

水煮野菜中の着色料の分析について

宮本 文夫 佐伯 政信

Studies of Analysis of Dye in Boiled Vegetables

Fumio MIYAMOTO and Masanobu SAEKI

I 緒言

一般加工食品には種々の合成着色料の使用が許可され、よく用いられている。合成着色料の中でタール色素はその使用量の多いこともあり、分析方法は数多く報告され確立されているが、 β -カロテン、水溶性アナトー、銅クロロフィル等のクロロフィル誘導体については未だ十分な方法は見当たらない。合成着色料の表示のある食品の場合タール色素ばかりでなく上記の天然系色素も使用される可能性があり、それらを同時に検出判別できることが望ましい。

今回、著者らはクロロフィル誘導体がよく使用される水煮野菜について着色料の系統的分画法を適用し、タール色素及びその他の合成着色料の同時検出を試みた。系統的分画法はセライトカラムによる方法¹⁾(セライトカラム法)、油溶性天然色素の系統的分析法²⁾の一部と水溶性色素のポリアミドカラム法³⁾をくみあわせた方法(溶媒分離-ポリアミドカラム法)について比較検討した。その結果溶媒分離-ポリアミドカラム法が水煮野菜中の合成着色料の検出判定に良好であったので報告する。

II 実験方法

1. 試料

合成着色料の表示のある水煮野菜(わらび、混合野菜、グリーンピース、ふき、大豆)を用いて着色している部分を試料とした。

2. 試薬及び試液

- 1) セライト545: 関東化学製
- 2) ポリアミド: 和光純薬製カラムクロマトグラフィー用ポリアミドC-100
- 3) ペーパークロマト用ろ紙: 東洋ろ紙No.50
- 4) 薄層板
ポリアミド薄層: メルク社製ポリアミド11F254

シリカゲル薄層: メルク社製キーゼルゲル60

5) 展開溶媒

ペーパークロマト用: n-ブタノール: 酢酸: 水 (4:1:5)の上層を用いた。

ポリアミド薄層用: イソプロパノール: ギ酸: 水 (7:1:3)

シリカゲル薄層用: クロロホルム: 酢酸エチル: 酢酸 (10:0.5:1)

6) 標準色素

クロロフィル: 日本葉緑素製及びアイゼン製

銅クロロフィル: 日本葉緑素製

銅クロロフィリンナトリウム: 日本葉緑素製及び和光純薬製

鉄クロロフィリンナトリウム: 日本葉緑素製

青色1号(B-1), 黄色4号(Y-4), 緑色3号(G-3): 三栄化学社製法定規格品

7) ヘキサン, エチルエーテル, 酢酸, アンモニア水等の試薬は全て特級品を用いた。

3. 装置

- 1) 自記分光光度計: 日立製作所製320型
- 2) セライトカラム用クロマト管: 内径2.5cm, 長さ30cmのガラスコック付
- 3) ポリアミドカラム: 内径1cm, 長さ30cmのガラスコック付クロマト管の下端に脱脂綿を結め、水を用いてポリアミド3gを充てんした。

4. 分析方法

- 1) セライトカラム法による分画
日本薬学会101年会公衆衛生協議会資料¹⁾の天然色素、試験 溶液の調整の項に準じた。ただし、ポリアミドカラムに吸着させる色素はタール色素が主体であるため溶出液は0.1%及び0.5%アンモニア・メタノール溶液を用いた。操作法のフローシートをFig 1に示す。

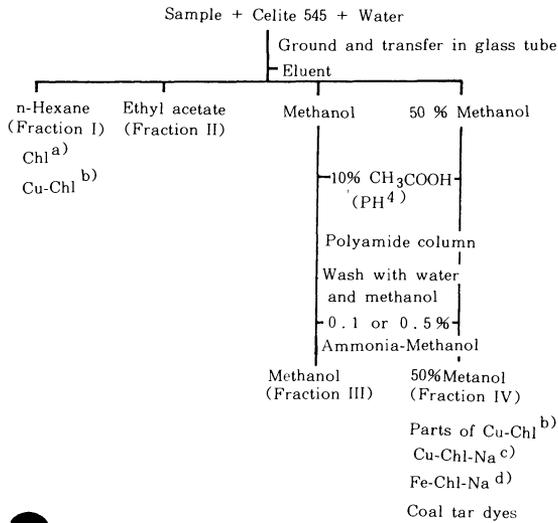


Fig 1. Procedure of Celite Column Method

- a) Chlorophyll
- b) Chlorophyll copper complex
- c) Sodium chlorophyll copper complex
- d) Sodium chlorophyll ferrous complex

