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・黒田　弘之

Daily Intake of Organic Acids from Raw Foods

Takaaki MOURI, Hisao FUJITA, Chizuru NISHIOKA 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いる。

我々は昭和61年より本調査班に参加し，平成８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８年10月，マーケットバスケット方式により，全国12機関（札幌市衛研，仙台市衛研，東京都衛研，山梨県衛公研，長野県衛公研，名古屋市衛研，武庫川女子大，大阪市環研，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）をさらに４機関ごとに混合し，それぞれ東部グループ（札幌市，仙台市，山梨，長野の各衛生研究所），中部グループ（東京，名古屋市，大阪市の各衛生研究所及び武庫川女子大），西部グループ（島根，香川，北九州市，沖縄の各衛生研究所）としたものを分析に供した。

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ので，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

試料　10g（実質試料）
　│ 12%酒石酸　5mℓ
　│ NaCl　30g
　│ 水　　80mℓ
水蒸気蒸留
　│
500mℓ定容
　│ 濃縮　　（第５群）
　│ イオン交換（第５群）
HPLC

図１　酢酸の分析法

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	202.9 g
3	いも類 48.6g, 豆類 0.5g, 種実類 1.3g	50.4 g
4	魚介類 64.44g, 肉類 63.6g, 卵類 42.8g	170.84g
5	乳類 117.9g	117.9 g
7	果実類 93.54g, 野菜類 232.5g, きのこ類 10.3g, 海草類 4.0g, 別途購入品 10.8g	351.14g

表2　HPLC条件

装置	島津　LC-6A
column	Ionpak KC-811(8.0×300mm)
column temp.	55℃
移動相	0.1%H_3PO_4
流量	0.8mℓ/min
検出器	UV(210nm)

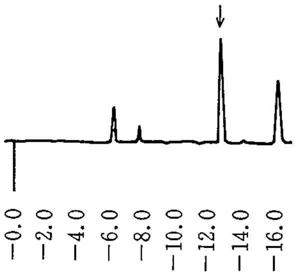

図2　酢酸のクロマトグラム

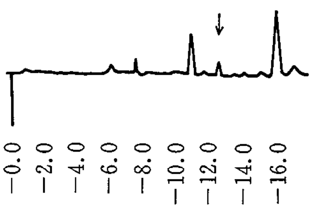

図3　検体のクロマトグラム

表3　GC条件

装置	島津GC-14B
COLUMN	SPB-50(30m×0.33mm×0.25μm)
COLUMN温度	60℃(2min)-10℃/min-250℃(2min)
キャリャーガス	N_2,100kPa
試料注入法	全量注入

速かつ正確な定量が可能になった。第5群について度がは濃低いため，「食品中の食品添加物分析法」の方法により留液を濃縮し，イオン交換樹脂を通した後，HPLCにより定量を行った。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。

② 乳酸，コハク酸，フマル酸，リンゴ酸，酒石酸及びクエン酸

乳酸，コハク酸，フマル酸，リンゴ酸，酒石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により行った。

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100mℓとし，ろ紙でろ過または遠心分離を行う。ろ液60mℓにn-ヘキサン50mℓを加えて振とうし脱脂する。水層50mℓ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，80℃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。

試料 12.5g（実質試料）
| 水　20mℓ
80℃ 加熱(5min)
|
100mℓ定容
|
ろ過または遠心分離
|
ろ液 60mℓ
| n-ヘキサン50mℓで洗浄
n-ヘキサン層　　水層 50mℓ
|
Dowex　1-X4(Cl型) 1.5cmX10cm
| 水 100mℓで洗浄
| アセトン：2NHCl(1：1) 50mℓ
減圧乾固(80℃水浴)
| アセトン
減圧乾固(80℃水浴)
| メタノール 5mℓに溶解
4mℓ分取（試験管）
|
減圧乾固(80℃水浴)
| Na_2SO_4 2g,n-ブタノール
| 2mℓ,H_2SO_4 0.2mℓ
ブチルエステル化(ブロックヒーター　130℃,30min)
| 水　5mℓ
| n-ヘキサン 10mℓ
n-ヘキサン層
| Na_2CO_3 0.1g
振とう
|
FID－GC, GC－MS

図4　有機酸の分析法

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，エアー冷却器をつけ，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。表3にGCの条件を示す。酒石酸については感度が悪く，検出限界が100μg/g以上となるため，低濃度の試料については，GC-MSを使用しSIM測定（M/Z 145,117,89,57)で定量を行った。表4にGC-MS条件を示す。

