

## 既存添加物及び健康食品素材中の臭素量実態調査

飯田 憲 司<sup>\*</sup>, 平田 恵 子<sup>\*2</sup>, 植松 洋 子<sup>\*2</sup>, 鈴木 公 美<sup>\*2</sup>,  
内藤 義 和<sup>\*3</sup>, 齋藤 哲 夫<sup>\*4</sup>, 府川 克 二<sup>\*5</sup>, 鎌田 国 広<sup>\*6</sup>

### Survey of Total Bromide in Existing Food Additives and Ingredients for Health Foods

Kenji IIDA<sup>\*</sup>, Keiko HIRATA<sup>\*2</sup>, Yoko UEMATSU<sup>\*2</sup>, Kumi SUZUKI<sup>\*2</sup>,  
Yoshikazu NAITO<sup>\*3</sup>, Tetsuo SAITO<sup>\*4</sup>, Katsuji FUKAWA<sup>\*5</sup> and Kunihiro KAMATA<sup>\*6</sup>

Total bromide levels in 129 samples of existing food additives and ingredients for health foods was determined by gas chromatography with an electron capture detector (ECD-GC).

The total bromide level in 79 samples out of the 129 existing food additives exceeded 1 µg/g. In particular, total bromide in Mannentake extract and Rakanka extract was 680 and 570 µg/g, respectively. A follow-up examination was carried out on Mannentake extract.

Consequently, it was suggested that existing food additives containing bromide above 1 µg/g were mostly manufactured using extraction of water.

**Keywords** : 臭素 bromide, 既存添加物 existing food additives, 健康食品素材 ingredients for health foods, ガスクロマトグラフィー (ECD): GC-ECD

#### 緒 言

我が国では、様々な種類の既存添加物が使用されている。これらの原材料は外国からの輸入品が多く、輸入時に添加物の原材料もしくは添加物製品が防虫等の目的で臭化メチル等によるくん蒸処理をされている可能性が十分考えられる。食品衛生法では、総臭素として穀類や果実類などに残留基準が設定されている<sup>1)</sup>が、食品添加物への基準はなく、残留実態の報告例もほとんどない<sup>2)</sup>。さらに、既存添加物の中には、プロポリス抽出物やキトサン等のように、食品添加物としての用途よりも健康食品素材として多く用いられているものがある<sup>3)</sup>。この場合、通常の添加物と比較して大量に摂取することも考えられる。そのため、臭素量の実態を把握しておくことは必要である。

そこで今回、主として健康食品として用いられることの多い既存添加物について臭素量の実態調査を行った。その結果、レイシ抽出物、ラカンカ抽出物から高濃度の臭素が検出されたため、レイシ抽出物について臭素の残留原因の追跡調査を行った。また、若干の健康食品素材についても調査をしたので、併せて報告する。

#### 実験方法

1. 試料 平成 12~14 年度にかけて添加物製造業又は卸売販売業から入手した既存添加物及びその製剤 35 種類 117 製品、及び健康食品素材 8 種類 12 製品、合計 43 種類 129 製品を試料とした。
2. 試薬 n-ヘキサンは残留農薬試験用を用いた。その他の試薬は特級品を用いた。
3. 装置 ECD 付きガスクロマトグラフ: Agilent Technology 社製 HP-6890
4. 試験溶液の調製 衛生試験法・注解<sup>4)</sup>に準じた。すなわち、試料約 2 g を正確にるつぽに量り、4 %水酸化カリウム・エタノール溶液 10 mL を加え、ホットプレート上で加熱炭化し、その後 500 °C で 8 時間灰化した。室温まで冷却後、残渣に水 30 mL を加えよくかく拌後ろ過し、メチルオレンジ試液を 1 滴加え、酸性になるまで 2 mol/L 硫酸を加え、水で正確に 50 mL とした。その 10 mL をテフロン内蓋付き試験管に採取し、5%スルファミン酸溶液 0.2 mL 及び 3-ペンタノン 0.1 mL を加え、さらに 1%過マンガン酸カリウム溶液 1 mL 及び 2 mol/L 硫酸 1 mL を加え、混和した後 5 分間静置した。これに n-ヘキサン 10 mL を

\* 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 111-0035 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

