ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
ประกาศกระทรวงสาธารณสุข
ฉบับที่ 281 (พ.ศ. 2547)
เรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร

(สำเนา)

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข

(ฉบับที่ 281) พ.ศ. 2547

เรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร

โดยที่เป็นการสมควรปรับปรุงประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง สีผสมอาหาร วัตถุที่ใช้ปรุงแต่งรสอาหาร และวัตถุเจือปนอาหาร ให้เหมาะสมกับสภาวการณ์ในปัจจุบันและเพิ่มประสิทธิภาพในการคุ้มครองผู้บริโภคยิ่งขึ้น

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา 5 และมาตรา 6(1)(2)(4)(5)(6)(7)(9) และ (10) แห่งพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ.2522 อันเป็นพระราชบัญญัติที่มีบทบัญญัติบางประการเกี่ยวกับการจำกัดสิทธิและเสรีภาพของบุคคล ซึ่งมาตรา 29 ประกอบกับมาตรา 35 มาตรา 39 มาตรา 48 และมาตรา 50 ของรัฐธรรมนูญแห่งราชอาณาจักรไทยบัญญัติให้กระทำได้โดยอาศัยอำนาจตามบทบัญญัติแห่งกฎหมาย รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขออกประกาศไว้ ดังต่อไปนี้

ข้อ 1 ให้ยกเลิก

(1) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 21 (พ.ศ.2522) เรื่อง กำหนดสีผสมอาหาร เป็นอาหารควบคุมเฉพาะและกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน การใช้ การผสม และฉลาก ลงวันที่ 13 กันยายน พ.ศ.2522

(2) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 38 (พ.ศ.2522) เรื่อง กำหนดวัตถุที่ใช้ปรุงแต่งรสอาหาร เป็นอาหารควบคุมเฉพาะและกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน ลงวันที่ 13 กันยายน พ.ศ.2522

(3) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 55 (พ.ศ.2524) เรื่อง แก้ไขเพิ่มเติมประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 21 (พ.ศ.2522) ลงวันที่ 2 มกราคม พ.ศ.2524

(4) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 66 (พ.ศ.2525) เรื่อง แก้ไขเพิ่มเติมประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 55 (พ.ศ.2524) ลงวันที่ 11 มกราคม พ.ศ.2525

(5) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84 (พ.ศ.2527) เรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร ลงวันที่ 25 ธันวาคม พ.ศ.2527

(6) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 119 (พ.ศ.2532) เรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร (ฉบับที่ 2) ลงวันที่ 8 กุมภาพันธ์ พ.ศ.2532

ข้อ 2 ให้วัตถุเจือปนอาหาร (Food Additive) เป็นอาหารควบคุมเฉพาะ

ข้อ 3 วัตถุเจือปนอาหาร หมายความว่า วัตถุที่ตามปกติมิได้ใช้เป็นอาหารหรือเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของอาหาร ไม่ว่าวัตถุนั้นจะมีคุณค่าทางอาหารหรือไม่ก็ตาม แต่ใช้เจือปนในอาหารเพื่อประโยชน์ทางเทคโนโลยีการผลิต การแต่งสีอาหาร การปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร การบรรจุ การเก็บรักษา หรือการขนส่ง ซึ่งมีผลต่อคุณภาพหรือมาตรฐานหรือลักษณะของอาหาร ทั้งนี้ให้หมายความรวมถึงวัตถุที่มิได้เจือปนในอาหาร แต่มีภาชนะบรรจุไว้เฉพาะแล้วใส่รวมอยู่กับอาหารเพื่อประโยชน์ดังกล่าวข้างต้นด้วย เช่น วัตถุกันชื้น วัตถุดูดออกซิเจน เป็นต้น

ความในวรรคหนึ่ง ไม่รวมถึงสารอาหารที่เติมเพื่อเพิ่มหรือปรับให้คงคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต วิตามิน เกลือแร่

ข้อ 4 วัตถุเจือปนอาหาร ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานตามเงื่อนไขใดเงื่อนไขหนึ่ง ดังต่อไปนี้

(1) ตามที่กำหนดไว้ใน Codex Advisory Specification for the Identity and Purity of Food Additives

(2) ตามประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา โดยความเห็นชอบของคณะกรรมการอาหาร

(3) ตามที่ได้รับความเห็นชอบจากคณะอนุกรรมการเพื่อศึกษาวิเคราะห์ปัญหาและวินิจฉัยในเชิงวิชาการเกี่ยวกับอาหาร โดยผู้ผลิตหรือผู้นำเข้าจะต้องส่งมอบผลการประเมินความปลอดภัยของวัตถุเจือปนอาหารชนิดนั้น พร้อมรายละเอียดข้อมูลประกอบการยื่นขอ ดังนี้

(3.1) การระบุส่วนประกอบและลักษณะทางเคมีของวัตถุเจือปนอาหารที่นำมาประเมินความปลอดภัยโดยมีรายละเอียด ดังนี้

(3.1.1) เอกลักษณ์และความบริสุทธิ์ของวัตถุเจือปนอาหารที่ใช้ในการทดสอบความเป็นพิษ เพื่อประเมินความปลอดภัย (Identity and Purity)

(3.1.2) ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นและวิถีของวัตถุเจือปนอาหารนั้น ๆ ในอาหาร (Reactions and Fate of Food Additives in Food)

(3.1.3) ข้อกำหนดคุณลักษณะเฉพาะของวัตถุเจือปนอาหาร (Specifications)

