TLC と HPLC の併用による食品中合成着色料の一斉分析法

宮 武 ノリヱ*, 永 山 敏 廣*

Simultaneous Analytical Method of Synthetic Colours in Food Using TLC and HPLC

Norie MIYATAKE* and Toshihiro NAGAYAMA*

Keywords: 合成着色料 synthetic colours, 食用タール色素 food coal tar dyes, 指定外色素 non-permitted dyes, 一斉分析法 simultaneous analytical method, 高速液体クロマトグラフィー HPLC, 薄層クロマトグラフィー TLC

はじめに

わが国の食品市場は輸入食品の占める割合が増大し、平成 16 年ではその依存率が 60%になっている. 輸入食品に使用される添加物は、輸入元と法規制が異なることから、食品衛生法により食品添加物として指定されていない色素、いわゆる指定外色素が検出事例としてしばしば報告されている¹). このような状況の下、食品の安全性を確保するためには、輸入食品をはじめとした多数の検体を正確かつ迅速に試験して、法遵守を判断する必要がある.

着色料の試験はペーパークロマトグラフィー(PC)あるいは薄層クロマトグラフィー(TLC)でスクリーニング試験を行っているところが多い. 現行の衛生試験法ではTLCが、食品衛生検査指針では許可色素に限って個々にHPLCが試験法として示されている. PCは経済性に優れているが、分離能が劣る点や展開に長時間を要するなどの難点がある. 一方、TLCはPCの難点を改善し、かつ操作が簡便であることや全体像が一覧して把握できることなどスクリーニング試験として優れている. しかし、指定外色素の添加が疑われる場合や検出感度に問題が生じた場合には確実性がやや不十分で、HPLCさらにはLC/MSなどのより高度な分析法で精査することが必要になってくる. そこで、HPLCを用いて、指定外色素を含めた45種類の合成着色料の簡易な一斉分析法の検討を行った. 併せて従来のTLCスクリーニング法を併用して系統的分析法を確立したので報告する.

実験方法

1. 色素標準品

許可色素12種類及び指定外色素33種類を対象とした.表1に供試色素名, Color Index Number (C.I.No.) 等について示した.今回は,許可着色料のうちR40は和光純薬工業(株)製,その他は東京化成工業(株)製,指定外着色料のうち1~3,5~8,10,13~15,19,22,24~29は東京化成工業(株)製,9は和光純薬工業(株)製,33は関東化学(株)製,4,12,16,17,20,30~32はSIGMA製,11,18,23はCHROMA製,21は三栄化学工業(株)製を使用した.

2. 試薬

ポリアミドは和光純薬工業(株)製カラムクロマトグラフ用ポリアミド C-100を、イオンペアー試薬の臭化テトラブチルアンモニウム(以下TBABと略す)は東京化成工業(株)製 IPC-TBA-Brを使用した.硫酸ナトリウム、酢酸アンモニウム、アセトニトリル、メタノールは市販試薬特級を用いた.

3. 色素溶液の調製

各色素の0.1%水溶液を色素原液とし、これを50 %エタノールで適宜希釈した.TLC用には0.05 %溶液を用いた.HPLC用には10 μ g/mL溶液としたものを用いた.ただし、27は50 μ g/mL溶液を使用した.

4. TLC分析

装置:展開槽はガラス製 ($D5 \times W12 \times H12$ cm) を使用した. 薄層板はMERCK製TLCアルミニウムシートRP-18 F_{254s} (20 cm $\times 20$ cm) を,使用時に10 cm幅に切断して用いた.

測定条件:展開溶媒はアセトニトリル/メタノール/5%硫酸ナトリウム溶液 (3:3:10) を用時調製し、使用した. 展開溶媒は展開槽中に少なくとも1時間以上放置して槽内を飽和させた後、展開を行った。約7 $\,$ cmまで展開したのち風乾し、展開距離と各スポットの移動距離を測定し $\,$ Rf 値を求めた.

5. HPLC分析

装置:ポンプは880-PU, 検出器は870-UV, カラムオーブンは865-CO, オートサンプラーはAS-2057 Plus, 以上は日本分光(株)製, デガッサーはジーエルサイエンス(株)製DG660B, データ処理装置は(株)島津製作所製CHROMATOPAC C-R6Aを用いた.

