

自主規格

研究年月日：2010年4月～2011年2月17日

研究者名：日本食品添加物協会 第二部会

三栄源エフ・エフ・アイ株式会社

日農化学工業株式会社

三菱化学フーズ株式会社

理研ビタミン株式会社

ヤエガキ醗酵技研株式会社

一般食品添加物 着色料「アカダイコン色素」確認試験の自主規格見直しの件

日本食品添加物協会において第4版自主規格の検証作業を実施した。本改定においては規格を再確認し問題点が出た項目について訂正可能か検討し報告する。

目的：アカダイコン色素については、今回の検証により試験溶媒であるクエン酸緩衝液で容易に完全溶解しない原体が確認された。

疑義のあった 第4版自主規格 着色料「アカダイコン色素」確認試験(1)、確認試験(3)並びに色価測定法における操作法について再検討する。

規格の確認：

- 確認試験(1) 本品の表示量から、色価 40 に換算して1g に相当する量を取り、クエン酸緩衝液(pH3.0)100ml を加えて溶かした液は、赤～赤だいたい色を呈する。
- 確認試験(3) 本品をクエン酸緩衝液(pH3.0)に溶かした液は、波長 505 ～ 520nm に極大吸収部がある。
- 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(pH3.0)
 測定波長 波長 505 ～ 520nm の極大吸収部

結果：検証作業にて疑義が出た確認試験及び色価測定法を見直す必要が出た。容易に完全溶解しない原体と完全溶解する原体の違いは、果実の鮮度(生・乾燥)や生産地、品種の違い、ロット差によるものである。

試験の操作法はコチニール色素を参考に、容易に完全溶解しない原体については遠心分離を行いその上澄液を試験溶液とした。検証の結果、試験液を遠心分離し上澄液を試験溶液とすれば確認試験(1)の色調の確認、確認試験(3)の極大吸収の確認、色価測定の全てにおいて問題なく測定することができ、また全ての規格に合致することが確認された。

規格の改定：

- 確認試験(1) 本品の表示量から、色価 40 に換算して1g に相当する量を取り、クエン酸緩衝液(pH3.0)100ml を加えて溶かし、必要があれば遠心分離して得られる上澄液は、赤～赤だいたい色を呈する。
- 確認試験(3) 本品をクエン酸緩衝液(pH3.0)に溶かし、必要があれば遠心分離して得られる上澄液は、波長 505 ～ 520nm に極大吸収部がある。
- 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。必要があれば遠心分離した上澄液を試料試液とする。
 操作条件
 測定溶媒 クエン酸緩衝液(pH3.0)
 測定波長 波長 505 ～ 520nm の極大吸収部

「第9版 食品添加物公定書」新規収載候補品目資料

1. 成分規格名(食品添加物名)

アカダイコン色素

2. 成分規格(案)概要

規格項目	規格概要
定義	本品は、ダイコン(<i>Raphanus sativus</i> Linné)の根から得られた、ペラルゴニンアシルグリコシドを主成分とするものである。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($E_{1cm}^{10\%}$)は40以上で、その表示量の90~110%を含む。
性状	本品は、暗赤~暗紫色の粉末、ペースト又は液体で、わずかに特異なおいがある。
確認試験	
(1) 本品の表示量から、色価40に換算して1gに相当する量を量り、クエン酸緩衝液(pH3.0) 100mLを加えて溶かし、必要があれば遠心分離して得られる上澄液は、帯黄赤~赤色を呈する。	
(2) (1)の液15mL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き、液の色は紫赤色を経て黄褐色に変わる。	
(3) 本品をクエン酸緩衝液(pH3.0)に溶かし、必要があれば遠心分離して得られる上澄液は、波長505~520nmに極大吸収部がある。	
純度試験	
(1)鉛 Pbとして	2.0 μ g/g以下(5.0g, 第1法)
(2)ヒ素 As ₂ O ₃ として	4.0 μ g/g以下(0.50g, 第3法, 装置B)

3. 成分規格(案)

別紙1のとおり

4. 国際規格等(JECFA、FCC、EU、日局、局外規、外原規、薬添規、及び第4版既存添加物自主規格)の有無及び規格設定の根拠

別紙2のとおり

国際規格等: 第4版既存添加物自主規格

5. 試験法検証作業完了項目

検証データ 別紙3

6. 裏付け資料

未添付

7. 特性、溶解性、用途等

未添付

8. 特記事項

なし

以上

別紙 1

アカダイコン色素

一般飲食物添加物

Red Radish Color

定 義 本品は、ダイコン(*Raphanus sativus* Linné)の根から得られた、ペラルゴニジンアシルグリコシドを主成分とするものである。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($E_{1\text{cm}}^{10\%}$)は40以上で、その表示量の90~110%を含む。

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

確認試験 (1) 本品の表示量から、色価40に換算して1gに相当する量を量り、クエン酸緩衝液(pH3.0) 100mLを加えて溶かし、必要があれば遠心分離して得られる上澄液は、帯黄赤~赤色を呈する。

(2) (1)の液15mL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き、液の色は紫赤色を経て黄褐色に変わる。

