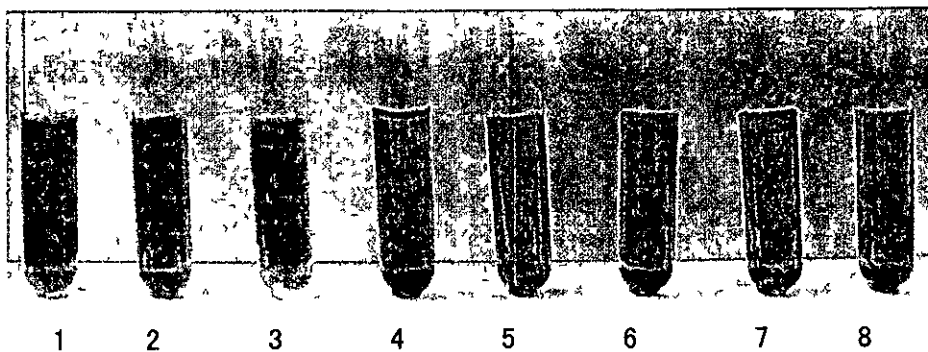
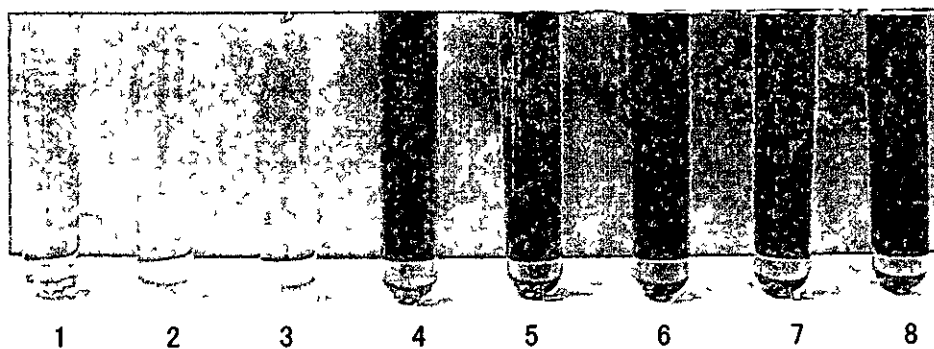