測定条件 I カラム: COSMOSIL 5C18-AR-II (4.6 mm i.d.×150 mm, $5 \mu m$, ナカライテスク (株) 製), カラム

^{*} 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 Institute of Public Health 3-16-25, Shibasaki-cho, Tachikawa, Tokyo 190-0023 Japan

表1. 色素標準品

計り看色料		
計り看		

器号	食品添加物名	Colc No.	Color Index o. Name	- FDA名	E番号	別名(色素名、英名、日本名別名等)	分子式	分子量	吸収極大 波長 (nm)
R2	食用赤色2号	16185	Food Red 9 Acid Red 27	D & C Red No.2	E123	アマランス, Amaranth, Naphthol rots, Azo Rubine S, Azo Rubine SF	$C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$	604.47	520
R102	食用赤色102号	16255	Food Red 7 Acid Red 18		E124	$\exists x - \exists h \forall \lambda$, New Coccine, Ponceau 4R, Brilliant Scarlet 3R, Cochineal Red A	$C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$	604.47	208
R3	食用赤色3号	45430	Food Red 14 Acid Red 51	FD & C Red No.3	E127	エリスロシン, Erythrosine, エリスロシンB, ヨート゛エオシンB, Erythrosine BS	$C_{20}H_6I_4Na_2O_5$	879.86	526
R104	食用赤色104号	45410	Acid Red 92	D&C Red No.28		フロキシン, Phloxine, エリスロシン2B, Phloxine B, Phloxine BP, Phloxine BW. Phloxine RB. 赤色104号の(1)	$C_{20}H_2Br_4Cl_4Na_2O_5$	829.63	538
R105	食用赤色105号	45440	Acid Red 94			ベンガル, Rose E al B, Rose Ben	$C_{20}H_2CI_4I_4Na_2O_5$	1017.64	548
R106	食用赤色106号	45100	Acid Red 52			. a)	$C_{27}H_{29}N_2NaO_7S_2$	580.65	995
R40	食用赤色40号	16035	Food Red 17	FD & C Red No.40	E129	アルラレット、Allura Red AC, アルラレット、	$C_{18}H_{14}N_2Na_2O_8S_2$	496.42	501
Y4	食用黄色4号	19140	Food Yellow 4 Acid Yellow 23	FD & C Yellow No.5	E102	タートラジン, Tartrazine, レモンエローA	$C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$	534.36	428
Y5	食用黄色5号	15985	Food Yellow 3	FD & C Yellow No.6	E110	†ፖቲット/፲፱-, Sunset Yellow FCF, ተレンジ ፲፱-S, Orange Yellow S, Edicol Spura Yellow	$C_{16}H_{10}N_2Na_2O_7S_2$	452.37	482
G3	食用緑色3号	42053	Food Green 3	FD & C Green No.3		$77-\lambda y^* y - y \text{FCF}$, Fast Green FCF	$C_{37}H_{34}N_2Na_2O_{10}S_3$	808.85	628
B1	食用青色1号	42090	Food Blue 2	FD & C Blue No.1	E133	プリリアントプ・ルーFCF, Brilliant Blue FCF, Maple Brilliant Blue FCF, Edicol Supra Blue EG	$C_{37}H_{34}N_2Na_2O_9S_3$	792.85	630
B2	食用青色2号	73015	Food Blue 1 Acid Blue 74	FD & C Blue No.2	E132	インジ・コ゛カルミン, Indigo Carmine, Indigotine, インジ・コ゜チンエキストラA	$C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$	466.35	612
指定外着色料	安								
番号	色素名	Colo No.	Color Index Io. Name	FDA名	E番号	別名(色素名、英名、日本名別名等)	分子式	分子量	吸収極大 波長 (nm)
1	Azo Rubine	14720	Food Red 3 Acid Red 14		E122	Carmoisine, Chromotrope FB, Brilliant Carimsom Rod, Azorubin S, Carmoisin S	$C_{20}H_{12}N_2Na_2O_7S_2$	502.43	516
2	Fast Red E	16045	Food Red 4 Acid Red 13				$C_{20}H_{12}N_2Na_2O_7S_2$	502.43	504
3	Eosine	45380	Acid Red 87	D&C Red No.22		(旧)食用赤色103号,赤色230号の(1), Eosine A, Eosine BS, Eosine G, エオンYS(Na塩), Eosin Yellowish, Eosin Y	$C_{20}H_6Br_4Na_2O_5$	691.85	516
4	Red 2G	18050	Food Red 10 Acid Red 1		E128	ੁਲ	; C ₁₈ H ₁₃ N ₃ Na ₂ O ₈ S ₂	509.42	530 506
S	Ponceau 6R	16290	Food Red 8 Acid Red 41		(E126)	スカーレット6R, Scarlet 6R	$C_{20}H_{10}N_2Na_4O_{13}S_4$	706.52	517
9	Ponceau R	16150	Food Red 5 Acid Red 26	D&C Red No.5		Ponceau MX, (旧)食用赤色101号,赤色503号,Ponceau 2R, Xylidine Ponceau 2R, Ponceau G, Scarlet 2R, Ponceau Xylidine	$C_{18}H_{14}N_{2}Na_{2}O_{7}S_{2}$	480.42	504
7	Ponceau 3R	16155	Food Red 6	D&C Red No.1		スカーレットト, (旧)食用赤色1号,赤色502号	$C_{19}H_{16}N_2Na_2O_7S_2$	494.45	509

