

## 食品添加物に関する研究 (第1報) 市販食品の着色料の分析ならびに タール色素の $\beta$ -Amylase 活性に及ぼす影響

川崎医療短期大学 栄養科

藤井 俊子 清水 睦子

(昭和62年8月21日受理)

### Studies on the Food Additives (Part 1) Actual Condition of Food Dyes in Food on the Market and Effect of the Tar Dyes on $\beta$ -Amylase Activity in vitro

Toshiko FUJII and Mutsuko SHIMIZU

*Department of Nutrition, Kawasaki College of Allied Health professions,  
Kurashiki 701-01, Japan*

*(Received on Aug. 21, 1987)*

**Key words:** 食品添加物, タール色素, 天然着色料, 市販食品,  $\beta$ -Amylase 活性

#### 概 要

食品添加物は、その使用が食品衛生法によって規制されているが、使用実態を把握することは食品衛生上重要であるので、市販食品の着色料について分析した。同時に、特に安全性を憂慮されているタール色素数種の消化酵素活性に与える影響について in vitro の系で検討した。

#### 1 緒 言

加工食品の食生活に占める割合が年々増加するのに伴い、食品添加物への依存度も高くなり、現在、日本で認可されている食品添加物は347品目に及んでいる。

食品添加物は化学的合成品であるため、安全性や必要性について疑問のないものに限り指定を受け使用が認可されているが、国民の健康志向の高まりにつれて食品の安全性についての関心も高くなり、消費者は食品添加物使用の食品を忌避する傾向にある。一方、食品加工業者は、近年の製造、加工、包装などの技術の向上によっても、食品の商品価値を高めるためには食品添加物の使用を余儀なくされている現状である。また、表示義務のある食品添加物については、表示義務のない天然物の使用が増加しつつある。

食品衛生法により、各食品添加物ごとに使用対象食品、使用量または残存量などが規定されているが、市販食品に使用されている食品添加物の使用濃度その他の実態を把握することは食品衛生上重要である。

第1報では、着色料をとりあげる。

着色料は食品に色をつける目的で用いられ、合成着色料と天然着色料とがある。日本で現在許可されている着色料はタール色素11品目とそのアルミニウムレーキ7品目、水溶性アナトー、銅クロロフィルその他の天然色素誘導体計5品目、 $\beta$ -カロチン、三二酸化鉄および二酸化チタンの計26品目で、このうち $\beta$ -カロチンと銅クロロフィル以外は表示義務がある<sup>1)</sup>。天然着色料は、古くから食品の着色に用いられる天然色素で多数の種類があるが、タール色素の発達によってあまり使用されなくなっていた。ところが、タール色素の安全性に疑問が持たれ、使用

禁止となるものが相つぎ、世界的にも天然着色料が見直される風潮が出たこと、また、日本では合成着色料使用の食品に表示の義務があることなどから、表示を必要としない天然色素を使用する傾向が強くなってきている。しかしながら、天然着色料の中で、食品添加物として規制を受けるのは、 $\beta$ -カロチンと水溶性アナトーの2種類だけであり、その他の天然色素で規格が定まっているのは10種類にみえない現状では、天然着色料が許可合成着色料より安全であると過信してはいけないとも考えられる。

本研究では、市販食品のタール色素と天然着色料の分析を行い、また、タール色素の安全性を検討する一助として消化酵素に対する影響を *in vitro* の系で検討を行って若干の知見を得たので報告する。

## II 方 法

### 1 タール色素の検出および定量法

#### (1) 試料および試料溶液の調製<sup>2)</sup>

市販されているアイスクャンディ、シャーベットなどの氷菓10種類、梅干し、たくあんなどの漬物類10種類、アルコール飲料3種類を試料とした。

氷菓類は室温で融解したものをそのまま用いた。漬物類は細碎し、80%エタノール(v/v)を加え、ときどき振り混ぜながら2~3時間放置し上澄液を分け取り、ついで約1%アンモニア水を含む70%エタノール(v/v)で繰り返し抽出する。上澄液は先の上澄液と合わせ、6%酢酸で中和し、エタノールを蒸発させ、水を加えて色素抽出液とする。アルコール飲料は、原液そのものを試料溶液とした。

標準色素溶液は11種類の合成タール色素(表1)を0.02N酢酸アンモニウム溶液に0.1%濃度になるように溶解した。

#### (2) 毛糸染色法

色素抽出液5mlに1%酢酸1mlを加え、脱脂羊毛0.1gを入れ、水浴上で30分間加温した後、羊毛をとり出しよく水洗する。この染色羊毛を1%アンモニア水5ml中に入れ、水浴上で30分間加温した後羊毛をとり除き、酢酸を用いて中

