

ミネラル補給用サプリメント中のピコリン酸クロム含有量調査

鈴木公美, 植松洋子, 荻本真美, 樺島順一郎, 中里光男

ミネラル補給用サプリメント中のピコリン酸クロム含有量調査

鈴木公美*, 植松洋子*, 荻本真美*, 樺島順一郎*, 中里光男*

市販ミネラル補給用サプリメント18製品, ミネラル酵母2製品の計20製品中のピコリン酸クロム含有量調査を行った. 調査にあたりHPLCの測定条件を検討し, カラムにC30カラム, 移動相にメタノール・水(5:95)を用いて分析することとした. 分析した製品中ピコリン酸クロムの表示があった製品はサプリメント4製品で, これら4製品から60~6,600 µg/gのピコリン酸クロムを検出した. これら4製品のうち2製品がアメリカ製(個人輸入品), 2製品は国産品であった. ミネラル酵母からは検出されなかった.

キーワード: ピコリン酸クロム, クロム, サプリメント, ミネラル酵母, 食品添加物, HPLC

緒言

ミネラルは各種生理作用, 代謝調節作用など人体に重要な栄養素である. 厚生労働省策定「日本人の食事摂取基準(2005年版)」¹⁾にもミネラルとしてマグネシウム, カルシウム, リンが, 微量元素としてクロム, モリブデン, マンガン, 鉄, 銅, 亜鉛, セレン, ヨウ素が記載されており, 様々なミネラル補給用サプリメントが市販されている. これらの微量元素のなかでクロムは糖代謝, 脂質代謝に重要な役割を果たしている^{2,3)}.

このような中でクロムの生理作用を期待したクロム含有サプリメントが市販されており, ダイエット目的でも使用されている^{4,5)}. これらのクロム含有サプリメントにはクロム供給源として, 主として酵母に無機ミネラルを取り込ませたミネラル酵母の一種であるクロム含有酵母が配合されているが, ピコリン酸クロムを配合した製品もある. ピコリン酸クロムは3分子のピコリン酸分子がクロムにキレート結合した化合物である. ピコリン酸クロムは日本では非医薬品成分であり, 平成13年6月の厚生労働省通知, 「「医薬品的効果を標ぼうしない限り食品と認められる成分本質(原材料)」の取扱いについて」⁶⁾で「食品添加物に該当する可能性が考えられ, 販売等に当たっては, 「あらかじめ食品添加物に該当するか否かの判断を受ける」こととされていた. その後, 平成19年8月の厚生労働省通知で, 食品添加物として指定が必要な物質に分類された⁷⁾. また, ピコリン酸クロムを摂取している人に, 慢性間質性腎炎が観察されたり, ピコリン酸クロムの大量摂取により, 横紋筋融解が誘発されたという症例報告があるなど, 安全性について懸念される情報もある^{1,8,9)}.

そこで, ミネラル補給用サプリメント中のピコリン酸クロム含有量を調査するため試験法を検討し, 市販品について分析を行ったので報告する.

実験方法

1. 試料

平成15年度に入手した市販ミネラル補給用サプリメント

18製品, ミネラル酵母2製品の計20製品を試料とした. 試料の内訳をTable 1に示した.

2. 試薬

ピコリン酸クロム(III): 東京化成工業(株)製, α -ピコリン酸: 和光純薬工業(株)製一級, メタノール: 和光純薬工業(株)製液体クロマトグラフ用, を使用した.

3. 標準溶液の調製

ピコリン酸クロム約10 mgを正確に量り, 水に溶解し200 mLとしたものを標準原液とした. この標準原液を水で希釈し, 1~50 µg/mLの濃度の標準溶液を調製した.

4. 装置

高速液体クロマトグラフ(HPLC): (株)島津製作所製 LC-10シリーズ, ポンプ; LC-10AT, デガッサー; DGU-12A, オートサンプラー; SIL-10A_{XL}, カラムオーブン; CTO-10A, 紫外可視検出器; SPD-10AV, フォトダイオードアレイ検出器; SPD-M10A_{VP}

5. HPLC条件

以下のHPLC条件①を用いた. ただし, 他成分の影響を受けこの条件で分析困難な試料については, HPLC条件②で分析した.