∞	Ponceau SX	14700	Food Red 1	FD&C Red No.4		メイプ ルポ ンソーSX, Maple Ponceau SX, (旧)食用赤色4号, 赤色504号	C ₁₈ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₇ S ₂	480.42	501
6	Red 10B	17200	Food Red 12 Acid Red 33	D&C Red No.33		Acetyl Red B,Azofuchsin,赤色227号,Fast Acid Magenta,Fast Acid Magenta B,Fast Acid Fuchsine B,Naphtalene Red B	C ₁₆ H ₁₁ N ₃ Na ₂ O ₇ S ₂	467.38	529
10	Red FB	14780	Food Red 13			Thiazine Red	$C_{24}H_{15}N_3Na_2O_7S_3$	599.57	507
11	スカーレット GN	14815	Food Red 2		(E125)	Scarlet GN, 7½y ½ ¾ ½b-½y ⅓GNA	$C_{18}H_{14}N_2Na_2O_6S_2$	464.42	489
12	Red 6B	18055	Food Red 11 Acid Violet 7			Amidonaphthol Red A6B, Acid Red 6B	$C_{20}H_{16}N_4Na_2O_9S_2$	566.47	523
13	ホルト・ーレット・	16180	Acid Red 17			ボーチックスB, Bordeaux R, Bordeaux Red	$\mathrm{C}_{20}\mathrm{H}_{12}\mathrm{N}_2\mathrm{Na}_2\mathrm{O}_7\mathrm{S}_2$	502.43	522
14	Rhodamine B	45170	Basic Violet 10	D&C Red No.19		赤色213号	$C_{28}H_{31}CIN_2O_3$	479.01	553
15	Naphthol Yellow S	10316	Food Yellow 1 Acid Yellow 1	Ext.D&C Yellow No.7		(旧)食用黄色1号, アニリンエロー, 黄色403号の(1), フラピン酸ニナレリウム	$C_{10}H_4N_2Na_2O_8S$	358.19	429 392
16	Xylene Yellow	18965	Food Yellow 5 Acid Yellow 17		(107)	Yellow 2G, Xylene Fast Yellow 2G, Acid Fast Yellow G, Acid Light Yellow 2G	$C_{16}H_{10}Cl_2N_4Na_2O_7S_2$	551.29	400
17	Quinoline Yellow	47005		D&C Yellow No.10	E104	黄色203号, Quinoline Yellow WS, Quinoline Yellow water soluble	C ₁₈ H ₁₀ NNaO ₅ S	375.33	414
18	,		Acid Yellow 3				$\mathrm{C_{18}H_9NNa_2O_8S_2}$	477.38	416
19	Orange II	15510	Acid Orange 7	D&C Orange No.4		Gold Orange, β-ファトールオンンジ, Acid Orange A, だいだい色205号, Tropaeolin 000 NR2, Mandarin G	$C_{16}H_{11}N_2NaO_4S\\$	350.32	484
20	クロセインオレンジ	15970	Food Orange 1 Acid Orange 12			Crocein Orenge G, Orange RN	$C_{16}H_{11}N_2NaO_4S$	350.32	483
21	Orange GGN	15980	Food Orange 2		(E1111)	N99-ат	$\mathrm{C}_{16}\mathrm{H}_{10}\mathrm{N}_{2}\mathrm{Na}_{2}\mathrm{O}_{7}\mathrm{S}_{2}$	452.37	480
