

タマネギ色素の確認試験結果

試料

タマネギ色素A (色価 343 4、290 4、255 0)

タマネギ色素B (色価 259 0、244 1、214 6)

結果 確認試験

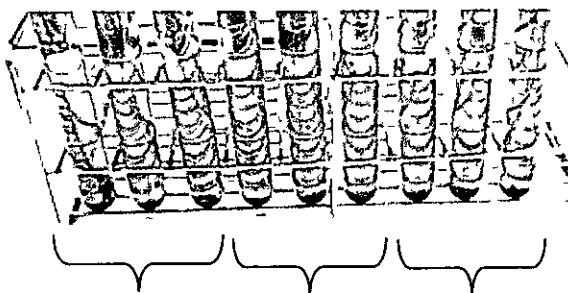
色素	Lot No	試験結果					
		1回目		2回目		3回目	
タマネギ色素 A	1	適	○	適	○	適	○
	2	適	○	適	○	適	○
	3	適	○	適	○	適	○
タマネギ色素 B	1	適	○	適	○	適	○
	2	適	○	適	○	適	○
	3	適	○	適	○	適	○

沈殿有り ○ 沈殿無し ×

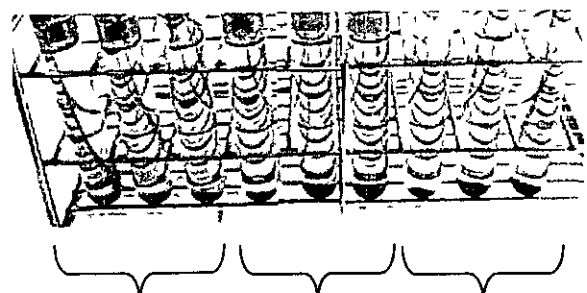
全ての試料に沈殿が生じ、同様の試験をそれぞれ 3 回ずつ繰り返したが、違いは見られなかった。

タマネギ色素 A

タマネギ色素 B



Lot No 1 Lot No 2 Lot No 3



Lot No 1 Lot No 2 Lot No 3

2003年7月3日

自主規格確認試験分析結果

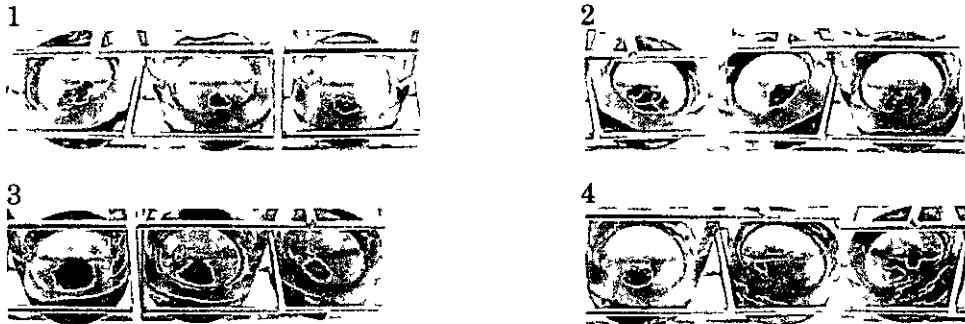
三栄源I7 I7 A(株)
 第三研究部
 プロダクツ色素

(タマギ'色素)

サンプルNo.	サンプル名	Lot
1	タマギ'色素 A	030501
2	タマギ'色素 B	020603
3	"	020930
4	"	030501

	サンプル NO							
	1		2		3		4	
色価	適	140.9	適	56.7	適	65.6	適	60.3
確認試験	1		2		3		4	
3	適	褐色	適	褐色	適	褐色	適	褐色
	適	褐色	適	褐色	適	褐色	適	褐色
	適	褐色	適	褐色	適	褐色	適	褐色