1) HPLC条件①

カラム: Develosil C30-UG-5 (3.0 mm i.d.×250 mm), 移動相: メタノール・水(5:95), 流速: 0.3 mL/min, カラム温度: 40°C, 検出波長: 264 nm, 注入量: 10 µL

2) HPLC条件②

カラム: Wakosil-II 5C18 HG (4.6 mm i.d.×150 mm), 移動相: メタノール・水(5:95), 流速: 0.8 mL/min, カラム温度: 40°C, 検出波長: 264 nm, 注入量: 10 µL

6. 試験溶液の調製

試料20製品のうち, ピコリン酸クロムの表示があったも

* 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

Table 1. Chromium picolinate Contents in Commercial Mineral Supplements and Mineral Yeast

No.	chromium picolinate content (µg/g)	chromium picolinate content per tablet or per capsule (µg)	daily maximum chromium picolinate intake of the product (µg)	chromium content converted from picolinate content (µg/g)	country of origin	shape	weight of one tablet or one capsule (mg)	daily maximum chromium intake calculated from the indication of the product	indicated chromium content per weight (µg/g)	chromium content measured by ICP (µg/g)
1	6,600	1,600	1,600	820	U.S.A.*	capsule	250	200 µg/1 capsule	800	848 ¹¹⁾
2	230	120	1,080	29	Japan	capsule	480	144 µg/9 capsules	33	39 ¹¹⁾
3	5,000	1,700	1,700	620	U.S.A.*	tablet	350	200 µg/1 tablet	570	512 ¹¹⁾
4	60	20	300	7	Japan	tablet	300	50 µg/15 tablets	11	9 ¹¹⁾
5	<50				Japan	tablet	420	15.1 µg/5 tablets	7	8 ¹¹⁾
6	<50				Japan	tablet	200	chromium yeast 24 mg/6 tablets		46 ¹¹⁾
7	<50				Japan	tablet	350	200 µg/12 tablets	48	51 ¹¹⁾
8	<50				Japan	tablet	250	30 µg/12 tablets	10	11 ¹¹⁾
9	<50				Japan	tablet	200	20.8 µg/8 tablets	13	18 ¹¹⁾
10	<50				Japan	tablet	250	50 µg/3 tablets	67	69 ¹¹⁾
11	<50				Japan	tablet	250	7.0 µg/15 tablets	2	<2 ¹¹⁾
12	<50				Japan	capsule	250	800 µg/4 capsules	800	839 ¹¹⁾
13	<50				Japan	tablet	600	35 µg/2 tablets	29	34 ¹¹⁾
14	<50				Japan	tablet	300	108 µg/6 tablets	60	74 ¹¹⁾
15	<50				Japan	tablet	250	chromium (III) 102 µg, chromium yeast 51 mg/15 tablets	27.2	36 ¹¹⁾
16	<50				Japan	tablet	340	12.0 µg/6 tablets	6	9 ¹¹⁾
17	<50				Japan	powder		—		<2 ¹¹⁾
18	<50				Japan	powder		—	0.05	<2 ¹¹⁾
19	<50				U.S.A.	powder		—		1,990 ¹²⁾
20	<50				Canada	powder		—	2,000	2,520 ¹²⁾

No. 1~18 : supplement, No. 19, 20 : mineral yeast

* : privately imported products

のはNo. 1~4の4製品であった。No. 1~18はサプリメント、No. 19, 20はミネラル補給を目的としたミネラル素材(クロム酵母)であった。

1) No. 1, 3の調製

表示のあった製品のうち、No. 1, 3は、約0.4~1gを精密に秤量し、水で正確に100 mLとした。さらに、検量線の範囲に入るよう、これを水で希釈し、0.45 μm のフィルターでろ過したものを試験溶液とした。

2) No. 1, 3以外の調製

No. 1, 3以外の残り18製品は約2gを精密に秤量し、水で正確に100 mLとし、0.45 μm のフィルターでろ過したものを試験溶液とした。

なお、試験溶液の調製においてカプセル剤3製品については以下の操作を行い調製した。

カプセル剤No. 1, 12についてはその内容物について試験溶液を調製し試験を行った。

No. 2は内容物として異性化リノール酸、ビタミンE等、被包材としてゼラチンおよびグリセリンの表示のある粒状の製品であった。約2gを精密に秤量し、水約50 mLを加えて60~70°Cに加熱して溶解した。室温まで冷却して上層の油状物質を固化させ、被包材ともに除去した。水層(下層)を水で正確に100 mLとし、0.45 μm のフィルターでろ過したものを試験溶液とした。

7. ピコリン酸クロムの測定

標準溶液および試験溶液の各10 μL をHPLCに注入し、あらかじめ作成した標準溶液の検量線から試験溶液中のピコリン酸クロム量を算出した¹⁰⁾。

結果及び考察

1. 標準溶液および試験溶液の調製

Evansら¹⁰⁾が試験溶液の調製に水を用いていることから、水を用いて標準溶液および試験溶液を調製した。HPLCの移動相がメタノール・水(5:95)であることからこれより溶出力の弱い水を用いたことは、注入バンドの広がりを防ぐためにも有効であった。

