

# 日本人のソルビン酸、デヒドロ酢酸およびそれらの塩類ならびに パラオキシ安息香酸エステル類などの各種保存料の1日摂取量について

黒田 弘之・毛利 孝明・西岡 千鶴  
三好 益美・大北 健逸・伊藤誉志男\*

## I 緒 言

日本において使用される各種食品添加物について、実際に毎日喫食している食品中に含有する量を測定し、それらの摂取量を知ることは食品添加物の安全性を論議する場合、最も重要かつ基本的な情報を与えることになる。

わが国ではこれらのことを考慮して、1976年より厚生省と国立衛生試験所を中心に「食品添加物1日摂取量実態調査研究班」が組織され、調査解析が行なわれている。

我々は、1986年より本研究班に参加しているが、1991年には加工食品中の保存料（ソルビン酸、デヒドロ酢酸、パラオキシ安息香酸エステル類）のHPLCによる分析法の検討を行い、日本人の1日摂取量を明らかにしたので報告する。

## II 方 法

### 1. 試薬及び装置

#### 1) 試薬

試薬はすべて和光純薬製の特級品を用いた。

#### 2) 装置

(1) 高速液体クロマトグラフ：島津LC-6A型（SPD-6AV, M6A）

(2) ガスクロマトグラフ：島津GC-9AM型

### 2. 試料の調製

1991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、長野県衛公研、東京都衛研、山梨県衛公研、名古屋市衛研、国立衛試（大阪）、大阪市環研、香川県衛研、島根県衛公研、北九州市

環研、沖縄県公衛研）で、おのおの346種の食品をスーパーマーケットで購入し、表1に示した7食品群に分け、等量の水を加えて均質質砕したものをさらに4機関ごとに混合し、それぞれ東部グループ（札幌、仙台、長野、山梨の各衛生研究所）、中部グループ（東京、名古屋、大阪の各衛生研究所及び国立衛生試験所）、西部グループ（香川、島根、北九州、沖縄の各衛生研究所）としたものの第1群～第7群を用いた。加工食品の試料採集群の分類を表1に示した。

### 3. 分析方法

試料10g（実質試料として）を500mlの丸底フラスコに採り、15%酒石酸溶液15ml, NaCl160g, 水150ml及びシリコン樹脂1滴を加え、毎分10mlの留出速度で水蒸気蒸留を行い、留液500mlとる。この液を0.45 $\mu$ mのメンブランフィルターでろ過し、試験溶液とした。この試験溶液を次の条件で高速液体クロマトグラフ（HPLC）に注入し、ピーク高より定量した<sup>1)</sup>。

(1) HPLCによるソルビン酸、デヒドロ酢酸の測定条件

(a) Column : Inertsil ODS-2 (4.6 $\times$ 150mm)

(b) Column temp. : 40 $^{\circ}$ C

(c) 移動相 : メタノール・アセトニトリル・5mMクエン酸緩衝液 (pH 4) = 1 : 2 : 7

(d) 流量 : 1.0ml

(e) 検出器 : UV (260, 307nm) 及びフォトダイオードアレイ (SPD-M 6 A)

(2) HPLCによるパラオキシ安息香酸エステル類の測定条件

(a) Column : Inertsil ODS-2 (4.6 $\times$ 150mm)

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

\* 国立衛生試験所・大阪支所

- (b) Column temp.: 40°C
- (c) 移動相: メタノール・5 mMクエン酸緩衝液 (pH 4) = 6 : 4
- (d) 流量: 1.0 ml
- (e) 検出器: UV (260nm) 及びフォトダイオードアレイ (SPD-M 6 A)

### Ⅲ 結果及び考察

#### 1. 分析法の検討

分析方法の項に従って行なった, 標準溶液のソルビン酸, デヒドロ酢酸のクロマトグラムを図1に, パラオキシン安息香酸エステル類のクロマトグラムを図2に示した。

##### ①ソルビン酸, デヒドロ酢酸

分析方法(1)に示したHPLCの条件下で行なった検体のクロマトグラムは, 図3のようにソルビン酸の幾何異性 (trans-2, cis-4-hexadienoic acid) がソルビン酸の少し前に出現する<sup>2)</sup>ため, 次の方法により補正を行なった。すなわち, trans-2, cis-4-hexadienoic acidをHPLCを用いて分取し, これをソルビン酸標準液として, (1)の条件及びイオンペアークロマトグラフィー<sup>3)</sup> (この条件ではソルビン酸と, trans-2, cis-4-hexadienoic acidは同一保持時間となる) によって定量値を求め, 補正係数を算出した。その結果ソルビン酸を標準として(1)の条件で得られたtrans-2, cis-4-hexadienoic acidの定量値を1.05倍し, ソルビン酸の定量値に加算することにした。

