

マーケットバスケット方式によるグリチルリチン酸の摂取量調査 —2011年度—*

古謝あゆ子・佐久川さつき・國仲奈津子・高良武俊

Studies on the Daily Intakes of Glycyrrhizic Acid by Market Basket Method in FY 2011*

Ayuko KOJA, Satsuki SAKUGAWA, Natsuko KUNINAKA and Taketoshi TAKARA

要旨: 国立医薬品食品衛生研究所と5つの地方衛生研究所による共同研究「食品添加物の1日摂取量調査」の一環として、甘味料であるグリチルリチン酸の分析を行った。マーケットバスケット試料を分析した結果、1日摂取量は0.31 mg/人/日であった。

Abstract: Daily intakes of a sweetener, glycyrrhizic acid, were studied as a part of the collaborative researches, "studies on daily intakes of food additives", performed by the National Institute of Health Sciences and five local institutes of public health in fiscal year 2011. The market basket samples were analyzed and the daily intakes of glycyrrhizic acid were estimated as 0.31mg/man/day.

Key words: 食品添加物, Food additive, 甘味料, Sweetener, グリチルリチン酸, Glycyrrhizic acid, マーケットバスケット方式, Market basket method, 1日摂取量, Daily intake

I はじめに

マーケットバスケット方式による食品添加物の1日摂取量調査は、厚生省食品化学課、国立衛生試験所大阪支所が中心となって1981年度から継続実施されており、2000年度から2年間の中断を経た後、2002年度より、厚生労働省食品保健部基準課の事業として国立医薬品食品衛生研究所および複数の地方衛生研究所が参加して再開された。2011年度は食品リストが更新され、新リストによる甘味料の調査が行われた。沖縄県はグリチルリチン酸の分析を担当した。

グリチルリチン酸(図1)は甘草の根に含まれる成分であり、国内では指定添加物の甘味料グリチルリチン酸二ナトリウムとして、もしくは既存添加物の甘味料カンゾウ抽出物として食品に使用され、摂取されている。グリチルリチン酸の国内の1日摂取量について、当研究所で分析した結果を報告する。

食品群別試料の調製は、独立行政法人国立健康・栄養研究所のデータに基づき国立医薬品食品衛生研究所が作成した加工食品分別リストを元に行った。使用した食品数は189、製品の総数は286で、これを表1に示した7つの食品群に分類した。各群の食品は参加研究機関それぞれが地元で購入し、食品ごとに規定量を採取して1群はそのまま、2~7群は同量の水を加えて、ミキサーで食品群ごとに混合均一化し、プラスチック容器に小分け・冷凍し、各機関に凍結状態で送付した。試料購入の際、食品表示欄に調査対象添加物の記載がある製品については、混合用の他に、個別分析用も購入し、それぞれ担当機関に送付した。当研究所ではカンゾウ(甘草)の表示がある製品について、個別分析を行った。なお、個別試料の食品表示欄に、グリチルリチン酸と成分名で表記されたものはなかった。

II 方法

1. 参加研究機関

国立医薬品食品衛生研究所(東京)、札幌市衛生研究所、仙台市衛生研究所、香川県環境保健研究センター、長崎市保健環境試験所、沖縄県衛生環境研究所。以下地名で示す。

2. 試料

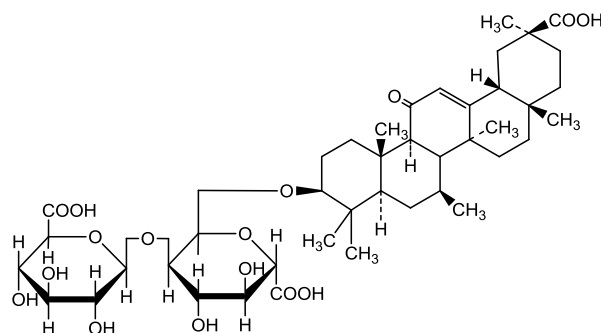


図1. グリチルリチン酸の構造式。

* 本研究は厚生労働省医薬局食品保健部食品添加物1日摂取量調査費によって実施した。

表1. 調査に用いた食品群の分類及び一日喫食量.