2. HPLC条件の検討

Evansら¹⁰⁾のHPLC条件を参考にカラムおよび移動相を検討した。

Evansら¹⁰⁾はオクタデシルシリル化シリカゲル(C18)カラムを用い、メタノール・水(1:1)を移動相として分析している。今回、C18カラムとしてWakosil-II 5C18 HG(4.6 mm i.d.×150 mm)を用い、メタノール・水(1:1)を移動相として分析したところ、ピコリン酸クロムの保持時間は約2.3分と早く、未反応原料物質として残存する可能性が考えられる α -ピコリン酸と分離しなかった。そこで、移動相の比率をメタノール・水(4:6)、(2:8)、(5:95)と変えて検討したところ、メタノール・水(5:95)のとき、ピコリン酸クロムの保持時間は約14.8分であり、 α -ピコリ

ン酸と分離したので、移動相の比率はメタノール・水(5:95)とした。しかし、試料によっては、ピコリン酸クロムと分離不十分なピークが検出され、定量できないものがあった。

そこで、トリアコンチルシリル化シリカゲル(C30)カラムであるDevelosil C30-UG-5(3.0 mm i.d.×250 mm)について検討した。同カラムはカラム径が3.0 mmであることから流速は0.3 mL/minとし、移動相の比率をメタノール・水(1:1)として分析したところ、ピコリン酸クロムの保持時間は約5分と早かった。そこで、移動相の比率をメタノール・水(1:4)、(5:95)と変えて検討したところ、ピコリン酸クロムの保持時間はそれぞれ、約7分、約40分だった。試料中に共存する他成分との分離を考慮し、移動相の比率はメタノール・水(5:95)とした。この条件で α -ピコリン酸とも分離した(HPLC条件①)。C30カラムでは、今回使用したC18カラムでピコリン酸クロムの定量の妨害となったピークはピコリン酸クロムのピークと分離した。そこで、今回はC30カラムを主として用いることとした。定量限界は50 $\mu\text{g/g}$ であった。ピコリン酸クロムを検出したNo. 4と検出しなかったNo. 14にピコリン酸クロムを250 $\mu\text{g/g}$ となるように添加し、回収実験を行ったところ、回収率はそれぞれ約90%(85~95%)、約92%(90~95%)であった。

HPLC条件①で、ピコリン酸クロムの保持時間近傍にピークが検出された試料が4試料あったが、これらのピークはスペクトルからピコリン酸クロム以外の成分と考えられ、また、今回使用したC18カラム、移動相メタノール・水(5:95)(HPLC条件②)では検出されず、ピコリン酸クロムのピークではないことを確認した。

ピコリン酸クロムを検出したNo. 1および4をHPLC条件①で測定したクロマトグラムをFig. 1に示した。

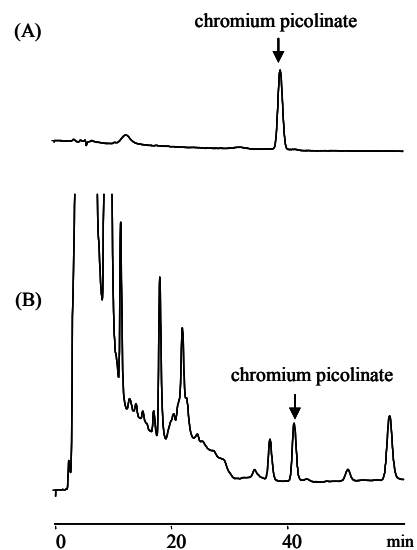


Fig. 1. HPLC Chromatograms of Sample Solution

(A) No.1 (0.4 g / 1,000 mL)

(B) No.4 (2 g / 100 mL)

3. 試料中のピコリン酸クロム含量

結果をTable 1に示した。

今回の試料と同一の製品について、荻本ら¹¹⁾はサプリメント中の各種ミネラル含有量調査、安野ら¹²⁾はミネラル素材の品質調査の結果として報告している。そこで、参考値として荻本ら¹¹⁾および安野ら¹²⁾のICPによるクロムの分析結果も併せてTable 1に示した。

1) ピコリン酸クロム含量

No. 1はカプセル剤であったので、カプセル込みの値として算出した。試料中のピコリン酸クロム含量は6,600 $\mu\text{g/g}$ 、1カプセル当たり換算すると1,600 μg /カプセルであった。また、製品記載の1日の目安摂取量は1カプセルであったので、No. 1を目安摂取量どおり摂取した場合のピコリン酸クロム摂取量を算出すると1,600 μg /日となる。

