

コウリャン色素、タマネギ色素、カカオ色素、タマリンド色素、カキ色素、クーロー色素、シアナット色素に沈殿が確認できた。カラメル色素の一部に沈殿が生じないケースがあった。カカオ色素、カキ色素、クーロー色素、シアナット色素は反応性が優位に認められ、溶液色が薄く色素成分が沈降していた。

⑦ Folin-CIOCALTE'S (ポリフェノール) 反応

ポリフェノール一般の反応に用いられる呈色反応。
ピーナッツ色素、ペカンナッツ色素に強い反応があった。

⑧ 塩酸-マグネシウム反応

フラボン類に特有の呈色反応が知られている。
ハンドリングによるバラツキが多く、全体的に沈殿量は少なかった。

⑨ 塩酸-亜鉛反応

フラボン類に特有の呈色反応が知られている。
ハンドリングによるバラツキが多く、全体的に沈殿量は少なかった。
上記のマグネシウムと同等の反応であるが、マグネシウムより脱色度が高かった。

⑩ 塩化アルミニウム反応

フラボン、フラボノール類とアルミニウムイオンが反応して、呈色することが知られている。
カカオ色素、クーロー色素、シアナット色素、タマネギ色素、タマリンド色素に沈殿物ができた。
コウリャン色素、カキ色素、カラメル色素には沈殿物がないケースがあった。

⑪ アンモニア検出確認法

カラメルⅢ、Ⅳからアンモニアを検出する方法で、褐色フラボノイド系着色料での確認をしたが、ハンドリングによるバラツキが多く、変色の範囲が確認しづらかった。

⑫ 5-ヒドロキシメチルフルフラール (5-HMF) の確認法 (HPLC分析)

カラメル色素の試験法のひとつ。カラメルⅠとカラメルⅣで有意にピークが観察され、カラメルⅢでは極微量観察される場合があった。

褐色フラボノイド系着色料ではほとんど確認できなかった。タマネギ色素で類似のピークが観察されるが、他 (MS 等) の試験法と組み合わせることで区別できる。クーロー色素の一部に陽性があった。

⑬ 4-メチルイミダゾール (4-MeI) の確認法 (GC分析)

カラメル色素の試験法のひとつ。カラメルⅠと褐色フラボノイド系着色料では確認されなかった。カラメルⅢ、カラメルⅣの区別は可能であった。

⑭ 蛍光スペクトルの測定

褐色(フラボノイド)系着色料においては、極大吸収波長を示さない。しかしながら、蛍光スペクトルにおいてその差異があることが確認された。この手法により評価を行った。

測定機器を所有するのが2社のみであり、また2社間で試験結果は必ずしも一致しなかったが、最大励起波長と最大吸収波長の組み合わせにより、分類できる可能性があると示唆された。

総評：

ペカンナッツ色素とチコリ色素は自主規格3版の検討時にバニリン硫酸法を取り入れ、さらにFolin-CIOCALTE'S法などを利用すれば他の茶系色素との区別が可能と考えられた。5-ヒドロキシメチルフルフラール検出法と4-メチルイミダゾール検出法を組み合わせることにより、カラメル色素（I，Ⅲ，Ⅳ）と他の褐色フラボノイド系着色料との区別が可能であることが示唆された。

今後の検討課題：

褐色系の着色料においては、先に記したように、主成分の特定が不十分である。現在公定書第9版においては褐色系着色料の収載が必要と考えられるため主成分特定が急がれるが、非常に困難であることが予想される。着色料業界としては、実際に市場に製造・販売されている褐色系色素の差別化を可能にすることにより、更には確認試験に規格化することで公定規格として設定できるものと考えている。また、公定書規格については、日本市場の流通が多いものから優先的に収載する必要がある。【参考資料E】に市場の需要量をまとめた。

文献等より得られた情報に基づきまだ検討されていない定性試験や成分を分取したTLCやHPLC分析法を中心に検討を続けていくことを考えている。

これは、食品中からの分析方法にも関係するが、カラメルとの違いも視野において各褐色系着色料の定性分析の確立が急務である。

以上

【参考資料 A】褐色フラボノイド系着色料の成分等に係る文献調査結果

No.	分類名	SO				TI 標題	AU 著者	AB 要旨		
		雑誌名	年	巻	発行 号 頁～					
1	カカオ色素	月刊フードケミカル	1996	12	11	45	50	着色料の酵素処理技術の応用	鈴木敏夫(東洋エフ・シー)	酵素処理による着色料の製法について説明した。初めにインジゴ、カカオ色素、柑色素及びアザノ色素について製法及び発酵と化学的処理による色素の变化などについて説明した。次に開発したベニナ色素についてその黄色素から赤色素の酵素変換について開発経緯を詳しく紹介した。
2	カカオ色素	Foods&Food Ingrd J Jpn	2005	210	12	1145	1151	チョコレートの色について—カカオ豆の色の違いと特徴—	芦谷浩明、上藤達也	チョコレートの主原料であるカカオ豆の色素成分の一つに赤色素系成分であるアントシアニンがある。カカオ豆の種類や加工の仕方の違いはアントシアニンの量及び成分による違いが知られてきたが、加工品種の選定によるアントシアニンの定量的な報告はなされていない。今回カカオ豆の産地の違いによる品質及び生理機能の違いについて明らかにするためにアントシアニンの定量を試み、いくつかの知見を得た。
3	カカオ色素	New Food Ind	1987	29	3	22	25	天然色素について	大西邦義	アントシアニン色素、ベニナ色素、カキアザノ色素、カキアザノ色素、アザノ色素、ヒルナン色素、アザノ色素、カカオ色素、コーラン色素、カカオについてその主成分や特性、利用面などを紹介
4	カカオ色素	Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis	2006	41	-	1523	1542	Phenolics in cereal, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis	Marian Naczk, Fereidoon Shahidi	Review: 食用植物、特にフルーツ、野菜、穀物に含まれるフェノール類、ポリフェノール類は、抗酸化作用を示すため、好ましい生理活性食物である。本レビューでは、そのフェノール類を含む大略的な食原類及び抽出、分析について述べる。
5	カカオ色素	Trends in Food Science & Technology	2006	17	-	64	71	Novel uses of catechins in foods	Yusuf Yilmaz	カテキンは、さまざまな食品、例えばワイン、茶、フルーツ、チョコレートに含まれているフラバノールである。カテキン、エピカテキン、エピカテキン没食子酸エステル(gallates)は、人の健康に日々重要な主なカテキン類である。近年カテキン類は脂質の酸化防止剤、動物のサプリメント、食料の抗菌剤、種々の食品の健康機能成分、サプリメントとして用いられている。本レビューは、食品のカテキンの新しい用法について概略する。
6	カカオ色素	J. Agric. Food Chem	2006	54	-	4062	4068	Antioxidant Activity and Polyphenol and Procyanidin Contents of Selected Commercially Available Cocoa-Containing and Chocolate Products in the United States	Kenneth B. Miller, David A. Stuart, Nancy L. Smith, Chang Y. Lee, Nancy L. McHall, Judith A. Flangan, Boxin Ou, and W. Jeffrey Hurst	台湾において市販されているココアとチョコレートを含有食品について、抗酸化活性、ポリフェノールとプロシアニジンの含量について調査した。上位マーケットにある市販サンプルについて6種のカテゴリーのもの、4種の方法について調べた。ORAC(oxygen radical absorbance capacity), VCAE(vitamin C equivalence antioxidant capacity), total polyphenol, total procyanidine. さらに percent nonfat cocoa solids(NFCS), percent についてもすべてのロットについて調べてみた。cacaoのantioxidant 活性は、NFCSが一義的なパラメーターであり、cacaoマメの割合と工程の相違がmain factorである。
7	カカオ色素	Food Chemistry	2006	98	-	649	657	Chocolate and cocoa: New sources of trans-resveratrol and trans-piceid	C. Coumet, D. Callemien and S. Collin	dark chocolate と cocoa liquor において、trans-resveratrol(0.4ppm と 0.5ppm)、trans-piceid(1ppm と 1.2ppm)が検出された。これらの化合物は、光にたいして不安定で特殊な抽出法を必要とする。Chocolateのきわめて高い抗酸化活性は、stilbenesによるよりも、高いprocyanidinesによるものである。

