

加工食品由来の有機酸の1日摂取量について

毛利 孝明・藤田 久雄・西岡 千鶴・吉田 明美・黒田 弘之

Daily Intake of Organic Acids from the Processed Foods

Takaaki MOURI, Hisao FUJITA, Chizuru NISHIOKA, Akemi YOSHIDA and Hiroyuki KURODA

I 緒 言

日本人が一人一日摂取している食品添加物の種類と量を明らかにするため、昭和51年より平成8年まで厚生科学研究費により「食品添加物1日摂取量実態調査研究班」が組織されて調査解析が行われてきた。平成9年度からは、ほぼ同じ内容で厚生省の委託事業として「食品添加物マーケットバスケット調査」が実施されている。

平成11年度は加工食品由来の有機酸（酢酸，乳酸，コハク酸，フマル酸，リンゴ酸，酒石酸，アジピン酸及びクエン酸）の摂取量について調査を行ったので，その結果について報告する。

II 実験方法

1. 試料

平成10年8月，マーケットバスケット方式により，全国9機関（札幌市衛研，仙台市衛研，東京都衛研，長野県衛公研，武庫川女子大，島根県衛公研，香川県衛研，北九州市環研，沖縄県公衛研）で344種類の食品を購入し，表1に示した7食品群に分け，等量の水を加えて均質磨砕したもの（0群は希釈なし）を混合し分析に供した。

表1 試料群及び食品の分類

群名	大 分 類	状 態	主成分	総重量
1	調味し好飲料	液 体	水, アルコール	374.7g
2	穀類	固 体	澱 粉	103.8g
3	いも類 17.5g, 豆類 70.8g, 種実類 0.8g	固 体	澱 粉	89.1g
4	魚介類 39.3g, 肉類 13.2g	固 体	蛋白質	52.5g
5	油脂類 18.0g, 乳類 49.2g	半固体	脂 肪	67.2g
6	砂糖類 1.1g, 菓子類 43.7g	固 体	炭水化物	44.8g
7	果実類 4.7g, 野菜類 28.1g, 海藻類 3.0g	含水固体	繊 維	35.8g

2. 分析方法

① 酢酸

酢酸の分析方法については、「食品中の食品添加物分析法」を一部改良して行った。

図1に示すように，試料10g（実質試料として）を500mlのナス型フラスコに採り，12%酒石酸溶液5ml，NaCl30g，シリコン樹脂2滴を加え水で100mlとする。毎分15mlの留出速度で水蒸気蒸留を行い，

留液500mlをとり試験溶液とした。試験溶液をHPLCに注入し，ピーク面積により定量を行った。表2にHPLCの条件を示す。

「食品中の食品添加物分析法」では，留液200mlをとるようになっているが，この条件では，85%程度の回収率しか得られなかったため，留液500mlをとることとした。また，「食品中の食品添加物分析法」では，留液を濃縮後，イオン交換樹脂により精

製しGC法で定量する方法が採用されているが、この方法は時間と労力がかかるため、留液を直接HPLCに注入し、定量を行った。このことによって、迅速かつ正確な定量が可能になった。図2に標準のクロマトグラムまた図3に検体のクロマトグラムを示す。



図1 酢酸の分析法

表2 HPLC条件

装置	島津 LC-6A
column	Inertsil ODS-3(4.6×250mm)
column temp.	40°C
移動相	0.1M NH ₄ H ₂ PO ₄ (pH 2.5)
流量	1.0ml/min
検出器	UV(210nm)