No. 2のピコリン酸クロム含量は230 $\mu\text{g/g}$ 、1カプセル当たり換算すると120 μg /カプセルであった。また、製品記載の1日の目安摂取量は6~9カプセルであったので、No. 2を目安摂取量どおり摂取した場合の最大ピコリン酸クロム摂取量を算出すると1,080 μg /日となる。

No. 3のピコリン酸クロム含量は5,000 $\mu\text{g/g}$ 、1粒当たり換算すると1,700 μg /粒であった。また、製品記載の1日の目安摂取量は1粒であったので、No. 3を目安摂取量どおり摂取した場合のピコリン酸クロム摂取量を算出すると1,700 μg /日となる。

No. 4のピコリン酸クロム含量は60 $\mu\text{g/g}$ 、1粒当たり換算すると20 μg /粒であった。また、製品記載の1日の目安摂取量は10~15粒であったので、No. 4を目安摂取量どおり摂取した場合の最大ピコリン酸クロム摂取量を算出すると300 μg /日となる。

No. 5~20は、定量限界以下であった。

今回、ピコリン酸クロムが検出された4製品のうち、No. 1および3の2製品はアメリカ製であり、これら2製品とも個人輸入品であった。No. 2および4は国産品であった。

ピコリン酸クロムの重量当たり、および1カプセルまたは1粒当たりの含有量は個人輸入品が高く、国産品は個人輸入品の1/10以下であった。しかし、国産品であるNo. 2および4は製品記載の1日の目安摂取量が多いため、製品記載の1日の目安摂取量どおり摂取した場合の最大ピコリン酸クロム摂取量では、それほど大きな違いはなかった。

2) クロム測定値および表示量との比較

ピコリン酸クロムを検出したNo. 1~4に関して、検出されたピコリン酸クロムから換算したクロム含量を荻本ら¹¹⁾のICPによるクロムの分析結果および表示量 (Table 1) と比較した。

No. 1の表示クロム含量は1カプセル当たりの値なのでこれをg単位に換算すると800 $\mu\text{g/g}$ となる。今回検出したピコリン酸クロムをクロムとして換算すると820 $\mu\text{g/g}$ であり、ほぼ表示に近い結果であった。ICPによるクロム含量は848 $\mu\text{g/g}$ であり¹¹⁾、この値とも類似していた。

No. 2の表示クロム含量は9カプセル当たりの値なのでこ

れをg単位に換算すると33 $\mu\text{g/g}$ となる。今回検出したピコリン酸クロムをクロムとして換算すると29 $\mu\text{g/g}$ であり、ほぼ表示に近い結果であった。ICPによるクロム含量は39 $\mu\text{g/g}$ で¹¹⁾大きな差はなかった。

No. 3の表示クロム含量は1粒当たりの値なのでこれをg単位に換算すると570 $\mu\text{g/g}$ となる。今回検出したピコリン酸クロムをクロムとして換算すると620 $\mu\text{g/g}$ であり、ほぼ表示に近い結果であった。ICPによるクロム含量は512 $\mu\text{g/g}$ で¹¹⁾大きな差はなかった。

No. 4の表示クロム含量は15粒当たりの値なのでこれをg単位に換算すると11 $\mu\text{g/g}$ となる。今回検出したピコリン酸クロムをクロムとして換算すると7 $\mu\text{g/g}$ であり、ほぼ表示に近い結果であった。ICPによるクロム含量は9 $\mu\text{g/g}$ であり¹¹⁾、この値とも類似していた。

以上、検出されたピコリン酸クロムから換算したクロム含量はいずれも表示量および別途クロムとして測定 (ICP) した値と近似しており、No. 1~4に含有されるクロムはピコリン酸クロム由来であると考えられた。

3) 日本人の食事摂取基準 (2005年版)¹⁾との比較

今回検出したピコリン酸クロム含量を製品記載の1日の目安摂取量当たりのクロム量として算出すると、No. 1は205 μg /日、No. 2は123 μg /日、No. 3は218 μg /日、No. 4は34 μg /日となる。クロム含有サプリメントと摂取基準¹⁾との考察は荻本ら¹¹⁾が詳しく述べているが、今回検出した4製品のクロム換算値からも、クロムを推奨量 (ある性・年齢階級に属する人々のほとんど (97~98%) が1日の必要量を満たすと推定される1日の摂取量 (25~40 μg /日)) を超えて摂取する可能性が示唆された。特にNo. 1および3は1カプセルまたは1粒摂取するだけで推奨量を超えて摂取する可能性があることから、これらクロム含有サプリメントを摂取する際には注意が必要であると考えられる。

