

福岡市における辛子明太子の着色料検出状況と精製法の検討

古賀梓美・赤木浩一

福岡市保健環境研究所保健科学課

Survey of Food Colors in Spicy Cod Roe in Fukuoka City and Study on Purification

Azumi KOGA and Kouichi AKAKI

Health Science Division, Fukuoka City Institute for Hygiene and the Environment

要約

福岡市の特産品である辛子明太子は、着色料（食用タール色素）の定性検査において赤色3号などの着色料が表示があるにもかかわらず検出されない事例が頻発していた。そこで近年の収去検査における着色料の検査状況をまとめ、その表示と検出結果の実態を明らかにした。また、固相抽出カートリッジを用いた着色料の精製法について検討し、これまでに検出が困難であった着色料を短時間かつ簡易な操作で感度よく検出することが可能となった。

Key Words : 着色料 food color, 食用タール色素 food coal-tar dye, 辛子明太子 spicy cod roe, 薄層クロマトグラフィー TLC, 高速液体クロマトグラフィー HPLC

1 はじめに

辛子明太子は福岡市の特産品であり、本市では収去検査において重点的な検査の対象品ともなっている。辛子明太子の理化学検査は発色剤や着色料などの検査を実施しており、着色料は日本で使用が許可されている食用タール色素12種類の検査を行っている。着色料は量に関する法的な基準がないため、通常は定性検査のみを行っており、原材料に着色料が使用されている場合には、表示の義務が生じるため、表示が適正であるかを確認するためには正確に定性を行うことが必要である。しかし、辛子明太子の収去検査において赤色3号（エリスロシン、以降R3という）等の着色料が、表示があるのに検出できない事例が頻発しており、これまでも数多く報告されている^{1) 2)}。

そこで、近年（平成19年～平成22年）の収去検査における着色料（食用タール色素）の検出状況をまとめ、その使用実態と検出率を明らかにした。

さらに、固相抽出カートリッジを用いた精製法について検討し、検出が困難であった着色料を短時間かつ簡易な操作で感度よく検出することができたので報告する。

2 方法

2.1 試料

福岡市内で入手した着色料使用の表示がある辛子明太子15検体を試料として用いた。

2.2 試薬等

標準品：食用赤色2号（アマランス，R2）

食用赤色3号（エリスロシン，R3）

食用赤色40号（アルラレッドAC，R40）

食用赤色102号（ニューコクシン，R102）

食用赤色104号（フロキシソ，R104）

食用赤色105号（ローズベンガル，R105）

食用赤色106号（アシッドレッド，R106）

食用黄色4号（タートラジン，Y4）

食用黄色5号（サンセットイエローFCF，Y5）

食用青色1号（プリリアントブルーFCF，B1）

食用青色2号（インジゴカルミン，B2）

食用緑色3号（ファストグリーンFCF，G3）

全て東京化成工業㈱製を用いた。

標準原液：標準品をエタノールで溶解して、1,000µg/mLに調製した。

標準液：標準原液を適宜水で希釈した。

固相抽出カートリッジ:GL Science 社製 InertSep MA-2 (1g/20cc) をあらかじめメタノール 20mL, エタノール 20mL, 水 20mL でコンディショニングして用いた。
その他試薬：全て特級試薬を用いた。

2.3 試験溶液の調製

均一化した試料 10g に、1%アンモニア 70%エタノール 30mL を加え温浴上 (60℃) でときどき攪拌しながら 30 分間抽出した。遠心分離(3,000rpm, 10min)して上清を採取し、酢酸で中和して蒸留水で 2 倍に希釈した。希釈した抽出液の半量を固相抽出カートリッジ (InertSep MA-2)に負荷し、蒸留水, エタノール, メタノール各 20mL で洗浄したのち、1%アンモニア・メタノール 20mL で溶出した。溶出液を中和してごく少量になるまで減圧濃縮し、TLC (薄層クロマトグラフィ) の試験溶液に、もしくは蒸留水で 2mL に定容して HPLC の試験溶液とした。

