

Fig 3. LC-APCI-MS Total ion chromatogram of Urushi wax. P-1:(m/z 881.1 [M+Na]⁺). P-2:(m/z 855.6 [M+Na]⁺). P-3:(m/z 829.6 [M+Na]⁺). P-4:(m/z 883.7 [M+Na]⁺). P-5:(m/z 857.6 [M+Na]⁺). P-6:(m/z 885.7 [M+Na]⁺).

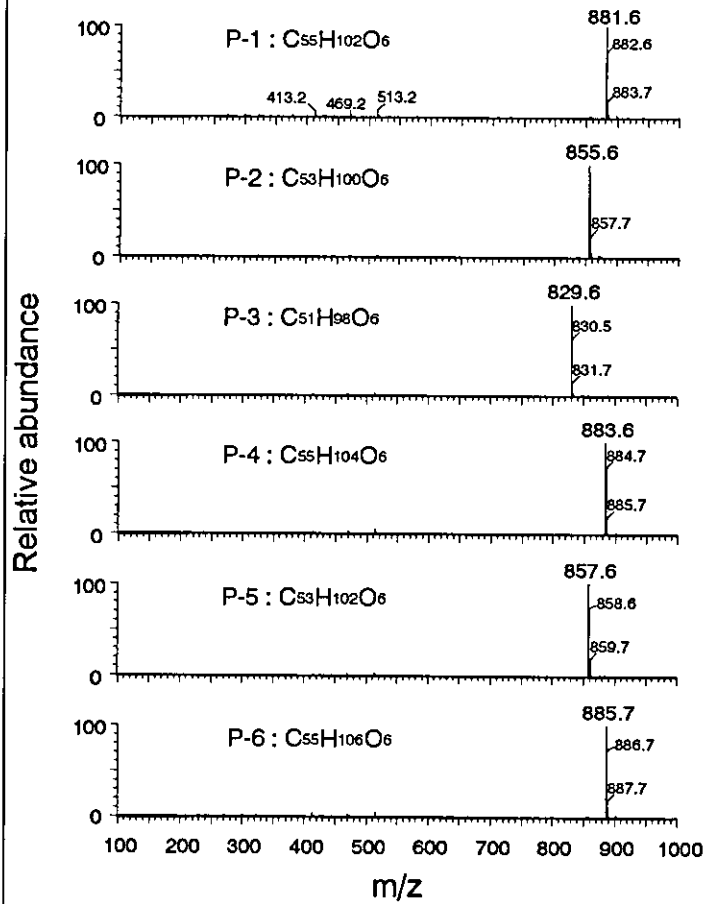


Fig 4. APCI-MS spectra of P-1~6 in Fig 3.

Table 1. Pseudomolecular ions obtained for TAG identified in urushi wax by LC-APCI-MS.

Peak No	<i>Mr</i>	[M+Na] ⁺	TAG isomers		
1	859.3	881.6	POO	OPO	
2	833.3	881.6	PPO	POP	
3	807.3	829.6	PPP		
4	861.4	883.7	POS	PSO	SPO
5	835.3	857.6	PPS	PSP	
6	863.4	885.7	PSS	SPS	

TAG: triacylglycerol; *Mr*: molecular mass; [M+Na]⁺: pseudomolecular ion.

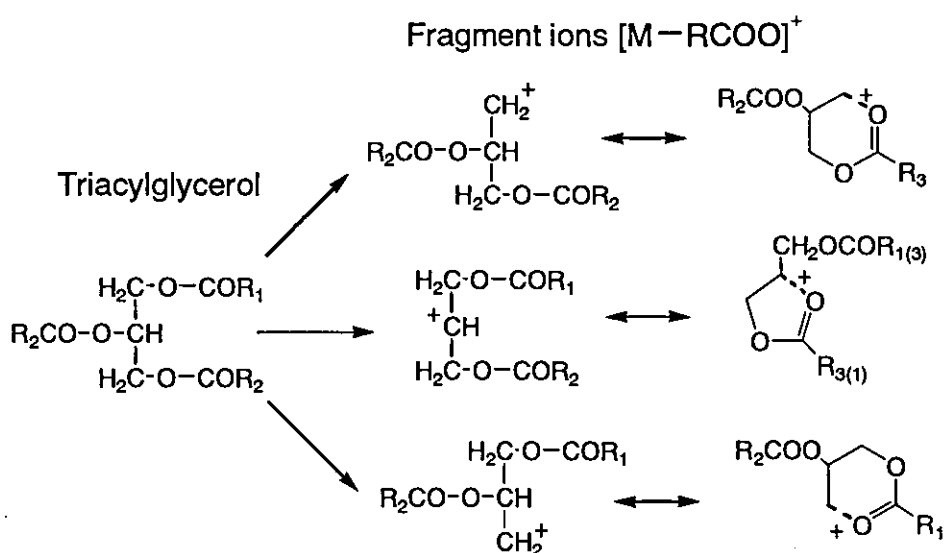


Fig 5. Fragmentation scheme of triacylglycerols using positive-ion APCI-MS. (Journal of Chromatography A, 1010(2003) 195215)

