

にした日本・米国との比較を行った。

日米欧共通し、使用量1位はVanillin、2位はMentholであった。Vanillinは使用する食品の範囲が広く甘さを表現する代表的な成分であるが、欧州では香料化合物の総使用量5249tのうち1448tと香料化合物使用量の実に4分の1以上を占めており集中度が他の地域と比べても際だって高いことから、数多くの食品に幅広く使用されていることがうかがわれる。一方、Mentholについては、米国での摂取量は他の地域の約2倍であった。

日本では Allyl isothiocyanate、4-Methyl-5-thiazoleethanol 及びそのエステル、また50位以内ではないものの p-Menta-1,8-dien-7-al (perillaldehyde) の使用順位が高かった。米国では Methyl salicylate、Benzaldehyde、Cinnamaldehyde、Stearic acid といった化合物が日本と比較して摂取量順位が高く、isopropyl-5-methylcyclohexancarboxamide の使用順位が高いのも米国の特徴になっている。

EUの摂取量上位の物質は TRANS-Anethole、4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone であった。以上のように、一部の化合物はそれぞれの食文化の特徴を反映した使用がされていることが確認された。

3) 日米欧三極で使用されている食品香料化合物の推定摂取量比較について

Table 6にまとめたように推定摂取量が100µg/人/日を超える品目は、日本では167品目(全品目中の11.5%)、米国では250品目(同23%)、欧州では197品目(同16.4%)であった。一方、JECFAの香料評価法判断樹において安全性に懸念なしと判断される推定摂取量1.5µg/人/日以下の品目数は、日本では768品目(全品目中の52.7%)、米国では492品目(同45.3%)、欧州では521品目(同43.3%)であった。この様に各地域で使用されている多くの食品香料化合物が少量で使用されており、特に日本でその傾向が顕著である実態が明らかになった。

4) 新規指定食品香料化合物の使用実態について
平成22年12月末までに新規指定された34品目

について、三極における使用量及び推定摂取量の比較を行い、また食品安全委員会の評価で使用した推定摂取量とNOAELとの比較を行った。

欧米において食品安全委員会評価時の推定摂取量を超えている品目はあるものの、NOAELと比較すると安全マージンが1000を下回るものはなく、また日本では推定摂取量を超えたものはなかった。

5) 指定作業中の国際汎用香料化合物の使用状況について

平成22年12月末時点で指定作業中の国際汎用香料化合物(20品)の欧米における使用状況を比較した。

Trimethylamine は主に米国で、DL-(3-Amino-3-carboxypropyl)dimethylsulfonium-chlorideは主にEUで盛んに使われていた。

6) 日本で使用できない香料化合物の使用状況について

欧米では香料化合物として使用されているが日本では使用できない品目(35品目)の使用状況についてまとめた。

2-Isopropyl-N,2,3-trimethylbutyramide や N-Ethyl-2-isopropyl-5-methylcyclohexane carboxamideなど、日本で類に分類できない物質も主要な香料化合物として米国で大量に使用されていることが明らかとなった。

7) 日本で使用している香料化合物のFEMA GRAS物質(FEMA物質)の割合について

平成23年度報告書において、我が国で使用している香料化合物の品目数を2045品目と報告したが、そのうちFEMA物質は1545品目で、全体の75.6%であった。ただし、MentholやPyrazine類など日本と米国で異性体の範囲が異なるため、コアリストからみた日本の使用品目数は1456品目になる。またFEMA物質の使用量は1249tで、総使用量1256tの99.4%を占めていた。FEMA以外の物質は500品目(24.4%)使用しているが、使用量は0.6%に過ぎない実態が明らかになった。また、500品目中、EU FLAVIS物質は253品目、6.3tであったので、日本独自で使用していると思

われる香料化合物は247品目、0.8tであった。このことは、海外での適合性も考慮に入れた香料開発が進められた結果であると推定される。

なお、日本の総使用量については昨年度報告したピペロナルの使用量に誤りがあったため、1264tから1256tに修正している。

C-4 諸外国の香料規制に関わる調査研究

調査（平成25年2月末）の結果、以下の国・地域について情報を収集することができた。

アジア・オセアニア：インド、インドネシア、韓国、シンガポール、タイ王国、台湾、中国、バングラデシュ、フィリピン、ベトナム、香港、マレーシア、モンゴル、オーストラリア・ニュージーランド

北米：アメリカ合衆国、カナダ

中南米：メキシコ、メルコスール

ヨーロッパ：EU、ロシア

中東・アフリカ：湾岸協力会議加盟国(GCC)、南アフリカ共和国

D. 考察

D-1 アルギン酸の定量法に関する研究

比色法による定量法の検討では、アルギン酸ナトリウムと、マンヌロン酸で感度が大きく異なり、単糖での発色が良いことが分かった。このことから、比色で定量する場合は、マンヌロン酸等の単糖ではなくアルギン酸ナトリウム等ポリマーの状態のものを標準品として、試料と同様に塩酸で加水分解を行った後定量することが望ましいと思われた。

アルギン酸カルシウムで30%程度の低い値が得られたが、これはアルギン酸カルシウムが不溶性であることが原因と考えられた。アルギン酸及びアルギン酸アンモニウムで規格値を超えてしまったことについては原因が不明である。HPLC法でグルロン酸及びマンヌロン酸含量の合計が低かった原因は、酸分解が不十分であったことが原因と考えられ、アルギン酸カルシウムで非常に低かったことは、酸分解が不十分であったことに加え、

比色法と同様、アルギン酸カルシウムが不溶性であることが原因と考えられた。

D-2 生産量統計調査を基にした食品添加物摂取量の推定に関わる研究

指定添加物の調査における回収数は562（回収率81.7%）で、回収率は過去の調査の平均回収率よりやや低い回収率となった。既存添加物の調査における回収数は前回調査を下回り、「製造・輸入あり」と回答した件数は前回調査の追加調査を含めた数に及ばないので、追加調査を行って精度を高める必要がある。全般に、企業再編あるいはOEM生産などが進行しており、また、輸入食品が増大しているので、適切な調査先を把握する努力が必要である。

D-3 食品香料化合物の使用量調査及び摂取量に関わる調査研究

1) 日米欧三極で使用されているコアリスト中の食品香料化合物の品目数と年間使用量

使用されている品目数及び総使用量の日欧米の比較結果は、日本人はあまり強い香りを好まず、繊細で微妙な組み合わせの調合品を嗜好することを示していると思われた。

日米欧三極同時の食品香料化合物使用量調査を集計整理した結果、世界の香料使用のほとんどを占める三極の2010年1年間に使用した香料化合物の総数量は約13202tであることが分かった。この結果は三極の消費人口7億5千万人を考えれば世界において香料は安全に使用されているといえる。

また、総使用量に対応する総使用化合物の数は約2100程度であり、近年は減少傾向にある。これは製剤技術の進歩や一部国際整合化が進んだ結果でもありと考えられるが、一方安全性に配慮してより慎重に香料化合物を選択している結果も影響しているものとも考えられる。

さらに、これら使用化合物の数は多いもののJECFAが採用している限界閾値1.5μg/人/日の摂取量以下で使用している化合物が世界においても

4割以上が占められていることから見ても香料は世界の中において安全に使用していることが裏付けられた。

2) 日米欧の使用量の多い上位50品目についての比較

日本ではAllyl isothiocyanate、4-Methyl-5-thiazoleethanol及びそのエステル、また50位以内ではないものの *p*-Menta-1,8-dien-7-al (perillaldehyde) の使用順位が高かった。Allyl isothiocyanateは日本人には古くから親しみのあるワサビ様の香気成分である。4-Methyl-5-thiazoleethanolとそのエステルは、日本では伝統的にミート系、ナッツ系やミルク系などの調合香料で使用されている。さらに *p*-Mentha-1,8-diene-7-alもまた日本人の嗜好が高いシソ様の香気成分である。

