

ビール中のホルムアルデヒドの分析

宮川 弘之, 藤沼 賢司, 鎌田 国広

Determination of Formaldehyde in Beer

Hiroyuki MIYAKAWA, Kenji FUJINUMA and Kunihiro KAMATA

ビール中のホルムアルデヒドの分析

宮川 弘之*, 藤沼 賢司**, 鎌田 国広***

Determination of Formaldehyde in Beer

Hiroyuki MIYAKAWA*, Kenji FUJINUMA** and Kunihiro KAMATA***

A method for the determination of formaldehyde in commercial beers by GC/MS was developed. Formaldehyde in beers was derivatized by O-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)hydroxylamine, and the derivative was extracted with n-hexane by solvent extraction. Then, formaldehyde was determined by GC/MS, as formaldoxime. Satisfying results were obtained using intermediate polar CP-SIL 24CB capillary column, and decafluorobiphenyl as an internal standard. The detection and quantitation limits were 0.009 $\mu\text{g/mL}$ and 0.030 $\mu\text{g/mL}$, respectively. We examined 23 samples of beers using the proposed method. As a result, 0.032 $\mu\text{g/mL}$ of formaldehyde was detected in one sample and the trace amount was detected in 7 samples. The amount of formaldehyde in beers detected in this study was much lower than the regulation values of the tap water of Japan and WHO, suggesting that the formaldehyde in beer examined in this study doesn't any influence on the human health.

Keywords : ホルムアルデヒド formaldehyde, ビール beer, ガスクロマトグラフ/質量検出計 GC/MS

はじめに

ホルムアルデヒドは殺菌・消毒薬として、さらに、医薬品、合成樹脂等の原材料として広く用いられている。また、微生物の代謝産物として自然水中に存在する¹⁾ほか、くん製品、タラ肉、干しいたけからは天然成分由来のホルムアルデヒドが検出される²⁾。

一方、ホルムアルデヒドは国際がん研究機関 (IARC) によりグループ 1 (人に対して発がん性がある) に分類されており、日本では劇物に指定されている。なお、食品衛生法ではホルムアルデヒドまたはこれを含む化合物を食品添加物として使用することは認められていない。

さらに、わが国では上水中のホルムアルデヒド濃度も規制されており、日本の水道法の水道水質基準では 0.08 mg/L 以下とされている。ちなみに、WHO の水道水質ガイドラインは 0.9 mg/L 以下である。

このように、ホルムアルデヒドは食品や飲料水中への混入が規制されているが、平成 17 年 7 月、中国でビール製造時にホルムアルデヒドを使用しているという韓国でのマスコミ報道があった。そして、この報道を受けて韓国および中国の政府機関が自国内のビール (輸入品を含む) を検査したが、それぞれ 0.44 ppm 以下、0.61 ppm 以下であり問題のないレベルだとされた³⁻⁴⁾。

しかし、これら中国および韓国で行われたビール中のホルムアルデヒドの検査法は公表されておらず、またビール

中のホルムアルデヒドの分析法の報告はほとんどない。

そこで今回我々は、ビール中のホルムアルデヒドの分析法を検討し、日本国内で販売されている国産および輸入のビール類中のホルムアルデヒド含有量を測定したところ、若干の知見が得られたので報告する。

実験方法

1. 試料

2005 年 12 月に都内の小売店で購入した市販のビール類 22 品目およびシンガポール国内で 2006 年 1 月に購入したビール 1 品目 (賞味期限: 2006 年 6 月~7 月, および, 製造年月: 2005 年 4 月, 11 月)

2. 試薬

ホルムアルデヒド標準原液: 関東化学 (株) 製水質試験用ホルムアルデヒド標準原液, 濃度 1 mg/mL.

ホルムアルデヒド標準溶液: ホルムアルデヒド標準原液をメチルアルコールにより 10 $\mu\text{g/mL}$ の濃度になるよう調製した後分注して密栓し, -20°C で保管した。

デカフルオロビフェニル: 関東化学 (株) 製, 純度 98% 以上。

内標準溶液: デカフルオロビフェニルを *n*-ヘキサンにより 10 $\mu\text{g/mL}$ の濃度になるよう調製した後, 分注して密栓し, -20°C で保管した。

* 東京都健康安全研究センター食品化学部食品添加物研究科 169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