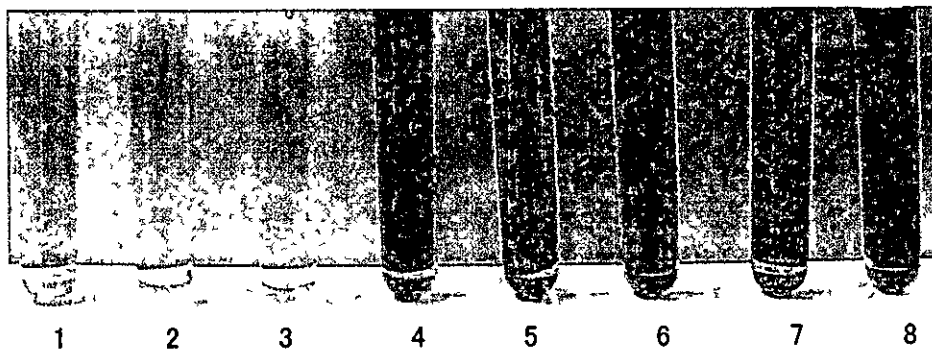
試験前溶液



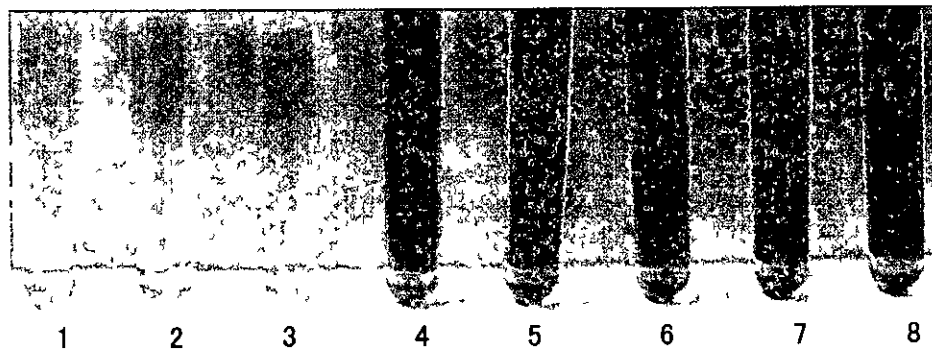
色素製品Lot ①-試験1回目



色素製品Lot ①-試験2回目

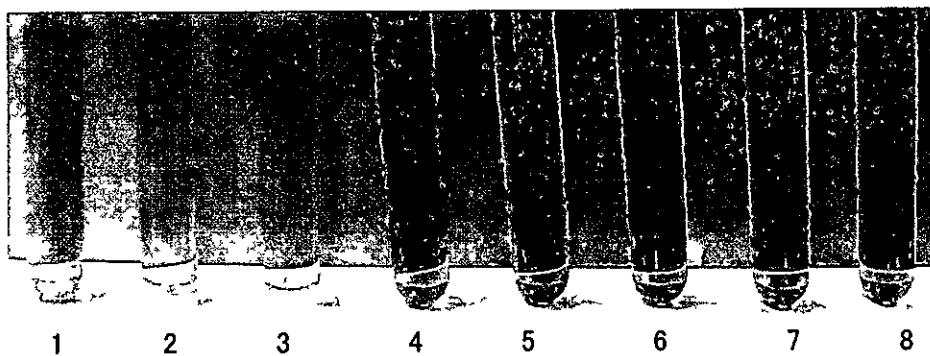


色素製品Lot ①-試験3回目

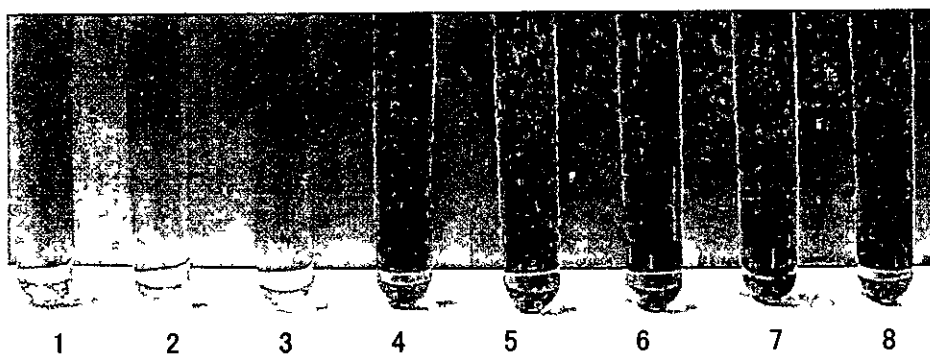


- | | | |
|------------|------------|------------|
| 1 スピリリナ色素 | 2 青色2号 | 3 青色1号 |
| 4 クチナシ青色素A | 5 クチナシ青色素B | 6 クチナシ青色素C |
| 7 クチナシ青色素D | 8 クチナシ青色素E | |

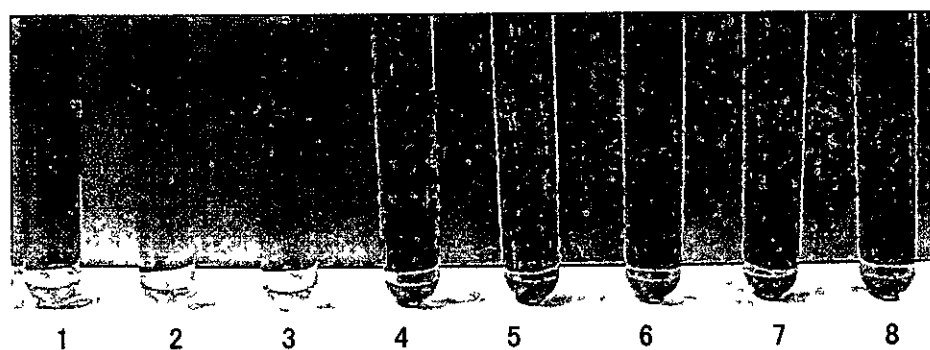
色素製品Lot ②-試験1回目



色素製品Lot ②-試験2回目

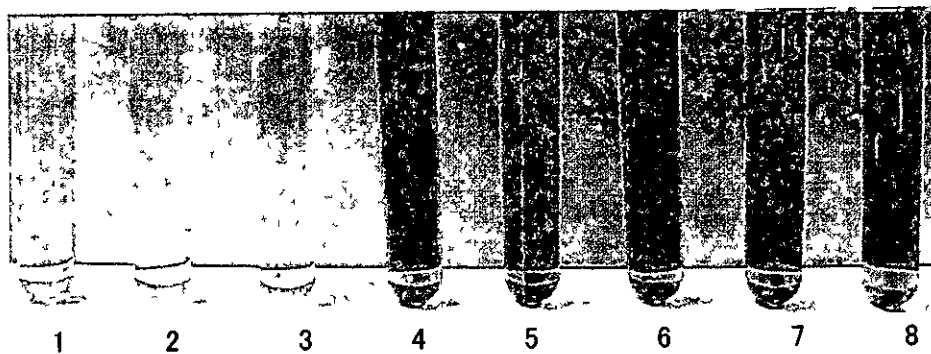


色素製品Lot ②-試験3回目

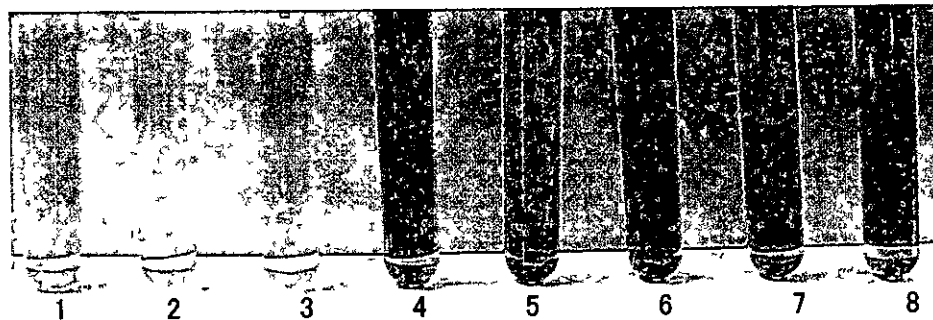


- | | | |
|------------|------------|------------|
| 1 スピルリナ色素 | 2 青色2号 | 3 青色1号 |
| 4 クチナシ青色素A | 5 クチナシ青色素B | 6 クチナシ青色素C |
| 7 クチナシ青色素D | 8 クチナシ青色素E | |