なお，前回はパックドカラムを使用したが，今回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。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。

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2，3，4，5，7群を用い，200μg/g（実質試料として）添加レベルで回収率を求

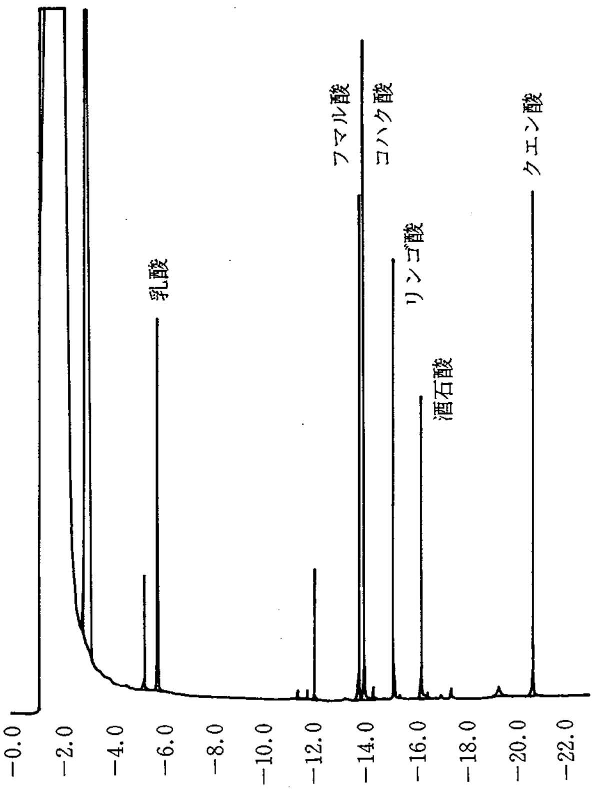

図5　有機酸のクロマトグラム

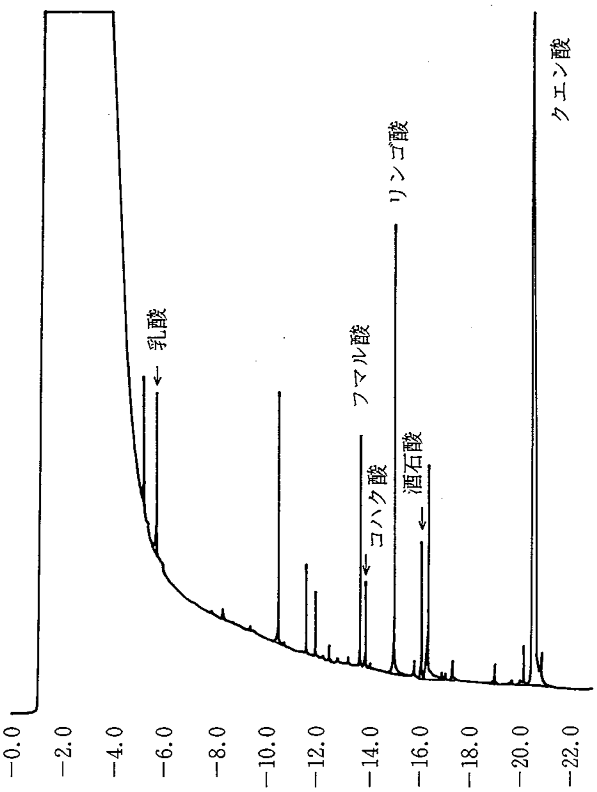

図6　検体のクロマトグラム

表4　GC-MS条件

装置	島津　QP1100EX
COLUMN	SPB-50(30m×0.33mm×0.25μm)
COLUMN温度	60℃(2min)-10℃/min-250℃(2min)
イオン化法	ＥＩ
モニターイオン	m/z　145,117,89,57

表5　酢酸の回収率(200μg/g添加)

食品群	回収率
2	104.2
3	103.2
4	100.1
5	100.3
7	102.3

n=3

め，その結果を表5に示す。回収率100.1～104.2%の良好な結果が得られた。本法による定量下限は10μg/gであった。

② 乳酸，フマル酸，コハク酸，リンゴ酸，酒石酸及びクエン酸

西部グループ第2，3，4，5，7群を用い，200μg/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63.6～125.1%の良好な結果が得られた。第4群については，そのまま添加するとフマラーゼの影響でフマル酸の回収率が30～40%い低下するため，試料を80℃加熱した後に添加を行った。本法による定量下限は，フマル酸，コハク酸については5μg/g，乳酸，リンゴ酸，酒石酸，クエン酸については10μg/gであった。