2.4 定性条件

2.4.1 TLCによる定性

薄層プレート：ナーゲル社製 セルロース MN400 (AVICEL) 10×20cm

展開液：①28%アンモニア水：2.5%クエン酸ナトリウム：エタノール (2:7:1)

②プロパノール：酢酸エチル：水 (6:1:3)

標準液と試料溶液を同時に展開し、R_f 値、色調、蛍光の有無によって定性を行った。

2.4.2 HPLCによる定性

装置は高速液体クロマトグラフ (Agilent 社製 1100 シリーズ) を用いた。測定条件を表 1 に示す。

表 1 測定条件

カラム	Inertsil ODS-2(GL Science 社製) 2.1mm×150mm
移動相	A:0.1mol/L 酢酸アンモニウム:アセト ニトリル (99:1) B:アセトニトリル
グラジエント	B:4%(0min)→70%(30min)
カラム温度	40℃
流速	0.2ml/min
測定波長	450nm (黄系), 520nm (赤系), 620nm(青系)
注入量	4μL

3 結果および考察

3.1 福岡市における辛子明太子の検査状況

3.1.1 試料

平成 19 年 4 月から平成 23 年 3 月までに福岡市内で収去した辛子明太子もしくはたらこ 305 検体

3.1.2 試験方法

食品衛生検査指針⁵⁾および衛生試験法¹⁾に準じて作成した標準作業書に基づき、アンモニア・エタノール溶液で試料から着色料を抽出し、ポリアミドカラムによる精製を行い、TLC で定性した。

3.1.3 結果

305 検体のうち、着色料の表示がある検体は 137 検体であった。表示のなかった検体は全て着色料不検出であった。検査結果のまとめを表 2 に示す。

表示によると、最も多くの検体に使用されていた着色料は Y5 で、次に R102, R3 の順であった。また、全て 2 種以上の着色料が組み合わせて使用されており、Y5, R102, R3 の 3 種の組み合わせが最も多かった。

検出状況を見ると R102, Y5 は表示検体の 90%以上が検出されておりほぼ表示どおりに検出できていたが、R3, R104 は表示に対しての検出率が 25%未満と低かった。この 2 種の着色料はハロゲン元素を有するキサンテン系色素であり、タンパク質との結合が強く通常の抽出法では抽出されにくいことや^{2) 3)}、ポリアミドカラムに負荷する前に抽出液を酸性にして濃縮する過程で析出する性質を持つことで知られている^{2) 4)}。さらにこれらの着色料は他の着色料に比べて配合割合が少ないことなどが検出できなかった理由と考えられる。

3.2 精製法の検討

食品衛生検査指針⁵⁾では試験溶液の調製は、アンモニア・エタノール溶液で着色料を抽出し、ポリアミドカラムで精製している (ポリアミド染色法)。しかし先に述べたとおり、R3, R104 などのキサンテン系色素はポリアミドカラムに負荷する前に抽出液を濃縮する過程で析出するため^{2) 4)}、ポリアミドカラムの上部に詰まって溶出されないことが、これらの色素が検出されにくい原因となっていた。そこで、抽出液を濃縮することなく精製する方法について検討した。

抽出液を濃縮せずに精製する方法として、林らは第四級アミンカートリッジである Sep-pak QMA で精製する方法を報告している⁶⁾。食用タール色素が全て酸性タール色素であることから、他のカートリッジも含めて複数の陰イオン交換性カートリッジを比較検討した結果、保

表2 辛子明太子の収去検査における着色料の検査状況

単位 (件)

着色料 件数	使用表 示あり	R3 検出 / 表示	R102 検出 / 表示	R104 検出 / 表示	R106 検出 / 表示	Y4 検出 / 表示	Y5 検出 / 表示
305	137	24 / 104	121 / 132	0 / 11	9 / 12	4 / 11	120 / 134

