

資 料

食品中のベニバナ赤色素カルタミンの定性とその応用

長 岡 一 郎, 笠 原 義 正

Qualitative Analysis of Principal Ingredient Carthamin of Carthamus Red in Food

by Ichiro NAGAOKA and Yoshimasa KASAHARA

天然添加物着色料として食品に利用されているベニバナ赤色素は主成分がカルタミンであり、現在の衛生試験法等では定性・定量方法がまだ十分に対応できていない。そこで、食品中のカルタミンを抽出し、高速液体クロマトグラフィー等を用いて定性及び定量方法の検討を行った。油脂食品（チョコレート）、固形食品（乾麺）の食品中の定性は、N, N-ジメチルホルムアミド（DMF）を用い抽出し、その比率を変えること及び逆相分配固相抽出カラムを用いることにより、油脂成分を含む固形食品の定性が可能となった。

Key Words : ベニバナ, カルタミン, 食品, 着色料, 定性分析, 固相抽出カラム

I はじめに

近年、天然着色料の使用量が増加し、使用基準や表示義務が設定され、試験検査の必要性が増加してきた。食品の着色料に利用されているベニバナ赤色素（主成分カルタミン）に関しては定性分析のみが衛生試験法¹⁾に記載されている。しかし、カルタミンは油脂を含んだ食品にも利用されており衛生試験法に記載されている分析方法では不十分であることから、油脂食品を含めた固形食品の定性の検討を薄層クロマトグラフィー（TLC）や高速液体クロマトグラフィー（HPLC）等を用いて行った。さらに、定量分析の検討もあわせて行ったので報告する。

II 実験方法

1 試料

油脂食品でカルタミンを着色料として使用している製品にイチゴ味のチョコレートがある。また、山形では乾麺の着色にカルタミンが良く用いられることから、試料は、平成15年1月～2月に山形市内の小売店において、色素表示のあることを確認して購入したチョコレート（イチゴ味）と乾麺を選んだ。

2 試薬

ベニバナ赤色素の食品添加物着色料製剤（東洋エフ・シー・シー²⁾）を対照として使用した。標準品のベニバナ赤色素カルタミンは山形大学工学部物質化学工学科 小野寺準一教授に御供与いただいた。ビートレッドは食品添加物試験用（和光純薬工業³⁾）を使用した。

高速液体クロマトグラフィー（HPLC）用メタノール（試薬特級）は関東化学⁴⁾社製を、N,N-ジメチルホルムアミド（試験研究用）、炭酸ナトリウム（試薬特級）、メタノール（試薬特級）、2-ブタノン（試薬特級）、酢酸（試薬特級）、硫酸ナトリウム（試薬特級）は和光純薬工業⁵⁾社製を使用した。固相抽出用Sep-Pak Vac PS-2（担体量500 mg）、Sep-Pak Vac C₁₈（担体量500 mg）、OasisTMHLBはWaters社製を使用した。

HPLC装置 ポンプ:PU-980, 検出器:UV-970, デガッサー:DG-980-50, オートサンプラー:AS-950, 低圧グラジエントユニット:LG-980-02, カラム切換バルブユニット:HV-992-01, UV/VIS多波長検出器:MD-915（以上日本分光⁶⁾）。

使用カラム, Inertsil ODS-2 (150mm×4.6 mm I.D., GL Sciences) の他にTSK-GEL ODS-80 TM (150 mm×4.6 mm I.D., TOSOH) を用い検討した。

3 試料溶液の調製

試料10gに40℃の水を25mL加えて3分間ホモジナイズし、図1に示したように抽出し、さらに固相抽出カラムを用いてクリーンアップした。

4 標準溶液の調製

カルタミン1.0mgを正確に量り、N,N-ジメチルホルムアミド（DMF）1.0mLに溶解し、標準溶液とした。

5 測定条件

HPLCによる定性

分析カラム:Inertsil ODS-2 (150mm×4.6mm I.D.), 測定波長:520nm, 流速:1.1mL/min, 移動相:メタノール-水-酢酸 (80:20:0.5), 注入量:10μL

