

飲料水中のトリハロメタン (THM)

戦後我が国の水道普及率は年々増加し、昨年には90%を超えるに至った。大部分の国民が衛生管理のなされた飲料水の恩恵に浴することになり、かつての自家水利用時代の水に起因する感染症は激減した。しかし飲料水を塩素消毒することによりトリハロメタン(CHCl₃、CHCl₂Br、CHClBr₂、CHBr₃、以下THMと略)なるものが新たに生成し、これが発癌性を有するとの報告が近年なされ、にわかにTHMが社会問題化した。折りしも森田等⁽¹⁾によって東京都のような大都市水道水から平均41ppbものCHCl₃が検出されたことから、全国規模でのTHM汚染が進行している可能性が考えられ、厚生省は緊急に全国の実態把握を行う必要があるとしている。

THMの発癌性について、1974年、米国のHarris等⁽²⁾は癌に関する疫学調査の中で、「生活排水による有機物汚染の進んだミシシッピ川を飲用水源とするニューオーリンズ市民には清浄な地下水を飲用水源とする他都市の住民より高率に癌死亡者が見られ、そしてフミン酸(水中有機物質の1種)と消毒塩素剤からCHCl₃が発生することまた動物実験でCHCl₃が発癌性を示すことからCHCl₃が癌の原因になるのではないか。」と述べた。これを受けてEPA⁽³⁾(米環境保護局)は同市の浄水の水質調査を行ったところ66種の有機物質を検出し、その中でもCHCl₃は13ppbと高濃度に検出した。続いて全米80都市における浄水中のTHMの調査が行われ、CHCl₃平均濃度21ppb、CHCl₂Br

表1 米国における飲料水中の有機物の実態調査

Compound	Number/No. Positives/Cities	Mean Conc Positives, µg/l
Chloroform	102/111	47
1,2-Dichloroethane	6/111	4.3
Carbon tetrachloride	3/111	2.9
Bromodichloromethane	88/111	22
Trichloroethylene	4/111	11
Dibromochloromethane	47/111	17
Bromoform	3/111	21
Benzene	0/111	—
Methylene chloride	15/109	6.1
p-Dichlorobenzene	2/111	2.0
1,2,4-Trichlorobenzene	1/112	10
Bis(2-chloroethyl) ether	0/112	—
2,4-Dichlorophenol	56/108	0.18
Pentachlorophenol	86/108	0.07
PCB's	2/110	0.76
Fluoranthene	17/110	0.02
3,4-Benzofluoranthene	0/110	—
1,12-Benzoperylene	0/110	—
3,4-Benzopyrene	0/110	—
Indeno(1,2,3-cd)pyrene	0/110	—

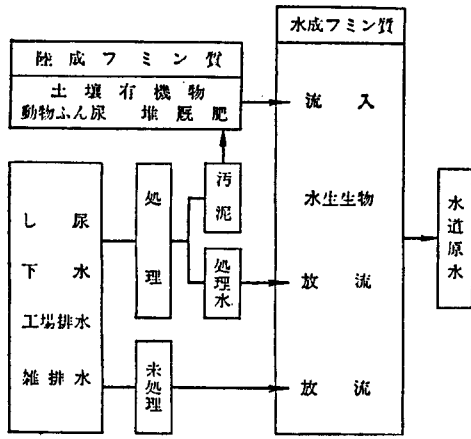


図1 フミン質の由来

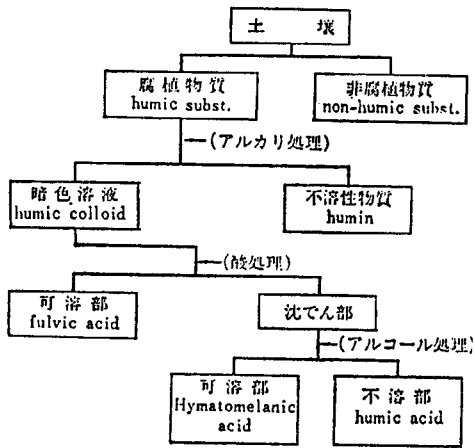


図2 フミン質の系統分離

6 ppb、CHCℓBr₂ 1.2 ppb、CHBr₃ 68.8 ppbと広範囲にTHMの汚染が明らかにされた。⁽⁴⁾

さらに表1のように広範囲にわたって公共水道水が調査され、汚染が進行していることが次々に報告された。

1. THMの発癌性

EPAの報告によれば人の年間CHCℓ₃摂取量は93mgで、そのうち飲料水からは64mgを摂取しその比率は大きいものの、CHCℓ₃のラット経口投与でのLD50: 800 mg/kgに比べると小さい。

しかしながらUpon等は、「飲料水中のTHMと人間の癌の増加の可能性に関する調査研究10件のうち9件迄が水質と癌との間に有意な相関があることを指摘し、3件が飲料水中のCHCℓ₃が0.1 ppm減ると膀胱癌が男で7.5%、女で10%減少し大腸癌は男女共に7.5%~8.5%減少することから、

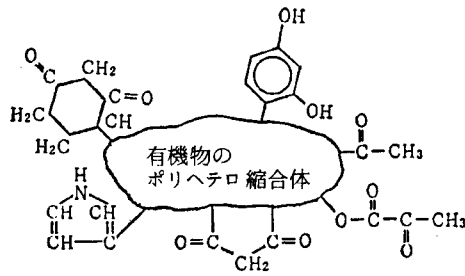


図3 フミン酸の分子構造モデルC

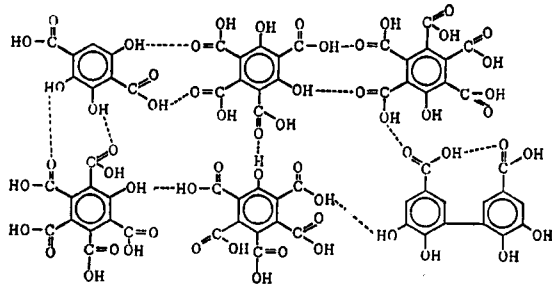


図4 フルボ酸の推定構造式

特に膀胱癌・大腸癌との相関を指摘した。」と報告している。

(5) 一方Simmon等はAmes TestにおいてCHCℓ₃は変異原活性は陰性であったが、CHBr₃、CHCℓBr₂、CHCℓ₂BrはS-9非存在下でもTA 100 (サルモネラヒスチジン要求性変異株)に対して陽性を示したと報告している。

これらTHMと発癌性に関する数数の研究報告は2者の因果関係を確実に証明するものではないにしても、極めて強い疑念を指摘している。

2. THMの基準値

EPAは1979年11月、暫定第1種水質飲料水規則を改定し、塩素消毒を行った人口1万人以上の給水道水に対して総THM濃度100 ppb以内であることを規定した。ただし、飲料水は人間の生命に不可避であるとの認識から、当面実行可能な程度において人間の健康を保護するもの、との条件を添え究極的には10 ppb~25 ppbを目標としている。しかし、西独のように既に25 ppbと厳しい規制値を設けている例や、カナダのように350 ppbと緩やかな例もある。