(3.2) กระบวนการทดสอบและการประเมินความปลอดภัย โดยแสดงรายละเอียดดังนี้

(3.2.1) ระบุตัวชี้วัดในการทดลองและการศึกษาข้อมูลเรื่องการเกิดพิษ ดังต่อไปนี้

(ก) ผลกระทบต่อหน้าที่การทำงานของร่างกาย (Functional Manifestations)

(ข) การก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างลักษณะ (Morphological Manifestations)

(ค) การก่อมะเร็ง (Neoplasms)

(ง) ความเป็นพิษต่อระบบสืบพันธุ์และการพัฒนาการของร่างกาย (Reproduction and Developmental Toxicity)

(จ) ผลการศึกษานอกสัตว์ทดลอง (*In Vitro* Studies)

(3.2.2) การนำข้อมูลด้านการเปลี่ยนแปลงในร่างกายและเภสัชจลนศาสตร์ของวัตถุเจือปนอาหารนั้น ๆ มาใช้ในการประเมินความปลอดภัย (The Use of Metabolic and Pharmacokinetic Studies in Safety Assessment) โดยกล่าวถึงในประเด็น ดังต่อไปนี้

(ก) ชนิดของสัตว์ที่นำมาใช้ในการศึกษาทดลองว่ามีความเทียบเคียงกับมนุษย์ได้หรือไม่ มากน้อยเพียงใด (Identifying Relevant Animal Species)

(ข) กลไกการเกิดพิษของวัตถุเจือปนอาหารที่ประเมิน (Determining the Mechanisms of Toxicity)

(ค) การเปลี่ยนแปลงของวัตถุเจือปนอาหารนั้น ๆ ในร่างกาย (Metabolism into Normal Body Constituents)

(ง) ผลกระทบของจุลินทรีย์ที่อยู่ในทางเดินอาหารต่อวัตถุเจือปนอาหารนั้น ๆ และผลกระทบของวัตถุเจือปนอาหารนั้น ๆ ต่อจุลินทรีย์ที่อยู่ในทางเดินอาหาร (Effects of the Gut Microflora on the Chemical and Effects of the Chemical on the Gut Microflora)

(3.2.3) อิทธิพลของอายุ ภาวะโภชนาการ และภาวะสุขภาพของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ศึกษาทดลองต่อการแปลผลการศึกษา และลักษณะของการออกแบบการศึกษาทดลอง (Influence of Age, Nutritional Status, and Health Status in the Design and Interpretation of Studies)

(3.2.4) ข้อมูลการศึกษาในมนุษย์ที่นำมาใช้ในการประเมินความปลอดภัย ดังต่อไปนี้

(ก) การศึกษาทางระบาดวิทยา (Epidemiological Studies)

(ข) อาการไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้นจากการรับประทานอาหารที่มีวัตถุเจือปนอาหารนั้น ๆ เป็นส่วนประกอบอยู่ (Food Intolerance)

(3.2.5) การกำหนดค่าที่ปลอดภัยสำหรับมนุษย์ในการรับสัมผัสโดยการรับประทานต่อวัน (Acceptable Daily Intake: ADI) โดยกล่าวถึงข้อมูลที่นำมาใช้ในการกำหนดค่า ดังต่อไปนี้

(ก) ค่าของขนาดสูงสุดที่ให้แก่สัตว์ทดลองแล้วไม่สังเกตเห็นความผิดปกติ (No-observed-effect level: NOEL) ที่ใช้

(ข) การใช้องค์ประกอบความปลอดภัย (Safety factor) ในการคำนวณ

(ค) การพิจารณาถึงความเป็นพิษและปฏิกิริยาการตอบสนองของร่างกาย (Toxicological versus physiological responses)

(ง) การเปรียบเทียบค่าที่ปลอดภัยสำหรับมนุษย์ในการรับสัมผัสโดยการรับประทานต่อวัน (ADI) ที่กำหนดขึ้นกับแนวโน้มที่มนุษย์จะมีโอกาสได้รับสัมผัสวัตถุเจือปนอาหารนั้น ๆ จริง

ข้อ 5 วัตถุเจือปนอาหารต้องมีวิธีการตรวจวิเคราะห์เป็นไปตามที่กำหนดไว้ใน Codex Advisory Specification for the Identity and Purity of Food Additives กรณีการใช้วิธีการตรวจวิเคราะห์ที่แตกต่างไปจากข้อกำหนดดังกล่าว ต้องเป็นวิธีการตรวจวิเคราะห์ตามประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา โดยความเห็นชอบของคณะกรรมการอาหาร

ข้อ 6 การใช้วัตถุเจือปนอาหาร ต้องใช้ตามชนิดวัตถุเจือปนอาหาร ชนิดของอาหาร และปริมาณสูงสุดที่ให้ใช้ได้ ตามเงื่อนไขใดเงื่อนไขหนึ่ง ดังต่อไปนี้

6.1 ตามมาตรฐานทั่วไปสำหรับการใช้วัตถุเจือปนอาหารของโคเด็กซ์ (Codex General Standard for Food Additives) ฉบับล่าสุด

6.2 ตามประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา โดยความเห็นชอบของคณะกรรมการอาหาร

6.3 การใช้วัตถุเจือปนอาหารนอกเหนือจากข้อ 6.1 และ 6.2 ต้องได้รับความเห็นชอบจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา

ข้อ 7 การใช้วัตถุเจือปนอาหารที่แตกต่างไปจากที่กำหนดไว้ในข้อ 6 และได้รับความเห็นชอบจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาไปก่อนวันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ ให้ผู้ที่ได้รับความเห็นชอบดังกล่าวต้องแก้ไขปรับปรุงการใช้วัตถุเจือปนอาหารให้เป็นไปตามประกาศฉบับนี้ ภายในหนึ่งปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ

ข้อ 8 ผู้ผลิตหรือผู้นำเข้าวัตถุเจือปนอาหารเพื่อจำหน่าย ต้องปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง วิธีการผลิต เครื่องมือเครื่องใช้ในการผลิต และการเก็บรักษาอาหาร

ข้อ 9 การใช้ภาชนะบรรจุวัตถุเจือปนอาหาร ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ภาชนะบรรจุ

ข้อ 10 การแสดงฉลากวัตถุเจือปนอาหาร ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ฉลาก

ข้อ 11 ประกาศฉบับนี้ ไม่ใช้บังคับกับวัตถุแต่งกลิ่นรส (flavoring agents) ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วย เรื่อง วัตถุแต่งกลิ่นรส

ข้อ 12 ใบสำคัญการขึ้นทะเบียนตำรับอาหาร ฉลากอาหาร หรือเลขสารบบอาหาร ซึ่งได้ออกไว้แล้วและไม่ขัดหรือแย้งกับประกาศนี้ให้คงใช้ต่อไปได้ กรณีที่ขัดหรือแย้งกับประกาศนี้ให้ใช้ได้ไม่เกินหนึ่งปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ

ข้อ 13 ประกาศนี้ ให้ใช้บังคับตั้งแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ 18 สิงหาคม พ.ศ. 2547

(ลงชื่อ) สุดารัตน์ เกยุราพันธุ์

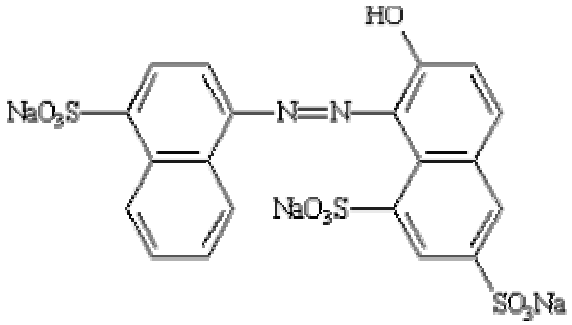
(นางสุดารัตน์ เกยุราพันธุ์)
รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข

(คัดจากราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่ม 121 ตอนพิเศษ 97 ง. ลงวันที่ 6 กันยายน พ.ศ.2547)

รับรองสำเนาถูกต้อง
จิรารัตน์ เทศะศิลป์
(นางสาวจิรารัตน์ เทศะศิลป์)
นักวิชาการอาหารและยา 6 ว.

PONCEAU 4R

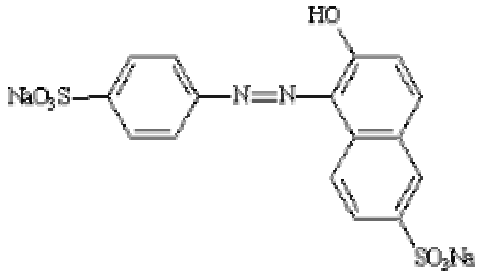
Prepared at the 28th JECFA (1984), published in FNP 31/1 (1984) and in FNP 52 (1992). Metals and arsenic specifications revised at the 59th JECFA (2002). An ADI of 0-4 mg/kg bw was established at the 27th JECFA (1983)

SYNONYMS	CI Food Red 7, Cochineal Red A, New Coccine; CI (1975) No. 16255; INS No. 124
DEFINITION	Consists essentially of trisodium d-2-hydroxy-1-(4-sulfonato-1- naphthylazo)-6,8-naphthalenedisulfonate, and subsidiary colouring matters together with sodium chloride and/or sodium sulfate as the principal uncoloured components. May be converted to the corresponding aluminium lake in which case only the *General Specifications for Aluminium Lakes of Colouring Matters* shall apply.
Chemical names	Trisodium-2-hydroxy-1-(4-sulfonato-1-naphthylazo)-6,8-Naphthalenedisulfonate
C.A.S. number	2611-82-7
Chemical formula	$C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3 \cdot 1.5\ H_2O$
Structural formula	
Formula weight	631.51
Assay	Not less than 85% total colouring matter
DESCRIPTION	Reddish powder or granules
FUNCTIONAL USES	Colour
CHARACTERISTICS	
IDENTIFICATION	
Solubility (Vol. 4)	Soluble in water; sparingly soluble in ethanol
Identification of colouring matters (Vol. 4)	Passes test
PURITY	
Loss on drying at 135º (Vol.4)	Not more than 20% together with chloride and sulfate calculated as sodium salts