表3 市販試料における定性結果

検体 No.	表示				本法				公定法 (ポリアミド染色法)			
	R3	R102	R106	Y5	R3	R102	R106	Y5	R3	R102	R106	Y5
1	○	○		○	±	+		+	-	+		+
2	○	○		○	+	+		+	-	+		+
3	○	○		○	±	+		+	-	+		+
4	○	○		○	+	+		+	-	+		+
5	○	○		○	+	+		+	-	+		+
6		○	○	○		+	+	+		+	+	+
7	○	○		○	+	+		+	-	+		+
8	○	○		○	-	+		+	-	+		+
9	○	○		○	+	+		+	-	+		+
10	○	○		○	+	+		+	-	+		+
11	○	○		○	+	+		+	-	+		+
12		○	○	○		+	+	+		+	+	+
13	○	○		○	±	+		+	-	+		+
14			○	○			+	+			+	+
15	○	○		○	+	+		+	-	+		+

※+ ; 検出, - ; 不検出, ± ; TLCで不検出, HPLCで検出

持能力, 溶出力にすぐれ, カートリッジの容量が比較的大きい InertSep MA-2 (1g/20cc) を用いることとした。

InertSep MA-2 は弱陰イオン交換性のカートリッジであり, アルカリ性のアンモニア・エタノール抽出液をそのまま負荷すると着色料が保持されないため, 負荷前の抽出液を中和した。さらに辛子明太子に含まれる高濃度の塩は色素の保持の妨げとなるため, 水で2倍希釈してカートリッジに負荷した。

カートリッジからの溶出には着色料に対する溶解性, その後の濃縮操作のしやすさ等からアンモニア・メタノール溶液を用いた。

本法は試料抽出液の濃縮を省略し, 抽出後すぐに精製を行えることから, 公定法に比べて短時間かつ簡易な操作での精製が可能となった。

3.3 市販試料の定性

市販の辛子明太子を用いて本法と公定法 (ポリアミド染色法) の比較検討を行った。精製法のみと比較ができるよう, 抽出, 定性は同じ条件で行った。すなわち, 試料 20g を採取し, 1%アンモニア 70%エタノール溶液 60mL を加えて 60℃で 30 分間抽出した色素抽出液を 2

等分し, それぞれの方法で精製を行ったものを同一条件で定性した。

その結果を表 3 に示す。本法では R3 の表示がある 12 検体中, TLC による定性では 8 検体, HPLC による定性では 11 検体が検出できたが, 公定法では全て検出できなかった。一部の検体において, TLC で R3 を検出できず HPLC で検出できたのは, R3 の使用量が少量であったことが原因と思われた。一方, R102, Y5, R106 等に関しては 2 法とも表示どおりに検出できた。

4 まとめ

辛子明太子の着色料の定性検査において, 固相カートリッジを用いた方法を検討した。弱陰イオン交換性の固相カートリッジを用いることで短時間かつ簡易な操作での精製が可能となった。本法を用いて市販の辛子明太子を検査したところ, これまで検出が困難であった着色料を感度よく検出することができた。

文献

- 1)日高千恵，他：辛子明太子における法定タール色素の表示と検査結果について，福岡市衛生試験所報，第18号，100～103，平成4年
- 2)林都香，他：食用酸性タール色素の抽出および精製法の検討，宮城県保健環境センター年報，第27号，97～99，2009
- 3)辻澄子，他：プロナーゼ処理による食品中の食用タール色素の試料溶液調製法，日本食品衛生学会誌，Vol.36，No.1，68～76
- 4)石川ふさ子，他：固相抽出及びHPLCを用いた高たんぱく食品中の21種タール色素の分析法，日本食品衛生学会誌，Vol.41，No.3，194～199，2000
- 5)厚生労働省監修：食品衛生検査指針（食品添加物編），169～177，（社）日本食品衛生検査協会，2003
- 6)林智子，他：第四級アミンカートリッジによる食品中のタール色素のクリーンアップ，日本食品衛生学会誌，Vol.34，No.5，398～403，1993