22	Orange I	14600	Acid Orange 20	Ext.D&C Orange No.3		α-ナフトールオレンジ, (旧)食用だいだい色1号, だいだい色402号, Orange S	C ₁₆ H ₁₁ N ₂ NaO ₄ S	350.32	475
23	Orange G	16230	Food Orange 4 Acid Orange 10	D&C Orange No.3		アシット ファストオレンシ。G, Wool Orange 2G, Orange 10, Acid Orange G	$C_{16}H_{10}N_2Na_2O_7S_2$	452.37	478
24	7) y 1/2 S	14270	Food Yellow 8 Acid Orange 6		(E103)	Chrysoine S, Chrysoin, Tropaeolin O, Tropaeolin R, IB-T, Sulfo Orange, Gold Yellow, Resorcinol Yellow	C ₁₂ H ₉ N ₂ NaO ₅ S	316.27	413
25	Green S	44090	Food Green 4 Acid Green 50		E142	Brilliant Milling Green, Lissamine Green BS, η – ν / * / $^-$ /BS, Wool Green S, Lissamine Green B	C_2 7 H_2 6 N_2 O $_7$ S $_2$	554.63	635
26	ブリリアントミリンググ リーン	42100	Acid Green 9			Alizarin Green, Acid Fast Green, Patent Green, Brilliant Acid Green	$C_{37}H_{34}CIN_2NaO_6S_2$	725.25	641
27	ライトグリーンSF黄口	42095	Food Green 2 Acid Green5	FD&C Green No.2		Light Green SF Yellowish, ファストブシット グリーンN (旧)食用緑色2号, 緑色205号, Acid Green GG, Acid Brilliant Green ASF, Lissamine Green SF	C ₃₇ H ₃₄ N ₂ Na ₂ O ₉ S ₃	792.85	633
28	ギネアグリーンB	42085	Food Green 1 Acid Green 3	FD&C Green No.1		Guinea Green B,(旧)食用緑色1号,緑色402号,Pontacyl Green B,Acid Green B	$C_{37}H_{35}N_2NaO_6S_2$	08.069	618
29	ヘ゛ンシ゛ルバ イオレット4B	42640	Food Violet 2 Acid Violet 49	FD&C Violet No.1		アシット・バイオレット6B, Acid Violet 6B, (旧)食用紫色1号, Wool Violet 5BN, Acid Violet 4BS, Acid Violet, Violet 5BN, Benzylviolett	$\mathrm{C_{39}H_{40}N_3NaO_6S_2}$	733.87	546
30	77.7° – 167° 16 – 14 18	42045	Food Blue 3 Acid Blue 1			= 0	$C_{27}H_{31}N_2NaO_6S_2$	99.995	889
31	Patent Blue V	42051	Food Blue 5 Acid Blue 3		E131	パ デシトプ ルーV, Patent Blue Violet	C_2 7 $H_{31}N_2O_7S_2$ 1/2 Ca	579.71	638
32	Brilliant Black BN	28440	Food Black 1		E151	Black PN, 7 JJTV 17 J9/BN, Brilliant Black PN, Black BN	$C_{28}H_{17}N_5Na_4O_{14}S_4$	89.798	571
33	Amid Black 10B	20470	Acid Black 1	D&C Black No.1		Naphthol Blue Black,黑色401号	$C_{22}H_{14}N_6Na_2O_9S_2$	616.49	618