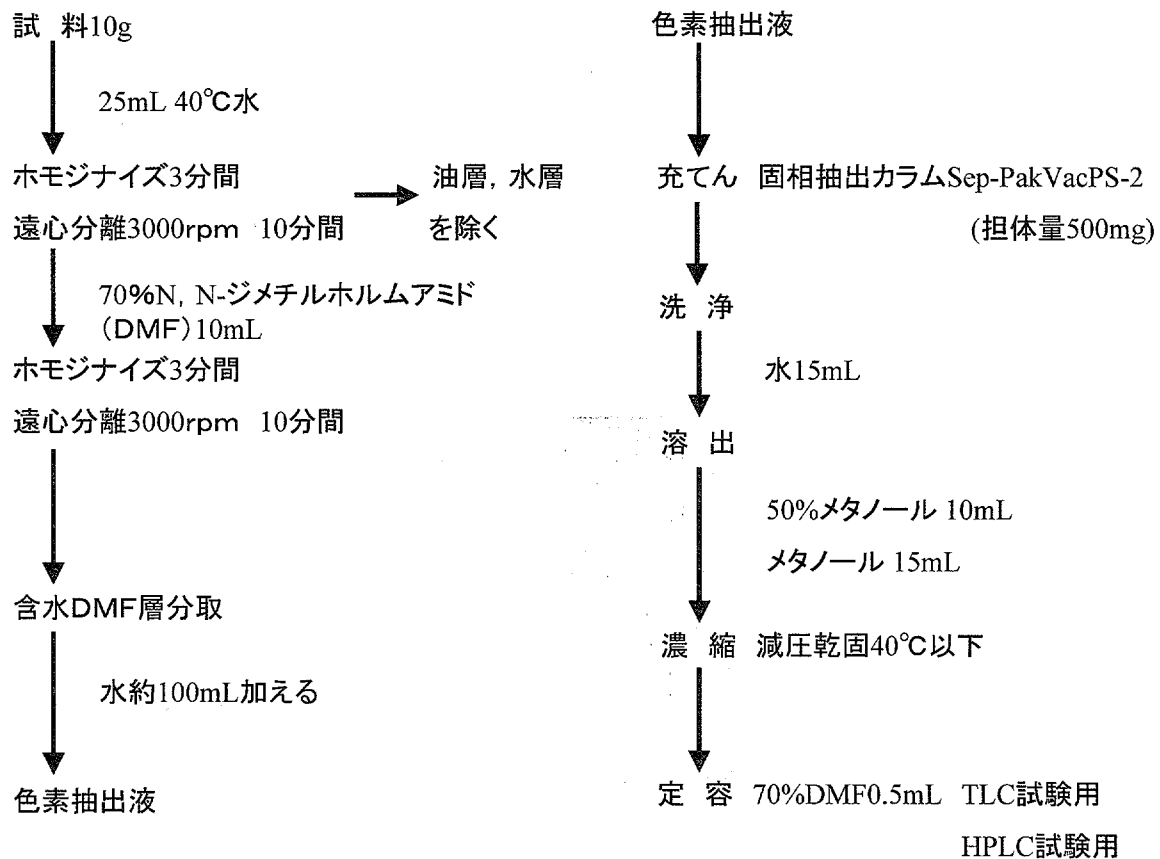


図1 加工食品（チョコレート）中のカルタミン抽出及びクリーンアップ

TLCによる定性

薄層板 (PR-18F_{254s}) の下端より1.5cmの位置に、TLC用試験溶液及び色素標準溶液を直径2mm以下になるようにスポットし、展開溶媒に2-ブタノン-メタノール-5%硫酸ナトリウム (3:5:5) を用いて展開した。得られたスポットの位置と色を自然光下で観察した。

III 実験結果

試料の前処理は、昨年紅もち、乱花、生のベニバナ花弁からカルタミンを抽出した方法²⁻⁹⁾ 及び衛生試験法に記載してある固形食品におけるベニバナ赤色素定性等¹⁰⁾ を参考に試みた。

チョコレート5gに色素の抽出液として①10%酢酸水溶液を加えたもの、②10%炭酸ナトリウム水溶液を加えたもの、③精製水を加えたもの、④50%DMFを加えた4種類の溶液を作り、カルタミンの抽出方法を検討したところ、HPLCや目視の結果等から②の10%炭酸ナトリウム水溶液を用いた場合が効率よく抽出された。この抽出溶媒を用いて固相抽出カラムでクリーンアップを行った。しかし、色素のほとんどがカラムを通過せず、充てん剤の表面のポリエチレンフィルターに赤色素が沈積し