群番号	食品群名	食品数	品目数	一日喫食量(g)
1群	調味嗜好飲料	41	63	706.4
2群	穀類	27	40	120.3
3群	いも類	7	13	49.8
	豆類	16	18	74.6
	種実類	5	5	2.6
4群	魚介類	12	18	29.3
	肉類	4	8	11.6
	卵類	1	3	2.5
5群	油脂	9	11	13.4
	乳類	14	26	48.5
6群	砂糖類	4	4	2.5
	菓子類	23	51	27.4
7群	果実類	3	3	0.9
	野菜類	20	20	23.1
	海藻類	3	3	0.2
合計		189	286	1113.1

試料 5.0 g

(2~7群試料は希釈後重量, 味付けのりは1.0 g)

150 ml プラスチック遠沈管

1% アンモニア水 5 ml

ホモジナイズ(約1分)

2%アンモニア水・メタノール 20 ml

ホモジナイズ(3分)

2%アンモニア水・メタノールで50 mlに定容

ふたをして激しく手で振り混ぜる.

遠心分離(3000 rpm, 10分)

上清液10mlを正確に分取

アルミナカートリッジカラム

(メタノール10 mlで洗浄済)に負荷

2%アンモニア水・メタノールで10 mlで洗浄

減圧し, 空気を約一分間通気して

メタノールを除去

水10 mlで溶出

水で10 mlに定容

0.45 µmPTEFフィルターでろ過

試料液 HPLC で測定

表2. HPLC 測定条件.

機種: HP 1100 series DAD G1315A

カラム: Wakosil-II 5C18 HG (φ 4.6×150 mm)

カラム温度: 40°C

移動層: A液 アセトニトリル・メタノール混液(12:5)

B液 5%酢酸

A液・B液混液(53:47)

流速: 1.0 ml/分 測定波長: 254 nm 注入量: 10 µl

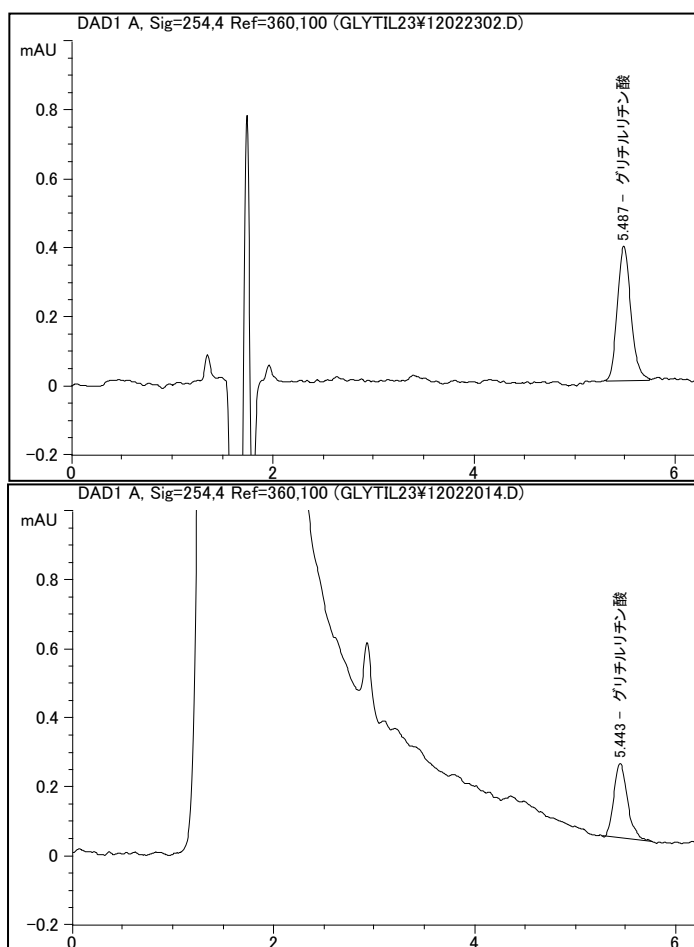


図3. グリチルリチン酸のクロマトグラム.

(上: 標準液 0.5 µg/ml, 下: 長崎1群)

図2. グリチルリチン酸分析フローチャート.

表3. グリチルリチン酸の添加回収率 (n=3) .

