

アセトン・シクロヘキサン混液を用いた確認試験の検討

アイゼン保土谷株式会社

1 概要

食品添加物公定書第 7 版に於けるカロテノイド系着色料の確認試験に於いて、有害試薬『クロロホルム』の使用がある。有害試薬の代替溶媒として、アセトン シクロヘキサン混液 (1 1V/V) を用いた改訂規格案の試験を実施し、その再現性を確認した。

2 確認試験方法

【βカロテン】

- 確認試験 ①本品のアセトン・シクロヘキサン混液 (1 1V/V) 溶液 (1→1000) 10ml は、だいたい色を呈し、この液をアセトンで希釈した液 (1→25) 5ml に、5%亜硝酸ナトリウム溶液 1ml、続いて 0.5mol/l 硫酸 1ml を添加するとき、直ちに脱色する。
- ②本品のアセトン・シクロヘキサン混液 (1 1V/V) 溶液 (1→250) 0.5ml にシクロヘキサン 1000ml を加えた液は、波長 454~456nm 及び 482~484nm に極大吸収部がある。

【パーム油カロテン】

- 確認試験 ①本品の表示量から、色価 7500 に換算して 15mg に相当する量を取り、アセトン・シクロヘキサン混液 (1 1V/V) 5ml で溶かした液は、だいたい色を呈する。
- ②本品の表示量から、1ml 当り βカロテンとして約 1000 μg に相当する量の本品を含むアセトン・シクロヘキサン混液 (1 1V/V) 溶液を調整し、この液をアセトンで希釈した液 (1→25) 5ml に 5%亜硝酸ナトリウム溶液 1ml、続けて 0.5mol/l 硫酸 1ml を添加するとき、直ちに脱色する。

【デュナリエラカロテン】

- 確認試験 ①本品の表示量から、色価 7500 に換算して 15mg に相当する量を取り、アセトン・シクロヘキサン混液 (1 1V/V) 5ml で溶かした液は、だいたい色を呈する。
- ②本品の表示量から、1ml 当り βカロテンとして約 1000 μg に相当する量の本品を含むアセトン シクロヘキサン混液 (1 1V/V) 溶液を調整し、この液をアセトンで希釈した液 (1→25) 5ml に 5%亜硝酸ナトリウム溶液 1ml、続けて 0.5mol/l 硫酸 1ml を添加するとき、直ちに脱色する。

【ニンジンカロテン】

- 確認試験 ①本品の表示量から、色価 200 に換算して 1g に相当する量を取り、アセトン・シクロヘキサン混液 (1 1V/V) 5ml を加えて溶かした液は、だいたい色を呈する。
- ②本品確認試験①で調整したアセトン・シクロヘキサン混液 (1 1V/V) 溶液を調整し、この液をアセトンで希釈した液 (1→25) 5ml に 5%亜硝酸ナトリウム溶液 1ml、続けて 0.5mol/l 硫酸 1ml を添加するとき、直ちに脱色する。

3 使用試料

サンプル	色素名	色価
A	合成βカロテン	7500
B	パーム油カロテン	7500
C	デュナリエラカロテン	7500
D	ニンジンカロテン	245

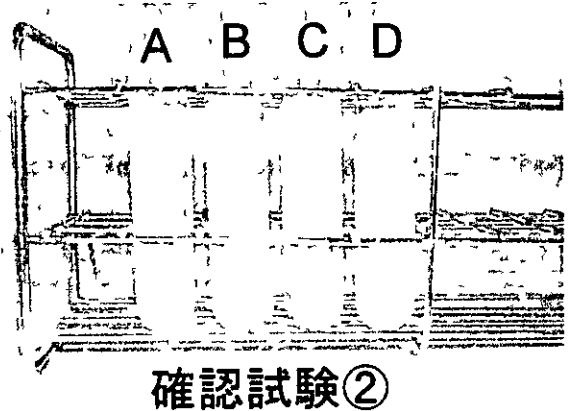
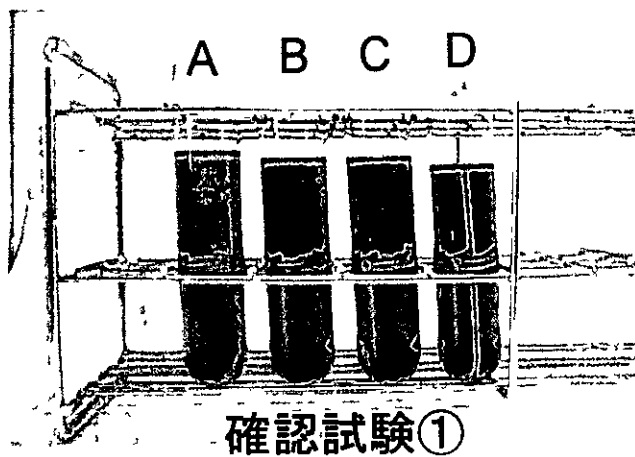
色価測定溶媒 シクロヘキサン (小宗化学薬品(株)製)

