

食用青色1号 (ブリリアントブルーFCF) アルミニウムレーキの不適事例について

辻 澄子[#]・岡田 舞・天倉吉章・外海泰秀

Studies on Rejected Food Blue No. 1 (Brilliant Blue FCF) Aluminum Lake

Sumiko Tsuji[#], Mai Okada, Yoshiaki Amakura and Yasuhide Tonogai

One of the Brilliant Blue FCF aluminum lakes (B-1Al) in the official inspection of coal-tar dyes in fiscal year 1999 was rejected.

The results of tests of the rejected sample were submitted to JSFA-VII except for a violet sub-spot by paper chromatography. Its visual spectrum had same λ max 630 nm as B-1 standard and a very small shoulder at 580 nm in comparing to B-1 standard. HPLCs detected at 625 nm of subsidiary dyes and 580 nm were performed on the rejected sample of B-1Al. A sub-V in HPLCs of the sample which eluted at 37.6 min had its relative peak area of 7.9% at 580 nm and 0.24% at 625 nm, and its peak ratio (at 580 nm / at 625 nm) was extremely large. Consequently, it was presumed that the sub-V in those HPLCs corresponded to the violet sub-spot in paper chromatography.

Keywords: Brilliant Blue FCF aluminum lake, subsidiary dye, paper chromatography, HPLC

緒 言

平成11年度の製品検査において食用青色1号 (B-1Al) 8件中1件が第7版食品添加物公定書 (食添Ⅶ)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。

B-1には種々の副成色素の存在することが知られており、神蔵²⁾、Matsufuji et al.³⁾、Kusaka et al.⁴⁾ がそれら副成色素を単離し、その構造を報告している。しかし、それら標品の入手が困難なことより、Matsufuji et al. の高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 条件³⁾ により、不適検体のHPLC測定を行って付随色素の推定を行い、その含有量をピーク面積%法によって推定したので報告する。

実験方法

1. 試料：平成11年度製品検査B-1Al不適検体。
2. 色素標準品：ブリリアントブルーFCF (食用青色1号：B-1) は国立医薬品食品衛生研究所標準品を使用した。
3. 試薬：アセトニトリルは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Ⅶ¹⁾ に従った。

5. 吸収スペクトル測定

食添Ⅶ¹⁾ に従った。

6. HPLC

カラム：野村化学製 Deverosil ODS-UG-5 (ϕ 4.6 × 250 mm)，移動相：メタノール / 0.5% 炭酸アンモニウム溶液 (4: 6)，流速：1.0 ml/min，検出波長：625 nm 及び 580 nm，注入量：20 μ l，温度：40 $^{\circ}$ C。

7. HPLC用試験溶液の調製

食添Ⅶ「食用赤色40号アルミニウムレーキの純度試験副成色素の項」⁵⁾ に従った。すなわち、試料100 mgを精密に量り、硫酸 (1→20) 5 mlを加え、酢酸アンモニウム溶液 (7.7→1000) を加えて、全量を正確に100 mlとし、遠心分離した後、試験溶液とした。

8. HPLC装置

ポンプ：日本分光(株)製 JASCO 880-PU，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，検出器：日本分光(株)製 JASCO 970UV 及び JASCO 870UV，データ処理装置：日本分光(株)製 JASCO/JMBS BORWIN，Dell-Latitude CP/，HP LaserJet 6P。

[#] 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

9. 分光光度計

日立製分光光度計U320を用いた。

実験結果及び考察

1. 試験成績

Table 1にB-1AIの規格値及び不適検体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Ⅶに従って、検体の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、主色素のスポット以外に主色素上部近くに紫色のスポットを認めた。

B-1に含まれる各種付随色素のうち、一部については、神蔵²⁾やMatsufuji et al.³⁾, Kusaka et al.⁴⁾が単離し、その構造を明らかにしている。しかし、それら標品の入取は困難であった。