3. THMの生成

飲料水に添加される塩素剤は水中のアンモニアと優先的に反応して殺菌力の弱い結合型塩素となるので、通常塩素消毒の際は遊離型塩素が残存するように過剰($\text{NH}_4\text{-N}$ 量の7~10倍量以上)の塩素剤が添加される。そして主としてこの遊離型塩素が水中のフミン質と反応することによって CHCl_3 を始めとするTHMが生成される。

フミン質は従来は色度等水の外観を損なう着色物質として敬遠されたが、衛生上問題とされなかった。しかしここに至って健康上の観点から一躍クローズアップされてきた。

一般にフミン質とは腐食した有機物質のことをいい、由来から大別すると図1のごとく植物成分が土中で腐食されたものと水中混入有機物質が腐食されたものとに分けられる。

化学的には図2のごとく分類され、フミン酸、フルボ酸、ヒマトメラニン酸が主としてTHMの前駆物質となる。フミン酸は分子量1万~数万、フルボ酸は1万以下、ヒマトメラニン酸は250当量程度とされ、それらの構造式は図3、図4のごとくである。

これらフミン質の構成成分やその他フェノール化合物を使った CHCl_3 生成実験で、m位にOR基やCl基を有するものから高率に CHCl_3 が生成してくる事が判明している。

佐谷戸等はフミン酸を使って CHCl_3 生成の諸条件を精力的に検討し、生成反応は通常条件(中性・常温)で1日要すること、アルカリ性下や高温下では生成量が増加すること、十分に塩素剤を加えた場合生成する CHCl_3 量はフミン酸量に比例すること等を報告している。Br⁻を有するTHMの生成は式(1)のように塩素剤のClと水中のBr⁻が置換



し、これがフミン質と反応することによるものである事も判明し、現にBrの多い海岸近くの消毒飲料水から高濃度のBr系THMが検出されることがある。

4. THMの低減化

浄水場における一般的な塩素処理方法を図5に示す。問題はTHM前駆物質の処理がなされないまま前塩素処理が行われる点にある。

一旦生成したTHMは沈澱、砂ろ過による除去は不可能で、活性炭には20%程度吸着されるものの完全ではなく、吸着剤が劣化すれば吸着したTHMも再溶出を起こすのでその都度活性炭の交換が必要である。

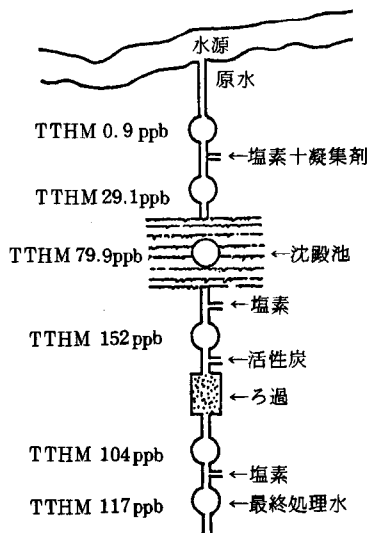


図5 浄水場水処理行程とTTHM

前塩素処理は浄水場における細菌・ウイルスの不活化、鉄マンガンの処理、アンモニア処理等の目的を有し安易に廃止し難い点もあるが、フミン酸は凝集処理、砂ろ過により容易に除去できる事から、フミン酸からのTHM生成を妨ぐ為に塩素注入点の変更を行うことがまづ考えられる。

しかしフルボ酸はこのような処理によっても容易に除去されない為、一部生成してくるTHMを低減化するためには活性炭処理や曝気処理、煮沸処理を行わなければならない。但し曝気法や煮沸法によればTHMは完全に除去されるが、現実的でない。

その他消毒剤自体の見直しも考えられ、代替物として結合塩素処理、二酸化塩素処理、オゾン処理があげられる。何れの方法もTHM生成を抑制するもの、結合塩素処理では著しく殺菌力が低下すること、二酸化塩素処理ではTHM以外の副生成物の問題、オゾン処理では条件によってはTHMの発生を促進することやコストの問題を残す。

このように現在採用されている水処理方法は基本的には無機性汚濁物質浄化を主眼にしたものであるので、有機物質であるTHM除去に関しては自ら限界がある。(生活環境部 荘加泰司)

参考文献

- (1) 森田昌敏他：塩素処理と有機塩素化合物、用水と廃水 18、143、1976
森田昌敏他：河川及び井戸水中の有機物の分析法並びに含有量に関する研究、東京都衛研年報 25、399、1974

- (2) Harris, R.H, et.al: The Imolication of Cancer Causing Substances in Mississipi River Water., Consumer Rep. **39**. 436 1974
- (3) E P A : Draft Analytical Report, New Orleans Area Water Supply Study(Nov. 1974)
- (4) Symons J.K, et.al : National Organics Reconnaissance Survey for Halogenated Organics., J. Am. Water Works Assoc. **67**. 634. 1976
- (5) Simmon. V.F, et.al : Mutagenic Activity of Chemicals Identified in Drinking Water., Edinburg Scotland (July 1977)

過酸化水素の微量分析法について

厚生省は昭和55年2月20日告示第24号をもって、「食品、添加物等の規格基準」を一部改正し、過酸化水素の残存基準を「最終食品の完成前に過酸化水素を分解し、又は除去しなければならない。」と改めた。これは単に従来の分析法で過酸化水素が検出されないことのみでなく、食品の製造技術、加工技術、工程管理等をも包含して評価して最終食品中に過酸化水素の残留がないことが確実になければならないことを意味している。

以上の点をふまえて、新しい微量分析法が検討され、昭和55年度食品化学特殊技術講習会において講義と実習が行われたので、その内容を紹介するが操作が複雑で分析に長時間を要し、技術的に習熟しないと良い結果が得られない。

また、本分析法に及ぼす食品成分の影響について十分な検討がなされているとはいえ、各種食品の分析における問題点をどしどし指摘していただけたら幸いである。

〔試薬〕

メチルアルコール：特級、密栓し、0℃以下に保存したものを用いる。

フェノール試液：フェノール（特級）2.0gをとり、水を加えて溶かし、100mlとする。用時調製する。

4-アミノアンチピリン試液：4-アミノアンチピリン（特級）400mgをとり、水を加えて溶かし、100mlとする。用時調製する。

ペルオキシダーゼ試液：ペルオキシダーゼ（結晶¹⁾ 10mgに水を加えて溶かし、100mlとする。用時調製する。

ケイソウ土（焼成品）：セライト 545 100gに塩酸100mlおよび水250mlを加え、約1時間加熱

したのち、冷却し、ろ紙（5種A）で吸引ろ過し、ろ紙上の残渣をろ液が中性になるまで水洗する。110℃で十分乾燥し、粉碎したのち使用する。

合成ケイ酸マグネシウム：カラムクロマトグラフ用合成ケイ酸マグネシウム（149～250μmの粒子のもの²⁾ 200gに水約1,000mlを入れ、よくかき混ぜたのち上澄液を除く。この操作を3回繰り返したのち、さらにアセトン1,000mlを用いて同様の操作を2回繰り返す。残留物は水200～300mlを用い、ろ紙（5種B）で吸引ろ過し、さらにアセトンのにおいがなくなるまで水洗したのち、乾燥して使用する。