(3) 本品をクエン酸緩衝液(pH3.0)に溶かし、必要があれば遠心分離して得られる上澄液は、波長505~520nmに極大吸収部がある。

純度試験 (1) 鉛 Pbとして2.0 $\mu\text{g/g}$ 以下(5.0g, 第1法)

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

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。必要があれば遠心分離した上澄液を検液とする。

操作条件

測定溶媒 クエン酸緩衝液(pH3.0)

測定波長 波長 505~520nm の極大吸収部

試薬・試液

なし(第8版食品添加物公定書に既載)

別紙 2

規格対比表及び規格設定根拠

1. 成分規格名：アカダイコン色素

2. 規格対比表

項目	第9版規格(案)	■EU*注	第4版 既存添加物自主規格
名称	アカダイコン色素	参考 E163 Anthocyanins	アカダイコン色素
色価	本品の色価($E_{1cm}^{10\%}$)は40以上で、その表示量の90~110%を含む。	-	本品の色価($E_{1cm}^{10\%}$)は40以上で、その表示量の90~110%を含む。
性状	本品は、暗赤~暗紫色の粉末、ペースト又は液体で、わずかに特異なおいがある。	わずかな独特の匂いがある紫赤色液体、粉またはペースト	本品は、暗赤~暗紫色の粉末、ペースト又は液体で、わずかに特異なおいがある。
確認試験			
酸性	本品の表示量から、色価40に換算して1gに相当する量を量り、クエン酸緩衝液(pH3.0)100mLを加えて溶かし、必要があれば遠心分離して得られる上澄液は、帯黄赤~赤色を呈する。	-	本品の表示量から、色価40に換算して1gに相当する量をとり、クエン酸緩衝液(pH3.0)100mlを加えて溶かした液は、赤~赤だいたい色を呈する。
アルカリ性	(1)の液15mL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き、液の色は紫赤色を経て黄褐色に変わる。	-	(1)の溶液15ml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き、液の色は紫赤~黄褐色に変わる。
極大吸収波長	本品をクエン酸緩衝液(pH3.0)に溶かし、必要があれば遠心分離して得られる上澄液は、波長505~520nmに極大吸収部がある。	-	本品をクエン酸緩衝液(pH3.0)に溶かした液は、波長505~520nmに極大吸収部がある。
純度試験			
重金属 Pbとして	項目削除	40 mg/Kg 以下	40 μ g/g 以下 (0.50g, 第2法, 比較液鉛標準液2.0ml)
鉛 Pbとして	2.0 μ g/g以下 (5.0g, 第1法)	10 mg/Kg 以下	10 μ g/g 以下 (1.0g, 第1法)
ヒ素	As ₂ O ₃ として 4.0 μ g/g 以下 (0.50g, 第3法, 装置B)	Asとして 3 mg/Kg 以下	As ₂ O ₃ として 4.0 μ g/g 以下 (0.50g, 第3法, 装置B)

*注 国際規格には全く同一の規格はありませんが、参考として記載しました。

3. 規格設定の根拠

①定義は、定義は、作成要領に従い、一般飲食物添加物リストの基原・製法・本質に準じて設定した。また、粉末化されたものについては、デキストリン又は乳糖を含むことがあるため定義に入れた。