表1 標準色素

タール色素		天然色素	
NO	色素名	NO	色素名
1	赤色2号(アマランス)	1	コチニール色素
2	赤色3号(エリスロシン)	2	ブドウ果皮色素
3	赤色102号(ニューコクシン)	3	コーン色素
4	赤色104号(フロキシン)	4	赤キャベツ色素
5	赤色105号(ローズベンガル)	5	ラック色素
6	赤色106号(アシドレッド)	6	モナスカス色素
7	黄色4号(タートラジン)	7	ウコン色素
8	黄色5号(サンセットイエロー)	8	ビートレッド
9	緑色3号(ファストグリーン)	9	ベニバナ色素
10	青色1号(プリリアントブルー)	10	クチナシ色素
11	青色2号(インジゴカルミン)	11	水溶性アナトー
		12	$\beta$ -カロチン

和したのち約0.1%の色素濃度にしたものをろ紙クロマトグラフィー用試料とする。

#### (3) ろ紙クロマトグラフィー

東洋ろ紙 No. 51 (40cm×40cm) を用い、展開溶媒として、nブタノール：無水エタノール：1%アンモニア水(6：2：1)を用いて一次元上昇法で行う。展開終了後、試料色素抽出液と標準色素溶液から得られた色素スポットの位置(Rf値)と色調とを自然光およびマナスルライト照射下(365nm)で比較観察する。

#### (4) 色素の溶出法

標準色素溶液および試料色素抽出液の一定量について、上述の方法でクロマトグラフィーを行う。この際、標準色素溶液については検量線作製のために、各色素ごとに濃度段階をつけて展開する。

ろ紙を風乾後、色素スポット部分を切り抜き、細く切って一定量の50%温エタノールで色素を溶出する。

#### (5) 可視部吸収スペクトルの測定

各標準色素および試料色素のスポットからの溶出液について、自記分光光度計(CARY 118 C, 日立製作所製)による可視部吸収スペクトルを測定し、極大吸収波長を求める。

#### (6) 比色定量

各標準色素について極大吸収波長における検量線を作製し、各試料色素について極大吸収波長における比色定量を行う。

### 2 天然着色料使用食品についての調査

昭和61年10月に岡山県倉敷市内の大手スーパーの食品売場で、天然着色料を使用している食品94種類の表示方法などについて調査

した。

3 食品中の天然着色料の検出

試料として4種類の清涼飲料を用いた。この清涼飲料をそのまま色素懸濁液とし、飲食物試験法の天然色素の分画精製法<sup>3)</sup>に従ってA, B, C, Dの4分面に精製した。標準色素試料として、天然着色料11種類(表1, 三栄化学工業株式会社製)を用い、べにばな色素は水、β-カロチンはクロロホルム、その他はエタノールで0.1%濃度に溶解して用いた。試料を東洋ろ紙No.51にスポットし、展開溶媒として、nブタノール:酢酸:水〔4:1:5(上層)〕および水を用いて一次元上昇法でクロマトグラフィーを行った。

4 β-アミラーゼ活性測定法

着色料がβ-アミラーゼ活性に及ぼす影響について調べるために、ジニトロサリチル酸法<sup>4)</sup>による酵素活性測定を行った。

(1) 試薬および試料

1%可溶性でんぷん液, 1% NaCl 溶液, McIlvaine 氏緩衝液 (pH5.0), 酵素溶液: β-アミラーゼ (和光純薬工業株式会社製) を1% NaCl で0.025%に溶解したもの, 着色料溶液: 5種類のタール色素 (黄色4号, 黄色5号, 緑色3号, 青色1号, 青色2号) の各0.1%水溶液, ジニトロサリチル酸溶液: 3, 5-ジニトロサリチル酸 (和光純薬工業株式会社製) 1g に2NのNaOH 溶液20mlと水50mlを加え, ロッシェル塩30gを添加し水で100mlに定容する。

(2) 測定法

以下の①~④の試験管を用意し, それぞれに基質 (1%可溶性でんぷん液) を0.5mlずつ加え40℃の恒温に保つ。

- ① 盲検 (緩衝液0.5ml+水0.5ml)
- ② 対照群 (緩衝液0.5ml+水0.5ml)
- ③ 色素対照群 (緩衝液0.5ml+着色料溶液0.5ml)
- ④ 色素添加群 (緩衝液0.5ml+着色料溶液0.5ml)