** 東京都健康安全研究センター食品化学部食品成分研究科

*** 東京都健康安全研究センター精度管理室

Sample
 | remove carbon dioxide by shaking
 5mL
 | 0.5 mL PFBOA·HCl (10 mg/mL)
 | stand alone for 2 hours at room temperature
 | 1 drop H₂SO₄ (9 mol/L)
 | 5 mL *n*-hexane
 | solvent extraction
 Hexane layer
 | wash with 5 mL of H₂SO₄ (0.05 mol/L)
 2 mL
 | dehydrate with anhydrous Na₂SO₄
 | 100 μL decafluorobiphenyl (10 μg/mL)
 GC/MS

Fig.1. Analytical Procedure for Formaldehyde in Beers

ペンタフルオロベンジルヒドロキシルアミン（以下 PFBOA と略す）塩酸塩：関東化学（株）製水質試験用 O-(2,3,4,5,6-ペンタフルオロベンジル) ヒドロキシルアミン塩酸塩、純度 98%以上。

PFBOA 塩酸塩溶液：PFBOA 塩酸塩を使用時に水により 10 mg/mL の濃度になるよう調製して用いた。

水：キリンビバレッジ（株）製ボルビック。

n-ヘキサン：和光純薬（株）製水質試験用。

その他の試薬：いずれも試薬特級を用いた。

3. 装置

GC/MS：（株）島津製作所製 GC17/QP-5000

4. GC/MS の測定条件

カラム：クロムパック社製 CP-SIL 24CB Low Bleed/MS (0.25 mm i.d.×30 m, 膜厚 0.25 μm)

カラム温度：50°C (1 min) -15°C/min-200°C (1 min) -20°C/min-280°C (3 min)

注入口温度：250°C

インターフェース温度：275°C

キャリアガス：He

線速度：35.6 cm/s

注入方法：スプリットレス

注入量：2 μL

イオン化電圧：70 eV (EI モード)

測定モード：SIM および SCAN

SIM 条件

定量用イオン：m/z=181 (ホルムアルデヒド) , 334 (デカフルオロビフェニル)

定性用イオン：m/z=195 (ホルムアルデヒド) , 265 (デカフルオロビフェニル)

SCAN 条件

スキャン範囲：m/z=50~400

スキャンスピード：2 scans/s

5. GC/MS 用試験検査溶液の調製

操作を Fig.1 に示した。

6. 検量線の作成及び定量

ホルムアルデヒド標準溶液を水により 0.005~1.0 μg/mL の濃度になるよう希釈し、5. GC/MS 用試験溶液の調製と同様に操作した後 GC/MS へ供し、内部標準法により検量線を作成した。この検量線を用いて試料を定量した。

結果及び考察

1. ホルムアルデヒドの PFBOA 誘導体化

飲料水や食品中のホルムアルデヒドの分析法としては、PFBOA により誘導体化した後、ヘキサンにより溶媒抽出、あるいはヘッドスペースを採取して GC/MS で測定する方法⁵⁻⁷⁾、水蒸気蒸留した後、2,4-ジニトロフェニルヒドラジンにより誘導体化し HPLC あるいは GC/MS で測定する方法⁸⁻¹⁰⁾、また、水蒸気蒸留した後、アセチルアセトンと反応させ可視光の吸光度を測定する方法¹¹⁾ が報告されている。

今回我々は、ppb レベルまで確認でき特殊な装置を必要としない方法として、水中のホルムアルデヒドを PFBOA により誘導体化した後ヘキサンにより溶媒抽出する上水試験法⁵⁾ の方法に基づいて分析することにした。

ビール中には飲料水よりも多量のカルボニル化合物が存在し、PFBOA を大量に消費してしまうことが考えられたため、PFBOA の濃度について検討した。

ビールにホルムアルデヒドを 0.5 μg/mL になるように添加し、実験方法 5. GC/MS 用試験検査溶液の調製に従って試験溶液を調製し、生成した PFBOA 誘導体の量を標準溶液の測定結果に対する割合として Table 1 に表した。

その結果、PFBOA 塩酸塩溶液濃度が 10 mg/mL のとき良好な結果が得られたため、この濃度を用いることにした。

Table 1. Effect of PFBOA Concentration on the Production of PFBOA Formaldoxime

Concentrations of PFBOA ¹⁾ (mg/mL)	Recovery ²⁾ (mean±S.D. %)
1	69.2±3.8
10	98.7±3.2