温度:40℃, 検出波長:254 nm, 移動相:0.025 mol/L酢酸 アンモニウム/アセトニトリル/メタノール(7:3:1)混液に TBAB を0.006 mol/Lの濃度となるよう加えた溶液,流速: 1.0 mL/min, 注入量:10 μL.

測定条件Ⅱ 移動相: 0.025 mol/L酢酸アンモニウム/アセ トニトリル/メタノール(5:4:1)混液にTBABを0.006 mol/L の濃度となるよう加えた溶液. その他の条件は I と同様と した.

6. 食品中からの色素抽出及び試験溶液の調製

衛生試験法・注解2005²⁾ に準拠し、ポリアミド染色法に より試験溶液を調製した.50%エタノールに溶かした溶液 をTLC及びHPLCに供した.

結果及び考察

1. TLC分析

スクリーニング試験として簡便性と取り扱い易さを第一 義として, 薄層板は逆相系シリカゲル (RP-18) のアルミ ニウムプレートを,展開溶媒はメタノール/アセトニトリル /5%硫酸ナトリウム溶液(3:3:10)を用いて行うこととした. 試験は衛生試験法に記載してある方法に準じて行った. た だし、展開距離は約7 cm、展開溶媒浸漬は約1 cmとした. 12種の許可色素溶液を用いてRf 値の室内再現精度を求め たところ, 相対標準偏差はいずれも2%以下 (n=4) であり, 再現性は良好であることを確認した。ただし、展開溶媒は1 日以上放置するとRf 値が低下し、良好な再現性が得られな かったので, 調製し展開槽内を飽和後, 直ちに使用する必 要があった. キサンチン系色素はこの条件では原点に留ま り分離しないが、一次スクリーニングとしては差し支えな いと考えた. 必要時には他の条件, 例えばメチルエチルケ トン/メタノール/硫酸ナトリウム溶液の展開溶媒などで行 えばこれらは良好に分離し、確認することができる.

許可色素の良好な再現性の結果をうけて、指定外色素33 種について同様に試験を行った. 対照としてR2, R102, R106, Y4, Y5, B1及びG3を同時に展開した. その結果, 許可色 素と指定外色素との分離は一部を除いて良好であり、スク リーニング試験として指定外色素の添加の有無を確認する ことが可能であると考えられた. 色調及びRf 値が近似で区 別が困難だったものは、R40と4及びG3と25であった. Rf 値の結果を表2に、クロマトグラムを図1に示した.

2. HPLC分析

汎用性のある簡便で迅速な試験法の確立を目的に、測定 条件を検討することとした. また、TLCのスクリーニング 試験結果から、着色料添加の有無及びRf 値と共に色調の判 別が可能であるので、HPLCの検討はRed系、Yellow系及び Green/Blue系の3グループに分けて行うこととした.

着色料のHPLC分析は、許可色素だけを対象としたもの3) や、指定外着色料も含めてグラジェントで一斉分析してい るものがほとんどである $^{4,5)}$. 今回, 簡便性と保持時間の

表 2. 合成着色料の分析結果

許可		TLCの	HPLCの保持	寺間(分)
着色料	略号	Rf値	条件 I	条件Ⅱ
Red	R2	0.86	8.9	
	R102	0.70	16.4	
	R3	0	> 60 **	5.9
	R104	0	-	13.7
	R105	0	-	26.0
	R106	0.06	20.8	3.5
	R40	0.46	7.2	
Yellow	Y4	0.96	6.6	
	Y5	0.59	5.8	
Green/Blue	G3	0.23	10.3	
	B1	0.18	13.8(+13.2) *	
	B2	0.80	3.7	
HA 근 H				t. BB (/\)
指定外	番号	TLCO	HPLCの保持	
<u>着色料</u>		Rf値	条件 I	条件Ⅱ
Red	1	0.26	25.5	
	2	0.33	14.7	
	3	0.11	39.8	3.7 ***
	4	0.45	13.1	
	5	0.97	15.6	
	6	0.28	29.2	
	7	0.21	46.4	4.0 ***
	8	0.26	33.2	
	9	0.51	11.3	
	10	0.08	> 60 **	4.2
	11	0.36	21.5	
	12	0.57(+0.20) *	5.7	
	13	0.21	37.0	
	14	0	-	7.9
Yellow	15	0.54	18.2	
	16	0.47	9.0	
	17	0.16	10.6	
	18	0.64+0.43 *	4.3+10.7 *	
	19	0.07	31.7	4.8 ***
	20	0.08	31.7	4.7 ***
	21	0.56	7.1	
	22	0.18	10.3	
	23	0.55	11.2	
	24	0.45+0.38 *	4.5(+6.3)*	
Green/Blue	25	0.24	5.0	
	26	0.01	39.9	3.7
	27	0.21(+0.07) *	3.0(+9.0) *	
	28	0.01	> 60 **	3.8
	29	0	-	4.9
	30	0.09	14.6	3.1 ***
	31	0.05	31.3	4.1 ***
	32	0.64	26.5	-
	33	0.07	> 60 **	6.2

- * スポットまたはピークが複数認められたものを表す.
- 60分でも溶離しない.
- *** クロマトグラムは示していない.

再現性に優れたアイソクラティックで検討を行った. アイ ソクラティックで一斉分析を行うには固定相への分離選択 性の付与を増大させる必要があり、そのためにイオンペア ー試薬を用いることが有効である. 種々のイオンペアー試 薬を用いた検討が行われているが3,6,7),今回は石川ら の報告⁷⁾を参考に、TBABを用いることとした.