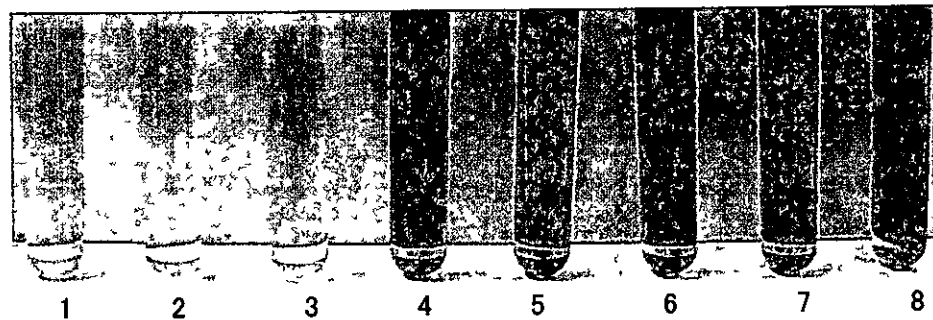
色素製品Lot ③-試験1回目



色素製品Lot ③-試験2回目



色素製品Lot ③-試験3回目



- | | | |
|------------|------------|------------|
| 1 スピルリナ色素 | 2 青色2号 | 3 青色1号 |
| 4 クチナシ青色素A | 5 クチナシ青色素B | 6 クチナシ青色素C |
| 7 クチナシ青色素D | 8 クチナシ青色素E | |

平成15年9月11日

クチナシ青色素の確認試験結果

ヤエガキ醸酵技研株式会社

【試験項目、方法】

第三版 既存添加物 自主規格のクチナシ青色素確認試験方法に下記の試験方法の追加を検討した。

確認試験（4）として

「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、水を加えて溶かし全量を 100ml とする。この溶液 5ml に水酸化ナトリウム溶液（1→25）5ml を加え、40℃－20分（または 50℃－10分）加熱するとき、明らかな色の変化は認められない。」

各クチナシ青色素サンプルにつき、それぞれ 3 Lot、3回分析を行った。
対照色素として青色1号、青色2号ならびにスピルリナ色素も同様に行った。

【試験結果】（別紙1，別紙2，別紙3）

	Lot	試験回数		
		1回目	2回目	3回目
クチナシ青色素A	①	変化なし	変化なし	変化なし
	②	変化なし	変化なし	変化なし
	③	変化なし	変化なし	変化なし
クチナシ青色素B	①	変化なし	変化なし	変化なし
	②	変化なし	変化なし	変化なし
	③	変化なし	変化なし	変化なし
クチナシ青色素C	①	変化なし	変化なし	変化なし
	②	変化なし	変化なし	変化なし
	③	変化なし	変化なし	変化なし
クチナシ青色素D	①	変化なし	変化なし	変化なし
	②	変化なし	変化なし	変化なし
	③	変化なし	変化なし	変化なし
クチナシ青色素E	①	変化なし	変化なし	変化なし
	②	変化なし	変化なし	変化なし
	③	変化なし	変化なし	変化なし
青色1号		退色した	退色した	退色した
青色2号		退色した	退色した	退色した
スピルリナ色素		退色した	退色した	退色した

全てのクチナシ青色素において、色の変化が生じないことが確認された。
また、青色1号、青色2号ならびにスピルリナ色素は色が退色した。

平成 15 年 11 月 5 日

クチナシ青色素確認試験

理研ビタミン株式会社

1 試料

- ① クチナシ青色素 A
- ② クチナシ青色素 B
- ③ 青色 1 号
- ④ 青色 2 号
- ⑤ スピルリナ色素

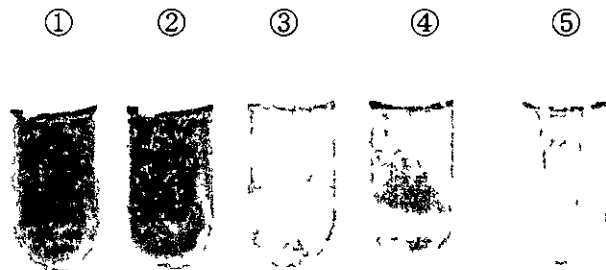
2 方法

各色素からそれぞれ色価 50 に換算して 0.2g に相当する量を取り、水を加えて溶かし全量を 100ml とした。この溶液 5ml に水酸化ナトリウム水溶液 (1→25) 5ml を加え、50℃で 10 分加熱後、色素溶液の色を比較した。

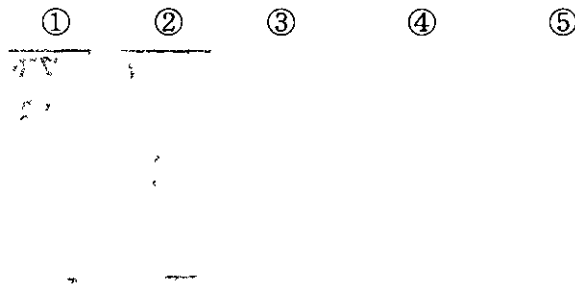
3 結果

クチナン青色素では明らかな変化は認められなかった。青色 1 号、青色 2 号、スピルリナ色素では著しい退色かみられた。

NaOH 添加前



NaOH 添加、加熱後



①クチナン青色素 A ②クチナシ青色素 B ③青色 1 号 ④青色 2 号 ⑤スピルリナ色素

別紙－2

クチナシ赤色素の確認試験

(クチナシ赤色素の簡易確認試験法 (案))

