

食用黄色5号(サンセットイエローFCF)の不適事例について

辻 澄子[#]・松村郁子・中村優美子・外海泰秀

Studies on Rejected Food Yellow No.5 (Sunset Yellow FCF)

Sumiko Tsuji[#], Ikuko Matsumura, Yumiko Nakamura and Yasuhide Tonogai

One of the sunset yellow FCFs (Y-5) in the official inspection of coal-tar dyes in 1998 was rejected. The results of tests of the rejected sample were submitted to JSFA-VI except for a sub-spot by paper chromatography. HPLC of the raw materials, intermediates, and subsidiary dyes according to JSFA-VII was performed on the rejected and submitted samples of Y-5. The sub-spot in the rejected sample was identified as sulfanilic acid-azo-R salt, and its content was estimated at more than 5%.

Keywords: sunset yellow FCF, subsidiary dye, paper chromatography, HPLC

緒 言

平成10年度の製品検査において食用黄色5号(Y-5)40件中1件が第六版食品添加物公定書(食添VI)¹⁾“他の色素”の項(ろ紙クロマトグラフィーによる)で付随色素が検出され不合格と判定された。一方、平成11年4月に公表された第7版食品添加物公定書(食添VII)²⁾には食用黄色5号の未反応原料、反応中間体及び副成色素等の含有量を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により測定して規制することが記載されている。そこで、今回の不合格品中の未反応原料、反応中間体及び副成色素の含有量をHPLCにより測定するとともに、平成10年度に合格したY-5中の含有量も測定し、これらを比較検討したので報告する。

実験方法

1. 試料: 製品検査検体
2. 標品: 未反応原料、反応中間体及び副成色素標品; 4-アミノベンゼンスルホン酸(スルファニル酸, SA)は試薬特級を、7-ヒドロキシ-1,3-ナフタレンジスルホン酸=二ナトリウム塩(GS), 3-ヒドロキシ-2,7-ナフタレンジスルホン酸=二ナトリウム塩(RS), 6-ヒドロキシ-2-ナフタレンジスルホン酸=一ナトリウム塩(SS), 6,6'-オキシピス(2-ナフタレンジスルホン酸)=二ナトリウム塩(DONS), 4,4'-(ジアゾアミ

ノ)ジベンゼンスルホン酸=二ナトリウム塩(DAADBSA), スルファニル酸アゾG塩色素(GS-SA), スルファニル酸アゾR塩色素(RS-SA), スルファニル酸アゾβ-ナフトール色素(2N-SA)及びアニリンアゾシェファー塩色素(SS-AN)は三栄源エフ・エフ・アイ(株)標品を使用した。色素標準品;サンセットイエローFCF(食用黄色5号:Y-5)は国立医薬品食品衛生研究所標準品を使用した。

3. 試薬: アセトニトリル; HPLC用アセトニトリルを用いた。その他の試薬は全てJIS特級品を使用した。

4. ろ紙クロマトグラフィー

食添VIに従った。すなわち、試料0.1gを量り、水を加えて100mlとして、検液とした。検液2μlをろ紙にスポットし、n-ブタノール・1%アンモニア溶液・無水エタノール混液(6:3:2)を展開溶媒としてろ紙クロマトグラフィーを行った。ただし、Y-5標準品は0.1gを量り、他の標品は10mgを量り、水を加えて100mlとした。

5. HPLC

カラム: 化学品検査協会製 L-column ODS-5μm(4.6 mm φ×250 mm), 流速: 1.0 ml/min, 検出波長: 紫外; 253 nm, 可視; 482 nm, 注入量: 20 μl, 温度: 40℃。

移動相の濃度勾配条件: 移動相A; 0.02 mol/l 酢酸アンモニウム溶液, 移動相B; アセトニトリル-水混液(7:3), 濃度勾配; A, 100%で10分間保持した後, A:B(100:0)から(42:58)までの直線濃度勾配を40分間行い, そのまま5分間保持した。次の分析再開前15分間移動相A液での平衡化を行った。

試験溶液の調製: 各試料約100mgを精密に量り, 0.02 mol/l 酢酸アンモニウム溶液(pH 8.0)を加えて, 全量を正確に100mlとし, 試験溶液とした。

[#]To whom correspondence should be addressed: Sumiko Tsuji; 1-1-43, Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan; Tel: 06-6941-1533; Fax: 06-6942-0716; E-mail: tsuji@nihs.go.jp

Table 1. Analytical result of rejected sample of sunset yellow FCF

Tests	Specification of JSFA-VI*	Result (4 samples of one lot)
Description	Normal	Normal
Identification	Normal	Normal
Absorption maximum	480-484 nm	482 nm
Purity		
Chloride and Sulfate	Not more than 5.0 %	1.11 ± 0.22 % 0.09 ± 0.07 %
Heavy methals	Not more than 20 μg/g as Pb	Passed
Arsenic	Not more than 4.0 μg/g as As ₂ O ₃	Passed
Other coloring matters	Only one spot	Two spots
Loss on Drying	Not more than 10.0 %	2.13 ± 0.36 %
Assay	Not less than 85.0 %	92.6 ± 1.6 %

*JSFA-VI:Japanese Standards of Food Additives,Sixth Edition.

