

乾燥梅製品からオレンジ 及びアミドブラック10Bを検出した違反事例

松田 敏晴*, 松本 ひろ子*, 粕谷 陽子*,
中里 光男*, 安田 和男*

A Case Study on Detection and Confirmation of Orange II and Amido Black 10B in Imported Dry Ume Products

Toshiharu MATSUDA*, Hiroko MATSUMOTO*, Yoko KASUYA*,
Mitsuo NAKAZATO* and Kazuo YASUDA*

Keywords: 乾燥梅dry ume, 着色料 artificial color, オレンジII orange II, アミドブラック10B amido black 10B

はじめに

近年、食生活の多様化、食品流通の国際化に伴い、食品の輸入件数は増加の一途をたどっている。また、我が国の食料自給率はカロリーベースで40%にまで低下し、その大半を諸外国からの輸入にたよらざるを得ない状況にある。したがって、輸入食品の安全性確保は食生活を守る上で重要な課題の一つであり、そのための食品検査の必要性が増している。その中で我が国で許可されていない食品添加物を使用した違反事例が散見され、^{1,2)}特に着色料は各国で使用される品目が異なるため、不許可着色料の検出が多く見られる。今回、中国産の乾燥梅製品(写真1)から不許可色素であるオレンジ 及びアミドブラック10B(ナフトールブルーブラック)が検出される事例に遭遇した。本事例は諸外国でも食品添加物としてほとんど使用が認められていない色素が検出されたという極めて珍しい事例であった。そこで、これらの色素の同定にいたる経緯を報告する。



写真1. オレンジ 及びアミドブラック10Bが
検出された乾燥梅製品

実験方法

1. 試料

多摩地域の保健所から搬入された市販の中国産乾燥梅(添加物表示: 食用赤色102号, 食用黄色4号, 食用青色1号, 香料, 竹炭, 亜硫酸)を用いた。

2. 試薬

1) 標準品: オレンジ (C.I.15510)は東京化成工業(株)製, アミドブラック10B (C.I.20470)は関東化学(株)製を標準品とした。各々100 mgをとり、それぞれ水に溶かして100 mlとした。

2) 色素混合標準溶液: 食用赤色2号(R2)は東京化成工業(株)製, 食用赤色102号(R102)は東京化成工業(株)製, 食用黄色5号(Y5)は東京化成工業(株)製及びナフトールエロース(NYS)は東京化成工業(株)製の各々100 mgをとり、水に溶かして100 mlとしたものを混合色素標準溶液とした。

3) ポリアミド: 和光純薬工業(株)製カラムクロマトグラフィ用ポリアミドC-100

4) ペーパークロマトグラフィ(PC)用ろ紙: 東洋ろ紙(株)製 No. 50, 9本溝入りろ紙(12×22 cm)

5) 薄層クロマトグラフィ(TLC)用プレート: Merck社製RP-18F_{254S}(5×10 cm)

6) 展開溶媒

(1) PC用展開溶媒

A: アセトン・3-メチル-1-ブタノール・水(6:5:5)混液
B: *n*-ブタノール・エタノール・1%アンモニア水(6:2:3)混液

C: 水・エタノール・5%アンモニア水(3:1:4)混液

(2) TLC用展開溶媒

A: メタノール・アセトニトリル・5%硫酸ナトリウム(3:3:10)混液

B: エチルメチルケトン・メタノール・5%硫酸ナトリウムを3:3:4の割合に混合し、約1時間放置した後、上清を用いた。

* 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

3. 装置

高速液体クロマトグラフ：Hewlett Packard社製1100シリーズのポンプ，紫外・可視分光検出器，フォトダイオードアレイ（PDA）検出器，デガッサー，オートサンプラー，データ処理システムを使用した。

4. 試料溶液の調製

衛生試験法・注解³⁾に準拠した。すなわち種子を取り除き細切した試料に水を加え，加温して色素を溶出したのち，ポリアミド染色法によって精製し，試料溶液とした。

5. 試験溶液の調製

色素を単離して確認を行うために上記の試料溶液についてPCを繰り返した後，目的の色素部分を切り取って2%アンモニア・メタノール（1：1）混液で溶出して精製し，各色素の試験溶液とした。

6. 定性及び確認

1) PC⁴⁾及びTLC³⁾による判別

PC用ろ紙及びTLC用プレートに試験溶液と色素混合標準溶液を各々塗布し，風乾後，PC用展開溶媒A～C及びTLC用展開溶媒A，Bを用いて展開した。展開終了後，得られたスポットのRf値と色調を自然光下及び紫外線（254 nm，365 nm）照射下で観察した。