\* 2 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

\* 3 東京都健康局食品医薬品安全部食品監視課

\* 4 東京都健康安全研究センター広域監視部食品監視指導課

\* 5 東京都健康安全研究センター多摩支所広域監視課

\* 6 東京都健康安全研究センター食品化学部残留物質研究科

加えて1分間かく拌抽出した後静置し、*n*-ヘキサン層を分取し無水硫酸ナトリウムで脱水したものをGC測定用試験溶液とした。

5. 標準溶液の調製 衛生試験法・注解<sup>4)</sup>に従った。

6. GC分析条件 カラム: J&W社製 DB-5(長さ: 30 m × 内径: 0.32 mm i.d., 膜厚 0.25 mm), カラム温度: 50 (1 min - 10 /min - 200 (1 min)), 注入量: 1 μL, split (10:1), キャリアーガス: ヘリウム 15 psi(定圧力), 検出器温度: 300

7. 塩化物の測定 萩原らの方法<sup>2)</sup>に従った。

8. レイシの分画操作 臭素の存在部位を確認するため、上村らの方法<sup>5)</sup>に準じ、分画した。すなわち、予め臭化メチルによるくん蒸処理を行ったレイシ 20 g を *n*-ヘキサン 200 mL で抽出し、さらに残渣を水 200 mL で抽出し、水抽出液を得た。水抽出液を水浴上で 50 mL まで濃縮し、濃縮液を透析膜(分子量 11,000 用)に入れ、透析外液に水 150 mL を用いて透析した。*n*-ヘキサン抽出液、水抽出残渣、透析外及び内液の分画について臭素量を測定した。分画操作を Fig.1 に示した。

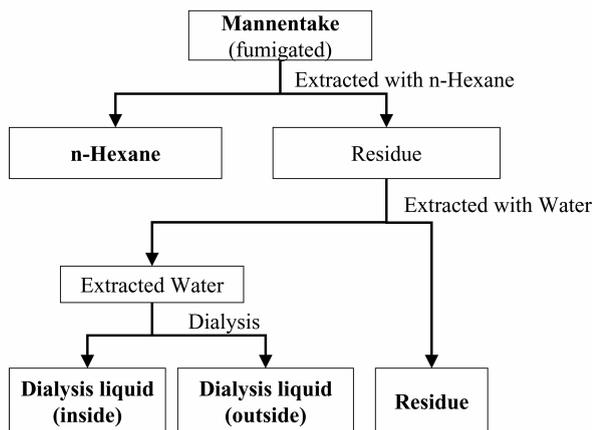


Fig.1. Fractionation of Mannentake

### 結果及び考察

1. 試験法の検討 食品中の臭素分析法は数多く報告されている<sup>2,6-9)</sup>が、今回はハロゲン化合物に特異性が高い GC-ECD を用いた衛生試験法・注解に準じて行った。

4 %水酸化カリウム・エタノール溶液の量は、衛生試験法では 5 mL であるが、試料を十分に同溶液に浸潤させるため、同溶液 10 mL を使用することにした。また、灰化は、500 で 8 時間のときに最も良好な回収率が得られたため、本条件により試験溶液の調製を行った。

2. 調査結果 既存添加物及びその製剤等 43 種類 129 製品について調査を行った。その結果を Table 1 に示したように、31 種類 79 試料から臭素が検出された。そのうち穀物の基準値である 50 μg/g を超える製品はレイシ抽出物やラカンカ抽出物など 6 種類 11 試料であった。

3. 食塩による影響 食塩中には、8~171 μg/g の臭素が含まれていることが報告されている<sup>2,9,10)</sup>。試料中に食塩が

存在している場合、食塩由来の臭素も同時に検出され、試料由来の正確な臭素量が測定できない。そこで、塩化物を測定することにより、食塩由来の臭素量を把握することにした。その結果、今回の試料中、キダチアロエ抽出物等には塩化ナトリウムとして 1.8~2.4 %検出されたが、大部分の試料からは検出されなかった。以上の結果から、今回調査した試料は、食塩による臭素量への影響を考慮する必要はほとんどないことがわかった。

