

2008年度「食品添加物一日摂取量調査」EDTA測定結果

浦嶋幸雄 酒井昌昭 水嶋好清 矢野公一

1. 緒 言

マーケットバスケット方式(以下MB方式)による「食品添加物一日摂取量調査」は、日本人が日常の食生活を通して摂取する食品添加物の量を推定するため、厚生労働省が中心となり、1982年度から継続的に行なわれている。

当所は調査開始時から本事業に参加し、各種の食品添加物を分析してきた。現在、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っており、最近では2002-2005年度の4年間で61項目の添加物についての調査が終了した。2006年度以降は、最新の国民栄養調査に基づいて新たに策定された食品摂取量データを用い、2002年度から行われている添加物について再度調査を行うこととなった。

2008年度に参加した研究機関及び調査項目を表1に示す。今年度は、2004年度と同じ分担項目で、当所は酸化防止剤の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(以下EDTA-Ca)、エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム(以下EDTA-Na))を担当した。

EDTA-Ca及び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にしなければならぬとされている。

2. 方 法

2-1 調査期間

表1 参加研究機関及び分担項目

参加機関	分担項目
札幌市衛生研究所	エチレンジアミン四酢酸(エチレンジアミン四酢酸カルシウム二ナトリウム及びエチレンジアミン四酢酸二ナトリウム)
仙台市衛生研究所	プロピレングリコール
東京都健康安全研究センター	(、 、)-トコフェロール
香川県環境保健研究センター	オルトフェニルフェノール、ジフェニル、チアベンダゾール、イマザリル
長崎市保健環境試験所	リン酸化合物(縮合リン酸、オルトリン酸)
沖縄県衛生環境研究所	ジブチルヒドロキシトルエン、ブチルヒドロキシアニソール、没食子酸プロピル
国立医薬品食品衛生研究所	エリソルビン酸(アスコルビン酸)

試料の購入：2008年11月

試料の発送：2008年12月

試料の分析：2008年12月～2009年3月

2-2 試料の調製

厚生労働省が定めた食品添加物用MB方式に従い試料を調整した。MB方式とは、国民の平均的な食生活を反映していると考えられる約350の食品を購入し、食品群別に個々の食品の喫食量に応じて混和した試料を用いて測定された群毎の添加物含有量に喫食量を乗じて摂取量を算出する手法である。食品群別分類、食品・品目数及び喫食量を表2に示

す。

まず、市内の大手スーパーから、食品群別リストに基づいて食品を購入し、規定の喫食量を採用した。これを各食品群別に混合し、1群と8群以外は試料と等量の水を加え、ホモジナイザーを用いて均一化し、食品群別試料とした。

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試料を調製し、互いに送付した。すなわち、食品群別試料は8群×6機関(国立医薬品食品衛生研究所は試料調製を行わない)計48試料である。さらに、当該添加物表示がある食品は、個別に含有量を測定するため、原姿の状態を担当する機関に送付した(個別食品試料)。EDTAの表示のある食品は札幌3群の1食品のみであった。

表2 食品群別分類、食品・品目数及び喫食量

群番号	食品数	品目数	喫食量(g)
第1群 調味料、嗜好飲料	41	83	511.7
第2群 穀類	37	48	107.0
第3群 いも類、豆類、種実類	26	30	86.1
第4群 魚介類、肉類、卵類	33	53	57.6
第5群 油脂類、乳類	21	43	44.5
第6群 砂糖類、菓子類	27	51	17.9
第7群 果実類、野菜類、海藻類	29	33	26.6
第8群 特定保健用食品	3	7	3.9
合計	217	348	855.1

2-3 測定

EDTAの分析は、「食品衛生検査指針 食品添加物編 2003 厚生労働省監修¹⁾」を基にした。ただし、キレート型EDTAと遊離型EDTAを分離するステップを省略した。

(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・2H₂O (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・4H₂O
(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・3H₂O
(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, CI 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 : Waters 社製 Alliance

UV 検出器 2487

(3) 分析方法

a. 前処理

1、2、5、6、7、8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及び水を加えて50mlとして振とうし、3,000rpmで10分間遠心分離して上澄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時間透析を行った。この透析外液40mlを試料溶液とした。

b.抽出・濃縮

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、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で液量 1ml 程度まで濃縮し、これを液量 5ml を目安に 10ml 容の試験管に洗い込み 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 3 に示す。試験溶液を UV 検出器(検出波長 254nm) を用いて測定し、ピーク面積で定量した。代表的なクロマトグラムを図 2 及び 3 に示す。