食品群	第1群	第2群	第3群	第4群	第5群	第6群	第7群	平均
	調味嗜好飲料	穀類	いも類・豆類・種実類	魚介類・肉類・卵類	油脂類・乳類	砂糖類・菓子類	果実類・野菜類・海藻類	
添加回収率(%)	99.7	90.9	97.8	100.9	88.1	90.1	99.8	95.3

3. 試薬

(1) 標準品

標準品は和光純薬製生薬試験用グリチルリチン酸標準品を用いた。また、標準品の入手が遅れたため、添加回収試験には、和光純薬製生化学用グリチルリチン酸二カリウムを用いた。

(2) 試薬等

アルミナカートリッジカラムは Waters 製 Sep-Pak Almina N Plus(1710 mg)を用いた。試薬は抽出精製過程では特級を、測定には、高速液体クロマトグラフ用を用いた。水は、カラムからの溶出および測定には高速液体クロマトグラフ用蒸留水を、抽出には RO 水を用いた。

4. 分析方法

抽出操作は玉那覇らの報告¹⁾、照屋らの報告²⁾および厚生労働省公定法³⁾を参考とした。ただし、予備試験において、一部試料で回収率が低くなったため、前処理法の検討を行い、一部を変更した。

分析方法のフローシートを図2に、分析条件を表2に、標準品および群別試料のクロマトグラムを図3に示した。なお、個別試料の味付けのりについては、検体が抽出溶媒を吸収し、ホモジナイズ操作ができなかったため、採取量を5.0 g から1.0 g に変更した。

Ⅲ 結果および考察

1. 前処理法の検討

グリチルリチン酸二ナトリウムの公定法では、10 g の試料を用い、20 ml の抽出溶媒でホモジナイズを行い、100 ml に定容を行い、遠心分離して上澄みを採り、アルミナカートリッジカラムで精製を行うことになっている。この方法では、抽出と定容と遠心分離で別々の容器を用いて、抽出液のみならず固体成分をも移し替えながら操作を行う必要がある。今回は、ほとんどの抽出操作をプラスチックの50 ml 遠沈管で行うことで操作を簡便化させるため、試料採取量を10 g から5.0 g に減らし、10 ml の抽出溶媒で抽出をおこない、遠沈管の目盛を用いて50 ml に定容を行った。

分析前に、食品群別試料に予備添加回収試験を行ったところ、5群で回収率が61.5%となった。原因としては、

アルミナカートリッジカラムによる精製段階での損失が考えられた。そこで、溶出後のカートリッジカラムにグリチルリチン酸が残存しているかどうかを確かめるため、5群精製に用いたカラムをさらに水10 ml で洗浄したが、洗浄液からグリチルリチン酸は検出されなかった。このことから、回収されなかったグリチルリチン酸は、カートリッジカラムに十分に吸着せず溶出操作前に流出しているものと考えられた。そこで、抽出液の負荷量を20 ml から10 ml に減らしたところ、回収率は78%に改善した。

また、抽出溶媒は、玉那覇および照屋の報告では2%アンモニア水・メタノール、公定法では1%アンモニア水・メタノールとなっている。そこで1群と5群でこの二つの抽出溶媒を比較したところ、ともに2%アンモニア水・メタノールの添加回収率が1%溶媒の回収率を2~3%ほど上回った。ただし、これは通常の回収率のばらつきの範囲内であり、顕著な差はないものと思われた。今回は、2%アンモニア水・メタノールを用いた。

2. 食品群別試料の添加回収率、定量下限値

各機関の食品群別試料から、甘草(カンゾウ)表記の個別試料を含まないものを食品群ごとに一つずつ選び、グリチルリチン酸の濃度がそれぞれ31 μg/g (1群のみ15.5 μg/g)になるように添加し、添加回収試験を行った(n=3)。添加回収試験の結果を表3に示した。

また、検出下限および定量下限を日本工業規格(JIS)高速液体クロマトグラフィー通則に従い、標準溶液の繰り返し注入により求めた。その結果、2~7群試料について検出下限1.4 μg/g、定量下限4.3 μg/g となり、1群および個別試料については、それぞれ0.7 μg/g、2.1 μg/g、個別試料のうち味付けのりについては3.6 μg/g、10.9 μg/g となった。

3. マーケットバスケット試料(食品群別試料)測定結果

食品群別試料の測定結果を表4に結果から求めた1日摂取量を表5に示した。グリチルリチン酸は、長崎1群からのみ定量下限以上検出され、含有量は2.6 μg/g であった。なお、長崎7群からも、痕跡量程度(1.4 μg/g 以上4.3 μg/g 未満)検出された。機関別・食品群別群別試料の含有量から求めたグリチルリチン酸の1日摂取量は0.31 mg/人/日となり、すべて1群からの摂取となった。

表4. 各機関別・群別グリチルリチン酸含有量 (µg/g). ND: 検出下限未満. tr: 痕跡量, 定量下限未満検出下限以上.