4. 検出原因の考察 各既存添加物及び健康食品素材から臭素が主に 100 μg/g 以上検出されたものについて、その原因を検証及び考察した。

#### 1) キダチアロエ抽出物

キダチアロエ抽出物は、いずれの製品からも 50 μg/g 以上検出した。そこで、参考として鉢植えのキダチアロエの葉を凍結乾燥後、同様に測定したところ、38 μg/g とキダチアロエ抽出物の試料に近い臭素量が検出された。また、キダチアロエ抽出物中の塩化物を測定したところ、すべての試料から塩化ナトリウムとして 1.8~2.4 %検出された。これらの理由から、キダチアロエからの検出原因として、臭化メチルにより製品へ直接くん蒸処理を行っていたこと以外に、土壌くん蒸等により臭素を含有していたことや、製品に添加された食塩の影響等が考えられた。

#### 2) ラカンカ抽出物及びサイリウムシードガム

ラカンカ抽出物は 6 製品中 1 製品から 570 μg/g と高い臭素が検出された、しかし、他の製品では 10 μg/g 以下であったことから、検出された製品の原材料がくん蒸処理されていた可能性が高いと推測される。また、サイリウムシードガムでは ND~140 μg/g 検出されたが、未検出の試料が存在していたこと、試料間の検出量に幅があることから、これもラカンカ抽出物と同様に、100 μg/g 以上検出された試料は、その原材料がくん蒸処理されていた可能性があるとして推測される。

#### 3) キチン及びコンドロイチン硫酸ナトリウム

キチンは 27 及び 720 μg/g、またコンドロイチン硫酸ナトリウムでは 4 及び 130 μg/g 検出された。キチンはカニやエビの甲羅、コンドロイチン硫酸ナトリウムはサメ軟骨から製造され、両者とも原材料は海産物である。海産物製品は、海水由来と考えられる臭素が多く存在すると考えられ<sup>7)</sup>、ひじき中から 158 μg/g 検出されている報告もある<sup>6)</sup>。従って、キチン及びコンドロイチン硫酸ナトリウムから検出された臭素は海水に由来するものと考えられる。

4) レイシ抽出物の追跡調査及び臭素の存在形態に関する検討

レイシ抽出物は、6 製品中 1 製品から 680 μg/g と高い臭素が検出されたため、この製品について追跡調査を行った。

まず、流通過程を調査したところ、原材料であるレイシを保管している倉庫で臭化メチルによるくん蒸処理が行われていたことが判明した。そこでレイシ抽出物の試作品の原材料、抽出残渣、抽出液(ろ過後)、その濃縮液、及び最終製品であるレイシ抽出物の各製造工程ごとに製品を採

Table 1. Contents of Total Bromide in Existing Food Additives and Ingredients for Health Foods

Group	Sample	Number	Positive of numbers	Total bromide ( $\mu\text{g/g}$ )
Food additive	N-Acetylglucosamine	3	0	ND
	Aloe extract	5	5	53, 67, 81, 120, 130
	Calcinated calcium	6	0	ND
	Chitin	2	2	27, 720
	Chitosan	11	11	1, 2, 2, 3, 4, 4, 5, 6, 6, 6, 11
	Curcumin	2	2	3, 18
	Dunaliella carotene	1	1	5
	Garlic extract	1	1	27
	Glucosamine	2	2	6, 8
	Grape seed extract	1	1	10
	Grape skin colour	1	1	1
	Himematsutake extract	9	9	2, 2, 5, 5, 7, 8, 8, 8, 8
	Hyaluronic acid	1	0	ND
	Mannentake extract	9	6	2, 3, 6, 8, 26, 680
	Monascus colour	6	0	ND
	Non-calcinated calcium	5	1	3
	Oligo-N-acetylglucosamine	1	0	ND
	Oligoglucosamine	2	1	27
	Paprika colour	3	0	ND
	Perilla extract	4	2	2, 12
	Powered chlorella	1	0	ND
	Propolis extract	6	2	1, 3
	Psyllium seed gum	4	3	34, 59, 140
	Purple corn colour	2	1	2
	Purple sweet potato colour	5	5	2, 2, 3, 3, 8
	Purple yam colour	1	1	6
	Rakanka extract	8	6	2, 3, 4, 4, 10, 570
	Spice extracts	1	1	5
	Tamarind seed gum	1	0	ND
	d- $\alpha$ -Tocopherol	4	0	ND
Tocotrienol	1	0	ND	
Tomato colour	5	4	1, 1, 1, 3	
Turmeric	1	0	ND	
Vegetable lecithin	1	0	ND	
Yucca foam extract	1	1	6	
Ingredients for health food	Chlorella extract	1	1	5
	Garcinia cambogia extract	1	1	6
	Ginkgo biloba extract	1	1	4
	Isoflavons	2	1	1
	Japanese apricot extract	1	0	ND
	Pomegranate extract	3	3	1, 1, 2
	Serenoa serrulata extract	1	1	2
	Sodium chondroitin sulfate	2	2	4, 130