米国ではMethyl salicylate、Benzaldehyde、Cinnamaldehyde、Stearic acidといった化合物が日本と比較して摂取量順位が高い。冬緑油（ツツジ科ヒメコウジ精油）の香気成分であるMethyl salicylateは日本では貼布剤のイメージが強いが、米国ではルートビア、チューインガム、キャンディー等の加工食品で嗜好性が高い。Benzaldehydeはチェリー系の調合香料で汎用されている。Cinnamaldehydeも肉桂様の風味を与える香料としてガムへの使用が多い。さらにStearic acidは油脂の風味を出す香料化合物であり、油脂系を好むため、よく使用されるものと推察できる。また、近年清涼感を与える物質として新規に開発された *N*-Ethyl-2-isopropyl-5-methylcyclohexancarboxamideの使用順位が高いのも米国の特徴になっている。

EUの摂取量上位の物質は *TRANS*-Anethole、4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanoneであった。*TRANS*-Mentholはリコリスキャンディーやグミに多く使用されている。また、砂糖様の甘い香気を持つ4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanoneが欧州で13位とよく使用されていた。これは、4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanoneが砂糖様の甘い香気を持つところからVanillinや

Maltolと同様欧州人にはよく好まれるものと思われ、EUでは甘い風味への嗜好が高いことが浮き彫りになった。

3) 新規指定食品香料化合物の使用実態について

欧米において食品安全委員会評価時の推定摂取量を超えている品目はあるものの、NOAELと比較すると安全マージンが1000を下回るものはなく、また日本では推定摂取量を超えたものはなかったことから、現状においては安全性に懸念はないと考えられる。したがって新規指定香料は現時点での使用量において安全性に懸念が無いことが本調査により実証された。

D-4 諸外国の香料規制に関わる調査研究

1) 香料製品の表示

今回調査した約半数の国・地域で香料もしくは香料を含む食品添加物の表示基準を持ち、その内の約半数はCodex、日本とほぼ同じく、食品添加物であること、賞味期限、使用基準・使用方法、製造者名・住所等の表示項目を要求していた。Codexと同程度の要求項目を持つ国はEU、米国、中国のように自国で香料を製造している、もしくはメルコスール、ベトナムのように最近法整備を行った国々と考えられる。インドネシア、マレーシア、南アフリカ共和国のように法規制はあるが限定した項目のみを要求する国、シンガポールなど香料製品の表示に関する規定が見つからなかった国においては、香料の多くが企業間で取引される製品であること及び輸入品のため通常は輸出国側の表示があることがその理由として考えられる。

日本とCodexの表示項目を比較すると、Codexではフレーバーのクラス（合成、天然等）、及び香料の原産国に関する項目が含まれており、逆に日本では香料製剤の副剤の表示が求められている。

フレーバーのクラス（合成、天然等）に関する表示項目はインドネシア、EU、米国等多くの国々で要求されていた。最も詳細な情報を要求していたのはEU及びメルコスールで、天然香料、合成香料、スモークフレーバー、プロセスフレーバー等の表示が要求されていた。インドのように香料

製品の表示に関する規定はないが、加工食品の表示にそのような香料の情報が必要とされる場合も見られた。さらにインドネシアなどではフレーバーのクラスにネーチャーアイデンティカル(NI)が含まれていた。日本ではこのような天然、合成の区別に関する表示は認められていない。天然、合成等の区別は香料の安全性には関係がなく、世界的にも使用できる香料を科学的な安全性評価をベースにして決める方向に移行している。

香料製剤に副剤として使用された添加物の表示については、日本では要求されていたが Codex では要求されていなかった。この項目は香料の表示制度のあるほぼすべての国・地域で要求されており、表示することが国際標準であると考えられる。

2)香料を最終商品へ使用した場合の表示

最終食品での香料の表示を規定している国・地域がほとんどであり、調査対象国(地域)で規定していないのはモンゴル、バングラデシュのみであった。

最終食品への香料の表示は、基本的に一括表示であった。これは、香料の食品への使用量は微量であるが一般的に非常に多くの原料を使用するため、使用原料の全てを食品において表示することは表示面積上、極めて困難であることも一つの理由と考えられる。また個別に香料原料を表示しても消費者はその内容が十分に理解できない点にもある。

香料を天然、合成を区別できるように表示する国・地域もあったが、分類の方法は天然、合成の2分類の場合もあれば、さらに NI を加えた3分類の場合もあった。さらに米国では WONF など天然香料を分類する規則があり、EU においても同様の規則が定められている。一方で日本など香料成分の表示で「天然」或いは「Natural」等の表示が禁止されている国・地域、また表示の規則がない国・地域もあった。

最終食品における香料表示の目的は、消費者の選択に資する、或いは誤認を与えないためのものであり、クラス分類することが安全性のためとは考え難い。

3)アレルギー表示

日本では法的に表示義務品目と表示推奨品目に分かれているが、他国は中国を除いてすべて表示義務品目である。中国は推奨表示となっている。

各国・地域におけるアレルギー表示の調査では、日本及び調査した 22 の国・地域の中で 14 の国・地域にはアレルギー表示義務があり、対象品目が示されていた(インドは乳幼児用代替ミルクのみのため、対象としなかった)。

アレルギー対象品目としては卵、乳が 14 の国・地域で、グルテン含有穀類、ピーナッツ、魚類、大豆が 13 の国・地域で、ナッツ類が 12 の国・地域で、甲殻類が 11 の国・地域で、亜硫酸塩が 8 の国・地域で表示が必要なが分かった。

品目の詳細に関しては、国・地域で異なっていた。たとえばグルテン含有穀類についてみると、日本、アメリカ、韓国、南アフリカ共和国では小麦だけであるが、カナダでは小麦、ライ麦、オート麦、スペルト麦、及びその雑種、カムート小麦が対象となっている。また EU、中国等はグルテン含有穀類としており対象品目はカナダより多くなると思われる。

アレルギー対象品目を 13 項目(グルテン含有穀類、卵、乳、ピーナッツ、甲殻類、魚類、大豆、ナッツ類、そば、フルーツ、肉類、10mg/kg 以上の亜硫酸塩、その他)に分類し、国・地域を比較すると日本と韓国は 12 項目、EU、カナダ、オーストラリア・ニュージーランドが 10 項目、アメリカ、香港、インドネシア、シンガポール、メキシコ、南アフリカ共和国は 9 項目、中国は 8 項目、マレーシアは 7 項目、ロシアは 2 項目であった。

日本でアレルギー対象品目になっていない海外のアレルギー対象品目としては、トマト、ゴマ、セロリ、マスタード、ハウチワマメ、小麦以外の麦類、クルミ以外のナッツ類、イガイ・イシガイ類、貝類、軟体動物、蜂花粉、プロポリス、ローヤルゼリー等があった。

そばは日本と韓国のみで規制されていたが、他の国ではアレルギー症例が少ないためと思われるが表示対象とはなっていなかった。またフルーツ

を指定している国も日本と韓国のみで韓国は桃のみだが、日本はオレンジ、桃、キウイフルーツ、りんご、バナナと多い。加えて肉類を指定しているのも日本と韓国のみで、韓国は豚肉のみに対し、日本は牛肉、鶏肉、豚肉まで指定している。

以上のように、アレルギー表示に関しては、約6割の国・地域で規制されていたが、各国・地域における食生活の差が表示義務対象品目にも表れていた。また、規制している各国・地域の中でも我が国は最も規制が進んでいることが明らかとなった。

加工食品の交易量が増す中、世界各国で安全に食することができるように、少なくとも重篤な症状を起こすアレルギー物質については現在Codexで規定している以上の内容で国際的に統一して表示品目を設定するなどのルール作成が必要と考えられる。

4) GMO 表示

日本では、香料に対する表示の義務はない。食品については、5%以上かつ上位3品目の原材料について表示義務が課せられている。

海外を見てみると GMO 表示に関する規制がある国・地域は、調査した22の国・地域のうち11の国・地域であった。規制内容は、日本と同様に食品に対する表示規制と思われる国・地域が8の国・地域であり、明確に添加物に対してまで表示を求めている国・地域は、中国及びオーストラリア・ニュージーランド、EUの3の国・地域のみであった。