4 確認試験溶媒

アセトン（小宗化学薬品㈱ 試薬 1 級）
 シクロヘキサン（小宗化学薬品㈱ 試薬 1 級）
 上記を 1 : 1 にて混合（V/V）

5 試験結果

	確認試験①			確認試験②		
	1 回目	2 回目	3 回目	1 回目	2 回目	3 回目
A	○	○	○	○	○	○
B	○	○	○	○	○	○
C	○	○	○	○	○	○
D	○	○	○	○	○	○



上記に示すように、今回の改訂規格案の確認試験①及び②は、従来のクロロホルムを用いたものの代替として、妥当なものであると判断した。

以上

2003年12月25日
 三栄源工業株式会社
 第四研究部エマルジョン研究室

公定書カロテノイド確認試験等でのクロロホルム除去の件
 (アセトン・シクロヘキサン混液を用いた確認試験の検討結果)

■ 試料

1	β-カロテン (合成)	LOT101	(色価7500)
2	β-カロテン (合成)	LOT102	(色価7500)
3	β-カロテン (合成)	LOT103	(色価7500)
4	デュナリエラカロテン	LOT104	(色価7500)
5	デュナリエラカロテン	LOT105	(色価7500)
6	デュナリエラカロテン	LOT106	(色価7500)
7	パーム油カロテン	LOT107	(色価7500)
8	パーム油カロテン	LOT108	(色価7500)
9	ニンジンカロテン	LOT109	(色価250)
10	ニンジンカロテン	LOT110	(色価2500)
11	ニンジンカロテン	LOT111	(色価250)

■ 方法

改訂規格案 確認試験項 (1) 及び (2) に従い、実施。

■ 結果

結果を表1及び写真1～3に示した。

表1

	区分	LOT	確認試験(1)			確認試験(2)		
			繰返し			繰返し		
			1	2	3	1	2	3
1	βカロテン	101	○	○	○	○	○	○
2	βカロテン	102	○	○	○	○	○	○
3	βカロテン	103	○	○	○	○	○	○
4	デュナリエラカロテン	104	○	○	○	○	○	○
5	デュナリエラカロテン	105	○	○	○	○	○	○
6	デュナリエラカロテン	106	○	○	○	○	○	○
7	パーム油カロテン	107	○	○	○	○	○	○
8	パーム油カロテン	108	○	○	○	○	○	○
9	ニンジンカロテン	109	○	○	○	○	○	○
10	ニンジンカロテン	110	○	○	○	○	○	○
11	ニンジンカロテン	111	○	○	○	○	○	○

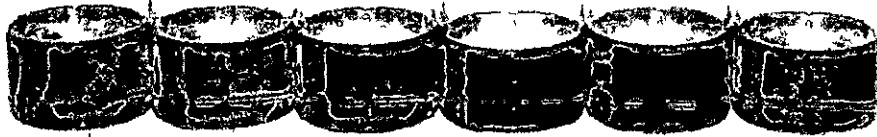
注 表中○印は、確認試験(1)または(2)が規格案記載通りの結果となったことを示す。

確認試験 (1)

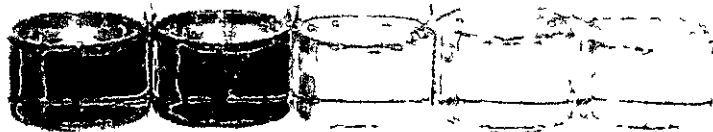
写真-1 (アセトン・シクロヘキサン混液 (1 : 1, V/V) による溶解液)



1 2 3 4 5 6



7 8 9 10 11



確認試験 (2)

写真-2 (5%亜硝酸ナトリウム水溶液及び、0.5mol 硫酸水添加前)