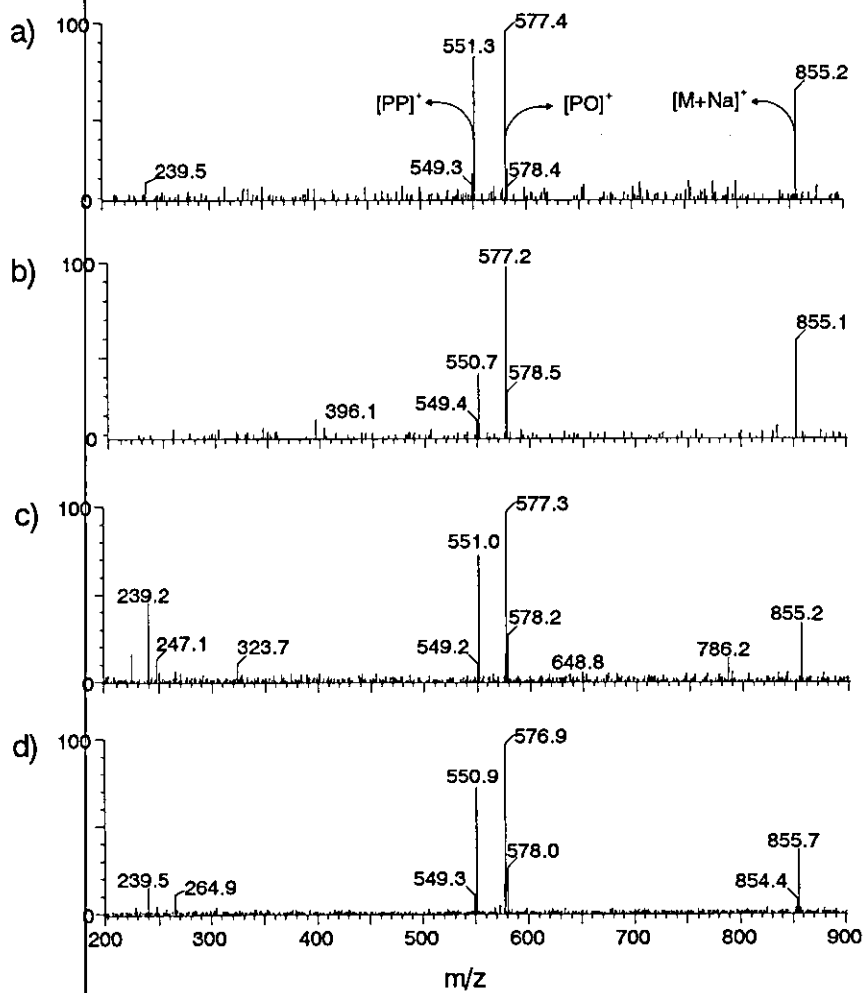


Fig 6. APCI-MS-MS spectra of urushi wax(P-2) and PPO,POP standard isomers.
a) PPO; b) POP; c) Urushi wax(P-2); d) PPO/POP=9.1/0.9 .

Table 2. The fragment ion ratio generated by LCMS-MS of standards.

TAG	[M-RCOO] ⁺			[M-RCOO] ⁺ ion ratio	
POO	[OO] ⁺		[PO] ⁺	[OO] / [PO]	0.53
PPO	[PP] ⁺		[PO] ⁺	[PP] / [PO]	0.82
POP	[PP] ⁺		[PO] ⁺	[PP] / [PO]	0.41
POS	[PO] ⁺	[PS] ⁺	[PS] ⁺	[PS] / [PO]	0.60
				[PS] / [OS]	0.66
				[OS] / [PO]	0.91
PPS	[PP] ⁺		[PS] ⁺	[PP] / [PS]	0.74
PSS	[SS] ⁺		[PS] ⁺	[SS] / [PS]	0.57

TAG: troacylglyceride; [M-RCOO]⁺ : fragment ion.

Table 3. The fragment ion ratio generated by LCMS-MS of TGA in urushi wax.

Peak No	[M-RCOO] ⁺			[M-RCOO] ⁺ ion ratio	
P-1	[OO] ⁺		[PO] ⁺	[OO] / [PO]	0.37
P-2	[PP] ⁺		[PO] ⁺	[PP] / [PO]	0.78
P-4	[PO] ⁺	[PS] ⁺	[PS] ⁺	[PS] / [PO]	1.14
				[PS] / [OS]	1.38
				[OS] / [PO]	0.86
P-5	[PP] ⁺		[PS] ⁺	[PP] / [PS]	0.58
P-6	[SS] ⁺		[PS] ⁺	[SS] / [PS]	0.84

[M-RCOO]⁺ : fragment ion.

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全性高度化推進研究事業）

既存添加物の安全性確保上必要な品質問題に関する研究

平成16年度協力研究報告書

天然ガムベース オゾケライトの分析

研究協力者 多田敦子 国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部 主任研究官
杉本直樹 国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部 主任研究官
中島大介 国立環境研究所循環技術システム研究開発室 研究員
杉田和俊 (株)ダイヤ分析センターVOC技術部 次長
小谷野道子 国立保健医療科学院 生活環境部

研究要旨 天然ガムベース オゾケライト製品の成分を GC/MS 及び GC/FID により分析した。その結果、GC/MS 分析における保持時間及び MS スペクトルの一致から、オゾケライト製品の主成分は、 C_{11} から C_{13} までの炭素数が1ずつ異なる飽和炭化水素群であることが分かった。更に GC/FID によりオゾケライト製品中の各炭化水素の定量を行ったところ、 $C_{11}H_{22}$ 及び $C_{11}H_{10}$ の含有量が高く、共に 8.23%であり、同定した C_{11} から C_{13} までの飽和炭化水素の濃度の合計は 81.33%であることが分かった。また、オゾケライト製品からの変異原性多環芳香族炭化水素の検出方法についても検討を加えた。

A. 研究目的

オゾケライトは、既存添加物名簿収載品目リスト¹⁾に収載される天然ガムベースの一つで、チューインガム等に使用される。その基原・製法・本質は、「ワックスシュールの鋳脈に含まれるロウを精製したものである。主成分は C_{11} ~ C_{13} の炭化水素である。」と記載されているが、これまでに既存添加物オゾケライトの成分に関する詳細な検討はなされていない。

昨年度、90日間反復投与試験を行ったオゾケライト製品について、成分確認を目的に、GC/MS 及び GC/FID による分析を行った。

また、オゾケライト製品中に、変異原性の多環芳香族炭化水素(PAH)が不純物として存在するか否かを検討した。

B. 研究方法

1. 試料

オゾケライト製品は、日本食品添加物協会を通じて入手した。各種飽和炭化水素(GC用)は、Fluka 製のものを購入して用いた。ベンゾ[a]ピレン(BaP)及びベンゾ[ghi]ペリレン(BghiP)は Aldrich、ジベンゾ[a,h]アントラセン(dBahA)は東京化成、ジベンゾ[a,e]ピレン (dBaeP)は Chemsyn Science laboratories のものを購入して用いた。その他の試薬はすべて市販特級品或いはそれ以上の品質のものをを用いた。

2. 装置

各種機器データは、次の機器を用いた。
ガスクロマトグラフ/質量分析装置(GC/MS) : Shimadzu GC/MS system (Shimadzu

社製) (GC: GC-17A, MS: MS-QP5050)

ガスクロマトグラフ/水素炎イオン化検出器(GC/FID) : Shimadzu GC/FID system (GC-14B)

