

## 食品中の食用タール色素分析における毛糸染色法の改良

宮本 文夫<sup>1)</sup> 宮本美紀子<sup>2)</sup> 永田 知子<sup>1)</sup> 佐伯 政信<sup>1)</sup>Modification of Analytical Method with Woollen  
Yarn of Coal Tar Dyes in Foods

Fumio MIYAMOTO, Mikiko MIYAMOTO, Tomoko NAGATA, Masanobu SAEKI

## I 緒言

食品中の食用タール色素の分析法は、毛糸染色法<sup>1,2)</sup>、ラムクロマトグラフ法<sup>3,4)</sup>、陰イオン交換液法<sup>1,5)</sup>、高速液体クロマトグラフ法<sup>6)</sup>など多くの方法がある。そのうちで毛糸染色法は簡便なことから広く用いられているが、食品の種類によっては分析が困難な場合がある。そこで、著者らは食品からの食用タール色素の抽出精製法について検討し、多くの食品に適用できるように改良したので、その結果について報告する。

## II 実験方法

## 1. 資料

うずら豆、うぐいす豆、大福餅、すあま、さくらもち、かまぼこ、なると、ソーセージは合成着色料添加の表示のある市販品を用い、しょう油、ソース、ココア粉末、コーヒー粉末、ゼラチン、蔗糖、小麦粉、脱脂粉乳は添加表示のない市販品を用いた。

## 2. 試薬及び試液

エタノール、アンモニア水、酢酸等の試薬はいずれも特級品を用いた。

食用タール色素は三栄工業化学製、法定規格品を用いた。  
色素標準溶液：各色素 1 g を 100 ml の水に溶解し、その 10 ml を水で 100 ml とし色素標準溶液 (1000 ppm 濃度) を作成した。

この標準溶液を適宜希釈して用いた。

染色用毛糸：市販羊毛 40 g を飽和尿素溶液 1 ℓ に入れ、沸とう水浴中で攪拌しながら 1 時間放置後羊毛を取り出し、水洗する。これを 0.5% アンモニア水 1 ℓ に入れ、以下前記と同様な操作を 2 回行ったものを染色用毛糸とした。

ペーパークロマトグラフィー用ろ紙：東洋ろ紙 No. 50 を

用いた。

展開溶媒：〔I〕n-ブタノール・無水エタノール・1% アンモニア水 (6:2:3) 及び〔II〕n-ブタノール・無水エタノール・0.5N 酢酸 (6:2:3) の比率で混和した。

## 3. 装置

自記分光光度計：(株)日立製作所製 EPS-3T 形

## 4. 毛糸への食用タール色素の吸着及び溶出率

各色素標準溶液 1 ml に水 40 ml 及び 1 N 酢酸 5 ml を加え、毛糸 0.2~0.5 g を入れ沸とう水浴上で 20 分間吸着させた。毛糸はよく絞った後、残った溶液を 1% アンモニア水で中和し、0.02 M 酢酸アンモニウム溶液を加え、50 ml とし、吸光スペクトルを測定して、吸光度 B を求める。

標準溶液 1 ml を酢酸アンモニウム溶液で 50 ml とし、この溶液の吸光度 A を求め、吸着率 (%) =  $\{(A-B)/A\} \times 100$  を算出した。次に色素を吸着した毛糸を 1% アンモニア溶液 20 ml に入れ、沸とう水浴上で 20 分間溶出させる。毛糸に色素が残存している場合には、再度溶出し、それらの溶出液を加える。溶出液は 1 N 酢酸で中和し、0.02 M 酢酸アンモニウム溶液で 50 ml とし、吸光スペクトルを測定し、吸光度 C を求め、溶出率 (%) =  $\{C/(A-B)\} \times 100$  を算出した。

吸光度 A, B, C は、各色素の吸収極大波長及びその ± 20 nm における吸光度に基づいて、ベースライン法を用いて算出した。

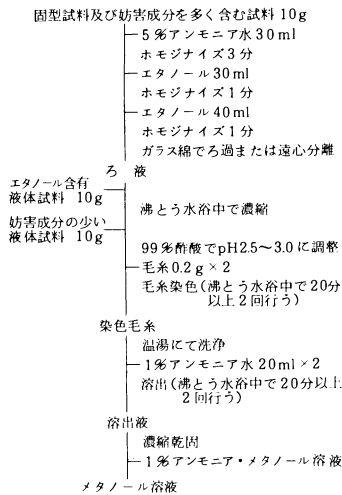
## 5. 食品中の色素の定性定量法

分析方法を図 1 に示した。抽出精製した色素溶液をメタノールで 5 ml とし、吸収スペクトルを測定し、実験方法 4 と同様に吸光度を求め、標準溶液の吸光度から食品中の色素濃度を算出する。また、色素溶液を濃縮し、クロマト用ろ紙の下端から 2 cm の位置に滴下し、展開させた後、標準色素の Rf 値と一致することを確認した。

