

## 2004年度「食品添加物一日摂取量調査」EDTA測定結果

竹下紀子 坪井 弘 大川一美 藤田晃三

### 1. 緒 言

当所では 1982 年度から厚生省（現 厚生労働省）を中心に行なっている「食品添加物一日摂取量調査研究」に参加し、各種の食品添加物を分析してきた。現在は平成 2002～2006 年度の 5 か年で全国 6 地方衛生研究所と国立医薬品食品衛生研究所で分担し調査を行なっている。

参加した地方衛生研究所は次の 6 機関である：札幌市衛生研究所、仙台市衛生研究所、東京都健康安全研究センター、香川県環境保健研究センター、北九州市環境科学研究所、沖縄県衛生環境研究所

2004 年度は加工食品を対象とし、酸化防止剤・防かび剤・その他（プロピレングリコール、縮合リン酸類）について調査を行なった。そのうち当所ではエチレンジアミン四酢酸類（エチレンジアミン四酢酸カルシウム二ナトリウム（EDTA-Ca）、エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム（EDTA-Na））を担当した。

EDTA-CaおよびEDTA-Naは酸化防止剤として使用が認められている。使用基準は缶詰または瓶詰の清涼飲料水でEDTA-Caとして0.035g/kg、その他の缶詰または瓶詰食品では0.25g/kgで、EDTA-Naは最終食品の完成前にEDTA-Caにされなければならないとされている。

### 2. 方 法

#### 2-1 調査期間

試料の購入：2004年10月26日

表1 食品群別分類および喫食量

群番号	食品数	品目数	喫食量(g)
第1群	33	89	386.7
第2群	28	50	117.1
第3群	16	28	89.6
第4群	28	72	54.9
第5群	13	37	77.1
第6群	11	37	43.4
第7群	22	38	30.6
総計	151	351	798.8

試料の発送：2004年10月29日

試料の分析：2004年11月～17年3月

#### 2-2 検体の調製

厚生労働省が定めた食品添加物用マーケットバスケット方式（加工食品用）（表 1）に従い、図 1 のように検体を調製した。

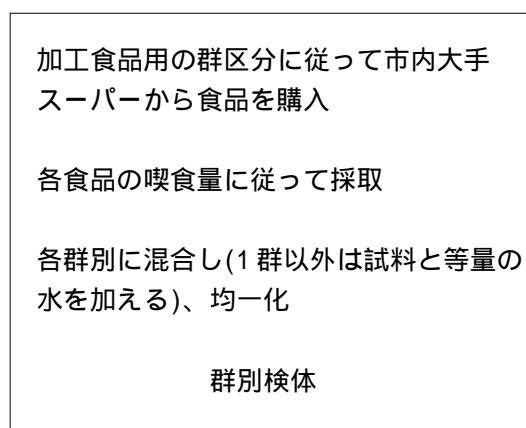


図 1 検体の調製

これらを指定のプラスチック容器に充填した後、凍結し、冷凍宅配便で参加研究機関に送付した。他の参加研究機関も同様に地元で販売されている食品

を用いて検体を調製し、互いに送付した。すなわち、群別検体は 7 群×6 機関（国立医薬品食品衛生研究所は検体調製を行っていない）計 42 検体である。機関毎に「札幌 3 群」のように表記する。

一方、これとは別に、調査対象の添加物の使用表示のある食品については、個別に含有量を測定するため、測定に必要な量を群別検体とは別に購入し、未開封のままその項目を担当する調査機関に送付した。EDTA の表示のある食品は仙台 4 群の中の 1 食品のみであった。