②色価は、市場調査を実施し「本品の色価 ($E_{1\text{cm}}^{10\%}$) は、40 以上でその表示量の 90~110%を含む。」と決定した。

③性状は、市場流通している原体の性状を調査し決定した。また、作成要領に従いにおいの表現を統一した。

④確認試験

(1)、(2)は、アカダイコン色素の性質を利用し確認試験とした。

(2)の色調変化の表現は「平成 20 年度 既存添加物の成分規格の設定に関する調査研究(日本食品添加物協会)」に基づき設定した。

(3)極大吸収波長においては実態調査を行い設定した。

※一部の原体においてクエン酸緩衝液(pH3.0)に完全溶解しないもの(微量の沈殿不溶物)が見受けられたので、操作方法来に遠心分離を加えた。

⑤純度試験

(1) J E C F A の一般的規格に準じ設定した。

(2) 公定書の一般的な規格に準じ設定した。

⑥色価測定法 一般試験法に基づき設定した。

※一部の原体においてクエン酸緩衝液(pH3.0)に完全溶解しないもの(微量の沈殿不溶物)が見受けられたので、操作方法来に遠心分離を加えた。

以上

別紙 3

アカダイコン色素：食品添加物第 9 版公定書規格裏付けデータ

会社名	ロット	色価	性状	確認試験			純度試験	
				(1)	(2)	(3)	(1)	(2)
M 社 (外部機関)	サンブル X	190	適	適	適	適	適(0.4 μg/g)	適
	サンブル A	467.9	適	適	適(512.0nm)	適(2.0 μg/g 未満)	適(4.0 μg/g 未満)	
N 社 (自社分析)	サンブル B	404.4	適	適	適(512.5nm)	適(2.0 μg/g 未満)	適(4.0 μg/g 未満)	
	サンブル A	811.3	適	適	適(515.0nm)	適(0.4 μg/g 未満)	適(2 μg/g 未満)	
R 社 (自社分析)	サンブル B	713.2	適	適	適(512.5nm)	適(0.4 μg/g 未満)	適(2 μg/g 未満)	
	サンブル C	821.0	適	適	適(515.0nm)	適(0.4 μg/g 未満)	適(2 μg/g 未満)	
S 社 (自社分析)	A	205.8	適	適	適(514nm)	適(2.0 μg/g 以下)	適(0.5 μg/g 以下)	
		208.3	適	適	適(514nm)	—	—	
	B	194.1	適	適	適(515nm)	適(2.0 μg/g 以下)	適(0.5 μg/g 以下)	
C		187.5	適	適	適(514nm)	適(2.0 μg/g 以下)	適(0.5 μg/g 以下)	
	赤大根色素 A	679.4	適	適	適(513.5nm)	適(2.0 μg/g 未満)	適(2 μg/g 未満)	
Y 社 (自社分析、一部外部委託)	赤大根色素 B	146.5	適	適	適(514.0nm)	適(2.0 μg/g 未満)	適(2 μg/g 未満)	

第9版食品添加物公定書

研究年月日：2010年1月～2011年2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・アイ株式会社
 長谷川香料株式会社
 理研ビタミン株式会社
 癸巳化成株式会社

一般食品添加物 着色料「エルダーベリー色素」純度試験の見直しの件

目的：

第9版食品添加物公定書の新規収載に向け、純度試験（3）メタノールの測定法を設定する。

検討方法：

メタノールの測定法を第8版食品添加物公定書「クチナシ青色素」純度試験（4）メタノールの項に沿って設定した。

現行規格の確認：

純度試験（3）メタノール 0.10%以下(色価 20 に換算)

改定規格案：

純度試験（3）メタノール 0.10%以下(色価 20 に換算)

本品の表示量から、色価20に換算して1.00gに相当する量を10mLのメスフラスコに量り、水を加えて溶かし、内標準溶液2mLを正確に加えた後、更に水を加えて10mLとし、試料液とする。グラフアイトカーボンミニカラム(500mg)にエタノール4mL、続いて水10mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに正確に1mLの試料液を注入し、流出液を5mLのメスフラスコにとる。次に、水を注ぎ、流出液の総量が5mLになるまで色素が溶出ししないような速さで流し、得られた流出液を検液とする。別にメタノール0.50gを量り、水を加えて正確に100mLとする。この液10mLを正確に量り、水を加えて正確に100mLとする。更にこの液2mLを正確に量り、内標準溶液2mLを正確に加えた後、水を加えて正確に50mLとし、比較液とする。ただし、2-プロパノール0.50gを量り、水を加えて100mLとし、更にこの液10mLを量り、水を加えて100mLとし、内標準溶液とする。検液及び比較液をそれぞれ2.0 μ Lずつ量り、次の操作条件でガスクロマトグラフィーを行うとき、検液の2-プロパノールのピーク面積に対するメタノールのピーク面積の比は、比較液の2-プロパノールのピーク面積に対するメタノールのピーク面積の比を超えない。

操作条件

検出器 水素炎イオン化検出器

カラム充てん剤 180～250 μ mのガスクロマトグラフィー用エチルビニルベンゼン-ジビニルベンゼン系多孔性樹脂(参考：Waters社製porapak Q)またはスチレン-ジビニルベンゼン系多孔性樹脂(参考：ジーエルサイエンス社製Gaskuropack 55)

カラム管 内径3～4mm、長さ1～2mのガラス管又はステンレス管

カラム温度 120℃付近の一定温度

注入口温度 160～200℃

キャリアーガス 窒素又はヘリウム

流量 メタノールの保持時間が2～4分になるように調整する。

結果：

エルダーベリー色素 13ロットについて規格に適合した。

以上

「第9版 食品添加物公定書」新規収載候補品目資料

1. 成分規格名(食品添加物名)

エルダーベリー色素

2. 成分規格(案)概要

規格項目	規格概要
定義	本品は、エルダーベリー(<i>Sambucus caerulea</i> Rafinesque, <i>Sambucus canadensis</i> Linné, <i>Sambucus nigra</i> Linné)の果実から得られた、シアニジングリコシド及びシアニジンアシルグリコシドを主成分とするものである
色価	本品の色価($E_{1\text{cm}}^{10\%}$)は20以上で、その表示量の90~110%を含む。
性状	本品は、暗赤色の粉末、ペースト又は液体で、わずかに特異なおいがある。
確認試験	
(1) 本品の表示量から、色価20に換算して2gに相当する量を量り、クエン酸緩衝液(pH3.0) 100mLを加えて溶かした液は赤~暗赤色を呈する。	
(2) (1)の溶液15mL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き、液の色は暗青~暗緑色に変わる。その後褐色に変わる場合がある。	
(3) 本品をクエン酸緩衝液(pH3.0)に加えて溶かした液は、波長 510~530nm に極大吸収部がある。	
純度試験	
(1)鉛 Pb として	2.0 $\mu\text{g/g}$ 以下(5.0g, 第1法)
(2)ヒ素 As ₂ O ₃ として	4.0 $\mu\text{g/g}$ 以下(0.50g, 第3法, 装置B)
(3)メタノール	0.10%以下(色価 20 に換算)

3. 成分規格(案)