1) 千葉県衛生研究所

2) 千葉県柏保健所

(1982年10月1日受理)



(可視吸収スペクトル及びペーパークロマト)  
グラフィーによりタール色素を定性定量

図1. 食品中の食用タール色素の分析方法

### III 実験結果及び考察

#### 1. 抽出溶媒及び抽出方法について

食用タール色素の食品からの抽出は、温湯または70~80%エタノール(アンモニア含有の場合もある)が主として用いられている。最も抽出効率の良い溶媒選定のために、煮豆類を用いて、水、70%エタノール、メタノール、エタノールによる色素抽出量の差を検討した。抽出方法としては、加温抽出法、ホモジナイズ法がある。加温抽出法は色素以外の食品成分が多く混入するため、ホモジナイズ法を用いた。試料20gに0.3%アンモニア含有の各溶媒100mlを添加し、ホモジナイズした後、図1の操作に従い色素を分離精製し、定量した。結果を表1に示す。70%エタノール、メタノールが良好な結果を示したことから、以後70%エタノールを用いることとした。

表1. 抽出溶媒による食用色素抽出量の差

試料	色素	色素濃度 (ppm)			
		水	70%エタノール	メタノール	エタノール
煮豆 I	B-1	1.5	2.0	2.5	0.5
	Y-4	5.2	5.4	4.8	N.D.
煮豆 II	R-106	0.2	0.6	0.8	0.2
	Y-4	0.8	2.0	0.6	N.D.
煮豆 III	R-102	2.4	4.4	2.6	N.D.

各抽出溶媒は0.3%アンモニアを含有

次に、魚肉ねり製品、餅菓子類を用いて、アンモニア濃度の色素抽出量への影響を調べた。これらの食品は、70%エタノールで直接ホモジナイズした際、表面が固化し、抽出率が低下することから、アンモニア水でホモジナイズした後、エタノールを添加、抽出する方法を用いた。結果を表2及び図2に示す。魚肉ねり製品において、アンモニア濃度の影響が見られたが、5%以上の濃度では抽出色素量の差はごく僅かであった。

また、表2に見られるように、ホモジナイズ法は従来の方と比べて良い抽出率を示した。

以上の結果から、アンモニア水濃度は5%とし、固形食品についてはアンモニア水でホモジナイズした後、エタノールを加えて、更にホモジナイズ抽出することとした。

表2. アンモニア濃度による食用色素抽出量の差

試料	色素	色素濃度 (ppm)		
		1%アンモニア水	20%アンモニア水	従来法
すあま	R-3	5.0	4.8	1.3
桜餅	R-3	3.4	4.8	0.6
大福餅	R-3	10.6	10.2	4.2
かまぼこ	R-3	4.6	5.2	3.6
なると	R-3	8.0	10.0	4.0
ソーセージ	R-106	6.2	6.0	5.6

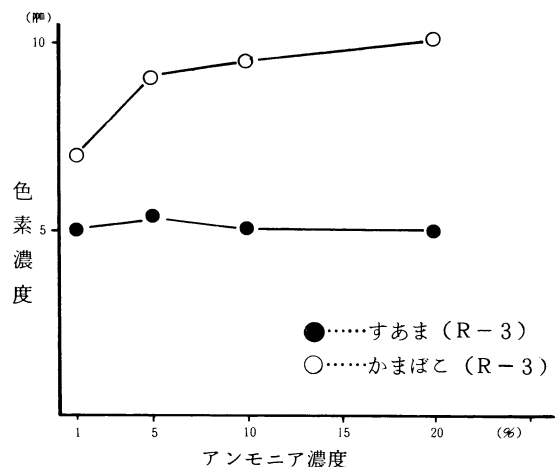


図2. 抽出用アンモニア水の濃度と色素抽出量の関係

#### 2. 毛糸染色における色素の回収率

毛糸は回収率の上昇やケイ光物質の除去のため、尿素及びアンモニア水による処理を行った。

11種の食用タール色素各1mgを用い、毛糸染色にお

る吸着率，溶出率，回収率を検討した。結果は表3に示すように青色2号を除く各色素の回収率は，86-99%であった。青色2号は光や熱に不安定であり，毛糸への加温吸着及び溶出濃縮の過程において分解し，回収率が低下したことが考えられる。