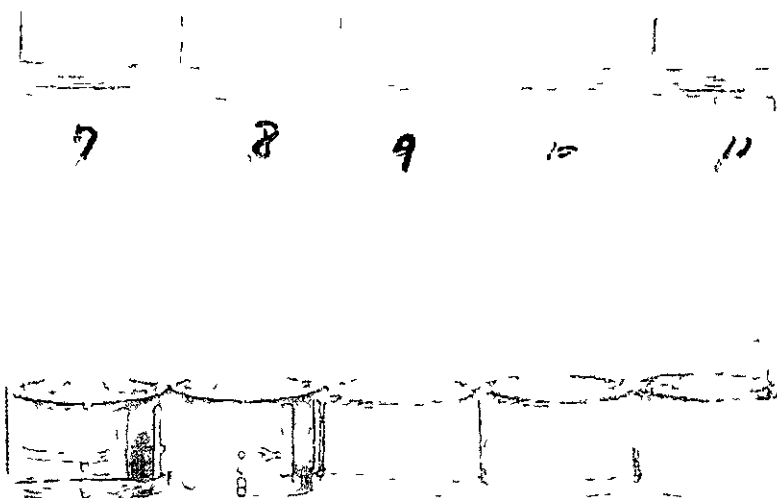
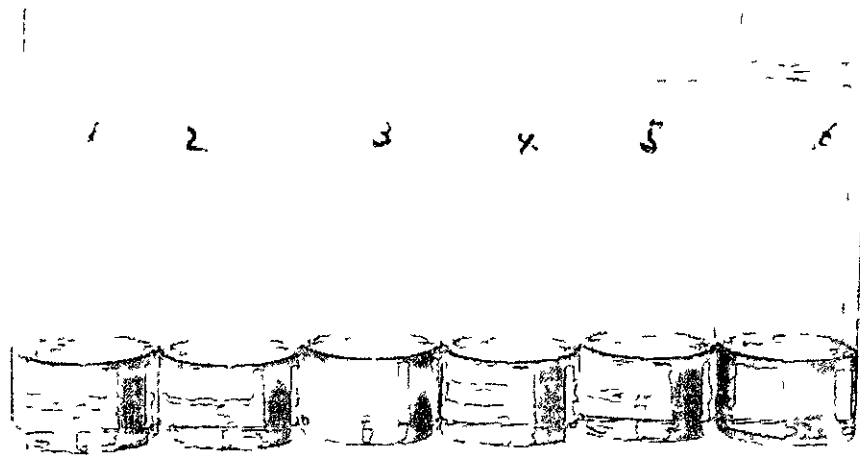
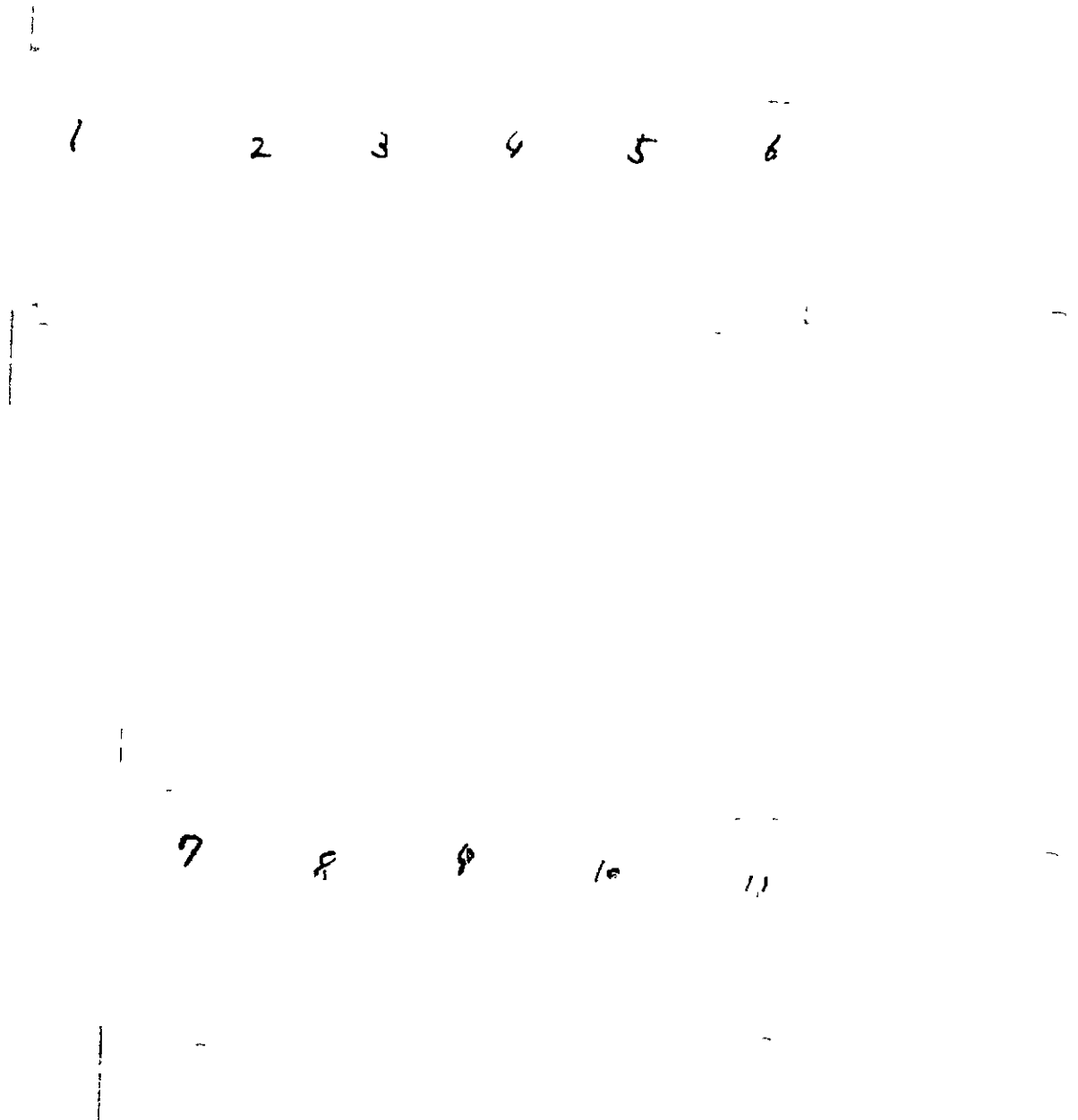