①と③には1% NaCl 溶液0.5mlを, ②と④には酵素液0.5mlを加え, 40℃で3分間反応後, ジニトロサリチル酸溶液2mlを加えて反応を停止させる。100℃, 5分間加熱し発色後, 流水で冷

却し, 水4ml (濃度によって加減する) を加え, 540nmにおける吸光度を測定する。

別に予めマルトース検量線を作製しておき, 対照群の生成マルトース量を100として実験群の比率をみる。

III 結果および考察

1 市販食品のタール色素について

市販の氷菓類とアルコール飲料から毛糸染色法ならびにろ紙クロマトグラフィーによって検

表2 市販食品に含まれるタール色素

NO	試料製品名	色調	含有色素名	合成着色料の表示
1	でっかいどう	ピンク	赤色102号	有
2	かき氷	赤	赤色102号・黄色5号	有
3	ソーダ	淡青	緑色3号	有
4	ラムネ	淡青	緑色3号	有
5	レモン	黄	黄色5号	有
6	バナナ	レモン	黄色4号・黄色5号	有
7	メロン	黄緑	緑色3号	有
8	青りんご	黄緑	緑色3号	有
9	シャーベットオレンジ	橙	黄色5号	無

B. アルコール飲料類

NO	試料製品名	色調	含有色素名	合成着色料の表示
1	グリーンペパーミント	緑	黄色4号・緑色3号	無
2	ブルーハワイ	青	緑色3号	有
3	マルルー	黄	黄色4号	有

出したタール色素を表2に示す。アルコール飲料では表示のないペパーミント酒に2種類のタール色素が検出されたので, ろ紙クロマトグラムから色素を溶出し, 吸光度曲線を求めて, 図1に示す。図1で明らかのように, ペパーミント酒からの2種の抽出色素の吸光度曲線は標準

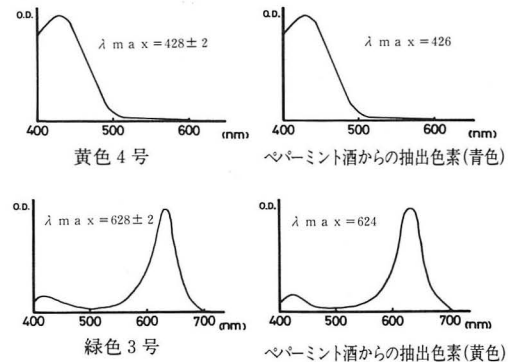


図1. 着色料の吸光度曲線

試料のタール色素の黄色4号と緑色3号の吸光度曲線とよく一致しており、これら2種のタール色素が合成着色料の表示をされずに使用されていることがわかった。

市販漬物類については、タール色素検出後、

表3 市販漬物類に含まれるタール色素とその定量値

食品名	製品名	色調	含有色素名	定量値 μg/100g
梅干し	ウメタの小梅太郎梅漬	赤	赤色102号	396
	紀州梅干し	赤	赤色102号	248
			黄色5号	φ
	善ちゃんのかつお梅	赤	赤色102号	332
たくあん	紀ノ川漬	黄	黄色4号	340
しば漬	一本しば漬	赤紫	赤色102号	144
			赤色106号	φ
きゅうりのきざみ漬	青しその実	黄紫	黄色4号	1517
			緑色3号	φ
たかな漬	たかな漬	緑黄	黄色4号	240
福神漬	ジャンボ福神漬	赤	赤色106号	φ
	黄色4号		191	
	特級福神漬	赤	赤色106号	φ
			黄色4号	147
			赤色106号	φ
	福神漬	赤	黄色4号	215

(注 φ印：微量につき定量しなかった。)

色素含有量を測定し表3に示す。試料の漬物はすべて合成着色料使用の表示があった。

豊田ら<sup>5)</sup>は、食品添加物の1日摂取量の推定を行い、合成着色料の1日総摂取量は0.096mgで、大半は菓子類から摂取していると考えられること、この値はADI (Acceptable Daily Intake) の0~3%の範囲内にあること、また、許可タール色素11種類中、赤色105号、106号、緑色3号、青色1号、2号の5種類は使用されていないことを報告している。本研究では市販食品のごく一部の食品のタール色素について調べたものであるが、赤色102号と106号、黄色4号と5号、緑色3号の5種類のタール色素が検出された。

