

生鮮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 Raw 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12年度は生鮮食品由来の有機酸（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11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132種類の食品を購入し、表1に示した5食品群に分け、等量の水を加えて均質磨砕したもの（5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	総重量
2	穀類 202.9g	202.9g
3	いも類 48.6g, 豆類 0.5g, 種実類 1.3g	50.4g
4	魚介類 64.44g, 肉類 63.6g, 卵類 42.8g	170.84g
5	乳類 117.9g	117.9g
7	果実類 104.3g, 野菜類 232.5g, きのこと類 10.3g, 海草類 4.0g	351.14g

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、NaCl 30g、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をとる。「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たが、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。留液100mlをナス型フラスコに取り、0.1N NaOH溶液2.5mlを加えてロータリーエバポレーターで濃縮乾固する。残留物に水1mlを加え、陽イオン交換樹脂カラムに注入する。水2~3mlで数回ナス型フラスコを洗い、洗液をカラムに注入し全流出液を合わせて水を加えて正確に10mlとし試験溶液

とする。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。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℃
移動相	0.1M NH ₄ H ₂ PO ₄ (pH 2.5)
流量	1.0ml/min
検出器	UV(210nm)

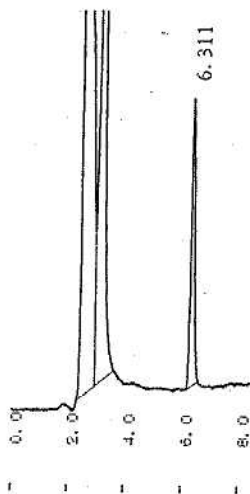


図2 酢酸のクロマトグラム

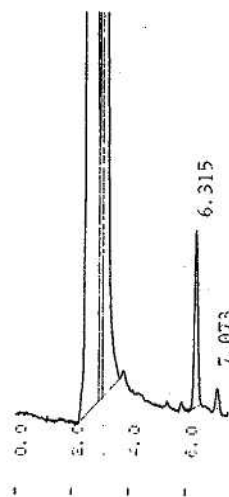


図3 検体のクロマトグラム

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℃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℃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て塩酸を除去する。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℃, 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。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。

