

## 唐辛子を使用した加工食品中のスダン I 及びその同族体の分析

中 里 光 男<sup>\*</sup>, 粕 谷 陽 子<sup>\*</sup>, 松 本 ひろ子<sup>\*</sup>, 安 田 和 男<sup>\*</sup>

### Determination of Sudan and its Homologues in Chilli Products

Mitsuo NAKAZATO<sup>\*</sup>, Yoko KASUYA<sup>\*</sup>, Hiroko MATSUMOTO<sup>\*</sup>  
and Kazuo YASUDA<sup>\*</sup>

A method for the simultaneous determination of 5 oil-soluble phenylazo colors, namely, sudan , sudan , sudan , sudan orange G and sudan red G, in chilli products such as ground chilli, chilli powder, chilli sause, pasta sause, tom yum paste, curry roux by HPLC was developed.

The 5 colors in the sample were extracted with ethanol. The colors were separated on a Capcell Pak C18 column with a mobile phase of acetonitrile-water (85 : 15) and monitored at 480 nm. The recovery of 5 colors added to various kinds of chilli products was 72.2~105 %. The determination limits of these colors were 5.0~10 µg/g in the samples.

**Keywords :** スダン Sudan , スダン Sudan , スダン Sudan , スダンレッド G Sudan red G , スダンオレンジ G Sudan orange G , 唐辛子 chilli , 唐辛子製品 chilli products

#### はじめに

2003年5月, EU諸国で使用の認められていない赤色系の油溶性色素スダン が, 初めてフランスで輸入乾燥唐辛子粉末から検出された。その後, スダン はイギリス, イタリア, ドイツ, フィンランド等の EU諸国においてもインド原産の乾燥唐辛子を原料に用いたチリパウダー, チャツネ, カレーパウダー, ソース, 調味料等, 多くの製品から相次いで検出された。我が国においても2003年9月にインド産の乾燥唐辛子を使用したパスタソースから発見され, 自主回収の措置が取られた<sup>1)</sup>。このようなことから我が国で流通している唐辛子を原料に用いた加工食品について広く検査を行う必要が生じた。

スダン I を始めとする赤色系の油溶性フェニルアゾ系色素の中には欧米で化粧品・医薬品用として使用が認められているものがあり, 我が国でも化粧品用の法定色素としてスダン<sup>2)</sup>の使用が認められている。最近, 化粧品用の法定色素が食品に転用された事例があり<sup>3)</sup>, スダン 及びその同族体が食品用に転用される可能性がある。

スダン の検査法としては2003年9月にイギリスの食品基準庁(FSA: Food Standards Agency) から示されたガイダンスノートに唐辛子製品中のスダン の HPLC を用いた定性定量法が提示されているが<sup>4)</sup>。今回, 唐辛子製品中のスダン を分析するにあたって, 橙色から赤色系の同族体色素についても同時に分析する方法を検討した。

#### 実験方法

##### 1. 試料

市販の唐辛子粉末, チリパウダー(トウガラシ, 食塩, クミン, その他香辛料), パプリカ粉末, 七味唐辛子(唐辛子, ゆず, ケシの実, 麻の実, 黒ごま, 山椒, 青海苔), チリソース(唐辛子, 砂糖, ニンニク, 酢, EDTA・CaNa<sub>2</sub>), パスタソース(トマト, トマトピューレ, オリーブ油, 塩, ニンニク, ライススターチ, パセリ, 唐辛子), トムヤムペースト(唐辛子, 植物油, レモングラス, 食塩, 砂糖, 香辛料, 酸味料, 調味料(アミノ酸)), カレールウ(小麦粉, 植物油, 食塩, 砂糖, カレー粉, パプリカ, パセリ, フェンネル, レッドペッパー, 香辛料, 豆粉, ごま, 調味料, カaramel色素)を用いた。( )内は原材料である。

##### 2. 試薬

1) 混合標準溶液: スダン (C.I. 12055, 和光純薬工業(株)製), スダン (C.I. 12140, 東京化成工業(株)製), スダン (C.I. 26100, 和光純薬工業(株)製, クロマトグラフィー用), スダンレッド G (C.I. 12150, メルク社製), スダンオレンジ G (C.I. 11920, アルドリッチ社製)の各50 mgを精秤し, アセトンに溶解して100 mLとしたものを混合標準原液とした。本液1 mLは各色素500 µgを含有する。これをエタノールで希釈し, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0及び10 µg/mLの濃度系列を調製し, 色素の混合標準溶液とした。

\* 東京都健康安全研究センター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 Institute, Tokyo Metropolitan Public Health Research Institute:

3-16-25, Shibasaki-cho, Tachikawa, Tokyo 190-0023 Japan

- 2) アセトニトリル：高速液体クロマトグラフィー用
- 3) その他の試薬は市販特級品を用いた。

### 3. 装置

- 1) 高速液体クロマトグラフ：日本分光工業(株)製 PU-2089 Plus 型ポンプ，同 UV-2075 Plus 型紫外可視検出器，同 AS-2057 Plus 型オートサンプラー，同 CO-2065 Plus 型恒温槽及び(株)島津製作所製 C-R7A plus 型データ処理装置で構成したものを用いた。
- 2) ホモジナイザー：(株)エスエムテ-製 HF93 型
- 3) 遠心分離器：(株)久保田製作所製 5100 型

### 4. 試験溶液の調製

1) 抽出：乾燥試料（唐辛子粉末，パプリカ粉末，チリパウダー，七味唐辛子）については，その 5 g をホモジナイザーカップに採り，これにエタノール 50 mL を加えて 10 分間ホモジナイズ(10,000 rpm)した後，遠沈(3,000 rpm，10 分)し，得られた上清を共栓メスシリンダーに分取した。遠沈後の残渣に，さらに，エタノール 45 mL を加え，同様に処理した後，得られた上清を合わせ，エタノールを用いて 100 mL とした。これを 0.45  $\mu$ m のメンブレンフィルターでろ過し，試験溶液とした

ペースト状の試料（チリソース，パスタソース，トムヤムペースト，カレールウ）については，その 10 g をホモジナイザーカップに採り，これに水分の量に応じて無水硫酸ナトリウムを 20~50 g 及びエタノール 50 mL を加えて 10 分間ホモジナイズした後，遠沈し，得られた上清を共栓メスシリンダーに分取した。以下，乾燥試料と同様の操作を行い，試験溶液を調製した。

### 5. HPLC による定性及び定量

標準溶液及び試験溶液を高速液体クロマトグラフに付し，各色素の標準品の保持時間と比較し，定性を行った。また，標準溶液を用いて作成した検量線から試料中の各色素の濃度を求めた。

#### HPLC 条件

カラム：Capcell Pak C18 MG(5  $\mu$ m, 4.6 mm i.d.  $\times$  250 mm, 資生堂(株)製)，移動相：アセトニトリル・水(85 : 15) 混液，流速：1.0 mL/min，カラム温度：40  $^{\circ}$ C，検出波長：480 nm，注入量：10  $\mu$ L

### 結果及び考察

#### 1. 抽出

スダン のみを対象とした FSA 提示の方法では抽出溶媒にメタノールを用いている。しかし，スダン やスダン ではより極性が小さくなり，トムヤムペースト等，脂質が存在する試料ではメタノールへの移行率が低下するため，回収率が低くなる傾向が認められた。特にスダン の回収率は低く，60%程度であった。そこで，より極性が小さく，比較的脂質との分離もよいエタノールに変更したところ，

スダン で 70%以上の回収率が得られたことから抽出溶媒にはエタノールを用いることとした。また，チリソースやパスタソース中に含まれる水は抽出溶媒の極性を上げ，特に極性の低いスダン の回収率低下の原因になると考えられたので，脱水剤として無水硫酸ナトリウムを添加することにした。

#### 2. HPLC 条件

5 種の色素の分離条件についてはカラムに Capcell Pak C18 MG，移動相にアセトニトリル・水系を用いて検討した。その結果，アセトニトリル・水の比率が 85 : 15 の時に 5 種の色素の分離もよく，分析時間も 30 分程度であることが分かった。また，各試料のエタノールで抽出したものを直接 HPLC に付してもクロマトグラム上に特に妨害となるピークも認められず，クリーンアップ操作を行う必要は特に認められなかった。そこで，エタノールで抽出したものをそのまま HPLC 用試験溶液とした。それぞれの保持時間はスダンレッド G では 7.6 分，スダン は約 8.3 分，スダン は 13.8 分，スダン は 19.2 分であった。スダン オレンジ G は 3.8 分（ピーク a1）と 6.6 分（ピーク a2）に 2 本のピークが出現し，混合物であることが分かった。Fig. 1 に 5 種の色素のクロマトグラムを示した。