6. 装置

ポンプ：日本分光(株)製 JASCO 880-PU (2台), 溶媒脱気装置：ユニフローズ(株)製デガシス DG-1200, システムコントローラー：日本分光(株)製 JASCO 802-SC, オートサンプラー：日本分光(株)製 JASCO 851-AS, カラム恒温槽：日本分光(株)製 JASCO CO-1560 (冷却装置付), 検出器：日本分光(株)製及び JASCO 870UV, データー処理装置：日本分光(株)製 JASCO/JMBS BORWIN, Dell-Latitude CP/, HP LaserJet 6P.

7. 規格値

Y-5の規格値は食添VIに従った。ただし、HPLCに関しては食添VIIに準じた。

実験結果及び考察

1. 試験成績

Table 1にY-5の規格値及び不適検体A-aの試験成績を示した。“他の色素”の項(ろ紙クロマトグラフィーによる)以外は全て規格内であった。

2. ろ紙クロマトグラフィー

食添VIに従ってろ紙クロマトグラフィーを行った結果、Fig.1に示したように、A-aは主色素のスポット以外に原点近くにスポットを認めた。主色素に対して10%濃度の副成色素標品のスポットは肉眼でようやく確認出来、それらのRfからA-aの主色素以外のスポット(他の色素)はRS-SA又はGS-SAと推測された。

3. HPLC

Fig.2に示したように、Y-5の未反応原料、反応中間体及び副成色素の標品のHPLCクロマトグラムは、食添VII記載のHPLC条件^{2,3)}によって分析すると、GS-SA及びDAADBSAのピークが同一の保持時間(Rt)を示し分離できないが(Fig.2-I), A液を10分間保持することにより、GS-SA及びDAADBSAが分離した(Fig.2-II)⁴⁾。したがって、改良したHPLC条件によって当該Y-5の分析を行った。

当該Y-5(A-a)中の巨大ピーク4のRtはRS-SAに一致し(Fig.3,A-a), 吸収スペクトルも標品と全く一致した(Fig.4)。一方、同一会社の合格検体であるA-bのピーク4は小さく(Fig.3,A-b), A-a中の他の色素はRS-SAと判定され、その含有量は5%以上であった。また、A-a中にはRS-SA以外の不明な有機性不純物ピークも検出された。

平成10年度に行った製品検査中すべてのY-5検体につ

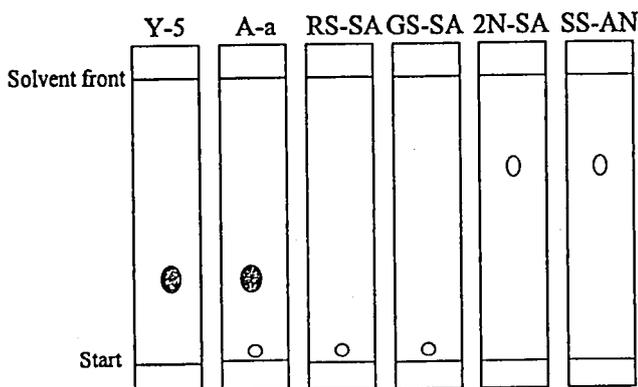


Fig.1. Paper chromatograms of rejected sample and standards
Substance:standard of Y-5; 1 mg/ml, A-a(rejected sample); 1 mg/ml, another standards;each 0.1 mg/ml.
Condition:developing solvent;a mixture of n-butanol, 1% ammonia solution and absolute ethanol(6:3:2),sample size; 2 μl.