No.	分類名	SO			TI 標題	AU 著者	AB 要旨
		雑誌名	発行 年 巻 号 頁	発行 年 巻 号 頁			
8	カカオ色素	Industrial Crop and Products	2006 24 -	87	Effect of pulp preconditioning on the content of the polyphenols in cocoa beans(Theobroma Cacao) during fermentation	R. Nazaruddin, L. K. Seng, O. Hassan and M. Said	polyphenol 化合物は、異なる発酵によるマレーシアの混合-ハイブリッド cocoa ママよりHPLCを用いて得られた。(+)epicatechin, (+)-catechin, theobromin, caffeine(11.87, 4.31, 21.08, 3.85mg/g)であった。発酵前の処理が、酸性度、発酵度、ポリフェノールの変化に影響する。発酵の間に epicatechin, catechinのレベルは減少する。その減少度は、発酵程度によるが、6~17%、および0.95~1.62%であった。本研究結果により、15日間のpulp preconditioningがepicatechin, catechin, theobromin, caffeineの分解をとめるには最適の条件となる。
9	カカオ色素	Journal of Chromatography A	2006 1112 -	345	Analysis of catechin in Theobroma cacao beans by cyclodextrin-modified microcellular electrokinetic chromatography	R., Gotti, S. Furlanetto, S. Pinzauti and V. Cavrini	Micellar electrokinetic chromatography(MEKC)をTheobroma cacao ママの polyphenols (+)catechin, (-)epicatechin, methylxanthin, theobromine)の分析に応用した。Hydroxypropyl-β-cyclodextrin(HP-β-CD)のSDSミセル溶液に添加、PH2.5によるOD-MEKCにより、従来法(MEKC)よりも高い分離の向上、catechinの光学異性体のが出来る。特にmethylxanthine(theobromine, caffeine),procyanidin dimerB1, B2,catechinが catechin光学異性体ともい同時に、10分以内に分離が出来る。本法は、選択性、感度、正確、精度、その他において評価できる。
10	カカオ色素	Phytochemistry	2002 59 -	749	Proanthocyanidin glycosides and related polyphenols from cacao liquor and their antioxidant effects	T. Hatano, H. Miyatake, M. Natume, N. Osakabe, T. Takizawa, H. Ito, and T. Yoshida	cacao liquor 水溶性抽出液から4個の新規化合物をふくめ17個のフェノール類を分離した。新規化合物は、基本的スベクトルデータから、flavan O-glycoside、及びNA-linked proanthocyanidin 2量体、3量体のO-glycosidesであった。分離したpolyphenolは、細菌におけるNADPH(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate)依存脂質酸化及びLinoleic acidの阻害効果を示す。Cacao polyphenolsは、1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radicalを効果的に除去するため、酸化反応鎖においてradical scavenger活性を示す。
11	カカオ色素	LWT	2005 38 -	321	The anti-oxidation potential of polyphenol extract from cocoa leaves on mechanically deboned chicken meat	O. Hassan and L. S. Fan	若いcocoa 葉(CL)からpolyphenolsを抽出、全polyphenol量をFolin-Ciocalteu 法、catechin成分をHPLC法、還元成分総量をFe3+還元法でそれぞれ分析した。抽出液は、モノミート系(mechanically deboned chicken meat(MDMC))で酸化能を調べた。酸化性は、BHA (butylated hydroxy anisole)/BHT(butylated hydroxy toluene)溶液、及びgreen tea 抽出液(GT)と比較した。種々の抗酸化剤を含むMDMCをコック後、4度Cに保存、その過酸化値、thiobarbituric acid反応物質、hexanal生成値を分析した。酸化性は、GTからの天然polyphenolによるものと極めてよく一致した(800mg/kg)。低濃度2000mgと4000mgでは、CL抽出液のpolyphenolの抗酸化能は、BHA/BHTの50%~80%であった。
12	カカオ色素	明治製菓研究年報	1998 37 -	14	最近のカカオポリフェノール研究	滝沢 登志男	これまでの研究によりカカオに見出されたポリフェノール類は、フラボノイド、カカオ、およびフェニル化合物のグループに分類される。カカオにはこれら様々なポリフェノールが含まれているが、主要成分はフラボノイドである(+)エピカテキンおよびその縮合物であるプロシアニジンが挙げられる。カカオから単離されたポリフェノール類には、LDL酸化抑制作用が報告されており、フラボノイド摂取が心臓冠動脈疾患に対するリスクを軽減するとの疫学研究結果を補強している。この他にカカオポリフェノールによる胃粘膜障害を抑制することや、in vitro系における免疫機能への影響が数多く報告されている。また、上述した機能を併せ、抗酸化作用、抗変異原作用、発がん予防作用、抗腐蝕作用、抗ストレス効果、動脈硬化予防作用、免疫調節作用、アレルギー