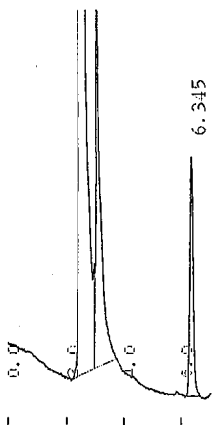


図2 酢酸のクロマトグラム

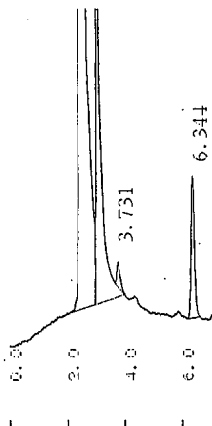


図3 検体のクロマトグラム

② コハク酸, フマル酸, リンゴ酸, 酒石酸, アジピン酸及びクエン酸

コハク酸, フマル酸, リンゴ酸, 酒石酸, アジピン酸及びクエン酸の分析方法については, 昭和61年度本調査研究で採用したブチルエステル化法を採用し一部に改良を加えた。

図4に示すように, 試料12.5g (実質試料として) をとり水を加えて50mlとし, さらに10%トリクロル酢酸5mlを加え, 80°Cで5分間加熱する。冷後, 水を加えて200mlとし, ろ紙でろ過または遠心分離を行う。ろ液120mlにn-ヘキサン100mlを加えて振とうし脱脂する。水層100mlを陰イオン交換樹脂 (Dowex 1-X4) に負荷し, 水100mlで洗浄後, 2N塩酸:アセトン(1:1)混液50mlで有機酸を溶出させ, 60°Cの水浴で減圧乾固する。さらに, アセトンを加え減圧乾固する操作を数回繰り返し塩酸を除去する。残留物をメタノール5mlに溶解し, そのうち4mlを試験管に分取し減圧乾固する。試験管に無水硫酸ナトリウム2g, n-ブタノール2ml及び硫酸0.2mlを加え, エア-冷却器をつけ, ブロックヒーターで130°C, 30分間加熱し, ブチルエステル化を行う。冷後, 水5ml及びn-ヘキサン10mlを加え, 10分間振とうする。n-ヘキサン層に炭酸ナトリウム0.1gを加え振とう後, FID-GCによって定量を行った。カラムはキャピラリーカラム (SPB-50 30m×0.33mm×0.25μm) を用いて分析を行った。表3にGCの条件を示す。図5に標準のクロマトグラムまた図6に検体のクロマトグラムを示す。今回から分析対象として新たにアジピン酸が加わったが, この条件ではアジピン酸と酒石酸のピークが分離せず分別定量が困難であった。そこでアジピン酸と酒石酸については別のカラム (SPB-20 30m×0.33mm×0.25μm) を使用し, GC-MS (SIM測定) で定量を行った。表4にGC-MS条件を示す。図7に標準のクロマトグラムまた図8に検体のクロマトグラムを示す。

試料 12.5g (実質試料)
 | 水 20ml
 80°C 加熱(5min)
 | 200ml定容
 | ろ過または遠心分離
 | ろ液 120ml
 |
 n-ヘキサン層 | 水層 100ml
 |
 Dowex 1-X4(CI型) 1.5cmX10cm
 | 水 100mlで洗浄
 | アセトン:2NHCl(1:1) 50ml
 減圧乾固(60°C水浴)
 | アセトン
 減圧乾固(60°C水浴)
 | アセトン
 4ml分取 (試験管)
 | メタノール 5mlに溶解
 減圧乾固(60°C水浴)
 | Na₂SO₄ 2g, n-ブタノール2ml, H₂SO₄ 0.2ml
 ブチルエステル化(ブロックヒーター 130°C, 30min)
 | 水 5ml
 | n-ヘキサン 10ml
 n-ヘキサン層
 | Na₂CO₃ 0.1g
 振とう
 |
 F.I.D-GC
 図4 有機酸の分析法

表3 GC条件

装置	島津GC-14B
COLUMN	SPB-50(30m×0.33mm×0.25μm)
COLUMN温度	60°C(2min)-10°C/min-250°C(2min)
キャリアガス	N ₂ , 100kPa
試料注入法	全量注入

表4 GC-MS条件

装置	島津 QP1100EX
COLUMN	SPB-20(30m×0.33mm×0.25μm)
COLUMN温度	60°C(2min)-20°C/min-250°C(2min)
キャリアガス	He, 100kPa
試料注入法	スプリットレス
イオン化法	EI
モニターイオン	m/z 161, 132, 105, 76 (酒石酸) m/z 185, 156, 129, 111(アジピン酸)