表3では毛糸量は0.5gを用いたが，毛糸量の色素回収率に及ぼす影響を赤105号を用いて検討した。その結果を表4に示す。毛糸量0.1gが最も回収率が良好であった。図1では食品成分等の影響を考慮し，毛糸量は0.2gとした。

表3. 改良毛糸による食用色素の回収率

色 素	吸着率(%)	溶出率(%)	回収率(%)
R-2	100.0	96.2	96.2
R-3	99.0	99.0	98.0
R-102	100.0	98.0	98.0
R-104	100.0	97.0	97.0
R-105	100.0	86.7	86.7
R-106	93.8	95.1	89.2
Y-4	100.0	97.7	97.7
Y-5	100.0	90.0	90.0
B-1	100.0	96.6	96.6
B-2	100.0	34.4	34.4
G-3	99.7	92.9	92.6

表4. 毛糸量によるR-105の回収率の差

色素量(mg)	毛糸量(g)	吸着率(%)	溶出率(%)	回収率(%)
1.0	0.1	97.6	95.1	92.9
	0.3	98.4	92.0	90.6
	0.5	100.0	84.1	84.1
0.1	0.1	100.0	85.0	85.0
	0.3	100.0	80.9	80.9
	0.5	100.0	76.9	76.9

3. 毛糸染色時のpH

標準色素溶液に1N酢酸5ml及び水40mlを加えた場合，その溶液のpHは2.6~3.0であるが，食品からの抽出液は1N酢酸5mlを添加した場合，食品成分の緩衝作用のためpHが高くなる傾向があり，そのために毛糸への色素吸着に長時間を要し，残存色素が多く良好な結果が得にくい。そこで，抽出液を99%酢酸でpH2~3に調整し，毛糸染色を行ったところ，色素は短時間で毛糸に吸着され，抽出液中の残存色素も少なかった。

小麦粉，脱脂粉乳，蔗糖，ゼラチンではこのpH調整

によって，99%酢酸を3~4ml，しょう油，ソース，ココア，コーヒーでは6~8mlを必要とした。

4. 従来の毛糸染色法及び陰イオン交換

1~2種の食用タール色素を10ppm以下となるよう添加した蔗糖，ゼラチン等8種の食品を用いて，本法，従来の毛糸染色法，陰イオン交換液法の比較を行った。表5に示したように，小麦粉，脱脂粉乳で検出値に差が見られ，本法が他の2法より良好な結果を示した。また，天然褐変色素を多量に含むしょう油，ソース等はいずれの方法でもスペクトルによる色素確認は困難であったが，本法における染色毛糸の洗浄操作を沸とう水で褐変色素が溶出しなくなるまで(20分×2~3回)洗浄する方法としたところ，タール色素の極大吸収波長の確認が可能となった。本法により得た各食品からの色素のペーパークロマトグラフィーを図3に示す。いずれの食品からもタール色素の存在を確認することが可能であった。

表5. 改良毛糸染色法と他の方法の比較

試料	色 素	色素濃度 (ppm)		
		改良毛糸染色法	毛糸染色法	陰イオン交換液法
蔗 糖	R-3	6.3	5.8	4.6
	Y-4	4.0	4.2	1.0
ゼラチン	R-3	2.0	1.6	1.4
	Y-4	1.3	1.1	N.D.
小麦粉	R-106	3.8	1.0	2.1
	Y-4	4.3	0.6	N.D.
脱脂粉乳	R-106	2.4	0.8	3.5
	Y-4	2.7	0.4	0.8
ソ ー ス	Y-4	N.D.(4.3)	N.D.	N.D.
しょう油	R-2	N.D.(1.6)	N.D.	N.D.
ココア	R-2	4.2(5.2)	N.D.	2.4
コーヒ	R-102	N.D.(N.D.)	N.D.	N.D.