2) 溶媒分離-ポリアミドカラム法による分画
薬学会103年会公衆衛生協議会資料²⁾の天然色素、試験溶液の調整法の一部を用いた。水溶性色素についてはエーテル抽出した残りの水層を10%酢酸でPH 4 とし、ポリアミドカラムに通し色素を吸着させた。カラムを水及びメタノールで洗浄後、0.1及び0.5%アンモニア・メタノール溶液で色素を溶出させた。操作法のフローシートをFig.2に示す。

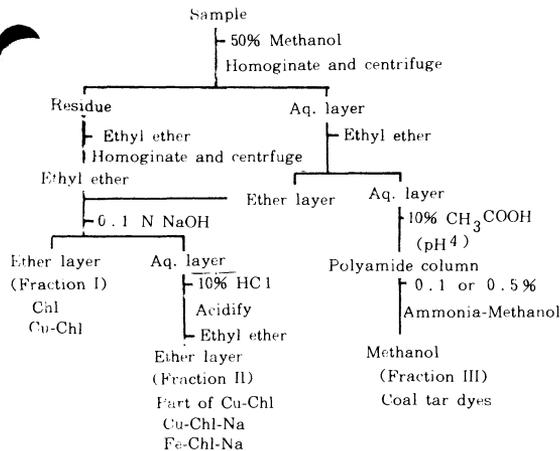


Fig 2. Procedure of Solvent Separation - Polyamide Column Method

3) 色素の定性確認

分画により得られた各画分について吸収スペクトルを測定し、さらにFig.1の画分(I),(II)及びFig.2の画分(I),(II)については濃縮後シリカゲル薄層による薄層クロマトグラフィー(TLC)により自然光及び紫外線照射下で色素の定性確認を行なった。また、Fig.1の画分(III),(IV)及びFig.2の画分(III)については濃縮後ペーパークロマトグラフィー(PC)及びポリアミド薄層によるTLCにより色素の定性確認を行なった。

III 実験結果及び考察

1. クロロフィル及びその誘導体の吸収スペクトル

色素の吸収スペクトルで特異的なパターンあるいは鋭敏なピークが存在すれば吸収スペクトルのみでも色素の確認が可能である。クロロフィル及びその誘導体の標準品をエーテルに溶解し、可視吸収スペクトルを測定したところ、クロロフィルは658~663nm, 400~405nmに、銅クロロフィルは640nm, 405nmに、銅クロロフィリンナトリウムは635~640nm, 400~405nmに、鉄クロロフィリンナトリウムは400nmに極大吸収が見られた。スペクトルパターンは鉄クロロフィリンナトリウムを除いてどれも類似していた。

以上の結果から食品中に上記の色素が単独で存在している場合、スペクトルのみでの確認も可能と考えられるが、混合している場合極大吸収波長も近く、スペクトルパターンも類似しているためスペクトルのみでの確認は困難である。そこで適当な分離分画を行なった後、吸収スペクトル及びPC、TLCを併用して定性確認を行なうこととした。

2. セライトカラム法による分画

各標準色素はFig.1の画分(I)にクロロフィル及び銅クロロフィルが、画分(IV)に銅クロロフィルの一部及び銅クロロフィリンナトリウム、鉄クロロフィリンナトリウム、タール色素が分画された。

画分(I)のシリカゲル薄層によるTLCではクロロフィルと銅クロロフィルがほぼ同一のRfで色調も似ており、両者が混合している場合の判別は困難であった。

画分(IV)のPC及びポリアミド薄層でのTLCでは銅クロロフィルの一部と銅クロロフィリンナトリウムが挙動や色調が同一で両者の判別が困難であった。

食品試料のセライトカラム法での分析結果をTable 1に示した。標準のクロロフィルと銅クロロフィルは画分(I)に分画されているが試料からのクロロフィル及び

銅クロロフィルは画分(Ⅱ)に分画され、標準と試料で色素分画に相違が見られた。また、わらび、混合野菜から銅クロロフィルとクロロフィルが確認されたがクロロフィルはスペクトル、TLCの自然光下では銅クロロフィルに妨害され確認できず、TLCの紫外線照射での赤色

ケイ光でかろうじて確認できた。画分(Ⅳ)からはタール色素のB-1とY-4が確認された。またわらび、混合野菜から銅クロロフィルの一部または銅クロロフィリンナトリウムと思われる緑色色素が検出されたが、その判別は不可能であった。