No.	分類名	SO			TI 標題	AU 著者	AB 要旨	
		雑誌名	年	巻				発行 号
13	カカオ色素	不明	-	-	1	吉積 智司、中西 喜次	カカオ色素はフラボノールに属するフラビン、アントラニル色素である。フラボノールは分子中に炭素6原子のケルブに2個あり、これを炭素3原子で連結している形の構造式をもっているもの総称である。フラボノールは酸と共に加熱すると、酸化が起こり、種々の縮合、重合等の反応が起こり赤色から褐色の重合体となる。重合体内に見出されるこれら重合物は、コンテンスタン、フロバタン、カチコルタン等と呼ばれている。なかでもフロバタンは最もよく見られるものである。また、これら化合物は水、メタノール、エタノール、アセトンなどで容易に抽出され、沈殿剤を使用することにより容易に沈殿する。	
14	カカオ色素	Nippon Syokuhin Kogyo Gakkaiishi	1982	29	9	529	533	天然色素、カカオ豆色素物質の化学と代謝機構、吉積 5
15	カカオ色素	Nippon Syokuhin Kogyo Gakkaiishi	1982	29	9	534	537	カカオ豆ハスクから抽出した色素画分の抗酸化性に関する研究
16	カカオ色素	New Food Industry	1984	26	1	68	71	カカオ豆ハスクから抗酸化性物質の分画および応用
17	カカオ色素	Biosci Biotech. Biochem.	1996	60	10	1712	1713	Effect of Natural Food Colorings on Immunoglobulin Production in Vitro by Rat Spleen Lymphocytes
18	カカオ色素	J. Agric. Food Chem.	2000	48	-	5074	5078	Antimutagenic Activity of Cacao: Inhibitory Effect of Cacao Liquor Polyphenols on the Mutagenic Action of Heterocyclic Amines

No.	分類名	SO			TI 標題	AU 著者	AB 要旨
		雑誌名	発行 年	巻 号			
19	カカオ色素	Journal of Agricultural and Food Chemistry	1999	47	2	490	496
20	カカオ色素	Journal of Agricultural and Food Chemistry	1999	47	10	4184	4188
21	カキ色素	日本食品化学学会誌	2004	11	1	7	12
22	コウリヤン色素	日本食品化学学会誌	1996	3			
23	コウリヤン色素 学会発表(不明)						
24	コウリヤン色素	医学と生物学	2000	141	3	111	114
25	コウリヤン色素	Proc. Natl. Acad. Sci. USA	1987	84			

HPLC/MSを用いたカカオおよびチョコレート中のプロアントシアニジンの同定法を述べた。またこの手法を定量分析に応用することにより、ココアチョコレートをはじめ食品中のプロアントシアニジンの信頼度の高い定量分析が可能になると期待されるため調査中である。

カカオ、カカオリキュールおよびチョコレート中のプロアントシアニジンを抽出し蛍光検出器付HPLCにて分析した。この方法は4つの研究室で近い結果を得られたため、プロアントシアニジンの定量法としては、信頼度と再現性の高い方法であると示唆された。さらにORAC assayによるプロアントシアニジンの含有量は抗酸化容量と相関があった。

カキ色素の90(粉末基礎飼料)、1.25、2.5及び5.0%の混合飼料を6週齢のSprague-Dawley系SPFラットに90日間自由に摂取させ、その反復投与による毒性を確認した。尚、投与期間中の被験物質平均摂取量は1.25、2.5及び5.0%投与群の雄でそれぞれ784.1、1570.4及び3152.0mg/kg/日、雌でそれぞれ893.5、1849.4及び3734.5mg/kg/日であった。投与期間を通じて死亡は見られず、また、一般状態、体重、摂餌量、食餌効率、眼科学検査、尿検査、血液学検査及び病理学検査においても被験物質投与に起因する変化は認められなかった。本試験におけるカキ色素の無毒性量(NOEL)は雄雌とも最大濃度の50%と推察された。

黒色及び赤色タイプのコウリヤン果皮(Sorghum nervosum BESS)から、2種の3-デオキシアントシアニン単離・精製し、化学的分解法、UV-Visible、ESI-MS、FAB-MS、化合物の合成及び各種NMR手法を用いて、それぞれ構造を5,7-dihydroxy-2-(3,4'-dihydroxyphenyl)-1-benzopyran(luteolinidin)及び5,7-dihydroxy-2-(4'-hydroxyphenyl)-1-benzopyran(apigeninidin)と決定した。また両化合物の水溶液及びエタノール溶液中の安定性は、比較したアントシアニンならびにペラリジンより安定であった。更に、両化合物及びコウリヤン色素(粗抽出物)は、グラム陽性、陰性にびに酵母に対して抗菌活性を示さなかった。

市販のコウリヤン色素をHPLC分析した結果、5種類以上のピークとプロト成分が確認された。その内の3種類の成分は、報告されているルテオリニン、アピゲニン、アピゲニンと同一で、これらの成分の他、主要な2成分の内1成分は標品の保持時間とマススペクトルの一致の結果、ルテオリニンと同一であった。プロト成分は、限外ろ過処理を行うことにより分子重10000以上の高分子である。この4種類の成分について中国産赤穀、黒穀及びインド産穀の比較を行った。中国産においては4種類の成分が確認されたが、赤穀は黒穀に比べてルテオリニンが少なくアピゲニンが多かった。インド産穀にはアピゲニンが多く、他の3成分はごくわずか、または確認されなかった。

コウリヤン色素が消化管中でどのように分解されるかを推察するために、コウリヤン色素溶液の生理的水素イオン濃度における分解物を解析した。

キビの中胚軸に病原性がある菌、無い菌を一種ずつ感染させたところ、2品種において、アピゲニンとルテオリニンが蓄積されることが確認された。キビの主色素であるこれらは、カビ毒に対する防御反応として合成される、即ちアリアイトレキニンでは無いかと推察された。