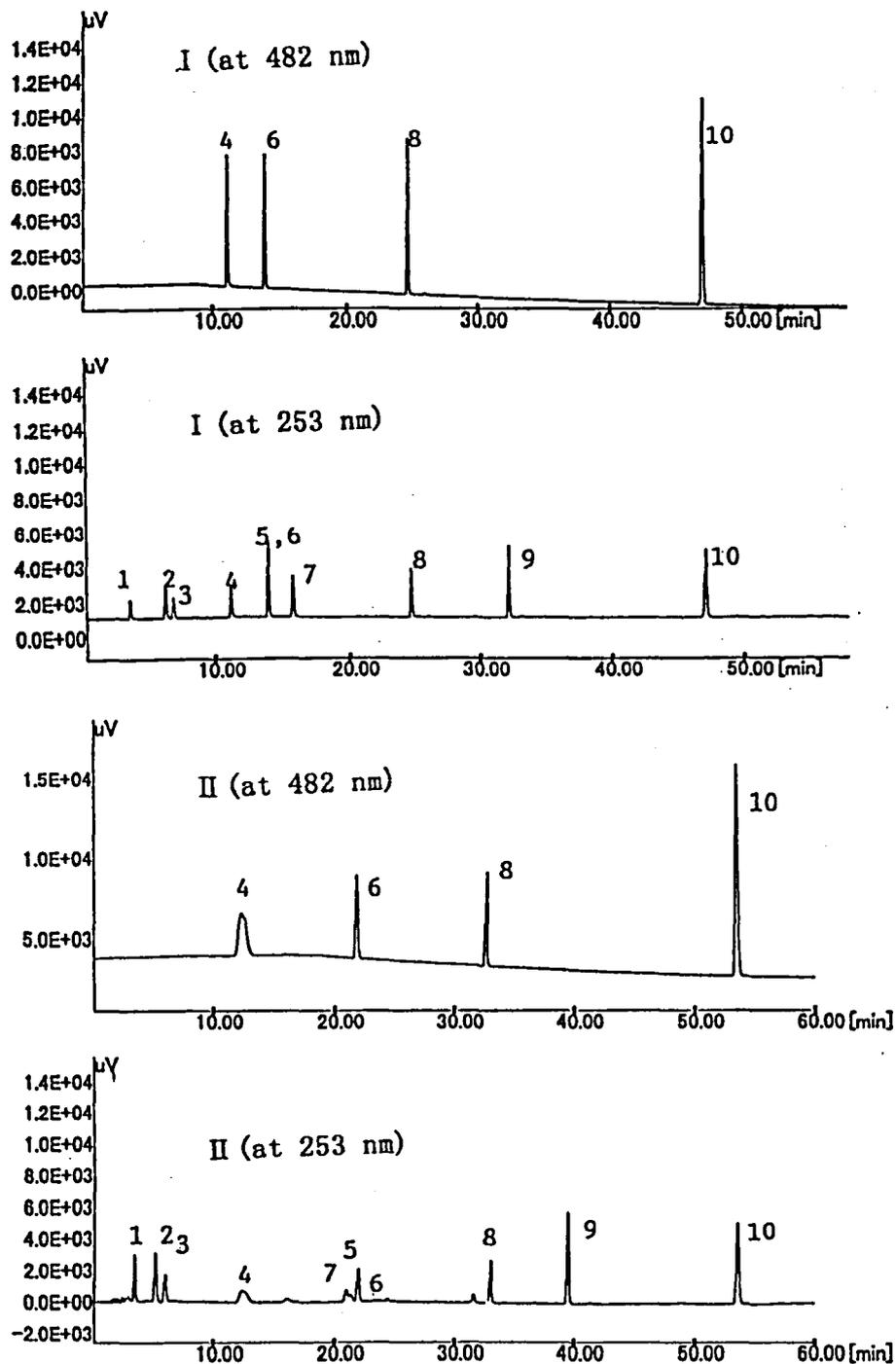


Fig.2. HPLC chromatograms of standard solution of sunset yellow FCF and organic impurities

1: SA, 2: GS, 3: RS, 4: RS-SA, 5: DAADBSA, 6: GS-SA, 7: SS, 8: Y-5, 9: DONS, 10: 2N-SA+SS-AN.

HPLC condition: column: L-column ODS (ϕ 4.6 mm \times 250 mm), eluent; A, 0.02 mol/l ammonium acetate, B, $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (7/3), flow rate; 1.0 ml/min, concentration of each standard solution; 1.0 μ g/ml, sample size; 20 μ l.

Condition I : column temp.; 30 $^\circ\text{C}$, gradient profile; 0 min \rightarrow 50 min (A:100 \rightarrow 42), 50 min \sim 60 min (A:42).

Condition II : column temp.; 40 $^\circ\text{C}$, gradient profile; 0 min \sim 10 min (A:100), 10 min \rightarrow 50 min (A:100 \rightarrow 42), 50 min \sim 55 min (A:42).

Column was allowed equilibrium with eluent A for 15 min before reanalysis, at HPLC condition I or II, respectively.