その規制内容をみると、中国に関しては、「遺伝子組換えの原材料あるいは食品を使用した場合、成分表に明示する。」とされている。また、オーストラリア・ニュージーランドでは、GMOを使用した添加物には「genetically modified」と表示することが求められている。EUでは添加物に関しても食品と同じ規定が適用されていた。

GMOについては一定量の混入が許容されることから、もともと添加量の小さい添加物にまでGMO表示を求めてもあまり意味がないことから、殆どの国・地域が添加物に対してまで表示の義務

付けを行っていないものと考えられる。

E. 結論

E-1 アルギン酸の定量法に関する研究

アルギン酸塩類の蒸留法（USP法を改変）による定量については、n=3の結果から、いずれも規格値に収まる結果が得られ、標準偏差も3.0%以下となり良好な精度が得られる方法であることが分かった。流通品についても蒸留法で定量し、規格値内に収まる含量が得られることが分かった。比色法による定量法については、アルギン酸ナトリウムと、マンヌロン酸で感度が大きく異なり、単糖での発色が良いことが分かった。このことから、比色で定量する場合は、マンヌロン酸等の単糖ではなくアルギン酸ナトリウム等ポリマーの状態のものを標準品として、試料と同様に塩酸で加水分解を行った後定量することが望ましいと思われた。また、アルギン酸カルシウムのように水に溶解できない試料については比色法は採用できないことが明らかとなった。一方、HPLC法では、グルロン酸及びマンヌロン酸を用いた定量法は、試料を完全に単糖まで、酸分解することは困難であるため、その含量は非常に低いものとなった。また、マンヌロン酸は試薬として入手可能であるが、グルロン酸が入手不可能であるため単離精製が必要であり、時間と労力が必要である。以上の結果から、アルギン酸塩類の含量規格値を求める方法として適用は難しいと考えられた。

E-2 生産量統計調査を基にした食品添加物摂取量の推定に関わる研究

指定添加物については再・追加調査を実施して、ほぼ調査活動を完了し、既存添加物については基礎的な情報を得た。

E-3 食品香料化合物の使用量調査及び摂取量に関わる調査研究

日本で使用された香料化合物の数は多いものの、その使用量は三極の中では一番少ないことが明らかとなった。また、各国・地域で使用が確認された化合物の推定摂取量からは、1.5 μ g/人/日（JECFA限界閾値）以下で使用している化合物の

割合が日本では約53%、米国約45%、欧州約43%であり、日本ばかりでなく世界的に見ても少量で使用されている化合物の多いことが確認された。

E-4 諸外国の香料規制に関わる調査研究

今回調査できた22の国・地域を見ると、香料の製品自体については約7割の国・地域が、加工食品の原材料としての香料表示については約9割の国・地域が何らかの法律により表示を規定していた。加工食品への表示については個別香料原料による表示を義務付けている国・地域は無く、規制している全ての国・地域は我が国と同様に一括名表示することを認めていることが分かった。このことから国際的にみても加工食品への香料表示については一括名表示が最も適した表示であるといえる。

アレルギー表示に関しては、約6割の国・地域

で規制されていた。

GMO表示に関しては、規制している国・地域でも食品添加物にまで表示を求めているところは少なかった。

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

【参考文献】

- 1) 川崎洋子ら, 食衛誌, Vol.39, 5, 297-302 (1998)
- 2) Matsumoto et. al. *Carbohydr.Res.*, Vol.358, 82-88 (2012)

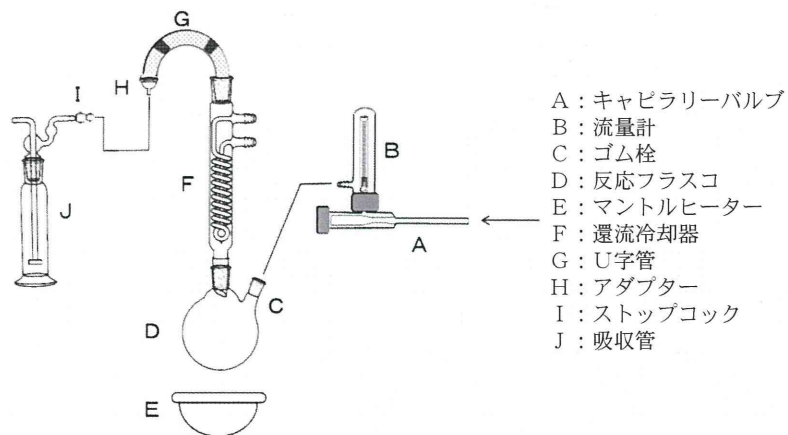


Fig.1 USP においてアルギン酸類定量に用いられる蒸留装置

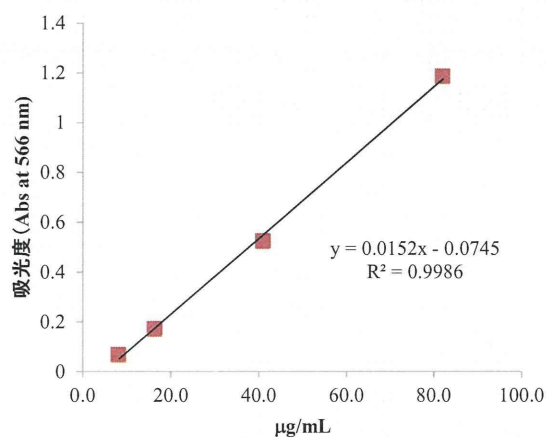


Fig. 2 ナフトレゾルシノール比色法によるアルギン酸 Na (含量 96.01%) の検量線

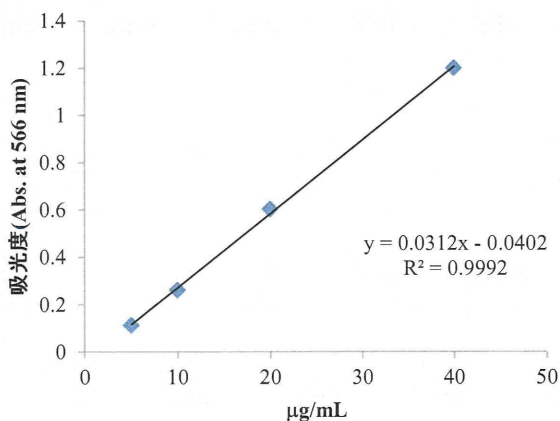


Fig. 3 ナフトレゾルシノール比色法によるマンヌロン酸の検量線

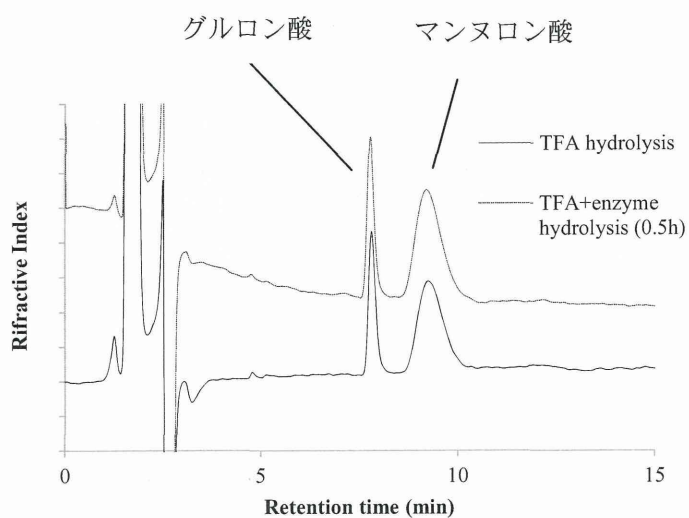


Fig. 4 アルギン酸ナトリウムの HPLC クロマトグラム
2.5M TFA6 時間処理後 0 時間 (実線), 2.5M TFA6 時間処理後,
0.5 時間酵素処理したもの (点線)