別紙1のとおり

4. 国際規格等(JECFA、FCC、日局、局外規、外原規、薬添規、及び第4版既存添加物自主規格)の有無及び規格設定の根拠

別紙2のとおり

国際規格等:第4版既存添加物自主規格

5. 試験法検証作業完了項目

検証データ 別紙 3

6. 裏付け資料

未添付

7. 特性、溶解性、用途等

未添付

8. 特記事項

なし

以上

エルダーベリー色素

一般飲食物添加物

Elderberry Color

定 義 本品は、エルダーベリー(*Sambucus caerulea* Rafinesque, *Sambucus canadensis* Linné, *Sambucus nigra* Linné)の果実から得られた、シアニングリコシド及びシアニジンアシルグリコシドを主成分とするものである。

色 価 本品の色価($E_{1cm}^{10\%}$)は20以上で、その表示量の90~110%を含む。

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

確認試験 (1) 本品の表示量から、色価20に換算して2gに相当する量を量り、クエン酸緩衝液(pH3.0) 100mLを加えて溶かした液は赤~暗赤色を呈する。

(2) (1)の溶液15mL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き、液の色は暗青~暗緑色に変わる。その後褐色に変わる場合がある。

(3) 本品をクエン酸緩衝液(pH3.0)に加えて溶かした液は、波長510~530nmに極大吸収部がある。

純度試験 (1) 鉛 Pbとして2.0 μ g/g以下(5.0g, 第1法)

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

(3) メタノール 0.10%以下(色価20に換算)

本品の表示量から、色価20に換算して1.00gに相当する量を10mLのメスフラスコに入れ、水を加えて溶かす。内標準液2mLを正確に量り、メスフラスコに入れ、水を加えて10mLとし、試料液とする。グラファイトカーボンミニカラム(500mg)にエタノール4mL、続いて水10mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに正確に1mLの試料液を注入し、流出液を5mLのメスフラスコに入れる。次に、カラムに水を注ぎ、流出液の総量が5mLになるまで色素が溶出ししないような速さで流し、得られた流出液を検液とする。別にメタノール0.50gを量り、水を加えて正確に100mLとする。この液10mLを正確に量り、水を加えて正確に100mLとする。更にこの液2mLを正確に量り、内標準液2mLを正確に加えた後、水を加えて正確に50mLとし、比較液とする。ただし、2-プロパノール0.50gを量り、水を加えて100mLとし、更にこの液10mLを量り、水を加えて100mLとし、内標準液とする。検液及び比較液をそれぞれ2.0 μ Lずつ量り、次の操作条件でガスクロマトグラフィーを行うとき、検液の2-プロパノールのピーク面積に対するメタノールのピーク面積の比は、比較液の2-プロパノールのピーク面積に対するメタノールのピーク面積の比を超えない。

操作条件

検出器 水素炎イオン化検出器

カラム充てん剤 180~250 μ mのガスクロマトグラフィー用エチルビニルベンゼン-ジビニルベンゼン系多孔性樹脂(参考: Waters社製porapak Q)またはスチレン-ジビニルベンゼン系多孔性樹脂(参考: ジーエルサイエンス社製Gaskuropack 55)

カラム管 内径3~4mm, 長さ1~2mのガラス管又はステンレス管

カラム温度 120°C付近の一定温度

注入口温度 160~200°C

キャリアーガス 窒素又はヘリウム

流量 メタノールの保持時間が2～4分になるように調整する。

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(pH3.0)

測定波長 波長 510～530nm の極大吸収部

試薬・試液

なし(第8版食品添加物公定書に既載)

別紙 2

規格対比表及び規格設定根拠

1.成分規格名：エルダーベリー色素

2.規格対比表

項目	第 9 版規格（案）	■EU*注	第 4 版 既存添加物自主規格
名称	エルダーベリー色素	参考 E163 Anthocyanins	エルダーベリー色素
色価	本品の色価($E_{1cm}^{10\%}$)は20以上で、その表示量の90～110%を含む。	-	本品の色価($E_{1cm}^{10\%}$)は40以上で、その表示量の90～110%を含む。
性状	本品は、暗赤色の粉末、ペースト又は液体で、わずかに特異なおいがある。	わずかな独特の匂いがある紫赤色液体、粉またはペースト	本品は、暗赤色の粉末、ペースト又は液体で、わずかに特異なおいがある。
確認試験			
酸性	本品の表示量から、色価 20 に換算して 2g に相当する量を取り、クエン酸緩衝液(pH3.0) 100mL を加えて溶かした液は赤～暗赤色を呈する。	-	本品の表示量から、色価 40 に換算して 1g に相当する量を取り、クエン酸緩衝液(pH3.0) 100ml を加えて溶かした液は赤～暗赤色を呈する。
アルカリ性	(1)の溶液15mL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き、液の色は暗青～暗緑色に変わる。その後褐色に変わる場合がある。	-	(1)の溶液15ml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き、液の色は暗青～暗緑色に変わる。
極大吸収波長	本品をクエン酸緩衝液(pH3.0)に加えて溶かした液は、波長 510～530nm に極大吸収部がある。	-	本品をクエン酸緩衝液(pH3.0)に加えて溶かした液は、波長 510～530nm に極大吸収部がある。
純度試験			
重金属 Pb として	項目削除	40 mg/kg 以下	40 μ g/g 以下 (0.50g, 第2法, 比較液鉛標準液2.0ml)
鉛 Pb として	2.0 μ g/g以下 (5.0g, 第1法)	10 mg/kg 以下	10 μ g/g 以下 (1.0g, 第1法)
ヒ素 As ₂ O ₃ として	4.0 μ g/g以下 (0.50g, 第3法, 装置B)	3 mg/kg 以下	4.0 μ g/g 以下 (0.50g, 第3法, 装置B)
メタノール	0.10%以下(色価 20 に換算)	-	0.10%以下(色価40に換算)