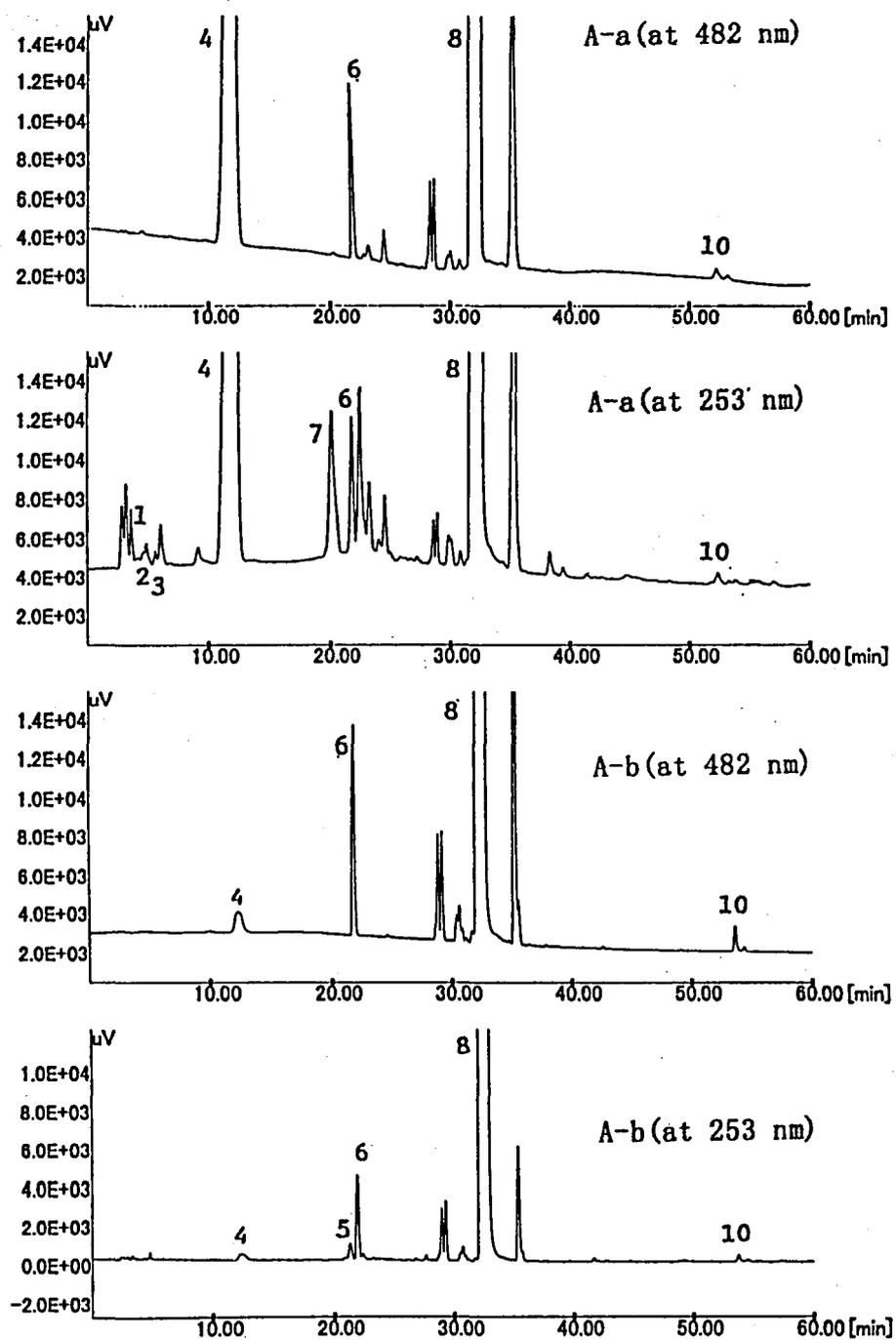


Fig.3. HPLC chromatograms of sample solution of Y-5
 HPLC condition II: see Fig.2.
 Substance: A-a; rejected sample, A-b; submitted sample produced by the same company.
 Concentration of sample solution: 1 mg/ml.