( ) … 染色毛糸を沸とう水で20分×3回洗浄処理した場合

IV 結論

食品中の食用タール色素の分析法のうち毛糸染色法について検討し，その改良を試みた。

1) 食品からの食用タール色素の抽出には70%エタノールが適しており，特に抽出しにくい食品では5%アンモニア水を加えホモジナイズ，次いでエタノールを加え，再度ホモジナイズ抽出する方法が良好であった。

2) 尿素及びアンモニア溶液で処理した毛糸を用いたタール色素の回収率は，青色2号を除き，85~99%であった。

3) 毛糸染色時のpHを2~3に調整して毛糸染色した際，1N酢酸5ml添加の場合より吸着時間が短くなる

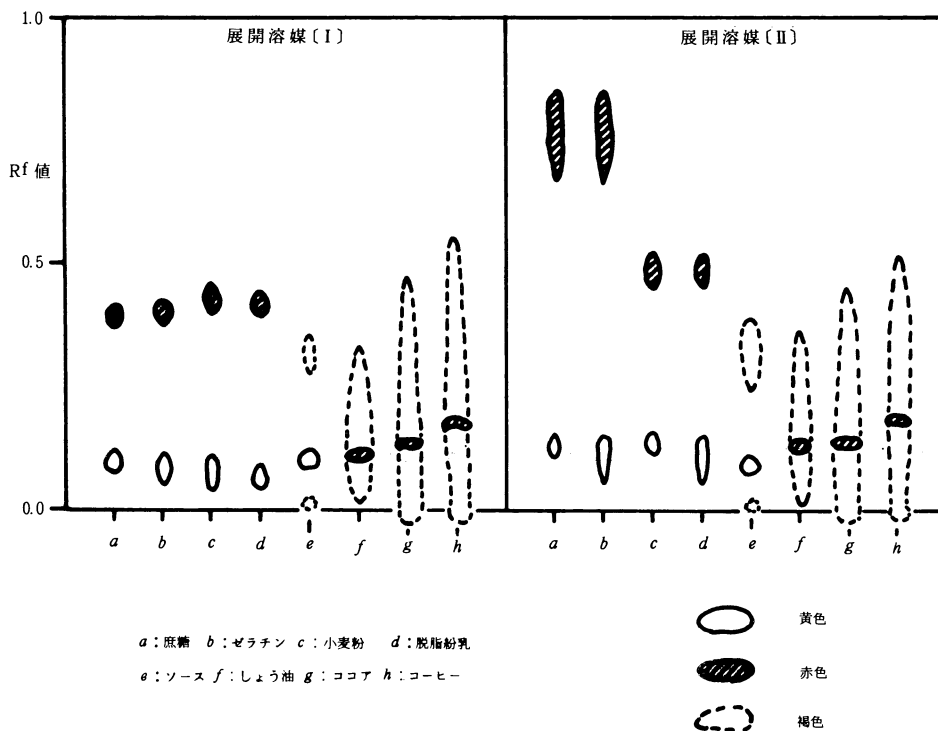


図3. 毛糸染色精製溶液のペーパークロマトグラフィー

り、残存色素も少なかった。

4) 8種の食品に10 ppm以下の微量色素を添加したものを試料とし、改良した毛糸染色法、従来の毛糸染色法、陰イオン交換液法により定性定量分析を行い、比較した結果、著者らの改良法が最も良好な結果を示し、多量の褐変妨害色素を含有するしょう油、ソース等からのタール色素の検出も、染色毛糸の充分な洗浄操作を追加することにより可能であることがわかった。

## V 文献

- 1) 日本薬学会編(1980): 衛生試験法注解, 金原出版; 351
- 2) 厚生省環境衛生局食品化学課編(1976): 食品中の添加物分析法(第1集); 33
- 3) 竹下隆三, 坂上米次(1969): 食品中の水溶性着色

料の検出, 衛生化学, 15: 72~76

- 4) 剣持久仁子, 片山脩, 吉川誠次(1973): カラムクロマトグラフィーによる水溶性タール色素の分析, 食工誌, 20; 16~21
- 5) 西島基弘, 上村尚, 冠政光, 高橋尚子, 中里光男, 渡利優子, 木村康夫, 直井家壽太(1977): 食品中の許可タール色素の定量法, 食衛誌, 18; 463~469
- 6) 野田明男, 錦節子(1977): 高速液体クロマトグラフィーによるタール系色素の分離, 食衛誌, 18; 321~327
- 7) 山本勝彦, 森山繁隆, 坂部美雄(1972): 尿素処理毛糸による水溶性タール色素回収効果に関する研究, 食衛誌, 13; 22~28
- 8) 宮本美紀子, 宮本文夫, 佐伯政信(1982): 食用タール色素分析における毛糸溶出物の影響, 千葉衛研報告, 6号; 52~54