日本薬学会編：衛生試験法・注解2000，337，2000，金原出版，東京．
- 7) 日本薬学会編：衛生試験法・注解2000，335，2000，金原出版，東京．
- 8) 中沢久美子，石川ふさ子，田端節子，他：東京衛研年報，43，98-110，1992．
- 9) 厚生省生活衛生局検疫業務管理室，厚生省輸入食品衛生監視員協議会編：輸入食品1992，180-197，1993，日本食品衛生協会，東京．