*注 国際規格には全く同一の規格はありませんが、参考として記載しました

3.規格設定の根拠

①定義は、作成要領に従い、一般飲食物添加物リストの基原・製法・本質に準じて設定した。

②色価は、市場調査を実施し「本品の色価 ($E_{1cm}^{10\%}$) は、20 以上でその表示量の 90～110%を含む。」と決定した。色価については、平成 20 年度 既存添加物の成分規格の設定に関する調査研究(日本食品添加物協会)(資料 4)にて市場調査の結果から見直しを実施した。

③性状は、市場流通している原体の性状を調査し決定した。また、作成要領に従いにおいの表現を統一した。

④確認試験

(1)、(2)は、エルダーベリー色素の性質を利用し確認試験とした。

(2)について、平成 20 年度 既存添加物の成分規格の設定に関する調査研究(日本食品添加物協会)にて見直しを実施した

(3)極大吸収波長においては実態調査を行い波長範囲で設定した。

⑤純度試験

(1) J E C F A の一般的規格に準じ設定した。

(2) 公定書の一般的な規格に準じ設定した。

(3) 公定書の一般的な規格に準じ設定した。測定方法はクチナシ青色素の項に準じ、国衛研による規格検証試験の結果に基づき GC カラムの種類を設定した。

⑥色価測定法

一般試験法に基づき設定した。国衛研による規格検証試験で課題となった測定値のばらつきについては、試料が冷凍保存品であったことから、解凍の際に澱などが発生した可能性があり、加温攪拌によって均一化されたと考えられる。しかし、実際の流通は冷凍ではなく冷蔵で行われることが一般的であり、試料の均一化については特段記載しないこととした。

以上

別紙 3

エルダーベリー色素：食品添加物第 9 版公定書規格裏付けデータ

会社名	ロット	色価	性状	確認試験			純度試験		
				(1)	(2)	(3)	(1)鉛	(2)ヒ素	(3)メタノール
R 社 (自社分析)	サンプル A	62.2	適	適	適	適 (515.0nm)	適 (1.0 μg/g 未満)	適 (2 μg/g 未満)	適
	サンプル B	65.4	適	適	適 (514.0nm)	適 (1.0 μg/g 未満)	適 (2 μg/g 未満)	適	
	サンプル C	62.4	適	適	適 (514.5nm)	適 (1.0 μg/g 未満)	適 (2 μg/g 未満)	適	
H 社 エルダーベリー色素 A (自社分析)	LOT.A	46.7	適	適	適 (522nm)	適 (1.0 μg/g 未満)	適 (1.0 μg/g 未満)	適 (11.5ppm)	
	LOT.B	53.7	適	適	適 (522nm)	適 (1.0 μg/g 未満)	適 (1.0 μg/g 未満)	適 (35.7ppm)	
	LOT.C	54.1	適	適	適 (522nm)	適 (1.0 μg/g 未満)	適 (1.0 μg/g 未満)	適 (9.5ppm)	
H 社 エルダーベリー色素 B (自社分析)	LOT.A	134.9	適	適	適 (515nm)	適 (1.0 μg/g 未満)	適 (1.0 μg/g 未満)	適 (44.3ppm)	
	LOT.B	135.2	適	適	適 (515nm)	適 (1.0 μg/g 未満)	適 (1.0 μg/g 未満)	適 (48.1ppm)	
	LOT.C	130.1	適	適	適 (515nm)	適 (1.0 μg/g 未満)	適 (1.0 μg/g 未満)	適 (38.8ppm)	
S 社 エルダーベリー色素 (自社分析)	A	188.9	適	適	適 (516nm)	適 (2.0 μg/g 以下)	適 (0.5 μg/g 以下)	適 (0.01% 以下)	
		191.6	適	適	適 (517nm)	—	—	—	
		—	適	適	適 (517nm)	—	—	—	
B		184.3	適	適	適 (518nm)	適 (2.0 μg/g 以下)	適 (0.5 μg/g 以下)	適 (0.01% 以下)	
		187.1	適	適	適 (518nm)	—	—	—	
		—	適	適	適 (519nm)	—	—	—	
C		252.0	適	適	適 (514nm)	適 (2.0 μg/g 以下)	適 (0.5 μg/g 以下)	適 (0.01% 以下)	
		253.2	適	適	適 (514nm)	—	—	—	
		—	適	適	適 (514nm)	—	—	—	
K 社 エルダーベリー色素	100208	267.4	適	適	適 (521nm)	適 (2 μg/g 未満)	適 (4 μg/g 未満)	適 (0.01% 以下)	
	-01	231.9	適	適	適 (521nm)	適 (2 μg/g 未満)	適 (4 μg/g 未満)	適 (0.01% 以下)	
		269.5	適	適	適 (521nm)	適 (2 μg/g 未満)	適 (4 μg/g 未満)	適 (0.01% 以下)	

自主規格

研究年月日：2010年4月～2011年2月14日
 研究者名：日本食品添加物協会 第二部会
 日農化学工業株式会社
 保土谷化学工業株式会社 アイゼン事業部
 癸巳化成株式会社

一般飲食品添加物 着色料「シソ色素」確認試験の自主規格見直しの件

目的：日本食品添加物協会において第四版自主規格の検証作業を実施した。その結果、シソ色素については、今回の検証により試験溶媒であるクエン酸緩衝液で容易に完全溶解しない原体が確認された。

従って、第四版自主規格 着色料「シソ色素」確認試験（1）、確認試験（3）並びに色価測定法における操作法について再検討し、規格の見直しを提案・報告する。

規格の確認及び改訂規格の確認：

- 確認試験（1） 本品の表示量から、色価 15 に換算して 2g に相当する量を取り、クエン酸緩衝液(pH3.0)100ml を加えて溶かした液は、赤～赤紫色を呈する。
- 確認試験（3） 本品をクエン酸緩衝液(pH3.0)に溶かした液は、波長 510 ～ 530nm に極大吸収部がある。
- 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(pH3.0)
 測定波長 波長 510～ 530nm の極大吸収部

結果：

実態調査の結果を元に行った今回の検証により、原体によっては上記方法では完全に溶解しないものがあることを確認した。
 全ての原体を一様に溶解する方法を検討した結果、一度 80vol%エタノールに溶解した後にクエン酸緩衝液を添加し、更に必要であれば遠心分離を行う方法が有効であることを確認した。
 検証した結果、本方法を用いることで、確認試験(1)(3)及び色価測定の全てにおいて問題なく測定することができ、また全ての規格に適合することを確認した。

規格の改定：

- 確認試験（1） 本品の表示量から、色価 15 に換算して 2g に相当する量を取り、80vol%エタノール 10mL、次いでクエン酸緩衝液(pH3.0)10ml を加えて溶かし、クエン酸緩衝液(pH3.0)80mL を加えて、必要があれば遠心分離して得られる上澄液は、赤～赤紫色を呈する。
- 確認試験（3） 本品の表示量から、色価 15 に換算して 0.4g に相当する量を取り、80vol%エタノール 5mL、次いでクエン酸緩衝液(pH3.0)5ml を加えて溶かし、クエン酸緩衝液(pH3.0)90mL を加えて、必要があれば遠心分離して得られる上澄液は、波長 510 ～ 530nm に極大吸収部がある。
- 色価測定法 本品の表示量から、色価 15 に換算して約 1g に相当する量を精密に量り、80vol%エタノール 5mL、次いでクエン酸緩衝液(pH3.0)5ml を加えて溶かし、クエン酸緩衝液(pH3.0)を加えて正確に 50mL とし、必要があれば遠心分離をする。その 10mL を正確に量り、クエン酸緩衝液(pH3.0)を加えて正確に 50mL としたものを検液とする。クエン酸緩衝液(pH3.0)を対照として、510～530nm の極大吸収部における、液層の長さ 1cm での吸光度 A を測定し、次式により色価を求める。

$$\text{色価} = \frac{A}{\text{試料の採取量(g)}} \times 25$$

以上

「第9版 食品添加物公定書」新規収載候補品目資料

1. 成分規格名(食品添加物名)

シソ色素

2. 成分規格(案)概要

規格項目	規格概要
定義	本品は、シソ(<i>Perilla frutescens</i> Britton)の葉から得られた、シソニン及びマロニルシソニンを主成分とするものである。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($E_{1cm}^{10\%}$)は15以上で、その表示量の90~110%を含む。
性状	本品は、暗赤色の粉末、ペースト又は液体で、わずかに特異なおいがある。
確認試験	
(1) 本品の表示量から、色価15に換算して2gに相当する量を量り、80vol%エタノール10mL、次いでクエン酸緩衝液(pH3.0) 10 mLを加えて溶かした後、クエン酸緩衝液(pH3.0) 80mLを加えて、必要があれば遠心分離して得られる上澄液は、赤~赤紫色を呈する。	
(2) (1)の液15mL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き、液の色は緑色を経て黄褐色に変わる。	
(3) 本品の表示量から色価15に換算して0.4gに相当する量を量り、80vol%エタノール5mL、次いでクエン酸緩衝液(pH3.0) 5mLを加えて溶かした後、クエン酸緩衝液(pH3.0) 90mLを加えて、必要があれば遠心分離して得られる上澄液は、波長510~530 nmに極大吸収部がある。	
純度試験	
(1) 鉛 Pbとして	2.0 μ g/g以下(5.0g, 第1法)
(2) ヒ素 As ₂ O ₃ として	4.0 μ g/g以下(0.50g, 第3法, 装置B)

3. 成分規格(案)

別紙1のとおり

4. 国際規格等(JECFA、FCC、EU、日局、局外規、外原規、薬添規、及び第4版既存添加物自主規格)の有無及び規格設定の根拠

別紙2のとおり

国際規格等:第4版既存添加物自主規格

5. 試験法検証作業完了項目

検証データ 別紙3

6. 裏付け資料

未添付

7. 特性、溶解性、用途等

未添付

8. 特記事項

なし

以上

別紙 1

シソ色素

一般飲食物添加物

Perilla Color

定義 本品は、シソ(*Perilla frutescens* Britton)の葉から得られた、シソニン及びマロニルシソニンを主成分とするものである。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($E_{1\text{cm}}^{10\%}$)は15以上で、その表示量の90~110%を含む。

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

確認試験 (1) 本品の表示量から、色価15に換算して2gに相当する量を量り、80vol%エタノール10mL、次いでクエン酸緩衝液(pH3.0) 10 mLを加えて溶かした後、クエン酸緩衝液(pH3.0) 80mLを加えて、必要があれば遠心分離して得られる上澄液は、赤~赤紫色を呈する。

(2) (1)の液15mL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き、液の色は緑色を経て黄褐色に変わる。

(3) 本品の表示量から色価15に換算して0.4gに相当する量を量り、80vol%エタノール5mL、次いでクエン酸緩衝液(pH3.0) 5mLを加えて溶かした後、クエン酸緩衝液(pH3.0) 90mLを加えて、必要があれば遠心分離して得られる上澄液は、波長510~530 nmに極大吸収部がある。

純度試験 (1) 鉛 Pbとして2.0 $\mu\text{g/g}$ 以下(5.0g, 第1法)

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

色価測定法 本品の表示量から、色価15に換算して約1gに相当する量を精密に量り、80vol%エタノール5mL、次いでクエン酸緩衝液(pH3.0) 5mLを加えて溶かした後、クエン酸緩衝液(pH3.0)を加えて正確に50mLとし、必要があれば遠心分離を行う。この液10mLを正確に量り、クエン酸緩衝液(pH3.0)を加えて正確に50mLとし、検液とする。クエン酸緩衝液(pH3.0)を対照とし、液層の長さ1cmで波長510~530nmの極大吸収部における吸光度Aを測定し、次式により色価を求める。

$$\text{色価} = \frac{A}{\text{試料の採取量(g)}} \times 25$$

試薬・試液

なし(第8版食品添加物公定書に既載)

別紙 2

規格対比表及び規格設定根拠

1.成分規格名：シソ色素

2.規格対比表

項目	第 9 版規格（案）	■EU*注1	第 4 版 既存添加物自主規格
名称	シソ色素	参考 E163 Anthocyanins	シソ色素
色価	本品の色価($E_{1cm}^{10\%}$)は15以上で、その表示量の90～110%を含む。		本品の色価($E_{1cm}^{10\%}$)は15 以上で、その表示量の90 ～ 110%を含む。
性状	本品は、暗赤色の粉末、ペースト又は液体で、わずかに特異なおいがある。	わずかな独特のにおいがある紫赤色液体、粉またはペースト	本品は、暗赤色の粉末、ペースト又は液体で、わずかに特異なおいがある。
確認試験			
酸性	本品の表示量から、色価 15 に換算して 2g に相当する量を量り、80vol%エタノール 10mL、次いでクエン酸緩衝液(pH3.0) 10 mLを加えて溶かした後、クエン酸緩衝液(pH3.0) 80mLを加えて、必要があれば遠心分離して得られる上澄液は、赤～赤紫色を呈する。		本品の表示量から、色価 15 に換算して2g に相当する量を取り、クエン酸緩衝液(pH3.0)100ml を加えて溶かした液は、赤～赤紫色を呈する。
アルカリ性	(1)の液15mL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き、液の色は緑色を経て黄褐色に変わる。		(1) の溶液15ml 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き、液の色は緑～黄褐色に変わる。
極大吸収波長	本品の表示量から色価15に換算して0.4gに相当する量を量り、80vol%エタノール5mL、次いでクエン酸緩衝液(pH3.0) 5mLを加えて溶かした後、クエン酸緩衝液(pH3.0) 90mLを加えて、必要があれば遠心分離して得られる上澄液は、波長510～530 nmに極大吸収部がある。		本品をクエン酸緩衝液(pH3.0)に加えて溶かした液は、波長510 ～ 530nm に極大吸収部がある。
純度試験			
鉛 Pbとして	2.0 μ g/g以下 (5.0g, 第1法)	10mg/kg 以下	10 μ g/g 以下 (1.0g, 第1法)
ヒ素	As ₂ O ₃ として 4.0 μ g/g以下 (0.50g, 第3法, 装置B)	Asとして 3mg/kg 以下	As ₂ O ₃ として 4.0 μ g/g 以下 (0.50g, 第3法, 装置B)

*注1 国際規格には全く同一の規格はありませんが、参考として記載しました

3.規格設定の根拠

①定義は、作成要領に従い、一般飲食物リストの基原・製法・本質に準じて設定した。また、粉末化されたものについては、デキストリン又は乳糖を含むことがあるため定義に入れた。

②色価は、市場調査を実施し「本品の色価 ($E_{1cm}^{10\%}$) は、15以上でその表示量の90~110%を含む。」と決定した。

③性状は、市場流通している原体の性状を調査し決定した。また作成要領に従いにおいの表現を統一した。

④確認試験

(1)、(2)は、シソ色素の性質を利用し確認試験とした。

(3)極大吸収波長においては実態調査を行い、一般試験法に基づき設定した。

※シソ色素原体は、溶解性が悪い特性があり、そのためクエン酸緩衝液 (pH 3.0) だけでは完全に溶解しにくいものがあるため、操作方法に80 vol%エタノールを使用し溶解性を向上させた。さらに必要があれば遠心分離を行うことを加えた。

⑤純度試験

(1) J E C F Aの一般的な規格に準じ設定した。

(2) 公定書の一般的な規格に準じ設定した。

⑥色価測定法 一般試験法に基づき設定した。

※シソ色素原体は、溶解性が悪い特性があり、そのためクエン酸緩衝液 (pH 3.0) だけでは完全に溶解しにくいものがあるため、操作方法に80 vol%エタノールを使用し溶解性を向上させた。さらに必要があれば遠心分離を行うことを加えた。

以上

別紙 3

シソ色素：食品添加物第 9 版公定書規格裏付けデータ

会社名	ロット	色価	性状	確認試験			純度試験	
				(1)	(2)	(3)	(1)鉛	(2)ヒ素
H 社	サンプル A	55.1	—	適(赤色)	適 (緑色を経て黄褐色)	適(522.0nm)	—	—
		54.9	—	適(赤色)	適 (緑色を経て黄褐色)	適(522.0nm)	—	—
		54.8	—	適(赤色)	適 (緑色を経て黄褐色)	適(522.0nm)	—	—
	サンプル B	58.4	—	適(赤色)	適 (緑色を経て黄褐色)	適(522.0nm)	—	—
		58.0	—	適(赤色)	適 (緑色を経て黄褐色)	適(522.0nm)	—	—
		58.2	—	適(赤色)	適 (緑色を経て黄褐色)	適(522.0nm)	—	—
	サンプル C	57.8	—	適(赤色)	適 (緑色を経て黄褐色)	適(522.0nm)	—	—
		57.7	—	適(赤色)	適 (緑色を経て黄褐色)	適(522.0nm)	—	—
		57.9	—	適(赤色)	適 (緑色を経て黄褐色)	適(522.0nm)	—	—
N 社	サンプル A	187.5	適	適(赤色)	適 (緑色を経て黄褐色)	適(520.0nm)	適 (2.0 μg/g 未満)	適 (4.0 μg/g 未満)
		187.2	適	適(赤色)	適 (緑色を経て黄褐色)	適(520.0nm)	適 (2.0 μg/g 未満)	適 (4.0 μg/g 未満)
		188.0	適	適(赤色)	適 (緑色を経て黄褐色)	適(520.0nm)	適 (2.0 μg/g 未満)	適 (4.0 μg/g 未満)
	サンプル B	205.2	適	適(赤色)	適 (緑色を経て黄褐色)	適(520.5nm)	適 (2.0 μg/g 未満)	適 (4.0 μg/g 未満)
		205.5	適	適(赤色)	適 (緑色を経て黄褐色)	適(520.5nm)	適 (2.0 μg/g 未満)	適 (4.0 μg/g 未満)
		204.9	適	適(赤色)	適 (緑色を経て黄褐色)	適(520.5nm)	適 (2.0 μg/g 未満)	適 (4.0 μg/g 未満)
	サンプル C	204.3	—	適(赤色)	適 (緑色を経て黄褐色)	適(520.0nm)		
		204.3	—	適(赤色)	適 (緑色を経て黄褐色)	適(520.0nm)		
		204.0	—	適(赤色)	適 (緑色を経て黄褐色)	適(520.0nm)		
K 社	サンプル C	—	適	—	—	—	適 (2.0 μg/g 以下)	適 (4.0 μg/g 以下)
		—	適	—	—	—	適 (2.0 μg/g 以下)	適 (4.0 μg/g 以下)
		—	適	—	—	—	適 (2.0 μg/g 以下)	適 (4.0 μg/g 以下)

自主規格

研究年月日：2009年2月～2011年2月13日

研究者名：日本食品添加物協会 第二部会

三栄源エフ・エフ・アイ株式会社

一般飲食品添加物 着色料「ブドウ果汁色素」確認試験(2)改訂の件

目的：第9版食品添加物公定書への新規収載にあたり、第四版自主規格 着色料「ブドウ果汁色素」確認試験(2)における色調の表現について再検討する。

日本食品添加物協会において第四版自主規格の検証作業を実施した。本改定においては規格を再確認し問題点が出た項目について訂正可能か検討し報告する。

検討方法：

※確認試験(2)

(1)の溶液15mL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き、液の色は暗緑色に変わる。

規格の確認および改定規格の確認： 添付資料 A

結果：今回再度検証により確認試験(2)を確認したところ、液の色は赤だいたい～暗赤色から一瞬で暗緑色に変化した。時間経過に関する文言を追加することにより、他のアントシアニン系色素との差を明確にすることができるため、色調についての文言は、「暗緑色に変わる」よりも、「直ちに暗緑色に変わる」が適当と思われる。

規格の改定：

改正案

(1)の溶液15mL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き、液の色は直ちに暗緑色に変わる。

以上