リン酸塩緩衝液（pH 7.3、0.5M）：リン酸一カルcium 68.05gに水を加えて溶かし1,000mlとしたものを第一液とする。リン酸二ナトリウム（12水塩）179.08gに水を加えて溶かし1,000mlとしたものを第二液とする。第一液約1容量と第二液約4容量をpH 7.3になるように混和してリン酸塩緩衝液とする。

過酸化水素標準原液：30%過酸化水素水2mlをとり、冷メチルアルコールを加えて100mlとして標準液をつくり、つぎの方法で標準化する。

標定：標準液1mlを正確にはかり、100mlの共栓フラスコに入れ、水20ml、硫酸（1→10）10mlおよびヨウ化カリウム溶液（1→10）10mlを加え、10分間暗所に放置したのち、遊離したヨウ素を0.02Nチオ硫酸ナトリウム溶液で滴定する（指示薬：デンプン試液）。この時の値をV（ml）とし、別に空試験を行ったときの滴定値をVo（ml）として次式により過酸化水素濃度を求める。

$$0.02 \text{ Nチオ硫酸ナトリウム溶液 } 1 \text{ ml} \\ = 0.3402 \text{ mg H}_2\text{O}_2$$

標定後、標準液約10mlを正確にはかり、冷メチル

アルコールを加えて1 mlに H_2O_2 2.5 mgを含むように調整し、過酸化水素標準原液とする。

過酸化水素標準液：過酸化水素標準原液2 mlを正確にはかり、冷メチルアルコールを加え、正確に500 mlとする（標準液1 ml： H_2O_2 10 μg ）。用時調製する。

硫酸亜鉛試液：硫酸亜鉛（特級）10 gをとり、水を加えて溶かし、100 mlとする。用時調製する。

〔器具および装置〕

ケイソウ土吸引ろ過器：内径5 cmのプフナーオートにろ紙（5種C）および水に懸濁したケイソウ土（焼成品）5 gを5 mmの厚さに積層したものをを用いる。

カラム管：内径1.5 cm、長さ30 cmのガラス管の底部を脱脂綿を用いてセンをし、水に懸濁した合成ケイ酸マグネシウムを約8 cmの高さになるように積層したのち、水約300 mlで洗浄したものをを用いる。

〔分析法〕

(1) 抽出行程

細切した試料約20 gを正確にはかり取り、磨砕用カップに入れ、これに臭素酸カリウム粉末³⁾10 gを加え、外槽を氷冷しながらよくブレンドする。これに冷メチルアルコール約50 mlを加え、氷冷しながら3分間激しくかき混ぜたのち、容量100 mlの共栓付遠心沈澱管に移し、毎分3,000回転で約5分間遠心分離し、分離液を別に分けとる。遠心沈澱管の残留物に冷メチルアルコール約30 mlを加え、よく振り混ぜたのち同様に遠心分離する。全分離液を合わせ、冷メチルアルコールを加え、正確に100 mlとし、試料液とする。

(2) 精製行程

あらかじめ水100 mlおよびリン酸塩緩衝液⁴⁾22 mlを入れた300 mlの三角フラスコに試料液50 mlを正確に加え、おだやかに振り混ぜたのち、さらに硫酸亜鉛試液⁵⁾15 mlを加え、ときどき振り混ぜながら室温で10分間放置する。つぎにケイソウ土（焼成品）⁶⁾5 gを加え、おだやかに振り混ぜ、室温に5分間放置したのちリン酸塩緩衝液⁷⁾25 mlを加え、よく振り混ぜる。ついでケイソウ土吸引ろ過器を用い減圧下でろ過し、残渣を30 mlの水を用いて洗浄ろ過する。全ろ液を合わせ水を加えて正確に250

mlとする。この液が着色していない場合は、125 mlを正確にはかり、200 mlの三角フラスコに入れ、A液とする⁸⁾着色している場合は、125 mlずつを正確にはかり、それぞれ200 mlの三角フラスコに入れA液およびB液とする。

(3) 呈色行程

A液にはフェノール試液3 ml、4-アミノアンチピリン試液1 mlおよびペルオキシダーゼ試液1 mlを加え、37°Cの水浴中でときどき振り混ぜながら15分間放置する⁹⁾

着色している場合はB液をとり、フェノール試液3 ml、4-アミノアンチピリン試液1 mlおよび水1 mlを加え、以下A液と同様に操作する。

(4) 精製濃縮行程

呈色反応後、ただちにそれぞれカラム管に流し込む¹⁰⁾つぎにカラムにメチルアルコール溶液(1→5)50 mlずつを加え洗浄したのち、アセトン50 mlずつを加え、溶出液¹¹⁾を100 mlのナスフラスコにとる。溶出液は80°Cの水浴中で約3 mlになるまで減圧濃縮したのち¹²⁾水を加えて正確に5 mlとする。

これをメンブランフィルター（ポアサイズ0.45 μm ）¹³⁾を用いてろ過し¹⁴⁾試験溶液AおよびBとする。

(5) 定量行程

波長505 nmにおける吸光度を測定用対照液を対照として測定し、検量線より試料中の過酸化水素の含量を計算する。

着色のある場合、試験溶液AおよびBの吸光度を同様に測定し、それぞれE(A)およびE(B)とする。

表1 本法による各種食品での H_2O_2 の添加回収率

食品	回収率	
	2 ppm	10 ppm
生めん	92.5 ± 3.5	98.5 ± 1.2
かまぼこ	86.9 ± 4.1	97.9 ± 2.0
しらす干し	89.4 ± 4.2	95.8 ± 3.2
かずのこ	85.7 ± 4.0	96.4 ± 2.9

（国立衛試大阪支所 伊藤室長の資料による）

表2 市販食品の測定値（ブランク値）

食品	件数	H_2O_2 (ppm)
生めん	7	0 ~ 0.20
小麦粉	4	0 ~ 0.10
かまぼこ	6	0 ~ 0.30
しらす干し	7	0.10 ~ 0.30

（国立衛試大阪支所 伊藤室長の資料による）

E(A) - E(B)の値を求め、検量線より試料中の過酸化水素の含量を計算する。

¹⁵⁾
〔検量線の作製〕

過酸化水素標準液1、2、3および4 mlをとり、それぞれ冷メチルアルコールを加えて100 mlとし、(2)精製行程以下同様に操作し、検量線を作製する。

〔測定用対照液の調製〕

試料液のかわりに冷メチルアルコール100 mlを用い、(2)精製行程以下同様に操作し、測定用対照液とする。

注1) Horse Radish Peroxidase 100 u/mgのものを使用する。例えば、ベーリンガー・マンハイム社製POD、Grade〔Ⅱ〕等がある。

注2) Florisil 60~100メッシュのもの。

注3) しらす干しやかまぼこは微量の過酸化水素を分解する物質が含まれている。臭素酸カリウムは過酸化水素の分解を抑制する目的で加える。

注4) 過酸化水素の安定化を図るとともに、次に硫酸亜鉛を加えたのちのpHの調整を目的としている。硫酸亜鉛添加後のろ液のpHが5.5以下になると、発色行程で懸濁を生ずる。pHが6.5以上では、除タンパク効果が弱くなり、ろ液は澄明にならない。