No.	分類名	SO				TI 標題	AU 著者	AB 要旨
		雑誌名	年	巻	発行 号			
26	タマネギ色素	Journal of Agricultural and Food Chemistry	1996	44	1	34	36	タマネギ主要フラボノイド化合物をセファテックスLH20カラム、HPLC、TLC、質量分析、NMRにより分離同定した。同定したフラボノイドは、ケルセチン、ケルセチンモノグルコシド、ケルセチンジグルコシド、イソラムネチングルコシド(1)、ルチン、ケンペロールで、(1)の糖の結合は4-O-グルコシドであった。
27	タマネギ色素	日本食品化学会第8回総会・学術大会講演要旨集	2002			37		タマネギのりんご水、50%エタノール、0.2%NaOH水溶液で抽出し、質量分析を行った。また、タマネギ色素(三栄源エフ・エフ・アイ(株)製)も上記質量分析条件で成分を分析した。タマネギのりんご水からはすべての成分において5つの未同定単一ピーク(450nm)、ケルセチン色素を認め、成分の単離・同定のために0.2%NaOH水溶液を酸性域でエーテル分配し、水層域の3つの成分を単離した。現在、NMR分析中である。また、タマネギ色素製品においても、りんご水に含まれていた5つの成分のうち2つとケルセチンが確認され、現在構造の解析中である。
28	タマネギ色素	Nippon Syokuhin Kogyo Gakkaishi	1992	39	1	88	92	Rapid Quantitative Analysis and Distribution of Free Quercetin in Vegetables and Fruits
29	タマネギ色素	Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi	1993	40	2	144	149	Effect of onion pigments on the killing effect of ultraviolet irradiation toward human monocyte or macrophage-like cells
30	タマネギ色素	J.Agr.Food Chem.	1967	15	3	423	426	Precursors involved in the Formation of pink pigments in onion purees
31	タマネギ色素	J. Fd Technol.	1976	11	-	433	448	Flavonols and flavons in food plants: a review
32	タマネギ色素	Journal of Agricultural and Food Chemistry	2004	52	15	4725	4729	Antioxidant Activity of Protein-Bound Quercetin
33	タマネギ色素	Journal of Agricultural and Food Chemistry	2005	53	21	8183	8189	Antioxidative activity from the Outer Scales of Onion

No.	分類名	SO			TI 標題	AU 著者	AB 要旨	
		雑誌名	年	巻				発行 号
34	タマリンド色素	日本食品化学学会誌	1998	5	2	140	145	<p>A 90-day Oral(dietary) Toxicity Study of Tamarind Pigments Cocoa brown TRSB(B) in Rats</p> <p>M. Mochizuki, T. Katsumata, K. Hatayama, K. Tsumura, T. Hamasaki, T. Katsumata, N. Hasegawa</p> <p>タマリンド色素ココアブラウン(TRSB(B))の0(基礎飼料)、1.25、2.5及び5.0%の混合飼料を1群雌雄各10匹のSprague-Dawley系SPFラットに90日間自由に摂取させ、その反復投与による毒性を確認した。尚、投与期間中の被験物質平均摂取量は1.25、2.5及び5.0%投与群の雄でそれぞれ803.2、1669.2及び3278.1mg/kg/日、雌でそれぞれ941.0、1854.2及び3885.1mg/kg/日であった。投与期間を通じて死亡は見られず、また、一般状態、体重、摂餌量、食餌効率、眼科学検査、尿検査、血液学検査、血液学検査及び病理学検査においても被験物質投与に起因する変化は認められなかった。以上の結果より、タマリンド色素ココアブラウンTRSB(B)の90日反復経口投与による明らかな毒性学影響は観察されなかった。本試験におけるTRSB(B)の無毒性量(NOEL)は雄雌とも最大濃度の5.0%と推察された。</p>
35	カラメル	埼玉県消費生活情報HPより						簡易法(硫酸アンモニウム・エタノール沈殿法)
36	カラメル	日本醤油研究所雑誌	1981	7	4	付13		簡易法(硫酸アンモニウム・エタノール沈殿法)
37	カラメル	国税庁 通達 HP						イソアモルアルコール法
38	カラメル	AOAC official methods of analysis	1990			747		2,4-ジニトロフェニルヒドロラジン(2,4-DNPH)による沈殿生成
39	カラメル	神戸農林水産消費技術センター	2001					<p>醤油の様々な製造・保存条件から、カラメルあるいはカラメル様の物質の挙動を調査。AOAC法(2,4-ジニトロフェニルヒドロラジンによる沈殿生成)及び簡易法(硫酸アンモニウム・エタノール沈殿法)、カラメルの構成要素である5-HMFと指標物質4-Melの抽出法及びカラメル使用醤油におけるカラメル含有量の推定法についても検討。</p>
40	カラメル	Food additives and contaminants	1987	4	1	9	15	<p>15のカラメル色素からクロロホルム-エタノール可溶成分がトリメチルシリル化後のGCにより分離された。MSは現在示される成分として得られた。10成分は構造的に同定された。すなわち:3-hydroxypyridine,2-hydroxymethylpyridine,hydroxymethylpyridine,3-hydroxy-6-methylpyridine,hydroxymethylpyridazine,2-hydroxymethyl-5-methylpyridazine,1,2-dihydroxyethylpyridazine,1,2'-dihydroxyethylmethylpyridazineの2,5-と2,6-の異性体、methyl-(1',2',3',4'-tetrahydroxybutyl)pyridazineである。</p>
41	カラメル	Food additives and contaminants	1985	2	4	237	246	<p>ブドウ糖液とカラメル色素に存在する低分子量成分を調べるための分析手法が発表された。カラメルの調製のために使用されたアンモニウム、コーンステイックと亜硫酸アンモニウムカラメル及びブドウ糖液からのクロロホルム/エタノール可溶成分はOV101相のGCにより分離された。英国で作られたアンモニウムカラメルについてはその技法は分類の種類ではなく、アンモニウムカラメルの生産者の確認を承認している。英国の亜硫酸アンモニウムカラメル、コーンステイックカラメナダと日本で作られたアンモニウムカラメルはそれぞれ特殊なGC指数を持っているが、英国のアンモニウムカラメルとは似ていない。ブドウ糖液はカラメルと比較したときより小さな数の成分を含む。</p>

No.	分類名	SO			TI 標題	AU 著者	AB 要旨
		雑誌名	年	巻 号 頁			
42	カラメル	Fd Chem. Toxic	1992	5 375 382	Characterization of caramel colours I, II and III	Light B. H., Shaw K., Smith C., Mendoza M., Orr J. and Myers D. V.	カラメル色素 I、II 及び III の代表的なサンプルのグループが各分類の範囲内の組成の均一性を評価するためそれぞれその範囲内の差異を決定するために特徴づけられた。各分類の範囲内での組成の均一性はカラメルサンプルの分別と紫外可視分光分析、HPLC、化学的分析によってなされた。一つあるいは多くのカラメル色素分類の一定のパラメータ間にはオーバーラップがあるけれども、いくつかの異なるパラメータを基礎として各分類の全ての「指紋」は明白に特有のものであった。そのようなパラメータは正味のイオン荷電、吸光度、窒素と亜硫酸含量、特定の低分子成分及び HPLC プロファイルを含んでいた。HPLC 分析はそれぞれの分類中での特有のプロファイルと分類の間で明白な差異を示した。ここに示されたカラメル I、II、III 及び他のカラメル IV のデータは 4 つの分類のそれぞれが個々のものとして考えることができ、それぞれの分類を通して特徴づけられたサンプルは化学的に組成により混合物の均一性を構成していることを示している。
43	カラメル	Journal of Analytical and Applied Pyrolysis	1989	15 - 159 165	Analysis of caramel colours Curie-point pyrolysis-high-resolution gas chromatography/mass spectrometry and simulation of pyrolysis-mass	Hardt R. and Bailes W.	キユーリー点熱分解質量分析能 GC/MS は 4 つの分類のカラメル色素の区分を可能にした。熱分解 MS の結果はデータの増加により似ていた。この方法解 GC/MS により生じる全てのスペクトルの追加により似ていた。この方法はいくつかの例外はあるが未知のカラメル色素の分類を認めた。
44	カラメル	Fd Chem. Toxic	1992	5 365 373	Characterization of caramel colour IV	Light B. H., Shaw K., Smith C., Mendoza M., Orr J. and Myers D. V.	多くの市販カラメル IV サンプルが分類の均一性を評価するためにそれに規格の開発に使用するデータを提供するために特徴づけられた。カラメル色素の化学的物理的複雑性のために、均一性の評価のために全ての成分の詳細な分析を実施することは実行可能ではなかった。代わりに、選択されたパラメータが評価され、種々のサンプル中のこれらのパラメータの類似点を基にした組成の均一性に関して判断がなされた。カラメル色素 IV は食品産業より色価の範囲が要求されているので、そこにはサンプル間の相違による特性の範囲があることはカラメル IV 分類の一部として材料のために十分に似ていることはカラメル IV 分類の一部として考えられる。全てのカラメルと同様に分画されたものは選択された分光測定法、クロマトグラフィーと化学的な技術を用いて分析された。サンプルは分子重量と極性を基に分画された。ここに有るデータは、分子重量分布、窒素と亜硫酸の含量と分画を通してのそれらの分布、吸光特性と特定の低分子化合物に関してカラメル色素 IV の組成における均一性のための証拠を提供している。このように、カラメル色素 IV は世界中の食品産業より求められている色価の範囲では組成の均一性を現すと結論することができる。
45	カラメル	Fd Chem. Toxic	1992	5 383 387	Development of specifications for caramel colours	Light B. H., Shaw K., Smith C., Mendoza M., Orr J. and Myers D. V.	カラメル色素 4 分類のそれぞれを定義するため規格が開発された。規格はクラスのそれぞれの特徴研究の経過中に生じた多くのデータベースの分析を基礎にしている。簡単な実用な試験のシリーズは規格の適合を確実にするためカラメル色素 IV の分析のために開発された。
46	カラメル	Food Chemistry	1997	58 3 259 267	A liquid chromatographic method for the estimation of Class III caramel added to foods	Coffey, J. S.; Nursten, H. E.; Ames, J. M.; Castle, L.	食品中の III 類のカラメルの定性分析法としてイオンペア HPLC 法を紹介する。
47	カラメル	Food Chemistry	2004	86 3 421 433	Study of coloured components formed in sugar beet processing	Coca, M.; Garcia, T.; González, G.; Peña, M.; Garcia, J. A.	サトウダイコンの加工工程において生成される不純物としての色素について、分析法を含め体系的に述べた。

【参考資料 B】被試験サンプル数一覧表

2007/1/23

天然色素三色会&カラメル工業会

(沈殿(反応)した検体数/被検体数、数字が一つだけのものは検体数(バラツキがあるもの))

No.	料	着色 確認	カラメル I	カラメル III	カラメル IV	カカオ	カキ	コウリヤン	クロー	シアナット	タマネギ	タマリンド	チコリ	ペカンナッツ
1	塩化第二鉄	-	0/1	/	/	2/2	1/1	2/2	1/1	1/1	2/2	2/2	1/1	1/1
2	イソamilアルコ ル(アントシアニ ジ)	クロスサンプル8社 カラメル工業会	5/5 84/90	1 10/22	2 13/46	3/3	1	8	1/1	1/1	4	2/2	/	/
3	塩酸-ホルマリン (タニン)	クロスサンプル8社 カラメル工業会	2/5 15/90	0/1 0/22	0/2 6/46	3/3	1/1	8/8	1/1	1/1	4/4	2/2	/	/
4	バニリン硫酸	-	1/1	/	/	1/1	1/1	2/2	/	1/1	1/1	1/1	9/3lot×3	9/3lot×3
5	塩化亜鉛(pH7)	クロスサンプル6社	5	1	2	3	1	8	1	1	4	2	/	/
6	塩化亜鉛(pH3)	クロスサンプル8社 各社自社色素 カラメル工業会	1/5 -	0/1 -	0/2 -	3/3 15/5lot×3	1 9/3lot×3	5/8 21/7lot×3	1/1 9/3lot×3	1/1 9/3lot×3	4/4 18/6lot×3	2/2 6/2lot×3	/	/
7	Folin-CIOCALTEUS (ポリフェノール)	-	1/1	0/22	1/46	1/1	1/1	2/2	/	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
8	塩酸-Mg (フラボン類)	クロスサンプル7社	5	1	2	3	1	8	1	1	4	2	/	/
9	塩酸-Zn (フラボン類)	クロスサンプル7社	5	1	2	3	1	8	1	1	4	2	/	/
10	塩化アルミニウム (フラボン類)	クロスサンプル7社	2/5	0/1	(1)/2	3/3	1	8	1/1	1/1	4/4	2/2	/	/
11	アンモニア検出法	各社自社色素	0/20	5/6	11/12	7	1	10	1	2	7	2	/	/
12	5-HMF(HPLC法)	各社自社色素	17/17	0/4	10/10	0/5	0/1	0/10	3/4	0/2	0/5	0/2	/	/
13	4-MeI(GC法)	各社自社色素	0/20	6/6	12/12	0/7	0/1	0/9	0/2	/	0/6	0/2	/	/
14	蛍光スペクトル (最大励起波長)	測定機器所有2社	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	/	/

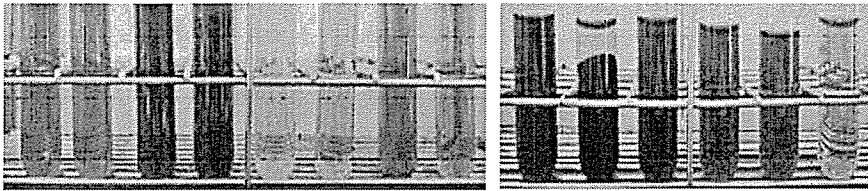
*クロスサンプル*社とあるものについては、同色素サンプルを配付し各社(*社)で検討。