台糖株式会社

1 試料

赤系色素

- ・クチナシ赤色素 (デキストリンを含む) (5種サンプル)
- ・赤キャベツ色素 (エタノール10%、クエン酸5%含有)
- ・コチニール色素 (デキストリンを含む)
- ・ラック色素
- ・ビートレッド色素
- ・ベニコウジ赤色素 (PGを含む)
- ・ヘニバナ赤色素
- ・アカネ色素 (酒石酸 Na 46%、硫酸アルミニウムカリウム 23%、炭酸 Na 9%、デキストリンを含む)
赤色 2,3,40,102,104,106 号

2 方法

各色素をそれぞれE%=0.1になるようRO水にて希釈したものを検液として試験に用いた。この溶液 5ml に a 水酸化ナトリウム溶液 (1→25) 5ml、b 濃塩酸 1～2 滴滴下後、次亜塩素酸ナトリウム溶液 1～3 滴をそれぞれ加え攪拌し、室温(28℃)で適当な時間放置したときの検液の色を比較した。

また、n-ブタノール/1%アンモニア溶液/エタノール混液 (6 : 3 : 2) を展開溶媒としたペーパークロマトグラフィーを行い各色素を比較した。

3 結果

各色素の反応結果を表1および写真 a-1～b-2 に示した。

水酸化ナトリウム溶液を加えてアルカリ性にしたとき、クチナシ赤色素、赤色 3、104 および 106 号については明らかな色の変化が認められなかった。(写真 a-1 および a-2)

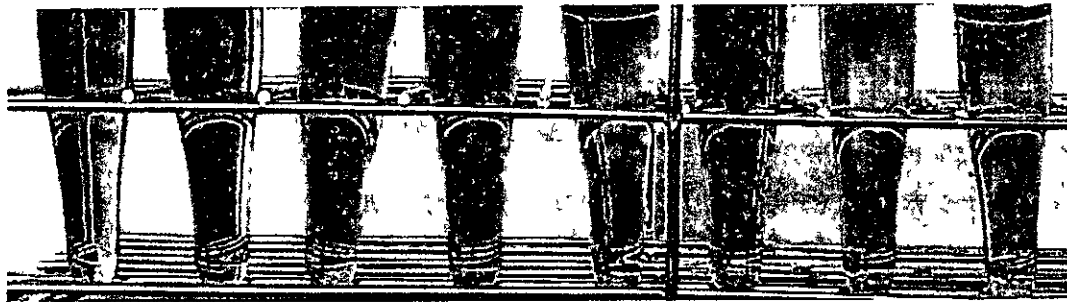
また、この4種の色素のうち濃塩酸 1～2 滴添加直後には、クチナシ赤色素および赤色 106 号については変化が見られなかった。(写真 b-1) クチナシ赤色素4種についても比較したが同様の結果が得られた。このうち、特に赤色 106 号は蛍光を発し、酢酸 Buffer 溶解時の極大吸収波長に差があるため容易に識別が可能であると考えられる。(表1) これらの判定を併せるとクチナシ赤色素の識別が可能であると考えられる。

以上の結果より、クチナシ赤色素の確認試験方法の条件としては、水酸化ナトリウム溶液および塩酸添加時の検液の色調変化によりクチナシ赤色素は他の色素との識別が可能であると考えられた。

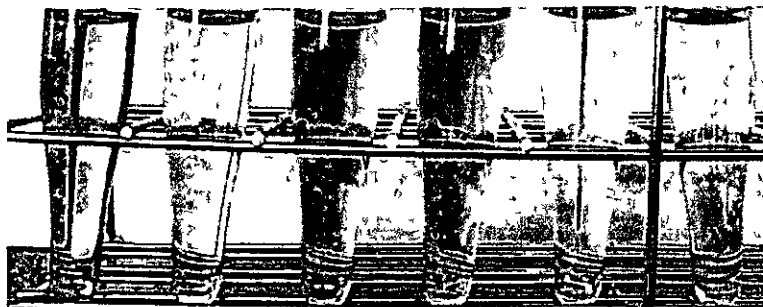
また参考として、ペーパークロマトグラフィーを行った結果、合成色素に関しては1つのスポット以外にスポットが認められず、他の天然色素に関してはテーリングまたは原点に留まったスポットが観察された。

添付資料

写真 水酸化ナトリウム添加前 (28℃)



