

GC/MSによる食用赤色104号及び105号中のヘキサクロロベンゼン含有量調査

海野有紀子・辻 澄子[#]・中村優美子・外海泰秀

Determination and Survey of Hexachlorobenzene in Food Red Nos. 104 (Phloxine) and 105 (Rose Bengale) by GC/MS

Yukiko Umino, Sumiko Tsuji[#], Yumiko Nakamura and Yasuhide Tonogai

The contents of hexachlorobenzene (HCB) in Food Red Nos. 104 and 105 samples certified in fiscal years 1998-2001 were determined by GC/MS. All 32 samples contained HCB ranging from 0.2 to 32.9 mg/kg. The daily intakes of HCB based on the production of food colors was estimated to be from 0.018 to 1.456 ng, and their average (0.441 ng) corresponded to 0.0052% of the ratio for the Tolerable Daily Intake (8.5 μ g for 50 kg body weight) of HCB developed by the IPCS.

Keywords : hexachlorobenzene, phloxine, rose bengale, GC/MS, food color.

緒言

食用タール色素である食用赤色104号 (R-104 ; フロキシシン) 及び赤色105号 (R-105 ; ローズベンガル) は、

レゾルシンと有機塩素系化合物であるテトラクロロ無水フタル酸から合成される (Fig. 1)¹⁾. テトラクロロ無水フタル酸中には不純物としてヘキサクロロベンゼン

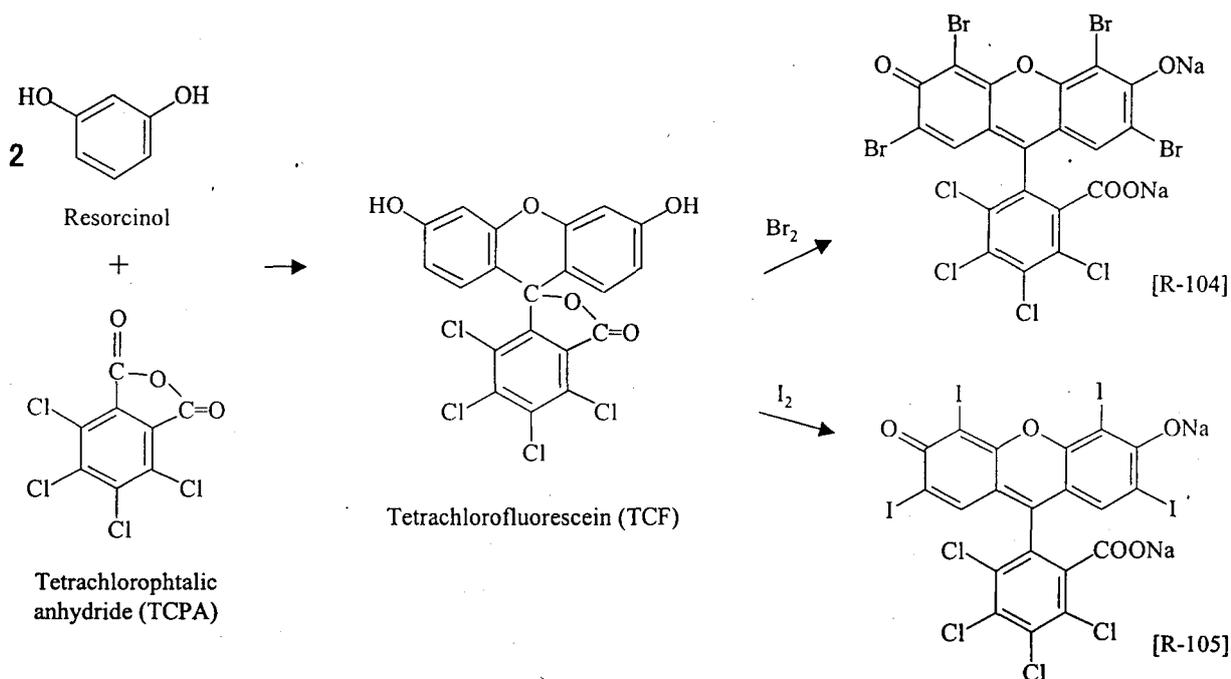


Fig. 1 Preparation of R-104 and R-105

[#]To whom correspondence should be addressed: Sumiko Tsuji;