写真-3 (5%亜硝酸ナトリウム水溶液次いで0.5mol 硫酸水添加後)



以上

報告書

2003年11月28日

株式会社タノオテカス

アセトン・シクロヘキサン混合液を用いたカロテン色素確認試験

品名)

		最大波長	色価
Lot A	デュナリエラカロテン (色価 7100)	451.5nm	7190
Lot B	デュナリエラカロテン (色価 7100)	452.5nm	7302
Lot C	デュナリエラカロテン (色価 7100)	453.0nm	7153
Lot D	パーム油カロテン (色価 7500)	449.5nm	7664
Lot E	パーム油カロテン (色価 7500)	449.0nm	7750
Lot F	パーム油カロテン (色価 7500)	449.0nm	7600
Lot G	合成β-カロテン		
Lot H	合成β-カロテン		

確認試験溶媒)

アセトン (関東化学株 鹿一級)

シクロヘキサン (関東化学株 特級)

×上記を1:1に混合(V/V)

確認試験 (1) 濃度)

Lot A	デュナリエラカロテン (色価 7100)	17.6mg / 5ml
Lot B	デュナリエラカロテン (色価 7100)	17.6mg / 5ml
Lot C	デュナリエラカロテン (色価 7100)	17.6mg / 5ml
Lot D	パーム油カロテン (色価 7500)	15.0mg / 5ml
Lot E	パーム油カロテン (色価 7500)	15.0mg / 5ml
Lot F	パーム油カロテン (色価 7500)	15.0mg / 5ml
Lot G	合成β-カロテン	1.0mg / 10ml
Lot H	合成β-カロテン	1.0mg / 10ml

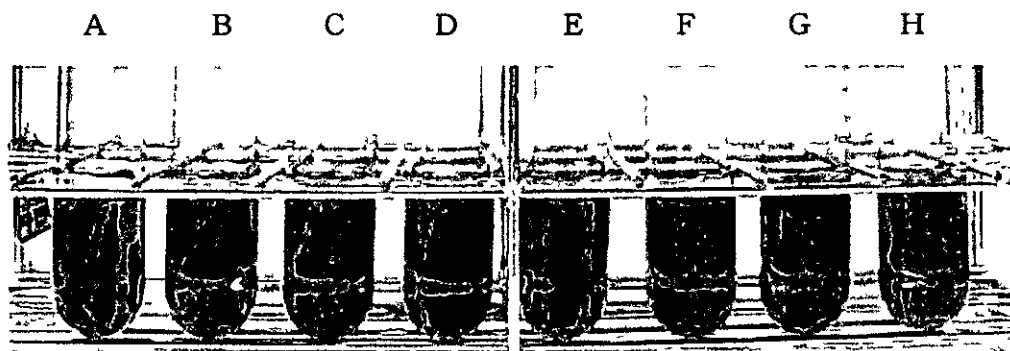
報告書

試験結果)

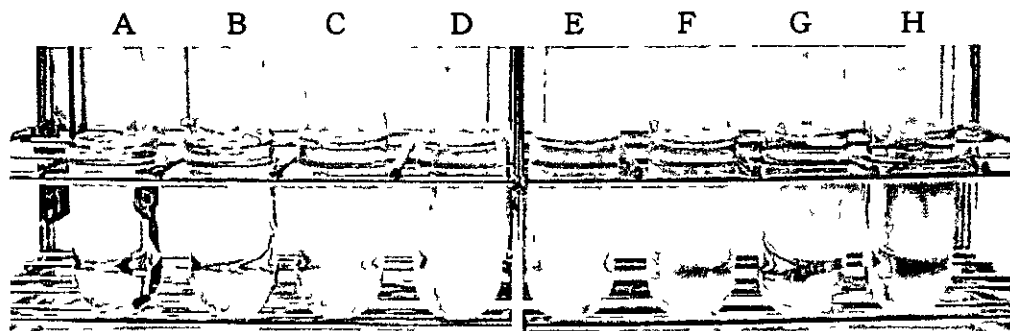
	確認試験 (1)			確認試験 (2)		
	1回目	2回目	3回目	1回目	2回目	3回目
A	適	適	適	適	適	適
B	適	適	適	適	適	適
C	適	適	適	適	適	適
D	適	適	適	適	適	適
E	適	適	適	適	適	適
F	適	適	適	適	適	適
G	適	適	適	適	適	適
H	適	適	適	適	適	適