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

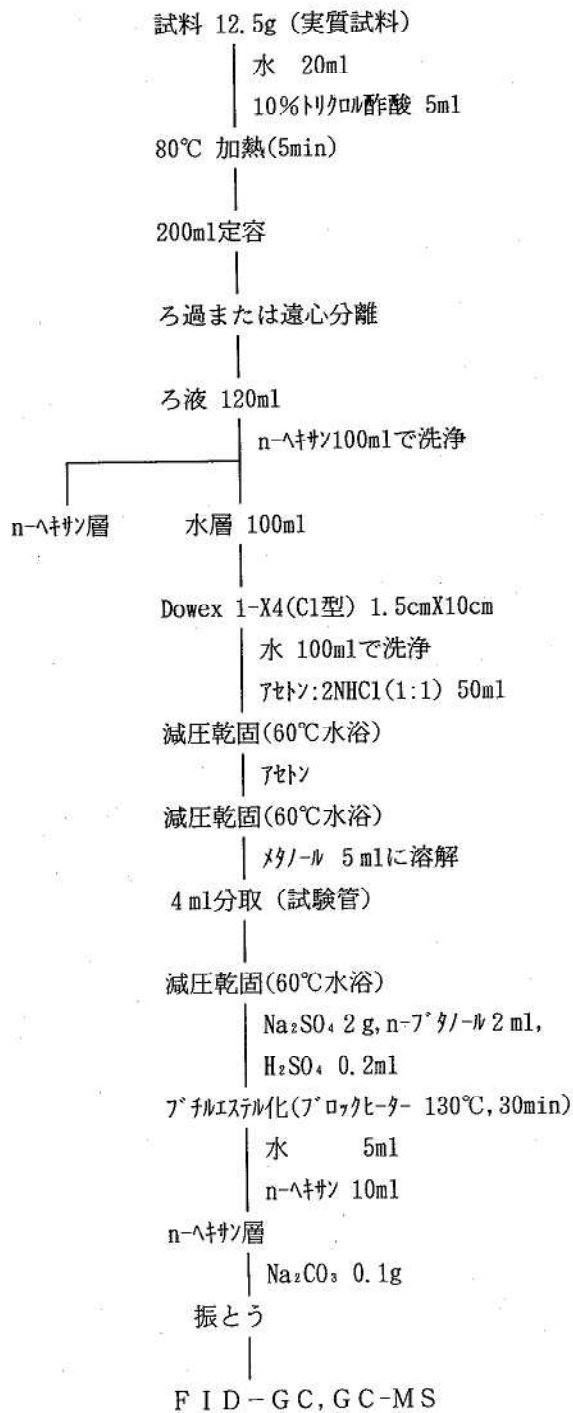


図4 有機酸の分析法

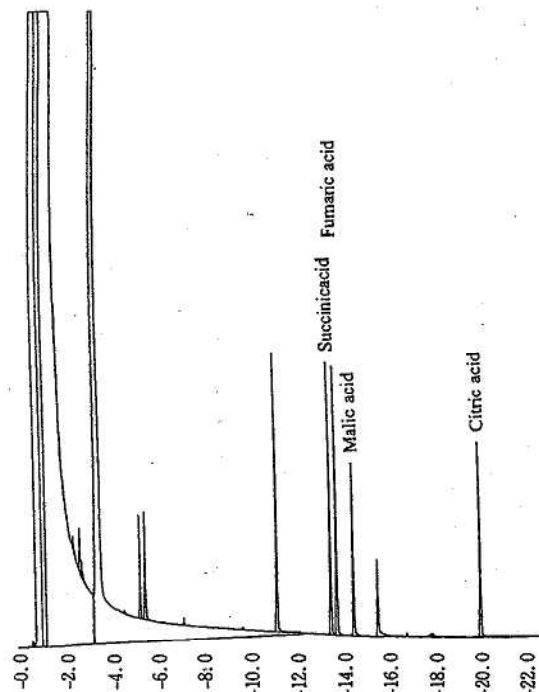


図5 有機酸のクロマトグラム

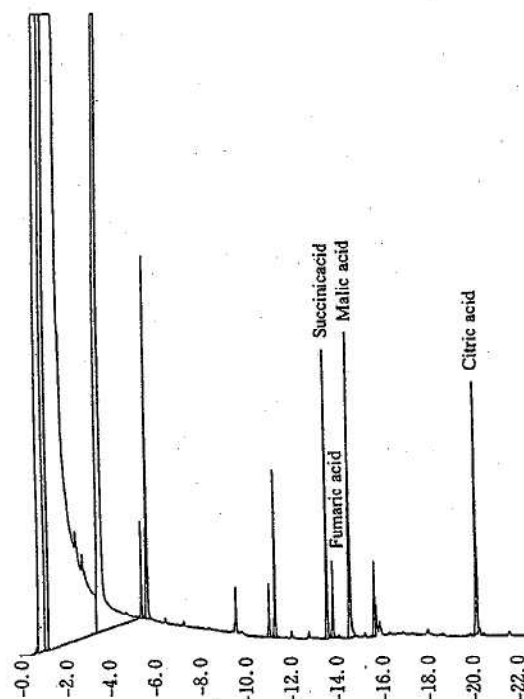


図6 検体のクロマトグラム

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	m/z 161, 132, 105, 76 (酒石酸) m/z 185, 156, 129, 111 (アジピン酸)