機関 (本文参照)	第1群 調味嗜好 飲料	第2群 穀類	第3群 いも類・豆 類・種実類	第4群 魚介類・ 肉類・卵類	第5群 油脂類・ 乳類	第6群 砂糖類・ 菓子類	第7群 果実類・野菜 類・海藻類
札幌	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
仙台	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
東京	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
香川	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
長崎	2.6	ND	ND	ND	ND	ND	tr
沖縄	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
平均値	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

表5. 各機関別・群別グリチルリチン酸1日総摂取量 (mg/人/日).

機関 (本文参照)	第1群 調味嗜好 飲料	第2群 穀類	第3群 いも類・豆 類・種実類	第4群 魚介類・ 肉類・卵類	第5群 油脂類・ 乳類	第6群 砂糖類・ 菓子類	第7群 果実類・野菜 類・海藻類	総摂取量
札幌	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
仙台	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
東京	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
香川	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
長崎	1.87	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.87
沖縄	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
平均値	0.31	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.31

表6. 甘草 (カンゾウ) の表示があった個別試料の分析結果.

機関名	食品群	食品	分析結果 (µg/g)
札幌	6群	ポテトチップス	4.0
仙台	7群	塩昆布	38.2
東京	2群	焼そばカップめん	ND
東京	6群	ポテトチップス	tr
東京	7群	味付けのり	73.7
香川	1群	しょうゆ	8.6
香川	3群	味噌	34.6
長崎	1群	ソース	8.6
長崎	1群	しょうゆ	51.4
長崎	1群	しょうゆ	80.8
長崎	1群	液体だし	66.6
長崎	7群	干し大根(たくあん漬)	32.1
沖縄	1群	ソース	49.0
沖縄	3群	味噌	28.3

4. 個別試料測定結果

個別試料の測定結果を表6に、個別試料から計算上求められる食品群別試料中のグリチルリチン酸含有量を表7に、結果から求めた1日摂取量を表8に示した。カンゾウ(甘草)表記の個別試料は14検体あり、うち12検体から定量下限以上のグリチルリチン酸が検出された。残りの検体のうち、東京6群のポテトチップスからは痕跡量程度(0.7 µg/g以上2.2 µg/g未満)のグリチルリチン酸が検出された。また、東京2群の焼きそばカップ麺は、内容物のうち、麺およびソースからはグリチルリチン酸が検出されず、かやくのクロマトグラムに微小ピークが観測されたが、検出下限(0.7 µg/g)を下回っていた。個別試料で最も含有量が高いのは、長崎1群のしょうゆ

で80.8 µg/g、次いで東京7群の味付けのりで73.7 µg/gであった。

個別試料から計算上求められるグリチルリチン酸の群別含有量は、食品群別試料分析から得られた値よりも高くなった。長崎7群は、個別試料から計算上求められる含有量が4.7 µg/gとなり、食品群別試料の分析結果である痕跡量程度(1.4 µg/g以上4.3 µg/g未満)をわずかに上回ったが、これは、製品のばらつきや、混合時の均一化が不十分であったことなどが原因であると思われる。その他の群別含有量については、個別試料から計算上求めた値が、食品群別試料の検出下限(1群: 1.4 µg/g, 2~7群: 2.2 µg/g)を下回った。

表7. 個別食品測定値から算出した各機関別・群別グリチルリチン酸含有量 (μg/g),
-: 対象となる個別食品がなかったもの.

機関 (本文参照)	第1群 調味嗜好 飲料	第2群 穀類	第3群 いも類・豆 類・種実類	第4群 魚介類・ 肉類・卵類	第5群 油脂類・ 乳類	第6群 砂糖類・ 菓子類	第7群 果実類・野菜 類・海藻類
札幌	-	-	-	-	-	0.06	-
仙台	-	-	-	-	-	-	0.07
東京	-	0.00	-	-	-	0.00	0.12
香川	0.07	-	1.10	-	-	-	-
長崎	2.73	-	-	-	-	-	4.66
沖縄	0.14	-	0.90	-	-	-	-
平均値	0.49	0.00	0.33	0.00	0.00	0.01	0.81

表8. 個別食品測定値から算出した各機関別・群別グリチルリチン酸一日総摂取量 (mg/人/日).
-: 対象となる個別食品がなかったため、摂取量が0mgとなるもの.

