

食用黄色5号 (サンセットイエローFCF) アルミニウムレーキの 不適事例について

辻 澄子[#]・海野有紀子・中村優美子・外海泰秀

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

Sumiko Tsuji[#], Yukiko Umino,
Yumiko Nakamura and Yasuhide Tonogai

One out of two sunset yellow FCF aluminum lakes (Y-5AIs) did not comply with the specifications in JSFA-VII in the official inspection of tar colors in fiscal year 2000. A sub-spot was detected in the paper chromatography test. This rejected sample was analyzed by HPLC for the subsidiary color, raw materials and intermediates in Y-5. The sub-spot was identified as sulfanilic acid azo R salt color, and its content was estimated at 4.5% as the content of Y-5 in Y-5AI being 100.0%.

Keywords : sunset yellow FCF, aluminum lake, subsidiary color, paper chromatography, HPLC

緒 言

平成12年度の製品検査において食用黄色5号アルミニウムレーキ(Y-5AI)2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(PC)による〕で付随色素すなわち副成色素が検出され不合格と判定された。

ところで、第7版食品添加物公定書(食添VII)¹⁾では食用黄色5号(Y-5)などのアゾ色素の純度試験として、副成色素、未反応原料及び反応中間体など(有機性不純物)の含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になり、食添VIIの施行から1年間の猶予期間を終え、平成12年度から、それらアゾ色素のHPLC測定を行っている。しかし、アルミニウムレーキでは、純度試験でHPLC法による規制があるのは、現在、食用赤色40号アルミニウムレーキ(R-40AI)のみであり、他のレーキについては、変更されておらず、副成色素をPCで測定するに過ぎない。また、我々はR-40AI中の有機性不純物を測定する際、試験液中のアルミニウム(AI)がHPLCの再現性に悪影響を及ぼすことを指摘し、アンモニアアルカリ性で煮沸する試験液調製法で改善されることを提示し、Y-5AIにも適用できることを明らかにした²⁾。

そこで、今回のY-5AIの不合格品中の有機性不純物について、著者らの提案したアンモニアアルカリ性による試験液調

製法²⁾を用いてHPLCにより測定したところ興味深い結果を得たので報告する。

実験方法

1. 試料

平成12年度製品検査Y-5AI検体2試料(A及びB)。

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(DAADBS), スルファニル酸アゾG塩色素(SA-G), スルファニル酸アゾR塩色素(SA-R), スルファニル酸アゾβ-ナフトール色素(SA-2N)及びアニリンアゾシェファー塩色素(AN-S)は三栄源エフ・エフ・アイ(株)標品を使用した^{*)}。Y-5標準品：サンセットイエローFCF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用を用いた。その他の試薬は全て

[#] 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

^{*)} 現在、和光純薬工業(株)より合成色素純度試験用標準品(三栄源エフ・エフ・アイ(株))として販売されている。

JIS 特級品を使用した。

4. PC

食添 VII¹⁾に従った。すなわち、試料のタール色素として 0.10g を含む量を量り、酢酸 (1→3) 60ml を加え、沸騰するまで加熱した後、放冷した。次にアセトンを加え 100ml とし、上澄み液を検液とした。検液 2 μl 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 0.10g を量り、他の標品は 10mg を量り、水を加えて 100ml とした。

5. HPLC

食添 VII¹⁾のタール色素試験法に準じて Y-5A1 の有機性不純物の HPLC 測定^{2,3)}を行った。

カラム：化学物質評価研究機構製 L-column ODS-5 μm (4.6 mm i. d. × 250mm)、流速：1.0ml/min、検出波長：220nm～600 nm (定量波長：239nm, 358nm, 482nm)、注入量：20 μl。

移動相：A 液, 0.02mol/l 酢酸アンモニウム溶液；B 液, アセトニトリル-水混液 (7:3)。

HPLC 条件 I：カラム温度 30℃で、A:B (100:0) から (42:58) までの直線濃度勾配を 50 分間行い、そのまま 5 分間保持した。

HPLC 条件 II：カラム温度 45℃で、A:B (100:0) 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。