タール色素含有量についてみると、表3に示すように市販漬物類での最高値は15ppmであり、指導値の100ppm<sup>6)</sup>よりかなり低かった。しかしながら、市販漬物類の生産高が近年増加の一途をたどり、昭和54年以降は約100万トン<sup>7)</sup>であることを考えると含有濃度が低くても市販漬物類からのタール色素総摂取量は多いものと思われる。漬物類は他の加工食品に比べて表示も見逃しやすく、製法や価格の面で天然着色料の使用が難しいことなどが、タール色素の使用が続いている理由であろうと考える。市販漬物の表示に関

心を持つことや鮮やかな色彩を求めないようにすることによって、また、市販品ではなく自家製の漬物を摂取することなどによっても、漬物類からのタール色素摂取を減少させることができると考える。

2 天然着色料使用食品の表示について

天然着色料はβ-カロテンと銅クロロフィル以外には表示の義務がないが、食品添加物使用を忌避する消費傾向が年々強くなっているため、

表4 天然着色料の表示についての市場調査結果(その1)

No.	商品名	メーカー	表示	No.	商品名	メーカー	表示
1	ふっくら蒸しパン(フレーシ)	日清製粉	A	35	Sky Fruits	グリコ	B
2	スミートボテ	森永	A	36	スーパージョイン	ロッテ	B
3	アップルケーキ	"	A	37	クワックエンチガム	"	B
4	スノーホイップ	雪印	B	38	スベアミントガム	"	B
5	フルーチェピッチ	ハウス	A	39	フレイガム	カネボウ	A
6	フリッシュ	"	C	40	フレイガムファンシーオレンジ	"	A
7	ゼリーエースイチゴ	"	A	41	おりがみしましよ	明治	B
8	牛乳と卵でカスタードプリンをつくろう	日清製粉	A	42	わたがし	"	B
9	えび天お好み焼	永谷園	B	43	ハッピー歯バナナ	甘	A
10	はいから焼	"	B	44	ハッピー歯イチゴ	甘	A
11	山本さん	S&B	B	45	GAM MATE	グリコ	A
12	田中さん	"	B	46	ガムコロもち	カネボウ	A
13	ビックラ	フルボン	C	47	イロイロガム	コリス	A
14	ビーバリ	"	C	48	スボロフーセンガム	グリコ	A
15	TACOS	Krger	*1	49	ムイチゴミルク	"	A
16	REDHOT	"	*1	50	BubbleGum	カネボウ	A
17	NACHOS	"	*1	51	BubbleGum Brothers	"	A
18	おととつと	森永	A	52	フルーツパンチ	"	A
19	おととつと(カレ味)	"	A	53	BubbleGum Brothers シェリー	"	A
20	おやちやい	明治	*2	54	ハードタッチ	ロッテ	C
21	セレクトセリー(メロン)	森永	B	55	キャンディ	"	A
22	ずっけ	明治	B	56	レモン星レモン	カネボウ	A
23	ゴルフアー	グリコ	B	57	ヨーグルト	"	A
24	ジャアアント	"	B	58	キャンディ	グリコ	B
25	カブリコーン(イチゴ)	"	B	59	キャンディ	"	B
26	チョコスタック	森永	B	60	キャンディ	"	B
27	ヒップ	"	B	61	キャンディ	"	B
28	アーモンドボール	"	A	62	ブチフーセンガム	明治	*3
29	Zaggy	"	C	63	夕張メロン	"	*4
30	たぬきおんど	明治	B	64	CHIPLEガム	"	*4
31	おもちのちやちや	"	B	65	グリーン	"	*3
32	やちや	"	B	66	CHIPLEガム	"	*3
33	きのこのチョコ	ロッテ	B	67	ラブベリー	"	*3
34	いもっこのランド	フルボン	B	68	ティノレモン	味覚糖	B
35	ちよこくり太郎	不二家	C	69	ティノアップル	"	B
36	チョコエック	明治	C	70	ティノ	"	B
37	チョコメイ	"	C	71	ストロベリー	"	B
38	マロンシヨコ	森永	A	72	オパックフーセンガム	ロッテ	A
39	リカちゃん	ロッテ	B	73	ムいちご味	"	A
40	フーセンガム	"	B	74	ベロベロ	バイン	B

表4 (その2) インスタント食品(No.63~85)、清涼飲料類(No.86~94)