前段濃縮型液体クロマトグラフ/蛍光分光検出装置 : ポンプ : LC-6A, システムコントローラ : SLC-6A, オートインジェクター : SIL-6A, カラムオープン : CTO-2A, 蛍光検出器 : RF-10AXL, デガッサー : DGU-14A(以上 Shimadzu 社製), ミキサー : 655-0486(日立製作所製)

3. GC/MS による炭化水素測定条件

カラム, DB-1 (30 m x 0.25 mm, 膜厚, 0.25 μ m); 注入口温度, 250°C; イオン源温度, 300°C; カラム温度, 150°C \rightarrow (5°C/min) \rightarrow 300°C(20 min); 試料注入方式, スプリット (3:1); 注入量, 1 μ L; 検出, EI (pos.) スキャン範囲 m/z 50-800

4. GC/FID による炭化水素測定条件

カラム, DB-1 (30 m x 0.25 mm, 膜厚, 0.25 μ m); 注入口温度, 250°C; 検出器温度, 300°C; カラム温度, 180°C \rightarrow (5°C/min) \rightarrow 320°C(22 min); キャリアガス, ヘリウム; 試料注入方式, スプリット (3:1); 注入量, 1 μ L; 検出, FID

5. GC/MS による主成分の同定

オゾケライト製品は, 1 mg/mL の濃度でトルエンに溶解し, 試料溶液とした。 C_{11} ~ C_{34} の飽和炭化水素標準品をトルエンに溶解し, 濃度 0.1 mg/mL の各飽和炭化水素の標準液とした。オゾケライト製品を用い, 上記 3. の GC/MS 条件で分析を行った。オゾケライト製品で検出されたピークと飽和炭化水素標準品のピークとで, 保持時間, MS スペクトルを比較した。

6. GC/FID による炭化水素の定量

オゾケライト製品は, 1 mg/mL の濃度でトルエンに溶解し, 試料溶液とした。 C_{11} ~ C_{34} の飽和炭化水素標準品をトルエンに溶解し, 濃度 0.01, 0.03, 0.13, 0.40 mM の各飽和炭化水素の標準液とした。

各濃度の標準液のピーク面積より作成した絶対検量線より, オゾケライト製品中の各種飽和炭化水素の定量をした。

7. 変異原性多環芳香族炭化水素の検出方法の検討

各種溶媒を用い, オゾケライト製品に添加した PAH 標品を抽出する方法を検討した。さらに, 前段濃縮型 HPLC/蛍光分光検出装置を用い, オゾケライト製品中の PAH を検出する方法について検討した。前段濃縮型 HPLC は, 濃縮カラムと分離カラムの間に六方バルブを接続し, 予め濃縮カラムに測定したい化合物を保持させると共に夾雑物を取り除き, その後バルブの向きを変え, 溶出力の高い分離溶媒で測定物質を分離カラムへと移動させて分離・検出する方法である。以下に測定条件を示す。

濃縮カラム : Kaseisorb ODS-60-5(4.6 mm ID x 30 mm) (東京化成製), 濃縮溶媒 : アセトニトリル : 水 = 1 : 1 (5 分間), 分離カラム : Kaseisorb ODS-60-5(4.6 mm ID x 250 mm) (東京化成製) 分離溶媒 : アセトニトリル : 水 = 8 : 2 (40 分間), 流速 : 1 mL/min, 検出波長は励起及び蛍光波長がそれぞれ BaP と BghiP では 370, 406 nm, dBahA では 302, 397 nm, dBaeP では 305, 398 nm とした。

C. 結果及び考察

1. GC/MS による主成分の同定

オゾケライト製品及び C_{11} ~ C_{34} の飽和炭

化水素標準品の GC/MS 分析による結果を Fig. 1 に示した。オゾケライト製品では、保持時間 12~42 分にかけて、15 本以上の主要ピークが、ほぼ等間隔に検出された。これらピークの内、保持時間 14~32 分の 12 本の主要ピーク（保持時間 27.4 分のピークを除く）は、 C_{22} ~ C_{34} (C_{31} を除く) の飽和炭化水素標準品と保持時間及び MS スペクトルが一致した。Fig. 2 に、MS スペクトルの比較例（オゾケライト製品の 23.4 分のピーク及び $C_{22}H_{46}$ ）を示した。また、今回の GC/MS 測定条件における炭素数と保持時間の関係を調べたところ（Fig. 3）、保持時間が炭素数に比例していることが確認された。オゾケライト製品で 12.2, 27.4, 32.7, 34.5, 36.4, 38.7 及び 41.4 分に検出された各ピークは、MS スペクトルによるライブラリー検索で、それぞれ順に $C_{21}H_{44}$, $C_{31}H_{64}$, $C_{33}H_{72}$, $C_{36}H_{74}$, $C_{37}H_{76}$, $C_{38}H_{78}$ 及び $C_{39}H_{80}$ 、であると予想され、かつ各ピークの保持時間が、Fig. 3 から予想される各炭素数の飽和炭化水素の保持時間とほぼ一致した。従って以上の結果より、オゾケライト製品の主成分は、 C_{21} から C_{39} までの炭素数が 1 ずつ異なる飽和炭化水素群であることが分かった。

2. GC/FID による炭化水素の定量

FID では、水素炎イオン強度が化合物の炭素数に比例するとされている。そこで、炭素数 22, 24, 26, 28, 30 及び 32 の飽和炭化水素標準品を用い、今回の GC/FID 測定条件における炭素数とピーク面積の関係を確認したところ、Fig. 4 に示す様に、多項式近似を示すことが分かった。

標品が入手できた飽和炭化水素については、各濃度の標準液のピーク面積から作成した絶対検量線を用い、オゾケライト製品

中の各種飽和炭化水素の量を算出した。また、標品未入手の飽和炭化水素については Fig. 4 の計算式から、想定される検量線式を算出し、製品中の含量計算に用いた。定量結果を Table 1 に示した。 $C_{28}H_{58}$ 及び $C_{33}H_{70}$ の含有量が高く共に 8.23% であり、同定した C_{21} から C_{39} までの飽和炭化水素の合計は 81.33% であることが分かった。

3. オゾケライト製品からの変異原性多環芳香族炭化水素の検出方法

まず初めに、オゾケライトに微量の PAH を添加し、常温での *n*-ヘキサンによる溶解、ヘキサン/アセトニトリル分配による抽出を試みたが、PAH が殆ど回収できず、オゾケライトへの PAH の強い吸着が示唆され、PAH を抽出するにはオゾケライトを一度完全に溶解する必要があることが分かった。