た。このことから使用した添加物は、結晶セルロース等にカルタミンを吸着させたものであると推定した。そこで結晶セルロースからカルタミンを溶出するため炭酸ナトリウムによる抽出を何度か実施したが、溶出することができなかった。さらにセルロースを溶解するシュバイツァー試薬¹¹⁾ を用いてみたところ、カルタミンがオレンジに変色し、酸性化において赤色に戻らなくなってしまった。また、食物繊維の定量に用いられるサウスゲート変法¹²⁾ を用いてセルロースの分解を試みた。市販されているベニバナ赤色素添加物を用い、試料1gに約70%の硫酸20mLを加え0~4°Cで24時間放置後、8mol/L水酸化ナトリウムでpH4にし、さらに1mol/L水酸化ナトリウムでpH7とした。70%硫酸以外にも硫酸の濃度を変えて実施してみたが、70%硫酸、50%硫酸ではカルタミン、結晶セルロースとも分解し、30%硫酸以下では結晶セルロースを完全に分解することができない等適切な条件が見つけられなかった。そこでセルロースからカルタミンをはずす抽出段階で、抽出効率の良い溶媒及びクリーンアップ法を考え直した。まずチョコレートなどの油脂食品は、溶媒を温めることで油脂を容易に除去できるのではないかと考え、温水を利用することとし

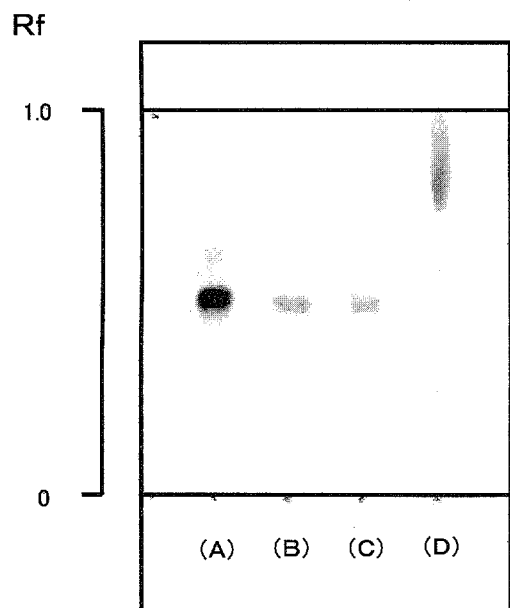


図2 標準品と加工食品から抽出したカルタミンの薄層クロマトグラム

(A)カルタミン標準品, (B)チョコレートから抽出したカルタミン, (C)乾麺から抽出したカルタミン, (D)ビートルレッド
展開溶媒: 2-ブタノン-メタノール-5%硫酸ナトリウム(3:5:5)
薄層板: PR-18F₂₅₄

た. 試料10gに15°C, 40°C, 60°C, 80°C, 100°Cまで5通りの温水を各々25mLずつ加え, ホモジナイズし, 3000rpm, 10分間遠心分離を行ったところ, 40°C以上の温水では容易に油脂を除くことができたので, カルタミンの分解を防ぐため40°Cの温水を用いることとした.

またこれにつづく抽出の検討は, 市販のベニバナ赤色素添加物を用い, 様々な溶媒とその濃度を変えた場合の抽出効率を目視やHPLCを指標に比較して行った. その結果, 70%DMFで色素が効率よく抽出されることがわかった.