No.	商品名	メーカー	表示	No.	商品名	メーカー	表示
63	ベジタブお弁当	(株)イヅミ	A	77	ミニマリオラメ	明星	A
64	パッション	朝日麦酒	C	78	ミニミートボール	日清	C
65	オレンジ	"	C	79	カップメーデル	サンヨー	A
66	アップリコット	"	C	80	サッポロ一番	食品	A
67	オレンジ	"	C	81	どんぶり感情	"	A
68	ラーメン紀行	明星	A	82	サッポロ一番	"	A
69	(札幌)	"	A	83	どん辛	"	A
70	ラーメン紀行(大阪)	"	A	84	好	エスコック	A
71	ラーメン紀行(博多)	"	A	85	頼んでるナゲツ	明星	A
72	チャルメラミニ6	"	A	86	燃えろハンバーグ	"	A
73	ショウエ	"	A	87	長崎ちゃん	マルタイ	A
74	チャルメラミニ6	"	A	88	走れ牛ちゃん	エスコック	A
75	ミソ	"	A	89	ファンタオレンジ	ココロ	A
76	チキンラーメン	日清	C	90	ファンタグレープ	"	*5
77	チキンラーメン	"	C	91	ファンタレモン	"	*5
78	チキンラーメン	"	C	92	ファンタフルーツ	"	*5
79	チキンラーメン	"	C	93	パンチ	"	*5
80	カレー	"	C	94	カルピスソーダ	カルピス	C
81	サッポロ一番	サンヨー	A	95	カルピスソーダ	"	*6
82	ミソ	食品	A	96	カルピスソーダ	"	*6
83	サッポロ一番	"	A	97	カルピスソーダ	"	*6
84	ミニオ	"	A	98	カルピスソーダ	"	*6
85	ミニオオラメ	明星	A	99	カルピスソーダ	"	*6
86	ンソー	"	A	100	カルピスソーダ	"	*6

(注) A:天然着色料 B:天然色素 C:βカロテン

\*1:天然+合成着色料

\*2:天然色素+βカロテン \*3:天然着色料+βカロテン

\*4:天然色素+クロロフィル \*5:ぶどう果皮色素

\*6:紫キャベツ色素 \*7:べにばな色素+くちなし色素

天然品を使用していることが表示されている食品が増えている。そこで、着色料に関する表示だけに着目して市場調査を行い表4に示した。調査食品は着色料が比較的多く用いられる菓子類62品目、インスタント食品23品目、清涼飲料9品目の計94品目で、表示は表5に示すように

表5 天然着色料使用食品の表示

表示	商品数	食品の色調
天然着色料	39	オレンジ, 黄, 赤
天然色素	27	ピンク, 黄
β-カロチン	16	オレンジ, 黄
その他	12	赤, オレンジ
合計	94	

天然着色料, 天然色素, β-カロチンおよびその他の種々の色素名で表わされていた。また使用されている色素の色調は暖色系のものであることがわかった。表2, Bに示すグリーンペパーミントは、表示がないため天然着色料の使用を疑って分析を行った結果タール色素の使用が判明した。したがって、寒色系の着色をする際にタール色素が不法に使用されるのではないかと推測された。

3 市販食品の天然着色料の検出

β-カロチンおよび天然色素名を表示している市販食品5種から精製分画した着色料のろ紙

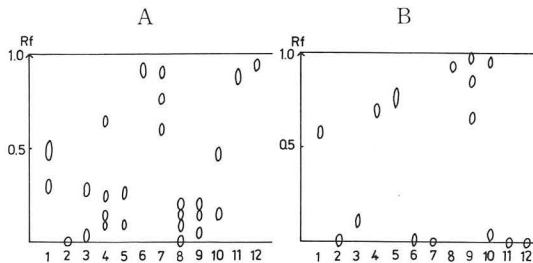


図2. 天然着色料のろ紙クロマトグラム

溶媒: A[nブタノール・酢酸・水(4:1:5上層)], B[水]

試料: 1 コチニール色素 2 ブドウ果皮色素 3 コーン色素 4 赤キャベツ色素  
5 ラック色素 6 モナスカス色素 7 ウコン色素 8 ビートレッド  
9 ベニバナ色素 10 クチナン色素 11 水溶性アナトール 12 β-カロチン

クロマトグラムを図2と3に示す。図から試料食品に含まれる天然着色料は食品に表示されている色素名と一致していると考えられる。一般に天然着色料はタール色素のように単一の化合物でないために一つの着色料から数個のクロマトグラムが得られる場合が多いため、天然着色