カラムは、環状多環芳香族の立体異性体分離に有効とい われているポリメリックODSカラムが適当と考え,

Cosmosil 5C-18 AR-II 及びInertsil ODS-2を用いて比較検討 した. その結果, Inertsil ODS-2は保持が強く分析に長時間 を要したので、Cosmosil 5C-18 AR-II を用いて以下検討することとした。移動相は、まず初めに、TBAB含有酢酸アンモニウム溶液/アセトニトリル系で、その割合を7:3と7:4で比較したところ、前者は分離に長時間かかり、後者は逆に十分な分離が得られなかった。そこで、この系にさらにメタノールを加えて検討を行ったところ、TBAB含有酢酸アンモニウム溶液/アセトニトリル/メタノールが7:4:1では分離は改善されなかったが、7:3:1で良好な分離が得られた。TBABの濃度は0.006から0.007 mol/Lまでで比較したところ、0.006 mol/L で十分な分離を得ることができたので、TBAB濃度は0.006 mol/Lとした。以上の検討結果から得られた測定条件での保持時間を表2に、クロマトグラムを図2に示した。保持時間は許可色素は4回の平均値、指定外色素は2回の平均値で示した。

検出は紫外部吸収検出器を用い検出波長254 nmを選択した. 一斉分析では254 nmが適当と考えられたが, 青色系色素, 特に27は50 μg/mL以上の濃度を必要とした. しかし, 検出波長を可視部630 nmに設定すると5倍以上感度は上昇し, 十分な検出感度を得ることができた. 特に青色系では, 波長を変えることが有効であった.

3. TLCとHPLCの併用による確認試験

TLCとHPLCを組み合わせて試験することは定性試験の精度を上げることにもつながり有効であると考え、検討を行った.その結果、TLCでRfが近接して判別確認できないものでも、HPLCで分離が可能であり確認試験として良好な結果が得られた.逆にHPLCで保持時間が近接しているもの、例えば2と5及び17と22と23はTLCのRf値やスポットの色により判別することが出来た.このようにTLCとHPLCを併用することにより、より確実な同定が可能となった.

HPLC条件 I で行ったとき、TLCで確認し難かったもの、Red系ではR40と4、1と6と8、2と11及び7と13、Yellow系では16と24及び15と21と23、Green/Blue系ではG3と25と27、B1と27、30と33及び31と33は、いずれも良く分離し、保持時間 (t_R) の比較により確認試験が可能であった。TLCのRf 値が0.1以下のものは、条件 I では溶出に長時間かかるか、あるいは溶出しないので、条件 II で行うこととした。キサンチン系のR3、R104、R105、R106と14は条件 II で良好な分離を示した。26と28はTLCのRf 値がいずれも0.01であり、HPLCの条件 II で試験を行ったが、両者は完全には分離しなかった。しかし、条件 I で26は t_R が39.9分であるのに対し28は60分以上かかることから、両者の判別は可能であった。

キノリンイエロー(17及び18)はキノリルインダンジオン骨格にスルホン酸基(ナトリウム塩)が付加したもので、その数が 1 個から3個までのものの混合物であることは既に知られている 8,9 . 今回,色素標準品にシグマ社製のもの(17)とクロマ社製のもの(18)を使用した.条件 I で HPLCを行ったとき,シグマ社のキノリンイエローは t_R が 10.6分にピークが出現したのに対し,クロマ社のキノリン

イエローは4.3分と10.7分にピークが検出された. また, 東京化成工業(株)製のキノリンイエローもシグマ社のものと同一パターンを示した.これらのことについて伊藤らは,東京化成工業(株)のキノリンイエローは,アルドリッチ社製や米国のキノリンイエロー標準色素D&C Yellow No.10と同様,モノスルホン化体が主体であると言及している⁹⁾.キノリンイエローの添加が疑われる場合には標準品に注意が必要である. なおHPLCのクロマトグラム(図2)はシグマ社製のものを示した.

19と20については、TLCとHPLCいずれでも、両者を分離確認することが出来なかった。19と20のHPLCについては、移動相を変えて行う¹⁰⁾か、あるいはフォトダイオードアレイ検出器を用いて両者のスペクトルの差異により確認する¹¹⁾ことが必要である。

なお、14 (ローダミンB) は、塩基性タール色素であるが、最近違反事例として挙がっている $^{1)}$ ので標準色素溶液を用いたTLC及びHPLCを示した.