機関 (本文参照)	第1群 調味嗜好 飲料	第2群 穀類	第3群 いも類・豆 類・種実類	第4群 魚介類・ 肉類・卵類	第5群 油脂類・ 乳類	第6群 砂糖類・ 菓子類	第7群 果実類・野菜 類・海藻類	総摂取量
札幌	-	-	-	-	-	0.002	-	0.002
仙台	-	-	-	-	-	-	0.002	0.002
東京	-	0.000	-	-	-	0.000	0.003	0.003
香川	0.050	-	0.139	-	-	-	-	0.189
長崎	1.929	-	-	-	-	-	0.113	2.042
沖縄	0.097	-	0.114	-	-	-	-	0.210
平均値	0.346	0.000	0.042	0.000	0.000	0.000	0.020	0.408

個別試料から計算上求められるグリチルリチン酸の1日摂取量は、0.41 mg/人/日となり、食品群別試料分析から得られた1日摂取量0.31 mg/人/日よりも高くなった。これは食品群別試料で希釈されることにより、定量下限未達となった試料が多かったためと考えられる。

食品群別に見ると、グリチルリチン酸の1日摂取量は、1群が0.35 mg/人/日と最も高く、全体の85%を占めた。また、機関別では長崎県が2.04 mg/人/日と最も高く、次点の沖縄県0.21 mg/人/日の10倍近くとなった。

5. 年代別摂取量比較

グリチルリチン酸の計算上求められる年齢層別1日摂取量を図4に示す。グリチルリチン酸の摂取量は年齢が上がるにつれて増加し、20歳以上で最も高くなった。これは過去の調査でも見られた傾向であり、グリチルリチン酸が主にしょうゆやソース、味噌などの塩分の高い調味料に含まれることから、1日摂取量は年代別のこれらの調味料の喫食量を反映しているものと思われる。

6. 1日摂取量の推移

グリチルリチン酸の摂取量の推移(1999年以前のデータは文献⁴⁾より、食品群別試料のみ。)を図5に示す。グリチルリチン酸は2002年度以降、それ以前と比較して減少傾向にあった。今回求めた1日摂取量は、2006年度と比較して、若干高くなったが、これは購入する食品の選択によるものとも考えられ、2002年度以降、摂取量はほ

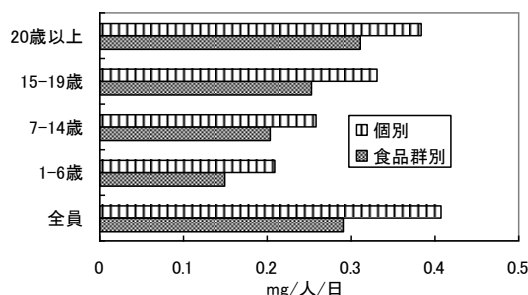


図4. グリチルリチン酸の1日摂取量年代別換算値.

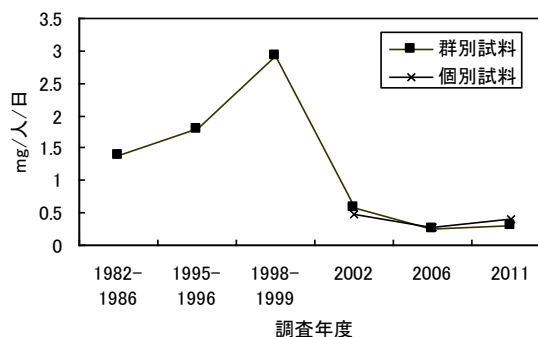


図5. グリチルリチン酸の1日摂取量の推移.
1999年以前のデータは群別試料のみ.

ば横ばいであると見られる。

IV まとめ

1. 食品群別試料において、グリチルリチン酸は長崎1群（調味嗜好飲料）のみから検出され、1日総摂取量は0.31 mg/人/日であった。
2. 個別試料において、グリチルリチン酸含有量の最も高い食品は長崎1群のしょうゆで、80.8 µg/g 含有していた。
3. 個別試料から求めたグリチルリチン酸の1日総摂取量は0.41 mg/人/日であり、食品群別試料から計算した値よりも高い値を示した。

V 参考文献

- 1) 玉那覇康二・大城直雅 (2003) マーケットバスケット方式によるグリチルリチン酸の摂取量調査. 沖縄県衛生環境研究所報 37 : 89-93.
- 2) 照屋菜津子・古謝あゆ子・大城直雅,・玉那覇康二 (2007) マーケットバスケット方式によるグリチルリチン酸の摂取量調査 (平成 18 年度). 沖縄県衛生環境研究所報 41 : 171-176 .
- 3) 厚生省生活衛生局食品化学課 (2000) 食品中の食品加物分析法について. 平成 12 年 3 月 30 日衛化第 15 号.
- 4) 食品添加物学会編(2001)各論 I マーケットバスケット調査対象食品添加物の摂取量. あなたが食べている食品添加物, 食品添加物協会, pp12-58.