いずれの HPLC 条件においても、次の分析再開前 A 液で 15 分間、カラムの平衡化を行った。

6. 試験液の調製

著者らの提案したアンモニアアルカリ性による試験液調

製法²⁾に従った。すなわち、試料 0.10g を量り、1%アンモニア溶液 60ml を加え、沸騰するまで加熱し、約 40ml に濃縮した後、放冷して遠心した。その上澄み液を採り、残さに水 10ml を加えて、よく混和し、再度遠心分離した。両上澄み液に 0.1mol/l 酢酸アンモニウム溶液 (pH8.0) を加えて、全量を正確に 100ml とし、試験液とし、20 時間以内に HPLC に注入した。

7. 装置

HPLC 装置：日本分光製マルチチャンネル検出器 JASCO

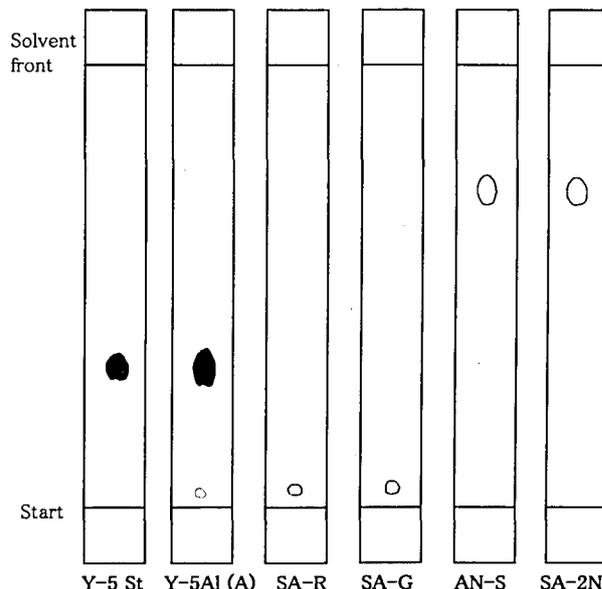


Fig.1. Paper chromatograms of the rejected sample and standards
Substance: standard of Y-5, 1.0 mg/ml; the rejected sample (A) of Y-5A1, 100 mg as Y-5/100 ml; other standards, 0.1 mg/ml each.
Conditions: developing solvent, a mixture of n-butanol, 1% ammonia solution and absolute ethanol (6: 3: 2); sample size, 2 μl.

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

Tests	Specifications of JSFA-VII ^{a)}	Result (2 samples of one lot)
Description	Normal	Normal
Identification	Normal	Normal
Absorption maximum	480-484 nm	482 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
Loss on Drying	Not more than 30.0 %	20.1 %
Assay	Not less than 10.0 %	22.4 %

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

MD1515 付 JASCO 2000 シリーズ HPLC 装置.

実験結果及び考察

1. 試験成績

Table 1 に Y-5A1 の規格値及び不適検体 A の試験成績を示した. “他の色素” の項 (PC による) 以外は全て規格に適合していた.

2. PC

食添 VII に従って PC を行った結果, Fig. 1 に示したように, 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と比較

したところ, それらの Rf から A の主色素以外のスポット (他の色素) は SA-R 又は SA-G と推測された.

3. HPLC

Y-5 の有機性不純物の標準液及び Y-5A1 (A) の試験液の HPLC 条件 I 及び II でのクロマトグラムを Fig. 2 に示した.

標準液の SA-R は HPLC 条件により保持時間 (*Rt*) が異なるが, 当該検体 A 中の巨大ピーク 1 の *Rt* はいずれの条件でも標準液の SA-R に一致し, その *Rt* における吸収スペクトルも SA-R のそれに一致した. したがって, 当該検体 A 中の他の色素は SA-R と同定された. また, Table 2 に示したように, Y-5A1 中の Y-5 の含量を 100.0% と換算したとき, SA-R の含

