

MALDI-8030を用いたお菓子/キャンディ中に含まれるスルホン化アゾ色素の検出

S. Salivo¹、脇華菜
¹KRATOS ANALYTICAL LTD.

ユーザーベネフィット

- ◆ 安価な卓上型MALDI-TOFによる、スルホン化アゾ色素のシンプルで簡単な解析がおこなえます。
- ◆ 負イオンモードで良好な分解能と精度をもつ良質なスペクトルを得られます。
- ◆ 食品に含まれる規制対象の色素の検出に役立つワークフローです。

■はじめに

合成色素は食品、製菓そして化粧品産業などで広く使われる添加剤の一つです。食品産業において色素は1) 食品をより魅力的で食欲をそそるものにする、2) 既に存在する色を与えたり強調する、3) 色の自然な変化を補正する、などの用途で使われます。それらの中でもスルホン化アゾ色素は安定性、水への溶解性および低コストのため広く用いられています。

色素はその安全性とヒトの健康への有害作用に関して、世界中の様々な団体による厳しい規制の対象となっています。例えば、アメリカでは食品、医薬品や化粧品に使用する色素の承認はアメリカ食品医薬品局 (FDA) が担当しており、ヨーロッパでは欧州食品安全機関が規制しています。

承認されている様々な品色素の中でも、子供の注意欠陥多動性障害 (ADHD) に関連する可能性があるとして、科学的研究に基づいてフラグが立てられているものがいくつかあります。サンセットイエローFCF (E110)、タートラジン (E102)、アルラレッドAC (E129) などです。これらの色素はEUで完全に禁止されていませんが、食品メーカーは懸念される色素を含む製品に警告ラベルの付与を要求されています。

本稿では、卓上型両極性リニアモード専用機MALDI-TOFMSであるMALDI-8030 が、これらの色素を含むことが知られている市販のお菓子/キャンディ中のスルホン化アゾ色素 (表1) の存在を検出するための能力を実証しました。色素はイオンペア抽出により選択的に抽出され¹⁾、負イオンモードで分析をおこないました。

表1. 使用した市販のキャンディの成分で報告されている色素のリスト

一般名	E 番号 ^b	許可状況	色
サンセットイエローFCF (黄色5号、FD&C ^a Yellow 6)	E110	EUでは警告ラベルの付与が必要 米国で承認	
タートラジン (黄色4号、FD&C Yellow 5)	E102	EUでは警告ラベルの付与が必要 米国で承認	
アルラレッドAC (赤色40号、FD&C Red 40)	E129	EUでは警告ラベルの付与が必要 米国で承認	
ブリリアントブルーFCF (青色1号、FD&C Blue 1)	E133	EUと米国で承認	
インジゴカルミン (青色2号、FD&C Blue 2)	E132	EUと米国で承認	

a: FDA (米国) により食品、医薬品、化粧品への使用が承認されている
b: 欧州食品安全機関により食品への使用が承認されている

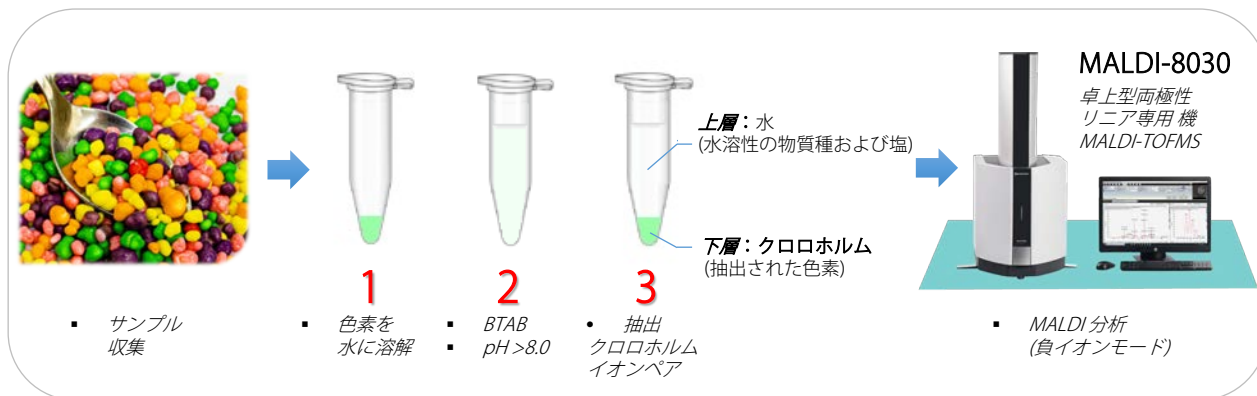


図1. 市販のお菓子/キャンディ中のスルホン化アゾ色素の検出のためのサンプル調製および分析のワークフロー

■ 測定条件とサンプル

アメリカ製の市販のキャンディサンプルはスーパーマーケットで購入しました。各種スルホン化アゾ色素の標準品はメルクラライフサイエンスから購入しました。

- ・サンセットイエローFCF (色素含有量90%)
- ・アウラレッドAC (色素含有量80%)
- ・タートラジン (色素含有量≥85%)
- ・プリリアントブルーFCF

イオンペア抽出に用いた試薬は、10 mM ベンジルトリブチルアンモニウムブロミド (BTAB)^[1]、pH調整用の1 M 水酸化ナトリウム (NaOH) 溶液です。個々の色素標準品のストック溶液は1:1の水/メタノール溶液中に1 mg/mLになるよう調整しました。

図1にサンプル調製のワークフローを示します。イオンペア抽出法は最初に色素標準品で最適化と検証が行われました。キャンディの内部コアが露出するまで、キャンディー中の色素をボルテックスで水に溶解しました。各色のキャンディは別々に抽出されました。溶解した色素を含む水溶液を吸引してマイクロチューブに移し、そこでBTAB (10 mM) を加えて、1 M NaOHでpHを8.0以上に調整しました (図1、手順2)。次にクロロホルムを加え、二相溶液を攪拌し、スルホン化アゾ色素のイオンペアの形成およびその後のクロロホルム中での抽出を促進しました (図1、手順3)。

遠心後、上部の水層を廃棄し、抽出された色素を含む下部の有機層を分析のために回収しました。

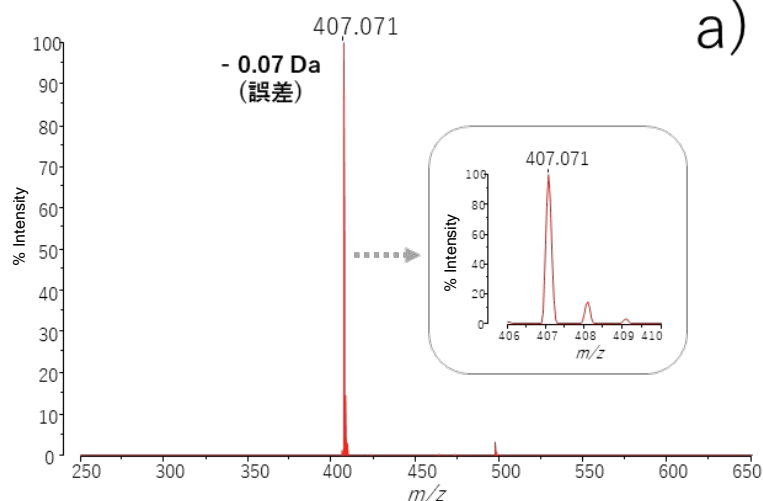
MALDI分析では、サンプルは9-アミノアクリジン (9-AA, 10 mg/mL メタノール溶液) とスポットしました。すべての分析はMALDI-8030の負イオンモードでおこないました。

■ スルホン化アゾ色素標準品の分析結果

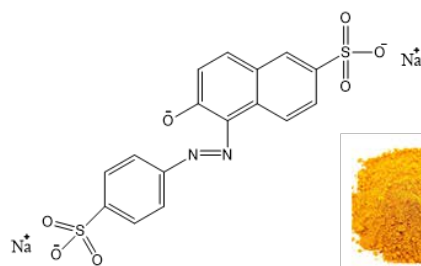
図2はイオンペア抽出後のスルホン化アゾ色素標準品から得られた負イオンモードのMALDIスペクトルを示します。[サンセットイエローFCF (図2 a)、アウラレッドAC (図2 b)、タートラジン (図2 c)、プリリアントブルーFCF (図2 d)]

検出された m/z は、イオンペア抽出の結果としてナトリウムイオンを除去した後の壊れていない化学物質種に対応します。すべての色素標準品は良好な質量精度で、モノアイソトピックイオン種として検出できました。

- サンセットイエローFCF (m/z 407.001, exact: m/z 407.071, detected: -0.07 Da誤差)
- アウラレッドAC (m/z 451.027, exact: m/z 451.008, detected: 0.019 Da誤差)
- タートラジン (m/z 466.997, exact: m/z 467.017, detected: -0.02 Da誤差)
- プリリアントブルーFCF (m/z 747.151, exact: m/z 747.152, detected: -0.001 Da誤差)

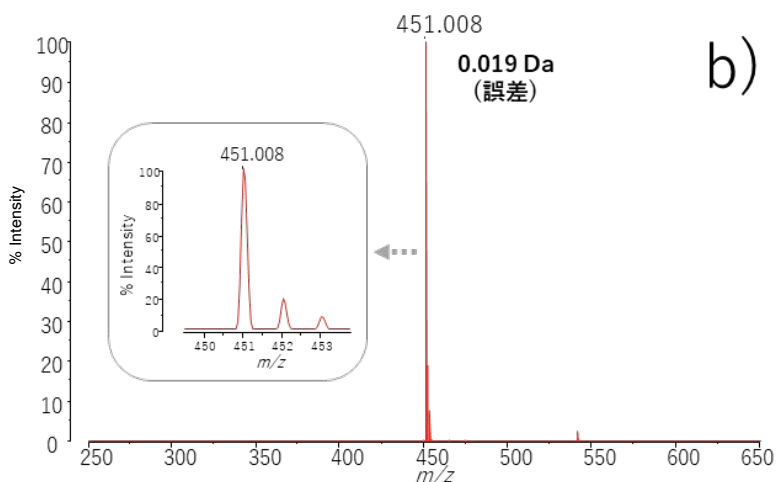


a)

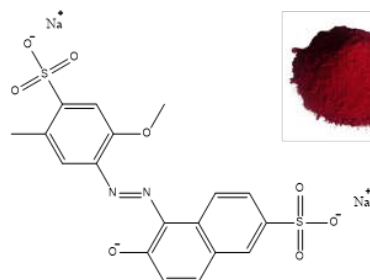


サンセットイエローFCF
(FD&C Yellow 6, E110)
[M - H]⁻ m/z 407.001*

*理論質量 (Na⁺ イオンなし)



b)



アウラレッドAC
(FD&C Red 40, E129)
[M - H]⁻ m/z 451.027*

*理論質量 (Na⁺ イオンなし)

図2. (次のページに続く) イオンペア抽出後のスルホン化アゾ色素標準品の負イオンモードMALDIスペクトル
a) サンセットイエローFCF (黄色5号、FD&C Yellow 6、E110)、b) アウラレッドAC (赤色40号、FD&C Red 40、E129)

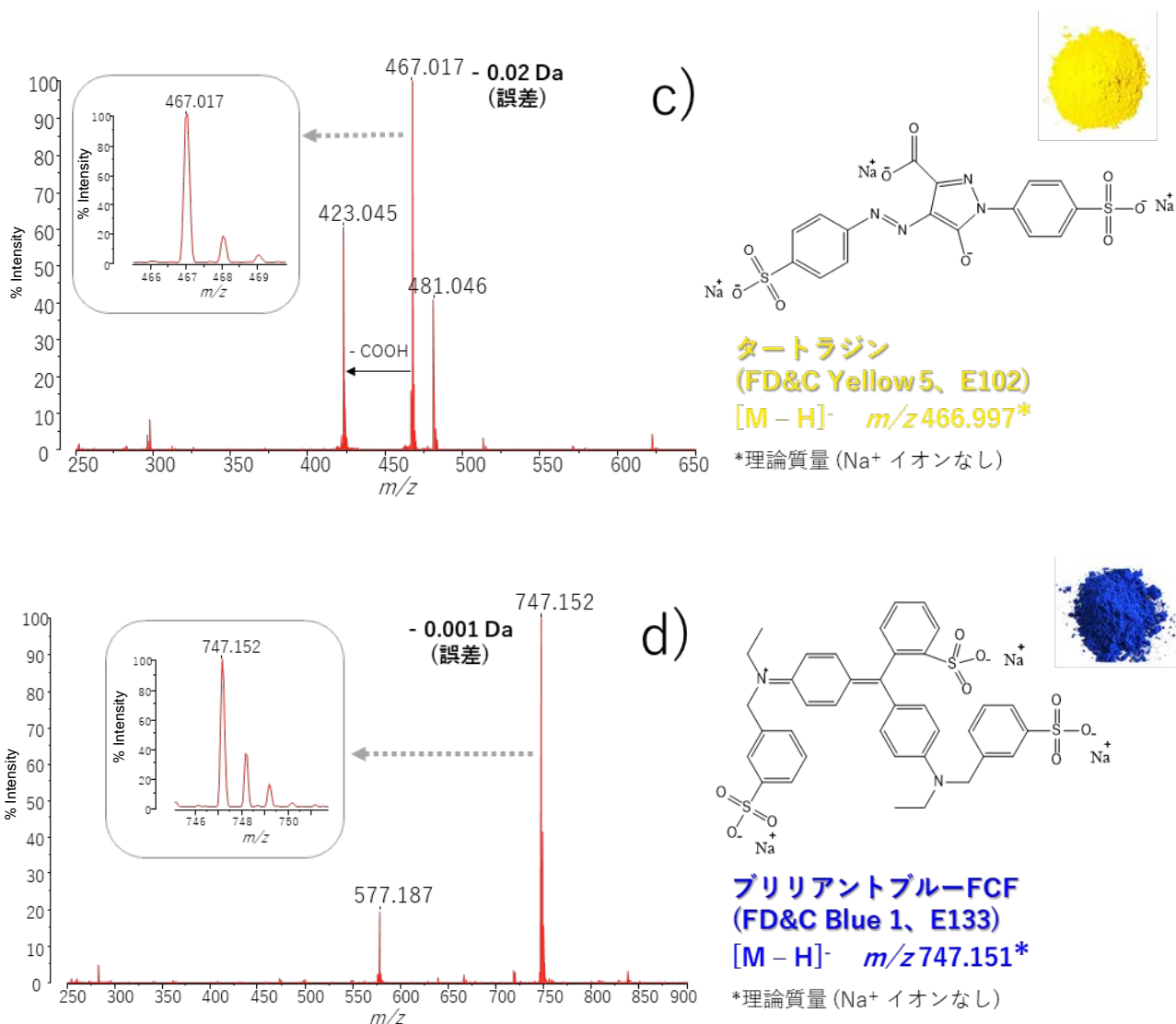


図2. (前項から続く) イオンペア抽出後のスルホン化アゾ色素標準品の負イオンモードMALDIスペクトル
c) タートラジン (黄色4号、FD&C Yellow 5、E102)
d) ブリリアントブルーFCF (青色1号、FD&C Blue 1、E133)
正確なm/z値を、ナトリウムイオンを除いた後のモノアイソトピック質量として計算した。
モノアイソトピック質量として計算した理論値からの誤差 (Da)も図中に記載した。

■キャンディのスルホン化アゾ色素分析結果

図3 はキャンディから抽出されたスルホン化アゾ色素から得られた負イオンモードのMALDIスペクトルを示します。各キャンディに含まれるすべての色素は、その色と一致しています。

- i. オレンジ色のキャンディ：サンセットイエローFCF
- ii. ピンク色のキャンディ：アルラレッドAC
- iii. 紫いろのキャンディ：ブリリアントブルーFCFとインジゴカルミン (青色2号、FD&C Blue 2、E132) の青色色素と、赤の色素のアルラレッドACを含む
- iv. 黄色のキャンディ：黄色のタートラジン色素を含む
- v. 緑色のキャンディ：黄色のタートラジンと青色のブリリアントブルーFCFの色素の組み合わせを含む

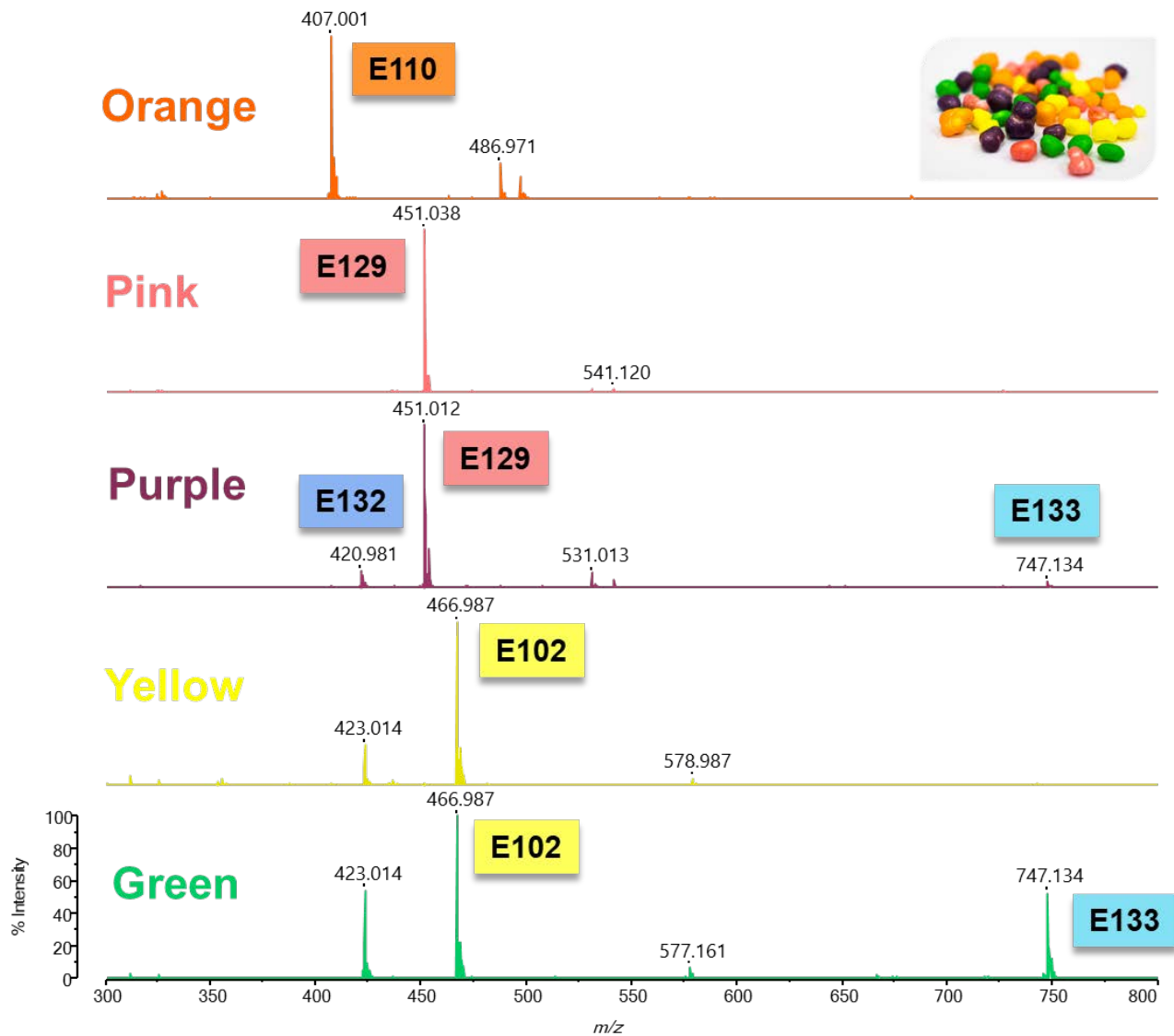


図3. 市販のキャンディから抽出した、スルホン化アゾ色素の負イオンモードMALDIスペクトル
MALDI分析で検出された色素の含有は、キャンディの色と一致している

■まとめ

このアプリケーションは、お菓子/キャンディ中のスルホン化アゾ色素を検出するためのMALDI-8030の能力を示しました。

ここに提示した、選択的抽出メソッドと負イオンモードによる検出を組み合わせることで、食品産業において安全な使用のために厳しく規制されている、菓子製品のアゾ色素含有量に関する定性的情報を得るための簡単で迅速な方法を提供します。

■参考文献

- 1) Arroyo Negrete, M.A. et al., Anal Bioanal Chem 411, 5833–5843 (2019).