写真)

確認試験 (1)



確認試験 (2)



以上

2004年1月13日

カロテノイド系着色料の公定書規格に使用するクロロホルムの代替検討

長谷川香料株式会社

I、β-カロテン

【確認試験】

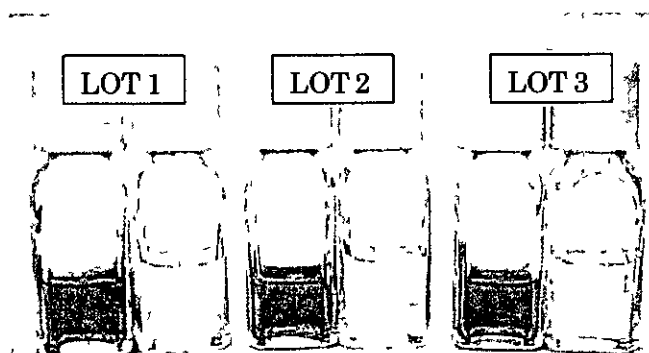
- (1) 本品のアセトン・シクロヘキサン混液 (1 1 v/v) 溶液 (1→1,000) 10ml はだいたい色を呈し、この液をアセトンで希釈した液 (1→25) 5ml に 5%亜硝酸ナトリウム溶液 1ml、続けて 0.5mol/l 硫酸 1ml を添加するとき、直ちに脱色する。
- (2) 本品のアセトン・シクロヘキサン混液 (1 1 v/v) 溶液、(1→250) 0.5ml にシクロヘキサン 1,000ml を加えた液は、波長 454~456nm および 482~484nm に極大吸収部がある。

×完全に溶解しなかったため、(1→1000) 2ml に変更して行なった。

【試験結果】

確認試験 (1)

		LOT1	LOT2	LOT3
1回目	溶媒で希釈	だいたい色を呈する	だいたい色を呈する	だいたい色を呈する
	亜硝酸ナトリウム、硫酸を添加	脱色する	脱色する	脱色する
2回目	溶媒で希釈	だいたい色を呈する	だいたい色を呈する	だいたい色を呈する
	亜硝酸ナトリウム、硫酸を添加	脱色する	脱色する	脱色する
3回目	溶媒で希釈	だいたい色を呈する	だいたい色を呈する	だいたい色を呈する
	亜硝酸ナトリウム、硫酸を添加	脱色する	脱色する	脱色する



確認試験 (2)

		LOT 1	LOT 2	LOT 3
1 回目	極大波長 1	455.5 nm	455.5 nm	456.0 nm
	極大波長 2	483.5 nm	483.0 nm	483.0 nm
2 回目	極大波長 1	455.0 nm	454.5 nm	455.5 nm
	極大波長 2	483.5 nm	483.0 nm	483.5 nm
3 回目	極大波長 1	455.5 nm	455.0 nm	456.0 nm
	極大波長 2	483.0 nm	482.5 nm	483.5 nm

II、 パーム油カロテン

【確認試験】

- (1) 本品の表示量から、色価 7500 に換算して 15mg に相当する量を取り、アセトン・シクロヘキサン混液 (1:1 v/v) 5ml を加えて溶かした液はだいたい色を呈する。
- (2) 本品の表示量から、1ml あたり β -カロテンとして約 1000 μ g に相当する量の本品を含むアセトン・シクロヘキサン混液 (1:1 v/v) 溶液を調整し、この液をアセトンで希釈した液 (1→25) 5ml に 5% 亜硝酸ナトリウム溶液 1ml、続けて 0.5mol/l 硫酸 1ml を添加するとき、直ちに脱色する。

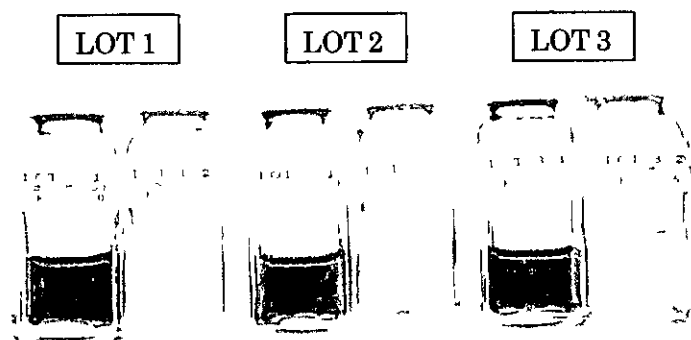
【試験結果】

確認試験 (1)

	LOT 1	LOT 2	LOT 3
1 回目	だいたい色を呈する	だいたい色を呈する	だいたい色を呈する
2 回目	だいたい色を呈する	だいたい色を呈する	だいたい色を呈する
3 回目	だいたい色を呈する	だいたい色を呈する	だいたい色を呈する