注5) 除タンパクの目的で加える。

注6) 沈澱を熟成させてろ過を容易にする。

注7) 発色の至適pHは7.0~7.6である。

注8) ろ液が着色していない場合、試験溶液Bの吸光度E(B)は0.020~0.030であり、無視しうる。

注9) 過酸化水素10 ppm以上の試験についてはこの段階で直接両液の波長505 nmにおける吸光度を測定することにより定量できる。検量線もこの段階までで作製する。10 ppmの試料での吸光度は約0.090である。

注10) フェノール等の過量の発色試薬を除去する。流速は15 ml/min程度に速くしても呈色物は上層に留まり流出しない。

注11) コックを調節し、流速を約5 ml/minに抑える。呈色物は約25 mlのアセトンではほぼ完全に溶出する。

注12) 乾固すると呈色物は水5 mlでとけにくく

なり、測定値が低下する。

注13) Millipore、Sartorius等から各種のフィルター及びホルダーが市販されている。また、Millex-HAのようにディスポーザブルのものもある。

注14) 肉眼的に濁りが見えなくても、ろ過しないと吸光度に影響する。

注15) 過酸化水素1~10 µgの範囲で直線性が得られる。

〔解説〕

過酸化水素は水に比べてメタノール中で安定であり、約24時間ほとんど分解されない。しかしながら食品中には過酸化水素を分解する物質がしばしば含まれているから、抽出に先だって分解を抑制する目的で臭素酸カリウムを十分に混和する。

添加回収実験を行う場合、特にこの点を留意しないと良好な結果が得られない。

呈色反応で酵素を用いるのでメタノールによる酵素の失活を防ぐために、抽出液を水で希釈するが、水中での過酸化水素の安定性を増すためにリン酸塩緩衝液を加える。即ち水100 mlとリン酸塩緩衝液22 mlを混ぜてから抽出液50 mlを加え、さらに除タンパク剤として10%硫酸亜鉛溶液15 mlを加える。吸引ろ過はおだやかに行う。減圧しすぎるとろ紙が破れたり、ろ液が泡立ったりするので注意が必要である。呈色試液は毎日新たに調整する必要がある。古い試液を使うと測定用対照液まで着色する。フロリジルカラムの流速は早くても着色物質はフロリジルに吸着される。20%メタノール50 mlで過剰の試薬は溶出する。アセトンで溶出された呈色液は数時間安定である。5 mlの測定溶液をミリポアフィルターでろ過すると約4.5 mlとなる。これは測定最小限の液量であるので、呈色が濃ければ10 mlにメスアップするのが望ましい。

操作は迅速に行う必要があり、測定用対照液、検量線用標準液も同時に操作しなければならないので、一度に処理しうる検体数は4~5件である。

全行程約6時間を要し、抽出から測定まで一連の操作で行わなければならない。

(食品薬品部 高橋弘明)

Brucella canis によるブルセラ症

ブルセラ症は、家畜間にみられる伝染性流産を主徴とした疾患で、二次的にヒトにも感染を起こす人畜共通感染症である。本症は、欧米はじめ広く世界各地に存在し、わが国では、明治末期より、動物のブルセラ症が報告されており、そのほとんどが *Brucella abortus* (ウシ流産菌) によるもので、その他のブルセラ属菌については、公衆衛生上、特に問題とならなかった。しかし、近年、イヌに流産を起こし、ヒトにも感染する *Brucella canis* (ブルセラ・カニス; 以下、*B. canis*) が新たに追加され、ブルセラ症が公衆衛生上問題となってきた。

当所では、55年度から人畜共通感染症調査研究の一環として、*B. canis* の実態調査を行っている。ここに、ブルセラ属菌の概要と *B. canis* によるブルセラ症を紹介すると共に、併せて検査法を述べることにする。

1. ブルセラ属菌とブルセラ症の症状

0.5～0.7×0.6～1.5 μ のほぼ球状に近い小桿菌で、グラム陰性、鞭毛及び芽胞はもたない。初代分離に CO₂ 添加を必要とするものもあり、発育には、37℃ で数日を要する。現在知られているブルセラ属菌を表1に示した。

動物間の感染は、経口、経皮あるいは保菌家畜との交配によっておこり、潜伏期は不定、症状は流産以外顕著でない。

一方、ヒトでは、病畜の流産排泄物、糞尿、乳などで汚染された畜産物、あるいは飲料水を摂取

または病畜との接触により、経口及び経皮感染を起こす。

潜伏期は10日～2カ月と非常に不定で、症状は40℃前後の高熱期と平熱期が繰り返す波状熱と呼ばれる特有の熱発作を起こし、悪寒、発汗、倦怠、衰弱、疼痛(急性リウマチに類似)、頭痛、体重減少など、多彩な臨床所見を示す。

特に、*B. melitensis* によるものは症状も重く死亡率も高いが、その他は死に至ることはまれである。

治療には、テトラサイクリン系、クロラムフェニコール及びサルファ剤が使用されるが、ブルセラ属菌は細胞内寄生であるため治療はむずかしく、いまだ治療法は確立していない。

2. ブルセラ症の疫学

米国における1970年の発生報告(CDC)によると、患者数230名で職業別の内訳は製肉業者116名、牧畜業者16名、獣医2名、その他96名で、男性が82.4%を占め、職業と本症との関連は非常に強い。また、細菌学的にブルセラ症と確定したヒト44名のうち、*B. suis* 26、*B. abortus* 12、*B. melitensis* 3、*B. canis* 2、未同定1でブタ、ウシ、ヒツジ、ヤギ、イヌ由来の感染と推定されている。

わが国で、ヒトについて確実に菌の証明されたものは少ないが、1956年の血清反応による全国調査では、1,818名中17名(0.92%)の陽性者が報告されている。

3. *B. canis* によるブルセラ症

わが国では、1971年に富士山麓のビーグル犬繁殖場において発生したイヌの流産例から *B. canis* が分離され、それ以後、実験動物にイヌを使用している施設を中心に調査がなされてきた。

B. canis によるブルセラ症は人畜共通感染症としての歴史が浅く、いまだ情報が充分ではないが、血清診断用の抗原が市販されるようになったので、徐々に、本症の実態が明らかになるものと考えられる。

なお、*B. canis* の感染経路、潜伏期、症状等は他のブルセラ属菌とほぼ同じで、診断について

表1 ブルセラ属菌と主な感染動物

ブルセラ属菌	主な感染動物
<i>Brucella melitensis</i> (マルタ熱菌)	緬羊、山羊
<i>Brucella abortus</i> (ウシ流産菌)	牛
<i>Brucella suis</i> (ブタ流産菌)	豚
<i>Brucella canis</i> (イヌ流産菌)	犬
<i>Brucella neotomae</i>	Woodネズミ
<i>Brucella ovis</i>	羊

は、血清中の凝集素価の測定と血液等からの菌の分離によって行う。

4. B. canis の検査法

B. canis は血中抗体価が高くても血液より分離できることが知られているので、検索材料として血液が主力となると考え、以下、血液における検査法を重点に述べる。その他の検体についてはこの検査法を準用すればよい。

ブルセラ属菌は非常に実験室内感染の多い菌で B. canis も例外ではないので取り扱いには細心の注意をはらう必要がある。検査の順序は図1のとおりで、検査の詳細は参考文献を参照されたい。