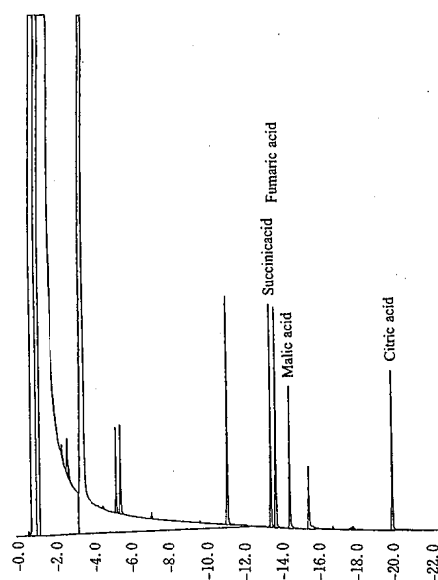


図5 有機酸のクロマトグラム

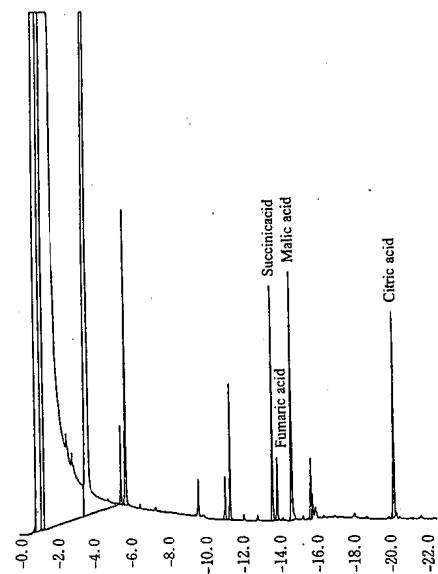


図6 検体のクロマトグラム

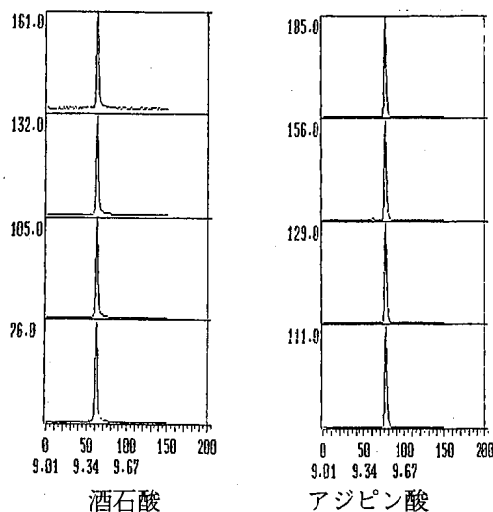


図7 酒石酸, アジピン酸のSIMクロマトグラム

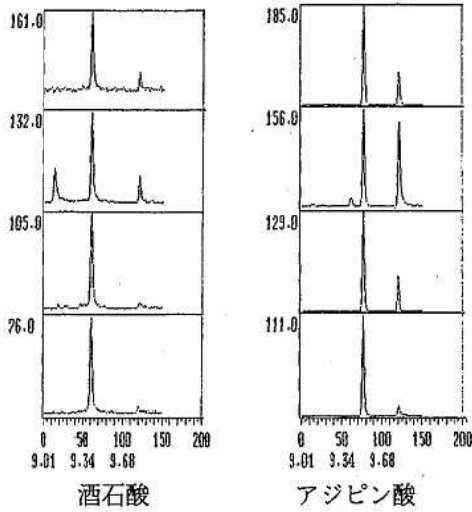


図8 検体のSIMクロマトグラム

③ 乳酸

乳酸の分析法については、従来から他の有機酸と同様、イオン交換樹脂によるクリーンアップ後、ブチルエステル化する方法を採用していたが、再現性が悪いことを感じていた。今回詳細な検討を行ったところ、イオン交換樹脂からの溶出液2N塩酸:アセトン(1:1)混液を減圧乾固する際に一部が分解することが判明した。固層抽出による乳酸の分離法についていろいろ検討を行ったが、うまく分離をすることができなかった。そこで図9に示すように、イオン交換樹脂にかける前の抽出液を一定量(2~10ml)取り減圧乾固し、クリーンアップなしで直接ブチルエステル化し分析を行った。表5にGC条件を示す。図10に標準のクロマトグラムまた図11に検体のクロマトグラムを示す。