##### ②パラオキシン安息香酸エステル類

第1群及び第7群ではパラオキシン安息香酸エチルを除いて良好な結果が得られたが, その他の群では十分な結果が得られなかった。そこで, やや回収率の悪かった第2群及び第3群については, パラオキシン安息香酸エステル類が検出された場合は水蒸気蒸留の留液を1000mlとる<sup>4)</sup>こととし, 特に回収率の悪かった第4群, 第5群, 第6群については, 「食品中の食品添加物分析法」(溶媒抽出法)<sup>5)</sup>を用いることとした。

すなわち, 試料2gをホモジナイザーカップに入れて15%硫酸を加えてpH1とし, エチルエーテル70, 50, 50mlを加え氷冷しながらホモジナイズする。全エチルエーテル層を合わせ, 飽和NaCl120mlで洗浄し, 0.4NKOH・メタノール混液(1:1)25mlで2回抽出する。下層に水100mlを加え, 15%硫酸でpH1とし, エチルエーテル100mlで3回抽出を行なう。エチルエーテル層を無水硫酸ナトリウムで脱水した後, 減圧濃縮しメタノール:水(1:1)で10mlとし, 試験溶液とした。

また, 第1群及び第7群においてパラオキシン安息香酸エステル類の含有の疑いのあった試料について, ピークが微小であるため, エーテルで抽出を行い10倍に濃縮後定量及びフォトダイオードアレイ検出器によって確認を行なった。図4にフォトダイオードアレイ検出器による標準と検体のスペクトルパターンの比較を示した。

##### ③添加回収実験

西部グループ1, 2, 3, 4, 5, 6, 7群を用い,

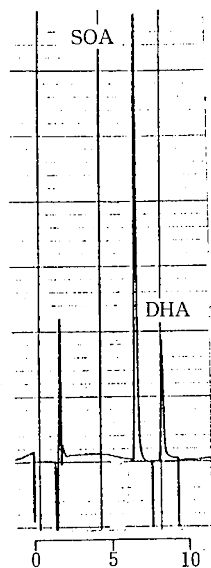


図1 ソルビン酸及びデヒドロ酢酸のクロマトグラム

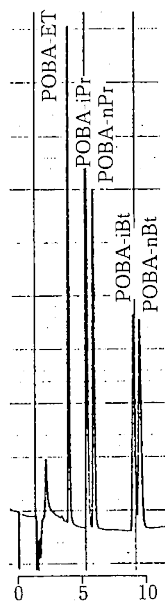


図2 パラオキシン安息香酸エステル類のクロマトグラム

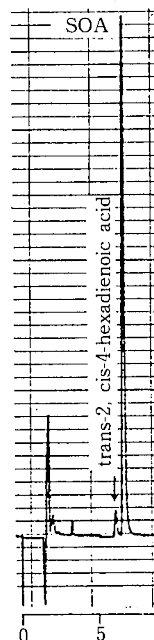


図3 検体のクロマトグラム

25 $\mu\text{g}/\text{g}$  (実質試料) 添加レベルで回収率を求め、その結果を表2に示した。

ソルビン酸で90.7~99.0%, デヒドロ酢酸で87.1~95.3%であった。また、パラオキシ安息香酸エステル類は、水蒸気蒸留法で50.6~98.3%, 溶媒抽出法で78.2~93.0%の良好な回収率が得られた。本法によるソルビン酸及びデヒドロ酢酸の定量限界は、それぞれ0.1 $\mu\text{g}/\text{g}$ , 0.3 $\mu\text{g}/\text{g}$ であった。

また、パラオキシ安息香酸エステル類の定量限界は、それぞれのエステルについて0.1 $\mu\text{g}/\text{g}$ であった。

## 2. 摂取量調査

各試料につき、分析法に従って試料中のソルビン酸、デヒドロ酢酸、パラオキシ安息香酸エステル類の含有量を求めた結果と昭和62年度の平均値<sup>4)</sup>を表3に示した。