Water insoluble matter (Vol. 4)	Not more than 0.2%
Lead (Vol. 4)	Not more than 2 mg/kg Determine using an atomic absorption technique appropriate to the specified level. The selection of sample size and method of sample preparation may be based on the principles of the method described in Volume 4, “Instrumental Methods.”
Subsidiary colouring matters (Vol.4)	Not more than 1% Use the following conditions: Developing solvent: No. 3 Height of ascent of solvent front: 17 cm, then 1 h further development
Organic compounds other than colouring matters (Vol.4)	Not more than0.5% of sum of: 4-amino-1-naphthalenesulfonic acid, 7-hydroxy-1,3-naphthalenedisulfonic acid , 3-hydroxy-2,7-naphthalenesulfonic acid, 6- hydroxy-2-naphthalenesulfonic acid, 7-hydroxy-1,3,6-naphthalenetrisulfonic acid Use *liquid chromatography* under the following conditions: HPLC elution gradient: 2 to 100% at 2% per min (linear)
Unsulfonated primary aromatic amines (Vol. 4)	Not more than 0.01% calculated as aniline
Ether extractable matter (Vol. 4)	Not more than 0.2%
METHOD OF ASSAY	Proceed as directed under *Total Content by Titration with Titanous Chloride* in Volume 4, using the following: Weight of sample: 0.7-0.8 g Buffer: 10 g sodium citrate Weight (D) of colouring matters equivalent to 1.00 ml of 0.1 N $TiCl_3$: 15.78 mg

SUNSET YELLOW FCF

Prepared at the 28th JECFA (1984), published in FNP 31/1 (1984) and in FNP 52 (1992). Metals and arsenic specifications revised at the 59th JECFA (2002). An ADI of 0-2.5 mg/kg bw was established at the 26th JECFA (1982)

SYNONYMS	CI Food Yellow 3, FD&C Yellow No. 6, Crelborange S, CI (1975) No. 15985, INS No. 110
DEFINITION	Consists essentially of disodium 6-hydroxy-5-(4-sulfonatophenylazo)-2- naphthalene-6-sulfonate and subsidiary colouring matters together with sodium chloride and/or sodium sulfate as the principal uncoloured components. May be converted to the corresponding aluminium lake in which case only the *General Specifications for Aluminium Lakes of Colouring Matters* apply.
Chemical names	Disodium 6-hydroxy-5-(4-sulfonatophenylazo)-2-naphthalene-sulfonate
C.A.S. number	2783-94-0
Chemical formula	$C_{16}H_{10}N_2Na_2O_7S_2$
Structural formula	
Formula weight	452.38
Assay	Not less than 85% total colouring matters
DESCRIPTION	Orange-red powder or granules
FUNCTIONAL USES	Colour

CHARACTERISTICS

IDENTIFICATION

Solubility (Vol. 4)	Soluble in water; sparingly soluble in ethanol

Identification of colouring matters (Vol. 4)	Passes test
PURITY	
Loss on drying at 135º	Not more than 15% together with chloride and sulfate (Vol. 4) calculated as sodium salts
Water insoluble matter (Vol. 4)	Not more than 0.2%
Lead (Vol. 4)	Not more than 2 mg/kg Determine using an atomic absorption technique appropriate to the specified level. The selection of sample size and method of sample preparation may be based on the principles of the method described in Volume 4, "Instrumental Methods."
Subsidiary colouring matters (Vol. 4)	Not more than 5% Not more than 2% shall be colours other than trisodium 2-hydroxy-1-(4- sulfonatophenylazo)naphthalene-3,6-disulfonate Use the following conditions: Developing solvent: No. 4 Height of ascent of solvent front: approximately 17 cm
Organic compounds other than colouring matters	Not more than 0.5%, sum of 4-amino-1-benzenesulfonic acid, 3-hydroxy-2,7-naphthalenedisulfonic acid, 6-hydroxy-2-naphthalenesulfonic acid, 7- hydroxy-1,3-naphthalenedisulfonic acid, 4,4'-diazoaminodibenzenesulfonic acid, 6,6'-oxydi-2-naphthalenesulfonic acid
Unsulfonated primary aromatic amines (Vol. 4)	Not more than 0.01% calculated as aniline
Ether extractable matter (Vol. 4)	Not more than 0.2%
METHOD OF	Proceed as directed under *Total Content by Titration* **ASSAY** *with Titanous Chloride* (see Volume 4), using the following: Weight of sample: 0.5-0.6 g Buffer: 10 g sodium citrate Weight (D) of colouring matters equivalent to 1.00 ml of 0.1 N $TiCl_3$:11.31 mg

BRILLIANT BLUE FCF

Prepared at the 28th JECFA (1984), published in FNP 31/1 (1984) and in FNP 52 (1992). Metals and arsenic specifications revised at the 59th JECFA (2002). An ADI of 0-1 mg/kg bw was established at the 13th JECFA (1969)

SYNONYMS CI Food Blue 2, FD&C Blue No.1, CI (1975) No. 42900, INS No. 133

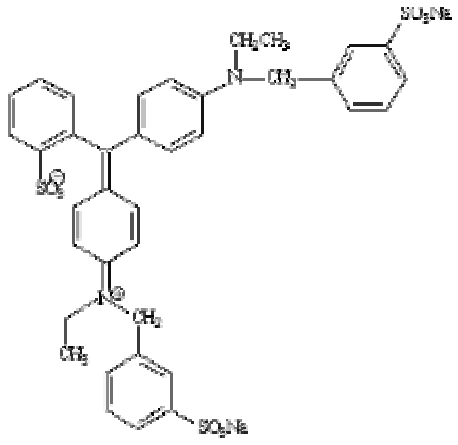
DEFINITION Consists essentially of Disodium 3-[N-ethyl-N-[4-[[4-[N-ethyl-N-(3- sulfonatobenzyl)-amino] phenyl] (2-sulfonatophenyl)methylene]-2,5- cyclohexadiene-1-ylidene] ammoniomethyl] benzenesulfonate and its isomers and subsidiary colouring matters together with sodium chloride and/or sodium sulfate as the principal uncoloured components.May be converted to the corresponding aluminium lake in which case only the *General Specifications for Aluminium Lakes of Colouring Matters* apply.