表5 GC条件

装置	島津GC-14B
COLUMN	DEGS+H3PO4(5+1%) 2m
COLUMN温度	95°C
キャリアガス	N ₂ , 100kPa

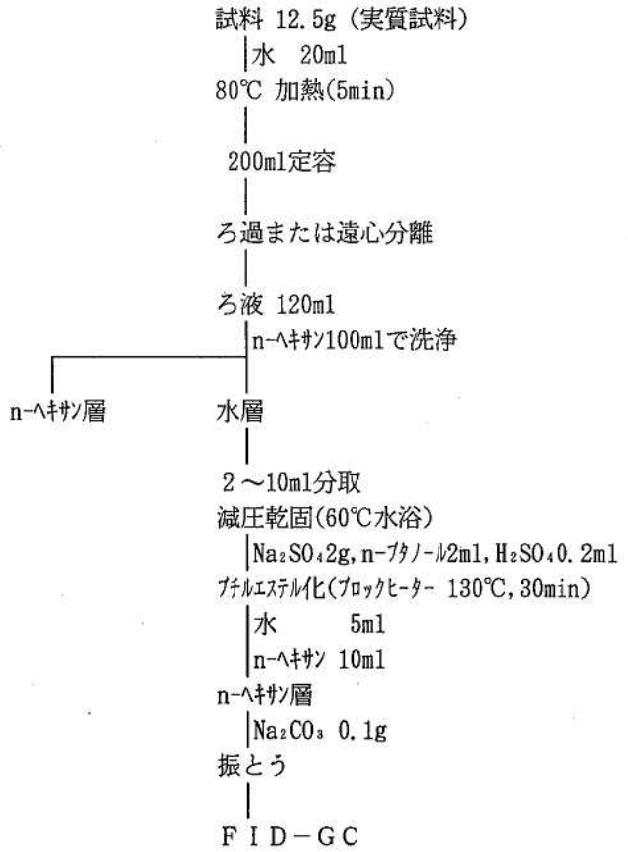


図9 乳酸の分画法

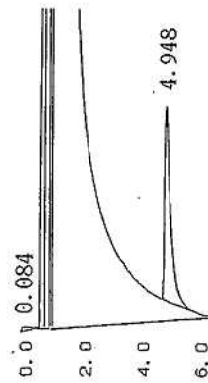


図10 乳酸のクロマトグラム

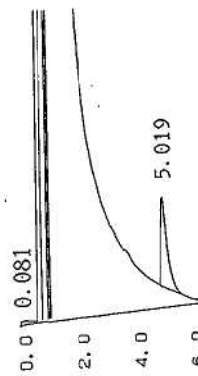


図11 検体のクロマトグラム

3. 添加回収実験並びに添加回収実験

① 酢酸

西部グループ第1, 2, 3, 4, 5, 6, 7群を用い, 500 μg/g (実質試料として) 添加レベルで回収率を求め, その結果を表6に示す。回収率96.5~103.6%の良好な結果が得られた。本法による定量下限は10 μg/gであった。

表6 酢酸の回収率(500 μg/g添加)

食品群	回収率
1	101.8
2	103.6
3	103.1
4	101.9
5	100.2
6	96.5
7	100.3

n=3

② フマル酸, コハク酸, リンゴ酸, 酒石酸, アジピン酸及びクエン酸

西部グループ第1, 2, 3, 4, 5, 6, 7群を用い, 200 μg/g (実質試料として) 添加レベルで回収率を求め, その結果を表7に示す。回収率77.6~