また、各群試料の1日喫食重量から加工食品由来の1日摂取量を算出した結果と昭和62年度の平均値を表4に示した。

### ①ソルビン酸

前回(昭和62年)は不検出の試料が4割あったが、今回はすべての検体から検出された。これは、今回の試料が混合試料となったためと、分析方法が変わり定量限界が下がったためと考えられる。ソルビン酸の使用基準を反映して第4群、第7群の含有量が高かったが、昭和62年度の平均値と比較すると約80%低くなっている。

ソルビン酸の1日総摂取量は27.0mgと昭和62年度の摂取量35.2mgの77%であった。これは、第4群の摂取量が27.9mgから20.0mgに減少したためである。この原因は、第4群の喫食量が60.0g(昭和62年)から52.5gに減少

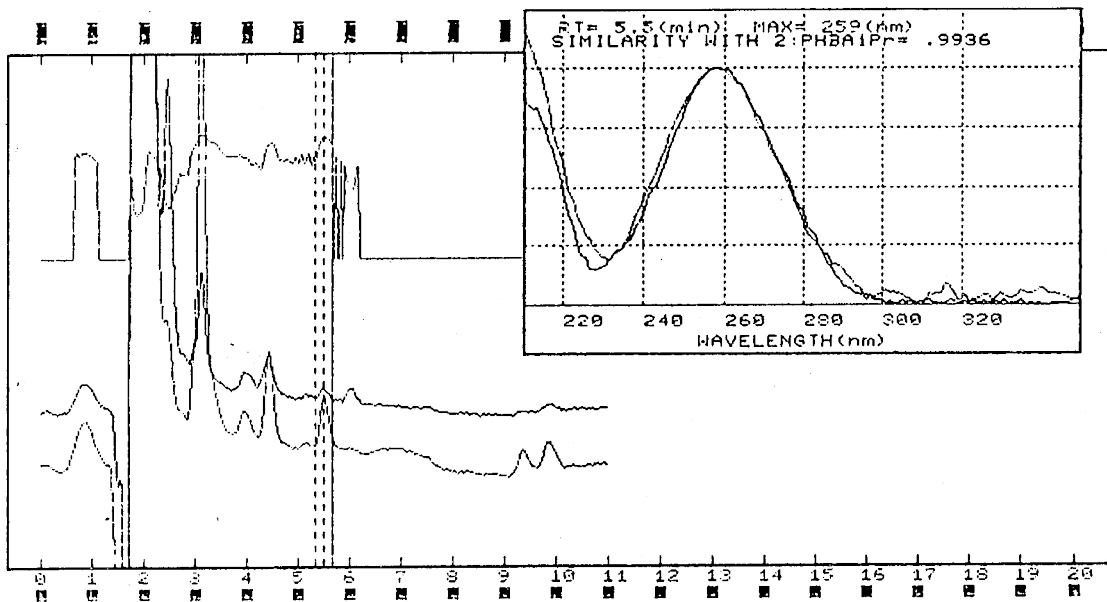


図4 フォトダイオードアレイ検出器によるスペクトルパターン

表2 各種保存剤の添加回収率 (%)

食品群	ソルビン酸	デヒドロ酢酸	POBA-ET	POBA-iPr	POBA-nPr	POBA-iBt	POBA-nBt	抽出方法
1	90.9	87.1	58.1	94.3	84.1	98.3	97.6	水蒸気蒸留法
2	98.8	94.4	50.6	76.1	59.2	65.1	54.6	"
3	96.5	93.3	50.7	77.9	61.1	66.5	55.7	"
4	90.7* <sup>1</sup>	88.5	42.1	65.4	48.9	51.8	41.9	"
5	99.0	94.0	78.2	89.2	84.3	83.3	82.2	溶媒抽出法
			41.3	58.4	41.9	38.8	29.8	水蒸気蒸留法
6	96.1	95.3	80.3	93.0	88.0	91.8	90.3	溶媒抽出法
			40.5	67.0	49.4	54.6	43.9	水蒸気蒸留法
7	98.2* <sup>2</sup>	87.7	82.8	90.5	87.8	89.1	88.1	溶媒抽出法
			56.9	91.9	80.1	95.7	92.1	水蒸気蒸留法

(注) \*<sup>1</sup>250 $\mu\text{g}/\text{g}$  添加 \*<sup>2</sup>100 $\mu\text{g}/\text{g}$  添加