オゾケライトは、トルエンやキシレンには溶けやすいが、トルエンやキシレンは DMSO とは混合するため、液々分配により DMSO 層に PAH を濃縮するという方法が適用できない。一方、*n*-ヘキサンは DMSO と分離し、液々分配による PAH の濃縮が可能なことから、オゾケライトを *n*-ヘキサンに溶解することとした。*n*-ヘキサンへの溶解度は常温では低いため、Fig. 5 に示す様に、加熱・保温しながら溶解し、温度降下による析出前に PAH の抽出を行うこととした。

予備検討で、GC/MS を用いた検出を試みたが、HPLC と比較し導入できる試料量が非常に少なく、オゾケライトに微量に添加した PAH を検出するには、十分な感度が得られなかった。そこで、大量の試料を導入できる前段濃縮型 HPLC/蛍光分光検出装置を用いる方法を試みた。この方法は、前段にあるショートカラムで濃縮を行うことが可

能なため、試料溶液を 400 μ L 注入することができ、注入量を増大させることにより高感度検出を可能にする方法である。この方法により添加回収試験を行ったところ、Table 2 に示すように、58.9%~88.4%の回収率であった。この方法によるオゾケライト 1g 中の各 PAH の定量下限値 (S/N=10 で計算)は、BaP 0.06 ng/g, dBahA 0.14 ng/g, dBghiP 0.32 ng/g, dBaeP 0.43 ng/g であった。また、この方法を応用し、オゾケライト製品中の PAH を測定した結果、BaP の保持時間に微小ピークが認められたものの、定量下限値以下であり、今回測定した 4 種の PAH はいずれも定量下限値以下であった。BaP 等の PAH 類は一般環境空気中にも微量ずつ存在しており、更に分析精度と感度を向上させるためには、抽出溶媒ばかりでなく分析室等の環境への配慮も必要であると考えられた。

D. 結論

天然ガムベース オゾケライト製品の成分を GC/MS 及び GC/FID により分析した。その結果、GC/MS 分析における保持時間及び MS スペクトルの一致から、オゾケライト製品の主成分は、 C_{11} から C_{31} までの炭素数が 1 ずつ異なる飽和炭化水素群であることが分かった。更に GC/FID によりオゾケライト製品中の各炭化水素の定量を行ったところ、 $C_{26}H_{54}$ 及び $C_{27}H_{56}$ の含有量が高く、共に 8.23%であり、同定した C_{11} から C_{31} までの飽和炭化水素の濃度の合計は 81.33%であることが分かった。また、オゾケライト製品からの変異原性多環芳香族炭化水素の検出方法について検討し、前段濃縮型 HPLC/蛍光分光検出法が有用であることが分かった。

E. 参考文献

1. 厚生省生活衛生局長通知“別添 1 既存添加物名簿収載品目リスト”(平成 8 年 5 月 23 日) .衛化第 56 号(1996)