固相抽出カラムはSep-PakVac₁₈, OASISTMHLB, Sep-Pak Vac PS-2を検討し, カルタミンを最もよく保持した. Sep-Pak PS-2 (担体量500mg)を用いてクリーンアップすることとした. そこで図1に示したように前処理を行い, TLCで検討したところ定性が可能であった(図2). また, 乾麺の中に含まれるカルタミンの抽出は, 昨年行ったベニバナの花弁からの抽出法と類似の方法で可能であり, 図3に示したように固相抽出カラムからの溶出液を2-ブタノン-水(1:1)とすることでクリーンアップできた. 図2に, 今回行ったTLCを示した. 標準品のカルタミンは赤色スポットでRf値が0.51であり, チョコレートと乾麺から抽出したもののスポットは, Rf値0.50

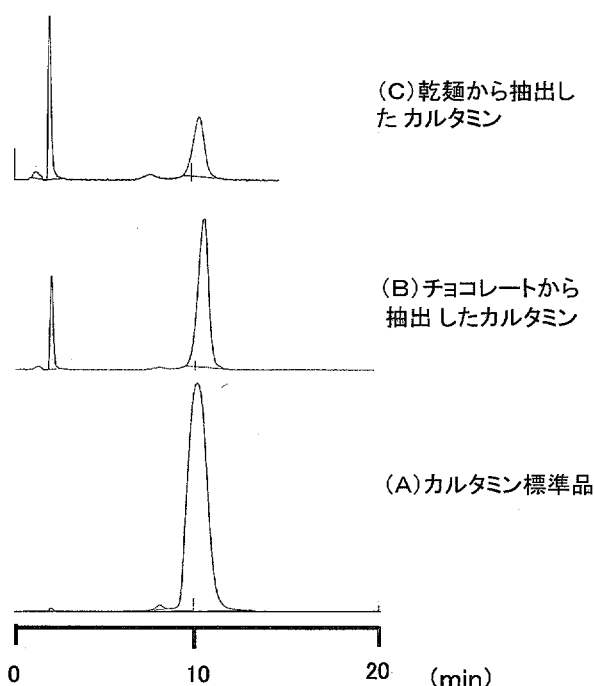


図4 標準品と加工食品から抽出したカルタミンの高速液体クロマトグラム

カラム: InertsilODS-2 (150mm×4.6mmI.D.), 測定波長: 520nm, 流速: 1.1mL/min, 注入量: 10μL, 移動相: メタノール-水-酢酸(80:20:0.5)

で赤色であり同定可能だった. HPLCでは, 図4に示したように標準品とチョコレート及び乾麺からの抽出物の保持時間が10分で一致し同定できた.

IV 考 察

今回の方法は油脂食品や乾麺において, 抽出溶媒の濃度や固相抽出カラムを変えることによって, 従来の方法と比べて効率よくクリーンアップができ, 油脂成分を含んでいる固形食品においても定性が可能であった. しかし, 定量法については現在検討を行っているが, 加工食品では結晶セルロースに吸着させたベニバナ赤色素を使用しているものもあり, この場合は結晶セルロースからカルタミンを適切に分離する方法が必要になり定量法開発の大きな課題となっている.

謝 辞

貴重な色素標品(カルタミン)を御供与頂いた山形大学工学部教授の小野寺準一先生及び東洋FCC(株)の柏木敏夫氏に深謝いたします.