2) 高速液体クロマトグラフィー（HPLC）による確認

高速液体クロマトグラフに試験溶液及び各色素標準溶液を注入し，得られたピークの保持時間及びPDAにより吸収スペクトルを測定し，確認を行った。

7. HPLC条件

(1) オレンジ

カラム：LiChrosorb RP-18（5 μm，4.6 mm i. d. × 250 mm，関東化学製），移動相：5 mmol/L リン酸緩衝液（pH7.0）・テトラヒドロフラン（75：25）混液に5 mmol/Lの濃度になるように臭化テトラ-*n*-ブチルアンモニウムを加えた。
流速：0.5 ml/min，検出波長：420 nm，PDA 400～700 nm，カラム温度：40℃，注入量：10 μl

(2) アミドブラック10B

カラム：Cosmosil 5C18-AR-（5 μm，4.6 mm i. d. × 250 mm，ナカライテスク製），移動相：メタノール・アセトニトリル・クエン酸緩衝液（pH 4.0）（1：2：5）混液を用いた。
流速：0.7 ml/min，検出波長：620 nm，PDA 400～700 nm，カラム温度：40℃，注入量：10 μl

結果及び考察

1. PC及びTLCによる定性

試料溶液についてPC及びTLCを行ったときのそれぞれのクロマトグラムを図1及び図2に示した。PCでは試料からR102，食用青色1号（B1）の他に表示のないR2及びY5と許着色料のRf値に該当しない橙色及び暗青色のスポットが観察された。PCによるこれら橙色及び暗青色スポットのRf値は展開溶媒Aではそれぞれ0.57及び0.47（図1-A），展開溶媒Bでは0.66及び0.23（図1-B），展開溶媒Cでは0.14及び0.02（図1-C）であった。また，逆相TLCのRP-18プレートでのRf

値は，展開溶媒Aではそれぞれ0.03及び0.02（図2-A）とほとんど移動しないという特徴が見られたが，展開溶媒Bでは0.59及び0.74（図2-B）であった。次にこれらの色素を同定する際に，Rf値に影響を及ぼす試料溶液中の試料由来の成分を十分に除くために，あらかじめPCを行い未知のスポット部分を切り取り，溶出を行うことにより精製し，得られた試験溶液について再度PC及びTLCを行った。そして衛生試験法・注解³⁾に記載されている我が国では不許可の食用色素や，過去に違反事例のある色素等を同時に試験して比較検討した。その結果，橙色の色素についてはオレンジ あ

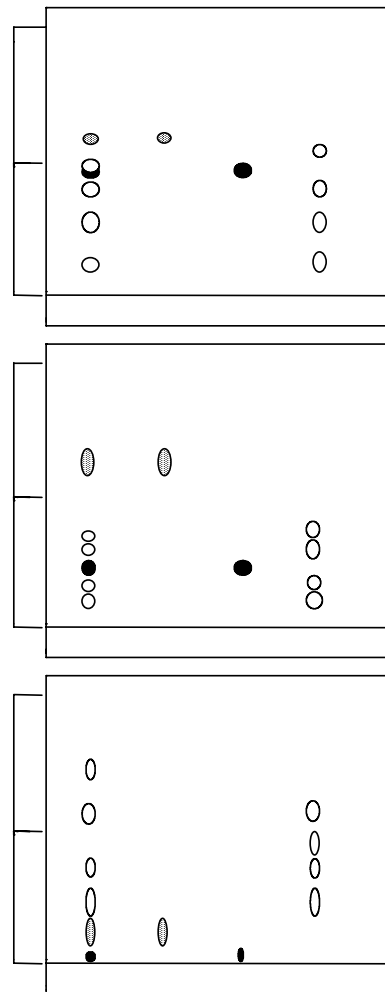


図1. 乾燥梅製品のPCクロマトグラム

1: 試料溶液(a: 橙色スポット, b: 食用青色1号, c: 暗青色スポット, d: 食用黄色5号, e: 食用赤色102号, f: 食用赤色2号)

2: オレンジ

3: アミドブラック10B

4: 色素混合標準溶液(NYS: ナフトールエロー-S, Y5: 食用黄色5号, R102: 食用赤色102号, R2: 食用赤色2号)

展開溶媒

A: アセトン・3-メチル-ブタノール・水(6:5:5)混液

B: *n*-ブタノール・エタノール・1%アンモニア水(6:2:3)混液

C: 水・エタノール・5%アンモニア水(3:1:4)混液

るいはオレンジRN (クロセインオレンジ) のRf値と色調にほぼ一致したことから、いずれかの色素であることが推定された。暗青色の色素については一致するものが見られなかった。そこで、我が国で医薬品や化粧品等に使用が認められているタール色素⁵⁾やその他入手可能な酸性及び塩基性色素のうち青色～黒色系の色素についても検討の範囲を広げた。すなわち、黒色系色素1種、青色系色素18種についてPC及びTLCで検討したところ、黒色系のタール色素で化粧品に用いられるアミドブラック10BのRf値及び色調と一致することが分かった。