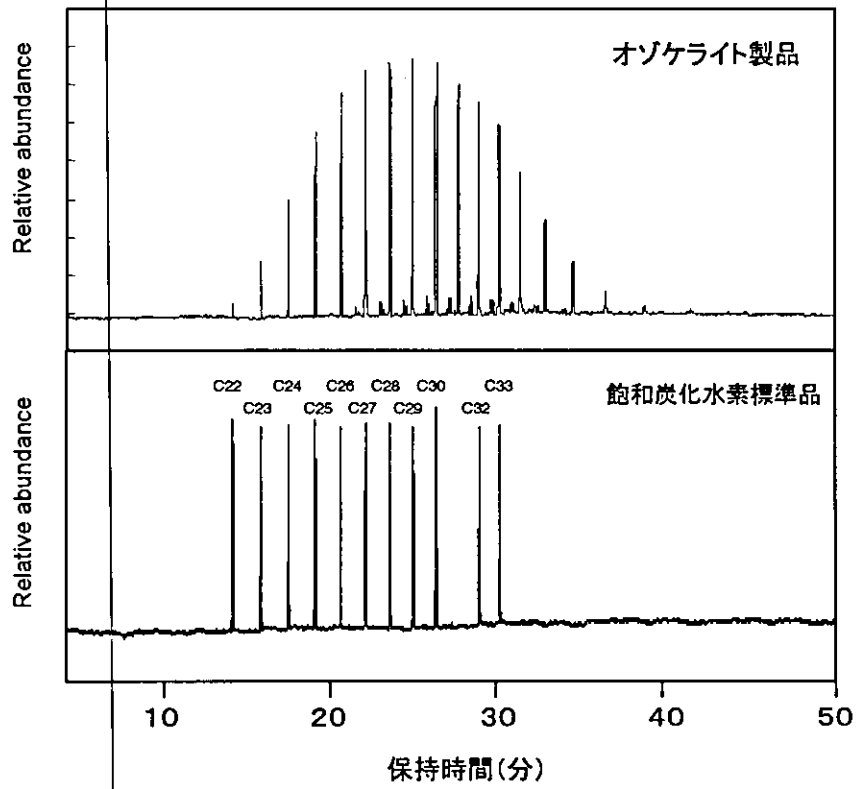


Fig. 1 オゾケライトのGC/MS分析

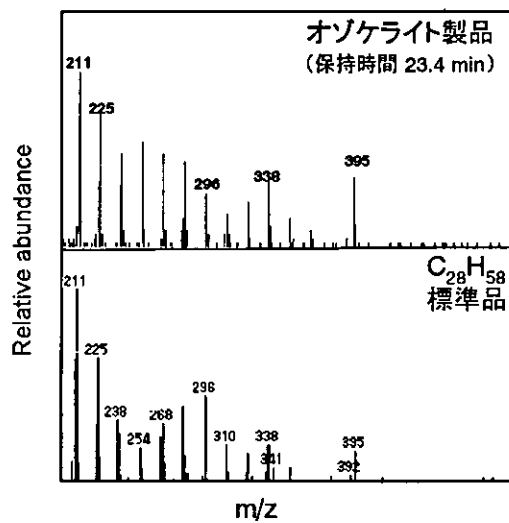


Fig. 2 GC/MSで検出されたピークのMSスペクトル

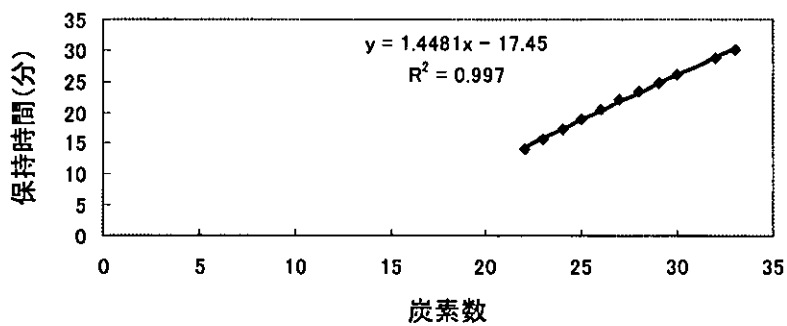


Fig. 3 GC/MS分析における飽和炭化水素の炭素数と保持時間の関係

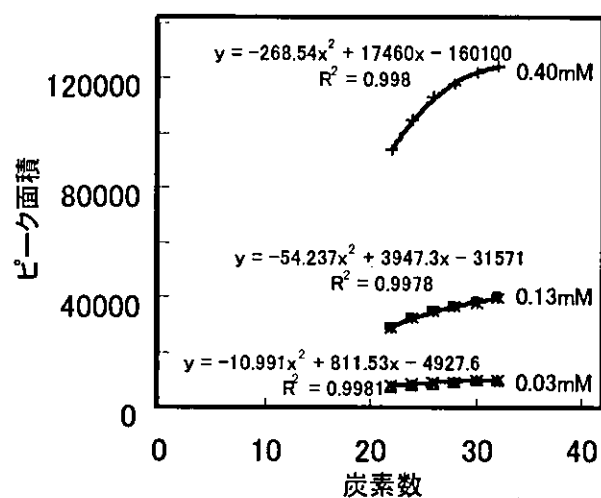


Fig. 4 GC/FID分析における飽和炭化水素の炭素数とピーク面積の関係

Table 1 GC/FID分析によるオゾケライト製品中の飽和炭化水素の定量

炭素数	濃度(%)	炭素数	濃度(%)
21	0.10	31	7.11
22	0.38	32	6.82
23	1.29	33	5.82
24	3.21	34	4.96
25	4.97	35	3.47
26	7.00	36	2.11
27	7.82	37	1.13
28	8.23	38	0.59
29	8.23	39	0.38
30	7.72	21~39合計	81.33

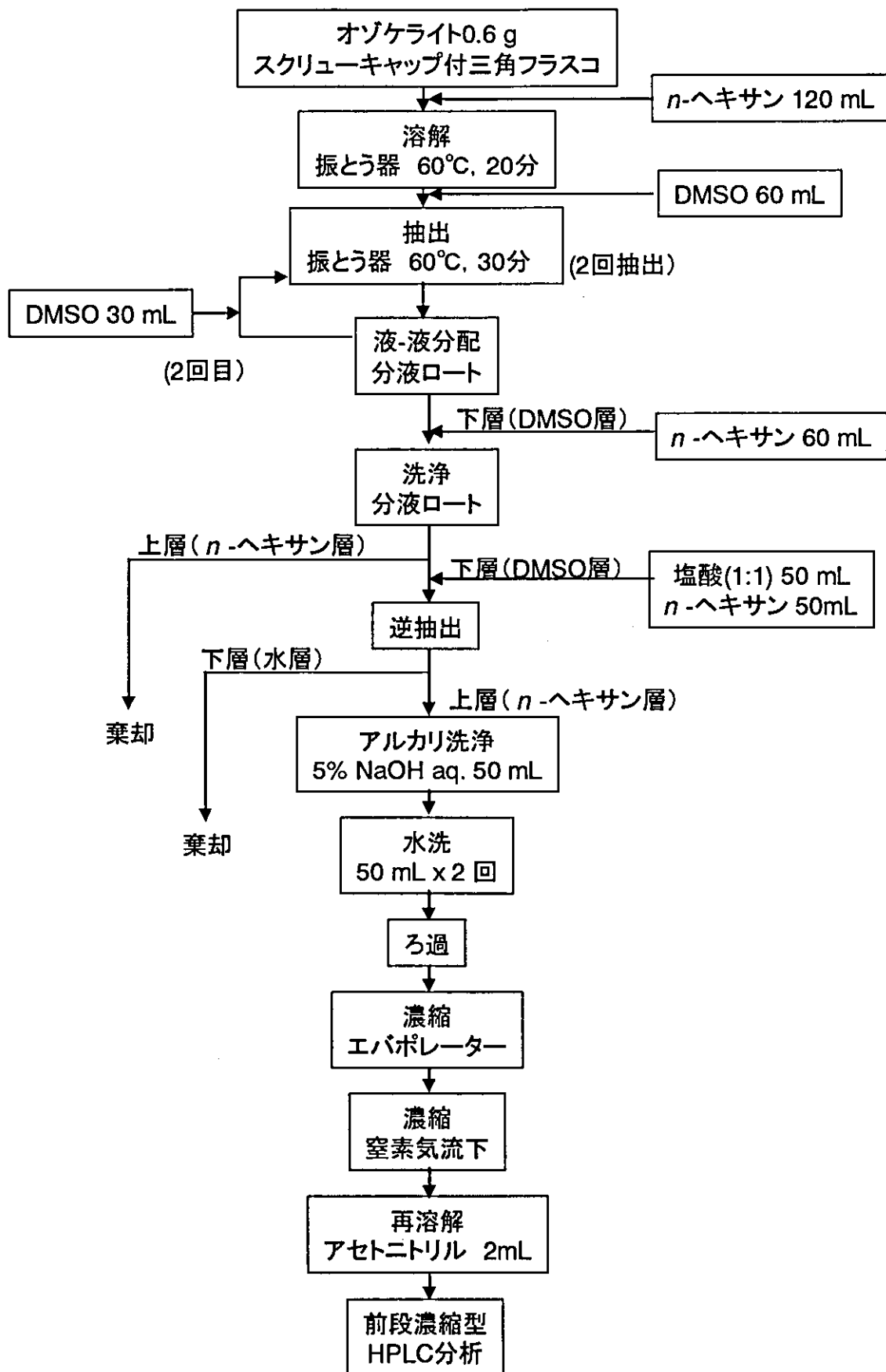


Fig. 5 変異原性多環芳香族炭化水素の抽出方法

Table 2

オゾケライトの回収実験の結果

濃度	BaP		dBahA		BghiP		dBaeP	
	添加量 (ng/g)	回収率 (%)*	添加量 (ng/g)	回収率 (%)*	添加量 (ng/g)	回収率 (%)*	添加量 (ng/g)	回収率 (%)*
1	2.16	75.3	0.67	72.2	1.62	80.3	0.72	88.4
2	10.66	71.5	3.31	83.2	8.01	80.6	3.54	78.1
3	21.31	66.6	6.61	74.4	16.02	85.2	7.08	71.6
4	105.92	62.4	32.85	66.9	79.59	70.8	35.18	58.9