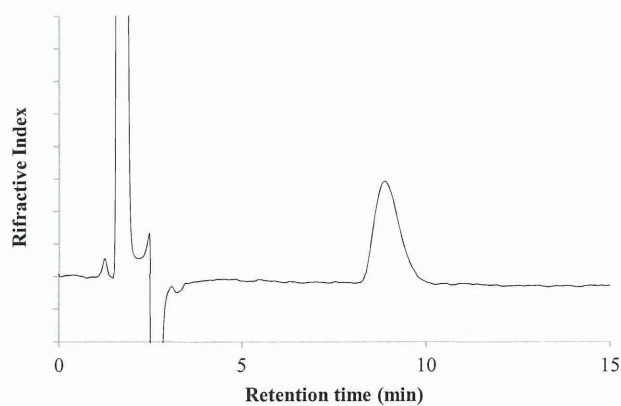


Fig. 5 マンヌロン酸の HPLC クロマトグラム (0.96 mg/mL 溶液)

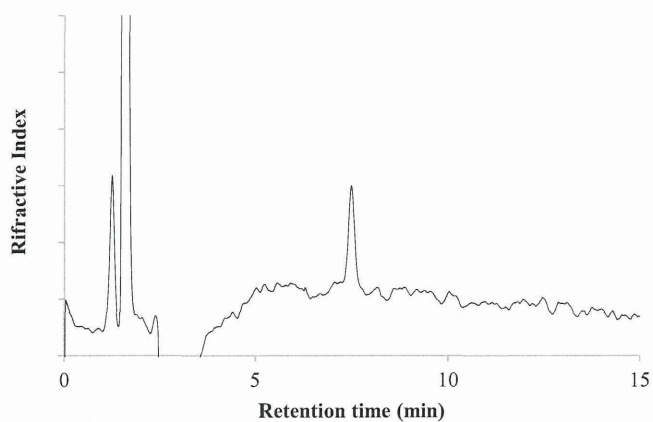


Fig. 6 グルロン酸の HPLC クロマトグラム (0.02 mg/mL 溶液)

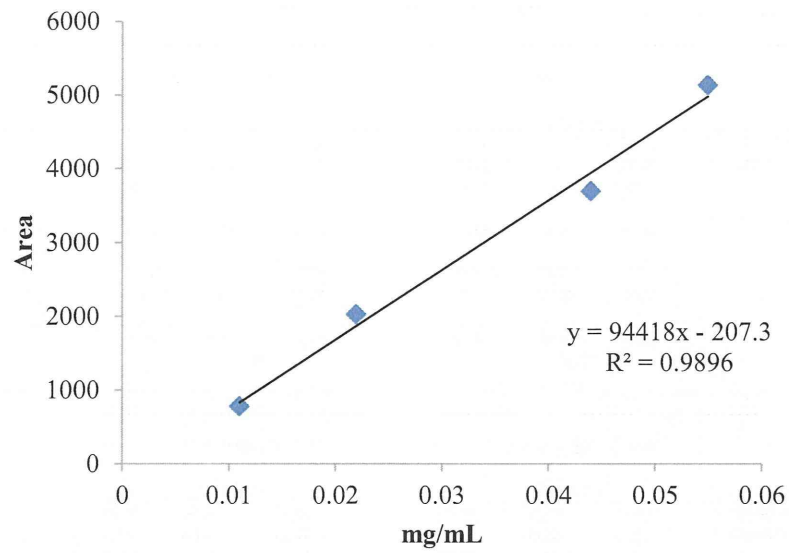


Fig. 7 HPLC クロマトグラムより得られたグルロン酸の検量線

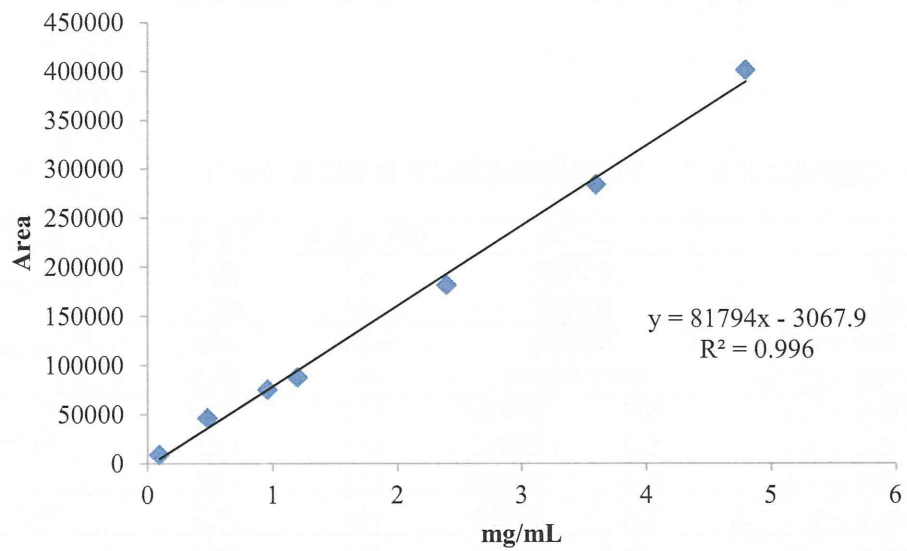


Fig. 8 HPLC クロマトグラムより得られたマンヌロン酸の検量線

Table 1 蒸留法によるアルギン酸塩類の定量結果 (n=3)

試料	アルギン酸			アルギン酸アンモニウム			アルギン酸カリウム		
Lot#	OK26201			OK26205			OK26203		
B1	空試験0.1NHCl消費量(mL)	60.95	60.95	60.95	60.95	60.95	60.95	60.95	60.95
Sa	試料の0.1NHCl消費量(mL)	38.95	38.1	41.28	41.05	41.75	43	43.7	43.35
f	0.1N塩酸のファクター	1.001	1.001	1.001	1.001	1.001	1.001	1.001	1.001
Eq	0.25NNaOH1mLあたりの当量(mg)	24.77	24.99	27.05	26.96	27.12	29.65	29.72	29.76
Sw	試料量(g)	0.2507	0.2517	0.253	0.2563	0.2525	0.2576	0.2537	0.2545
D	乾燥減量(%)	9.92	10.07	15.39	14.86	14.80	14.64	13.07	13.13
		96.61	101.01	99.51	98.46	96.91	96.91	93.08	94.87
含量 (%)		99.60		98.30			94.96		
S.D		2.6		1.3			1.9		

試料	アルギン酸カルシウム			アルギン酸ナトリウム		
Lot#	OK26204			OK26202		
B1	空試験0.1NHCl消費量(mL)	60.95	60.95	60.95	60.95	60.95
Sa	試料の0.1NHCl消費量(mL)	42.6	42.35	41.25	42.4	42.9
f	0.1N塩酸のファクター	1.001	1.001	1.001	1.001	1.001
Eq	0.25NNaOH1mLあたりの当量(mg)	27.24	27.23	27.59	27.65	27.55
Sw	試料量(g)	0.2589	0.2556	0.257	0.2533	0.2524
D	乾燥減量(%)	16.56	13.81	14.11	16.14	14.93
		92.64	92.04	98.61	96.69	92.73
含量 (%)		92.80		96.01		
S.D		0.9		3.0		

Table 2 蒸留法によるアルギン酸塩類流通品の定量結果 (n=1)

	Lot No.		乾燥減量 (%)	含量 (%)	含量規格値(%)
アルギン酸	2J26206		7.7	100.7	91.0~104.5%
アルギン酸	2J26207		9.7	102.7	
アルギン酸ナトリウム	2J25206		12.9	103.4	90.8~106.0%
アルギン酸ナトリウム	ABM0235000		8.7	98.9	
アルギン酸カリウム	K-3	2J26202	13.2	104.6	89.2~105.5%
アルギン酸カリウム	K-3	2J25209	13.5	102.4	
アルギン酸カリウム	K-3	2J25209	13.6	98.1	
アルギン酸アンモニウム	NH	2J26305	14.0	97.5	89.2~105.5%
アルギン酸カルシウム	CAW-80	2J2702	13.2	104.3	89.6~104.5%
アルギン酸カルシウム	CAW-80	2J2703	13.3	94.0	