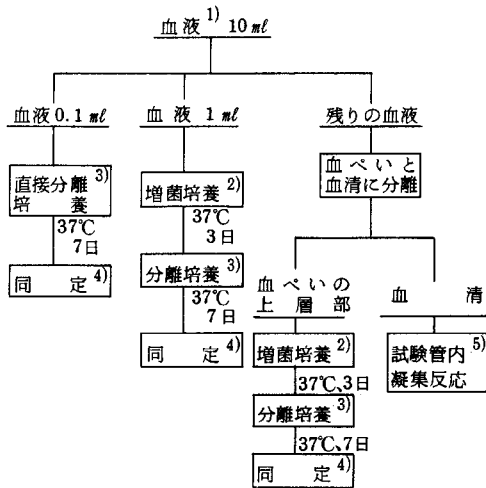


図1 検査順序

- 1) なるべく抗生物質投与前に採血し、増菌及び直接培養に用いた残りの血液を、他の菌が混入しないように血清と血べいに分離し、血清は凍結し、血べいは2～5℃に保存しておく。
- 2) 増菌培地にはTryptose broth (Difco)にクエン酸ソーダを1%、家兎血清を2%を加えて使用する。この増菌培地を真空採血管に5mlずつ分注しておき、これに血液を1ml加えれば、ただちに増菌培養が行えて便利である。
- 3) 分離培養の培地はTryptose agar (Difco)を基礎培地とし、これに家兎血清を2%加えて使用する。B. canisの培養は一部のブルセラ属菌と異なり、CO₂の存在下で発育が抑制されるのでCO₂培養の必要はない。分離培地上の集落は3日目頃に光沢のある帯青色から帯黄色透明な正円形集落として出現するので、その疑わしい

集落について同定を行う(48時間以内に出現した集落については検索の必要はない)。

- 4) 劉のグラム簡易鑑別法でグラム陰性、カタラーゼ及びオキシダーゼ反応陽性、のせガラス凝集反応で、抗-B. canis 家兎血清と1,000倍アクリフラビン溶液に明瞭に凝集し、生理食塩液に自家凝集しない菌を、推定B. canisとする。
- 5) 抗原が北里研究所から、ブルセラ・カニス凝集菌液として市販されているので、50℃の恒温槽があれば検査ができる。方法等は添付の使用書に詳しく記載してあるので省略する。

その他、ヒトの場合、菌分離が陰性で臨床所見と血清反応から、本症が疑われることが多いと考えられる。このような場合には、イヌの側からのB. canis検索も併せて実施し総合的に判断することが重要である。

5. まとめ

新しい人畜共通感染症としてB. canisによるブルセラ症が、1970年以後、米国において公衆衛生上、重要な問題として認識されるようになった。

わが国では、B. canisの調査研究は公衆衛生より、むしろ実験動物の飼育管理の問題としてとらえられてきたが、調査が進むにつれ、広く野犬や飼犬の間を汚染していることが明らかとなってきた。

1973年から1979年に行われた医学基礎研究部門の動物実験施設を中心とした調査では、7,118頭中642頭(9.0%)のイヌが抗体陽性で、5,254頭中114頭(2.2%)からB. canisが分離されている。

愛知県でも184頭のイヌが調査され、ほぼ同様の結果が得られており、B. canisはかなり高率に、わが国に浸潤していることがうかがえ、イヌ相互、あるいはイヌからヒトへのB. canis伝播が危惧されている。

今のところ、わが国ではヒトのB. canis感染についての報告はないが、ヒトにおける抗体調査では、北海道、東京都などで、0.1～3.0%の抗体保有率を示している。

われわれも、愛知県における抗体保有状況を1979年から1980年にかけて採血されたヒトについて調査し、783名中8名(1.0%)の抗体保有者を確認した。

そこで、更に、ヒト及びイヌにおける *B. canis* の調査を進め、その実態を明らかにすることが急がれる。

参考文献

1) 伊佐山康郎：ブルセラ・カニスの分離・同定メディア・サークル、**24**、353-358、1979.

- 2) 東 量三他：犬のブルセラ病、日獣会誌、**26**、111-119、1973.
- 3) 微生物検査必携、細菌・真菌検査第2版、日本公衆衛生協会、1978.
- 4) 伊佐山康郎：ブルセラ属菌の分離・同定、メディア・サークル、**24**、209-218、1979.
- 5) 人畜共通伝染病、田口勝久著、續文堂、1965.
(細菌部 対尾征彦)

質 疑 応 答

さる1月24日に開催された試験検査(理化学関係)研修会で、さきに質問をまとめ、当日これにお答えする形ですすめられました。以下、そのうちから、関係者各位の参考となるものを抜粋して、掲載しました。

食品検査関係

質問1：合成着色料と天然着色料の明確な区別方法は

答：天然着色料はその特性として

- ① 通常、成分が単一ではなく複数で構成され、食品中では更に原料に由来する他成分が複雑に混合して成り立っています。
- ② この成分組成も、原料の種類、品種、産地、収穫時期等によって微妙に変化します。
- ③ 分子量が大きく構造も不安定で、pH、熱、光等によっても容易に変化します。
- ④ 合成着色料と同様の化学的挙動を示すものがあります。

以上のことから、特に食品中での判別は難しい。

80年版衛生試験法に記載された陰イオン交換剤アンバーライトLA-2による分離法も未だ充分ではなく、現在、その改良法が精力的に検討されています。

従って、現状で合成着色料検査を目的とした簡易な区別法としては、次の方法がよろしい。

① 羊毛染色法の2回繰り返し

天然色素がpH、熱等に弱いことを利用したもので、タール系の許可色素で染色の悪い赤色3号では、羊毛染色1回目65%→2回目40%の回収率に対し、アナトーで30%→12%、ウコン、βカロチンで8→4%以下におちど回収されない。

② 濃縮した試験溶液をペーパークロマトで展開したのち、塩化第1スズ試液を噴霧すると、アゾ系の合成色素は消失します。

塩化第1スズ試液…… SnCl_2 を10%の割合に10% HCl 溶液に溶解します。

③ 薄層クロマトグラフィーの応用

シリカゲル、ポリアミド等の薄層を利用し、展開溶液を変えて夫々のRf値から検討し確認します。

質問2：タール色素の毛糸染色、その後の色素溶出が困難なものがあるが、良い方法はないか。

答：吸着剤による方法が簡易で実用性があります。毛糸の代りにポリアミド、セファデックスセルローズ末等を使用しますが、ポリアミドが最も良ろしい。

酢酸酸性の試料溶液中に、ポリアミド未約0.5gを入れ、振盪したのち、ろ過又は遠心分離して着色したポリアミドを取り出し、洗ったのちアンモニアルカリ性下で色素を溶出させます。毛糸染色と異なり加熱操作がないので、熱に弱い色素には好適です。

質問3：タール色素検査において微量のため判定困難なものについては、どのようにすれば判定可能となるか。

答：色素の同定にはペーパークロマト、薄層クロマト、又は吸光度測定などの方法がありますが、何れにしても色素の絶対量が必要になります。これは相対的に試料採取量の増加で補足することになります。