*:ブランクを考慮していない

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全性高度化推進研究事業）
既存添加物の安全性確保上必要な品質問題に関する研究

平成 16 年度協力研究報告書
天然着色料魚鱗箔の構成成分

研究協力者 杉本 直樹 国立医薬品食品衛生研究所 主任研究官
多田 敦子 国立医薬品食品衛生研究所 主任研究官
金 哲龍 国立医薬品食品衛生研究所 研究員

研究要旨 魚鱗箔製品の溶剤はエタノールであり、今回入手した製品が食品添加物用製品であることを確認した。また、魚鱗箔箔分の主構成成分がグアニン、ヒポキサンチン及びキサンチンであることを明らかとした。絶対検量線法により、魚鱗箔箔分にはグアニン(79.38%)、ヒポキサンチン(1.64%)、キサンチン(2.01%)が含有されることを明らかとした。

A. 研究目的

魚鱗箔は、既存添加物名簿に記載される銀色の光沢を持った天然着色料の一つであり、主に食品の表面コーティングに用いられる。その基原・製法・本質として「イワシ科マイワシ (*Sardinops melanosticta* TEMMINCK et SCHLEGEL), タチウオ科タチウオ (*Trichiurus lepturus* LINNE) 又はニシン科ニシン (*Clupea pallasii* CUVIER et VALENCIENNES) の魚体の上皮部を採り、室温時水又は弱アルカリ性水溶液で洗浄後、室温時エタノールで抽出して得られたものである。主色素は不明であるが、グアニンを含む。」と記載されている。しかし、食品添加物としての魚鱗箔の成分組成に関する報告はなく、公的な成分規格もない。そこで、我々は、魚鱗箔の成分および品質に関して検討した。

B. 研究方法

1. 試料及び試薬

食品添加物用魚鱗箔(英名: fish scale foil) 1 社 1

製品は、(財)日本食品添加物協会を通じて入手したものを用了。グアニン、ヒポキサンチン、キサンチンは和光純薬工業(株)社製試薬特級を用了。その他の試薬は特級品を用了。

2. ヘッドスペース(HS)-GC/MS による溶剤の分析

魚鱗箔製品 0.5 g, あるいは魚鱗箔製品 10 mg 及び水 2.0 mL を 10 mL 容の HS バイアルに入れ密封し、下記の条件の HS-GC/MS に付し、溶剤の分析を行った。HS サンプラー: Agilent7694 Headspace Sampler (Agilent Technologies 社製); GC/MS: Agilent6890N/Agilent5973N (Agilent Technologies 社製)。HS サンプラー条件: オープン温度, 60°C; ループ温度, 110°C; トランスファーライン温度, 130°C; バイアル平衡時間, 40 分間。GC/MS 条件: カラム, Aquatic-2 (0.25 mm i.d.×60 m, 1.4 μm, ジーエルサイエンス(株)製); カラム温度, 40°C(5 min). 4°C/min. 110°C . 40°C/min. 240°C(20min); 注入口温度, 200°C;

インターフェース温度, 250°C; イオン源温度, 230°C; イオン化電圧, 70eV; スキャン範囲, 15~300 amu. 酢酸エチルの定量は, 酢酸エチルを DMSO で希釈し, 240 $\mu\text{g/mL}$, 120 $\mu\text{g/mL}$, 60 $\mu\text{g/mL}$ の 3 種類の標準溶液を調製し, 標準添加法による HS-GC/MS により行った.

3. LC/MS による箔分の分析

魚鱗箔製品 1.046g を精密に測り, 5 時間減圧乾燥し魚鱗箔箔分 250.2mg を得た. 魚鱗箔箔分を 1.0 mg/mL となるよう, 0.5 M 水酸化カリウム溶液 (pH12) に溶解した. 0.45 μm フィルター (Millipore, Millex-LH) でろ過後, 0.2% 酢酸溶液で希釈して 10 $\mu\text{g/mL}$ に調製したものを LC 用検液 (pH3.5) とし, 下記の条件の液体クロマトグラフ/質量分析計 (LC/MS) に付した. LC/MS system (LC: Alliance 2695; PDA: 2996 photodiode array detector; MS: Quatro micro API (Waters 社製)). LC 条件: カラム, Shiseido Capcell Pak C18 (4.6 mm i.d. \times 250 mm, 5 mm); カラム温度, 30°C; 移動相, 0.2% 酢酸: メタノール = 99:1 (pH 3.2); 注入量, 10 μL ; 流速, 0.3 mL/min; PDA, 192-600 nm; 検出波長, 260 nm. MS 条件: ソース温度, 120°C; 脱溶媒温度, 400°C; 脱溶媒ガス, 350 L/h; コーンガス, 60 L/h, キャピラリー電圧, 3.0 kV; コーン電圧, 35 V (ESI pos.); スキャン範囲, m/z 0-300.

4. HPLC によるグアニン, ヒポキサンチン及びキサンチンの定量

グアニン 10 $\mu\text{g/mL}$, ヒポキサンチン 0.25 $\mu\text{g/mL}$ 及びキサンチン 0.25 $\mu\text{g/mL}$ を含む混合標準液 (pH3.5) を調製し, 下記の条件の HPLC に付し, 各ピーク面積から求めた絶対検量線より, 魚鱗箔箔分中の含量を測定した. HPLC 条件: カラム, Shiseido Capcell Pak C18 (4.6 mm i.d. \times 250 mm, 5 μm); カラム温度, 30°C; 移動相, 0.2%

酢酸: メタノール = 99:1; 注入量, 10 μL ; 流速, 0.5 mL/min; 検出波長, 260 nm.