Table 3 ナフトレゾルシノール比色法によるアルギン酸塩類の定量結果 (n=3)

			吸光度	mg/mL (Na塩とし)	換算(Na塩 →各塩へ)	含量(%)	平均含量 (%)	相対標準 偏差(%)
アルギン酸Na		smp-1	0.48	39.7	39.7	90.5	91.1	3.0
採取量(mg)	25.4	smp-2	0.47	38.7	38.7	88.3		
-乾燥減量(mg)	21.9	smp-3	0.50	41.3	41.3	94.3		
アルギン酸K		smp-1	0.46	38.2	41.0	93.4	95.0	1.8
採取量(mg)	25.4	smp-2	0.47	38.8	41.6	94.9		
-乾燥減量(mg)	21.9	smp-3	0.48	39.7	42.5	96.9		
アルギン酸NH ₄		smp-1	0.57	46.0	45.0	106.2	106.0	4.0
採取量(mg)	24.9	smp-2	0.60	47.6	46.5	109.9		
-乾燥減量(mg)	21.2	smp-3	0.55	44.2	43.2	102.0		
アルギン酸		smp-1	0.70	54.9	49.4	110.0	108.9	1.6
採取量(mg)	25.0	smp-2	0.68	53.5	48.1	107.1		
-乾燥減量(mg)	22.5	smp-3	0.70	54.8	49.3	109.7		
アルギン酸Ca		smp-1	0.12	15.1	14.9	34.6	38.1	3.1
採取量(mg)	25.2	smp-2	0.15	17.7	17.5	40.5		
-乾燥減量(mg)	21.5	smp-3	0.14	17.1	16.8	39.1		

Table 4 蒸留法及びナフトレゾルシノール比色法によるアルギン酸塩類含量(%)の比較

	蒸留法	比色法
アルギン酸Na	103.4	91.1
アルギン酸K	95.0	95.0
アルギン酸NH ₄	98.3	106.0
アルギン酸	99.6	108.9
アルギン酸Ca	92.8	38.1

Table 5 酸分解後（0時間）及び、酵素処理後（0.5時間、1時間後）でのグルロン酸及びマンヌロン酸含量（%）

		反応時間(h)		
		0	0.5	1
		含量(%)		
アルギン酸ナトリウム	グルロン酸	5.5	6.7	6.1
	マンヌロン酸	13.9	17.3	15.5
	合計	19.5	24.0	21.5
アルギン酸カリウム	グルロン酸	5.3	6.0	5.0
	マンヌロン酸	11.9	14.4	13.6
	合計	17.2	20.4	18.6
アルギン酸アンモニウム	グルロン酸	3.4	5.4	5.6
	マンヌロン酸	14.5	15.1	14.1
	合計	17.9	20.5	19.7
アルギン酸	グルロン酸	4.7	5.7	6.0
	マンヌロン酸	14.2	18.0	18.0
	合計	18.9	23.7	24.0
アルギン酸カルシウム	グルロン酸	3.6	4.2	2.7
	マンヌロン酸	0.7	0.8	0.5
	合計	4.3	5.0	3.3

Table 6 日米欧三極で使用されている食品香料化合物の推定摂取量

推定摂取量 [µg/人/日]	品目数			占有率(%)			累積占有率(%)		
	日本	米国	欧州	日本	米国	欧州	日本	米国	欧州
$X \leq 0.01$	174	117	95	12.0%	10.8%	7.9%	12.0%	10.8%	7.9%
$0.01 < X \leq 0.1$	228	136	140	15.7%	12.5%	11.6%	27.6%	23.3%	19.5%
$0.1 < X \leq 1$	308	203	239	21.2%	18.7%	19.9%	48.8%	42.0%	39.4%
$1 < X \leq 1.5$	58	36	47	4.0%	3.3%	3.9%	52.7%	45.3%	43.3%
$1.5 < X \leq 10$	264	144	265	18.1%	13.3%	21.8%	70.9%	58.6%	65.2%
$10 < X \leq 100$	257	199	223	17.7%	18.3%	18.5%	88.5%	77.0%	83.7%
$100 < X \leq 1,000$	109	175	127	7.5%	16.1%	10.5%	96.0%	93.1%	94.3%
$1,000 < X \leq 10,000$	52	59	61	3.6%	5.4%	5.1%	99.6%	98.5%	99.3%
$10,000 < X \leq 100,000$	6	16	7	0.4%	1.5%	0.6%	100.0%	100.0%	99.9%
$100,000 < X$	0	0	1	0.0%	0.0%	0.1%			100.0%

食品添加物の規格基準向上のための赤外スペクトルに関する調査研究

研究分担者 北村陽二 国立大学法人金沢大学学際科学実験センター准教授

研究要旨 食品添加物の規格基準の向上を目的として、食品添加物の確認試験に国際的に多用されている赤外スペクトル（IR）法について、近年普及しつつあるATR法の確認試験への利用の可能性を検討した。その結果、測定中の液体試料の揮発や、固体試料の場合、すりつぶしの有無によってスペクトルが変化する可能性があることを明らかにした。従って、再現性に優れたATR法といえども、ATR法を添加物への確認試験に利用するためには、品目毎に測定条件を調査し、ATR法での測定条件と標準IRの確立が必要であると結論した。

A. 研究目的

赤外スペクトル（以下IRと略する）法は、その簡便性と確実性から、有機・無機化合物を問わず、国際的にも各種化合物の確認試験に汎用されている。また、IR測定用機器の普及が進み、波数再現性のよいフーリエ変換型（FT）分光器なども安価に市販され、4000～600あるいは4000～400 cm^{-1} の領域のIRを簡便に測定できるようになっている。さらに、IR法はほとんど試薬を必要としないため、有機溶媒などを多用する化学的な確認試験法に比べ、有機溶媒などの廃棄量も少なく、自然環境に影響を与えない優れた確認試験法であると考えられる。このような背景のもと、IR法が各種食品添加物の確認試験にも多用され、食の安全に寄与している。一方、減衰全反射法（Attenuated Total Reflection；ATR法）は、現在では公定書には規定されていないが、その測定の簡便さと再現性の良さから、近年急速に普及しつつある。そこで、本研究では、食品添加物等の国内規格の向上などを目的にして、ATR法によるIRの確認試験への利用の可能性を検討した。測定試料と

しては、液体試料としてピロリジン、固体試料としてバニリン及びケイ皮酸を取り上げ、ATR法によるIR測定法を検討した。

B. 研究方法

ピロリジンはWako社製の市販品を用いた。バニリン及びケイ皮酸は、日本香料工業会より提供を受けた。流動パラフィン、メルク社製の赤外用Nujol®を使用した。これらの試料について、ATR法、液膜法によりIRを測定した。

本研究で測定に用いた装置は、JASCO FT/IR-4100（日本分光社製）である。液膜法、の測定は、分解能4 cm^{-1} （32回繰り返し）、測定領域4000～400 cm^{-1} で行なった。測定には、原則として、大きさ30～35 mm×30～35 mm、厚さ5 mmのKBr板を窓板として使用した。なお、対照にはこのKBr板を使用した。ATR法の測定には、前述の赤外分光光度計に、ダイヤモンドプリズム一回反射ATR装置（日本分光社製）を装着した装置を用い、分解能2 cm^{-1} （積算回数96回）、測定領域4000～500 cm^{-1} で測定を行なった。

C. 研究結果

1. ピロリジンの測定に関する検討

ピロリジンは、吸湿しやすく、揮発性も高いため、液膜法で、素早く測定する必要があることを、これまでに報告した。このように測定すれば、水分の影響のないIR (図1) が得られる。一方、ATR法は、液体試料の場合、プリズム上に試料をのせるだけで簡便に測定出来るが、液膜法のように、窓板に挟まれておらず、外気にさらされた状態で測定することになるため、測定中に吸湿や揮発などを生じる可能性がある。この点を確認するため、ATR法での測定を行った。