サンプリング量については、食品中の添加物分析法(厚生省)、衛生試験法注解(薬学会)など

に「着色の程度により20~200 g (ml)をとり…」と表現しています。従って、最高の200 gのサンプリング量から常法により処理して色素が確認できなければ、その試料は「検出しない」ということになります。

なお、質問1、2、3に共通して、衛研技術情報'79. No.2、食品中のタール系着色料、'80. No.2食品添加物検査の動向(天然着色料の項)を参照してください。

質問4: 現在使用されている天然色素の種類を教えてください。

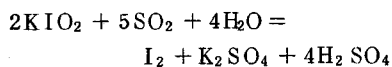
答: 厚生省が昭和52、53年度に亘って実施した実態調査をまとめたもので、現在市販され食品中に使用されている天然色素の一覧表であります。(別添資料参照)

質問5: 漂白剤(SO₂)のヨウ素酸カリデンブンの発色限度はどの程度か。

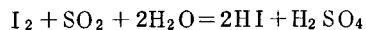
答: 常法で実施した場合、試験紙の発色限度はSO₂として50~60 μgであり、発色に要する時間は2~5分です。懸垂したろ紙の水でぬらした境界線の両端から、青→紫色に呈色します。

しかし、器具、酸濃度、試験紙の新鮮度、室温などの条件により発色限度は変わるので、通例SO₂として100 μgを定性限度と考えた方がよろしい。

呈色の機構は、KIO₃がSO₂によりI₂に還元され、デンブンにより発色します。



注意することは、過剰のSO₂によりI₂がさらに還元されてHIとなり退色することです。



従って、かんぴょうなどのようにSO₂の多量使用が予想される試料では、サンプル量に特に気を付けなければいけない。

(参考) 保健所試験検査技術者用手引書、食品理化学検査法、4. 二酸化イオウ参照のこと。

飲料水検査関係

質問1: R-pHの検査について、煮沸法とばっ気法とでは差がでるが検査方法と値はどう取り扱いえばよいか。

答: pH値は本来水の中に溶けた(+)イオンと(-)イオンのバランスによって決まります。

地下水(特にCa等を含んだ水)などは本来存在する(+)イオンと(-)イオンに加えて炭酸が余分に溶けこんでいるため、その電離により水素イオンが増え、酸性にかたよっている事が多い。この余分の炭酸を追い出し本来のバランスにもどしたのがRpHと考えてよろしい。

このRpHを正確に定義すれば、本来存在する(+)イオンと(-)イオンの他に、空気中の炭酸ガスが水に溶けこみ化学平衡を保ったときの値であります。

それ故蒸留水のようなものは、緩衝作用がないので煮沸して徹底的に炭酸を追い出すと、pH=7.0となるが、大気と平衡状態にある状態ではpH=5.7となります。この5.7がRpHです。

一般天然水の場合、内に含まれているイオンの種類などの関係から徹底的に炭酸を追い出したときpH7.0となります。

ばっ気法が正しい値に近いが、正確な値を出すためには時間がかかるので、上述のような原理を知ったうえで、煮沸法でRpHの値を概算し、侵食性遊離炭酸の存在の有無を論じてもよろしい。

なお衛研ではRpH値は次のような方法で測定しています。

検水をビーカーの $\frac{1}{3}$ ~ $\frac{1}{4}$ 位まで取り、上をアルミ箔などで軽くおいゴミが入らないようにして1週間位放置します。これをマグネテックスターラーで30~60分かかくはんすると、一定の値になります。

質問2: 硝酸性窒素の試験において0.6%NaCl溶液のかわりにNaCl-0.1M EDTA溶液を用いると、カラム洗浄を省くことができ、検量線の直線性、吸光度もよくなり、検査時間も短縮される。採用してよろしいか。

答: 省令法のCd-Cuカラム法によるNO₃-N+NO₂-N定量方法の改良法(森下有輝、水道協会雑誌、第545号、38-41、1980)が報告されました。この方法は省令法のNaCl溶液2 mlのかわりにNaCl-EDTA溶液(NaCl 6gとEDTA·4Na·4H₂O 45gを約800 mlの蒸留水にとかし、3N HCl溶液を用いてpH値を9にした後、蒸留

水で1 liter とする) 2 ml を検水に加え、省令法で検水を流す前に毎回行うことになっている洗浄を省略する方法であり、その他の操作は省令法と同じです。

省令法ではEDTA溶液は洗浄水に添加されていますが、これはEDTA溶液を直接検水に添加するとpH値が高くなり発色妨害があるためです。改良法ではNaCl-EDTA溶液のpH値を9に調整してありますので、直接検水に添加しても発色妨害はみとめられません。

改良法ではカラムの流速を早くできる利点があります。カラムが目づまりをおこして必要な流速が得られない原因の一つに、Cd-Cuカラム充てん剤作製時の水洗が不十分であるために過剰に形成されたCu化合物の細片により目づまりをおこすことがあります。当所で若干の検討を行った結果良好なカラムでは省令法と改良法の間に還元率の差はみとめられませんが、劣化したカラムにおいては省令法に比較して還元率の上昇がみとめられ、流速も幾分早くなることを経験しています。

省令法では毎回カラム洗浄液で洗浄することになっていますが、この操作はカラムの還元力の再生と、カラム内に残留する前の検水を洗い流すことを目的としています。改良法では洗浄操作を省略して、各検水をつづけてカラムに流しても良好な結果が得られることが示されています。検水をつづけてカラムに流したときに前の検水がどの程度の影響をあたえるかを検討しました。その結果0.200 ppm NO₃-N溶液を流した後に洗浄操作を省略してNO₃-Nを含まない溶液を流した場合の540 nm 吸光度(10 mmセル)は0.004、2.00 ppm NO₃-N溶液を流した後では0.009、10.0 ppm NO₃-N溶液を流した後では0.025の吸光度を示しました。このように、高濃度の検水を流した後に、洗浄操作を省略して直接検水を流すと若干前の検水の影響が残ることが考えられます。

流速が遅くなったり、還元力が低下した場合にはNaCl溶液のかわりにNaCl-EDTA溶液を加えることは有効な手段と考えられますが、カラム洗浄操作は影響が無視できると判断される検水

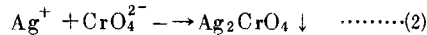
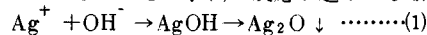
以外は毎回行った方が無難と考えられます。

質問3: 塩素イオンの検査について、ブランクが発色しないことがある。

答: 水道法に取り入れられているMohr法は、1856年に発見された方法で、もともとpH 6.5～10.5の範囲でCl⁻数10 ppm～100 ppmの濃度を測っていた。我が国では明治38年頃に飲料水検査に応用され今日に及んでいます。

原理的にはAg₂CrO₄のイオン積と、AgClのイオン積の違いを利用しています。このためCl⁻があまりうすければ、理論的にも相当な誤差を生じます。それに目視による誤差が加わる。(愛知衛研技術情報Vol 2, No.3, 1 1978 参照)これが、蒸留水になると更に難しくなる。この上つぎのような問題点があるため、愛知県では0.01N NaCl 5 mlを蒸留水に加えて、滴定し、計算からBlankを出すことにしています。(保健所試験検査技術者用手引書環境水質関係の検査法 — 飲料水関係(1) 参照)