Chemical names isodium 3-[N-ethyl-N-[4-[[4-[N-ethyl-N-(3-sulfonatobenzyl)-amino]phenyl](2-sulfonatophenyl)methylene]-2,5-cyclohexa-diene-1-ylidene]ammoniomethyl]- benzenesulfonate;Disodium I-[4-(N-ethyl-3-sulfonatobenzylamino)phenyl]-I- [4-(N-ethyl-3- sulfonatobenzyliminio)cyclohexa-2,5-dienyli-dene]toluene-2-sulfonate (an alternative chemical name)

C.A.S. number 844-45-9

Chemical formula $C_{37}H_{34}N_2Na_2O_9S_3$

Structural formula



Formula weigh 792.86

Assay Not less than 85% total colouring matter

DESCRIPTION Blue powder or granules

FUNCTIONAL USES Colour

CHARACTERISTICS

IDENTIFICATION	
Solubility (Vol. 4)	Soluble in water; slightly soluble in ethanol
Identification of colouring matters (Vol. 4)	Psses test
PURITY	
Loss on drying (Vol. 4)	Not more than 15% at 135^{o} together with chloride and sulfate calculated as sodium salts
Water insolublematter (Vol. 4)	Not more than 0.2%
Lead (Vol. 4)	Not more than 2mg/kg Determine using an atomic absorption technique appropriate to the specified level. The selection of sample size and method of sample preparation may be based on the principles of the method described in Volume 4, “Instrumental Methods.”
Chromium (Vol. 4)	Not more than 50 mg/kg
Subsidiary colouring matters (Vol. 4)	Not more than 6% Use the following conditions: Developing solvent: No. 4. Develop chromatogram for approximately 20 hours
Organic compounds other than colouring matters (Vol. 4)	Not more than 1.5%, sum of 2-, 3- and 4-formylbenzenesulfonic acids. Not more tan 0.3% 3-[[N-ethyl-N-(4-sulfophenyl) amino] methyl] benzenesulfonic acid. Proceed as directed under *Column Chromatography*. The following absorptivities may be used: 3-formylbenzenesulfonic acid: 0.0495 mg/L/cm at 246 nm in dilute HCl. 3-[[N-ethyl-N-(4-sulfophenyl)amino] methyl] benzenesulfonic acid: 0.078 mg/L/cm at 277 nm in dilute ammonia.
Leuco base (Vol. 4)	Not more than 5% Weigh accurately 120±5 mg of sample and proceed as directed under *Leuco Base in Sulfonated Triarylmethane Colours* Absorptivity (a) = 0.164 mg/L/cm at approximately 630 nm Ratio = 0.9706
Unsulfonated primary aromatic amines (Vol. 4)	Not more than 0.01% calculated as aniline
Ether extractable matter (Vol. 4)	Not more than 0.2%
METHOD OF ASSAY	Proceed as directed under *Total Content by Titration with Titanous Chloride,* Volume 4, using the following: Weight of sample: 1.8 - 1.9 g Buffer: 15 g sodium hydrogen tartrate Weight (D) of colouring matters equivalent to 1.00 ml of 0.1 N $TiCl_3$: 39.65 mg

Prepared at the 57th JECFA (2001) and published in FNP 52 Add 9 (2001), superseding tentative specifications prepared at the 55th JECFA (2000), published in FNP 52 Add 8 (2000). No ADI was allocated at the 30th JECFA (1986)

SYNONYMS NS No. 163 (iii)

DEFINITION Blackcurrant extract is obtained from blackcurrant pomace by aqueous extraction. The main colouring principles are four anthocyanins (cyanidin 3- rutinoside, delphinidin 3-rutinoside, cyanidin 3-glucoside, delphinidin 3- glucoside). Most of the extracted sugars are fermented to alcohol and practically all the alcohol is removed during the concentration of fermented extract by vacuum evaporation. During the extraction process, sulfur dioxide is used and residual sulfur dioxide may be present. Commercial products may be in the form of a concentrated liquid, a paste, or a spray-dried powder. The spray-dried powder may contain an added carrier such as maltodextrin or glucose syrup.

Chemical names

I. Cyanidin 3-rutinoside II. Delphinidin 3-rutinoside
III. Cyanidin 3-glucoside IV. Delphinidin 3-glucoside

C.A.S. number

I. 18719-76-1 II. 15674-58-5
III. 7084-24-4 IV. 6906-38-3

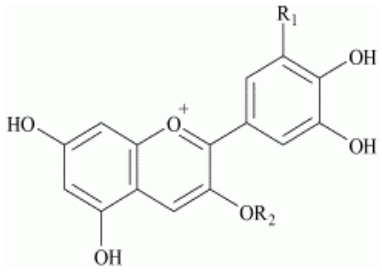
Chemical formula

I. $[C_{27}H_{31}O_{15}]^+ X^-$ II. $[C_{27}H_{31}O_{16}]^+ X^-$

III. $[C_{21}H_{21}O_{11}]^+ X^-$ IV. $[C_{21}H_{21}O_{12}]^+ X^-$

Where X^-= counter ion

Structural formula



I.R_1 = H, R_2 = rutinose II. R_1 = OH, R_2 = rutinose
III.R_1 = H, R_2 = glucose IV. R_1 = OH, R_2 = glucose

Assay The colour intensity is not less than declared.