C. 研究結果および考察

1. 溶剤の分析

魚鱗箔には, 食品添加物用途以外に化粧品配合用としても用いられるものがあり, 3 種が化粧品種別配合成分規格に記載されている. 魚鱗箔が化粧品用途として用いられる場合には, 酢酸ブチル, 酢酸アミル, 酢酸エチル, 酢酸イソアミル, 乳酸ブチル, エタノール, イソプロパノール, ブタノール, トルエンあるいはこれらの混液に分散され, 食品添加物の製造では通常使用しない溶剤を含む製品もある. そこで, 分析対象とした魚鱗箔製品について, HS-GC/MS により溶剤の確認を行った. その結果, 微量の酢酸エチル (37.4 \pm 2.6. g/g) が検出されたが主にエタノールであることが明らかとなった (Fig. 1). したがって, 今回入手した魚鱗箔製品の溶剤はエタノールであり, 食品添加物用製品であることが確認された.

2. 魚鱗箔箔分構成成分の確認

魚鱗箔製品より溶媒を除いて得られた魚鱗箔箔分を LC/MS に付した結果を Fig.2 に示した. 検出波長 260 nm において, 保持時間 8.75 分 (ピーク 1), 11.27 分 (ピーク 2), 12.57 分 (ピーク 3) の 3 つのピークが観察された. ESI-MS (pos.) において, ピーク 1 は, m/z 152.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ を与え, 魚鱗箔の主成分とされるグアニン(1)であると推定された. ピーク 2, 3 は m/z 137.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 153.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ を与え, グアニン(1)と構造的に非常に近いプリン誘導体と考えられた. そこで, それぞれの分子量関連イオンを与えると考えられるプリン誘導体と比較したところ, ピーク 1, 2, 3 は, 保持時間及びマススペクトルがグアニン(1), ヒポキサンチン(2)及びキサンチン(3)と完全に一

致した。また、PDA 検出器により、波長 192–600 nm を走査したところ、他にピークは観察されなかったことから、本製品の魚鱗箔箔分は、主にグアニン(1)、ヒポキサンチン(2)及びキサンチン(3)により構成されることがわかった(Fig. 3)。

3. 魚鱗箔箔分の構成成分の定量

HPLC において、魚鱗箔箔分中のグアニン(1)、ヒポキサンチン(2)及びキサンチン(3)は、それぞれ保持時間 5.1 分、6.4 分、7.1 分に観察された(Fig. 4)。標品を用いてピーク面積より絶対検量線(グアニン(1), $y_1 = 5536.9x + 36277$, $r^2 = 1.000$; ヒポキサンチン(2), $y_2 = 5936.8x + 1151.5$, $r^2 = 0.9991$; キサンチン(3), $y_3 = 5921.3x + 1116.3$, $r^2 = 0.9994$)を作成し、それぞれを定量した。その結果、今回試料として用いた魚鱗箔製品の箔分中には、グアニン(1)、ヒポキサンチン(2)及びキサンチン(3)がそれぞれ $79.38 \pm 0.44\%$ 、 $1.64 \pm 0.09\%$ 及び $2.01 \pm 0.06\%$ (mean \pm SD, N = 4)含有されていることが分かった。Code of Federal Regulations (CFR) (米国連邦規則集) に収載されている色素添加物グアニンは、「魚鱗から得られる結晶性物質で、またグアニンとヒポキサンチンの 2 種のプリンから成る。結晶の由来基原に応じて、グアニン含有率は 75~97% に変動し、ヒポキサンチン含有率は 3~25% に変動する。」と記載されており、

今回の魚鱗箔箔分の分析結果は、キサンチン(3)が検出されたことを除いて CFR 規格にほぼ一致するものであった。国内において、食品添加物用魚鱗箔の流通が他に確認されなかったため、他社の製品について分析できなかったが、CFR の記載によると、基原によっては成分組成比が変動し、また付随するプリン誘導体の種類も変わるものと考えられた。

D. 結論

今回入手した魚鱗箔製品の溶剤はエタノールであることを HS-GC/MS により確認した。また、魚鱗箔箔分の構成成分グアニン(1)、ヒポキサンチン(2)及びキサンチン(3)の同定には、LC/MS が有効であった。魚鱗箔の構成成分の定量は、HPLC を用いて、絶対検量線法により比較的容易に定量することが可能であり、今回分析した魚鱗箔箔分にはグアニン(1) (79.38%)、ヒポキサンチン(2) (1.64%)、キサンチン(3) (2.01%) が含有されることを明らかとした。

E. 研究発表

1. 論文発表

金 哲龍, 多田敦子, 杉本直樹, 佐藤恭子, 山崎 壮, 棚元憲一, 天然着色料魚鱗箔の構成成分, 食化誌, 投稿中(2004).

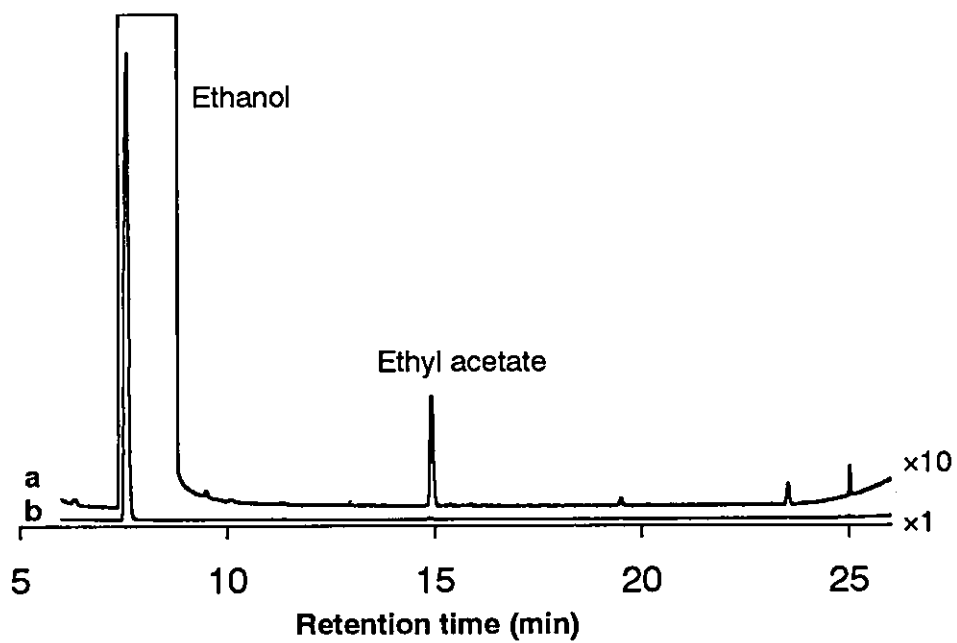
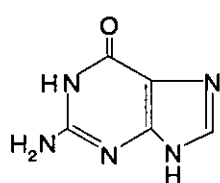
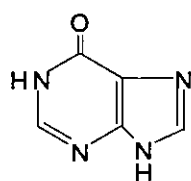