表6　有機酸の回収率(200μg/g添加)

食品群	乳　酸	フマル酸	コハク酸	リンゴ酸	酒石酸	クエン酸
2	92.3	104.4	121.3	122.1	119.3	125.1
3	77.9	88.1	90.0	98.7*	85.2	103.1*
4	104.0**	70.1	92.5	81.1	83.7	63.6
5	69.7	85.5	93.9	93.5	96.3	80.7*
7	84.5	94.9	92.5	109.4*	84.0	112.9*

4群は加熱後に添加　*1,000μg/g添加　**2,000μg/g添加　　n=3

Ⅲ　結果及び考察

1．酢酸

各試料につき，酢酸の分析法に従って試料中の酢酸のグループ，食品群別含有量を求めた結果を表７に示す。各群試料の１日喫食重量から生鮮食品中のグループ，食品群別摂取量を算出した結果と前回（昭和61年度）の総摂取量を表８に示す。なお，前回とは食品群の構成が異なるため，食品群ごとの比較は行わなかった。

酢酸の含有量はND～118μg/gであった。

酢酸の１日総摂取量は，50.5mg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25.6mg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）12.6mg，第２群（穀類）8.4mgの順であった。

加工食品（平成7年度）からの摂取量は408.5mgと，生鮮食品からの摂取量の８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

各試料につき，乳酸の分析法に従って試料中の乳酸のグループ,食品群別含有量を求めた結果を表９に示す。各群試料の１日喫食重量から生鮮食品中のグループ,食品群別摂取量を算出した結果と前回の総摂取量を表10に示す。

乳酸の含有量はND～3,660μg/gであり，第4群（魚介・肉・卵類）が最も高かった。

乳酸の１日総摂取量は，604.3mgで前回の約30%の値であった。食品群別にみると第４群（魚介・肉・卵類）が592.2mgで最も多く，全体の98%を占めていた。群別の摂取量を前回と比較すると，第２，３群で1/80，第４群で1/3，第５群で1/7，第７群で1/70と大きな差が見られ

表７　平成８年度生鮮食品中の酢酸のグループ，食品群別含有量（μg/g）

グループ	２群	３群	４群	５群	７群
東　部	53	72	47	ND	75
中　部	30	69	57	11	72
西　部	41	59	118	ND	72
平 均 値	41	67	74	4	73

ND＜10μg/g

表８　平成８年度生鮮食品中の酢酸のグループ，食品群別一日摂取量（μg/g）

グループ	２群	３群	４群	５群	７群	総摂取量
東　部	10.8	3.6	8.0	0.0	26.3	48.7
中　部	6.1	3.5	9.7	1.3	25.3	45.9
西　部	8.3	3.0	20.2	0.0	25.3	56.7
平 均 値	8.4	3.4	12.6	0.4	25.6	50.5
昭和61年度平 均 値						48.7

表９　平成８年度生鮮食品中の乳酸のグループ，食品群別含有量（μg/g）

グループ	２群	３群	４群	５群	７群
東　部	11	ND	3440	43	26
中　部	ND	17	3660	71	22
西　部	ND	27	3300	13	ND
平 均 値	4	15	3467	42	16

ND＜10μg/g

表10　平成８年度生鮮食品中の乳酸のグループ，食品群別一日摂取量（mg/day）

グループ	２群	３群	４群	５群	７群	総摂取量
東　部	2.2	0.0	587.7	5.1	9.1	604.1
中　部	0.0	0.9	625.3	8.4	7.7	642.2
西　部	0.0	1.4	563.8	1.5	0.0	566.7
平 均 値	0.7	0.7	592.2	5.0	5.6	604.3
昭和61年度平 均 値						1991

るが，原因は試料による違いなのか分析法の違いによるものかはっきりしない。（前回の分析法は酵素法）今後の検討課題としたい。

加工食品（平成７年度）からの摂取量は475.6mgと，生鮮食品からの摂取量よりも少なかったので，乳酸の摂取量のほとんどは天然由来と考えられる。

３．フマル酸

各試料につき，フマル酸の分析法に従って試料中のフマル酸のグループ，食品群別含有量を求めた結果を表11に示す。各群試料の１日喫食重量から生鮮食品中のグループ，食品群別摂取量を算出した結果と前回の総摂取量を表12に示す。