3. 吸収スペクトル

食添Ⅶに従って、検体及びB-1色素標準品の吸収スペクトルについて試験溶液調製後直ちに測定した。その結果(Fig. 2.), いずれも630 nmに吸収極大を示した。しかし、検体の方が標準品に比較して580 nmにおける極微量のシヨルダーが認められた。

4. HPLC

Matsufuji et al.のHPLC条件³⁾により不適検体のHPLCを行った。付随色素の標品が入手出来なかったことより、Matsufuji et al.の付随色素の測定波長625 nmにおける付随色素Sub-A～Sub-EをHPLCの保持時間により推定した。ろ紙クロマトグラフィーによる他のスポットが紫色を示したことより、測定波長580 nmでのHPLCも行い、それらのクロマトグラムをFig. 3. に示し、各測定波長での相対ピー

Table 1. Analytical result of rejected sample of Brilliant Blue FCF aluminium lakes

Tests	Specification of JSFA-VII ^{a)}	Result (4 samples of one lot)
Description	Normal	Normal
Identification	Normal	Normal
Absorption maximum	628-632 nm	630 nm
Purity		
Heavy metals	Not more than 20 µg/g as Pb	Passed
Barium	Not more than 500 µg/g as Ba	Passed
Arsenic	Not more than 4.0 µg/g as As ₂ O ₃	Passed
Other coloring matters	Only one spot	Two spots ^{b)}
Loss on Drying	Not more than 30.0 %	14.5 ± 2.0 %
Assay	Not less than 10.0 %	15.4 ± 0.3 %

^{a)} JSFA-VII: Japan's Specifications and Standards for Food Additives, Seventh Edition.

^{b)} Other coloring matter except of main-spot was recognized obviously.

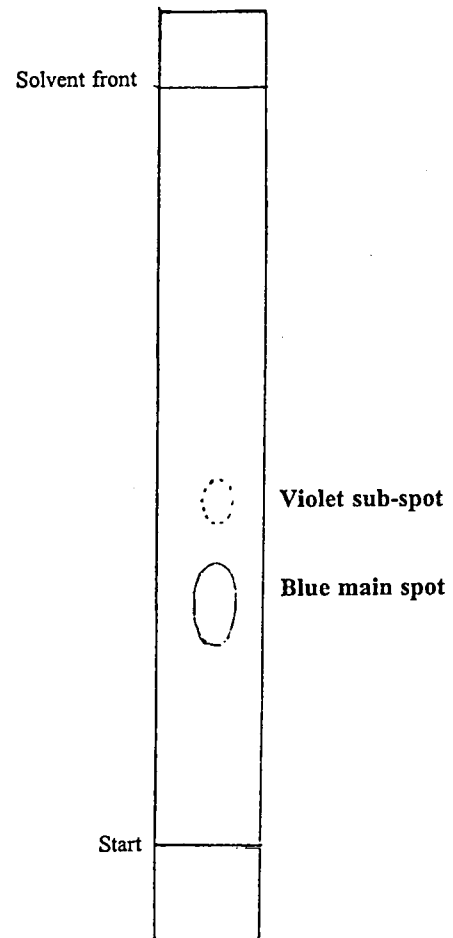


Fig. 1. Paper chromatogram of the rejected sample

Substance: the rejected sample, 50 mg as acidic form of Brilliant Blue FCF / 100 ml.

Condition: developing solvent, a mixture of n-butanol, 1% ammonia solution and absolute ethanol (6: 3: 2); sample size, 2 µl.