確認試験（2）

	LOT 1	LOT 2	LOT 3
1回目	脱色する	脱色する	脱色する
2回目	脱色する	脱色する	脱色する
3回目	脱色する	脱色する	脱色する



以上

公定書カロテノイド含量測定でのクロロホルム除去の件
 ～アセトン・シクロヘキサン混合溶液を用いた確認試験の検討～

2003/2/7

ヤエガキ醗酵技研株式会社

試料

		最大波長	色素力価
Lot A	デュナリエラカロテン (色価7500)	453.2nm	7598.68
Lot B	デュナリエラカロテン (色価7500)	451.8nm	8480.66
Lot C	デュナリエラカロテン (色価7500)	452.8nm	7480.62
Lot D	パームカロテン (色価7500)	449.2nm	7673.68
Lot E	パームカロテン (色価7500)	448.8nm	7731.09
Lot F	合成βカロテン (色価7500)		
Lot G	合成βカロテン (色価25000)		

分析溶媒 シクロヘキサン

試験溶媒

アセトン (関東化学株 鹿1級)
 シクロヘキサン (関東化学株 鹿1級)
 上記を1:1にて混合(V/V)

確認試験(1)濃度

Lot A	デュナリエラカロテン (色価7500)	16.7mg / 5ml
Lot B	デュナリエラカロテン (色価7500)	16.7mg / 5ml
Lot C	デュナリエラカロテン (色価7500)	16.7mg / 5ml
Lot D	パームカロテン (色価7500)	15.0mg / 5ml
Lot E	パームカロテン (色価7500)	15.0mg / 5ml
Lot F	合成βカロテン (色価7500)	33mg / 10ml
Lot G	合成βカロテン (色価25000)	10mg / 10ml

試験結果

	確認試験(1)			確認試験(2)		
	1回目	2回目	3回目	1回目	2回目	3回目
A	○	○	○	○	○	○
B	○	○	○	○	○	○
C	○	○	○	○	○	○
D	○	○	○	○	○	○
E	○	○	○	○	○	○
F	○	○	○	○	○	○
G	○	○	○	○	○	○

カロテン確認試験の件

1 目的

パーム油カロテンの確認方法において、溶媒としてアセトン・ンクロヘキサン混液(1 1V/V)の使用可能性を確認する。

2 試験方法

食品添加物公定書第7版の改訂規格案「パーム油カロテン 確認試験」に準じる。

3 サンプル

30% パームカロテン (ライオン株式会社)

Lot No P-2013

P 2182

P-2252

4 結果

Lot No	P-2013	P-2182	P-2252
確認試験(1)	適合	適合	適合
確認試験(2)	適合	適合	適合

(詳細は添付資料をご参照下さい。)

5 結論

パーム油カロテンの確認試験の溶媒として、アセトン・ンクロヘキサン混液(1 1V/V)は使用可能であると判断する。

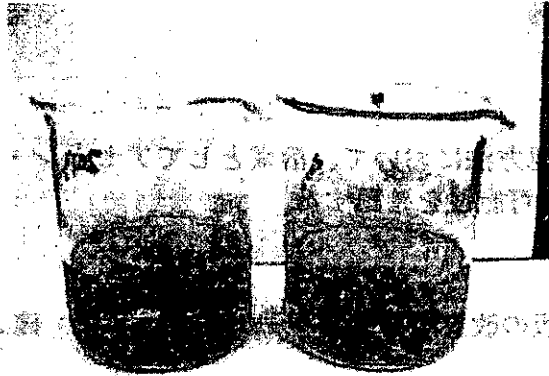
以上

添付資料

確認試験 (1)

いずれも左側がテトラヒドロフラン、右側がアセトン・シクロヘキサン混液 (1:1V/V)を溶媒として使用したものである。

Lot. P-2013



Lot. P-2182



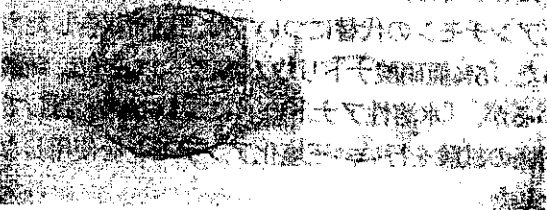
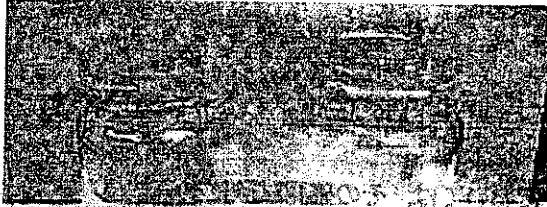
Lot. P-2252