全試料からフマル酸が検出され，含有量は10～96μg/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）の順であった。

フマル酸の１日総摂取量は，31.7mg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19.2mgで最も多く，全体の60%を占めていた。ついで第２群（穀類）4.0mg，第３群（いも･豆･種実類）3.7mgの順であった。

加工食品（平成7年度）からの摂取量は22.5mgと，生鮮食品からの摂取量よりも少なかったので，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

各試料につき，コハク酸の分析法に従って試料中のコハク酸のグループ，食品群別含有量を求めた結果を表13に示す。各群試料の１日喫食重量から生鮮食品中のグループ，食品群別摂取量を算出した結果と前回の総摂取量を表14に示す。

表11　平成８年度生鮮食品中のフマル酸のグループ，食品群別含有量（μg/g）

グループ	２群	３群	４群	５群	７群
東　部	24	71	21	14	61
中　部	19	53	19	14	58
西　部	16	96	19	10	45
平均値	20	73	20	13	55

ND＜５μg/g

表12　平成８年度生鮮食品中のフマル酸のグループ，食品群別一日摂取量（mg/day）

グループ	２群	３群	４群	５群	７群	総摂取量
東　部	4.9	3.6	3.6	1.7	21.4	35.1
中　部	3.9	2.7	3.2	1.7	20.4	31.8
西　部	3.2	4.8	3.2	1.2	15.8	28.3
平均値	4.0	3.7	3.4	1.5	19.2	31.7
昭和61年度平均値						32.0

表13　平成８年度生鮮食品中のコハク酸のグループ，食品群別含有量（μg/g）

グループ	２群	３群	４群	５群	７群
東　部	14	29	9	10	50
中　部	11	25	10	11	43
西　部	10	28	30	9	36
平均値	12	27	16	10	43

ND＜５μg/g

表14　平成８年度生鮮食品中のコハク酸のグループ，食品群別一日摂取量（mg/day）

グループ	２群	３群	４群	５群	７群	総摂取量
東　部	2.8	1.5	1.5	1.2	17.6	24.6
中　部	2.2	1.3	1.7	1.3	15.1	21.6
西　部	2.0	1.4	5.1	1.1	12.6	22.3
平均値	2.4	1.4	2.8	1.2	15.1	22.8
昭和61年度平均値						30.1

全試料からコハク酸が検出され，含有量は９～50μg/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３群（いも･豆･種実類），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，22.8mg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15.1mgで最も多く，全体の66%を占めていた。ついで第４群（魚介･肉･卵類）2.8mg，第２群（穀類）2.4mgの順であった。

加工食品（平成７年度）からの摂取量は71.9mgと，生鮮食品からの摂取量の約３倍あり，コハク酸の摂取量のかなりの部分が添加物由来と考えられる。

５．リンゴ酸

各試料につき，リンゴ酸の分析法に従って試料中のリンゴ酸のグループ，食品群別含有量を求めた結果を表15に示す。各群試料の１日喫食重量から生鮮食品中のグループ，食品群別摂取量を算出した結果と前回の総摂取量を表16に示す。

全試料からリンゴ酸が検出され，含有量は23～1,790μg/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３群（いも･豆･種実類），第２群（穀類）の順であった。

リンゴ酸の１日総摂取量は，663.1mg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551.3mgで最も多く，全体の83%を占めていた。ついで第３群（いも･豆･種実類）71.7mg，第２群（穀類）21.3mgの順であった。

加工食品（平成７年度）からの摂取量は232.5mgと，生鮮食品からの摂取量の約1/3であったので，リンゴ酸の摂取量のほとんどは天然由来と考えられる。

表15　平成８年度生鮮食品中のリンゴ酸のグループ，食品群別含有量（μg/g）

グループ	2群	3群	4群	5群	7群
東　部	120	1250	94	25	1550
中　部	95	1230	100	26	1440
西　部	100	1790	85	23	1720
平均値	105	1423	93	25	1570

ND＜10μg/g

表16　平成８年度生鮮食品中のリンゴ酸のグループ，食品群別一日摂取量（mg/day）

グループ	2群	3群	4群	5群	7群	総摂取量
東　部	24.3	63.0	16.1	2.9	544.3	650.6
中　部	19.3	62.0	17.1	3.1	505.6	607.1
西　部	20.3	90.2	14.5	2.7	604.0	731.7
平均値	21.3	71.7	15.9	2.9	551.3	663.1
昭和61年度平均値						658