1) Hydrochlorate

2) The amount of the formaldehyde addition is 0.5 μg/mL, n=5

2. GC/MS 測定

上水試験法に基づいて微極性カラムである CP-SIL 8CB を用いてビール中のホルムアルデヒド PFBOA 誘導体を分析したところ、m/z=181 および 195 において妨害ピークと分離することができなかった。そこで、中極性カラムであ

る CP-SIL 24CB を用いたところ、妨害ピークとの良好な分離が得られたため、このカラムを用いることにした。

次に、上水試験法に基づいて 1-クロロデカンを内標準として分析したところ、1-クロロデカンと同じ保持時間に同じ m/z を持つ妨害ピークが出現し、分析不能であった。そこで、Glaze らの方法⁶⁾に基づいて内標準物質にデカフルオロピフェニルを用いたところ、デカフルオロピフェニルと同じ m/z (265 および 334) では妨害ピークが出現せず、問題なく定量することができた。分析例を Fig. 2 に示した。

なお、Fig 2 において内標準と妨害ピークが重なっているように見えるが、m/z が異なるため、問題なく定量することができた。

検量線は、0.005~1.0 µg/mL の範囲で良好な直線性を示した。

また、ブランクを 8 回測定し、その平均値の 3 倍を検出限界値、10 倍を定量限界値として求めたところ、それぞれ 0.009 µg/mL と 0.030 µg/mL であった。

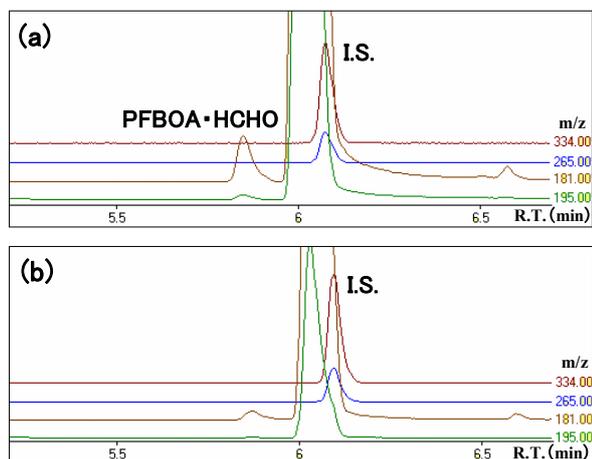


Fig.2. Typical SIM Chromatograms of Commercial Beers
(a) Formaldehyde was detected at a level of 0.032 µg/mL.
(b) Detectable level of formaldehyde was not detected.

3. 添加回収実験

Table 2 にビールへのホルムアルデヒドの添加回収実験の結果を示した。良好な結果が得られた。

Table 2. Recoveries of Formaldehyde from Beer

Amount of Formaldehyde addition(µg/mL)	Recovery ¹⁾ (mean±S.D. %)
0.05	98.1±4.8
0.5	98.7±3.2

1) n=5

4. 実態調査結果

国産および外国産のビール 15 品目、国産の発泡酒 4 品目

およびいわゆる第三のビール 4 品目、合計 23 品目中のホルムアルデヒドの分析結果を Table 3 に示した。

外国産のビールでは、7 品目中 5 品目から痕跡量のホルムアルデヒドが検出された。問題となった 2005 年 7 月以前に製造された中国産のビール 2 品目では、1 品目から痕跡量のホルムアルデヒドが検出された。

国産のビールでは、8 品目中 1 品目から 0.032 µg/mL、他の 1 品目から痕跡量のホルムアルデヒドが検出された。国産の発泡酒からは検出されず、いわゆる第三のビールでは、4 品目中 1 品目から痕跡量のホルムアルデヒドが検出された。いわゆる第三のビールとは、酒税法上、その他の雑種 2 およびリキュールに分類されるビール風味のアルコール飲料である。

今回検出されたビール中のホルムアルデヒドの最大値 0.032 µg/mL は、ホルムアルデヒドの WHO の飲用水基準である 0.9 mg/L (0.9 µg/mL) および日本の水道水質基準である 0.08 mg/L (0.08 µg/mL) を十分下回っていた。また、日本の水道水質基準におけるホルムアルデヒドの TDI は 0.015 mg/bw.kg/day であるが、この量を満たすためには、体重 50 kg のヒトが、0.032 µg/mL と今回最も多くホルムアルデヒドが検出されたビールを生涯毎日 23.4 L 飲むことが必要である。しかし、これは現実的な量ではない。