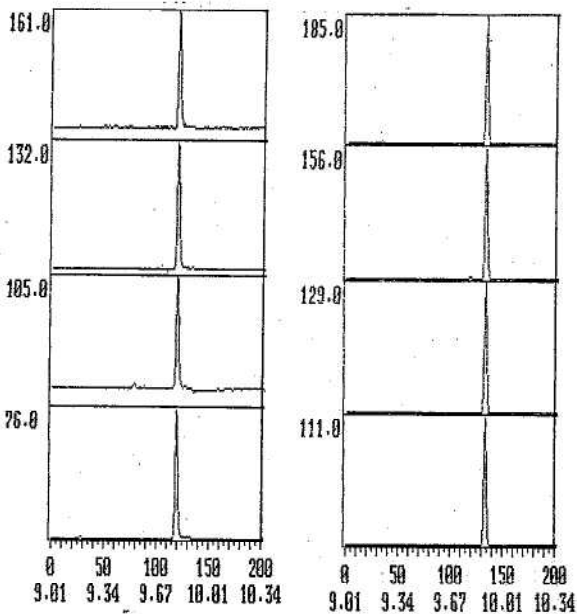


図7 酒石酸, アジピン酸のSIMのクロマトグラム

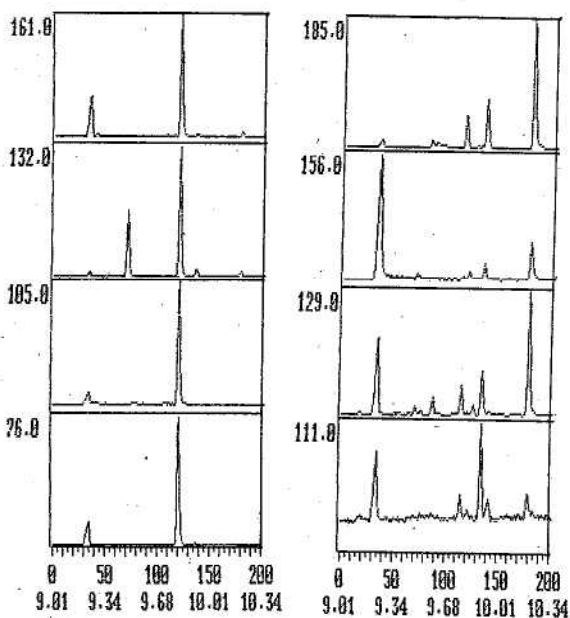


図8 検体のSIMクロマトグラム

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、FID-GCによって定量を行った。表5にGC条件を示す。第4群以外は濃度が低くFID-GCでは分析が困難であったので、GC-MS(SIM測定)で定量を行った。表6にGC-MS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。

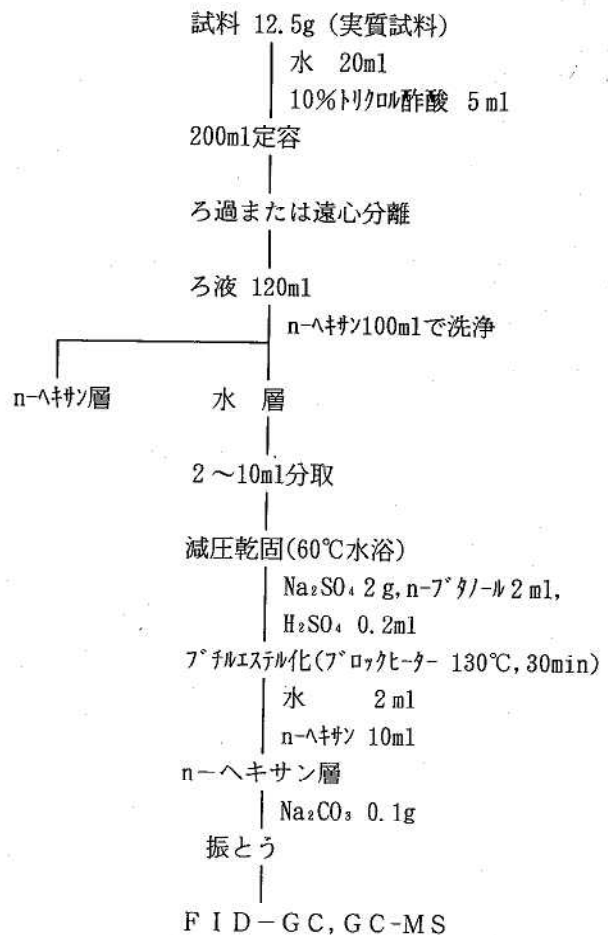


図9 乳酸の分析法

表5 GC条件

装置	島津GC-14B
COLUMN	DEGS+H3P04(5+1%) 2m
COLUMN温度	95°C
キャリアガス	N ₂ , 100kPa

表6 GC-MS条件

装置	島津 QP1100EX
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	He, 100kPa
試料注入法	スプリットレス
イオン化法	EI
モニター	m/z 85, 75, 57, 56, 45

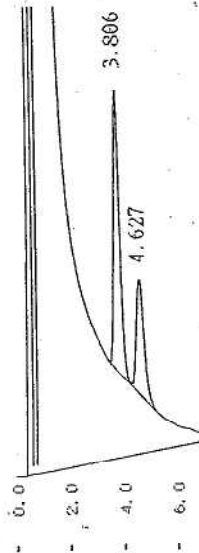


図11 検体のクロマトグラム

3. 添加回収実験並びに添加回収実験

① 酢酸

香川第2, 3, 4, 5, 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7に示す。回収率89.9~95.9%の良好な結果が得られた。本法による定量下限は4 μg/gであった。