DESCRIPTION Purplish-red liquid, paste or powder having a slight characteristic odour.

FUNCTIONAL USES Colour

CHARACTERISTICS

IDENTIFICATION

Solubility (Vol. 4) soluble in water and ethanol.

Spectrometry (Vol. 4)	At pH 3 the absorbance maximum is about 520 nm.
Colour reaction	Add 0.1 g of the sample to 50 ml of water and shake thoroughly. Filter if necessary. The solution shows red to purplish-red colour and it turns to blue or dark green on the addition of sodium hydroxide TS.
Chromatography	The retention times for the major two peaks in the chromatogram of sample solution correspond to those for cyanidin 3-rutinoside and delphinidin 3- rutinoside in the chromatogram of reference using the conditions described under TESTS.
PURITY Sulfur dioxide	Not more than 50 mg/kg for each unit of colour intensity. See description under TESTS and METHOD OF ASSAY.
Basic colouring matter	Add 1 g of the sample to 100 ml of 1% sodium hydroxide solution and shake well. Extract 30 ml of this solution with 15 ml ether. Extract the ether solution twice with 5 ml dilute acetic acid TS. The acetic acid extract is colourless.
Other acidic colouring matters	Add 1 ml of ammonia TS and 10 ml of water to 1 g of the sample Following the directions in Chromatography (FNP 5) place 2 µl of the solution on the chromatographic sheet and dry it. Use a mixture of pyridine and ammonia TS (2:1 by volume) as developing solvent and stop the development when the solvent front reaches about 15 cm height from the point where the sample solution was placed. No spot is observed in daylight at the solvent front after drying. If any spot is observed, it should be decolourized when sprayed with a solution of 40% stannous chloride in hydrochloric acid.
Lead (Vol. 4)	Not more than 2 mg/kgDetermine using an atomic absorption technique appropriate to the specified level. The selection of sample size and method of sample preparation may be based on the principles of the method described on Volume 4, "Instrumental methods".
TESTS IDENTIFICATION	
Chromatography	Determined by liquid chromatography (Volume 4) using the following procedure: Preparation of sample solution Dissolve 500 mg of sample into 25 ml of 0.3% HCl and wash with three volumes of ethyl acetate. Filter through a 0.45 µm filter. Preparation of reference solution Dissolve 2 mg of cyanidin 3-rutinoside and delphinidin 3-rutinoside into 10 ml of 0.3% HCl and filter through a 0.45 µm filter. Apparatus Liquid chromatograph equipped with a UV or diode array detector and an integrator. Conditions Column: Lichrosorb RP18 (length 25 cm, diameter 4.6 mm, particle size 5 µm) or equivalent Column temperature: 35° Mobile phase: Linear gradient from 40% B to 100% B during 20 min

A: Formic acid - water (10:90)
B: Formic acid - water - acetonitrile (10:75:15)
Flow rate: 0.8 ml/min
Injection volume: 10 µl
Wave length: 520 nm

PURITY TESTS

Sulfur dioxide

Distil 10 g of the sample with 100 ml of water and 25 ml of 30% phosphoric acid solution in a distilling flask with the Wagner tube. In an absorption flask, place 25 ml of 2% lead acetate solution previously prepared. Insert the lower end of the condenser into the lead acetate solution in the absorption flask. Distil until the liquid in the absorption flask reaches about 100 ml and rinsethe end of the condenser with a little amount of water. To the distilled solution add 5 ml of hydrochloric acid and 1 ml of starch TS, and titrate with 0.01 N iodine. Each ml of 0.01 N iodine is equivalent to 0.3203 mg of SO_2.

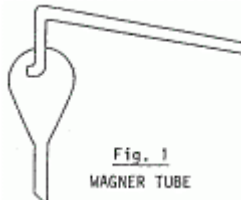


Fig. 1
WAGNER TUBE

METHOD OF ASSAY

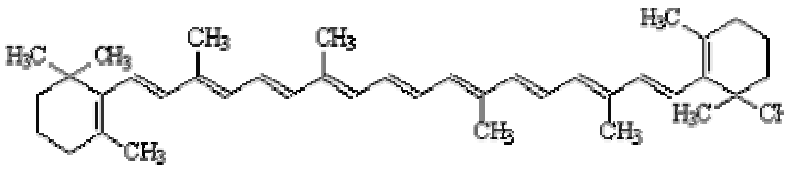
Prepare approximately 200 ml of pH 3.0 citric acid – dibasic sodium phosphate buffer solution: Mix 159 volumes of 2.1% citric acid solution and 41 volumes of 0.16% dibasic sodium phosphate solution, and adjust the pH to 3.0, using the citric acid solution or dibasic sodium phosphate solution.Weigh accurately an adequate amount of the sample so that the measured absorbance is between 0.2 and 0.7, and add pH 3.0 citric acid – dibasic sodium phosphate buffer solution to make up a 100-ml solution. Measure the absorbance A of this solution in a 1-cm cell at the wavelength of maximum absorption around 520 nm, using pH 3.0 citric acid - dibasic sodium phosphate buffer solution as the blank.