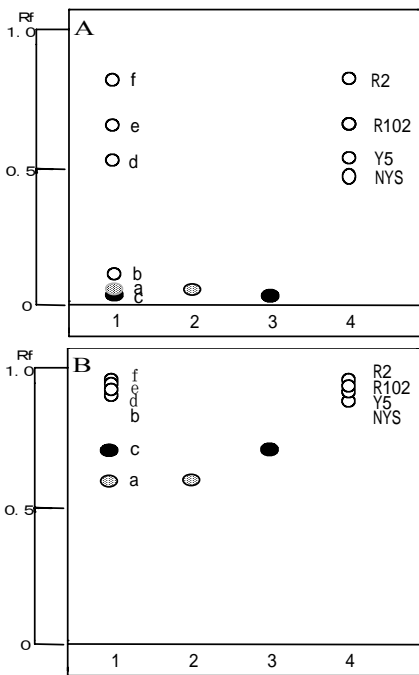


図2. 乾燥梅製品のTLCクロマトグラム

- 1: 試料溶液 (図1と同じ)
- 2: オレンジ
- 3: アミドブラック10B
- 4: 色素混合標準溶液 (図1と同じ)

展開溶媒

- A: メタノール・アセトニトリル・5%硫酸ナトリウム (3:3:10)混液
- B: エチルメチルケトン・メタノール・5%硫酸ナトリウム (3:3:4)混液の上清

2. HPLCによる確認

両色素の確認はHPLCにより行った。橙色の色素については、宮川ら⁶⁾の方法に従い、オレンジ とオレンジRNの判別を試みたところ、オレンジ は14分、オレンジRNは15.5分に出現し、本色素はオレンジ の標準品の保持時間と一致することを確認した(図3)。さらに、このピークについてPDA検出器を用いて吸収スペクトルを測定した結果 標準品のスペクトルと一致したことから、本橙色色素はオレンジ と同定した。

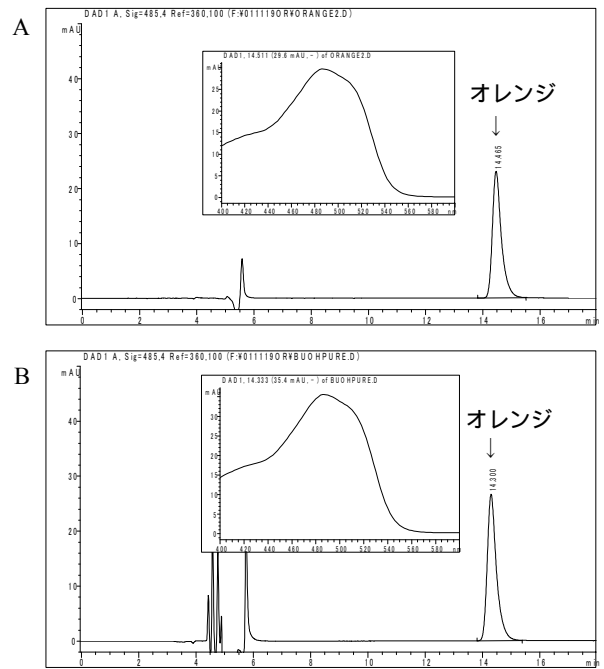


図3. オレンジ 標準溶液 乾燥梅製品のHPLCクロマトグラム及びフォトダイオードアレイ (PDA) スペクトル

A: オレンジ , B: 試験溶液

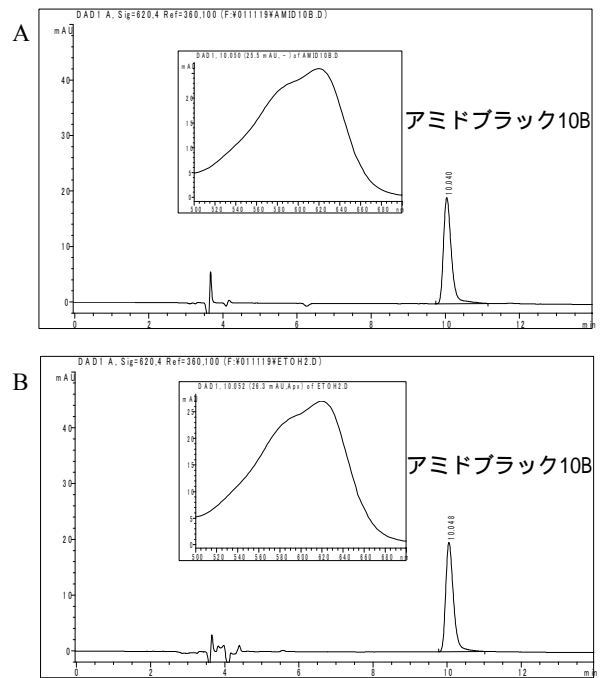
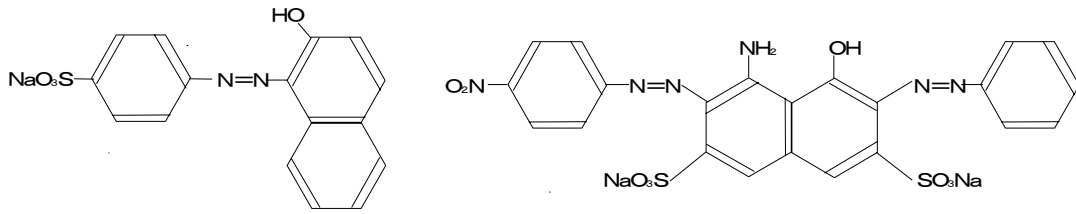