クロム酸カリウム溶液はアルカリ性のため、蒸留水に滴下したとき部分的にpH 10.5を超える場合がある。このようなときは、(1)の反応が起ってしまう。



本来(2)が起るべきであります。滴下の不均一、光等の影響で両方の反応が起り黒っぽくなって終末点が見にくくなります。

(1)の起る条件はちょっとした操作で影響されるため、毎回Blankがばらつき、さらにBlankは真の値より高くなります。即ち、検体のCl⁻量は少なめに出る。即ち、新水道法では検体のCl⁻量は少しであります。少なめになります。この事を考慮して、旧水道法、JIS等他の公定法ではBlankを引かず、滴定値より直接Cl⁻量を出すようになっていきます。

質問4: 原子吸光法による検査時において、検体の濃縮はどんな方法がよいか。また、直火(煮沸)、赤外線ランプ、ホットプレート等で差を生ずるか。

答：直火は突沸することがあるので沸石を入れて液量が充分多いときのみ行うこと。

赤外線ランプとホットプレートとはどちらでもよいが乾燥後長時間そのまま加熱を続けていると重金属の一部が酸化物となり希酸にとけなくなります。

従って回収率が大幅に減少します。

最も弱酸でイオン化しやすいCdOでも半分位しか溶け出してきません。

照射部分は600℃を超えているのでPbなどは、蒸発によるLossも考えられます。

もし、乾固したら面倒でも一度濃硝酸を入れドラフト内で水浴上乾固したのち再び希酸で溶出します。

一般には、液量が少なくなるまでは赤外線ランプかホットプレートで、其後は水浴上か、ゆるやかな熱をかけたホットプレートを用いる方がよろしい。

質問5：フッ素の検査時の反応原理について

答：アリザリンコンプレクソンは下記のように酸性で黄色、中性で赤、アルカリ性で青を示します。

ALC=1,2-dihydroxy anthraquinone-3-yl
-methylamine NN diacetic acid

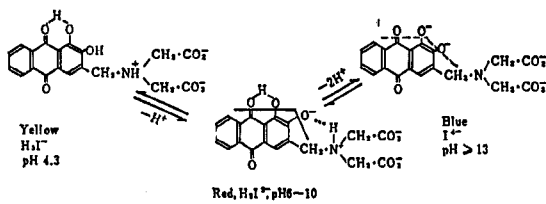
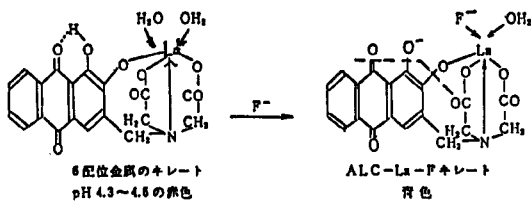


Fig. 1. Color reaction of ALC

これにpH 4.3～4.6においてLaを加えると左下のような赤色化合物を生じ、それにF⁻を加えると青色を呈します。



アセトンはこの呈色を安定させ、感度を上昇させるために加えます。

この際、下図の様に二つの色調の差からF⁻の量を判断しますが、その差は622nm位が最も大きいのでその附近の波長で定量しています。

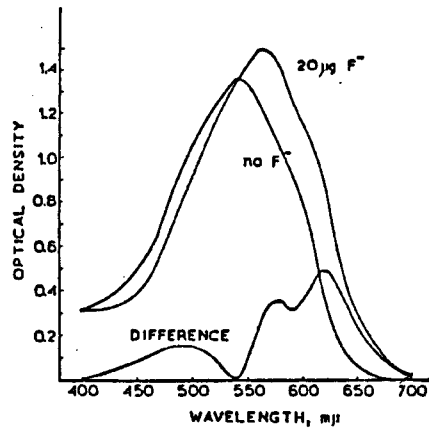


Fig. 2. Absorption curves of the lanthanum-alizarin complexone chelate and its fluoride complex. 1-cm cell; 25-ml volume.

質問6：上水試験方法のp550とp551の間にある2枚の写真のうち、2枚目の写真は説明として「大腸菌群の亜定型集落」という文字が抜けているのではないかと。

答：EMB培地上の集落は、従来から緑色金属光沢を呈する定型的集落と金属光沢がない亜定型的集落に分けられている。この分け方によれば上水試験方法にカラー写真で示されているK.pneumoniae、E.cloacae、C.freundiiの集落は、亜定型的集落(大腸菌群としては定型的集落であるが)に相当する。

質問7：プール水検査における大腸菌群検査の3/5以上陽性不適の根拠は。

答：愛知県プール条例に規定されている水質基準の“大腸菌群は、試料10mlずつ5本について試験したとき、陽性となるものが2本以下であること”は、昭和38年7月19日環衛第5号厚生省環境衛生局環境衛生課長、昭和40年7月19日環衛第5,080号厚生省環境衛生局長通知に基づくものである。