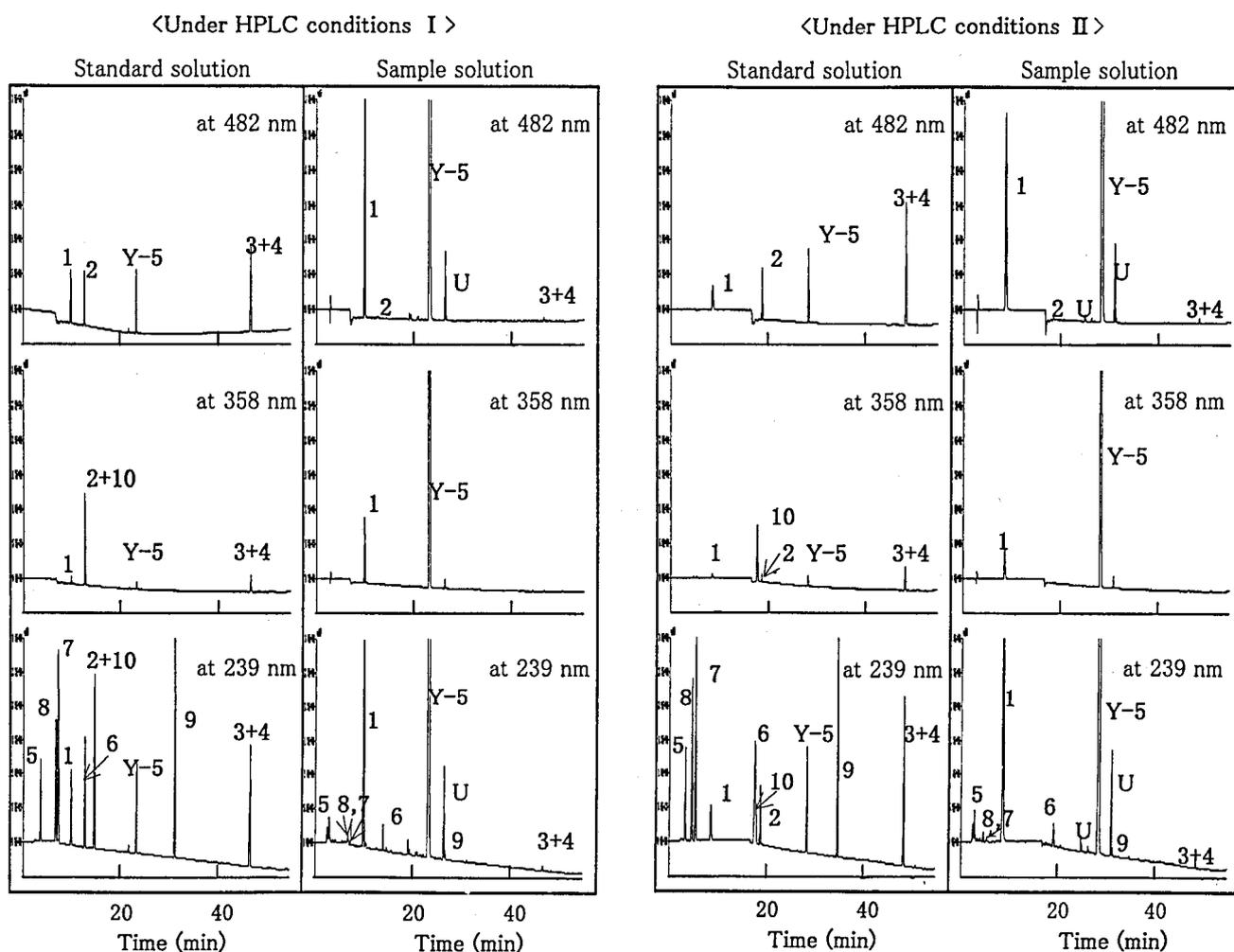


Fig.2. HPLC chromatograms of standards and the rejected sample

1: SA-R; 2: SA-G; 3: SA-2N; 4: AN-S; 5: SA; 6: SS; 7: RS; 8: GS; 9: DONS; 10: DAADBS; U: unknown.

Common conditions on HPLC are as follows. Column: L-column ODS (4.6 mm i.d. × 250 mm); eluent: A, 0.02 mol/l ammonium acetate, B, acetonitrile/water (7/3); flow rate: 1.0 ml/min; sample size: 20 μ l; concentration of standard solution (left side), 1.0 μ g/ml each; concentration of sample solution (right side): 1.0 mg/ml. Column was equilibrated with eluent A for 15 min before a injection.

Specific conditions are as follows. HPLC conditions I: column temperature, 30°C; gradient profile, 0 min \rightarrow 50 min (A: 100% \rightarrow 42%), 50 min \sim 55 min (A: 42%). HPLC conditions II: column temperature, 45°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%).