1-1-43, Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka, 540-0006, Japan;

Tel: 06-6941-1533; Fax: 06-6942-0716;

E-mail: tsuji@nihs.go.jp

(HCB) (Fig. 2) が混入する可能性がある²⁾. HCBは第一種特定化学物質である上に、ダイオキシン類の先駆体の一つであると考えられている³⁾. AndrzejewskiらはR-104及びR-105中に0.2~244.3ppm²⁾, 堀らは0.55~

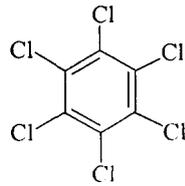


Fig. 2 Structure of hexachlorobenzene (HCB)

78ppm⁴⁾のHCBが含有することを報告している。第7版食品添加物公定書ではR-104及びR-105の純度試験として、水不溶物、液性、塩化物・硫酸塩、重金属、ヒ素、他の色素に係わる規格値¹⁾が設定されているが、HCBについての規格は設けられていない。近年製造されたこれらの色素中のHCB残留濃度を把握する為、平成10～13年度(F.Y.1998～F.Y.2001)のR-104及びR-105の製品検査合格検体についてGC/MSによりHCB含量実態調査を行ったので報告する。

実験方法

1. 試料

平成10～13年度(F.Y.1998～F.Y.2001)製品検査合格検体R-104, 27検体及びR-105, 5検体の計32検体を用いた。

2. 試薬及び溶媒

HCB標準品(残留農薬試験用)は和光純薬工業(株)製を、*n*-ヘキサン及びジエチルエーテルは残留農薬試験用を用いた。フロリジルミニカラムはSep-Pak[®] Plusフロリジルカートリッジ(Waters社製)を用い、あらかじめ10%ジエチルエーテル/*n*-ヘキサン溶液及び*n*-ヘキサン10 mlずつで順次洗浄して分析に供した。

3. 標準原液及び標準溶液の調製

HCB標準品約20.0 mgを精密に量り、*n*-ヘキサンを加えて溶かし正確に20 mlとし、標準原液(1000 µg/ml)とした。標準原液を*n*-ヘキサンで希釈して1.0 µg/mlになるように調製したものを標準溶液とした。

標準溶液を適宜量り採り、*n*-ヘキサンを加えて定容とし、検量線用標準溶液とした。

4. 試験溶液調製法

4-1) 簡易法

試料100 mgに水150 mlを加え色素を溶解した後、*n*-ヘキサン50 mlを加え5分間機械振とうした。*n*-ヘキサン層を分取し、ろ紙でろ過を行った後、ロータリーエバポレーター(約40℃, 減圧)にて濃縮し、*n*-ヘキサンで5 mlの定容とし、調製直後GC/MS分析に供した。

4-2) フロリジルカラム精製法

堀らの試験溶液調製法⁴⁾を準用した。すなわち、試料100 mgに水150 mlを加え色素を溶解した後、*n*-ヘキサン50 mlを加え5分間機械振とうした。*n*-ヘキサン層を分取し、ロータリーエバポレーター(約40℃, 減圧)にて濃縮し、濃縮液をフロリジルミニカラムに負荷し、10%ジエチルエーテル/*n*-ヘキサン溶液10 mlで溶出した。溶出液を濃縮(約40℃, 減圧)後、*n*-ヘキサンで5 mlの定容とした。

5. GC/MS条件

装置：島津製作所(株)製 Shimadzu QP-5050(質量分析計), GC-17(ガスクロマトグラフ), AOC-20i(オートインジェクター)；カラム：J&W DB-5(内径0.25 mm, 長さ30 m, 膜厚0.25 µm)；気化室温度：260℃；カラム温度：50℃(1 min)→20℃/min→300℃(7 min)；キャリアガス：高純度ヘリウム, 圧力100 kPa, 全流量20 ml/min；注入方法：スプリットレス；インターフェース温度：260℃；イオン化法：EI；イオン化検出ゲイン：1.5kV；測定イオン： $m/z = 284$ ；注入量：1 µl。