ND : < 1  $\mu\text{g/g}$

取したものについて、それぞれ臭素を測定し、原材料と最終製品中の臭素濃度と比較したところ、最終製品では約 20 倍に濃縮されていることが判明した<sup>11)</sup>。

上記追跡調査において臭化メチルによりくん蒸処理されたレイシを入手することができたため、臭素がレイシ中でどのような形態で存在しているかを検討した。

レイシの n-ヘキサン、水などによる分画は Fig. 1 に示したように行い、そして各分画の臭素量を測定し、レイシ原材料の臭素量に対するそれぞれの分画の割合を Table 2 に示した。大半の臭素は透析外液の分画に存在することがわかった。各分画には、Table 2 に示した成分が含まれているとされている<sup>5)</sup>。よって、臭化メチルによるくん蒸処理をされたレイシ中の臭素は、レイシの主成分である多糖類よりも主に低分子の成分と結合しているものと推測された。

Table 2 .Rate of Bromide Residue of Each Fraction and Mannentake(fumigated)

Fraction*	Major components	Rate of bromide(%)**
n-Hexane	Oils and fats	0
Residue	Dietary fiber, protein	5
Dialysis liquid (inside)	Protein, polysaccharide	13
Dialysis liquid (outside)	Free amino acid, saccharide	81

\* Fractionation follows Fig.1

\*\* Bromide residue in each fraction / bromide residue in material (fumigated) × 100

Table 3. Relation between Manufacturing Process for Existing Food Additives and Bromide Residue in Sample

Major manufacturing process	Sample	Number	Positive of numbers	Rate of total positive numbers*	Rate of containing bromide(%)**	Total bromide above 100µg/g
Manufactured using water	Chitosan	11	11		100	
	Himematsutake extract	9	9		100	
	Purple sweet potato colour	5	5		100	
	Chitin	2	2		100	
	Glucosamine	2	2		100	
	Grape seed extract	1	1		100	
	Grape skin colour	1	1		100	
	Purple yam colour	1	1		100	
	Yucca foam extract	1	1		100	
	Tomato colour	5	4		80	
	Rakanka extract	8	6		75	
	Psyllium seed gum	4	3		75	
	Mannentake extract	9	6		67	
	Perilla extract	4	2		50	
	Oligoglucosamine	2	1		50	
	Purple corn colour	2	1		50	
	Monascus colour	6	0		0	
	N-Acetylglucosamine	3	0		0	
	Hyaluronic acid	1	0		0	
	Oligo-N-acetylglucosamine	1	0		0	
Tamarind seed gum	1	0		0		
Total		74	56	0.8		
Manufactured using organic solvent	Curcumin	2	2		100	
	Dunaliella carotene	1	1		100	
	Garlic extract	1	1		100	
	Spice extracts	1	1		100	
	Propolis extract	6	2		33	
	d-α-Tocopherol	4	0		0	
	Paprika colour	3	0		0	
	Tocotrienol	1	0		0	
Vegetable lecithin	1	0		0		
Total		20	7	0.4		
Crashed or screwed	Aloe extract	5	5		100	
	Non-calcinated calcium	5	1		20	
	Powered chlorella	1	0		0	
	Turmeric	1	0		0	
Total		12	6	0.5		

\*Total number of bromide positive sample / total number of sample

\*\*Number of bromide positive sample / number of sample × 100

レイシと同様のキノコ類ではアガリクス中から 120 µg/g 検出した報告<sup>12)</sup>がある。また、健康茶から 240 µg/g<sup>13)</sup>、生薬から最大 158 µg/g 検出されたとの報告もある<sup>8)</sup>。キノコ類には臭素の残留基準が設定されていないが、今回のレイシ製品のように原材料が臭化メチルでくん蒸された場合は、キノコ類にも高濃度の臭素が残留する可能性があり、注意を要すると考える。