Table 1. Detection of Dyes in Boiled Vegetables by Celite Column Method

Sample	Fraction II		Fraction IV	
	Spectrum	TLC	Spectrum	TLC, P. C
Bracken	Cu-Chl	Cu-Chl Chl	Part of Chl or Cu-Chl-Na B-1, Y-4	Part of Cu-Chl or Cu-Chl-Na B-1, Y-4
Mix vegetable	Cu-Chl	Cu-Chl Chl	Part of Cu-Chl or Cu-Chl-Na B-1, Y-4	Part of Cu-Chl or Cu-Chl-Na B-1, Y-4
Soy beans			B-1, Y-4	B-1, Y-4
Green peas	Chl	Chl	B-1, Y-4	B-1, Y-4
Japanese butterbur	Chl	Chl	B-1, Y-4	B-1, Y-4

3. 溶媒分離-ポリアミドカラム法による分画

標準色素はFig.2の画分(Ⅰ)にクロロフィルと銅クロロフィル、画分(Ⅱ)に銅クロロフィルの一部、銅クロロフィリンナトリウム、鉄クロロフィリンナトリウム、画分(Ⅲ)にタール色素が分画された。

画分(Ⅰ)のTLCはセライトカラム法と同様であった。画分(Ⅱ)のTLCでは銅クロロフィルの一部と銅クロロフィリンナトリウムが類似するスポットもあったが、銅クロロフィリンナトリウムの特徴的スポット(Rf2~3の青緑色スポット)が銅クロロフィルの一部にはなく、両者の判別が可能であった。画分(Ⅲ)のP.C

ではタール色素が明瞭に判別できた。本法では画分(Ⅱ)に銅クロロフィルの一部が存在し、クロロフィルは存在しないことから銅クロロフィルの確認が容易であること、また銅クロロフィルの一部と銅クロロフィリンナトリウムをTLCで判別できることなどセライトカラム法より優れた点が見られた。

試料の分析結果をTable2に示す。セライトカラム法ではわらび、混合野菜の画分(Ⅳ)の緑色色素は判別が困難であったが、本法で銅クロロフィルの一部であることが確認された。試料での色素の定性確認は全体的にセライトカラム法より容易であった。

Table 2. Detection of Dyes in Boiled Vegetables by Solvent Separation - Polyamide Colum Method

Sample	Fraction I		Fraction II		Fraction III	
	Spectrum	TLC	Spectrum	TLC	Spectrum	TLC, P.C.
Bracken	Cu-Chl	Cu-Chl Chl	Part of Cu-Chl	Part of Cu-Chl	B-1, Y-4	B-1, Y-4
Mix Vegetable	Cu-Chl	Cu-Chl	Part of Cu-Chl	Part of Cu-Chl		
Soy beans					B-1, Y-4	B-1, Y-4
Green peas	Chl	Chl			B-1, Y-4	B-1, Y-4
Japanese butterbur	Chl	Chl			B-1, Y-4	B-1, Y-4

4. 試料中の銅クロロフィルに由来する銅量

銅クロロフィルの使用基準は銅の量で規制されているため、わらび、混合野菜から銅クロロフィルを抽出し、灰化後原子吸光法⁴⁾にて銅含量を測定したところ、わらびは3.2ppm、混合野菜は2.6ppmであった。

IV 結論

水煮野菜に添加されたクロロフィル類及びタール色素

の同時検出法としてセライトカラム法及び油溶性天然色素の系統的分析法の一部とポリアミドカラム法を組み合わせた方法を比較した、

1) クロロフィル類のスペクトルは極大吸収が近く、スペクトルパターンも類似しているものが多く混合している場合スペクトルのみでの確認が困難であるため適当な分離が必要であった。

2) セライトカラム法は標準と試料で画分が異なったり、水・メタノール画分に存在する銅クロロフィルの一

水煮野菜中の着色料の分析について

部と銅クロフィリンナトリウムが判別できないなどの欠点が見られたが、試料中の色素は大部分確認が可能であった。

3) 油溶性天然色素の系統的分析法の一部とポリアミドカラム法を組み合わせた方法はセライトカラム法で見られたような欠点はなく、更にクロロフィルと銅クロロフィルの判別が容易であった。試料中の色素の確認もセライトカラム法より容易であった。

V 文献

1) 日本薬学会(1981): 衛生試験法, 天然色素, 日

薬学会第101年会公衆衛生協議会資料: P14~17

2) 日本薬学会(1983): 衛生試験法, 天然色素, 日本薬学会第103年会公衆衛生協議会資料: P55~57

3) Davidek, J., Davidková, E. (1967): Verwendung von Polyamid bei der Untersuchung wasserlöslicher Lebensmittelfarbstoffe, Z. Lebensm. Unters. Forsh., 132:99-101

4) 厚生省環境衛生局食品化学課編(1982): 食品中の食品添加物分析法, 講談社: 527~530