115.9%の良好な結果が得られた。本法による定量下限は, アジピン酸については1 μg/g, フマル酸, コハク酸については4 μg/g, リンゴ酸, 酒石酸, クエン酸については10 μg/gであった。

表7 有機酸の回収率(200 μg/g添加)

食品群	フマル酸	コハク酸	リンゴ酸	酒石酸	アジピン酸	クエン酸
1	115.9	97.8	100.9	108.4	88.7	77.6*
2	103.1	85.3	102.7	95.7	93.5	92.8
3	104.7	82.3	89.7	91.7	82.0	88.6**
4	78.8	88.0	106.4	103.5	88.0	81.0
5	100.7	93.6	95.6	98.7	88.6	108.2*
6	104.1	82.6	96.5*	103.4	79.7	96.6**
7	113.8	89.7	92.8*	104.3	98.9	89.0*

*1,000 μg/g添加 **2,000 μg/g添加 n=3

③ 乳酸

香川第1, 2, 3, 4, 5, 6, 7群を用い, 200 ml定容とした試料の抽出液(2~10ml)に直接0.5mg添加し回収率を求めた。その結果は表8に示すように, 80.7~105.0%の回収率が得られ, クリーンアップなしでも特に問題がないことがわかった。

III 結果及び考察

各試料につき, それぞれの有機酸の分析法に従って試料中の有機酸の食品群別含有量及び摂取量を求めた結果を表9及び表10に示す。

表8 乳酸の回収率(0.5mg添加)

食品群	回収率
1(10ml)	86.9
2(10ml)	97.3
3(10ml)	105.0
4(2ml)	91.5
5(4ml)	80.7
6(10ml)	94.8
7(4ml)	92.4

表9 加工食品中の有機酸の食品群別含有量 (μg/g)

食品群	1群	2群	3群	4群	5群	6群	7群
酢酸	564	298	314	434	496	224	1,134
乳酸	529	431	369	3,190	2,209	374	1,136
フマル酸	10	66	19	44	10	56	94
コハク酸	84	237	67	89	23	54	151
リンゴ酸	249	378	189	331	76	496	656
アジピン酸	0	6.0	0	1.7	0	5.3	57.3
酒石酸	22	89	0	13	24	155	237
クエン酸	926	258	1,715	146	1,086	1,656	1,093

表10 加工食品中の有機酸の食品群別摂取量 (mg/day)

食品群	1群	2群	3群	4群	5群	6群	7群	総摂取量
酢酸	211.3	30.9	28.0	22.8	33.3	10.0	40.6	376.9
乳酸	198.2	44.7	32.9	167.5	148.4	16.8	40.7	649.2
フマル酸	3.8	6.9	1.7	2.3	0.7	2.5	3.4	21.3
コハク酸	31.5	24.6	6.0	4.7	1.6	2.4	5.4	76.2
リンゴ酸	93.3	39.2	16.8	17.4	5.1	22.2	23.5	217.5
アジピン酸	0.0	0.62	0.0	0.09	0.0	0.24	2.05	3.00
酒石酸	8.2	9.2	0.0	0.7	1.6	6.9	8.5	35.1
クエン酸	347.0	26.8	152.8	7.7	73.0	74.2	39.1	720.6

1. 酢酸

酢酸の含有量は224~1,134 μg/gであり、第7群(果実・野菜・きのこ・海草類)が最も高く、ついで第1群(調味嗜好飲料)、第5群(油脂類・乳類)の順であった。酢酸の1日総摂取量は、376.9mgで前回とほぼ同じ値であった。食品群別にみると第1群(調味嗜好飲料)が211.3mgで最も多く、全体の56%をしめていた。ついで第7群(果実・野菜・きのこ・海草類)40.6mg、第5群(油脂類・乳類)33.3mgの順であった。