6. 色素由来HCBの1日摂取量の算出方法

生産流通調査方式⁵⁾に準じて行った。すなわち、各年度各社のR-104及びR-105各合格検体の申請製造量に各年度各社の平均HCB含量を乗じて各年度各社のHCB擬製造量を算出し、365日及び日本人人口(12,700万人)⁶⁾で除して、各年度各色素由来HCBの1日摂取量を算出し、その合計値を各年度の色素由来HCBの1日摂取量として推定した。

実験結果及び考察

1. HCBのGC/MS(TIC)及びマススペクトル

HCB標準品のGC/MS(TIC)及びマススペクトルをFig. 3に示した。ピーク感度の高い $m/z = 284$ (M⁺)を測定イオンに設定した。検量線は、0.01～1.00 µg/mlの範囲で直線性を示し、GC-ECDとは感度、精度及び操作性ともほぼ同等であった。定量限界は0.125 mg/kgであった。なお、GC-ECDのデータはここでは示していないが、HCB以外にも多くの不純物ピークが認められる検体があった⁷⁾ので、以下ではすべてGC/MS(SIM)で測定することにした。

2. 試験溶液調製法について

フロリジルカラムによる精製過程を省略した簡易法を用いても、精製した場合と結果はほぼ同等であった。しかしTable 1に示したように、試験溶液を保存後、GC/MS(SIM)法で再測定した場合には、精製過程を

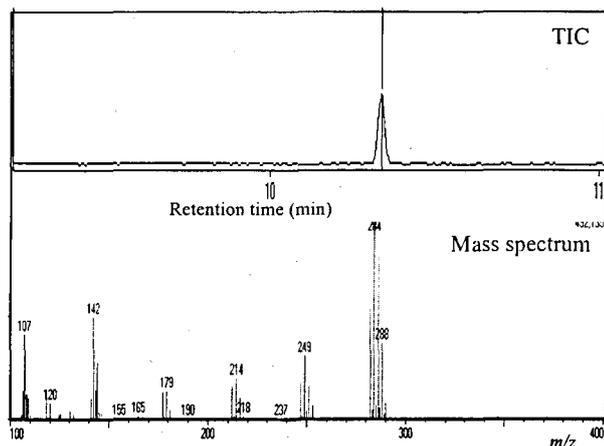


Fig. 3 GC/MS(TIC) chromatogram and mass spectrum of HCB
HCB standard solution: 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$

省略した簡易法による測定値は高くなる傾向が見られた。そこで、簡易法により試験溶液を調製し、調製直後に分析に供した。

3. 添加回収試験

各色素に対してHCBを1.0 mg/kg添加したときの回収率はR-104及びR-105について、それぞれ96.0 \pm 5.5%及び101.0 \pm 7.2%であった。

4. 実態調査

平成10～13年度(F.Y.1998～F.Y.2001)製品検査合格検体のR-104及びR-105の計32検体についてHCB含量実態調査を行った結果をTable 2に示した。全検体より、0.16～32.9 mg/kgの範囲でHCBが検出された。

平成10年度(F.Y.1998)のR-104は、他年度に比べ高い含量のHCBが検出され、すでに報告されている比較的高い含量(30 mg/kg以上)⁴⁾に匹敵した。しかし平成11年度(F.Y.1999)以降は1検体を除いてほとんどの検体の測定値は低かった。また、R-105についても突出したHCB含量を示す検体はなく、平成13年度(F.Y.2001)の検体については他年度に比べ、HCB含量が非常に低

かった。HCBは色素の合成原料であるテトラクロロ無水フタル酸の合成過程での混入物であると指摘されており^{2), 4)}、HCB混入率の低いテトラクロロ無水フタル酸を使用する必要があることを推奨している。したがって、現在はHCB含量の低いテトラクロロ無水フタル酸を食用色素の合成原料として用いているものと考えられる。ただ、1社については近年の検体についても比較的HCB含量が高値であったことから、引き続き監視する必要があると考えられる。