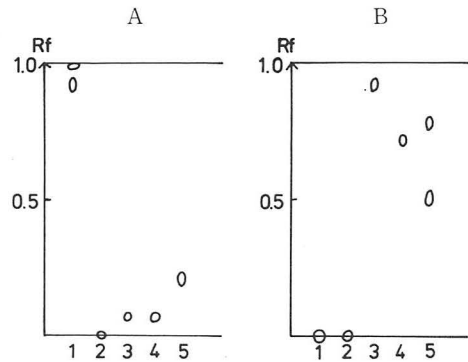


図3. 食品中の天然着色料のろ紙クロマトグラム

溶媒: A[nブタノール・酢酸・水(4:1:5上層)], B[水]

No.	抽出食品(分画)	表示色素名
1	ファンタオレンジ(A)	β-カロチン
2	ファンタグレープ(C)	ブドウ果皮色素
3	ファンタグレープ(D)	ブドウ果皮色素
4	カルピスソーダ・メロン(D)	べにばな色素+くちなし色素
5	カルピスソーダ・フルーツパンチ(D)	赤キャベツ色素

料の食品からの抽出法や検出確認のための方法などについては、今後更に研究する必要があると考える。

4 タール色素の酵素阻害作用について

5種のタール色素のβ-アミラーゼ活性に及ぼす影響をジニトロサリチル酸法で調べた結果

表6 タール色素添加でんぷん溶液に対するβ-アミラーゼの活性度

	生成マルトース量(mg/ml)	対照群に対する比率(%)
対照群	0.750	100
実験群		
黄色4号	0.525	70
黄色5号	0.488	65
緑色3号	0.450	60
青色1号	0.435	58
青色2号	0.645	86

を表6に示す。赤色系の許可タール色素は極大吸収が活性度測定波長と近いために測定しなかった。表6に示されるようにこれら5種のタール色素は、対照群に比べて58~86%のβ-アミラーゼ活性を示した。タール色素の酵素阻害作用については、松田ら<sup>8)</sup>が赤色106号と青色1号以外の許可タール色素はGOT活性阻害作用があると報告している。

本研究における5種類のタール色素において、β-アミラーゼ活性阻害作用が見られ、その他

にもタール色素の酵素阻害については多数の報告<sup>9)</sup>があるが、基質と酵素の間に共存する物質をめぐってのメカニズムは複雑なものであり、今後、更に検討する予定である。なお、天然着色料のべにはな色素とくちなし色素についてタール色素と同様の方法で $\beta$ -アミラーゼ活性の変動を調べた結果は対照群に比し大きな変動がみられなかったが、今後、例数を増加して検討の予定である。

#### IV 要 約

結果を要約すると以下の通りである。

1. 市販の氷菓、アルコール飲料、漬物類から5種類のタール色素を検出した。氷菓類とアルコール飲料類には表示なしにタール色素が使用されているものがあつた。

漬物類のタール色素量は指導値より濃度が低かつた。

2. 天然着色料使用食品に、天然着色料、天然色素、 $\beta$ -カロチン、各天然色素名を表示しているものが多数みられた。

これらの食品はすべて暖色系の色調であることから、寒色系の着色にタール色素が用いられるのであろうと推測した。

3. 市販食品の天然着色料の精製分画を行い、表示通りの天然着色料を検出した。

4. タール色素(黄色4号, 5号, 緑色3号, 青色1号, 2号)が *in vitro* の系で  $\beta$ -Amylase 活性を阻害する作用のあることを認めた。

#### 文 献

- 1) 石館守三, 谷村顕雄: 食品添加物公定書解書, 廣川書店, 東京, 1987,
- 2) 日本薬学会編: 衛生試験法・注解, 金原出版, 東京, 1980, P351~374
- 3) 同上, P374~382
- 4) Noelting, G. and Bernfeld, P: La  $\beta$ -amylase: dosege d'activité et contrôle de l'absence d' $\alpha$ -amylase, *Helv. Chim. Acta*, 31, 286~290, 1948
- 5) 豊田正武, 他: マーケットバスケット方式による日本人の各種食品添加物の1日摂取量の推定, *日本栄養・食糧学会誌*, 36(6), 489~497, 1983
- 6) 藤原喜久夫: 漬物の衛生規範, 中央法規出版, 東京, 1982,
- 7) 河端俊治, 他: 加工食品と食品衛生, 新思潮社, 東京, 1984, P538
- 8) 松田早苗, 小谷スミ子: 合成着色料のGOT活性に及ぼす影響, 日本家政学会第38回大会研究発表要旨集, 東京, 1986
- 9) 新村壽夫: 食品添加物の生化学と安全性, 地人書館, 東京, 1980, P211~264