2. 乳酸

乳酸の含有量は369~3,190 μg/gであり、第4群(魚介・肉・卵類)が最も高く、ついで第5群(油脂類・乳類)、第7群(果実・野菜・きのこ・海草類)の順であった。

乳酸の1日総摂取量は、649.2mgで前回の475.6mgに比べてやや高めの値であった。食品群別にみると第1群(調味嗜好飲料)が198.2mgで最も多く、全体の31%を占めていた。ついで第4群(魚介・肉・卵類)167.5mg、第5群(油脂類・乳類)148.4mgの順であった。

3. フマル酸

フマル酸の含有量は10~94 μg/gであった。含有量

は第7群(果実・野菜・きのこ・海草類)が最も高く、ついで第2群(穀類)、第6群(砂糖類・菓子類)の順であった。

フマル酸の1日総摂取量は、21.3mgで前回とほとんど同じ値であった。食品群別にみると第2群(穀類)が6.9mgで最も多く、全体の33%を占めていた。ついで第1群(調味嗜好飲料)3.8mg、第7群(果実・野菜・きのこ・海草類)3.4mgの順であった。

4. コハク酸

コハク酸の含有量は23~237 μg/gであった。含有量は第2群(穀類)が最も高く、ついで第7群(果実・野菜・きのこ・海草類)、第4群(魚介・肉・卵類)の順であった。

コハク酸の1日総摂取量は、76.2mgで前回とほぼ同じ値であった。食品群別にみると第1群(調味嗜好飲料)が31.5mgで最も多く、全体の41%を占めていた。ついで第2群(穀類)24.6mg、第3群(いも・豆・種実類)6.0mgの順であった。

5. リンゴ酸

リンゴ酸の含有量は76~656 μg/gであった。含有量は第7群(果実・野菜・きのこ・海草類)が最も高く、

ついで第6群(砂糖類・菓子類), 第2群(穀類)の順であった。

リンゴ酸の1日総摂取量は, 217.5mgで前回とほとんど同じ値であった。食品群別にみると第1群(調味嗜好飲料)が93.3mgで最も多く, 全体の43%を占めていた。ついで第2群(穀類) 39.2mg, 第7群(果実・野菜・きのこ・海草類) 23.5mgの順であった。

6. アジピン酸

アジピン酸が検出されたのは第2, 4, 6, 7群であり, 含有量はND~57.3 μ g/gであった。含有量は第7群(果実・野菜・きのこ・海草類)が最も高かった。

アジピン酸の1日総摂取量は, 3.00mgであった。アジピン酸の分析は今回がはじめてであり, 国内においては今まで食品から検出されたという報告例はない。天然には存在しないとされているので, 添加物として使用されていると考えられる。図12に標準また図13に検体のマススペクトルを示す。検体のマススペクトルではM/Z 101のピークが標準に比べて高く出ているがこれは別の夾雑物が同じ位置に重なっているためと考えられる。これ以外のピークは良く一致している。