確認試験結果



※沈殿色の表現は、褐～暗褐色が適当であると思われます。

別紙－7

平成15年7月10日

タマリンド色素の確認試験結果

ヤエガキ醗酵技研株式会社

【試験項目、方法】

確認試験（4）

「本品の表示量から、色価 20 に換算して 1g に相当する量を取り、0.1M-水酸化ナトリウムを加えて溶かし全量を 100ml とする。この溶液 5ml に 0.1M-塩酸 10ml を加え、5%塩化亜鉛 (pH3.0) 水溶液を 100 μ l 加えて攪拌後、50℃20 分間加熱し、毎分 3,000 回転で 10 分間遠心分離を行うとき、暗褐～黄褐色の沈殿を生じる。」

5%塩化亜鉛 (pH3.0) 水溶液 塩化亜鉛 1g を秤量し、水 19g を加え、2 倍希釈塩酸で pH3.0 に調整する。

各色素サンプルにつき、それぞれ 3 Lot、3 回分析を行った。

【試験結果】

	Lot	試験回数		
		1 回目	2 回目	3 回目
タマリンド色素 A	①	○	○	○
	②	○	○	○
	③	○	○	○
タマリンド色素 B	①	○	○	○
	②	○	○	○
	③	○	○	○

判定 ○ 沈殿物あり、× 沈殿物なし

全ての試験において、暗褐色～黄褐色の沈殿が確認された。

2004年2月19日

第二部会（着色料）既存添加物自主規格案検討結果報告
—— 既策定自主規格案の見直し（トマト色素） ——

研究年月日 平成15年9月～平成16年1月
研究者名 日本食品添加物協会 第二部会
三栄源エフ エフ・アイ(株)

既存添加物 着色料における有害試薬クロロホルム代替検討

目 的 既存添加物自主規格第三版収載品目で食品添加物公定書第八版収載予定品目である「トマト色素」において、有害試薬「クロロホルム」の使用があり、これの代替について検討したので報告する。尚、自主規格第三版「トマト色素」確認試験(3)において、「本品の表示量から、色価300に換算して0.01gに相当する量を取り、…」と記載があるか、これは0.1gの記載ミスである。正しくは、「本品の表示量から、色価300に換算して0.1gに相当する量を取り、…」であり、この確認試験(3)についても「0.1g」で実施し、合わせてデータを添付する。

検討添加物 トマト色素

検討方法 クロロホルムに代替可能な有機溶媒、特に指定添加物で代替可能と判断したアセトン/シクロヘキサン混液（1：1）について検討。確認試験(3)の質量について確認する。

【検討規格について】

＜トマト色素＞

確認試験(3) 本品の表示量から、色価300に換算して0.01gに相当する量を取り、酢酸エチル10mlを加えて溶かし、検液とする。検液5 μ lをとり、対照液を用いず、*n*-ヘキサン/アセトン混液（7：3）を展開溶媒として薄層クロマトグラフィーを行うとき、 R_f 値が0.7～0.8付近（リコピン）に黄赤色のスポットを認める。このスポットは5%亜硝酸ナトリウム溶液を噴霧し、続けて0.5mol/l 硫酸を噴霧するとき、直ちに脱色する。ただし、薄層板には、担体として薄層クロマトグラフィー用シリカゲルを110℃で1時間乾燥したものを使用する。展開溶媒の先端が原線より約10cmの高さに上昇したとき展開をやめ、風乾した後、5%亜硝酸ナトリウム溶液及び0.5mol/l 硫酸を噴霧する。

色価測定法 測定する吸光度が0.3～0.7の範囲になるように、本品を精密に量り、クロロホルム1mlで完全に溶解させた後、*n*-ヘキサンを加えて正確に100mlとする。その液5mlを正確に量り、*n*-ヘキサンを加えて正確に100mlとし、試験溶液とする（必要があれば遠心分離し、その上澄液を用いる）。*n*-ヘキサンを対照とし、液層の長さ1cmで波長465～475nmの極大吸収部における試験溶液の吸光度Aを測定し、次式によ