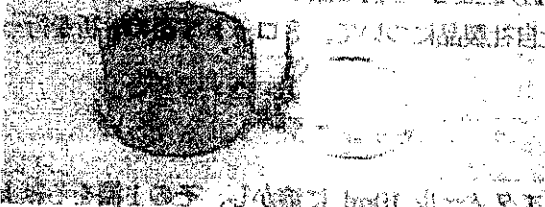
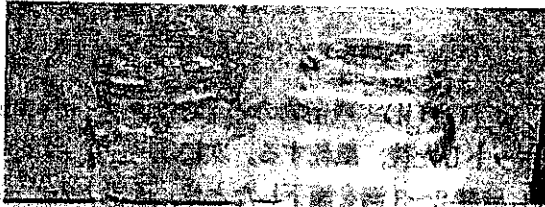
確認試験 (2) 糖液にマゼンタを少量添加して検出する。

左側はカロテンの希釈液、右側は5%亜硝酸ナトリウム溶液および硫酸を添加したものである。

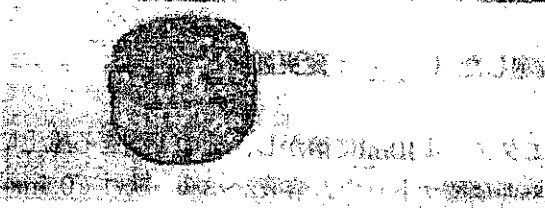
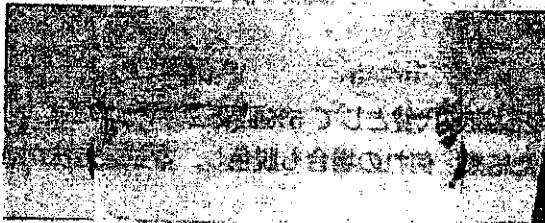
Lot. P-2013



Lot. P-2182



Lot. P-2252



【水溶性アナトーにおける有害試薬三塩化アンチモン代替検討】

研究年月日 平成15年1月～2月
研究者名 日本食品添加物協会 第二部会
日本 AIG (OCI(株), キリヤ化学(株), 三栄源エフ・エフ・アイ(株), (株)第一化成,
ダイワ化成(株))

指定添加物 着色料における有害試薬三塩化アンチモン代替検討

目 的 「水溶性アナトー」においては、その確認試験に有害試薬「三塩化アンチモン」の使用がある。三塩化アンチモンの代替については、以前報告したカロチノイド系色素の確認試験で行った「5%亜硝酸ナトリウム溶液-0.5mol/L 硫酸による脱色試験」方法を報告しているか、「水溶性アナトー」については検討していなかった。そこで、前回の報告同様の試験を行い、三塩化アンチモンを使用しない確認方法を検討することを目的とした。

検討添加物 水溶性アナトー

検討方法 水溶性アナトー 確認試験(1)(ii) 残留物の一部をエタノール10mlに溶かし、その1滴をろ紙上にスポットした後、風乾する。次に5%亜硝酸ナトリウム溶液2～3滴、続けて0.5mol/L硫酸2～3滴を滴下したとき、ろ紙上の黄色は脱色する。本試験について、各社自社製品について、3ロット3回の分析を行った。

【検討規格について】

<水溶性アナトー>

確認試験(1)(ii) 残留物の一部をエタノール10mlに溶かし、その1滴をろ紙上にスポットした後、風乾する。次に三塩化アンチモン試液1滴を滴下したとき、ろ紙上の黄色は青色に変わる。

検討結果 (1) 三塩化アンチモン試液の代替として5%亜硝酸ナトリウム溶液-0.5mol/L硫酸による試験を実施した結果、何れの場合も脱色し、本試験方法が有効であることが確認できた。

【改訂規格案】JP用語統一も含め改定した(_____ 変更箇所)

<水溶性アナトー>

確認試験(1)(ii) 残留物の一部をエタノール10mlに溶かし、その1滴をろ紙上にスポットした後、風乾する。次に5%亜硝酸ナトリウム溶液2～3滴、続けて0.5mol/L硫酸2～3滴を滴下したとき、ろ紙上の黄色は脱色する。

以上

別紙－1

平成 16 年 1 月 28 日

「水溶性アナトー」確認試験(1)(1)三塩化アンチモン代替についての検討結果

OCI 株式会社

試 料 水溶性アナトー色素 Lot A,B,C

検討方法

試料の調製 (確認試験(1))

本品 0.5g に水 20ml を加えて溶かし, 硫酸 (1→20) 2ml を加えて振り混ぜた後, ろ過する。ろ紙上の残留物を水 20ml ずつで 3 回洗う。

試験方法 (確認試験(II)案)

残留物の一部をエタノール 10ml に溶かし, その 1 滴をろ紙上にスポットした後, 風乾する。次に 5%亜硝酸ナトリウム溶液 2~3 滴, 続けて 0.5mol/L 硫酸 2~3 滴を滴下したとき, ろ紙上の黄色は脱色する。