赤キャベツ クチナン赤 コチニール ラノク ビートレノド ヘニコウン赤 ベニバナ赤 アカネ

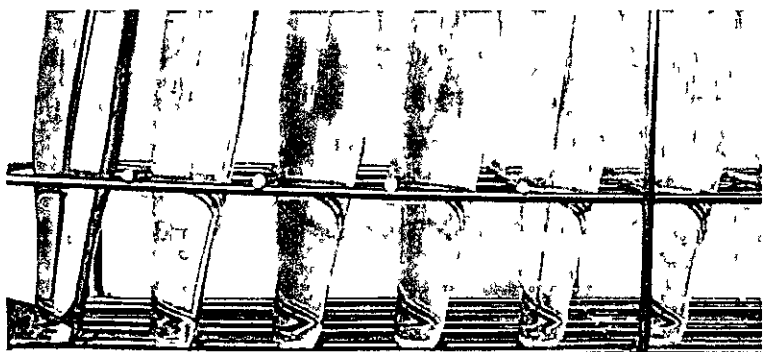


赤色2号 赤色3号 赤色40号 赤色102号 赤色104号 赤色106号

写真 a-1 水酸化ナトリウム添加直後 (28℃)

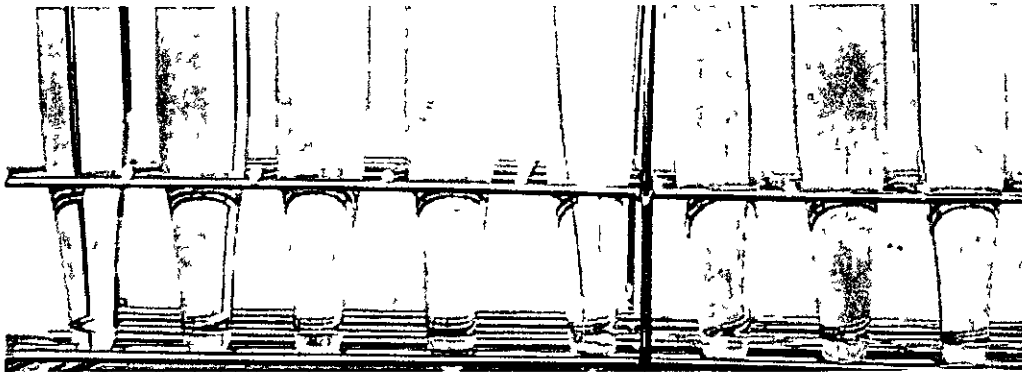


赤キャベツ クチナン赤 コチニール ラノク ビートレノド ヘニコウン赤 ベニバナ赤 アカネ



赤色2号 赤色3号 赤色40号 赤色102号 赤色104号 赤色106号

写真 a-2 水酸化ナトリウム添加2時間後 (28℃)



赤キャハツ クチナン赤 コチニール ラック ビートレット ヘニコウン赤 ベニバナ赤 アカネ

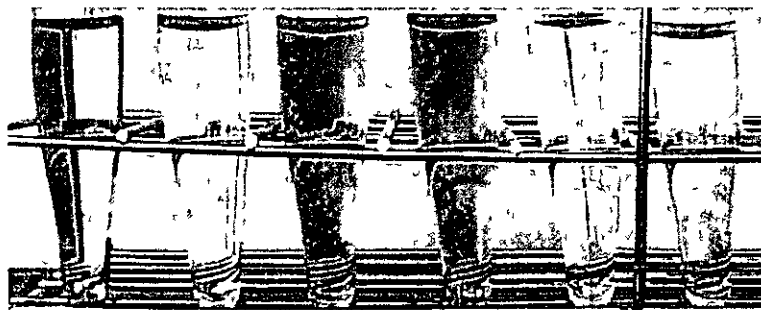


赤色2号 赤色3号 赤色40号 赤色102号 赤色104号 赤色106号

写真 b-1 塩酸1~2滴添加直後



赤キャハツ クチナン赤 コチニール ラック ビートレット ヘニコウン赤 ベニバナ赤 アカネ



赤色2号 赤色3号 赤色40号 赤色102号 赤色104号 赤色106号

写真 b-2 塩酸添加後、次亜塩素酸ナトリウム溶液1~3滴添加
すへて無色透明に変化

表1 赤系色素の確認試験

	pH4.0酢酸 Buffer溶解時 極大吸収波長(nm)	スタート時	a-1 NaOH添加 直後 (pH)	a-2 NaOH添加 2時間後	b-1 塩酸 添加直後 (pH)	b-2 次亜塩素 酸添加後	(参考) ペーパークロマト スポットの様子
①赤キャベツ色素	535.5	赤紫	黄色(13.27)	黄色	濃い赤紫(0.99)	退色	テーリング
②クチナシ赤色素	530	赤紫	変化無し(13.30)	変化無し	変化無し(0.91)	退色	原点
③コチニール色素	490	赤橙色	赤紫(13.31)	赤紫	変化無し(0.89)	退色	テーリング
④ラック色素	489.5	赤橙色	赤紫(13.34)	赤紫	赤橙色(1.00)	退色	テーリング
⑤ピートレッド	534	赤紫	淡黄色(13.38)	淡黄色	変化無し(1.07)	退色	原点
⑥ヘニコノ赤色素	489	赤橙色	淡橙色(13.36)	淡橙色	変化無し(0.92)	退色	テーリング
⑦ヘニバナ赤色素	519	赤色(にこり)	黄色(13.35)	黄色	黄橙色(0.74)	退色	テーリング
⑧アカネ色素	500.5	赤色(にこり)	赤紫(13.37)	赤紫	変化無し(1.17)	退色	テーリング
⑨赤色2号	521.5	赤紫	薄い赤(13.36)	薄い赤	変化無し(1.01)	退色	Rf値 0.08
⑩赤色3号	528.5	薄い赤	変化無し(13.36)	変化無し	退色(0.99)	退色	Rf値 0.53
⑪赤色40号	501.0	赤	淡橙色(13.41)	淡橙色	変化無し(1.02)	退色	Rf値 0.41
⑫赤色102号	507.5	赤	淡黄色(13.38)	淡黄色	変化無し(0.84)	退色	Rf値 0.16
⑬赤色104号	539	蛍光のある薄い赤	変化無し(13.40)	変化無し	退色(0.82)	退色	Rf値 0.65
⑭赤色106号	565	蛍光のある赤紫	変化無し(13.40)	変化無し	変化無し(0.95)	退色	Rf値 0.63