り色価を求める。

$$\text{色価} = \frac{A \times 200}{\text{試料採取量 (g)}}$$

検討結果

- (1) 色素の溶媒としてアセトン/シクロヘキサン混液(1:1)について試験した結果、低濃度品、高濃度品いずれの場合も、クロロホルム代替として使用可能であると判断した。但し、測定溶媒としてアセトン/シクロヘキサン混液(1:1)を使用した場合、*n*-ヘキサンと比べ極大吸収波長が高波長側にシフトし、色価及びリコピン含量が低値となるため、アセトン/シクロヘキサン混液(1:1)単独での測定は困難と判断した。(別紙-1)
- (2) 確認試験(3)では、低濃度品、高濃度品いずれの場合も「色価 300 に換算して 0.1g に相当する量を取り」という内容に間違いがないことを実証し、0.1g への訂正が必要であると判断した(別紙-2)。尚、本試験は、全ての項目が適合しているかを確認するために、下記改定案を含め、全項目について実施した。

【改訂規格案】 J P用語統一も含め改定した(____ 変更箇所)

尚、純度試験(4)の残留溶媒規格は、規格化する方向で進めているが、規格値並びにその試験方法が決まっていないことより、今回の「案」には項目のみを載せている。

<トマト色素>

確認試験(3) 本品の表示量から、色価 300 に換算して 0.1g に相当する量を取り、酢酸エチル 10ml を加えて溶かし、検液とする。検液 5μl をとり、対照液を用いず、*n*-ヘキサン/アセトン混液(7:3)を展開溶媒として薄層クロマトグラフ法を行うとき、 R_f 値が 0.7~0.8 付近(リコピン)に黄赤色のスポットを認める。このスポットは 5% 亜硝酸ナトリウム溶液を噴霧し、続けて 0.5mol/L 硫酸を噴霧するとき、直ちに脱色する。ただし、薄層板には、担体として薄層クロマトグラフ用シリカゲルを 110℃ で 1 時間乾燥したものを使用する。展開溶媒の先端が原線より約 10cm の高さ上昇したとき展開をやめ、風乾した後、5%亜硝酸ナトリウム溶液及び 0.5mol/L 硫酸を噴霧する。

色価測定法 色価300に換算して約1gの本品を精密に量り、アセトン/シクロヘキサン混液(1:1) 25mlを加え溶解し(必要があれば振りながら溶解する)、次いでn-ヘキサンを加えて100mlとする。その2mlを正確に量り、n-ヘキサンを加えて正確に100mlとして試験溶液とする(必要があれば遠心分離し、その上澄液を用いる)。n-ヘキサンを対照とし、液層の長さ1cmで波長465~475nmの極大吸収部における試験溶液の吸光度Aを測定し、次式により色価又は、色価を345で除して本品中のリコピン含量を求める。

$$\text{色価} = \frac{A \times 500}{\text{試料の採取量 (g)}}$$

以上

別紙－ 1

トマト色素の色価測定結果

■ 試料

トマト色素	LOT A	(リコピン6%品)
トマト色素	LOT B	(リコピン8%品)
トマト色素	LOT C	(リコピン8%品)
トマト色素	LOT D	(リコピン70%品)

■ 項目

- ・ 現行1次希釈時クロロホルム使用での色価測定結果
- ・ 1次希釈時クロロホルムの他の溶剤での代替色価測定結果

■ 方法

試料溶液の調製

n-ヘキサン溶媒

色価300に換算して約1gを精密に量り、n-ヘキサンを加えて混合し、トマト色素を溶解後、n-ヘキサンで正確に100mlとする。この液2mlを正確に量り、n-ヘキサンで正確に100mlとして測定溶液とする。

クロロホルム溶媒

色価300に換算して約1gを精密に量り、クロロホルム10mlを加えて混合し、トマト色素を溶解後、n-ヘキサンで正確に100mlとする。この液2mlを正確に量り、n-ヘキサンで正確に100mlとして測定溶液とする。