Colour intensity = [A x 10]/[weight of sample (g)

CAROTENES (Vegetable)

Prepared at the 51st JECFA (1998), published in FNP 52 Add 6 (1998)superseding specifications prepared at the 44th JECFA (1995), published in FNP 52 Add 3 (1995). ADI "acceptable", provided the level of use does not exceed the level normally found in vegetables, established at the 41st JECFAin 1993. Metals and arsenic specifications revised at the 59th JECFA (2002).

SYNONYMS	Natural ß-carotene, carotenes-natural; CI Food Orange 5, mixed carotenes, INS No. 160a(ii); CI (1975) No. 75130; CI (1975) No. 40800 (ß-Carotene)
DEFINITION	Carotenes (vegetable) are obtained by solvent extraction of carrots (*Daucus carota*), oil of palm fruit (*Elaeis guinensis*), sweet potato (*Ipomoea batatas*) and other edible plants with subsequent purification. The main colouring principles are alpha- and ß-carotenes of which ß-carotenes account for the major part. Minor amounts of gamma- and delta-carotenes and other pigments may be present. Besides the colour pigments, this substance may contain oils, fats and waxes naturally occurring in the source material. The only solvents used for the extraction are acetone, methanol, ethanol, propan-2-ol, hexane, carbon dioxide and vegetable oils. The main articles of commerce are solutions or suspensions in food grade vegetable/plant oil. This is for ease of use and to improve stability as carotenes easily oxidise.
Class	Carotenoid
C.A.S. number	7235-40-7
Chemical formula	$C_{40}H_{56}$ (ß-Carotene)
Structural formula	



all-*trans*-ß-Carotene

Formula weight	536.88 (ß-Carotene)
Assay	Content of carotenes (calculated as ß-carotene) is not less than declared
DESCRIPTION	Red-brown to brown or orange to dark orange solid or liquid
FUNCTIONAL USES	Colour

CHARACTERISTICS

IDENTIFICATION

Solubility (Vol. 4)	soluble in water
Spectrophotome(Vol. 4)	A cyclohexane solution of the sample (1 in 200,000) shows maximum absorptions at 440-457 and 470-48
Colour reaction	A spot of a solution of the sample in toluene (about 400 µg /ml of ß-carotene) on a filter paper turns blue 2-3 min after application of a spray or drop of 20% solution of antimony trichloride solution in toluene.

PURITY

Residual solvents (Vol. 4)	Not more than 50 mg/kg, singly or in combination, of acetone, hexane,methanol, ethanol and propan-2-ol
Lead (Vol. 4)	Not more than 2 mg/kg Determine using an atomic absorption technique appropriate to the specified level. The selection of sample size and method of sample preparation may be based on the principles of the method described in Volume 4, “Instrumental Methods.”
METHOD OF ASSAY	Proceed as directed under *Colouring Matters, Total Content by Spectrophotometry* in Volume 4, using the following conditions: W (g) = amount of the sample to obtain adequate absorbance $V_1 = V_2 = V_3 = 100$ ml $v_1 = v_2 = 5$ ml $A^{1\%}_{1\ cm} = 2500$ $\text{lambda}_{max} = 440\text{-}457$ nm

CHLOROPHYLLS, COPPER COMPLEXES

Prepared at the 31st JECFA (1987), published in FNP 38 (1988) and in FNP52 (1992). Metals and arsenic specifications revised at the 59th JECFA(2002). An ADI of 0-15 mg/kg bw was established at the 13th JECFA (1969)

SYNONYMS Copper chlorophyll, copper phaeophytin, CI Natural Green 3; C.I. (1975) No.75810, INS No. 141

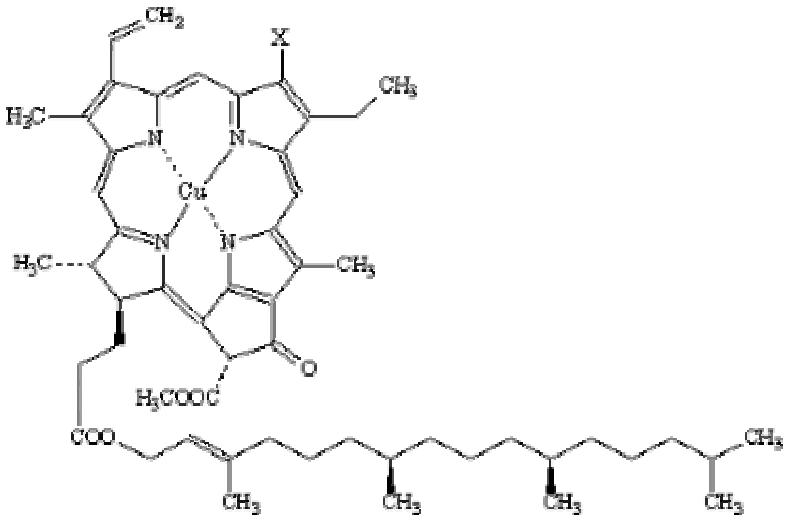
DEFINITION Obtained by addition of an organic salt of copper to the substance obtained by solvent extraction of grass, lucerne, nettle and other plant material; the product, from which the solvent has been removed, contains other pigments such as carotenoids as well as fats and waxes derived from the source material; the principal colouring matters are the copper phaeophytins.Only the following solvents may be used for the extraction: Acetone, dichloromethane, methanol, ethanol, propan-2-ol and hexane.