(n = 3)

表3 加工食品中の各種保存剤の食品群別含有量 (μg/g)

品名	グループ名	1群	2群	3群	4群	5群	6群	7群	8群
ソルビン酸	東部	0.9	6.7	1.7	372.3	0.8	1.2	98.6	
	中部	0.8	2.4	0.7	291.3	0.6	3.4	77.7	(ND<0.1μg/g)
	西部	0.8	4.8	36.4	479.0	8.5	29.6	184.2	
平成3年度平均値		0.8	4.6	12.9	380.9	3.3	11.4	120.2	
昭和62年度平均値		ND	3.6	6.9	465.0	2.2	8.9	142.0	15.8
デヒドロ酢酸	東部	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
	中部	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	(ND<0.3μg/g)
	西部	ND	2.8	ND	ND	ND	2.1	ND	
平成3年度平均値		ND	0.93	ND	ND	ND	0.70	ND	
昭和62年度平均値		ND	ND	ND	ND	ND	0.69	ND	ND
パラオキシン安息香酸 イソプロピル	東部	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
	中部	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	(ND<0.1μg/g)
	西部	0.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
平成3年度平均値		0.067	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
昭和62年度平均値		0.067	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
パラオキシン安息香酸 ブチル	東部	0.1	ND	ND	ND	ND	ND	0.3	
	中部	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.8	(ND<0.1μg/g)
	西部	0.2	ND	ND	ND	ND	ND	0.3	
平成3年度平均値		0.1	ND	ND	ND	ND	ND	0.47	
昭和62年度平均値		ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
パラオキシン安息香酸 イソブチル	東部	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
	中部	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	(ND<0.1μg/g)
	西部	0.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
平成3年度平均値		0.033	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
昭和62年度平均値		ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

表4 加工食品中の各種保存剤の食品群別1日摂取量 (mg/day)

品名	グループ名	1群	2群	3群	4群	5群	6群	7群	8群	総摂取量
ソルビン酸	東部	0.3	0.7	0.2	19.5	0.1	0.1	3.5		24.4
	中部	0.3	0.2	0.1	15.3	0.0	0.2	2.8		18.9
	西部	0.3	0.5	3.2	25.1	0.6	1.3	6.6		37.7
平成3年度平均値		0.3	0.5	1.2	20.0	0.2	0.5	4.3		27.0
昭和62年度平均値		0.0	0.454	0.569	27.9	0.135	0.441	5.33	0.415	35.2
デヒドロ酢酸	東部	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		0.0
	中部	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		0.0
	西部	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.1	0.0		0.4
平成3年度平均値		0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.03	0.0		0.13
昭和62年度平均値		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.034	0.0	0.0	0.034
パラオキシン安息香酸 イソプロピル	東部	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		0.0
	中部	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		0.0
	西部	0.070	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		0.07
平成3年度平均値		0.023	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		0.023
昭和62年度平均値		0.023	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.023
パラオキシン安息香酸 ブチル	東部	0.04	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.01		0.05
	中部	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.03		0.03
	西部	0.07	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.01		0.08
平成3年度平均値		0.037	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.017		0.054
昭和62年度平均値		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
パラオキシン安息香酸 イソブチル	東部	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		0.0
	中部	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		0.0
	西部	0.04	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		0.04
平成3年度平均値		0.013	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		0.013
昭和62年度平均値		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

しており、特にソルビン酸を使用している魚介乾製品、魚肉ねり製品、食肉製品等の喫食量が減少したためではないかと推定される。その他の群の摂取量は昭和62年度とはほぼ同じ値であった。1日摂取量を地域別にみると、西部グループが最も高く37.7mgと中部グループ18.9mgの2倍であり、昭和62年度とよく似た傾向を示した。

摂取量は、各群の平均値でみると第4群(20.0mg)が最も高く、ついで第7群(4.3mg)第3群(1.2mg)の順であった。1日総摂取量に対する各群の寄与率は、第4群74.1%、第7群15.9%、第3群4.4%であった。

ソルビン酸の1日総摂取量(27.0mg)を、体重50kgの人のADI(1,250mg/50kg/day)と比べてみると1/40以下であるので安全領域であるといえる。また、欧州で報告された推定摂取量<sup>6)</sup>と比較してみると、日本の摂取量の27.0mgは、西ドイツ10.1~76.9mg、フランス19.3~94.6mg、イタリア30.1~158.3mgとほぼ同程度の摂取量であった。