クロロホルム代替溶媒 (アセトン シクロヘキサン(1:1, V/V)混合溶媒 (以下A-C混合溶媒と略記))

色価300に換算して約1gを精密に量り、A-C混合溶媒25mlを加えて、トマト色素を溶解し、n-ヘキサンを加えて正確に100mlとする。この液2mlを正確に量り、n-ヘキサンで正確に100mlとして測定溶液とする。

尚、2次希釈時、n-ヘキサンの代わりに、A-C混合溶媒を用いて希釈し、A-C混合溶媒を測定溶媒とした測定溶液を調製して、このものも測定に供した。

色価測定 n-ヘキサンを対照とし、液層の長さ1cmで波長465~475nmの極大吸収部における試験溶液の吸光度Aを測定し、次式により色価又は345で色価を除してリコピン含量を求める。

$$\text{色価} = \frac{A \times 500}{\text{試料採取量(g)}}$$

$$\text{リコピン含量 (\%)} = \text{色価} / 345$$

■ 結果

1次希釈時にクロロホルム及びA-C混合溶媒使用時の測定結果を表1、2に示した。

トマト色素 LOT C (リコピン8%品) では、n-ヘキサンのみでもリコピンとして約15 μ g/mlが溶解可能であり、分析可能であったが、LOT D (リコピン70%品) では同濃度としても完全に溶解し難かった。

しかし、A-C混合溶媒では、リコピンとして約450 μ g/mlが溶解可能であり、LOT D (リコピン70%品) についても完全に溶解可能であった。

A-C混合溶媒を用いれば、高含量の試料の測定が可能となるので、1次希釈時の試料溶解に用いる方が適切と考えられる。

尚、A-C混合溶媒を測定溶媒に用いた場合、n-ヘキサン溶媒の場合に比して、極大吸収部が約5nm程度長波長側にシフトし、色価又はリコピン含量が約6%小さくなったので、この溶媒をトマト色素の測定溶媒に使用するの是不適切と考えられた。

表1

試料	1次溶解溶媒	測定溶媒	極大吸収波長(nm)			色価	含量(%)
			吸収1	吸収2	吸収3		
LOT C (8%品)	n-ヘキサン	n-ヘキサン	443.6	470.6	501.8	2467	7.15
LOT D (70%品)	n-ヘキサン	n-ヘキサン	—	—	—	—	—
LOT D (70%品)	クロロホルム	n-ヘキサン	444.0	470.8	502.2	21010	60.9
LOT D (70%品)	A-C混合溶媒	n-ヘキサン	444.0	470.8	502.2	20940	60.7
LOT D (70%品)	A-C混合溶媒	A-C混合溶媒	449.4	476.0	507.6	19700	57.1