4 他の同系色素との区別を明確にするための確認試験法(案)

第三版 既存添加物 自主規格のクチナシ赤色素確認試験法は以下のとおりである。

- (1) 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、酢酸緩衝液 (pH4.0) 100ml を加えてとがした液は、赤～赤紫色を呈する。
- (2) 本品に酢酸緩衝液 (pH4.0) を加えて溶かした液は、波長 520～545nm に極大吸収部がある。
- (3) 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 に塩酸 1～2 滴を加えた後、次亜塩素酸ナトリウム 1～3 滴加えるとき、速やかに脱色される。
- (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 を加えてアルカリ性にすると、濁りを生ずる場合があるが、明らかな色の変化は認められない。

上記の現状確認試験法に、他の同系色素との区別を明確にするため、以下(4)を修正する。

- (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 を加えてアルカリ性にすると、または濃塩酸 1～2 滴を加えて酸性にすると、濁りを生ずる場合があるが、明らかな色の変化は認められない。以上

平成 15 年 9 月 25 日

台糖株式会社

クチナシ赤色素の確認試験

1 試料

・クチナシ赤色素－台糖 1、2（2種）

2 方法

各色素の表示量から色価 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①水酸化ナトリウム溶液（1→25）5ml を加えアルカリ性にするとき、②濃塩酸 1～2 滴を加えて酸性にするときの検液の色調変化を確認した。各種類、3 ロットについて 3 回試験を行った。

3 結果

各色素の反応結果を下表に示した。クチナシ赤色素－台糖 2 については、水酸化ナトリウム溶液添加直後に濁りか確認されたか、明らかな色調変化かないことを確認した。

表 1 各色素の水酸化ナトリウム添加後、濃塩酸添加後の検液の色調変化

サンプル名	Lot	pH4.0酢酸Buffer 溶解時の 極大吸収波長(nm)	①水酸化ナトリウム添加後			②濃塩酸添加後		
			1回目	2回目	3回目	1回目	2回目	3回目
クチナシ赤色素－台糖 1 (デキストリン含有)	①	530.5	変化無し	変化無し	変化無し	変化無し	変化無し	変化無し
	②	530.0	変化無し	変化無し	変化無し	変化無し	変化無し	変化無し
	③	530.5	変化無し	変化無し	変化無し	変化無し	変化無し	変化無し
クチナシ赤色素－台糖 2 (デキストリン含有)	①	532.5	変化無し	変化無し	変化無し	変化無し	変化無し	変化無し
	②	532.5	変化無し	変化無し	変化無し	変化無し	変化無し	変化無し
	③	532.0	変化無し	変化無し	変化無し	変化無し	変化無し	変化無し

以上

クチナシ青色素 (案)

Gardenia blue

定 義 本品は、クチナシの果実から得られたイリトイト配糖体とタンパク質分解物の混合物にβ-クルコシターゼを添加して得られたものである。デキストリン又は乳糖を含むことがある。

色 価 本品の色価 ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$) は 50 以上で、その表示量の 90~110% を含む。

性 状 本品は、暗紫~青色の粉末、塊、ペースト又は液体で、わずかに特異なにおいがある。

確認試験 (1) 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、クエン酸緩衝液 (pH7.0) 100ml を加えて溶かした液は、青~青紫色を呈する。

(2) 本品にクエン酸緩衝液 (pH7.0) を加えて溶かした液は、波長 570~610nm に極大吸収部がある。

(3) 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 に塩酸 1~2 滴を加えた後、次亜塩素酸ナトリウム 1~3 滴加えると、速やかに脱色される。

(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。

純度試験 (1) 重金属 Pb として 40 $\mu\text{g/g}$ 以下 (0.50g, 第 2 法, 比較液 鉛標準液 2.0ml)

(2) 鉛 Pb として 8 $\mu\text{g/g}$ 以下 (1.25g, 第 1 法)

(3) ヒ素 As_2O_3 として 4.0 $\mu\text{g/g}$ 以下 (0.50g, 第 3 法, 装置 B)

(4) 残留溶媒 残留溶媒〇〇法

メタノール 0.1% 以下 (色価 50 に換算)

色価測定法 色価測定法により次の操作条件で試験を行う。

操作条件

測定溶媒 クエン酸緩衝液 (pH7.0)

測定波長 波長 570~610nm の極大吸収部

クチナシ赤色素 (案)