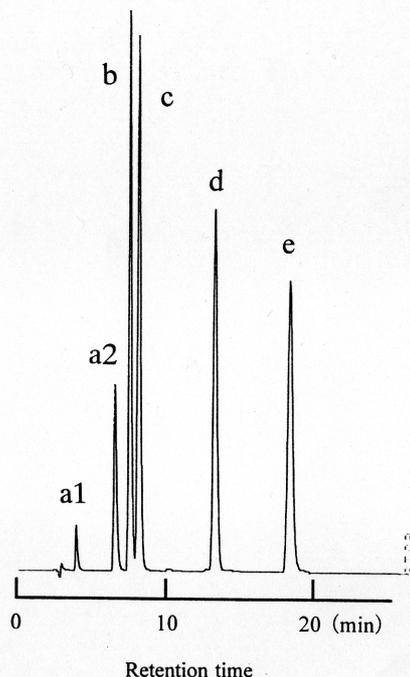


Fig. 1. Chromatogram of standard mixture (5  $\mu$ g/mL) of 5 colors  
a1, a2 : sudan orange G, b : sudan red G, c : sudan I  
d : sudan II, e : sudan III  
HPLC conditions ;  
column: Capcell Pak C18 MG(5  $\mu$ m, 4.6 mm i.d.  $\times$  250 mm);  
mobile phase: acetonitrile-water(85 : 15); flow rate: 1.0 mL/min;  
column temp.: 40  $^{\circ}$ C; detection: 480 nm

#### 3. 検出波長

5 種の色素を高感度に同時に検出できる波長について検討した。それぞれの可視部における極大波長はスダンレッ

ド G は 500 nm, スダン は 480 nm, スダン は 500 nm, スダン では 510 nm 付近であった。スダンオレンジ G ではピーク a1 は 380 nm, ピーク a2 は 440 nm 付近であったが, 各ピークの極大波長における吸収強度はほぼ同程度であった。そこで, 検出波長としては, 前 4 種の色素が感

度よく検出でき, スダンオレンジ G のピーク a2 も比較的感度よく検出できる 480 nm とした。スダンオレンジ G の定量値は, 480 nm ではピーク a2 の吸収強度がピーク a1 の 5 倍になることからピーク a2 を用いて算出することにした。

Table 1. Recoveries of Sudan I and its Analogous Added to Various Kinds of Chilli Products

Sample	Added ( $\mu\text{g/g}$ )	Recovery(%)*				
		Sudan orange G	Sudan red G	Sudan I	Sudan II	Sudan III
Ground chilli	100	95.5	94.5	95.9	95.4	97.3
	20	93.2	96.8	94.6	96.5	93.6
Ground paprika	100	101	96.6	97.6	98.9	103
	20	87.8	101	96.5	100	105
Chilli powder	100	95.1	94.8	95.2	96.0	95.4
	20	90.6	97.8	98.2	95.7	96.1
Seven-spice pepper	100	92.5	93.5	94.0	95.3	93.4
	20	95.2	97.1	95.4	96.2	96.8
Chilli sauce	50	93.5	95.0	95.4	94.9	96.6
	10	94.6	92.7	91.8	93.4	94.4
Pasta sause	50	92.1	91.9	91.9	90.1	89.4
	10	90.3	88.4	86.1	84.7	84.1
Tom yum paste	50	86.6	89.5	86.1	79.8	72.2
Curry roux	50	92.1	91.6	91.4	86.1	76.2
	10	96.5	90.2	86.2	84.2	75.5

\*Values are mean (n=2~3)