注 1次溶解溶媒，トマト色素を溶解するのに1次希釈時に添加の溶媒
測定溶媒，測定溶液の調製に用いた溶媒

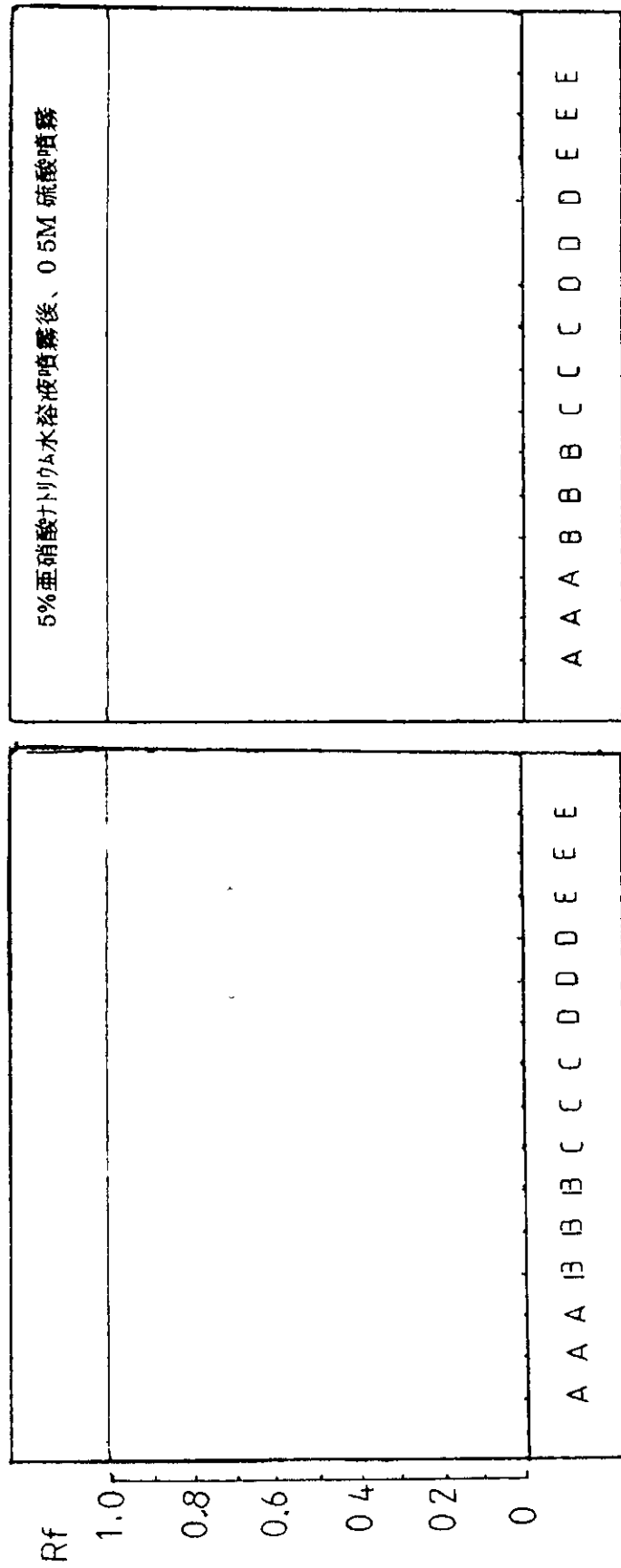
表2

試料	1次溶解 溶媒	繰返し	極大吸収波長(nm)			色価 10%E	リコピン 含量(%)
			吸収1	吸収2	吸収3		
LOT C (リコピン 8%)	n-ヘキサ ン	1	443.6	470.6	501.8	2467	7.15
		2	444.2	470.6	501.6	2453	7.11
		3	443.8	470.6	501.8	2574	7.46
		4	443.8	470.6	501.6	2505	7.26
		5	444.0	470.6	501.8	2501	7.25
		平均	443.9	470.6	501.7	2500	7.25
LOT A (リコピン 6%品)	A-C 混合溶媒	1	444.0	470.6	501.6	2059	5.97
		2	443.4	470.6	501.4	2059	5.97
		3	444.2	470.4	501.4	2068	5.99
		4	444.0	470.4	501.4	2062	5.98
		5	444.0	470.4	501.8	2057	5.96
		平均	443.9	470.5	501.5	2061	5.97
LOT B (リコピン 8%品)	A-C 混合溶媒	1	444.2	470.4	501.8	2600	7.54
		2	443.4	470.6	502.0	2610	7.57
		3	444.2	470.6	501.6	2557	7.41
		4	444.2	470.6	502.0	2532	7.34
		5	444.0	470.6	501.6	2544	7.37
		平均	444.0	470.6	501.8	2569	7.45
LOT C (リコピン 8%品)	A-C 混合溶媒	1	443.8	470.8	501.8	2514	7.29
		2	444.4	470.4	501.6	2528	7.33
		3	444.0	470.6	501.6	2480	7.19
		4	443.8	470.4	501.8	2531	7.34
		5	443.6	470.4	501.8	2494	7.23
		平均	443.9	470.5	501.7	2509	7.27
LOT D (リコピン 7.0%品)	A-C 混合溶媒	1	444.0	470.8	502.2	20860	60.5
		2	444.0	470.8	502.2	21510	62.3
		3	444.0	470.8	502.2	20960	60.8
		4	444.0	470.8	502.2	20940	60.7
		5	444.0	470.8	502.2	20550	59.6
		平均	444.0	470.8	502.2	20964	60.8
LOT D (リコピン 7.0%品)	クロロホ ルム	1	444.0	470.8	502.2	21420	62.1
		2	444.0	470.8	502.2	21010	60.9
		3	444.0	470.8	502.2	21280	61.4
		4	444.0	470.8	502.2	21530	62.4
		5	444.0	470.8	502.2	20730	60.1
		平均	444.0	470.8	502.2	21194	61.4

以上

別紙－2

トマト色素 確認試験 TLC



別紙－2

トマト色素 (案)

Tomato color

トマトリコピン

定 義 本品は、トマトの果実から得られた、リコピンを主成分とするものである。食用油脂を含むことがある。

色 価 本品の色価 ($E_{1\text{cm}}^{10\%}$) は 300 以上で、その表示量の 95~115% を含む。

性 状 本品は、褐~暗赤色の粉末、塊、ペースト又は液体で、特異なおいがある。

確認試験 (1) 本品の表示量から、色価 300 に換算して 0.1g に相当する量を取り、酢酸エチル 100ml を加えて溶かした液は、たいだい色を呈する。

(2) 本品に *n*-ヘキサンを加えて溶かした液は、波長 438~450nm、波長 465~475nm 及び波長 495~505nm に極大吸収部がある。

(3) 本品の表示量から、色価 300 に換算して 0.1g に相当する量を取り、酢酸エチル 10ml を加えて溶かし、検液とする。検液 5 μ l をとり、対照液を用いず、*n*-ヘキサン/アセトン混液 (7/3) を展開溶媒として薄層クロマトグラフ法を行うとき、 R_f 値が 0.7~0.8 付近 (リコピン) に黄赤色のスポットを認める。このスポットは 5%亜硝酸ナトリウム溶液を噴霧し、続けて 0.5mol/L 硫酸を噴霧するとき、直ちに脱色する。ただし、薄層板には、担体として薄層クロマトグラフ用シリカゲルを 110℃で 1 時間乾燥したものを使用する。展開溶媒の先端が原線より約 10cm の高さに上昇したとき展開をやめ、風乾した後、5%亜硝酸ナトリウム溶液及び 0.5mol/L 硫酸を噴霧する。

純度試験 (1) 重金属 Pb として 40 μ g/g 以下 (0.50g, 第 2 法, 比較液 鉛標準液 2.0ml)

(2) 鉛 Pb として 10 μ g/g 以下 (1.0g, 第 1 法)

(3) ヒ素 As₂O₃ として 4.0 μ g/g 以下 (0.50g, 第 3 法, 装置 B)

(4) 残留溶剤 残留溶媒〇〇法 〇〇については現在検討中

アセトン 30 μ g/g 以下 (色価〇〇に換算して)

ヘキサン 25 μ g/g 以下 (色価〇〇に換算して)

酢酸エチル 50 μ g/g 以下 (色価〇〇に換算して)

色価測定法 色価 300 に換算して約 1g の本品を精密に量り、アセトン/シクロヘキサン混液 (1/1) 25ml を加え溶解し (必要があれば振りながら溶解する)、次いで *n*-ヘキサンを加えて 100ml とする。その 2ml を正確に量り、*n*-ヘキサンを加えて正確に 100ml として試験溶液とする (必要があれば遠心分離し、その上澄液を用いる)。*n*-ヘキサンを対照とし、液層の長さ 1cm で波長 465~475nm の極大吸収部における試験溶液の吸光度 A を測定し、次式により色価又は、色価を 345 で除して本品中