Gardenia red

定 義 本品は、クチナシの果実から得られたイリトイト配糖体のエステル加水分解物とタンパク質分解物の混合物にβ-グルコシターゼを添加して得られたものである。デキストリン又は乳糖を含むことがある。

色 価 本品の色価 ($E_{1\%}^{1cm}$) は 50 以上で、その表示量の 90~110% を含む。

性 状 本品は、暗赤紫~赤色の粉末、塊、ペースト又は液体で、わずかに特異なにおいがある。

- 確認試験**
- (1) 本品の表示量から色価 50 に換算して 0.2g を量り、酢酸緩衝液 (pH4.0) 100ml を加えて溶かした液は、赤~赤紫色を呈する。
 - (2) 本品に酢酸緩衝液 (pH4.0) を加えて溶かした液は、波長 520~545nm に極大吸収部がある。
 - (3) 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 に塩酸 1~2 滴を加えた後、次亜塩素酸ナトリウム 1~3 滴を加えるとき、速やかに脱色される。
 - (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。

- 純度試験**
- (1) 重金属 Pb として 40 $\mu\text{g/g}$ 以下 (0.50g, 第 2 法, 比較液 鉛標準液 2.0ml)
 - (2) 鉛 Pb として 8 $\mu\text{g/g}$ 以下 (1.25g, 第 1 法)
 - (3) ヒ素 As_2O_3 として 4.0 $\mu\text{g/g}$ 以下 (0.50g, 第 3 法, 装置 B)
 - (4) 残留溶媒 残留溶媒〇〇法

メタノール 0.1%以下 (色価 50 に換算)

色価測定法 色価測定法により次の操作条件で試験を行う。

操作条件

測定溶媒 酢酸緩衝液 (pH4.0)

測定波長 波長 520~545nm の極大吸収部

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（ラック色素） ——

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)、クリコ栄養食品(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)、ヤエガキ醸造技研(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、ビートレット、ヘニコウシ色素、ヘニハナ赤色素、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て、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分間加温することて、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社て自社の商品を用いて実施

平成 15 年度厚生労働科学研究費補助金報告書
天然添加物の規格設定及び有害試薬使用の排除のための研究
－既存添加物の規格化に関する調査研究－

製本の際に、p 166-167 の 2 ページに対して間違ったページを入れてしまいました。大変にお手数をおかけいたしますか、冊子の p 166-167 の 2 ページを添付の文書に差し替えていただきますようお願い申し上げます。

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報告書

—— 既策定自主規格案の見直し（ラック色素） ——

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
天然色素三色会（アイゼン保土谷(株)、OCI(株)、キリヤ化学(株)、三栄源エフ・エフ・アイ(株)、(株)タイショーテクノス、長谷川香料(株)、ヤエガキ醸造技研(株)

既存添加物 ラック色素の第8版食品添加物公定書収載に関する指摘事項の検討

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「ラック色素」の規格については、「確認試験(3)」に使用しているペーパークロマトグラフ法より、有効な方法として薄層クロマトグラフ法（愛知衛研法，市販薄層板による方法）への変更について国立医薬品食品研究所から指摘されている。そこで，市販されている薄層板（逆相系及びセルロース系の2種）を用いて，自社品による予備試験と統一のサンプルを用いたクロス試験の2つについて実施し，薄層クロマトグラフ法か確認試験(3)として使用可能でより優れた方法かを確認することを目的とした。

検討添加物 ラック色素

検討方法 検液の調製は，確認試験(3)に従う。即ち，「本品の表示量から，色価1,000に換算して0.1gに相当する量を取り，エタノール10mlを加えて溶かした液を遠心分離して得られた上澄液を検液とする。」

(1) 逆相系薄層クロマトグラフ法（愛知県衛生研究所報告法をベースに検討）

検液2 μ lを量り，対照液を用いず，メタノール/0.5Mシユウ酸混液（55/45）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0.30～0.50の範囲， R_f 値が0.55～0.70の範囲にたいたい色のスポットを認める。また， R_f 値が0.70～0.80の範囲にも赤紫色のスポットを認める。これらのスポットは，アンモニア水により暗赤紫～暗紫色を呈する。ただし，薄層板には，担体として薄層クロマトグラフ用化学結合型オクタデシルシランを110 $^{\circ}$ Cで1時間乾燥したものを使用する。展開溶媒の先端が約10cmの高さに上昇したとき展開をやめ，風乾した後，アンモニア水を噴霧する。

(2) セルロース系薄層クロマトグラフ法

検液2 μ lを量り，対照液を用いず，*n*-ブタノール/水/酢酸混液（4/2/1）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0.40～0.70の範囲に帯黄赤～赤色のスポットを認める。 R_f 値0.20～0.50の範囲にも，2個の帯黄赤～赤色スポットが認められることがある。これらのスポットは，アンモニア水により暗赤紫色を呈する。ただし，薄層板には，担体として薄層クロマトグラフ用セルロースを用い，展開溶媒の先端が約10cmの高さに上昇したとき展開をやめ，風乾した後，アンモニア水を噴霧する。