表17　平成８年度生鮮食品中の酒石酸のグループ，食品群別含有量（μg/g）

グループ	2群	3群	4群	5群	7群
東　部	ND	ND	ND	ND	82
中　部	ND	ND	ND	ND	77
西　部	ND	ND	ND	ND	92
平均値	0	0	0	0	84

ND＜10μg/g

表18　平成８年度生鮮食品中の酒石酸のグループ，食品群別一日摂取量（mg/day）

グループ	2群	3群	4群	5群	7群	総摂取量
東　部	0.0	0.0	0.0	0.0	28.8	28.8
中　部	0.0	0.0	0.0	0.0	27.0	27.0
西　部	0.0	0.0	0.0	0.0	32.3	32.3
平均値	0.0	0.0	0.0	0.0	29.4	29.4
昭和61年度平均値						27.4

6．酒石酸

各試料につき，酒石酸の分析法に従って試料中の酒石酸のグループ，食品群別含有量を求めた結果を表17に示す。各群試料の1日喫食重量から生鮮食品中のグループ，食品群別摂取量を算出した結果と前回の総摂取量を表18に示す。

酒石酸が検出されたのは第7群（果実･野菜･きのこ･海草類）だけであり，含有量は77～92μg/gであった。

酒石酸の1日総摂取量は，29.4mgで前回とほぼ同じ値であった。

加工食品（平成7年度）からの摂取量は32.5mgと，生鮮食品からの摂取量ほぼ同じであったので，酒石酸の摂取量のほとんどは天然由来と考えられる。

7．クエン酸

各試料につき，クエン酸の分析法に従って試料中のクエン酸のグループ，食品群別含有量を求めた結果を表19に示す。各群試料の1日喫食重量から生鮮食品中のグループ，食品群別摂取量を算出した結果と前回の総摂取量を表20に示す。

全試料からクエン酸が検出され，含有量は19～2,420μg/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，865.5mgで前回の約74%の値であった。食品群別にみると第7群が564.2mg（果実･野菜･きのこ･海草類）で最も多く，ついで第5群（乳類）183.5mg，第3群（いも･豆･種実類）94.8mgの順であった。第7群の寄与率が65%と大きかった。地域による差は，西部が高く，東部が低い結果であった。

加工食品（平成7年度）からの摂取量は801.5mgと，生鮮食品からの摂取量ほぼ同じであったので，クエン酸の摂取量のほとんどは天然由来と考えられる。

今回調査した7種の有機酸で摂取量の最も多かったのは，クエン酸の865.5mgで，ついでリンゴ酸の663.1mg，乳酸の604.3mg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53%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る。

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　50.5mg，乳酸　604.3mg，フマル酸　31.7mg，コハク酸　22.8mg，リンゴ酸　663.1mg，酒石酸　29.4mg，クエン酸　865.5mgであった。平成7年度に行った加工食品由来の摂取量調査と比較すると，酢酸及びコハク酸については，大部分が食品添加物由来であると推定された。乳酸，フマル酸，リンゴ酸，酒石酸及びクエン酸については，大部分が天然由来であると推定された。

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53%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太田紀之（札幌市衛研），大澤テイ子（仙台市衛研），斉藤和夫（東京都衛研），深澤喜延（山梨県衛公研），宮川あし子（長野県衛公研），宮部正樹（名古屋市衛研），矢田朋子（武庫川女子大），福田正則（大阪市環研），後藤宗彦（島根県衛公研），石橋正博（北九州市環研），大城善昇（沖縄県公衛研）諸氏に感謝します。

表19　平成8年度生鮮食品中のクエン酸のグループ，食品群別含有量（μg/g）

グループ	2群	3群	4群	5群	7群
東　部	88	1640	26	1530	1400
中　部	92	1580	29	1670	1580
西　部	99	2420	19	1470	1840
平均値	93	1880	25	1557	1607

ND＜10μg/g

表20　平成8年度生鮮食品中のクエン酸のグループ，食品群別一日摂取量（mg/day）

グループ	2群	3群	4群	5群	7群	総摂取量
東　部	17.9	82.7	4.4	180.4	491.6	776.9
中　部	18.7	79.6	5.0	196.9	554.8	854.9
西　部	20.1	122.0	3.2	173.3	646.1	964.7
平均値	18.9	94.8	4.2	183.5	564.2	865.5
昭和61年度平均値						1176

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）