5. R-104及びR-105由来HCBの1日摂取量

平成11年度(F.Y.1999)の食用色素の日本人1日摂取量調査⁸⁾では、R-104及びR-105の摂取量がいずれも0 mg/day/人であり、近年のデータ(平成6年度, F.Y.1994)⁹⁾でも、R-104, 0.0276 mg/day/人, R-105, 0.0009 mg/day/人であり、非常に少ない。一方、各年度各社のR-104及びR-105の製造量は各検体の申請書から把握でき、毎年生産量統計として報告している^{10)–13)}。そこで、その各色素の生産量統計からHCBの擬生産量(Table 2)を算出し、1日摂取量を推定することにした。Table 3に示したように、生産流通調査方式⁵⁾による色素の1日摂取量においては年度間のばらつきはさほど大きくなかった。色素由来HCBの1日摂取量は色素中の含有量が高かった平成10年度のR-104において一番多く摂取され1.35 ngであった。色素由来HCBの推定1日摂取量は平均で0.441 ngであった。FAO/WHOでは1975年に許容1日摂取量(Acceptable Daily Intake, ADI)を0.6 HCB $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/dayと定めていたが、1978年にこれを撤回した¹⁴⁾。しかし、国際化学物質安全性計画(International Programme on Chemical Safety, IPCS)におけるHCBの耐容1日摂取量(Tolerable Daily Intake, TDI; 0.17 HCB $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/day, 50体重のヒトに対して8.5 μg)¹⁴⁾が定められており、TDIに対するHCBの推定1日摂取量の比は0.0052%であった。また、HCB低摂取国である日本人のトータルダイエツ方式による食品由来HCBの1日摂取量は53 ngと報告¹⁵⁾されており、今回の生産流通

Table 1 Effects of clean-up through Florisil column and storage on the contents of HCB in the R-104 sample solution

	Florisil column clean-up	After preparation of sample solution	
		Immediately	Storage for 2 weeks
Content (mg/kg) ^a			
Sample I	through	23.3 \pm 1.3	24.5 \pm 5.5
	—	23.7 \pm 1.8	29.1 \pm 2.8
Sample II	through	27.7 \pm 1.6	25.4 \pm 1.3
	—	25.9 \pm 1.8	31.6 \pm 1.0

a: Average and S.D. of three determinations

Table 2 Contents and pseudo-productions of HCB in the certified food colors R-104 and R-105

Food color	Fiscal Year	Manufacturer	Production (number of samples) (kg)	Content (mg/kg)		Pseudo-production (mg)
				Min ^a - Max ^a	Average	
R-104	1998	A (6)	1800	19.20 - 32.86	29.58	53244
		B (1)	300	28.91	28.91	8673
		C (2)	136.5	0.83 - 1.64	1.24	169.26
		D (1)	500	0.94	0.94	470
	1999	A (3)	1300	0.63 - 0.83	0.74	962
		B (2)	600	0.48 - 2.81	1.64	984
		C (1)	100	0.38	0.38	38
		E (1)	200	5.54	5.54	1108
	2000	A (2)	800	0.34 - 0.73	0.54	432
		B (2)	800	0.24 - 0.46	0.35	280
	2001	A (2)	1000	0.42 - 0.74	0.58	580
		C (1)	100	0.39	0.39	39
		D (1)	660	0.52	0.52	343.2
		E (1)	320	27.46	27.46	8787.2
F (1)		500	0.42	0.42	210	
R-105	1998	B (1)	300	6.74	6.74	2022
		D (1)	256.25	11.35	11.35	2908.438
	1999	F (1)	58	5.55	5.55	321.9
	2000	F (1)	90	1.69	1.69	152.1
	2001	A (1)	300	0.16	0.16	48