【参考資料C】各社で確認されたデータ一覧表

No.	着色料		判断基準	カラメル			カカオ	カキ	コウリヤン	クロー	シアナット	タマネギ	タマリンド	チコリ	ペカンナッツ	備考
	確認試験法	定義		主成分	I	II										
1	塩化第二鉄	溶液の反応および沈殿の有無	無	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	第1版から確認試験として取り上げられており、カラメルの一部を除き、変色あるいは沈殿が認められた。	
2	イソamilアルコール (アントシアニン)	沈殿の有無	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ホルマリンはハザード物質のため中止	
3	塩酸-ホルマリン (タンニン)	沈殿の有無	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	→チコリ、ペカンナッツはTLCで確認可	
4	バニリン硫酸	比色分析 褐色~赤褐色	弱	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	いずれの区分も沈殿発生し、判定しにくい	
5	塩化亜鉛 (pH7)	沈殿の有無	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	H16年厚生労働科学研究所提出	
6	塩化亜鉛 (pH3)	沈殿の有無	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
7	Folin-Ciocalteu's (ポリフェノール)	比色分析 暗緑色	弱	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
8	塩酸-Mg (フラボン類)	沈殿の有無	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
9	塩酸-Zn (フラボン類)	沈殿の有無	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
10	塩化アルミニウム (フラボン類)	沈殿の有無	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
11	アンモニア検出法	pH試験紙の変色	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ハンドリング誤差多し。	
12	5-HMF	LC分析	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	タマネギ色素に類似のピーク有り。クロー色素に+のもの有り。	
13	4-Mel	GC分析	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
14	蛍光スペクトル (最大励起波長)	最大吸収波長・最大励起波長	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	データ数少なく、機器を所有している所少ない。波長による差別化の可能性有り。	

注) は、既存添加物 自主規格 (第3版) に採用されている確認試験法 * 網掛け部分は、バラつきのないもの

1 FeCl₃反応



① コウリヤン | ② | ③ タマネギ | ④ | ⑤ チコリ | ⑥ | ⑦ シアナット | ⑧ | ⑨ カカオ | ⑩ | ⑪ タマリンド | ⑫ | ⑬ カカオ | ⑭ | ⑭ カラメル I

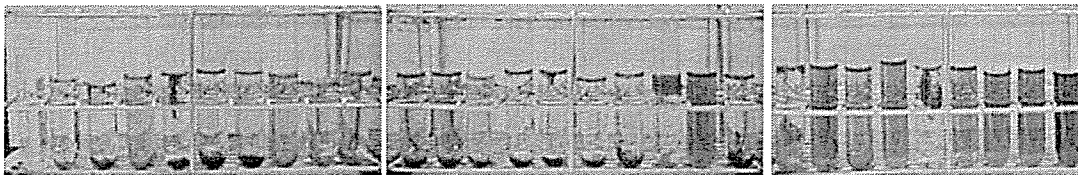
2 塩酸-イソアミルアルコール反応



S 1 2 3 4 5 6 7 8 9 | 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 | 20 21 22 23 24 25 26 27 28

コウリヤン | タマネギ | カカオ | タマリンド | カキ | クーロー | シアナット | カラメル | カラメル III | カラメル IV

3 塩酸-ホルマリン反応



S 1 2 3 4 5 6 7 8 9 | 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 | 20 21 22 23 24 25 26 27 28

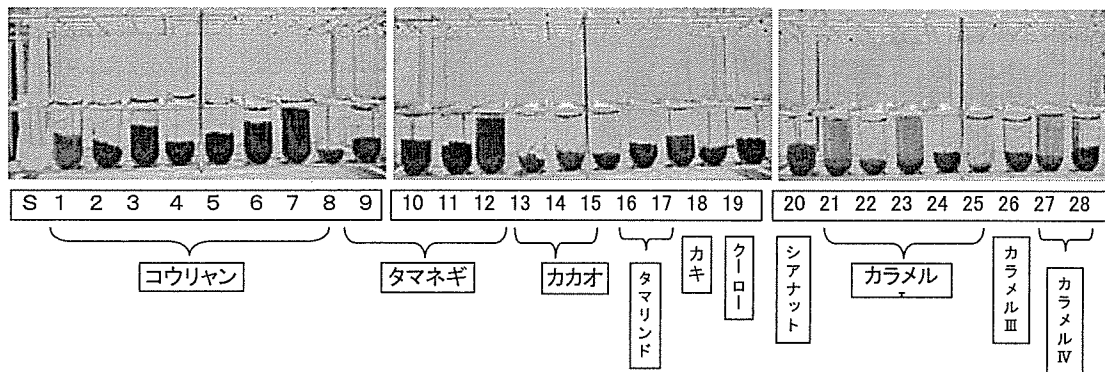
コウリヤン | タマネギ | カカオ | タマリンド | カキ | クーロー | シアナット | カラメル | カラメル III | カラメル IV

4 バニリン硫酸反応

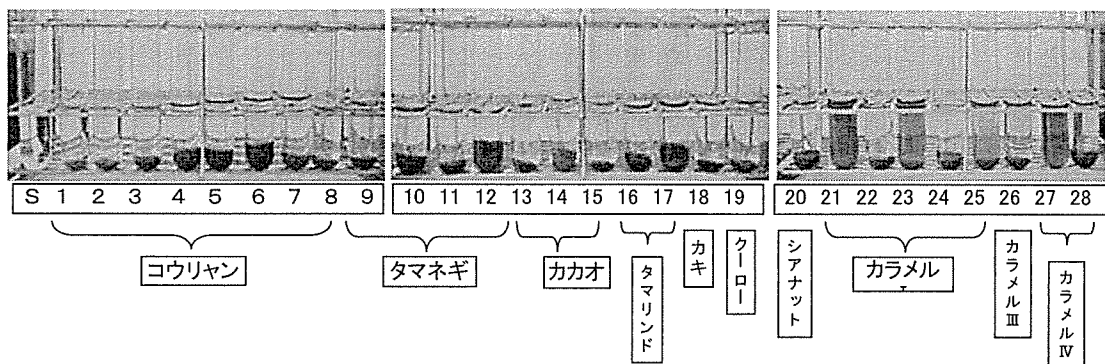


S | ① コウリヤン | ② | ③ タマネギ | ④ | ⑤ チコリ | ⑥ | ⑦ カカオ | ⑧ | ⑨ カキ | ⑩ | ⑪ タマリンド | ⑫ | ⑬ ビーナツ | ⑭ | ⑮ ハーナツ | ⑯ | ⑰ シアナット | ⑱ | ⑲ カラメル I

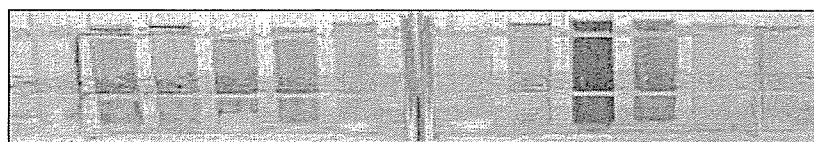
5 塩化亜鉛(pH7)反応



6 塩化亜鉛(pH3)反応

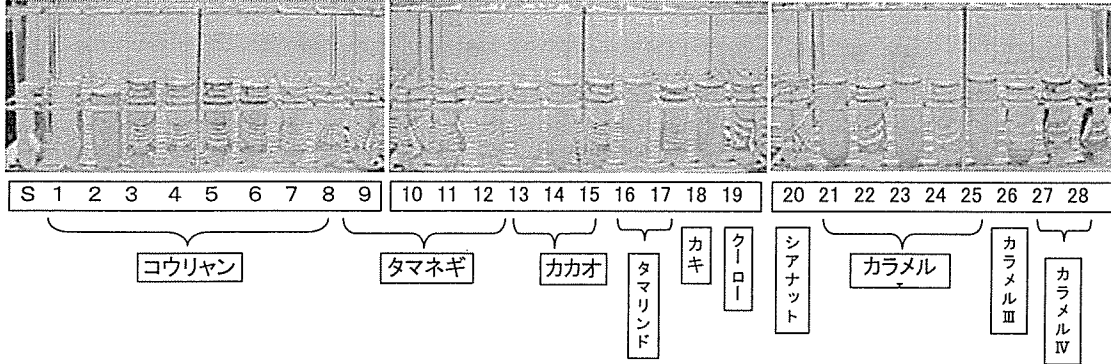


7 Folin-CIICALTEU'S法

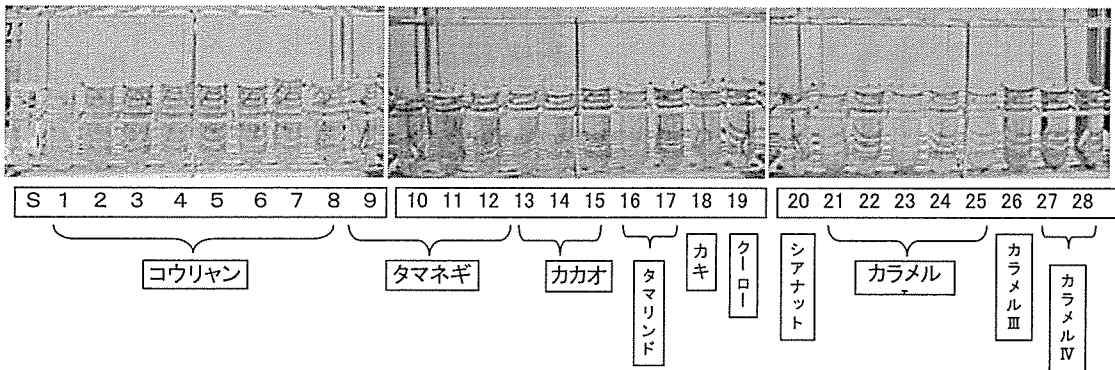


S | ① | ② | ③ | ④ | ⑤ | ⑥ | ⑦ | ⑧ | ⑨ | ⑩ | ⑪
 ブランク | コウリヤン | タマネギ | チコリ | カカオ | カキ | タマリンド | ビーナツ | ハンナツ | シアナット | カラメル I

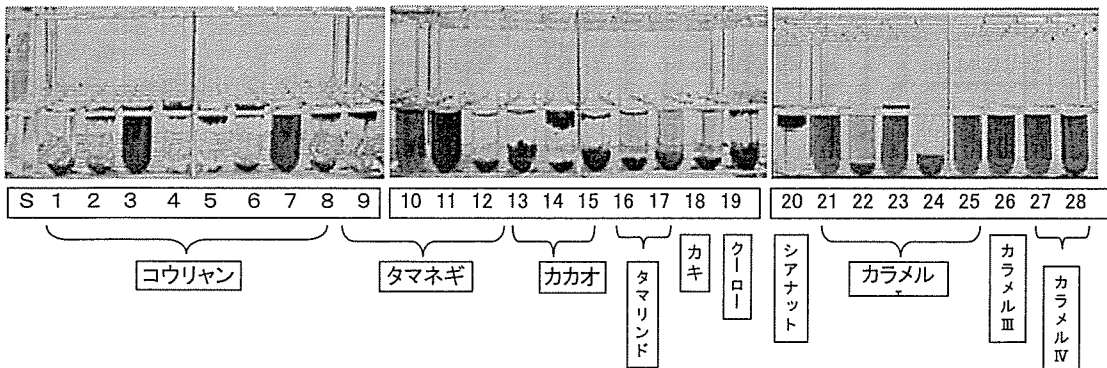
8 塩酸-マグネシウム反応



9 塩酸-亜鉛反応



10 塩化アルミニウム反応



【参考資料 E】 褐色系着色料の市場規模と規格の有無

食品化学新聞(平成19年1月11日)

色素名	第8版公定規格	第三版自主規格	色価	需要量(t/年)
カラメル I	○		記載なし	
カラメル II	○		記載なし	18,000
カラメル III	○		記載なし	
カラメル IV	○		記載なし	
カカオ色素		○	100	45
カキ色素		○	記載なし	記載なし
クローリー色素		○	記載なし	記載なし
コウリヤン色素		○	100	30
シアナット色素		○	100	2
タマネギ色素		○	60	10
タマリンド色素		○	記載なし	1
ペカンナッツ色素		○	記載なし	記載なし
チコリ色素		○	記載なし	記載なし

*「記載なし」ではあるが流通実態は有り

第四部会（糊料・増粘安定剤）既存添加物自主規格案検討結果報告書

日本食品添加物協会 第四部会
研究者所属：三栄源I7・I7・71株式会社
大日本住友製薬株式会社

1. 目的

既存添加物の自主規格の制定にあたり、第3版自主規格策定後、第8版公定書規格の検討過程において、様々な見直しを行っている。ここではその中で、確認試験方法の項目で見直しを行ったウェランガムおよびアグロバクテリウムスクシノグリカンについて、現行規格の見直し案を設定するための調査検討を行い、改定自主規格案を策定し、その妥当性を確認した。試験内容、方法等は第8版公定書の増粘安定剤の規格案に基づき実施した。

2. 検討結果並びに考察

ウェランガムはアルカリゲネスの培養液から得られた、多糖類を主成分とするもので、第3版既存添加物自主規格で設定した規格に対して、見直し規格では、本品の特徴をより明確に区別するため、確認試験の全面的見直しを行った。

アグロバクテリウムスクシノグリカンは、アグロバクテリウムの培養液から得られた、スクシノグリカンを主成分とするもので、平成14年度厚生労働省生活安全総合研究事業、「食品用香料及び天然添加物の化学的安全性確保に関する研究」既存添加物の規格化に関する調査研究、アグロバクテリウムスクシノグリカン、で設定した確認試験法に対して類似の物性を持つキサンタンガムとの区別を明確にするための確認試験を追加した。