## 2-3 測定

EDTA-Ca および EDTA-Na について以下の方法で測定した。

### (1) 試薬

- a. エチレンジアミン四酢酸カルシウム二ナトリウム・2H<sub>2</sub>O（以下 EDTA-Ca）：試験研究用
- b. エチレンジアミン四酢酸銅二ナトリウム・4H<sub>2</sub>O（以下 EDTA-Cu）：試験研究用
- c. エチレンジアミン四酢酸鉄ナトリウム・3H<sub>2</sub>O（以下 EDTA-Fe）：試験研究用  
（a - c：和光純薬工業(株)・(株)同仁化学研究所）
- d. 塩酸：試薬特級（和光純薬工業(株)）
- e. 水酸化ナトリウム：試薬特級（和光純薬工業(株)）
- f. トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン：生化学用（和光純薬工業(株)）
- g. 硫酸銅：試薬特級（和光純薬工業(株)）
- h. 臭化テトラブチルアンモニウム：イオンペアクロマトグラフィー用（東京化成工業(株)）
- i. 酢酸ナトリウム：試薬特級（和光純薬工業(株)）
- j. 酢酸：試薬特級（和光純薬工業(株)）
- k. アセトニトリル：高速液体クロマトグラフ用（関東化学(株)）
- l. 陰イオン交換樹脂：Dowex 1×4 100-200, Cl Form（ムロマチテクノス(株)、The Dow Chemical Company）
- m. 透析膜：36/32 インチ（三光純薬(株)、Viskase

Companies, Inc）

### (2) 検出装置

HPLC：Agilent Technologie 社製 1100 シリーズ フォトダイオードアレイ (DAD) 検出器

### (3) 分析方法

分析法を図 1 に示す。

#### a. 前処理

1,2,5,6,7 群については試料 5.0g をとり、0.2mol/L トリス・塩酸緩衝液 (pH8.5) 5mL および水を加えて 50mL として振とうし、遠心分離して上澄 25mL を試料溶液とした。

3,4 群については試料 10.0g をとり、0.2mol/L トリス・塩酸緩衝液 (pH8.5) 25mL を内液、0.02mol/L トリス・塩酸緩衝液 (pH8.5) 175mL を外液として室温で 24 時間透析をおこなった。この透析外液 40mL を試料溶液とした。

#### b. 抽出・濃縮

まず試料溶液を 1mol/L の塩酸または水酸化ナトリウムで pH2.5 とし、そこに 0.25%硫酸銅溶液 2mL を加えて試料中の EDTA-Ca を EDTA-Cu とする。これを 0.2mol/L トリス・塩酸緩衝液または 1mol/L 塩酸で中和した。

次にあらかじめ洗浄した陰イオン交換樹脂を 1cm のカラム管に約 5cm の高さに詰め、これに試料溶液を負荷した。全量負荷した後、水 10mL で洗浄し、0.2mol/L 塩酸 20mL で溶出した。

溶出液をロータリーエバポレーターを用いて液量 1mL 程度まで濃縮し、これを液量 5mL を目安に 10mL 容の試験管に洗いこんだ。1mol/L の水酸化ナトリウムまたは塩酸で pH4.0 とした後、水で 10mL にメスアップして試験溶液とした。

#### c. 測定

HPLC 条件を表 2 に示す。試験溶液を DAD を用いて測定した。254nm で定量し、210-400nm のスペクトルで確認した。代表的なクロマトグラムを図 2 および 3 に示す。

表2 HPLC条件

装置	Agilent 1100 DAD
移動相	含0.01mol/L TBA-Br 0.03mol/L 酢酸緩衝液(pH4.0) / アセトニト リル (8:2)
流量	1.0mL/min
注入量	20 µL
カラム	Inertsil ODS-2 4.6×150mm(5 µm)
カラム温度	40
検出波長	UV254nm (DAD 210-400nmで確認)

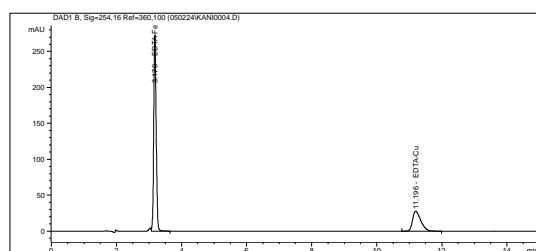


図2 標準品のクロマトグラム

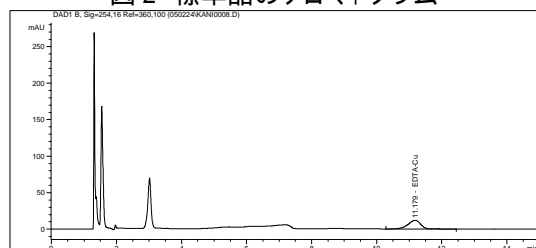


図3 個別検体のクロマトグラム

#### 2-4 添加回収試験

各食品群に EDTA-Ca を添加した際の回収率を表 3 に示す。回収率は 73.4 ~ 101.2%で、透析を行なった 3 群・4 群がそれ以外の群に比べて若干低いものの、おおむね良好であった。