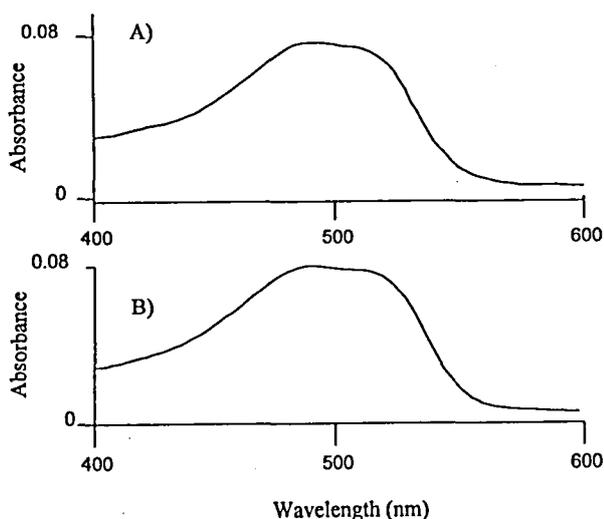


Fig.4. Absorption spectra of the peak corresponded to the retention time of RS-SA

A) Spectrum of standard solution (RS-SA:10 μg/ml).
B) Spectrum of sample solution (A-a:1mg/ml).

いて、同様に HPLC により有機性不純物を測定し、その結果を Table 2 に示した。A-a 以外の検体については、有機性不純物はいずれも少なく、食添Ⅶの規格値にも合格していた。

以上のことから、ろ紙クロマトグラフィーで認められた他の色素は RS-SA であり、この副成色素は原料中に含まれる不純物がジアゾカップリング時に生成したと考えられた。

不適検体を製造した会社に対して、反応原料中の夾雑物の含有量を少なくするよう指導したことにより、その後の同社から製造された Y-5 にはろ紙クロマトグラフィーによる不随色素は検出されず、HPLC による他の夾雑物ピークも Fig.3, A-b のように少なく、すべて食添Ⅶの規格値内であった。

まとめ

平成 10 年度の製品検査中 Y-5 において、“他の色素”の項(ろ紙クロマトグラフィーによる)で付随色素が検出され不適と判定された検体が 1 件認められた。当該 Y-5 中の未反応原料、反応中間体及び副成色素の含有量を HPLC により測定した結果、他の色素は RS-SA であり、約 5% 含んでいることが明らかになった。また、他の Y-5 の合格検体はいずれも食添Ⅶの規格値にも合格していた。

文献

- 1) 厚生省：“第六版食品添加物公定書” pp.29-33, 325(1992)
- 2) 厚生省：“第七版食品添加物公定書” pp.25-31, 308-309(1999)
- 3) 山田真記子, 中村幹雄, 山田 隆, 米谷民雄, 合田幸広：日食化誌, 3, 151-155 (1996)
- 4) 辻 澄子, 松村郁子, 中村優美子, 外海泰秀：日本食品衛生学会第 77 回学術講演会講演要旨集, p.33 (1999)

Table 2. Contents of raw materials, intermediates and subsidiary dyes in inspected samples of sunset yellow FCF

Company Sample (n)	Raw materials and intermediates (%)							Subsidiary dyes (%)			
	SA	SS	RS	GS	DONS	DAADBSA	Total	RS-SA	GS-SA	2N-SA+SS-AN	Total
A-a	0.03	0.29	0.09	0.02	ND	ND	0.43	5.14	0.01	0.04	5.19
b	ND	ND	ND	ND	ND	0.06	0.06	0.03	0.21	0.05	0.29
c	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	0.01	0.04	0.31	0.02	0.37
d	0.01	0.09	ND	ND	ND	0.02	0.12	0.01	ND	0.01	0.02
e	ND	0.13	ND	ND	ND	ND	0.13	0.56	0.01	0.02	0.59
f	0.12	0.01	ND	ND	0.12	ND	0.25	0.17	0.11	0.31	0.59
B(16)	ND-0.03	ND-0.19	ND	ND	ND	ND-0.06	0.04-0.20	ND-0.03	ND-0.21	ND-0.03	ND-0.26
C(7)	ND-0.02	0.02-0.15	ND	ND	ND	ND-0.13	0.10-0.20	ND-0.44	ND-0.02	0.02-0.05	0.02-0.47
D(5)	ND-0.01	0.05-0.13	ND	ND	ND	ND-0.02	0.06-0.15	ND-0.07	ND-0.05	ND-0.07	0.04-0.11
E(5)	ND-0.01	0.01-0.07	ND	ND	ND	ND-0.04	0.02-0.11	0.04-0.95	ND-0.01	0.01-0.03	0.07-0.98
F(1)	0.01	0.07	ND	ND	ND	0.03	0.11	0.04	0.01	0.02	0.07

Specification of JSFA-VII

Total of raw materials and intermediates: not more than 0.5 %

Total of subsidiary dye: not more than 5 %

Total of three subsidiary dyes except of RS-SA:
not more than 2 %

ND: less than 0.01 %