3. 規格（案）及び試験結果

別紙のとおり

以上

ウェランガム報告書

平成19年3月

研究者所属：三晶株式会社

大日本住友製薬株式会社・フード&スペシャリティ・プロダクツ部

1. 緒言

本報告は「ウェランガム」について、三晶株式会社で実施した結果をもとにまとめたものである。

2. 目的

自主規格作成のため、確認試験の方法の改訂検討に関する調査研究を行い、この結果を踏まえて規格（案）を作成した。

3. 試験法

方法は食品添加物公定書に準じ、規格内容はウェランガムの第3版自主規格案の確認試験に準じた。確認試験法として以下を検討した。

- (1) 本品1gを水100mlにかき混ぜながら加えるとき、粘稠な溶液となる。
- (2) (1)の溶液1mlをとり、水を加えて10mlとする。この液2mlにアセトン5mlを加え、よく振り混ぜるとき、白色綿状の沈殿を生じる。
- (3) 水9mlに水酸化カルシウム1gを分散させた液に(1)の溶液10mlを加えよくかき混ぜるとき、ゲルを生成することなく粘稠な溶液となる。

4. 結果

試験結果は以下の通りである。

3ロットについて、規格項目について3回繰り返し試験の結果を示した。

確認試験	Lot No.		
	5H7958K	5J8524K	6E1721K
確認試験(1)	適合	適合	適合
確認試験(2)	適合	適合	適合
確認試験(3)	適合	適合	適合

5. 考察

以上の結果から、改定確認試験が規格項目に合致することを確認した。

確認試験(1)については、水の代わりに温湯を用いても可能であり、実務的には水よりも少しママコが発生し易くはなるが試験者の技量が充分であれば全く問題ない。しかし温湯を用いて溶解させるタイプの多糖類が多数に対して、キサンタン、グアーガムなど低温の水で溶解し粘度を発揮する多糖類が限定されることから、試験法として水を用いる方法を採用した。本品はジェランガムと同じ主な鎖を持つがジェランガムと異なり側鎖を持つため、水にも溶解する。ジェランは水には溶解せず、溶解には温湯が必要である。よってジェランガムとの区別もできる。なお水を用いる場合、温湯に比べれば、ママコ発生が無い場合、溶解速度は水の場合は温湯より遅くなる。

確認試験（２）については HPC(ヒドロキシプロピルセルロース)等の溶剤との相溶性が高い多糖類との区分。

確認試験（３）はキサントガムとの区別に有効と考える。

なお改訂前の確認試験方法は以下である。本品の特徴をより明確に区別するため、またより明確な試験結果を得るため、今回の改訂を提案した。

- (1) 本品 0.5 g を水 100g に徐々に加え、激しくかき混ぜた液にアセトン 10ml を加えよく振り混ぜる時、白色綿状の沈殿を生じる。
- (2) 試験液(1)の 10ml に 10%塩化カルシウム試液 0.5 ml を加えてよく振り混ぜさらに 0.2 mol/l 水酸化ナトリウム試液を加えて pH10 としたとき、溶液は 30 分程度で緩くゲル化する。pH を 12 以上にすると溶液に変化は認められない。

6. 結び

自主規格（案）を次に示す。

以上

ウェランガム

Welan Gum

ウェラン多糖類

定義 本品は、アルカリゲネス (Alcaligenes) の培養液から得られた、多糖類を主成分とするものをいう。

性状 本品は、帯褐白～類黄褐色の粉末で、わずかににおいがある。

確認試験 (1) 本品 1 g を水 100ml にかき混ぜながら加えるとき、粘稠な溶液となる。

(2) (1) の溶液 1ml をとり、水を加えて 1ml とする。この液 2ml にアセトン 5ml を加え、よく振り混ぜるとき、白色綿状の沈殿を生じる。

(3) 水 9ml に水酸化カルシウム 1g を分散させた液に (1) の溶液 10ml を加えよくかき混ぜるとき、ゲルを生成することなく粘稠な溶液となる。

純度試験 (1) 重金属 Pb として $30\mu\text{g/g}$ 以下 (1.0g, 第 2 法, 比較液 鉛標準液 3.0ml)

(2) 鉛 Pb として $10\mu\text{g/g}$ 以下 (1.0g, 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)

乾燥減量 15.0%以下 (105℃, 2 時間)

灰分 15.0%以下 (乾燥物換算)

微生物限度 微生物限度試験法により試験を行うとき、本品 1 g につき、細菌数は 10,000 以下である。また大腸菌は認めない。

アグロバクテリウムスクシノグリカン報告書

平成19年3月

研究者所属：大日本住友製薬株式会社・フード&スペシャリティ・プロダクツ部

1. 緒言

本報告は「アグロバクテリウムスクシノグリカン」について、ダニスコ株式会社で実施した結果をもとにまとめたものである。

2. 目的

自主規格作成のため、確認試験の方法の改訂検討に関する調査研究を行い、この結果を踏まえて規格（案）を作成した。

3. 試験法

方法は食品添加物公定書に準じ、規格内容は平成14年度厚生労働省生活安全総合研究事業、「食品用香料及び天然添加物の化学的安全性確保に関する研究」既存添加物の規格化に関する調査研究、アグロバクテリウムスクシノグリカン、に準じた。確認試験法として以下を検討した。

(1) 水 100ml に激しくかく拌しながら本品 0.3g を徐々に加え、80℃まで加熱するとき、粘ちょうな溶液となる。

(2) あらかじめ水 300ml を 80℃まで加熱し、500ml のビーカーの中でかくはん機により高速でかくはんしながら本品 1.5g およびカロブیینガム 1.5g の粉末を混合したものを添加する。80℃を保ちながら混合物を溶解させた後、10 分間かくはんを続ける。かくはん後、室温になるまで 2 時間放置する。その後、4℃まで混合物を冷却するとき、弾力性のあるゲルが形成されない。

4. 結果

試験結果は以下の通りである。

3 ロットについて、規格項目について 3 回繰り返し試験の結果を示した。

確認試験	Lot No.		
	4 4 5 0 2 5 3 4 8 5	4 4 5 0 4 3 3 2 7 5	4 4 5 0 4 3 4 6 2 8
確認試験 (1)	適合	適合	適合
確認試験 (2)	適合	適合	適合

5. 考察

以上の結果から、改定確認試験が規格項目に合致することを確認した。確認試験 (1) については、水溶液濃度 0.3% というような低濃度で粘ちょうな溶液となるよう