4. 市販製品への適用

日常業務において、表示違反検体の再試験としての対応や、添加量が少量なためTLCでは検出できなかった表示色素の確認試験に本法を活用し、良好な結果を得ることができた。また、平成16年度の外部精度管理試験(清涼飲料水中のR102, Y4及びB1)や都区精度管理試験(醤油中のR40,R104及び指定外色素グリーンS)に適用したところ、適正かつ迅速に試験を行うことができ、本法が有用であることを確認した。

まとめ

TLCとHPLCを併用して,指定外色素を含めた45種類の合成着色料の一斉分析法を検討した.その結果,TLCでスクリーニングを行い,Rf と色調をパターン化し,それを基にHPLC一斉分析法を行い,その保持時間を比較することにより効率よく確認する方法を確立した.HPLCは最もシンプルな装置を用いて行ったが,保持時間の再現精度は,イオンペアーを使ったアイソクラティックHPLC法で行えば良好であり,確認試験に有効であった.

日常業務のなかで指定外色素の混入が疑われたときに、TLCのRf 値とHPLCでの保持時間を既知値として把握しておくことは試験の迅速化にとって重要である。また本法をもとに、検出器にフォトダイオードアレイを用いる方法に発展させることは容易であり、スペクトルの波形で確認すれば試験はより確実になる。行政試験には、試験結果の正確性と迅速性が必要である。特に違反色素が検出された場合は、再分析やLC/MSによる確認も必要になることもある。このようなときにおいても分析時間の短縮が期待でき、本法は効率化に寄与できると考える。また、本法から得られた結果を既知数としてデータベース化しておくことは、今後の試験の効率化に有効であり、さらにまた今回取り上げられなかった色素化合物の確認試験が生じた時にも予測し

易く,本法は有用と考える.

謝 辞 本報をまとめるにあたりご助言下さいました食品添加物研究科石川ふさ子主任研究員に深謝します.

文 献

- 1) 厚生労働省:輸入食品監視業務ホームページ 輸入届 出における食品衛生法違反事例
 - http://www.mhlw.go.jp/topics/yunyu/tp0130-1.html
- 2) 日本薬学会編:衛生試験法・注解 2005, 348-359, 2005, 金原出版,東京.
- 3) 大戸幹也, 松永明信, 山本敦, 他: 食衛誌, **29**, 192-198, 1988.
- 4) Kirschbaum, J., Krause, C., Pfalzgraf, S., et al.: Chromatographia, 57, S115-S119, 2003.

Rf

- 5) 中沢久美子, 嶋村保洋, 中島和雄, 他: 東京衛研年報, **46**, 108-114, 1995.
- 6) 渡邊久芳,青山吉一,坂川信昭,他:農林水産消費 技術センター調査研究報告, 17,85-97,1993.
- 7) 石川ふさ子, 斉藤和夫, 中里光男, 他: 食衛誌, 37, 281-287, 1996.
- 8) 石川ふさ子, 斉藤和夫, 中里光男, 他:東京衛研年報, **42**, 141-146, 1991.
- 9) 伊藤弘一, 岸本清子, 鈴木助治, 他: 東京衛研年報, 43, 59-65, 1992.
- 10) 植松洋子, 広門雅子, 中島和雄, 他: 東京衛研年報, **39**, 151-155, 1988.
- 11) 上野英二,中島秀隆,高倉謙造,他:食衛誌,**37**,226-230,1996.

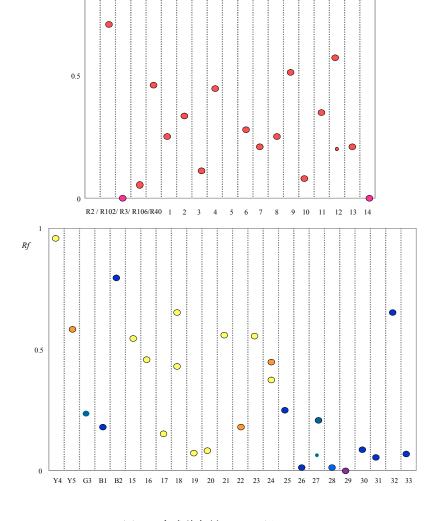


図1. 合成着色料のTLCパターン 色素名の略号または番号は表1に示した.