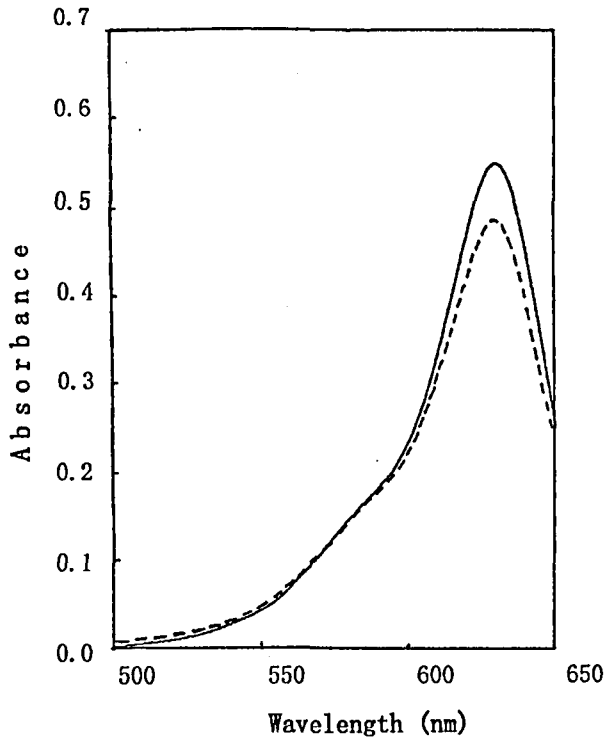


Fig. 2 Visible absorption spectra of the rejected sample and Brilliant Blue FCF Standard

Substances: straight line, Brilliant Blue FCF Standard; dotted line, the rejected sample. Concentration of standard and test solutions: 3µg as acidic form of Brilliant Blue FCF / ml. Their solutions were prepared and immediately observed.

The sample was dissolved in a 5-ml of diluted sulfuric acid (1 → 20), was diluted with ammonium acetate solution (3 → 2000), centrifuged and the supernatant was diluted with ammonium acetate solution (3 → 2000).

ク面積% (Table 2) を算出した。また、Matsufuji et al.のHPLC³⁾ を引用してFig. 3.に参考に供した。

波長625 nmで主色素 (B-1) の次に大きなピークを示すSub-C (B-1の構造異性体) はろ紙クロマトグラフィーでは分離できない副成色素といわれており³⁾, 580 nmでも大きなピークを示した。一方, 625 nmで小さかったピーク (V) が580 nmでは大きくなり (相対ピーク面積%の両ピーク比: 580 nm / 625 nm = 33.1), ろ紙クロマトグラフィーでの紫色のスポットに該当するピークSub-Vであると推定した。

Table 2.に示したように, 625 nmにおけるSub-Vのピーク面積%は0.24%であったが, 580 nmでは7.9%となった。現在, この付随色素を単離し, 構造を検討中である⁶⁾。