文 献

- 1) 日本薬学会, 衛生試験法・注解, 金原出版株式会社,

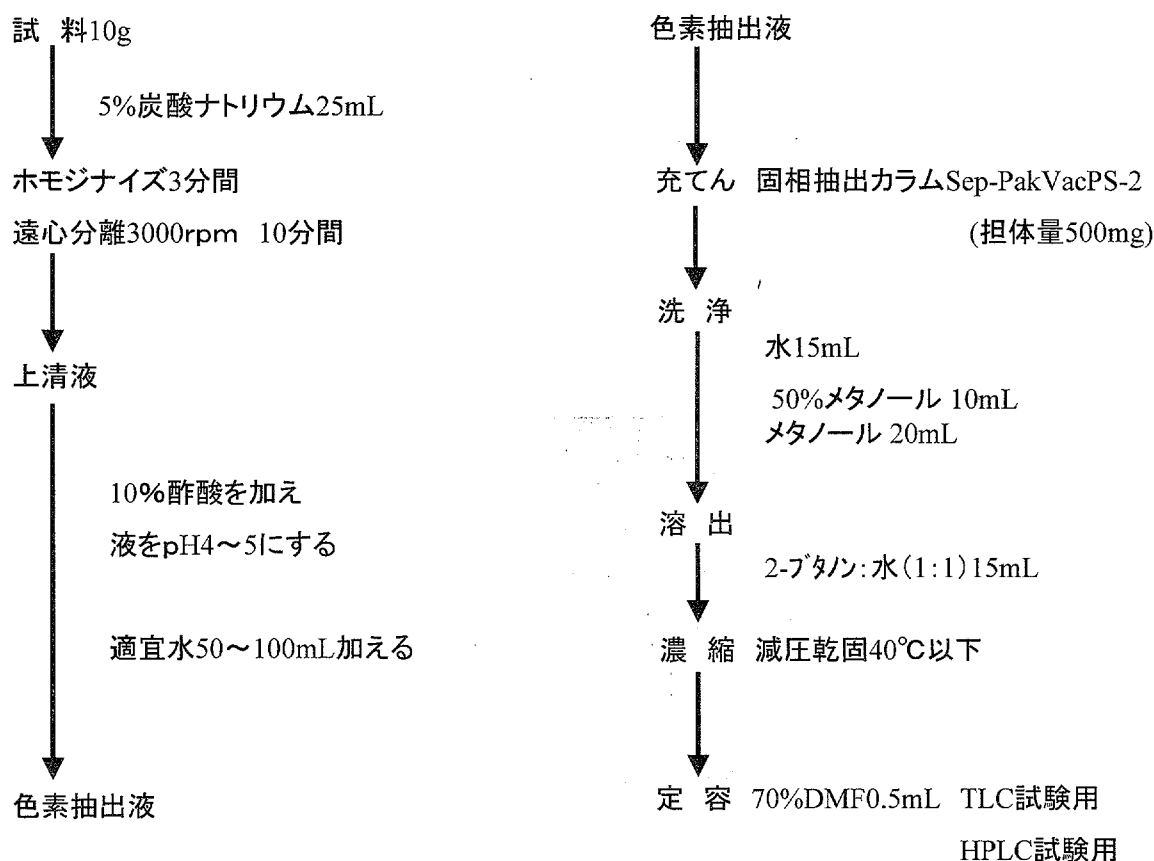


図3 加工食品（乾麺）中のカルタミン抽出及びクリーンアップ

- 東京, 356-365 (2000)
- 2) Morimoto, T., Kato, Y., Nakamura, M., Determination of the Content of Coloring Matter in Carthamus Red and Carthamus Yellow, Japanese Journal of Food Chemistry, 5, 236-238 (1998)
 - 3) 谷村顕雄, 第7版 食品添加物公定書解説書 廣川書店, 東京, D-1241-1243 (1999)
 - 4) Hirokado, M., Kimura, K., Suzuki, K., Sadamasu, Y., Katsuki, Y., Yasuda, K., Nishijima, M., Detection Method of Madder Color, Cochineal extract, Lac Color, Carthamus Yellow and Carthamus Red in Processed Foods by TLC, Journal of the Food Hygienics Society of Japan, 40, 488-493 (1999)
 - 5) Kim, J.-B., Cho, M.-H., Hahn, T.-R., Paik, Y.-S., Efficient purification and chemical structure identification of carthamin from Carthamus tinctorius, Agric. Chem. Biotech, 39, 501-505 (1996)
 - 6) 森岡裕人, 石塚健, 大場剛, 村川敬二, 木山英俊, 紅花色素の有効利用に関する研究, 山形県工業技術センター報告, 18, 6-11 (1986)
 - 7) Cho, M.-H., Paik, Y.-S., Hahn, T.-R., Enzymatic Conversion of Percarthamin to Carthamin by a Purified Enzyme from the Yellow Petals of Safflower, J. Agric. Food Chem., 48, 3917-3921 (2000)
 - 8) Onodera, J., Kawamoto, K., Matsuba, S., Sato, S., Kojima, H., Obara, H., Biotransformation of Safflower Yellow B to Carthamin, A Coloring Matter of Safflower, Chemistry Letters, 901-902 (1995)
 - 9) 長岡一郎, 他: 山形衛研所報 (35), 12-16 (2002)
 - 10) 厚生省生活衛生局食品化学課, 第2版 食品中の食品添加物分析法, 113-118 (2000)
 - 11) 第3版 岩波理化学事典 岩波書店, 東京, 602 (1974)
 - 12) 日本薬学会, 衛生試験法・注解, 金原出版株式会社, 東京, 188-191 (2000)