表7 酢酸の回収率(500 μg/g添加)

食品群	回収率
2	94.6
3	89.9
4	93.8
5	93.3
7	95.9

n=3

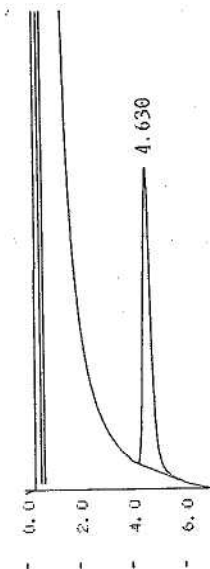


図10 乳酸のクロマトグラム

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

香川第2, 3, 4, 5, 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8に示す。回収率は63.6~122.1%のであった。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8 有機酸の回収率(200 μ g/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
2	104.4	121.3	122.1	119.3	98.3	125.1
3	88.1	90.0	98.7*	85.2	91.3	103.1*
4	70.1	92.5	81.1	83.7	90.4	63.6
5	85.5	93.9	93.5	96.3	97.1	80.7*
7	94.9	92.5	109.4*	84.0	94.0	112.9*

*1,000 μ g/g添加 n=3

③ 乳酸

香川第2, 3, 4, 5, 7群を用い、200ml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9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。

表9 乳酸の回収率(0.5mg添加)

食品群	回収率
2(10ml)	102.4
3(10ml)	105.0
4(2ml)	95.0
5(4ml)	80.7
7(4ml)	92.4

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10及び表11に示す。

表10 生鮮食品中の有機酸の食品群別含有量(μ g/g)

食品群	2群	3群	4群	5群	7群
酢酸	41	73	78	4.9	81
乳酸	11	ND	3040	ND	15
フマル酸	25	70	23	14	63
コハク酸	18	16	18	6.0	46
リンゴ酸	94	1820	81	19	1600
アジピン酸	ND	ND	ND	ND	ND
酒石酸	ND	ND	ND	ND	85
クエン酸	95	2780	18	1360	1830

表11 生鮮食品中の有機酸の食品群別摂取量(mg/day)

食品群	2群	3群	4群	5群	7群	総摂取量
酢酸	8.3	3.7	13.3	0.6	28.4	54.3
乳酸	2.2	0.0	519.4	0.0	5.3	526.9
フマル酸	5.1	3.5	3.9	1.7	22.1	36.3
コハク酸	3.7	0.8	3.1	0.7	16.1	24.4
リンゴ酸	19.1	91.7	13.8	2.2	561.8	688.6
アジピン酸	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
酒石酸	0.0	0.0	0.0	0.0	29.9	29.9
クエン酸	19.3	140.1	3.1	160.3	642.6	965.4

1. 酢酸

酢酸の含有量は4.9~81 μ g/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4群(魚介・肉・卵類)、第3群(いも・豆・種実

類)の順であった。酢酸の1日総摂取量は、54.3mgで前回とほぼ同じ値であった。食品群別にみると第7群(果実・野菜・きのこ・海草類)が28.4mgで最も多く、全体の51%をしめていた。ついで第4群(魚

介・肉・卵類) 13.3mg, 第2群(穀類) 8.3mgの順であった。加工食品(平成10年度)からの摂取量は376.9mgと、生鮮食品からの摂取量の7倍あり、酢酸の摂取量のほとんどは食品添加物に由来すると考えられる。

2. 乳酸

乳酸の含有量はND~3,040 μ g/gであり、第4群(魚介・肉・卵類)が最も高く、その他の群については微量であった。

乳酸の1日総摂取量は、526.9mgで前回の604.3mgに比べてやや低めの値であった。食品群別にみると第4群(魚介・肉・卵類)が519.4mgで最も多く、全体の99%を占めていた。加工食品(平成10年度)からの摂取量は642.9mgと、生鮮食品からの摂取量とほぼ同じであった。乳酸の摂取量を生鮮食品・加工食品の食品群別に考察すると、天然由来の摂取量と添加物由来の摂取量はほぼ同程度と考えられる。