まず、プリズム上にピロリジンをのせただけでの測定を行った。その結果、測定後には試料がほとんど残っておらず、測定中に揮発したと考えられ、得られたスペクトルは図2のように、図1とは全く異なっていた。次に、測定機器に付属している、粉体試料用の試料押さえヘッドを試料に近づけ、液柱を作ることで、常にプリズム上に試料が載っている状態を作ることを試みたが(図3)、測定中に揮発し、図4のように、図1とは全く異なるスペクトルとなった。そこで、測定機器に付属している揮発防止カバーを用いて測定を行った(図5)。揮発防止カバー本体は金属製のため、測定中の状態を観察することが出来なかったが、測定後に観察すると、揮発防止カバーのゴムパッキン部分がピロリジンにより一部溶解し(図6)、得られたスペクトル(図7)も、図1とは全く異なっていた。そこで、薬品耐性の強いシリコンシートを用い、液溜めの自作を試みた。すなわち、ステージ上にのる程度の大きさに切り取ったシリコンシートに直径約5 mmの穴を空け、プリズムがその穴に入るように設置した(図8)。ピロリジンを穴に入れプリズムを覆うようにして測定を行ったが、測定後には揮発しており、図9のように、図1と全く異なるスペクトルとなった。そこで、カバーガラスを載せることで、揮発を防止すること

を試みたが(図10)、密閉度が十分でなかったためか、測定後にはピロリジンの液量が減り、プリズムが一部露出していた。得られたスペクトルは、図11のように、図1と類似のスペクトルであったが、ピーク強度が低かった。また、プリズム上にピロリジンを多めに載せ、KBr板を載せることで揮発防止することも試みた(図12)。その結果、図13のように、図1と類似のスペクトルが得られたが、プリズムがステージよりも飛び出した構造になっているところにKBr板を載せているため、プリズムが傷つく恐れがある。そこで、HPLCのオートサンプラーで少量の試料を測定する際に用いるガラス製のバイアルインサートにピロリジンを入れ、素早く逆向きに載せ、試料でプリズムを完全に覆う状態にして測定した(図14)。その結果、測定後もプリズム上にピロリジンが残っており、図15のように、図1と類似のスペクトルが得られ、他の方法よりも強いピークを持つスペクトルが得られた。ATRスペクトルは本来縦軸を吸光度(Abs)表示するため、図15のスペクトルの縦軸をAbsにし(図16)、Sigma-Aldrich社のSpectral Viewerに収載されているピロリジンのATRスペクトル(図17)と比較すると、一致した。これらの結果は、ATR法でピロリジンを測定する際には、揮発を防止することが必須であり、揮発防止のための器具の材質にも注意する必要があることを示している。

2. 固体試料の測定に関する検討

ATR法では、プリズムと試料が接している面で反射する際に赤外光のもぐり込みが生じ、そのときの試料の赤外光の吸収を測定することで、スペクトルが得られる。従って、ATR法においては、プリズムと試料が接している面積も重要となってくる。液体試料では、試料がプリズムを覆っていれば、接する面積は一定であると考えられるが、固体試料の場合、粒子径によって、接する面積が異なってくる可能性がある。そこで、固体粉末試料として、バニリン、ケイ皮酸

を取り上げ、すりつぶしによって細かい粉末にした場合の変化について検討を行った。

2-1. バニリンの測定に関する検討

まず、バニリン粉末試料を、そのままプリズムにのせ、試料押さえヘッドを用いて測定を行った。その結果、図18に示すスペクトルが得られた。次に、バニリンを瑪瑙乳鉢ですりつぶし、より細かい粉末にしてプリズムにのせ、試料押さえヘッドを用いて測定を行い、図19に示すスペクトルを得た。この両者のスペクトルを比較すると、 1586 cm^{-1} 付近と 1428 cm^{-1} 付近のピーク強度、及び、 731 cm^{-1} 付近と 631 cm^{-1} 付近のピーク強度が逆転していた（図では赤線丸囲いで表示）。

2-2. ケイ皮酸の測定に関する検討

ケイ皮酸粉末試料を、そのままプリズムにのせ、試料押さえヘッドを用いて測定を行った。その結果、図20に示すスペクトルが得られた。次に、ケイ皮酸を瑪瑙乳鉢ですりつぶし、より細かい粉末にしてプリズムにのせ、試料押さえヘッドを用いて測定を行い、図21に示すスペクトルを得た。この両者のスペクトルを比較すると、 1280 cm^{-1} 付近と 1220 cm^{-1} 付近のピーク強度が逆転していた（図では赤線丸囲いで表示）。このピーク強度の逆転が、試料すりつぶしの際の吸湿によるものかを確かめるため、ケイ皮酸粉末試料に、まずNujolを添加し、表面を覆った後、瑪瑙乳鉢ですりつぶして測定を行った。その結果、図22に示すスペクトルが得られ、Nujolを加えずにすりつぶした図21と同様のスペクトルであった。この結果は、すりつぶしによるピーク強度の逆転は、吸湿によるものではないことを示している。

D. 考察

本研究では、食品添加物等の国内規格の向上などを目的にして、ATR法によるIRの確認試験への利用の可能性を検討した。測定試料として

は、液体試料としてピロリジンを、固体試料としてバニリン及びケイ皮酸を取り上げ、ATR法によるIR測定法を検討した。

ATR法は、原理的に光路長が短いため、試料厚さの影響を受けず、その特性はプリズムと隙間の生じない液体試料において、最大限に発揮される。従って、一般に、液体試料での再現性は非常に優れている。しかし、今回取り上げたピロリジンは、揮発性が高いため、測定途中にプリズム上から揮発する可能性がある。実際に、揮発を防止せずに測定すると、測定終了後にはプリズム上にピロリジンはほとんど残っておらず、液膜法で測定したスペクトルとは大きく異なるスペクトルとなった。測定機器の付属品である揮発防止カバーを用いても、測定終了後には、ゴムパッキンがピロリジンにより一部溶解し、液膜法でのスペクトルとは大きく異なっていた。そこで、揮発を防止する種々の工夫を行ったところ、HPLC用のガラス製バイアルインサートを用いて、プリズムが常にピロリジンで覆われている状態にすれば、本来のスペクトルが得られることが明らかとなった。これらの結果は、ATR法でピロリジンを測定する際には、揮発を防止することが必須であり、揮発防止のための器具の材質にも注意する必要があることを示している。

また、固体試料についての検討も行った。ATR法では、プリズムと試料が接している面で反射する際に赤外光のもぐり込みが生じ、そのときの試料の赤外光の吸収を測定することで、スペクトルが得られる。従って、ATR法においては、プリズムと試料が接している面積も重要となってくる。液体試料では、試料がプリズムを覆っていれば、接する面積は一定であると考えられるが、固体試料の場合、粒子径によって、接する面積が異なってくる可能性がある。そこで、固体粉末試料として、バニリン、ケイ皮酸を取り上げ、すりつぶしによって細かい粉末にした場合の変化について検討を行った。その結果、いずれの試料においても、すりつぶしによ

って、ピーク強度が逆転する箇所があることが分かった。試料にNujolを添加し、表面が外気に触れないようにしてすりつぶして測定しても変化が見られなかったことから、この変化はすりつぶしの際の吸湿ではないと考えられる。今後、この原因について詳細に検討していく必要がある。

E. 結論

食品添加物の規格基準の向上を目的として、食品添加物の確認試験に国際的に多用されている赤外スペクトル（IR）法について、近年普及しつつあるATR法の確認試験への利用の可能性を検討した。その結果、測定中の液体試料の揮発や、固体試料の場合、すりつぶしの有無によってスペクトルが変化する可能性があるといった問題点があることを明らかにした。従って、

再現性に優れたATR法といえども、ATR法を添加物への確認試験に利用するためには、品目毎に測定条件を調査し、ATR法での測定条件と標準IRの確立が必要であると結論した。