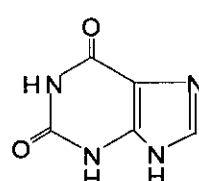
Fig. 1 TIC chromatograms of fish scale foil by headspace GC/MS
a) fish scale foil (slurry). b) aqueous solution of fish scale foil (5 mg/ml)



guanine (1)
 $C_5H_5N_5O$
Mol. Wt: 151.1



hypoxanthine (2)
 $C_5H_4N_4O$
Mol. Wt: 136.1



xanthine (3)
 $C_5H_4N_4O_2$
MW: 152.1

Fig. 3. Structures of guanine (1) , hypoxanthine (2) and xanthine (3)

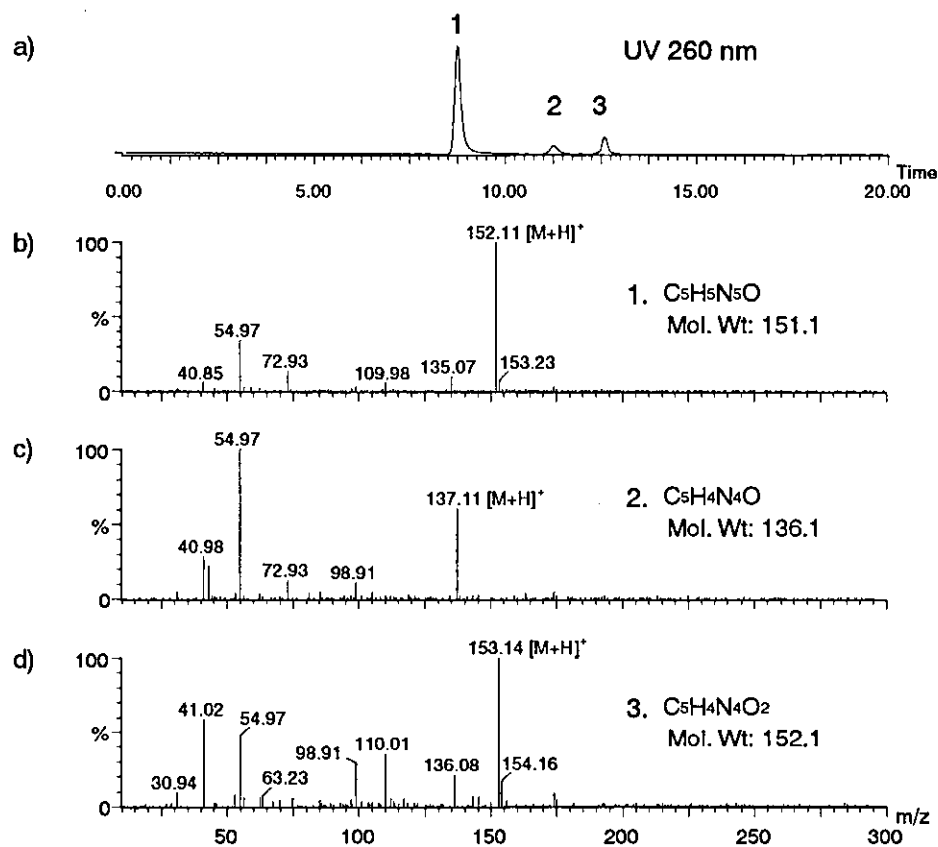


Fig.2 LC-ESI-MS profiles of fish scale foil
a) LC profile. b) peak 1. c) peak 2. d) peak 3.

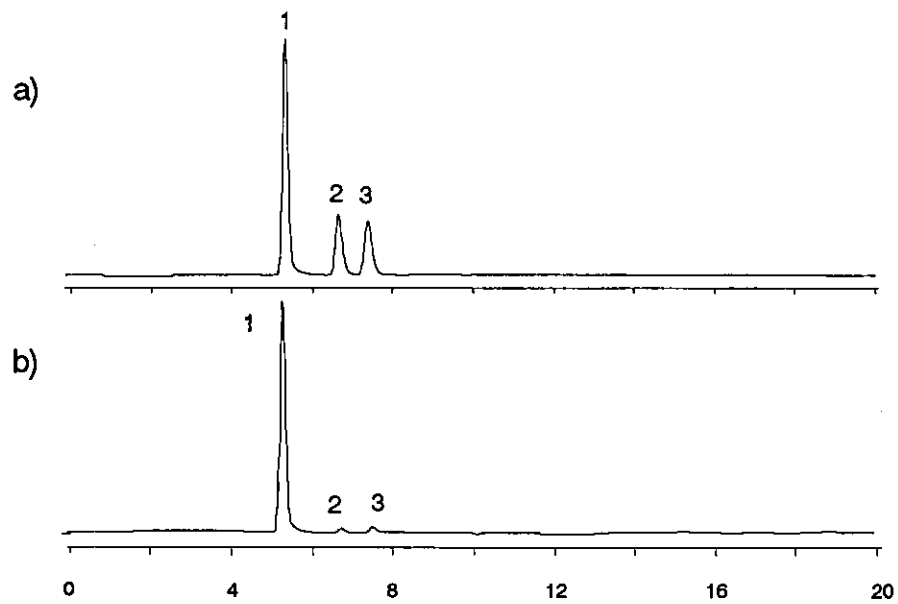


Fig.4 HPLC profiles of fish scale foil and the standard mixture
a) The standard mixture. 1 = guanine, 2 = hypoxanthine, 3 = xanthine.
b) Fish scale foil.