結 論

平成11年度の製品検査中B-1A1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

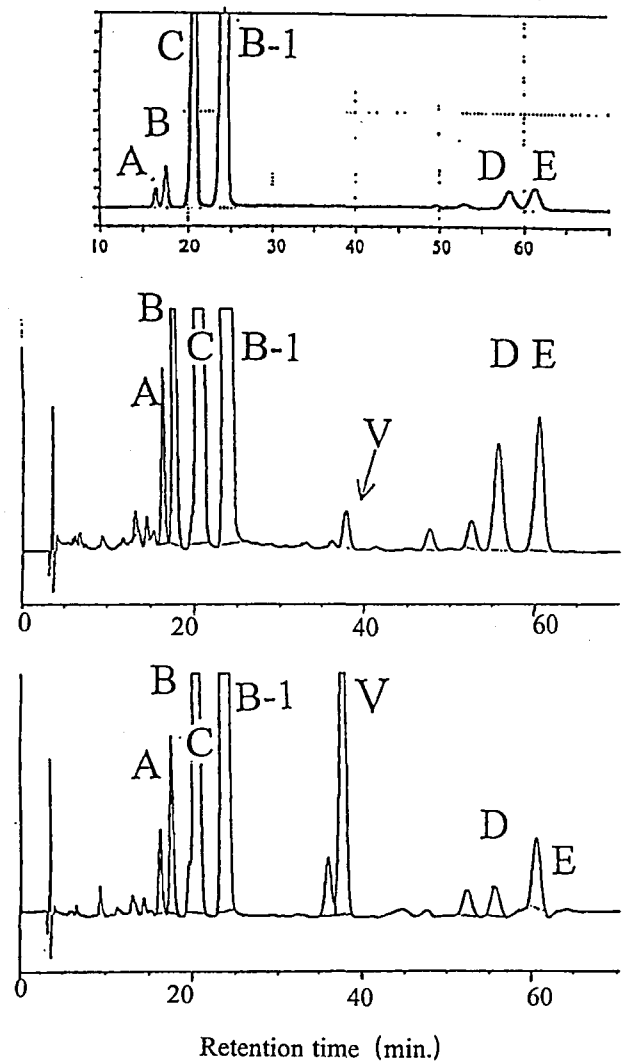


Fig. 3. High performance liquid chromatograms of the rejected sample

HPLC condition: column, Deverosil ODS-UG-5(φ 4.6 × 250 mm), mobile phase, methanol / 0.5% ammonium carbonate solution (40: 60); flow rate, 1.0 ml / min; detected wavelengths, 625 nm (middle) and 580 nm (below); sample size: 20 µl; column temp.: 40 °C.

Top chromatogram: Matsufuji's chromatogram (at 625 nm) was quoted from ref. of Matsufuji et al.³⁾.

Middle and below chromatograms: chromatograms of the rejected sample.

Peak A, B, C, D, E were presumed as each subsidiary dye (Sub-A, B, C, D, E) referring to Matsufuji's chromatograms.

Peak B-1 was showed Brilliant Blue FCF. Peak V was presumed as the violet sub-spot in paper chromatography.

され不適と判定される検体が1件認められた。同B-1A1中の当該付随色素をHPLCで測定し, その含有量を波長580 nmにおけるピーク面積%法で推定した。その結果, 付随色素の推定量は7.9%であった。

Table 2. Peak areas of subsidiary dyes in the rejected sample of Brilliant Blue FCF aluminum lake using HPLC

Compounds	Retention time (min)	Detected wave length		Peak ratio (580 nm / 625 nm)
		at 625 nm Relative peak area (%)	at 580 nm	
Sub-A	16.16	0.64	0.93	1.45
Sub-B	17.48	2.40	2.21	0.92
Sub-C	20.30	22.38	20.46	0.91
B-1	23.57	71.32	63.43	0.89
Sub-V	37.69	0.24	7.94	33.08
Sub-D	55.69	1.06	0.88	0.83
Sub-E	60.43	1.36	1.99	1.46

Sub-A, Sub-B, Sub-C, Sub-D and Sub-E were the subsidiary dyes reported by Matsufuji et al.³⁾ Sub-V was presumed as a violet sub-spot in paper chromatography.

文 献

- 1) "Japan's Specifications and Standards for Food Additives, 7th ed.", eds. by Ministry of Health and Welfare, Japan, pp. 31-34, 313-314 (1999)
- 2) Kamikura, M.: *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*, **27**, 27-36 (1986)
- 3) Matsufuji, H., Kusaka, T., Tsukuda, M., Chino, M., Kato, Y., Nakamura, M., Goda, Y., Toyoda, M. and Takeda, M.: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **39**, 7-12 (1998)
- 4) Kusaka, T., Matsufuji, H., Chino, M., Kato, Y., Nakamura, M., Goda, Y., Toyoda, M. and Takeda, M.: *Food Addit. Contam.*, **16**, 501-507 (1999)
- 5) "Japan's specification and Standards for Food Additives, 7th ed.", eds. by Ministry of Health and Welfare, Japan, pp. 299-300 (1999)
- 6) 辻 澄子, 天倉吉章, 岡田 舞, 外海泰秀, 西 正敏, 中西 勤: 日本食品衛生学会第79回学術講演会講演要旨集, p. 33 (1999)