尚，上記検討試験（1）及び（2）については，各社の商品の分析と統一サンプルによるクロス試験を行った。

【検討規格について】

<ラノク色素>

確認試験(3) 本品の表示量から、色価1,000に換算して0.1gに相当する量を取り、エタノール10mlを加えて溶かした液を遠心分離して得られた上澄液を検液とする。検液2 μ lを量り、対照液を用いず、 n -フタノール/水/酢酸混液(4:2:1)を展開溶媒としてろ紙クロマトグラフィーを行うとき R_f 値が0.4付近に帯黄赤～赤色のスポットを認める。 R_f 値0.2付近にも、スポットが認められることがある。これらのスポットは、アンモニア水により暗赤紫色を呈する。展開溶媒の先端が約10cmの高さに上昇したとき展開をやめ、風乾した後、観察する。

検討結果

- (1) 逆相系薄層クロマトグラフ法については、自社商品を分析した結果、使用する担体のメーカーにより挙動が異なり、規格に入らない(テーリングを起しスポットが確認できない)場合があるなどの問題があった。(別紙-1)
- (2) セルロース系薄層クロマトグラフ法についても、自社商品を分析した結果、使用する担体のメーカーにより挙動が異なり、規格に入らない(テーリングを起しスポットが確認できない)場合があるなどの問題があった。(別紙-1)
- (3) 統一サンプルによる各社クロス分析においても、使用する薄層板のメーカーによりばらつきがあり、規格に入らない(テーリングを起しスポットが確認できない)場合がみとめられた。即ち、薄層クロマトグラフ法による確認試験は、困難であるという結論に達した。(別紙-2)
- (4) 以上より、価格が安価で、使用後の廃棄物も少ない第三版既存添加物自主規格記載の方法(ペーパークロマトグラフ法)が、確認試験(3)として適切であるという判断に達した。

以上

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－ 1

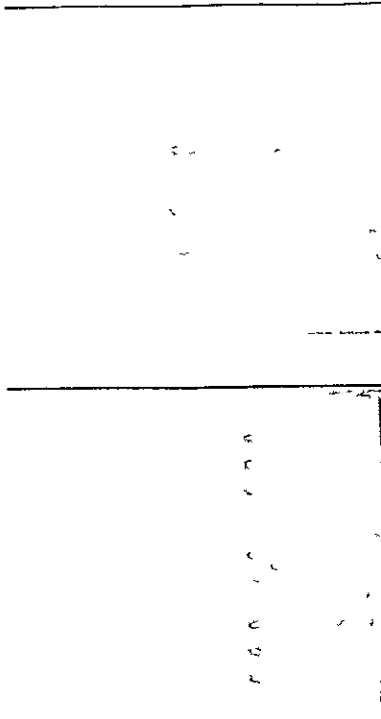
1 逆相TLC分析結果
展開溶媒 メタノール/0.5Mシユウ酸=55 45

メーカー	A社	B社	C社	C社	C社	D社	E社
前処理	Whatman 活性化せず	Merck 110°C, 1hr	Merck 110°C, 1hr	Merck 活性化せず	Whatman 110°C 1hr	Merck 110°C, 1hr	Merck 活性化せず
Rf値							
上部	0.9	-	0.73~0.79	0.77~0.80	0.88~0.93	0.73~0.80	0.78~0.79
中部	0.4~0.5	0.55~0.62	0.64~0.67	0.59~0.65	0.40~0.55	0.52~0.59	0.59~0.61
下部		0.30~0.34	0.32~0.36	0.30~0.34		0.29~0.33	0.33~0.35
備考		スポットあるが テールリンクする				更に上部に1ス ポットあり	

2 セルロースTLC分析結果
展開溶媒 n-ブタノール/水/酢酸=4 2 1

メーカー	B社	F社	F社	F社	F社	G社
前処理	Merck 70°C, 1hr	フナコシ化学 60~80°C, 20分	Merck 同左	東京化成 同左	Merck-F 同左	
Rf値						
上部	0.44~0.51	0.64~0.66	0.44~0.48	0.49~0.53	0.46~0.49	0.50~0.53
中部	0.27~0.34	0.47~0.49	0.28~0.31			0.29~0.32
下部	0.21~0.26	0.41~0.44	0.22~0.25			0.23~0.25
備考				テールリンクする	テールリンクする	

1 逆相TLC分析例



2 セルロースTLC分析例

本品の表示量から、色価1,000に換算して0.1gに相当する量を取り、エタノール10mlを加えて溶かした液を遠心分離して得られた上澄液を検液とする。検液2μlを量り、対照液を用いず、メタノール/0.5Mシユウ酸混液(55 45)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0.30~0.40の範囲、R_f値が0.55~0.65の範囲にだけだいたい色のスポットを認める。また、R_f値が0.75~0.80の範囲にも赤紫色のスポットを認める。これらのスポットは、アンモニア水により暗赤紫~暗紫色を呈する。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化学結合型オクタデシルシランを110°C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、アンモニア水を噴霧する。

方法1

本品の表示量から、色価1,000に換算して0.1gに相当する量を取り、エタノール10mlを加えて溶かした液を遠心分離して得られた上澄液を検液とする。検液2μlを量り、対照液を用いず、n-ブタノール/水/酢酸混液(4 2 1)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0.50~0.60に帯黄赤~赤色のスポットを認める。R_f値が0.20~0.35の範囲にも2個の帯黄赤~赤色のスポットを認める。これらのスポットは、アンモニア水により暗赤紫色を呈する。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セルロースを110°C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、アンモニア水を噴霧する。

方法2