表 3 EDTA-Ca の食品群別添加回収率(n=3)

食品群	添加量(mg/g)	回収率(%)
第 1 群	0.5	100.3
第 2 群	0.5	100.2
第 3 群	0.25	73.4
第 4 群	0.25	80.5
第 5 群	0.5	101.2
第 6 群	0.5	95.8
第 7 群	0.5	94.7

### 3 結果および考察

#### 3-1 測定結果

群別検体の測定結果

仙台 4 群以外には表示のある食品は無く、実際にも検出されなかった。また、仙台 4 群からも検出されなかった。

個別検体の測定結果

個別検体は 1 検体で、含有量は 0.3134mg/g であった(表 4)。

#### 3-2 1日摂取量の推定

上の、 から推定 1日摂取量を計算した。

の値に各群の 1日喫食量で重み付けをし、機関別・群別に推定 1日摂取量を求めた。全ての地域・群から検出されなかったため、推定 1日摂取量は全ての地域・群で 0mg となった。

一方、 の値を元に、群別検体にその個別食品が含まれる割合から群別検体中の推定含有量を求め(表 5)、その値に各群の 1日喫食量で重み付けをし、機関別・群別に推定 1日摂取量を求めた(表 6)。個別検体は仙台 4 群の「その他の魚介加工品」として購入された物で、この食品の 1日の喫食量は 0.13g である。これは 4 群全体の喫食量 54.9g に対し 0.24%に相当する。したがって、この食品に由来す

表4 個別食品の測定結果

群名	食品名	品名	含有量(mg/g)
仙台4群	その他魚介加工品	ずわいがに水煮	0.3134

表5 機関別・食品群別 EDTA 含有量(個別食品 EDTA 含有量からの計算値)

単位:mg/g

機関名	食品群別 EDTA 含有量							総含有量
	第1群	第2群	第3群	第4群	第5群	第6群	第7群	
札幌	0	0	0	0	0	0	0	0
仙台	0	0	0	0.0007	0	0	0	0.0007
東京	0	0	0	0	0	0	0	0
香川	0	0	0	0	0	0	0	0
北九州	0	0	0	0	0	0	0	0
沖縄	0	0	0	0	0	0	0	0
平均値	0	0	0	0.0001	0	0	0	0.0001

表6 機関別・食品群別 EDTA 一日摂取量(個別食品 EDTA 含有量からの計算値)

単位: mg

機関名	食品群							総摂取量
	第1群	第2群	第3群	第4群	第5群	第6群	第7群	
札幌	0	0	0	0	0	0	0	0
仙台	0	0	0	0.0439	0	0	0	0.0439
東京	0	0	0	0	0	0	0	0
香川	0	0	0	0	0	0	0	0
北九州	0	0	0	0	0	0	0	0
沖縄	0	0	0	0	0	0	0	0
平均値	0	0	0	0.0073	0	0	0	0.0073

る仙台4群中の EDTA 含有量は 0.0007mg/g と計算された。この値を元に計算した EDTA1 日摂取量は上記の含有量に 4 群全体の摂取量を乗じて求められ、0.0439mg であった。

これらの値を比較する。群別検体の仙台4群からは EDTA は検出されなかったが、検体調製時に水で倍に希釈していることを考慮すると個別検体の値を元に計算される仙台4群の希釈後の EDTA 含有量は 0.00035mg/g となり、定量下限ぎりぎりの値である。そのため定量されなかったものと考えられる。

EDTA-Ca の一日許容摂取量 (ADI) は 2.5mg/日/kg である。表6の値は ADI と比較して十分に小さい。

また、EDTA 類の一日摂取量調査は過去の本調査の中で 3 回 (1991, 1994, 1997 年) 行われているが、いずれも群別検体からは検出されておらず、今回もまた同様の結果であった。

#### 4 文 献

- 1) (社)日本食品衛生協会, 食品衛生検査指針食品添加物編, 38-45, 2003 .
- 2) 日本食品添加物協会, あなたが食べている食品添加物 - 食品添加物1日摂取量の実態と傾向 - 総合版 (本編・資料編), 食品添加物研究会, 2001 .