今回問題となったビール中のホルムアルデヒドは、ビール製造時の沈殿物除去のために使われていたと言われていた^{1,2)}が、今回ビール中から検出されたホルムアルデヒド濃度は低濃度であり、人為的に添加されたものとは考え難い。ホルムアルデヒドは様々な食品に天然に含まれており、

Table 3. Contents of Formaldehyde in Commercial Beer

Classification	Countries of Origin and Manufacturers	Best-Before Date (Year, Month)	Content of Formaldehyde ¹⁾ (µg/mL)
Beer	China A	2005.04 ³⁾	tr
	China B	2005.06	nd
	Ireland	2006.09	tr
	The Netherlands	2006.06	nd
	Mexico	2006.07	tr
	Vietnam	2006.07	tr
	Singapore	2005.11 ³⁾	tr
	Japan A ²⁾	2006.07	nd
	Japan A ²⁾	2006.05	nd
	Japan B	2006.07	nd
	Japan C	2006.06	nd
	Japan D	2006.06	nd
	Japan E	2006.03	tr
	Japan F	2006.05	nd
Japan G	2006.02	0.032	
Low-Malt Beer	Japan A	2006.07	nd
	Japan B	2006.07	nd
	Japan C	2006.06	nd
	Japan D	2006.06	nd
The third Beer	Japan A	2006.07	nd
	Japan B	2006.07	tr
	Japan C	2006.06	nd
	Japan D	2006.07	nd

1) nd<0.009 µg/mL, 0.009 µg/mL ≤ tr < 0.030 µg/mL

2) Different brand

3) Manufacturing year and month

また、微生物発酵により生成されることも考えられ¹⁾、今回検出されたホルムアルデヒドはこれらによるものと思われる。

ま と め

ビール中のホルムアルデヒドの GC/MS による分析法を検討し、市販のビール中のホルムアルデヒドを測定した。

試料中のホルムアルデヒドは PFBOA により誘導体化し、*n*-ヘキサンで溶媒抽出後、GC/MS で測定することができた。

分析に用いるキャピラリーカラムは中極性のものを、また、内標準物質はデカフルオロビフェニルを用いることにより、妨害ピークの影響を受けることが無く良好な結果を得ることができた。検出限界は 0.009 µg/mL、定量限界は 0.030 µg/mL であった。

本法を用いて市販の外国産ビール、国産ビールおよび国産発泡酒等計 23 品目を分析したところ、1 品目から 0.032 µg/mL、7 品目から痕跡量のホルムアルデヒドが検出されたが、他は検出限界未満であった。

今回ビール類から検出されたホルムアルデヒドの量は、日本の水道水質基準および WHO の飲用水基準を十分下回っており、健康に影響を及ぼす量ではないと考えられた。

(本研究の概要は日本食品衛生学会第 91 回学術講演会 2006 年 5 月で発表した。)

文 献

1) 日本薬学会:衛生試験法・注解 1990 付. 追補(1995),

1792-1793, 1990, 金原出版, 東京

2) 日本薬学会:衛生試験法・注解 1990 付. 追補(1995), 108-109, 1990, 金原出版, 東京

3) 国立医薬品食品衛生研究所安全情報部:食品安全情報, No.16, 2005.

<http://www.nihs.go.jp/hse/food-info/foodinfonews/index.html>

4) 国立医薬品食品衛生研究所安全情報部:食品安全情報, No.17, 2005.

5) 日本水道協会:上水試験法・解説編 2001 年度, 457-463, 2001, 日本水道協会, 東京

6) Glaze, W. H., Koga, M., Cancilla, D.: *Environ. Sci. Technol.* **23**, 838-847, 1989.

7) Sugaya, N., Nakagawa, T., Sakurai, K., *et al.*: *Journal of Health Science*, **47**, 21-27, 2001.

8) 厚生省告示:魚介類中のホルムアルデヒドの分析法, 衛乳第 44 号, 平成 9 年 2 月 5 日

9) 吉田政晴, 佐喜眞幸:大阪府立公衛研所報, **37**, 69-74, 1999.

10) 城戸浩三, 作間忠道, 渡辺忠雄:衛生化学, **26**, 224-228, 1980.

11) 日本薬学会:衛生試験法・注解 1990 付. 追補(1995), 616-617, 1990, 金原出版, 東京

12) 国立医薬品食品衛生研究所安全情報部:食品安全情報, No.15, 2005.