天然着色料

添加物名	本質	性状	使用食品(添加率%)	生産地	諸外国の評価	添加物名	本質	性状	使用食品(添加率%)	生産地	諸外国の評価
カラメル	糖類などの食用炭水化物の脱水縮合物	赤褐色粉末	スポンジケーキ(0.04) チョコレート(0.031) アイスクリーム(0.002~0.17) 焼豚(0.3) こいくちしょうゆ(0.05~4) ソース(0.01~0.8) みそ(0.08~0.4) 清涼飲料水(0.0003)	日本	FAO/WHO A(2) EEC No.150 FDA 73-85 182-1235	コーン色素	トウモロコシの1種(Maiz morado)の種子の殻から得られる色素	赤色液体	ジャム・マーメイド(0.17) 野菜つけ物(0.115) あめ玉(0.05~0.2) チューインガム(0.01) 乳酸菌飲料(0.03)	ペルー	EEC No.163
ウコン色素	ショウガ科のウコン(Curcuma longa)の根茎から得られる色素 主成分:クルクミン	黄色粉末	春巻(0.1) たくあん(0.001~0.18) スナックめん(0.03) マーガリン(0.2) 魚肉ソーセージ(0.26) クッキー(0.008~0.2)	台湾 中国 インド シンガポール	FAO/WHO A(2) EEC No.100 FDA 73-600	カカオ色素	カカオ(Theobroma cacao)の種子から得られる色素	茶色粉末	アイスクリーム(0.01~0.3) ドロップ(0.03) スポンジケーキ(1~1.25) ようかん(0.01) 蒸しかまぼこ(0.01) カステラ(7.5)	ガーナ 中央アメリカ 南アメリカ	
ビートルレッド	甜菜の変種であるレッドビート(Beta vulgaris)の根から得られる色素 主成分:ベタニン	赤色粉末又はペースト	ビスケット(0.4) チューインガム(0.36) 乳飲料(0.05) アイスクリーム(0.1) いちごジャム(0.0015~0.002)	ソ連 中国 ドイツ イスラエル 日本	FAO/WHO A(2) EEC No.162 FDA 73-40	ベニバナ黄色素	キク科のベニバナ(Carthamus tinctorius)の花弁より得られる色素 主成分:サフロールイエロー	黄色結晶又は粉末	即席中華めん(0.04~3.2) キャラメル(0.01) マヨネーズ(0.02~0.03) アイスクリーム(0.01) レモン果汁飲料(0.001~0.009) シュークリーム(0.01)	中国 インド 米国 日本	
アナトー色素	ベニネ科のベニネ(Bixa orellana)の種子の表皮から得られる色素 主成分:ビキシン	赤色粉末	みそ(0.1~0.4) マーガリン(0.003~0.01) ソーセージ(0.002~1) シャーベット(0.0027) クラッカー(0.02~0.04) 生あん(0.2~0.5)	ペルー ブラジル ケニヤ タンザニア インド ジャマイカ	FAO/WHO A(2) EEC No.160 FDA 73-30	ラック色素	ラックカイガラムシ(Laccifer lacca)の分泌する色素 主成分:ラッカイン酸	赤色粉末	いちごジャム(0.003~6) ミートソース(0.02) ソーセージ(0.04~0.05) アイスクリーム(0.04~0.06) ビスケット(0.01) ドロップ(0.04~0.05) 清涼飲料水(0.07)	タイ ビルマ インド 中国	
クチナシ黄色素	アカネ科のクチナシの実、サフランのめしべ等に含まれる色素 主成分:クロシン	黄色針状結晶	プリン(0.002) いちごジャム(0.1) 生中華(0.04~0.18) スパゲッティ(0.1~0.2) アイスクリーム(0.02) ようかん(0.001~0.03)	台湾	FDA 73-500	コチニール色素	サボテンに寄生するエンジ虫(Coccus cacti)の雌の体にある色素 主成分:カルミン酸	赤色粉末	プレスハム(0.01~0.015) 乳飲料(0.008) みかん果汁飲料(0.005~0.01) アイスクリーム(0.01~0.1) 板かまぼこ(0.03~3) ようかん(0.001~0.08) チョコレート(0.025)	メキシコ ペルー チリ カナリア諸島	EEC No.120 FDA 73-100
パプリカ色素	ナス科のパプリカ(Capsium annuum)の果実から得られる色素 主成分:カプサンテン	赤色液体	野菜加工品(0.01~0.06) マーガリン(0.005) プリン(0.004) クッキー(0.16) みかん果汁飲料(0.1) シャーベット(0.01~0.075)	スペイン フランス ハンガリー	FDA 73-340	カロブ色素	マメ科のカロブ(Ceratonia siligua)の種子の胚芽部分より得られる色素	黄色粉末	中華めん(0.01~1.6) 即席中華めん(0.75) 菓子パン(2.3)	イラン パキスタン	
モナスカス色素	紅麹菌の1種(Monascus purpureus)等が生産する色素	赤色粉末	プレスハム(0.004) 乳酸菌飲料(0.03) かまぼこ(0.2~0.3) せんべい(0.12) ガム(0.0375) あられ(0.5)	日本 中国		アカネ色素	アカネ科の西洋アカネの根より得られる色素 主成分:アリザリン	茶色結晶性の粉末	ハム、ソーセージ 魚肉ハム・ソーセージ	スペイン ポルトガル イタリア	

添加物名	本 質	性 状	使用食品(添加率%)	生産地	諸外国の評価
ブドウ果皮色素	ヨーロッパ産ブドウ(Vitis vinifera)の果皮より得られる色素	赤 紫 色 粉 末	芳香シロップ(0.4) ブドウ果汁飲料(0.15~0.7) ドロップ(0.005~0.12) ガム(0.04~0.12)	イタリヤ	EEC №163 FDA 73-40
ブドウ果汁色素	ブドウ(Vitis vinifera)の果汁より得られる色素	赤 紫 色	あめ玉(0.1~0.5) キャラメル(0.1~0.25) 乳酸菌飲料(0.2) アイスクリーム類(0.002~0.2)	北アメリカ	
クチナシ青色素	クチナシ黄色素を酵素処理して得られる色素	青 色 粉 末	ようかん(0.001) あめ玉(0.002~0.02) 最 中(0.0001) チューインガム(0.001) 日本そば(0.1~0.2)	日 本	
ベリー類色素	スイカズラ科のエルダベリー(Sambucus resemosa)の果実に含まれる色素	紫 色 粉 末	シャーベット(0.001) ガム(0.08~0.15) 乳酸菌飲料(0.14~0.3) ブドウ果汁入り飲料(0.12)	ス ペ イ ン ポ ル ト ガ ル	EEC №163
クロロフィル	コンフリーなどの緑色植物の葉より得られる色素	緑 色 粉 末	乾めん(0.0004~0.0005) 風船ガム(0.0037) 菓子パン(0.01) ねりあん(0.1)	日 本	FAO/WHO A(1) EEC №140
コウリヤン色素	コウリヤン果実の殻から得られる色素	茶 色 液 体	魚介加工品	中 国	
クロレラ色素	緑藻類のクロレラより得られる色素	緑 色 粉 末	乾うどん(1.5) 日本そば(3~5) 生中華めん(0.5) 乾燥ゼリー(2.3) ようかん(0.03)	日 本	
トマト色素	トマトの果実より得られる色素 主成分:リコピン	赤 色 粉 末	朝鮮づけ(1) アイスクリーム(0.04) 揚げかまぼこ(0.13)	日 本	
ハイビスカス色素	アオイ科のハイビスカスの花の蕾より得られる色素	赤 色 液 体	しばづけ、うめづけ 乾燥ゼリー ケーキ用ミックス	中 近 東	

添加物名	本 質	性 状	使用食品(添加率%)	生産地	諸外国の評価
ニンジン色素	セリ科のニンジンの根茎より得られる色素 主成分:カロチン	赤 色 粘濁液体	バタークリーム(0.015) アイスクリーム(0.04) せんべい(0.05) ビスケット(0.035) みかん果汁飲料(0.1~0.5)	日 本	FDA 73-300
シーナット色素	アカテツ科の木の实シアナットより得られる色素	茶 色	魚肉ハム・ソーセージ	西アフリカ	
シソ色素	シソ科のシソの葉より得られる色素 主成分:シソニン	赤 紫 色 液 体	うめぼし	日 本	
リボフラビン	酵母等より得られるビタミンB ₂	黄 色 粉 末	中華めん(0.0004~0.3) バターケーキ(0.0003~0.02) クッキー(0.5) シュークリーム(0.016~0.02) ビスケット(0.01)	日 本	FAO/WHO A(1) EEC №101 FDA 73-450
ベンガラ	三二酸化鉄の粉末	褐 色 粉 末	こんにゃく	日 本	FAO/WHO A(2) EEC №172
油煙色素	植物油を燃やして生じたすす	黒 褐 色 粉 末	板かまぼこ 和生菓子(0.001~0.1)	日 本	
カーボンブラック	天然有機物を炭化したもの	黒 色 粉 末	蒸しかまぼこ(0.001) 板付かまぼこ(0.001) ソーセージ	日 本	
チュリ色素	フランス産の大根から得られる色素	茶 色 粉 末	清涼飲料水(0.06)	フ ラ ン ス	
くん液色素	木村乾留抽出物	褐 色 液 体	ソーセージ(0.08)	日 本	
ササ色素	ササの葉	緑 色 粉 末	もち(1.4)	日 本	

日本における天然食品添加物

(厚生省食品化学レポートシリーズ №1 1979)より