Table 2. Contents of subsidiary colors, raw materials and intermediates in tested sunset yellow FCF aluminum lakes by HPLC^{a)}

		Contents in Y-5Al ^{b)} (%)		Specifications of Y-5
		Sample A	Sample B	
Subsidiary colors ^{c)}	1. SA-R	4.485 ± 0.491	ND ^{d)}	
	2. SA-G	0.028 ± 0.028	ND	
	3. SA-2N + 4. AN-S	0.034 ± 0.007	0.109 ± 0.031	
	Sum of 2~4 in sample	0.062 ± 0.011	0.109 ± 0.031	Not more than 2%
	Sum of 1~4 in sample	4.547 ± 0.496	0.109 ± 0.031	Not more than 5%
Raw materials ^{c)}	5. SA	0.018 ± 0.003	ND	
	6. SS	0.049 ± 0.026	0.048 ± 0.023	
	7. RS	0.009 ± 0.001	ND	
	8. GS	0.025 ± 0.003	ND	
Intermediates ^{c)}	9. DONS	0.011 ± 0.003	0.010 ± 0.003	
	10. DAADBS	ND	ND	
	Sum of 5~10 in sample	0.112 ± 0.027	0.058 ± 0.024	Not more than 0.5%
Y-5 in each sample ^{e)}	22.4	20.1	Specification of Y-5Al	Not less than 10.0%

^{a)}HPLC was performed according HPLC conditions II.

^{b)}Each value represents the average and standard deviation of three determinations.

^{c)}The contents of subsidiary colors, raw materials and intermediates in sample were calculated as the content of Y-5 in Y-5Al being 100.0%.

^{d)}ND<0.005%

^{e)}The content of Y-5 in sample was determined by titanium trichloride method as directed in the assay of Y-5Al in JSFA-VII¹⁾.

量は 4.5% であり、4 種及び 3 種の副成色素のそれぞれの合計値並びに未反応原料及び反応中間体の含量は、食添 VII の Y-5 の規格に適合していた。すなわち、規格外の Y-5Al 検体 A は規格に適合する Y-5 を用いて製造されたと考えられる。これは両品目の規格の矛盾を示しており、食添 VII の Y-5Al の規格を早急に改正することが望まれる。

我々は以前 Y-5 の不適合体について HPLC 測定を行った⁴⁾が、そのクロマトグラムでは規制対象の有機性不純物以外の未知の不純物のピークを多数観察した。今回の当該検体 A での HPLC クロマトグラムは SA-R 以外の有機性不純物は少なかった。なお、本検体は輸入品であり、海外の規格^{5,6)}に基づいて検定合格した Y-5 を用いて製造されたものと考えられる。平成 12 年度のもう一方の Y-5Al (B) は Table 2 に示したようにいずれの有機性不純物もその含量は少なく、平成 11 年度の Y-5Al の結果²⁾と同様であった。

まとめ

平成 12 年度の製品検査中 Y-5Al において、“他の色素”の項 (PC 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-5Al 中の副成色素、未反応原料及び反応中間体の含量を HPLC により測定した結果、他の色素は SA-R であり、Y-5Al 中の Y-5 の含量を 100.0% と換算したとき、SA-R の含量は 4.5% であり、JSFA-VII の Y-5 の規格 (SA-R を含む 4 種の色素:5% 以下, SA-R 以外の 3 種色素:2%

以下) 以内であり、当該 Y-5Al の製造に用いた Y-5 は規格に適合していたと考えられた。したがって、Y-5Al の規格を早急に改正すべきであることが示唆された。

文 献

- 1) "Japan's Specifications and Standards for Food Additives, 7th ed.", eds. by Ministry of Health and Welfare, Japan, pp. 25-34, 294-295, 298-302, 305-310 (1999)
- 2) 海野有紀子, 辻 澄子, 中村優美子, 外海泰英, 日本食品衛生学会第 81 回講演要旨集, p. 44, (2001); Tsuji, S., Umino, Y., Amakura, Y., Tonogai, Y., *J. Food Hyg. Soc.*, **42**, in press (2001).
- 3) Tsuji, S., Matsumura, I., Nakamura, Y., Tonogai, Y., *J. Food Hyg. Soc.*, **41**, 357-363 (2000).
- 4) Tsuji, S., Mishima, I., Nakamura, Y., Tonogai, Y., *Bulletin of Natl Inst. Health Sci.*, **117**, 180-184 (1999).
- 5) The Office of the Federal Register National Archives and Records Administration: "Code of Federal Regulations, Title 21, Parts 82.51, 82.706" U.S. Government Printing Office, Washington, DC., 1996, p. 398.
- 6) Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), "Compendium of Food Additives Specifications", Vol. 1, ANNEX 2, p.1, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 1992.