結 果

Lot	1 回目	2 回目	3 回目
A	直ちに脱色	直ちに脱色	直ちに脱色
B	直ちに脱色	直ちに脱色	直ちに脱色
C	直ちに脱色	直ちに脱色	直ちに脱色

写 真

スポット時

5%亜硝酸ナトリウム溶液 2~3 滴,
続けて 0.5mol/L 硫酸 2~3 滴を滴下後

平成16年2月5日

「水溶性アトー」確認試験(1)(1)三塩化アンチモン代替についての検討結果

キリヤ化学株式会社

試料 水溶性アトー色素 A (Lot 031210) B (Lot 031024) C (Lot 031222)

検討方法

試料の調整(確認試験(1))

本品0.5gに水20mlを加えて溶かし、硫酸(1→20)2mlを加えて振り混ぜた後、ろ過する。
ろ紙上の残留物を水20mlずつで3回洗う。

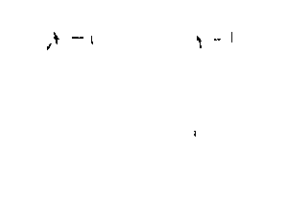
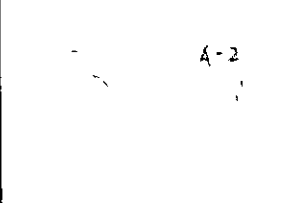
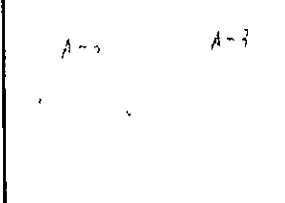
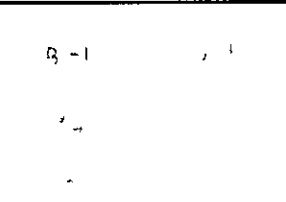
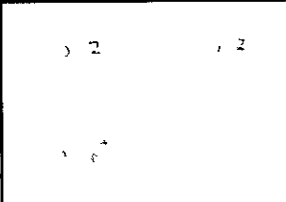
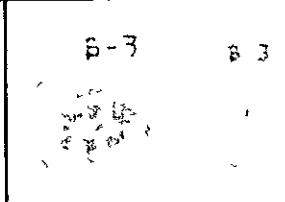
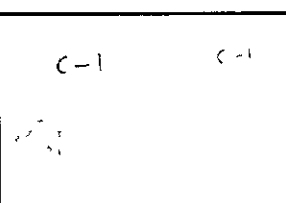
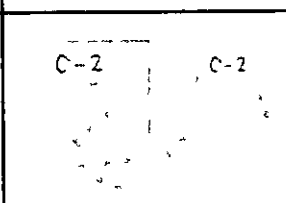
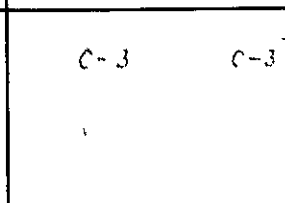
残留物の一部をエタノール10mlに溶かし、その1滴をろ紙上にスポットした後、風乾する。
次に5%亜硝酸ナトリウム溶液2～3滴、続けて0.5mol/L硫酸2～3滴を滴下したとき、ろ紙上の黄色は脱色する。

結果

試料名(Lot)	1回目	2回目	3回目
A(031210)	直ちに脱色	直ちに脱色	直ちに脱色
B(031024)	直ちに脱色	直ちに脱色	直ちに脱色
C(031222)	直ちに脱色	直ちに脱色	直ちに脱色

※残留物の一部をエタノール10mlに溶かした際、非常に溶けにくく溶け残りが少量あった。
※結果としては、黄色から直ちに脱色されているが、スポット中心部が薄い黄褐色に、縁のあたりが薄い赤褐色になった。

写真 左 スポット時 右 5%亜硝酸ナトリウム溶液2～3滴、続けて0.5mol/L硫酸2～3滴を滴下後

試料名(Lot)	1回目	2回目	3回目
A(031210)			
B(031024)			
C(031222)			

平成 16 年 1 月 30 日

「水溶性アナトー」確認試験(1)(1)三塩化アンチモン代替についての検討結果

三栄源エフ エフ アイ 株式会社

試 料 水溶性アナトー色素 Lot A,B,C

検討方法

試料の調製（確認試験(1)）

本品 0.5g に水 20ml を加えて溶かし、硫酸（1→20）2ml を加えて振り混ぜた後、ろ過する。ろ紙上の残留物を水 20ml ずつで 3 回洗う。

試験方法（確認試験(n)案）

残留物の一部をエタノール 10ml に溶かし、その 1 滴をろ紙上にスポットした後、風乾する。次に 5%亜硝酸ナトリウム溶液 2～3 滴、続けて 0.5mol/L 硫酸 2～3 滴を滴下したとき、ろ紙上の黄色は脱色する。

結 果

Lot	1 回目	2 回目	3 回目
A	直ちに脱色	直ちに脱色	直ちに脱色
B	直ちに脱色	直ちに脱色	直ちに脱色
C	直ちに脱色	直ちに脱色	直ちに脱色

写 真