#### 5. 製造方法による分類

上記 4・4)の検討において、臭素は主に水系溶液の比較的低分子量の分画に存在していた。このことは、既存添加物中の臭素量は、既存添加物の製造方法に依存している可能性が示唆された。そこで、既存添加物名簿注解除リストに記載されている起源や製法を参照<sup>14)</sup>し、今回調査した既存添加物を水系、有機溶媒系等の製造方法の視点から分類し、臭素の残存との関係を考察してみた (Table 3)。

水系で抽出・製造されている既存添加物では、8割近くの製品から臭素が検出され、各試料の臭素検出率も半数以上が 75 %以上と高頻度であった。また、臭素が 100 µg/g 以上検出された試料もほとんど水系に分類された。これは、水系で抽出・製造された場合には、臭素は抽出されやすく、さらに製造工程で濃縮されることが考えられる。

有機溶媒で抽出された試料は、半数以上は未検出であり、検出した試料も最大でニンニク抽出物の 27 µg/g であることから、有機溶媒で抽出して製造される既存添加物に臭素の存在は少ないと考えられる。

原材料を粉砕、搾汁して製造される試料からは、ND~130 µg/g 検出され、ほとんどが原材料中の臭素量に依存するものと考えられる。

#### ま と め

1. 既存添加物及び健康食品素材中の臭素量を測定したところ、43 種類 129 試料中 31 種類 79 試料から臭素が ND~720 µg/g 検出された。その中でも、レイシ抽出物、ラカンカ抽出物等で高濃度の臭素が検出された。また、追跡調査の結果、レイシ抽出物の一部の製品に国内で臭化メチルによるくん蒸処理の事実が判明したが、現在は保管方法の改善により、未くん蒸のものが出荷されている。

2. 水系で抽出製造される既存添加物に臭素の検出率が高く、また製造工程中で濃縮される可能性が示唆された。

3. 現在、既存添加物や健康食品素材には臭素の残留基準はなく、臭化メチルが制限なく使用される可能性も否めない。健康食品等に用いられる場合は病人や老人など、体力が弱っている人が摂取することも考えられ、特に注意が必要であり、今後も引き続き調査が必要と考える。

謝辞 今回、試料を提供して頂いた日本食品添加物協会に深謝します。

(本研究の一部は、日本食品衛生学会第 84 回学術講演会 2002 年 11 月で発表した。)

#### 文 献

- 1) 食品衛生研究会編、平成 15 年度版食品衛生小六法、2002、新日本法規(株)、名古屋。
- 2) 萩原輝彦、安野哲子、斉藤和夫：食衛誌、**41**(6)、397-400、2000。
- 3) 健康食品の摂取量、摂取方法表示の手引、1999、日本健康・栄養食品協会、東京。
- 4) 衛生試験法・注解 2000、409-410、日本薬学会編、東京。
- 5) 上村尚、西島基弘、永山敏廣他：日本食品衛生学会第 38 回学術講演会要旨集、6、1984。
- 6) 田口信夫、平田恵子、天川映子他：衛生化学、**38**(3)、289-294、1992。
- 7) 三橋隆夫：食衛誌、**36**(3)、409-412、1995。
- 8) 長嶋真知子、高野伊知郎、高橋美佐子他：衛生化学、**42**(6)、519-523、1996。
- 9) 貞升友紀、井部明広、田端節子他：東京衛研年報、**51**、100-104、2000。
- 10) 扇間昌規、一木寛子、筒井智美他：日食化誌、**1**(1)、29-32、1994。
- 11) 斉藤哲夫、府川克二、内藤義和：東京都保険医療学会誌、**106**、52-53、2002。
- 12) 田端節子、宮川弘之、山嶋祐季子他：東京衛研年報、**53**、101-107、2002。
- 13) 中里光男、牛山博文、横山敬子他：東京衛研年報、**50**、107-112、1999。
- 14) 厚生省生活衛生局長通知衛化第 56 号別添 1 既存添加物収載品目リスト、5 月 23 日、1996。