Chemical names [Phytyl (13^2R,17S,18S)-3-(8-ethyl-13^2-methoxycarbonyl-2,7,12,18-tetramethyl-13^1-oxo-3-vinyl-13^1,13^2,17,18-tetra-hydrocyclopenta [at]-prophyrin-17- yl)propionate] copper (II) (Copper chlorophyll a) [Phytyl (13^2R,17S,18S)-3-(8-ethyl-7-formyl-13^2-methoxycarbonyl-2,12,18- trimethyl-13^1-oxo-3-vinyl-13^1,13^2,17,18-tetrahydro-cyclopenta [at]prophyrin-17-yl)propionate] copper (II) (Copper chlorophyll b)

C.A.S. number 65963-40-8

Chemical formula Copper phaeophytin a: $C_{55}H_{72}CuN_4O_5$
Copper phaeophytin b: $C_{55}H_{70}CuN_4O_6$

Structural formula



Where X = CH_3 for the "a" compound
X = CHO for the "b" compound

Formula weight	Copper phaeophytin a: 932.75, Copper phaeophytin b: 946.73
Assay	Not less than 10% of total copper phaeophytins
DESCRIPTION	Waxy solid ranging in colour from blue green to dark green depending on the source material.
FUNCTIONAL USES	Colour
CHARACTERISTICS	
IDENTIFICATION	
Solubility (Vol. 4)	Insoluble in water; soluble in ethanol, diethyl ether, chloroalkanes, hydrocarbons and fixed oils
Spectrophotometry(Vol. 4)	A (1%, 1 cm) at 422 nm in chloroform is not less than 54.
Thin-layer chromatography	Apply a 1 in 20 solution of the sample in chloroform as a band of the length of 2 cm to a Silica 60C plate. After drying, develop the plate by a mixture of 50% hexane, 45% chloroform and 5% ethanol (general purpose reagent grade chloroform is supplied with 2% of added ethanol as a stabilizer. The 5% ethanol in the solvent mixture is in addition to this), until the solvent ascends to a point 15 cm above the initial spots. Allow the solvent to evaporate, then visually chromatography examine the separated spots and identify the components of interests by their R_f values and colours. Approximate R_f values and colour of the spots are as follows: Copper phaeophytin a: 0.5, green Copper phaeophytin b: 0.73, yellow/green In addition spots may be visible for ß-carotene at Rf 0.81 and xanthophyll at R_f 0.47 and 0.23.
PURITY	
Residual solvents (Vol. 4)	Acetone, methanol, ethanol, propan-2-ol, hexane: Not more than 50 mg/kg, singly or in combination Dichloromethane: Not more than 10 mg/kg Determine *gas chromatographically* using either the method of entrainment distillation (*Determination of Residual Solvents*) or headspace analysis (*Limit Test for Solvent Residues*)
Free ionizable copper	Not more than 200 mg/kg Accurately weigh about 1 g of the sample and dissolve in 20 ml of arachid oil, with the aid of gentle heat. Add exactly 200 ml of water, stir mechanically, and adjust to pH 3.0 by careful addition of 0.5 N hydrochloric acid (avoid over- shooting). Allow the mixture to stand for 10 min. If necessary readjust to pH 3.0 by careful addition of 0.5 N hydrochloric acid. Transfer to a separating funnel and allow to stand for about 20 min. Filter the aqueous phase through a No. 50 Whatman filter paper, rejecting the first 10 ml. Subject this solution to analysis for copper by *atomic absorption spectrometry* (see Volume 4)
Total copper	Not more than 8% of the total copper phaeophytins Ignite about 0.1 g, accurately weighed, of the sample contained

in a silica dish, at a temperature not exceeding 500º, until all carbon is removed; moisten with one or two drops of concentrated sulphuric acid and re-ash. Dissolve the ash by boiling with 3 portions (each of 5 ml) of 10% (w/w) hydrochloric acid, filtering each addition through the same small filter paper into a 100 ml volumetric flask. Cool, and make up to volume with purified water. Subject this solution to analysis for copper by *atomic absorption spectrometry* (see Volume4)

Arsenic (Vol. 4) — Not more than 3 mg/kg (Method II)

Lead (Vol. 4) — Not more than 5 mg/kg
Determine using an atomic absorption technique appropriate to the specified level. The selection of sample size and method of sample preparation may be based on the principles of the method described in Volume 4, “Instrumental Methods.

METHOD OF ASSAY

Accurately weigh about 100 mg of the sample and dissolve in diethyl ether, making the volume to 100 ml. Dilute 2 ml of this solution to 25 ml with diethyl ether. The concentration of the sample should not give an absorbance at 660.4 nm that is in excess of the working range for Absorbance measurements, i.e., not in excess of 0.7. Measure the absorbances (A) of the solution in a 1 cm cell against a diethyl ether blank at 667.2 nm, 654.4 nm, 649.8 nm and 628.2 nm. (The latter two wavelengths being the absorbance maxima in diethyl ether for copper phaeophytin a and copper phaeophytin b respectively).

Calculate the concentration of the individual compounds in micromoles per liter from the following equations:
Copper phaeophytin a = 45.6 A (649.8nm) - 2.75 A (628.2nm) + 3.10 A(667.2nm)- 35.4 A (654.4nm)
Copper phaeophytin b = -8.46 A (649.8nm)+ 20.7 A (628.2nm) - 1.69 A(667.2nm)+ 5.13 A (654.4nm)Convert the figures in micromoles per liter to percentages using the following equations:

$$\%\ copper\ phaeophytin\ a\ =\ \frac{micromoles\ x\ 0.9327\ x\ 12.5\ x\ 100}{mass\ of\ sample\ (mg)}$$