図4. アミドブラック10B標準溶液, 乾燥梅製品のHPLCクロマトグラム及びPDAスペクトル

A: アミドブラック10B, B: 試験溶液

暗青色の色素については、逆相系のカラムを用い、移動相にメタノール・アセトニトリル・水系を用いて分離条件を検討した。移動相のpHによって保持時間 (Rt) が大きく変動し、中性付近ではカラムの保持が弱かった。しかし、酸性になるにしたがって保持が強くなることから、移動相のpHを調整して最適なRtを検索した。その結果、移動相に



オレンジ

アミドブラック10B

図5. オレンジ 及びアミドブラック10Bの構造式

メタノール・アセトニトリル・5 mmol/Lクエン酸緩衝液 (pH4.0) (1:2:5) 混液を用いたところ、暗青色の色素の Rt は10分付近に得られることがわかった(図4)。このピークはアミドブラック10Bの標準品の Rt と一致し、PC及びTLC の場合と同様の結果が得られた。さらに、PDA検出器により吸収スペクトルを測定した結果も標準品と一致し、本暗青色色素はアミドブラック10Bと同一とした。なお、今回同一定できたオレンジ 及びアミドブラック10Bの構造式を図5に示した。

3. 検出原因の検討

乾燥梅製品から検出されたオレンジ 及びアミドブラック10Bは、原産国である中国でも食用色素として認可されていない⁷⁾。しかし過去にもオレンジ はベトナム産のエビから検出された事例がある⁶⁾。本色素は我が国の化粧品用法定色素のだいだい色205号であり、洗髪用化粧品、化粧水、石けん等に繁用されている色素である⁵⁾。一方、アミドブラック10Bは過去に食品から検出された事例は見あたらないが、本色素も我が国では化粧品に法定色素の黒色401号 (naphthol blue black, Acid black 1) として使用が認められている。主に洗髪用化粧品、石けん等の粘膜に適用することのない化粧品に使用される色素である。これらのことから両色素は日本の法定色素ということで食品に誤用された可能性も考えられる。

ま と め

中国産の乾燥梅製品から我が国の許可着色料に該当しないオレンジ及び暗青色の色素が検出された。これらについてPC及びTLCで定性し、PDA検出器付きHPLCを用いて確認したと

ころ、オレンジの色素はオレンジ、暗青色の色素はアミドブラック10Bであることがわかった。これらの色素は我が国では化粧品に使用されている法定色素であり、本報告は検査対象を食用色素だけでなく化粧品用色素にまで拡大し、色素を同一定した事例である。今後、輸入品の着色料検査で食用色素に該当しない色素が認められる事例に遭遇した場合は、医薬品、医薬部外品及び化粧品の色素である可能性も考慮に入れて検査する必要があると考える。

文 献

- 1) 東京都衛生局生活環境部食品保健課：平成11年度食品衛生関係違反処理集計表, 32-40, 2001, 東京都衛生局生活環境部食品保健課, 東京。
- 2) 東京都衛生局生活環境部食品保健課：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) 日本薬学会編：衛生試験法・注解2000, 326-341, 2000, 金原出版, 東京。
- 4) 厚生省生活衛生局監修：食品衛生検査指針, 食品中の食品添加物分析法, 142-166, 1989, 日本食品衛生協会, 東京。
- 5) 日本化粧品工業連合会編：法定色素ハンドブック 154-69, 240-251, 1988, 薬事日報社, 東京。
- 6) 宮川弘之, 堀井昭三, 井草京子, 他：東京衛研年報, 47, 75-77, 1996。
- 7) 日本添加物協会, 食品添加物マニュアル編集委員会：食品添加物マニュアル2001年度版, 430-445, 2001, 日本食品添加物協会, 東京。