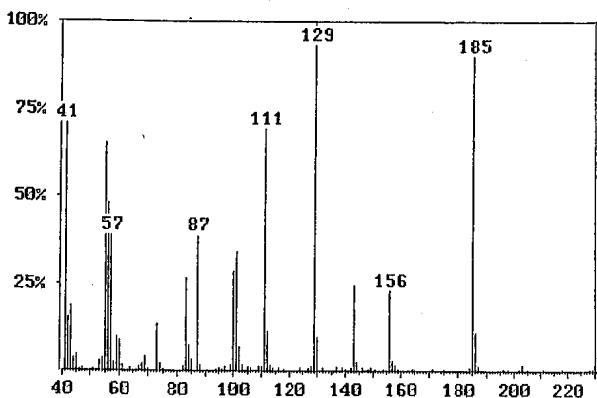


図12 アジピン酸のマススペクトル

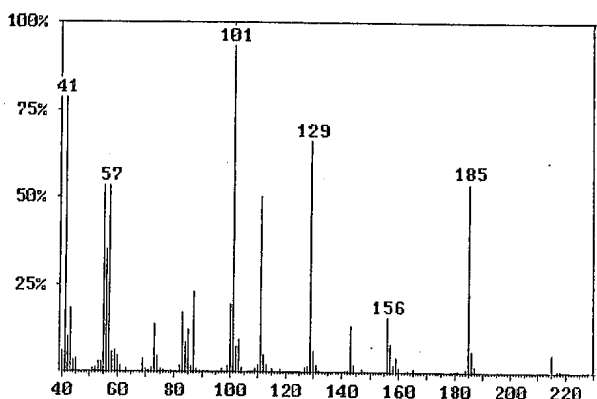


図13 検体のマススペクトル

7. 酒石酸

第3群以外の全試料から酒石酸が検出され, 含有量はND~237 μ g/gであった。含有量は第7群(果実・野菜・きのこ・海草類)が最も高く, ついで第6群(砂糖類・菓子類), 第2群(穀類)の順であった。

酒石酸の1日総摂取量は, 35.1mgで前回とほぼ同じ値であった。食品群別にみると第2群(穀類)が9.2mgで最も多く, 全体の26%を占めていた。ついで第7群(果実・野菜・きのこ・海草類) 8.5mg, 第1群(調味嗜好飲料) 8.2mgの順であった。

8. クエン酸

クエン酸の含有量は146~1,715 μ g/gであった。含有量は第3群(いも・豆・種実類)が最も高く, ついで第6群(砂糖類・菓子類), 第7群(果実・野菜・きのこ・海草類)の順であった。

クエン酸の1日総摂取量は, 720.6mgで前回の約90%の値であった。食品群別にみると第1群(調味嗜好飲料) 347.0mgで最も多く, 全体の48%を占めていた。ついで第3群(いも・豆・種実類) 152.8mg, 第6群(砂糖類・菓子類) 74.2mgの順であった。

今回調査した8種の有機酸で摂取量の最も多かったのは, クエン酸の720.6mgで, ついで乳酸の649.2mg, 酢酸の376.9mgの順であった。

有機酸の総摂取量を食品群別に見ると, 第1群からの摂取量が43%をしめており, 調味嗜好飲料からの摂取が非常に大きいことがわかった。

IV 結 論

食品添加物の1日摂取量に関する研究について, 本年度は加工食品由来の有機酸の摂取量の調査を行った。

有機酸の1日総摂取量は, 酢酸 376.9mg, 乳酸 649.2mg, フマル酸 21.3mg, コハク酸 76.2mg, リンゴ酸 217.5mg, アジピン酸 3.00mg, 酒石酸 35.1mg, クエン酸 720.6mgであった。

有機酸の総摂取量を食品群別に見ると, 第1群からの摂取量が43%をしめており, 調味嗜好飲料からの摂取が非常に大きいことがわかった。

貴重な試料を提供して頂いた木原敏博(札幌市衛研),

大澤テイ子（仙台市衛研），中里光男（東京都衛研），宮川あし子（長野県衛公研），岡田安代（武庫川女子大），後藤宗彦（島根県衛公研），石橋正博（北九州市環研），玉城宏幸（沖縄県公衛研）諸氏に感謝します。

文 献

- 1) 谷村顕雄ら：食品中の食品添加物分析法解説書，p447～461，469～480，495～509(1992)講談社
- 2) 厚生省生活衛生局食品化学課：厚生省食品化学レポートシリーズ No. 38, p45～53(1984)
- 3) 厚生省生活衛生局食品化学課：厚生省食品化学レポートシリーズ No. 50, p18～20(1988)
- 4) 厚生省生活衛生局食品化学課：厚生省食品化学レポートシリーズ No. 53, p131～139(1990)
- 5) 厚生省生活衛生局食品化学課：厚生省食品化学レポートシリーズ No. 57, p167～190(1992)
- 6) 山下市二, 田村太郎, 吉川誠次, 鈴木重治：分析化学，22, p1334～1341(1973)