2-4 添加回収試験及び検出下限、定量下限

各食品群に試料内濃度が 0.5mg/g になるように EDTA 標準品を添加して、回収試験を行った。回収率は 72.0~98.2%であった。なお、本法における検出下限、定量下限は、日本工業規格 (JIS) 高速液体クロマトグラフィー通則に従って得られた機器の検出限界を基に算出した (表 4)。

3. 結果及び考察

3-1 EDTAの含有量

機関別・食品群別試料から EDTA はいずれも検出されなかった。個別検体は札幌 3 群の一検体で含有量は 0.0394mg/g であったが(表 5)、札幌 3 群からは検出されなかった。個別検体の値を元に計算される札幌 3 群の EDTA 含有量は 0.0001mg/g で、定量下限を下回るため、定量されなかったと考えられた。

3-2 EDTAの一日摂取量

各機関の食品群別の一日摂取量は、すべての地域、

食品群から検出されなかったため、推定一日摂取量は全地域・群で 0mg となった。

表3 HPLC条件

装置	Waters社製 Alliance
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

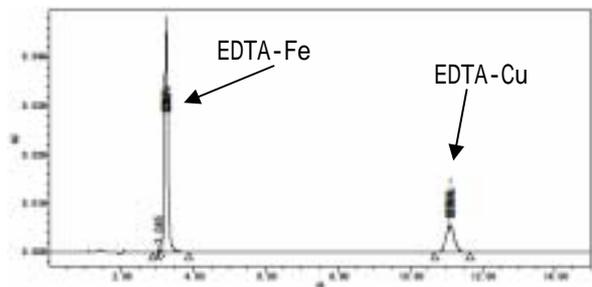


図 2 標準品のクロマトグラム

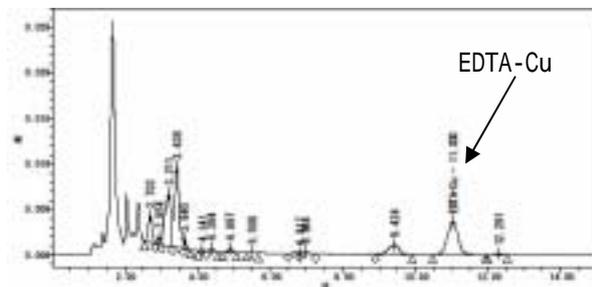


図 3 個別検体のクロマトグラム

表4 食品群別添加回収率、検出・定量下限

食品群	添加量 (mg)	回収率 (%)	検出下限 ($\mu\text{g/g}$)	定量下限 ($\mu\text{g/g}$)
第1群	2.5	75.2	0.04	0.2
第2群		72.0		
第3群		79.4		
第4群		94.8		
第5群		94.5		
第6群		98.2		
第7群		90.7		
第8群		80.3		

一方、個別検体の値を元に計算される一日摂取量は、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、これに各食品群の喫食量を乗じて求めた EDTA 一日摂取量を表6に示す。

個別検体は札幌3群の「栗甘露煮」で、この食品の1日の喫食量は0.18gである。したがって、この食品に由来する札幌3群中の一日摂取量は0.0071mg/人/日と計算された。

EDTA-Caの一日許容摂取量(ADI)は2.5mg/kg体重/日であり、成人の体重を50kgとすると、125mg/人/日になり、表6の値はADIと比較して十分に小さい。

過去の調査結果と比較すると EDTA の一日総摂取量は1991年度、1994年度、1997年度、2004年度調査のいずれにおいても0mgとなっており、今回も同様の結果となった。

表5 個別食品の測定結果

群名	食品名	品名	含有量(mg/g)
札幌3群	栗	栗甘露煮	0.0394

4. 参考文献

- 1) 日本食品衛生協会,食品衛生検査指針食品添加物編, p17-18, 2003

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/人/日

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	第8群	
札幌	-	-	0.0071	-	-	-	-	-	0.0071
仙台	-	-	-	-	-	-	-	-	-
東京	-	-	-	-	-	-	-	-	-
香川	-	-	-	-	-	-	-	-	-
北九州	-	-	-	-	-	-	-	-	-
沖縄	-	-	-	-	-	-	-	-	-
平均値	-	-	0.0012	-	-	-	-	-	0.0012

- : 含有量が定量下限未満のため摂取量が0となるもの