F. 研究発表

学会発表（1件）

北村陽二、佐藤恭子、小川数馬、小阪孝史、Mohammad A. AZIM、鵜野いずみ、三輪大輔、西村成美、畠中香奈芽、斎藤 寛、柴 和弘：確認試験の赤外スペクトル測定におけるATR法の適用に関する検討、日本薬学会 第133年会、横浜（2013.3）

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

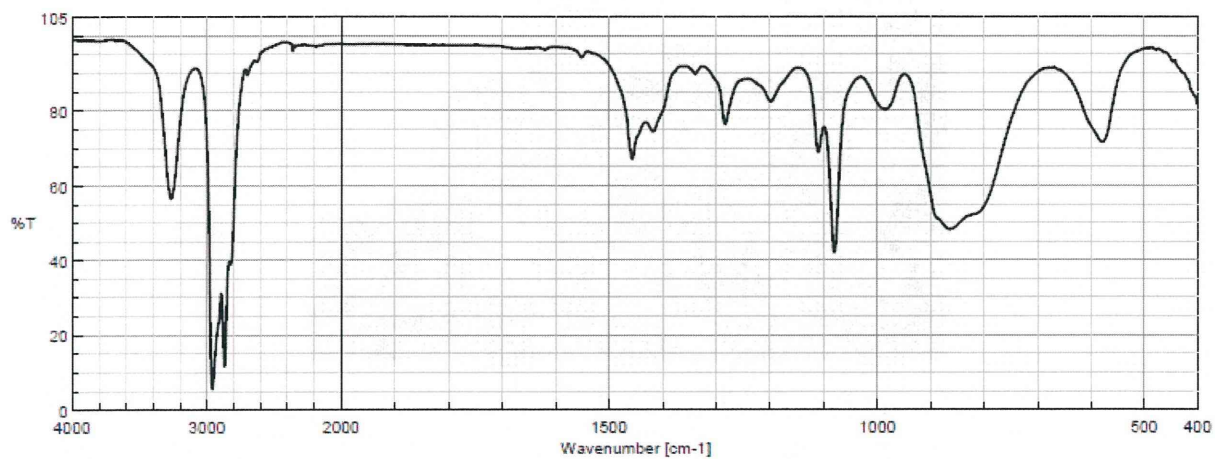


図 1. ピロリジン (液膜法)

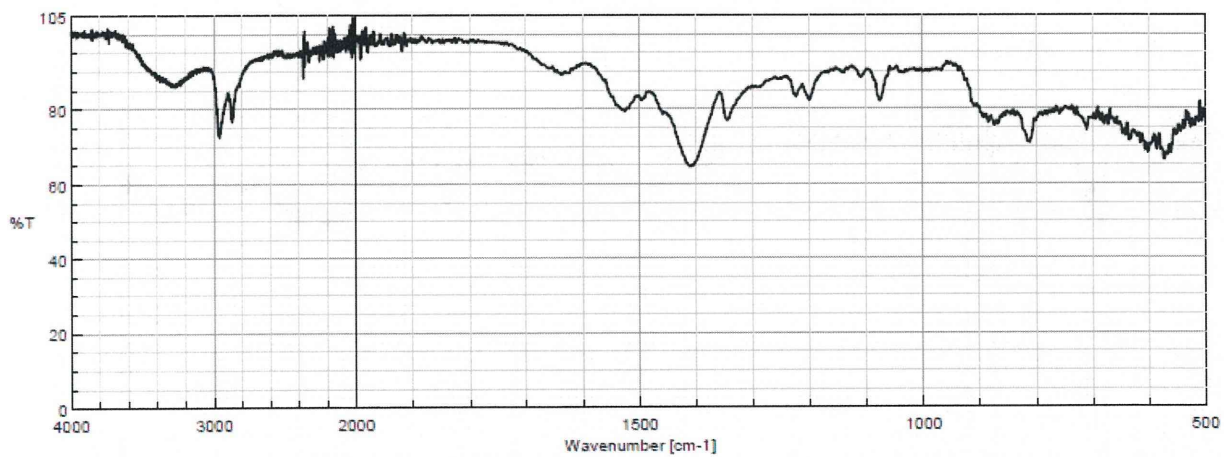


図 2. ピロリジン (ATR 法)

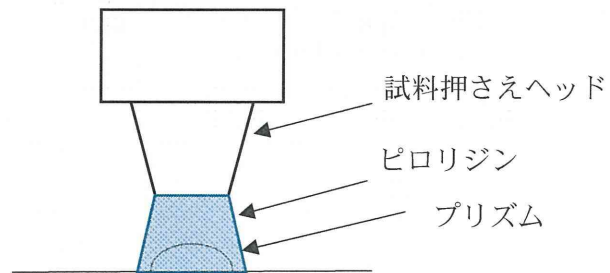
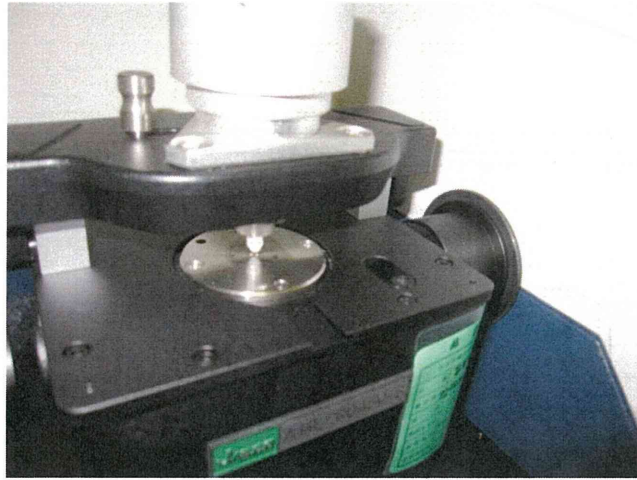


図 3. 試料押さえヘッドによる液体試料の液柱作製の写真及び模式図

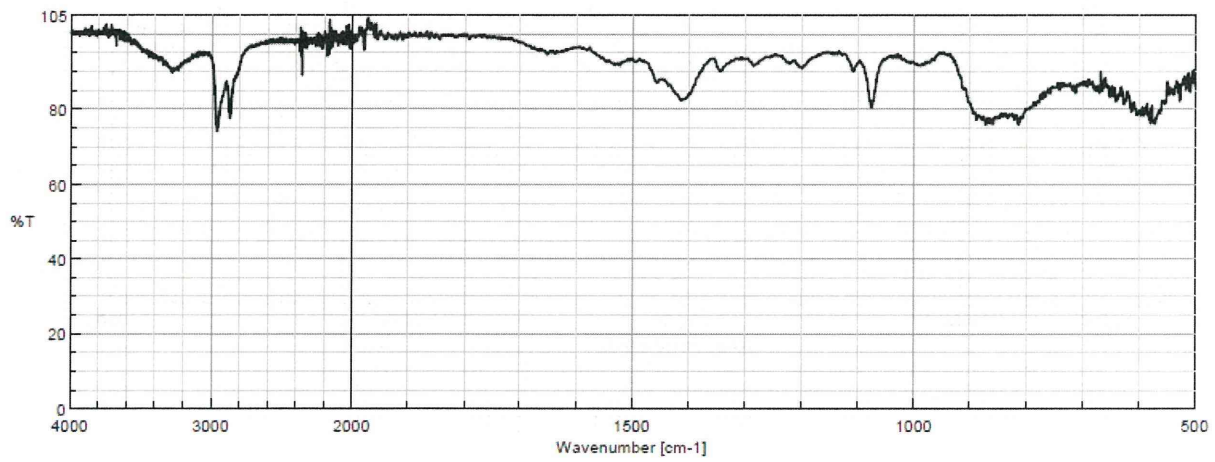


図 4. ピロリジン 液柱 (ATR 法)