## ②デヒドロ酢酸

前回(昭和62年)で第6群の1試料のみから検出されたが、今回は第2群の1試料、第6群の1試料(いずれも西部グループ)から検出された。第2群(0.1mg)からの検出は菓子パン、第6群(0.03mg)はバター、マーガリン、チーズに由来するものと考えられる。

デヒドロ酢酸の今回の1日総摂取量は0.13mgであり、昭和57年度の摂取量0.191mg<sup>7)</sup>、昭和62年度の摂取量0.034mgのはほぼ中間の値であった。

摂取量は、各群の平均値でみると第2群(0.1mg)が最も高く、ついで第6群(0.03mg)であった。1日総摂取量に対する各群の寄与率は、第2群76.9%、第6群23.1%であった。

デヒドロ酢酸のADIはまだ定まっていないので、摂取量と比較することができなかった。

## ③パラオキシン安息香酸エステル類

パラオキシン安息香酸エチル及びプロピルエステルはすべての試料から検出しなかった。

パラオキシン安息香酸イソプロピルが検出されたのは、西部グループ第1群のみであり、昭和62年度と同じ結果であった。表示を調べると、濃口醤油と薄口醤油に使用の表示がありこれに由来すると考えられた。1日摂取量は、昭和62年度0.023mgに対して今回も同じ0.023mgであった。

パラオキシン安息香酸ブチルは第1群の2試料及び第7群の全試料から検出された。第1群は醤油に由来すると考えられるが、第7群は使用の表示は見当らず、恐らく

佃煮の製造工程に使用される醤油からのキャリーオーバーではないかと推定される。1日摂取量は0.054mgであった。

パラオキシン安息香酸イソブチルが検出されたのは、西部グループ第1群のみから検出された。これも醤油由来と考えられる。1日摂取量は0.013mgであった。

パラオキシン安息香酸エステル類の1日総摂取量は、昭和57年度の摂取量0.228mg<sup>7)</sup>、昭和62年度0.023mgに対して、今年度は0.09mgであった。摂取量は、各群の平均値でみると第1群(0.073mg)が最も高く、ついで第7群(0.017mg)の順であった。1日総摂取量に対する各群の寄与率は、第1群81.1%、第7群18.9%であった。

また、パラオキシン安息香酸エステル類の1日総摂取量(0.090mg)は、体重50kgの人のADI(500mg/50kg/day)と比べて著しく低かった。また、欧州で報告された推定摂取量<sup>6)</sup>と比較してみると、日本の摂取量の0.09mgは、西ドイツ1.3~5.3mg、イタリア2.8~10.0mgよりも低かった。

貴重な調査資料を提供して頂いた、佐藤稔(札幌市衛研)、三島靖子(仙台市衛研)、西島基弘(東京都衛研)、深澤喜延(山梨県公研)、宮川あし子(長野県公研)、山本勝彦(名古屋市衛研)、柴田正(国立衛試・大阪)、森田茂(大阪市環研)、後藤宗彦(島根県公研)、石橋正博(北九州市環研)、大城善昇(沖縄県公研)の諸氏に感謝します。

## 文 献

- 1) 日本薬学会衛生化学調査委員会編. 日本薬学会第111年会公衆衛生協議会資料, 1991: 6-8.
- 2) 西山良子, 田村行広, 井部明宏, 他. 食品中に生成するソルビン酸の異性体について. 衛生化学, 1991; 37: 89-96.
- 3) 寺田久屋, 久田和夫, 丸山吉正, 他. 高速液体クロマトグラフによる食品添加物に関する研究. 衛生化学, 1983; 29: 297-302.
- 4) 厚生省生活衛生局食品化学課編. 厚生省食品化学レポートシリーズ, 1990; 52: 97-102.
- 5) 厚生省生活衛生局食品化学課編. 食品中の食品添加物分析法, 1989: 25-32.
- 6) 豊田正武, 伊藤啓志男, 一色賢司, 他. 日本人の安息香酸, デヒドロ酢酸, プロピオン酸及びそれらの塩類ならびにパラオキシン安息香酸エステル類などの各種保存料の1日摂取量について. 日本栄養・食糧学会誌, 1983; 36: 467-480.
- 7) 厚生省生活衛生局食品化学課. 日本人の食品添加物1日摂取量実態調査研究. 1988: 51-53.