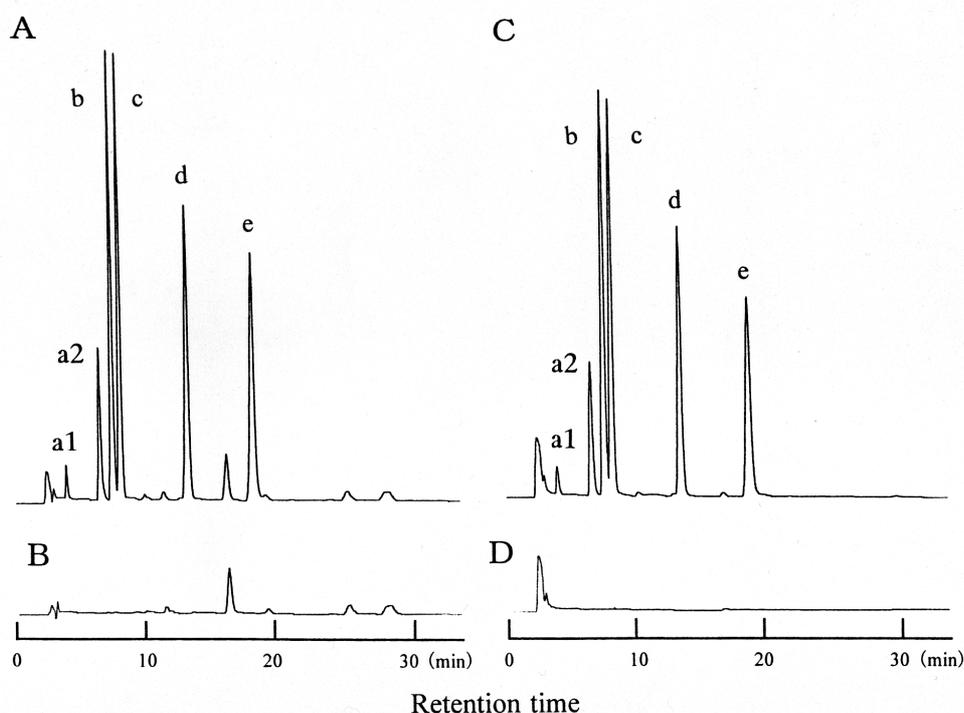


Fig. 2. Chromatograms of 5 colors in test solution prepared from chilli products

A : Ground chilli (100  $\mu\text{g/g}$  added), B : Ground chilli (control)

C : Tom yum paste (50  $\mu\text{g/g}$  added), D : Tom yum paste (control)

a1, a2 : sudan orange G, b : sudan red G, c : sudan I, d : sudan II, e : sudan III

HPLC conditions are shown in Fig. 1

#### 4. 検量線

検量線は各色素の 0.5 ~ 10  $\mu\text{g/mL}$  の範囲で直線性が得られた。定量限界は試料あたり 5.0 ~ 10  $\mu\text{g/g}$  であった。

#### 5. 添加回収実験

市販の唐辛子粉末, チリパウダー, パプリカ粉末, 七味唐辛子には各色素を 100 及び 20  $\mu\text{g/g}$ , チリソース, パスタソース, トムヤムペースト, カレールウについては 50 及び 10  $\mu\text{g/g}$  となるように添加し, 本法に従って添加回収実験を行った。結果は Table 1 に示したように, トムヤムペーストやカレールウのような油脂を含有する食品では, 油溶性の高い Sudan 及び Sudan での回収率が低くなる傾向がみられたが, いずれも 70% 以上とおおむね良好な回収率が確保できた。

唐辛子粉末とトムヤムペーストのクロマトグラムを Fig. 2 に示した。

本法は唐辛子を原料とした製品の Sudan 及びその同族体色素の分析法として十分使用できるものと考えられる。

#### ま と め

唐辛子を原料に用いた香辛料製品や調味料からの Sudan, Sudan, Sudan, Sudan Red G, Sudan Orange G の 5 種の赤色系油溶性色素の同時分析法について検討した。

試料からの抽出にはエタノールを用い, 分離, 定量は HPLC で行った。カラムは Capcell Pak C18 MG, 移動相にはアセトニトリル・水 (85 : 15) 混液を用いて分離し, 検出は波長 480 nm で行った。

各種の唐辛子を用いた製品に 10 ~ 100  $\mu\text{g/g}$  となるよう

に各色素を添加して添加回収実験を行ったところ, 回収率は 72 % 以上であった。また, 本法の定量限界は試料あたり 5.0 ~ 10  $\mu\text{g/g}$  であった。

本法の作成後, EU では Sudan に加えて, Sudan, Sudan 等についても輸入時の検査済み証明を義務づけたこともあり<sup>5)</sup>, それに対応できる本法は有用であると考えられる。

本研究は, 平成 15 年度厚生科学研究費補助金, 食品添加物の規格基準設定等に関する基礎的調査研究事業の「食品中の未許可添加物の分析法の開発」の一環として行った。

#### 文 献

- 1) 東京都健康局食品医薬品安全部食品監視課事務連絡 “指定外添加物を検出したパスタソース「フラマーブランドパスタソース・アラビアータ」の自主回収について”(情報提供)平成 15 年 10 月 30 日,
- 2) 日本化粧品工業連合会編: 法定色素ハンドブック, 82-84, 1988, 薬事日報社, 東京
- 3) 松田敏晴, 松本ひろ子, 粕谷陽子, 他: 東京衛研年報, 53, 157-160, 2002
- 4) Food Standards Agency “Guidance Notes on Sudan 1 in chilli imported from India” (Sep. 15, 2003) <http://www.foodstandards.gov.uk/foodindustry/guidancenotes/foodguid/sudanguidance>
- 5) EU “New measures to stop imports of chilli and chilli products with carcinogenic red dye” (Jan. 21, 2004) [http://europa.eu.int/comm/dgs/health\\_consumer/library/press/press\\_326\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/dgs/health_consumer/library/press/press_326_en.pdf)