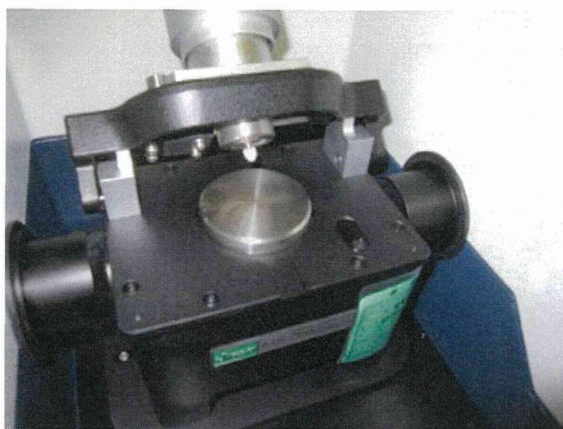


図5. 揮発防止カバー取付時の写真

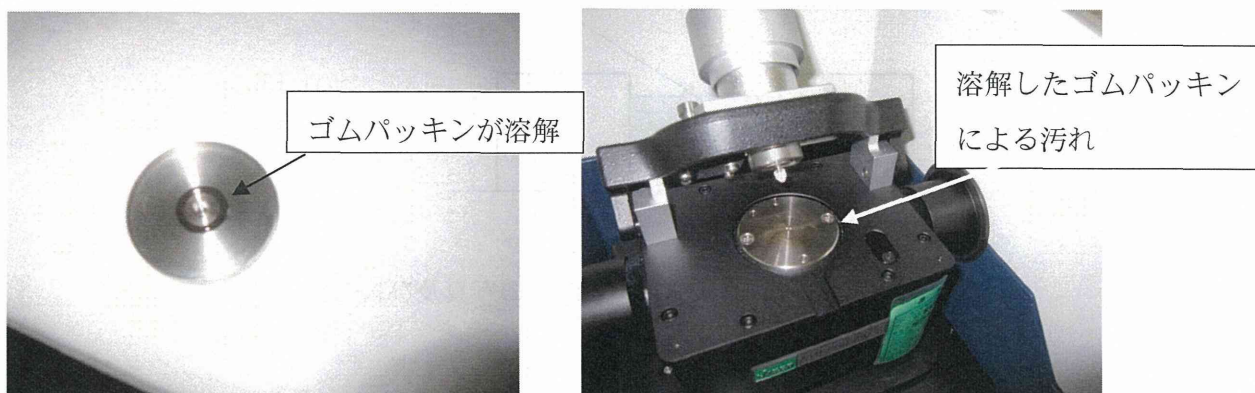


図6. ピロリジン測定後の揮発防止カバーと試料ステージ

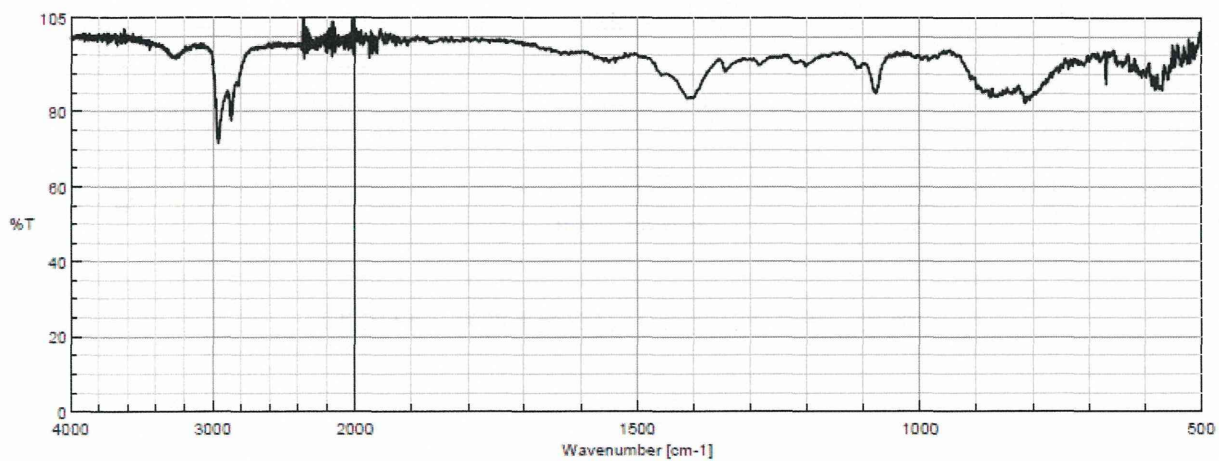


図7. ピロリジン 揮発防止カバー (ATR 法)

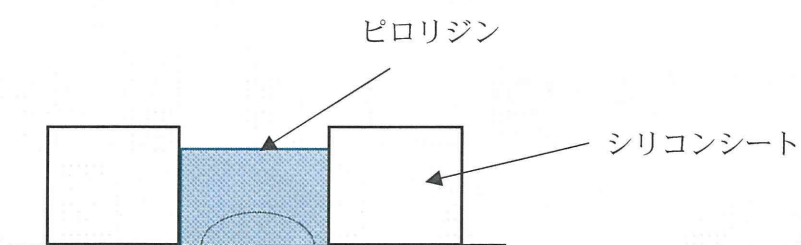
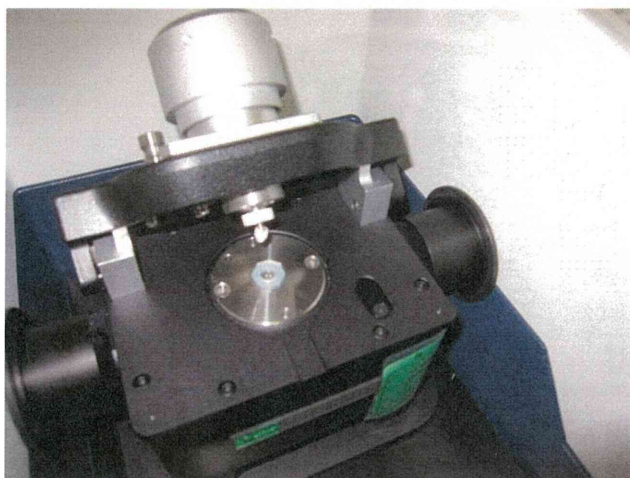


図 8. 自作シリコンシート製液溜めの写真及び模式図

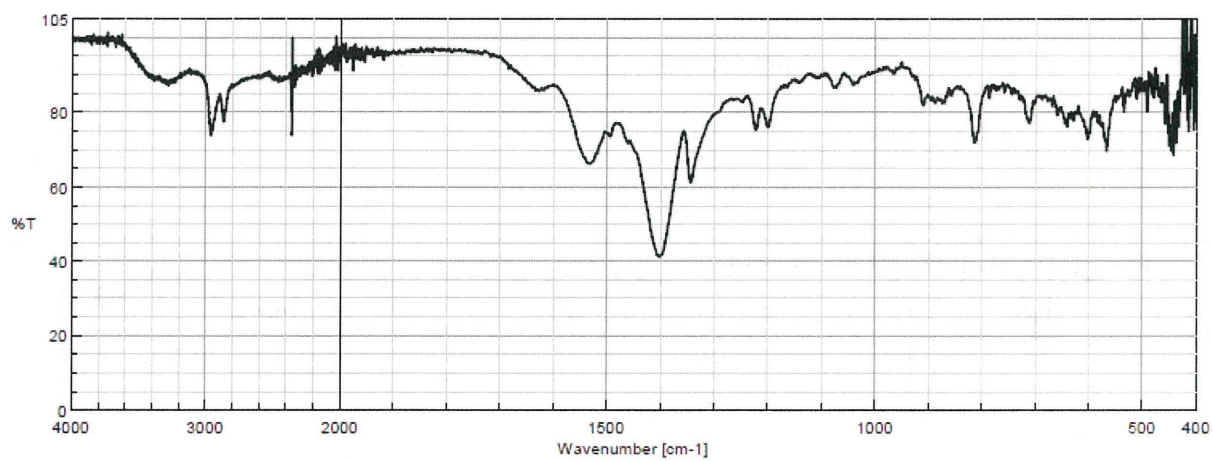


図 9. ピロリジン シリコン製液溜め (ATR 法)