3. フマル酸

フマル酸の含有量は14~70 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7群(果実・野菜・きのこ・海草類)、第2群(穀類)の順であった。

フマル酸の1日総摂取量は、36.3mgで前回とほとんど同じ値であった。食品群別にみると第7群(果実・野菜・きのこ・海草類)が22.1mgで最も多く、全体の61%を占めていた。ついで第2群(穀類)5.1mg, 第4群(魚介・肉・卵類)3.9mgの順であった。加工食品(平成10年度)からの摂取量は21.3mgと、生鮮食品からの摂取量よりも少なかったため、フマル酸の摂取量のほとんどは天然由来と考えられる。

4. コハク酸

コハク酸の含有量は6.0~46 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2群(穀類)、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、24.4mgで前回とほぼ同じ値であった。食品群別にみると第7群(果実・野菜・きのこ・海草類)が16.1mgで最も多く、全体の66%を占めていた。ついで第2群(穀類)3.7mg, 第4群(魚介・肉・卵類)3.1mgの順であった。加工食品(平成10年度)からの摂取量は76.2mgと、生

鮮食品からの摂取量の3倍あり、コハク酸の摂取量のかなりの部分が食品添加物由来と考えられる。

5. リンゴ酸

リンゴ酸の含有量は19~1,820 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7群(果実・野菜・きのこ・海草類)、第2群(穀類)の順であった。

リンゴ酸の1日総摂取量は、688.6mgで前回とほとんど同じ値であった。食品群別にみると第7群(果実・野菜・きのこ・海草類)が561.8mgで最も多く、全体の82%を占めていた。ついで第3群(いも・豆・種実類)91.7mg, 第2群(穀類)19.1mgの順であった。加工食品(平成10年度)からの摂取量は217.5mgと、生鮮食品からの摂取量の約40%であり、リンゴ酸の摂取量の多くは天然由来であると考えられる。

6. アジピン酸

アジピン酸はすべての群から検出されなかった。アジピン酸の1日総摂取量は、0.00mgであった。天然には存在しないか存在しても微量と考えられる。

7. 酒石酸

第7群(果実・野菜・きのこ・海草類)から、85 μ g/gの酒石酸が検出された。その他の群からは検出されなかった。

酒石酸の1日総摂取量は、29.9mgで前回とほぼ同じ値であった。加工食品(平成10年度)からの摂取量は35.1mgと、生鮮食品からの摂取量とほぼ同じ程度であった。酒石酸の摂取量を生鮮食品・加工食品の食品群別に考察すると、天然由来の摂取量と添加物由来の摂取量はほぼ同程度と考えられる。

8. クエン酸

クエン酸の含有量は18~2,780 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7群(果実・野菜・きのこ・海草類)、第5群(乳類)の順であった。

クエン酸の1日総摂取量は、965.4mgで前回よりも1割高かった。食品群別にみると第7群(果実・野菜・きのこ・海草類)642.6mgで最も多く、全体の67%を占めていた。ついで第5群(乳類)160.3mg, 第3群(いも・豆・種実類)140.1mgの順であった。加工食品(平成10年度)からの摂取量は720.6mgと、生鮮食品からの摂取量の約75%であった。食

品群別に考察すると、天然由来の摂取量と添加物由来の摂取量はほぼ同程度と考えられる。

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965.4mgで、ついでリンゴ酸の688.6mg、乳酸の526.9mgの順であった。

有機酸の総摂取量を食品群別に見ると、第7群からの摂取量が56%をしめており、果実・野菜・きのこ・海草類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、本年度は生鮮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 54.3mg、乳酸 526.9mg、フマル酸 36.3mg、コハク酸 24.4mg、リンゴ酸 688.6mg、アジピン酸 0.00mg、酒石酸 29.9mg、クエン酸 965.4mgであった。

生鮮食品由来の有機酸の総摂取量を食品群別に見ると、第7群からの摂取量が56%をしめており、果実・野菜・きのこ・海草類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) 山田市二，田村太郎，吉川誠次，鈴木重治：分析化学，22，p 1334～1341(1973)
- 7) 毛利孝明，藤田久雄，西岡千鶴，吉田明美，黒田弘之：香川県衛生研究所報，25，p64～71(1997)
- 8) 毛利孝明，藤田久雄，西岡千鶴，吉田明美，黒田弘之：香川県衛生研究所報，27，p74～81(1999)