a: Each value is the average of two determinations

Table 3 Daily intakes of HCB from food colors estimated by production

Fiscal Year	Food color	Daily intake		
		(mg/day)	HCB (ng/day)	
			(ng/day)	Total (ng/day)
1998	R-104	0.059	1.350	} 1.456
	R-105	0.012	0.106	
1999	R-104	0.047	0.067	} 0.074
	R-105	0.001	0.007	
2000	R-104	0.035	0.015	} 0.018
	R-105	0.002	0.003	
2001	R-104	0.056	0.215	} 0.216
	R-105	0.006	0.001	
Average	R-104	0.049±0.011	0.412±0.631	} 0.441 ^a ± 0.682
±S.D.	R-105	0.005±0.005	0.029±0.051	

a: This value corresponded to 0.0055% of the ratio for the TDI (0.17 µg /kg body weight/day; 8.5 µg/day for 50 kg body weight) of HCB developed by the IPCS

調査方式による推定1日摂取量の寄与率は1%にも満たなかった。これらより食用色素 (R-104及びR-105) 由来HCBの1日摂取量は非常に少なく、問題のない量であることがわかった。

まとめ

近年製造されたR-104及びR-105中のHCB含量を把握する為、平成10～13年度 (F.Y.1998～F.Y.2001) 製品検査合格検体 (R-104, R-105) の計32検体についてHCB含量実態調査を行った。その結果、全検体から

HCBが検出された。しかし、HCB含量は近年になるにつれ非常に減少していた。また生産流通調査方式による色素由来HCBの1日摂取量は0.441 ngであり、この値はIPCSによるTDI (50 kg体重に対して8.5 µg) の0.0052%となり、非常に少なく、問題のない量である事がわかった。

文献

- 1) Suzuki, I., Nojima, S., Tanimura, A., eds.: "Shokuhin Tenkabutsu Koteisho Kaisetsusho, 7th Ed.", Hirokawa Shoten, 1999, p. D713-727 (ISBN4-567-01852-4)
- 2) Andrzejewski, D., Weisz, A.: *J. Chromatogr. A*, **863**, 37-46 (1999)
- 3) Kato, M. and Urano, K.: *Waste Manag.*, **21**, 63-68 (2001)
- 4) a) 堀 伸二郎, 小西 良昌, 尾花 裕孝, 石光 進, 日本食品化学学会第4回講演要旨集, p.63(1998); b) Hori, S.: *The San-Ei Gen Foundation For Food Chemical Research ANNUAL REPOET*, No. 5, 115-124 (1999)
- 5) 食品添加物研究会編: あなたが食べている食品添加物—食品添加物一日摂取量の実態と傾向—総合編(本編・資料編), 日本食品添加物協会 p.1-10 (2001)
- 6) Jinkou Suikei Geppo: <http://www.stat.go.jp/data/jinsui/tsuki/index.htm>
- 7) 海野有紀子, 辻 澄子, 中村優美子, 外海泰秀, 日本食品衛生学会第83回学術講演会講演要旨集, p.50 (2002)
- 8) Ishiwata, H.: *Shokuhinn Eisei Kenkyu*, **51** (3), 83-101 (2001)
- 9) Koh, T., Yada, T., Tobimatsu, Y., Hamasaki, N., Tabuchi, Y., Fujii, M., Semma, M., Tsuji, S., Shibata, T. and Ito, Y.: *Jpn. J. Food. Chem*, **2**, 64-68 (1995)
- 11) Kuwabara, K., Matsumoto, H., Murakami, Y. and Hori, S.: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **38**, 286-295 (1995)
- 10) Tsuji, S., Okada, M., Matsumura, I., Nakamura, Y. and Tonogai, Y.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **117**, 185-188 (1999)
- 11) Tsuji, S., Okada, M., Amakura, Y. and Tonogai, Y.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **118**, 135-138 (2000)
- 12) Tsuji, S., Umino, Y., Amakura, Y., Nakamura, Y. and Tonogai, Y.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **119**, 70-73 (2001)
- 13) Tsuji, S., Umino, Y., Nakamura, Y. and Tonogai, Y.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **120**, submitted (101-106)
- 14) Environmental Health Criteria 195 (EHC 195, 1997): <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc195.htm>