食品中のタール色素定性試験の簡易化について

(昭和 44 年 10 月 1 日受理)

能 勢 憲 英*

A Simple Method for the Separation and Identification of Coal-Tar Dyes in Foods

Norihide NOSE

(Saitama Institute of Public Health: 1-124, Kishiki-cho, Omiya, Saitama-ken)

A rapid and simple method was devised for the separation and identification of coal-tar dyes in foods by means of partition column chromatography. Outline of the experiments carried out is as follows.

- (1) About 1g of the sample was mixed with 4g of silica gel and required amount of anhydrous sodium sulfate.
- (2) The mixture was packed in a glass column of 1.4 cm in diameter (stoppered with cotton to the bottom of the column), above the adsorbent (alumina: synthetic zeolite 4:1) of a 10 cm layer (see Fig. 1).
- (3) The column thus prepared was subjected to partition chromatography by the descending method using the mixture of acetone, isoamyl alcohol, water and methyl cellosolve (6:5:5:2) as a solvent.

(Received October 1, 1969)

まえがき

食品中のタール色素の定性試験には抽出法として水とアルコールの混液、石油エーテル、あるいは他の適当な溶媒を用いて色素を抽出する方法、脱脂毛糸による染色法あるいはイオン交換体を利用するなどの諸方法があり、確認法としては抽出色素についてロ紙および薄層クロマトグラフィーあるいは吸光度測定により確認が行なわれている。

多くの検体を、しかも短期間に処理しなければならない場合、食品の前処理の簡易がのぞまれるところである。

著者はさきに食品中のフリルフラマイドを上昇法によるカラムクロマトグラフィーによって分離¹⁾したが、その応用として食品中のタール色素の分離をこころみた。

すなわち、試料とシリカゲルを混ぜあわせこれを直接

カラムクロマトグラフィーを行なうことにより色素の概略を知る方法である。

吸着剤としてアルミナ・合成ゼオライトの混合物を用い、この上に試料とシリカゲルを混ぜたものをのせ、これを乾式カラムクロマトグラフィー下降法により展開する操作によって色素の溶出および分離を同時に行なう方法である。

実験方法

試 薬

1. 活性アルミナ (クロマトグラフィー吸着用、和光純薬製)
2. 合成ゼオライト (F-9 鉄興社製)
3. シリカゲル (ワコーゲル C-200、和光純薬製)
4. 無水硫酸ナトリウム
5. アセトン
6. イソアミルアルコール

* 埼玉県衛生研究所: 埼玉県大宮市吉敷町 1-124

7. メチルセロソルブ

8. 海砂

吸着剤

活性アルミナ：合成ゼオライト（4：1）の混合物

展開溶媒

アセトン・イソアミルアルコール・水・メチルセロソルブ（6：5：5：2）

1. 試料の調製

試料約 1g, シリカゲル 4g, および無水硫酸ナトリウム適量を乳鉢に取り, これをよくすりつぶし混合する. さらにその後展開時間を早めるため海砂 1g を混合する.

2. カラムの調製

Fig. 1 のごとく内径約 1.4 cm のガラス管の底部に脱脂綿でセンをして, 活性アルミナ・合成ゼオライト (4:1) の混合物を吸着層として 10 cm となるように (約 14 g) 均一に充てんする.

さらにこの上に 1. で調製した混合試料を加える.

3. 展開操作

前記において調製したカラムの上部よりアセトン・イソアミルアルコール・水・メチルセロソルブ (6:5:5:2) の展開剤を流下させる.

展開剤の先端がカラムの最下端にきたとき展開を終了

Fig. 1. Column for the chromatography

Fig. 2. Chromatogram of dyes

とする。

実験結果および考察

食用タール色素およびここ数年来使用が禁止された色素を対象として食品を用いず色素のみ展開を行なった結果は Fig. 2 に示すとおりである。

この結果 A, B, C, D および展開したときの最先端にくる E の5つのグループに色素を大別することができた。

つぎに試料中に含まれる油脂, タンパク質, 糖質, 水分などの影響をしらべるため大別した5つのグループより数種の色素をえらび, それぞれの試料にこの色素を添加して展開を行なったところマーガリン(水分 5%), ビスケット(水分 10%)はそのまま, ソーセージ(水分 55%), ジャム(水分 55%)は無水硫酸ナトリウム 0.1 g 添加, プリン(水分 80%)は無水硫酸ナトリウム 0.4 g をそれぞれ添加することにより, ほぼ Fig. 2 と同様な分離をすることができた。

タール色素中の附随色素などにより多くの場合上部より約 6.5 cm の位置 (C グループのすぐ下) に黄色の吸着帯が現われる。2, 3 の天然色素 (ビキシン, クルクミンなど) もこの位置にくる。

展開中カラム内がアルカリ性になるためギネアグリーン B, ファストグリーン FCF は徐々に脱色されるが, このような現象がみられたらこれらの色素の存在を予知することができる。

以上により油脂, タンパク質, 糖質などの影響はほとんどなく, 最も大きな原因となるのは水分であると考えられる。この水分の影響も無水硫酸ナトリウムの適量を加えることにより妨害を防ぐことができた。

すなわち, 試料の水分が 50% 程度のものは 0.1 g, 80% 程度のものは 0.4 g の無水硫酸ナトリウムをそれぞれ添加することにより Fig. 2 に示すような移動位置に

することができた。

つぎに吸着剤の混合については, 吸着剤としてアルミナのみを使用した場合, 各色素の吸着帯がひろがる傾向にあり, みにくいことがあるが合成ゼオライトを少量混ぜることによってこれを防止することができた。

展開剤については食用タール色素のロ紙クロマトグラフィーに最も一般的に用いられている展開剤²⁾ (アセトン, イソアミルアルコール, 水・6:5:5) をもととして, 各色素を分離するため少量のメチルセロソルブを加えた。

以上により各色素を推定することができるが, さらに確認を要する場合は目的とする吸着帯の部分を取り, これを内径 7~8 mm 程度の先端を細くした小カラムを作り脱脂綿の少量を先端につめたのち, これに充てんして溶媒 (50~60% アルコール, あるいは他の適当な溶媒) を用いて溶出させ, 溶出液について直接ロ紙または薄層クロマトグラフィーを行なえばよい。

結 論

以上の方法により食品中の色素の抽出分離が同時にできるので一般に実用されている諸方法よりも迅速簡単に試験を行なうことができるので多数の試料を処理する場合, 試料の量が少量の場合などに良いと思われる。

本研究を行なうに当たり, 御助言を賜わり原稿のご校閲をいただいた東京薬科大学助教授細貝祐太郎博士, また実験遂行に当たり御指導ご鞭撻をいただいた埼玉県衛生研究所化学部長高橋秀雄博士に感謝します。

本報告の概要は食品衛生学会, 第17回学術講演会において発表した。

文 献

- 1) 能勢憲英, 興津知明: 食衛誌. 9, 374 (1968).
- 2) 藤井清次: 衛生試報. 73, 335 (1955).