のリコピン含量を求める。

$$\text{色価} = \frac{A \times 500}{\text{試料の採取量 (g)}}$$

第二部会（着色料）既存添加物自主規格案検討結果報告
—— 既策定自主規格案の見直し（クチナシ青色素、赤色素） ——

研究年月日 平成15年9月～平成16年2月
研究者名 日本食品添加物協会 第二部会
クチナシ青研究会（アルプス薬品工業株、グリコ栄養食品株、三栄源エフ・エフ・アイ株、台糖株、日農化学工業株、長谷川香料株、ヤエカキ醗酵技研株、理研ヒタミン株）

クチナシ青及び赤色素の他の着色料との区別を目的とした確認試験法の検討

目的 第三版既存添加物自主規格収載で第8版食品添加物公定書収載予定品目である「クチナシ青色素」及び「クチナシ赤色素」については、成分が特定できず、かつ他の着色料と区別できる確認試験がないことから、第8版公定書収載にあたって他の着色料と区別できる項目が必要になっている。そこで、クチナシ青色素については、スピルリナ色素、タール色素、クチナシ赤色素については、アントシアニン系色素である赤キャベツ色素、コチニール色素、ラック色素、ヒートレット、ベニコウシ色素、ベニバナ赤色素、アカネ色素、タール色素との区別できる試験法について検討することを目的とした。

検討添加物 クチナシ青色素及びクチナシ赤色素

検討方法 クチナシ赤色素確認試験（4）をベースにクチナシ青色素及びクチナシ赤色素がアルカリ性や酸性により退色若しくは変色し難いことを利用して他の同系色と区別する方法を検討する。

【検討規格について】

＜クチナシ青色素＞

確認試験（4）新規

＜クチナシ赤色素＞

確認試験（4） 本品の表示量から色価50に換算して0.2gに相当する量を取り、水を加えて100mlとし、この溶液5mlに水酸化ナトリウム溶液（1→25）を加えてアルカリ性にするとき、濁りを生じる場合があるか、明らかな色の変化は認められない。

検討結果

- （1）クチナシ青色素については、色素水溶液をアルカリ性にするこゝで、スピルリナ色素、青色2号は退色し、クチナシ青色素、青色1号は変化しなかった。この液を40～50℃で20分間加温することゝ、青色1号は退色し、クチナシ青色素は変化しなかった。また、アルカリ性にして加温する試験を7社で自社の商品を用いて実施

したところ、全て同じ結果が得られ、クチナシ青色素は簡単な操作で区別可能であることがわかった。(別紙-1)

- (2) クチナシ赤色素については、アルカリ性にしたとき、クチナシ赤色素、赤3号、104号、106号については明らかな色の変化がなく、かつ塩酸を添加した場合、クチナシ赤色素と赤106号か色の変化がなかった。酸やアルカリを添加する試験で明らかに色の変化がなかった色素は、クチナシ赤色素と赤106号である。しかし、赤106号は確認試験(2)の極大吸収波長が規格520~545nmより外れる(実測値565nm)ことや蛍光を発するため、この2つは識別可能と考えられた。以上よりクチナシ赤色素は簡単な操作で区別可能であることがわかった。(別紙-2)

<クチナシ青色素>

確認試験(4) 本品の表示量から色価50に換算して0.2gに相当する量を取り、水を加えて100mlとし、この溶液5mlに水酸化ナトリウム溶液(1→25)5mlを加え、40~43℃で20分間加熱するとき、明らかな色の変化は認められない。

<クチナシ赤色素>

確認試験(4) 本品の表示量から色価50に換算して0.2gに相当する量を取り、水を加えて100mlとし、試験溶液とする。試験溶液5mlに水酸化ナトリウム溶液(1→25)5mlを加えてアルカリ性にしたとき、かつ試験溶液5mlに濃塩酸1~3滴を加えるとき、濁りを生じる場合があるか、明らかな色の変化は認められない。

以上

別紙一 1