4) ピコリン酸クロムの食品衛生法上の取扱い

ピコリン酸クロムは、平成19年8月の厚生労働省通知⁷⁾で、食品添加物として指定が必要と判断された。そのため、今後食品添加物としての指定を受けずに使用された場合、食品衛生法違反となる。現在、海外ではピコリン酸クロムを含有するサプリメントが販売されている。日本でもインターネットで販売されており、個人輸入等で入手可能な状態である。個人輸入品については食品衛生法は適用されないが、ピコリン酸クロムについては安全性について懸念される情報もある^{1, 8, 9)}ことからその取扱いに関しては注意が必要であると考えられる。

ま と め

平成15年度に入手した市販ミネラル補給用サプリメント18製品、ミネラル酵母2製品の計20製品中のピコリン酸クロム含有量調査を行った。

HPLC条件について、カラムおよび移動相を検討し、カラムにC30カラム、移動相にメタノール・水 (5:95) を用いて分析した。

分析した20製品中ピコリン酸クロムの表示があった製品は4製品あり、これら4製品から60~6,600 µg/gのピコリン酸クロムを検出した。検出した4製品のうち、2製品がアメリカ製（個人輸入品）、2製品は国産品であった。

検出したピコリン酸クロム含量をクロムとして換算し、ICPによるクロムとしての測定値¹¹⁾と比較したところ大きな違いはなかった。このことより、ピコリン酸クロムを検出した4検体中のクロムはピコリン酸クロム由来であると考えられた。

今回の調査でピコリン酸クロムを含有するサプリメントがあることがわかった。ピコリン酸クロムについては、食品添加物として指定が必要な物質に分類されたため⁷⁾、今後検出された場合は食品衛生法違反となる。個人輸入品については同法は適用されないが、安全性について懸念される情報もある^{1,8,9)}ことから注意が必要であると考えられる。

文 献

- 1) 第一出版編集部編：厚生労働省策定 日本人の食事摂取基準（2005年版），2005，第一出版，東京。
- 2) 山本昭子：クロム，鈴木継美，和田 攻編，ミネラル・微量元素の栄養学，449-467，1994，第一出版，東京。
- 3) 柳澤裕之，和田 攻：クロム，糸川嘉則編，ミネラルの辞典，322-336，2003，朝倉書店，東京。
- 4) 糸川嘉則：最新ミネラル栄養学，152-158，2000，（株）健康産業新聞社，東京。
- 5) 「食品と開発」編集部：食品と開発，38（5），81-82，2003。
- 6) 厚生労働省医薬局食品保健部基準課長通知“「医薬品的効果を標ぼうしない限り食品として認められる成分本質（原材料）」の取扱いについて”平成13年6月28日食基発第20号(2001)。
- 7) 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課長通知“「医薬品的効能効果を標ぼうしない限り医薬品と判断しない成分本質（原材料）」の食品衛生法上の取扱いの改正について”平成19年8月17日食安基発第0817001号(2007)。
- 8) 健康・栄養情報研究会編：第六次改定日本人の栄養所要量 食事摂取基準，129-190，1999，第一出版，東京。
- 9) Hemdler, S. S. and Rorvik, D. (edi.), *PDR for Nutritional Supplements*, 98-99, 2001, Medical Economics, Montvale.
- 10) Evans, G. W. and Pouchnik, D. J. : *J. Inorganic Biochemistry*, **49**, 177-187, 1993.
- 11) 荻本真美，植松洋子，樺島順一郎，他：東京健安研七 年報，**57**，267-271，2006。
- 12) 安野哲子，植松洋子，萩原輝彦，他：東京健安研七 年報，**56**，175-178，2005。

Determination of Chromium Picolinate Contents in Commercial Mineral Supplements

Kumi SUZUKI*, Yoko UEMATSU*, Mami OGIMOTO*, Junichiro KABASHIMA* and Mitsuo NAKAZATO*

A HPLC method for the determination of chromium picolinate in commercial mineral supplements and mineral yeast was developed. The optimum separation of chromium picolinate and unknown compounds in the sample was achieved using a C30 column and methanol/water (5:95) as the mobile phase. The method was applied to 18 mineral supplements and 2 mineral yeasts. Chromium picolinate was found at concentrations between 60 and 6,600 µg/g in the four supplements that were indicated to contain chromium picolinate. Two of those four were privately imported products from the US, and two were domestic products. Chromium picolinate was not found in mineral yeasts.

Keywords: chromium picolinate, chromium, supplement, mineral yeast, food additive, HPLC

* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan