

201327025A

201327025A

厚生労働科学研究費補助金
食品の安全確保推進研究事業

食品添加物の規格試験法の向上及び摂取量推定等に関する研究
平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 佐藤 恭子

平成26（2014）年 5月

目 次

I. 総括研究報告	
食品添加物の規格試験法の向上及び摂取量推定等に関する研究	1
佐藤恭子	
II. 分担研究報告	
1. 食品添加物規格試験法の向上と使用実態の把握等	
香料化合物規格の国際整合化並びに天然香料の使用量調査に関わる調査研究	
食品添加物の生産量統計調査を基にした摂取量の推定に関わる研究	21
佐藤 恭子	
2. 食品添加物の規格試験法向上のための赤外スペクトルに関する調査研究	69
北村 陽二	
3. 定量NMR法による定量用標準物質の純度分析法の確立	93
大槻 崇	
4. ICP-MS等を用いた食品添加物中の鉛分析法に関する研究	101
建部 千絵	
5. 日本独自の香料化合物についての遺伝毒性評価予測システムの研究	111
山田 雅巳	
6. 食品添加物の食品中における消長と副生成物に関する研究	119
久保田浩樹	
(資料) 香料化合物規格の国際整合化に係わる調査研究	
我が国で使用している天然香料の使用量調査に関わる調査研究	
食品添加物の生産量統計調査を基にした摂取量の推定に関わる研究	

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

平成 25 年度総括研究報告書

食品添加物の規格試験法の向上及び摂取量推定等に関する研究

研究代表者 佐藤 恭子 国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部第一室長

研究要旨 食品添加物の安全確保には、その品質と適正な使用を欠かすことはできない。食品添加物の品質の担保には、成分規格、試験法の向上及び摂取量等使用実態の把握が重要であることから、本研究では、成分規格及び試験法に関する研究、摂取量の推定、遺伝毒性評価予測システムの研究、食品添加物の食品中における消長と副生成物に関する研究を行った。

香料化合物規格の国際整合化に関わる調査研究：食糧農業機関/世界保健機関合同食品添加物専門家会議（JECFA）規格の検証のため、自主規格とJECFA規格のある1,068品目について両規格を比較検討したところ、979品目で違いが見られた。不一致の原因としては、数値が異なる事例の他、JECFAの規格設定の根拠に問題がある事例や許容幅や測定条件に問題があると思われる事例が存在した。今後、数値異常の修正だけでなく、これらの規格項目の妥当性や条件の統一に関しても検討が必要である。

我が国で使用している天然香料の使用量調査に関わる調査研究：天然香料の使用量調査の方法を検討するために、代表的な12物質を選定し、平成24年の使用量につき予備調査を行った。調査対象12品目、18社という限定的な調査ではあるが、その集計結果が香料化合物全体の使用量を上回ったことから、食品香料には香料化合物より天然香料の方が多く使われている実態が数値的にも明らかになった。その一方で、天然香料の使用量調査には、解決すべき多くの困難があることが明らかになった。

食品添加物の生産量統計調査を基にした摂取量の推定に関わる研究：指定添加物に関しては、第10回調査として、平成22年度の製造数量等のアンケート調査を元に、各食品添加物について国民1人が1日に摂取する量を推定し、許容一日摂取量との比較を行った。また、使用基準のある発色剤3品目及び酸化防止剤2品目を対象に、輸入食品中の食品添加物含有量推定を行った。既存添加物等に関しては、第5回の調査として、平成23年度の製造・輸入量のアンケート調査を実施、回答内容を集計した。

食品添加物の規格試験法向上のための赤外スペクトルに関する調査研究：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、ATR法の確認試験への利用の可能性を検討した。その結果、吸湿性が極めて高く、試料調製時の取り扱いの難しい化合物には、ATR法が非常に有効であること、また、ATR法でも、化合物の物性によっては測定中に相変化が生じることがあるため、ATR法を添加物への確認試験に利用するためには、品目

毎に測定条件を検討し、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。

定量 NMR 法による定量用標準物質の純度分析法の確立：食品添加物の規格試験法の精度向上を目指した研究の一環として、国際単位系へのトレーサビリティが確保された絶対定量法である定量 NMR を用いたグルタミンバリルグリシンの定量分析に関する検討を行った。その結果、定量 NMR 法は本化合物の分析において良好な分析精度を有することが明らかとなった。

ICP-MS 等を用いた食品添加物中の鉛分析法に関する研究：食品添加物用無機塩類（1価の陽イオンを含む）について、親水性メタクリレートを母体としたイミノ二酢酸基を導入した固相カートリッジを用いた鉛の抽出法の検討を行なった。塩化物、酢酸塩または硝酸塩では良好な回収率が得られた。硫酸ナトリウムでは塩酸(1→4)溶液を加えての加熱操作を加えることにより良好な回収率が得られた。よって、本法は、溶媒抽出法の代替法として有用な方法であると考えられた。

日本独自の香料化合物についての遺伝毒性評価予測システムの研究：126 の香料について、構造活性相関の予測と簡易 Ames 試験の結果を精査したところ、72 物質は試験結果どおりに予測していたが、12 物質は FAT の陽性結果を陰性と予測していた。今後、香料評価に対して SAR が効率よく働くようにするためには、香料に特化したカスタマイズが有効と思われる。

食品添加物の食品中における消長と副生成物に関する研究：希釈過酸化ベンゾイルを添加した小麦粉を用いてパンを焼成したときに副次的に生成するベンゼンの暴露影響を調査するため、ダイナミックヘッドスペースーガスクロマトグラフ質量分析計を用いて分析を行った。パンからは微量のベンゼンが検出されたが、推計された過酸化ベンゾイルを添加したパン及び菓子パンからのベンゼンの経口暴露量は、20 歳以上における一人当たりの耐容一日摂取量を大きく下回ることが確かめられた。

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
山田 雅巳	国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部第一室長
久保田浩樹	国立医薬品食品衛生研究所 主任研究官
大槻 崇	国立医薬品食品衛生研究所 主任研究官
建部 千絵	国立医薬品食品衛生研究所 主任研究官

A. 研究目的

食品添加物の安全確保には、その品質と適正な使用を欠かすことはできない。食品添加物の品質を担保するために重要なのが食品添加物の規格とその試験法である。また、食品添加物の適正な使用のためには、摂取量推計等使用実態の把握が重要となる。そこで、本研究では以下の研究を行った。

A-1 食品添加物規格試験法の向上と使用実態の把握等

1) 香料化合物規格の国際整合化に関わる調査研究

香料化合物の規格は、製品中の不純物の基準というだけでなく、製品の同一性を確認する上でも重要な要素である。日本国内で流通している食品香料化合物は、平成18年度の厚生労働科学研究での調査によると2,164品目であるが、そのほとんどは18項目の類又は誘導體として指定されており、食品添加物としての成分規格が定められているものは129品目のみである。それ以外の食品香料化合物については、規格の実態調査と集約を行い(平成16~21年度厚生労働科学研究)、自主的な規格として日本香料工業会ホームページに公開されている(以下自主規格)。国際汎用香料化合物の規格設定及び第9版食品添加物公定書改正作業においては、JECFA規格を参考にし、香料化合物の規格値が実測され、いくつかのJECFA規格は香料化合物の実態を反映していないことが確認された。また、国際食品香料工業協会(IOFI)では、JECFA規格を参照して自国の規格とする国がある点及び日本とEUからのJECFA規格の間違いの指摘に対応するため、国際的に使用量の多い化合物を優先し、規格値及び名称、CAS番号等の調査を開始した。それらを踏まえ、流通している香料化合物の規格値に関する実態調査を行い、JECFA規格の検証を行うこととした。本年度は、まず自主規格とJECFA規格を比較し、規格値の実測による調査が必要な品目を抽出するとともに、先行してIOFIで調査対象としている品目について、国内の流通品の実測値を収集し、JECFA規格の検証を行った。

2) 天然香料の使用量調査に関わる調査研究

天然香料は香料化合物とならぶ香料素材であることから、使用量の把握は困難さを考

慮しても必要であると考えられるため、使用量調査の実施を検討することにした。本研究は、どのような基原物質の天然香料がどのくらい使用されているのかを調査することで、使用量の多いものを把握して、将来的に安全性の検討を視野に入れた詳細な使用量調査を行うための基礎データとなると思われる。天然香料の使用量調査は非常に困難を伴うことが予想されたため、本年度はまず使用量調査の方法について調査研究するため、予備調査を行った。

3) 食品添加物の生産量統計調査を基にした摂取量の推定に関わる研究

食の安全性確保のため、日常生活における指定添加物1品目毎の摂取量の把握及び許容一日摂取量(ADI)との比較を目的として、生産量統計調査を基にした指定添加物の摂取量の推定を継続した(第10回)。わが国における指定添加物の製造・輸出入事業者を主対象に、平成22年度の製造数量等のアンケート調査を元に、平成22年度中の食品添加物グレードの取り扱いに関するアンケート調査を基に、国民1人あたり一日品目別摂取量を求めた。また、食品添加物の摂取量調査を実施する上で、輸入食品からの摂取量は重要と考えられることから、輸入食品中の食品添加物量を推定するための調査を行った。既存添加物等については、個々の品目毎では量的に小さいものが多く、市販の既存添加物には一定純度とする規格がないものもあり、同一名称で生産・輸入の出荷を調査してもその積算は成分量として意味をなさない場合もあるが、出荷量の実態を把握することを目的とし、平成23年度の製造・輸入量のアンケート調査を実施した(第5回)。

A-2 食品添加物の規格試験法向上のための赤外スペクトルに関する調査研究

IR 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。IR 法はほとんど試薬を必要としないため、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 法は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 of 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。

A-3 定量 NMR 法による定量用標準物質の純度分析法の確立

食品添加物は、その安全性を担保する品質確保の目的で、食品衛生法第 11 条第 1 項に基づき、成分規格や使用基準などが設定されている。成分規格には、原則として含量とその分析法が定められている。同分析では、HPLC 等が使用されることが多く、純度が正確な定量用標品が必要となり、食品添加物の品質確保の観点から、信頼性の高い純度分析法の確立が急務である。

近年、国際単位系 (SI) へのトレーサビリティが確保された絶対定量法として定量 NMR (quantitative NMR ; qNMR) が注目を集めている。NMR は原子核を対象に測定を行っているため、これら 2 つの化合物は同一の化学構造である必要はない。従って、計

量的に正確な純度が付与された SI にトレーサブルな標品すなわち認証標準物質を内標準物質として用いることにより、内標準物質と測定対象化合物のシグナル面積強度比、水素数、秤量濃度の関係から、様々な測定対象化合物の含量や純度を求めることが可能である。また、本法は試料を正確に秤量して溶媒に溶解させるのみで測定が可能であることや使用する溶媒量は 1 検体あたり 2 mL 以下であることなど、簡便性、迅速性、環境負荷の低減の面でも優れている。このように、本法は極めて汎用性の高い分析法であり、得られる定量値の信頼性、国際整合性も確保されていると言える。そこで本研究では、食品添加物の規格試験法の精度向上を目指した研究の一環として、グルタミルバリルグリシンを対象とした qHNMR の有効性に関する検討を行った。

A-4 ICP-MS 等を用いた食品添加物中の鉛分析法に関する研究

塩類を多量に含む食品添加物においては、原子吸光光度計による分析でイオン化干渉が起こり、鉛の分析が困難となるため、これらの陽イオンを取り除くことが必要とされる。多量の陽イオンが含まれる試料からの鉛の抽出方法としては、ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム (APDC) 溶媒抽出法や、イオン交換樹脂法等が採用されているが、より簡便な方法で、良好な分析環境で試験でき、目的元素への選択性が高い方法が望まれている。

近年、食品、河川、海水及び尿中の微量金属の分析に親水性メタクリレートを母体としたイミノ二酢酸基を導入した固相カートリッジを用いた方法が報告されている。そこ

で、本研究では、食品添加物の内、1価の陽イオンの無機塩類、特に1価の陽イオンを多量に含む食品添加物を対象としについて、食品添加物の鉛試験法の前処理として固相カートリッジの利用が可能かどうか検討したので報告する。

A-5 日本独自の香料化合物についての遺伝毒性評価予測システムの研究

食品添加物の安全性確保の一環として、わが国独自香料の規格の向上が重要と考え、そのための適切な安全性評価を目指す。本研究では、構造活性相関手法(SAR)を基にした遺伝毒性予測システムの研究を通して効率的かつ有効なアプローチを検討する。今年度は、SARモデルによる予測と簡易Ames試験を実施した126化合物の結果について、SARモデルの予測性、予測結果の組合せの検討などを実施し、SARモデルによる予測が香料評価により有効に使われるための方法を考察した。

A-6 食品添加物の食品中における消長と副生成物に関する研究

希釈過酸化ベンゾイルは、小麦粉改良剤として用いられる過酸化ベンゾイル(BPO)を含む食品添加物製剤であり、小麦粉に含まれるカロテノイドの漂白分解に利用される。BPOは工業的には加熱により、開裂して2つのベンゼンカルボキシルラジカルとなり、さらに二酸化炭素が脱離して、フェニルラジカルを生成するため、ポリマーの重合開始剤として合成に利用されている。しかし、BPOとフタル酸からなる硬化剤を加熱するとベンゼンが生成するとの報告がある。小麦粉に添加されたBPOは、時間経過とともに安息

香酸に分解することが知られているが、ベンゼン生成について調査した研究報告はない。本研究では、食品の安全確保推進の研究調査の一環として、BPOを含む小麦粉を用いて小麦粉加工食品を作成したときに、食品中に副次的に生成するベンゼンの暴露影響を明らかとするため、ダイナミックヘッドスペースガスクロマトグラフ質量分析計(DHS-GC/MS)を用いて分析を行う。初年度は、小麦粉加工食品の中で喫食量が多いパンに着目し、BPO添加小麦粉を用いて作成したパン中のベンゼン残留量を調べた。さらに、この調査結果を用いてパン及び菓子パンからのベンゼン暴露量を推計し、評価値との比較を行ったので報告する。

B. 研究方法

B-1 食品添加物規格試験法の向上と使用実態の把握等

1) 香料化合物規格の国際統合化に関わる調査研究

以下の方法で規格に問題を持つ可能性のある品目を抽出し、問題点を整理した。

(1) JECFA規格と自主規格の比較

- ・ JECFA規格と自主規格の双方にある香料化合物の抽出
- ・ 抽出された香料化合物の各規格項目の比較
- ・ 流通品の実測を行う必要があると思われる品目の抽出

(2) 国際的に使用量の多い品目の流通実態調査及びJECFA規格との比較

- ・ 品目の特定
- ・ 規格に関する実測値の収集のための調査票の検討及び調査の実施
- ・ 調査結果の集計と各規格項目の比較
- ・ 詳細な調査を行う必要があると思われる項

目の抽出

2) 天然香料の使用量調査に関わる調査研究

(1) 調査

調査票：各基原物質毎に作成した。種類、部位、製法、fold（濃縮倍率）使用量、備考の回答欄を設け、回答の便宜をはかり、なるべく統一性をもたせることを目的に、種類～fold はプルダウンで選択できるように設定した。

調査対象会社：日本香料工業会食品香料委員会委員会社 18 社

調査対象項目：平成 24 年 1～12 月の年間使用量（天然香料の形態、採取部位、製法、濃縮度別）

調査対象品目：「食品添加物 香料」、「食品添加物 香料製剤」、「食品添加物 香料複合製剤」及び「食品」に直接使用したオレンジ、バニラ、コーヒー、シナモン、ペパーミント、リンゴ、コショウ、タマネギ、バター、ハチミツ、タマゴ、エビを基原物質とする 12 の天然香料

調査対象範囲：日本で飲食に供する加工食品に使用されている天然香料とし、医薬品類、タバコ製品、口腔衛生用品(歯磨き等)、洗剤、ペットフード及び香粧品(フレグランス)の用途は除いた。

調査方法：作成した調査票及び入力説明書を E-mail で調査対象会社に配信し、返信にて回答を得た。

回答期間：平成 25 年 9～10 月

(2) 回答の集計

得られた回答につき、疑問が認められた点につき当該回答会社に問い合わせを行い修正した後、基原物質ごとに集計作業を行った。

(3) 調査方法の検証及び再検討

予備調査の結果をもとに、調査方法の問題点を抽出し、2 年目に実施する使用量実態調査のための方法を再検討した。

3) 食品添加物の生産量統計調査を基にした摂取量の推定に関わる研究

(1) 指定添加物の摂取量調査

調査法：アンケート方式

調査対象年度：平成 22 年 4 月から 23 年 3 月までの 1 年間

調査対象：指定添加物 413 品目

調査内容：製造及び輸入した品目名

①総供給量 製造量及び輸入量

②総出荷量 食品向け、輸出、食品以外の用途。

調査対象製造所：日本国内の食品添加物製造事業者・輸入販売事業者（689 事業者）（前回比較 151 事業者増）。

(2) 輸入食品中の食品添加物

① 使用したデータ

含有量推定の調査対象食品添加物：使用基準のある発色剤の亜硝酸ナトリウム、硝酸カリウム、硝酸ナトリウム、酸化防止剤のエチレンジアミン四酢酸カルシウム二ナトリウム、エチレンジアミン四酢酸二ナトリウムの 5 種類

食品添加物及び対象食品添加物を含有する食品の輸入量データ：厚生労働省統計資料（平成 22 年 4 月 1 日から平成 24 年 3 月 31 日）

輸入食品データ：輸入食品監視統計（平成 22 年 4 月 1 日から平成 24 年 3 月 31 日）

② 輸入加工食品中の食品添加物含有量の推定

上記 5 種類の食品添加物を使用している

として検疫所に届出られた加工食品を抽出し、その中から各々の添加物の使用基準を基に、使用基準のある加工食品を抽出し、それらの食品での含有量を推定した。なお、届出時には食品添加物の含有量の記載が無いため、今回の調査においても、前回と同様に含有量は基準値の50%量として計算を行った。

(3) 既存添加物の製造・輸入量調査

調査法：アンケート方式

調査対象時期：平成23年4月から24年3月までの1年間あるいは平成23年を過半日数含む1年間

調査対象企業：平成21年に実施された第4回調査の回答状況を基に、既存添加物等の製造・輸入の可能性のあった企業453社
調査対象添加物

- ①「既存添加物名簿収載品目リスト」に収載されている全品目381品目
- ②「一般に食品として飲食に供されているものであって添加物として使用される品目リスト」のうち、第8版食品添加物公定書で成分規格が定められている品目、品名に「色素」を含む品目、その他（一般飲食物添加物名番号一覧表記載品目）、合わせて53品目（①、②合計434品目）

記載要求事項

- a) 製造・輸入を行っているものの品名
 - b) 製造・輸入の区別
 - c) 製造・輸入の数量（換算単位が記載してあるものについては換算した数値）
 - d) 換算単位が明示されていない品目にあってはその純度
 - e) 用途（食品/非食品）別出荷量、輸出量
- 調査の留意点

リストが公表されて17年が経過し、成分規格が定められているものが増加したが、未

設定のものも依然多い。これらについては純度など量的基準を明確に記入してもらうよう留意した。

B-2 食品添加物の規格試験法向上のための赤外スペクトルに関する調査研究

ポリビニルピロリドン (PVP) 類及びポリソルベート類について、KBr法、ペースト法、液膜法、薄膜法及びATR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、薄膜法、ペースト法の測定は、分解能 4 cm^{-1} (32回繰り返す)、測定領域 $4000\sim 500\text{ cm}^{-1}$ で行なった。測定には、原則として、大きさ $30\sim 35\text{ mm}\times 30\sim 35\text{ mm}$ 、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。KBr法については、KBr錠剤 (直径 10 mm) を作成し、測定時の対照にはKBrのみの錠剤を使用した。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 4 cm^{-1} (積算回数96回)、測定領域 $4000\sim 500\text{ cm}^{-1}$ で測定を行なった。

B-3 定量 NMR 法による定量用標準物質の純度分析法の確立

1) NMR 分析 (シグナルの帰属)

グルタミルバリングリシン約 10.0 mg を量りとり、 D_2O 約 0.75 mL に溶解し、各種 NMR 測定 (^1H NMR, ^{13}C NMR, ^1H - ^1H COSY, HMQC, HMBC) を行った。

2) qHNMR による定量

グルタミルバリングリシン約 20 mg 及び DSS- d_6 約 4 mg に D_2O 2 mL を加えて溶解し、qHNMR 測定を行った。DSS- d_6 のシグ

ナル面積強度を 9.00 としたときのグルタミルバリルグリシンに由来するそれぞれの特定基のシグナル面積強度、分子量、濃度等を下記の式に代入し、グルタミルバリルグリシン含量 (C_{GL}, %) を算出した。

$$C_{GL} = \frac{I_{GL}/H_{GL}}{I_{DSS}/H_{DSS}} \times \frac{M_{GL}/W_{GL}}{M_{DSS}/W_{DSS}} \times 100$$

ただし、I_{GL}、I_{DSS} はグルタミルバリルグリシン及び DSS-d₆ のシグナル面積強度 (DSS-d₆: 9.00), H_{GL}、H_{DSS} はグルタミルバリルグリシン及び DSS-d₆ の特定基の水素数 (DSS-d₆: CH₃×3=9), M_{GL}、M_{DSS} はグルタミルバリルグリシン及び DSS-d₆ の分子量 (グルタミルバリルグリシン: 303.31, DSS-d₆: 224.36), W_{GL}、W_{DSS} はグルタミルバリルグリシン及び DSS-d₆ の秤取量 (mg) である。

3) qHNMR 測定条件及びデータの解析

qHNMR 測定の基本条件を表 1 に示した。

表1 qHNMR測定条件

Spectrometer	JEOL JNM-ECA600
Probe	5 mm broadband autotune probe
Spectral width	20 ppm (-5~15 ppm)
Auto filter	on (eight times)
Acquisition time	4 s
Flip angle	90°
Pulse delay	60 s
Scan times	8
Spining	off
¹³ C decoupling	multi-pulse decoupling with phase and frequency switching (MPF-8)
Probe temperature	30°C

得られた FID データは、フーリエ変換 (Windows 関数: exponential function BF=0.12 Hz, zero filling=1, trapezoidal

function T1=T2=0, T3=90, T4=100) 及び位相補正を行った。なお、データの解析は、Alice 2 ver.5 (JEOL RESONANCE 製) を用いた。

B-4 ICP-MS 等を用いた食品添加物中の鉛分析法に関する研究

1) 試料液の調製

各試料 2 g を量り、塩酸溶液 20 mL に溶解し、アンモニア水を加え、pH5~6 となるように調整し、試料液とした。

2) 固相カートリッジによる鉛の抽出

Inert Sep ME-1 を硝酸(1→100)溶液 5 mL(流速 20 mL/min)で洗浄し、水 20 mL 以上(流速 20 mL/min)でカートリッジ内に残る硝酸を洗浄した。0.1 M 酢酸アンモニウム溶液 5 mL を流出させ、試料液を流速 5 mL/min でカートリッジへ負荷した。0.5 M 酢酸アンモニウム 10 mL 及び水 10 mL で洗浄後、硝酸(1→100)溶液約 7 mL で流速 1 mL/min でゆっくりと溶出させ、溶出液に硝酸(1→100)溶液を加え 10 mL に定容し、試験溶液とした。ただし、試料を用いずに試料液と同様に操作し、得られた液を空試験溶液とした。

3) 原子吸光光度法による鉛の定量

試験溶液、標準溶液及び空試験溶液につき、原子吸光光度法により次の操作条件で吸光度を測定した。標準溶液の吸光度より検量線を作成し、試験溶液吸光度から空試験溶液吸光度を差し引いた値から、検量線を用いて、試験溶液中の鉛濃度を求め、試料中の鉛量を算出した。

操作条件

光源ランプ 鉛中空陰極ランプ

分析線波長 283.3 nm

支燃性ガス 空気

可燃性ガス アセチレン

B-5 日本独自の香料化合物についての遺伝毒性評価予測システムの研究

1) 構造活性相関手法 (SAR)

SARのソフトウェアとして、遺伝毒性評価を目的とする次の3種類、DEREK (Lhasa Ltd.), ADMEWORKS (AWorks ; 富士通九州システムエンジニアリング) , MULTICASE (MCase ; Multicase Inc.)を用いた。DEREKは、知識ベースのエキスパートシステムで、AWorksは、人工知能型アプローチのシステムで、MCaseはこれらの中間型で、化学物質の構造と特徴を表す構造記述子と、多数の部分的構造を機械的に検出し、統計理論からAmes試験の陽性判定と相関する構造記述子を選別し、予測を行うシステムである。

2) SARモデルの予測性のパラメータ

SARモデルの予測性を比較するため次のような計算式でそれぞれのパラメータを算出し、予測性を比較した。

$$\text{感度}(\%) = N_{+}/N_{F+} \times 100$$

$$\text{精度}(\%) = N_{-}/N_{F-} \times 100$$

$$\text{一致率}(\%) = (N_{+} + N_{-})/N_{\text{total}} \times 100$$

$$\text{偽陽性率}(\%) = (N_{F-} - N_{-})/N_{S+} \times 100$$

$$\text{偽陰性率}(\%) = (N_{A+} - N_{+})/N_{S-} \times 100$$

3) SARモデルの予測結果の組合せの検討

一般的にSARモデルの予測は、複数のSARモデルを組合せる方がパフォーマンスは上がると言われている。そこで、3つのSARモデルの判定について組合せ1, 2, 3を次のように定義し、それぞれの組合せでのパフォーマンスを上述のパラメータで比較した。

組合せ1 : 3つのSARモデルの予測結果が一致した場合のみSARの判定を陽性(もしくは陰性)とする。一致しない場合は保留とする。

組合せ2 : 3つのSARモデルの予測結果のうち、2つ以上一致した場合をSARの判定として採用する。

組合せ3 : 3つのSARモデルの予測結果のうち1つでも陽性ならばSARの判定を陽性とし、陰性は3つともが陰性と予測した場合のみ。

B-6 食品添加物の食品中における消長と副生成物に関する研究

1) 試料 強力粉, バター, 砂糖, 塩, 卵及びドライイーストを用い, ホームベーカリーとオーブンレンジを用いてパンを作成した。

過酸化ベンゾイル(約25%水湿潤品)に, トウモロコシ製デンプンを加えて乳鉢中で良く混和し, BPO含量が22%及び35%の2つの希釈過酸化ベンゾイルを調製した。

2) 器具及び装置

ホームベーカリーはパナソニック製のSD-BM106, オーブンレンジはパナソニック製NE-M156を用いた。ダイナミックヘッドスペースシステムとしてTeledyne Tekmar製のパージ&トラップ装置AQUA PT5000J Plus及びオートサンプラーSOLATek72を用いた。SOLATek72のサンプルニードルには, ダイナミックヘッドスペース分析用に短く成型された長さ4.8cmのニードル(ジューエルサイエンス製)を使用した。GC-MSは島津製作所製のGCMS-QP2010を用いた。

3) DHS-GC/MS測定条件

DHS 側条件 サンプルカップ温度 : 60°C, サンプルニードル温度 : 60°C, バルブオープン及びトランスファーライン温度 : 150°C,

パージ時間：6 min，パージ流量：40 mL/min，
ドライパージ時間：5 min，デソープ時間：
6 min，デソープ温度：220℃，ベーク時間：
15 min，ベーク温度：230℃，スターラー攪
拌：弱回転，クライオフォーカス：なし
GC-MS 側条件 カラム：AQUATIC-2 60 m
× 0.25 mm I.D. 膜厚 1.4 μm，カラム温度：
40℃ (2 min)→4℃/min→100℃→20℃/min
→200℃(3 min)，注入口温度：160℃，イン
ターフェース温度：200℃，イオン化法：EI，
イオン化電圧：70 eV，測定モード：スキャン，
測定質量数：ベンゼン *m/z* 78，フルオ
ロベンゼン *m/z* 96

4) 試料調製方法 (パンの調製法)

強力粉への希釈過酸化ベンゾイルを添加し，BPO を添加した小麦粉を調製し，ソフト食パン及びバターロールを調製した。

5) DHS-GC/MS 用試験溶液の調製

ソフト食パンは，1 斤を中央で 2 つに切断し，この半分をフードプロセッサーで粉砕し，試料とした。バターロールは 3 個をフードプロセッサーで粉砕し，試料とした。試料 2.0 g を 40 mL の VOA バイアルに採り，攪拌子，塩化ナトリウム 3 g 及び水 13 mL を加え，次いでマイクロシリンジを使用して内部標準溶液を 2 μL 注入し，直ちにキャップで密封した後，マグネチックスターラーでバイアル中の試料を良く攪拌し，DHS-GC/MS 用試験溶液とした。

(倫理面への配慮)

本研究は，倫理面にかかわる事項はない。

C. 研究結果及び考察

C-1 食品添加物規格試験法の向上と使用実態の把握等

1) 香料化合物規格の国際整合化に関わる調

査研究

(1) JECFA 規格と自主規格の比較

a. JECFA 規格と自主規格の双方にある香料化合物の抽出

自主規格で規格設定した 1,453 品目のうち，名称が JECFA の規格データベースと完全に一致しているまたは構造から同一の化合物と考えられる品目を抽出した結果 1,068 品目であった。

b. 抽出された香料化合物の各規格項目の比較

抽出された香料化合物の自主規格と JECFA 規格について，含量，屈折率，比重，酸価，融点・凝固点，(比)旋光度を比較した。なお，沸点については我が国では規格として認識されていないことと自主規格項目に無いため比較対象から外した。また溶状についても自主規格項目に無いため比較対象から外した。性状については主観的であり規格としての不整合の判断があいまいであるため，検討対象から外した。

①含量：自主規格が JECFA 規格に一致，もしくは高いなど JECFA 規格満たしているものは 670 品目，満たしていないものは 339 品目，定量法が違うものは 59 品目であった。

②屈折率：自主規格もしくは JECFA 規格で設定されているものは 965 品目であった。自主規格が JECFA 規格に一致，もしくは包含されるなど，JECFA 規格を満たしているものは 308 品目，満たしていないものは 657 品目であった。

③比重：自主規格もしくは JECFA 規格で設定されているものは 958 品目であった。測定温度が異なるものは 706 品目あった

が、測定温度が 20℃と 25℃の場合のみ経験的換算値 0.003 を用い比較した。その上で自主規格が JECFA 規格を満たしているものは 185 品目、満たしていないものは 773 品目であった。満たしていないものの中で測定温度が 20℃、25℃以外のものが 8 品目、JECFA 規格が幅ではなく 1 点を規格としているものが 47 品目であった。

④酸価：自主規格もしくは JECFA 規格で設定されているものは 708 品目であった。

自主規格が JECFA 規格を満たしているものは 368 品目、満たしていないものは 340 品目であった。JECFA 規格では塩基性物質でありながら酸価が設定されているものがあり、それらは意味がないと思われる。

⑤融点・凝固点：自主規格もしくは JECFA 規格で設定されているものは 166 品目であった。自主規格が JECFA 規格を満たしているものは 23 品目、満たしていないものは 143 品目であった。

⑥(比)旋光度：JECFA 規格、自主規格ともに設定されているものは 5 品目で、JECFA 規格のみ設定されているものは 6 品目、自主規格のみ設定されているものは 8 品目であった。ともに設定されている 5 品目中、2 品目は JECFA 規格を満たしておらず、4 品目は測定温度が異なっていた。

c. 流通品の実測を行う必要があると思われる品目の抽出

比較検討の結果 979 品目の自主規格が JECFA 規格といずれかの項目に違いがみられた。これらは次年度より流通実態調査を行う必要があると考えられた。

(2) 国際的に使用量の多い品目の流通実態調査及び JECFA 規格との比較

a. 品目の特定

日米欧同時使用量調査で 2010 年に三極合計 1,000 kg/年以上使用されていた 333 品目のうち、平成 22 年度の使用量調査から我が国で香料化合物として流通しており、かつ個別指定品目を除くものは 258 品目であった。

b. 規格に関する実測値の収集のための調査票の検討及び調査の実施

調査対象とする規格項目はこれまでの自主規格での設定項目である含量、含量の範囲(異性体含むかどうか)、定量法、屈折率、比重、酸価、融点・凝固点、(比)旋光度とした。測定数は 3 ロット/品目/社、のべ 9 回程度を目標とし、調査は平成 25 年 8 月～11 月に実施した。

c. 調査結果の集計と各規格項目の比較

調査対象の 258 品目中 224 品目で 1 製品以上の測定値が得られた。各測定値について、JECFA 規格と合致しているか、していない場合はどのような違いがあるかを規格項目毎に判断記号を付け、整理した。明らかに異なる値が報告されている製品は外れ値として集計には用いず、JECFA に規格設定が無く、測定値がある場合は、測定値にかかわらず JECFA 規格適合とした。

d. 次年度より詳細な調査を行う必要があると思われる項目の抽出

上記で検討したすべての規格項目が JECFA 規格を満たす製品を抽出した。JECFA 規格を満たす製品が 3 つ以上あり、満たさない製品が無かったもの、もしくは 8 割以上の製品が JECFA 規格を満たしていたものは 100 品目、JECFA 規格を満たす製品が 2 つ以下だが JECFA 規格を満たさない製品の報告がなかったものは 14 品目であった。これらの 114 品目については、緊急に詳細な調査を行う必要はないと考えられる。一方、

JECFA 規格に適合しない製品が過半数であった、適合する製品の存在が確認できなかったものが 33 品目あった。これらについては品目名と流通品の同一性の確認を含めた総合的な検討が必要である。

測定値によって JECFA 規格を検証できなかった例の中には、JECFA の規格設定の根拠に問題がある場合があることがわかった。

2) 天然香料の使用量調査に関わる調査研究

日本香料工業会食品香料委員会委員会社 18 社に調査を依頼し、その結果、使用無しの回答を含めて 17 社から有効回答を得た。回答につき疑問があった点について当該回答会社に問い合わせをした上で修正を施した後、集計作業を行った。

オレンジ以外については、回答を基原物質ごとに製法をキー項目として整理し、小計及び合計量を求めた。オレンジについては、種類、部位、製法、濃縮度 (fold) をそれぞれキー項目にした集計を行った。なお、参考までに精油等から特定の成分を分画したものについても回答を求めたが、会社によって解釈が異なっており正確な集計が困難であると考え、今回それらはテルペンレスとして集計した。

(1) 調査方法の問題点の抽出

調査結果を集計する過程で様々な問題点が抽出されてきた。回答会社からは、香料の種類、部位、製法、fold 等を調査するのはとても大変な作業であったという意見が数多く寄せられた。fold については数値化が困難であったため、「不明」の回答が数多く見られた。これらのことから予備調査の使用量の集計では、参考値として単純に基原物質ごとの回答の合計量を求めた (表 2)。

表 2 予備調査による使用量 (参考値)

基原物質名	使用量(kg)
オレンジ	630,270
バニラ	276,994
コーヒー	259,061
シナモン	2,741
ペパーミント	98,266
リンゴ	221,372
コショウ	4,469
タマネギ	7,881
バター	81,768
ハチミツ	10,476
タマゴ	2,982
エビ	3,566
12 基原物質の使用量合計	1,599,846

※(参考)香料化合物総使用量 (平成 23 年) 1,249t (2,045 品目)

我が国における香料化合物の総使用量は平成 23 年で 1,249 t であったのに対し、調査対象の天然香料の使用量は 12 品目、18 社に対する限定的な調査であったにもかかわらず約 1,600t と上回っていた。このことより、大量の天然香料が使用されているかがわかった。さらに、今回抽出された問題点を考慮し、次年度調査の方針まとめた。

3) 食品添加物の生産量統計調査を基にした摂取量の推定に関わる研究

(1) 指定添加物の摂取量調査

指定添加物につき、その製造・輸入業者名簿によりアンケートを発送し膨大な項目数の数値を処理、点検し、再度アンケート等を行い、生産流通量を整理したのち、約 1 年かけて食品添加物別一日摂取量を求めるため

の作業を進めた。最終作業が統計法による各種指定統計で行われる工業統計と異なる。

アンケートは食品添加物グレード(出荷時、食品衛生法の規程による食品添加物〇〇の表示をした製品)として生産し、あるいは輸入して出荷した量と輸出量、さらに製造または輸入した量のうち医薬用、化粧品用等食品用以外に販売した数量を除き、食品用として販売した量を「純食品向け出荷量」としてアンケートの中に記すよう依頼した。また、最終集計値の見積もり時には最新の食品産業統計等から加工食品生産変動等及びアンケートにおける申告集計を勘案しながら年間国内供給量を討議し、査定を行った。

一般的に食品添加物は食品添加物用以外の用途をもっているのが通例である。医薬品、医薬品添加剤、化粧品、飼料添加物はもとより、プラスチック添加物、家庭用衛生用品成分、農薬等に使用されている。

食品添加物は加工食品や郊外レストランチェーンで一括調理される半調理食品などへ使用される。当然、製造中の損失、流通時の廃棄、飲食店と家庭での期限切れ廃棄と食べ残しが発生する。本調査では、人の口に入らない食添量を原則として 20%と見積り、 $\times 0.8$ をもって実際に人の口に入っている摂取分量とした。年間食生活供給添加物量から 1 人 1 日平均摂取量を求める計算は今回であれば、平成 22 年人口 12,800 万人で除し、さらに 365 (日) で除している。即ち 467 億 2,000 万での割算となる。

平成 22 年度において、一日摂取量の多かった品目は、L-グルタミン酸ナトリウム (2312 mg/人/日)、酢酸デンプン (1284 mg/人/日) D-ソルビトール (1231 mg/人/日)、二酸化炭素 (570 mg/人/日)、ヒドロキシプ

ロピル化リン酸架橋デンプン (388 mg/人/日)、クエン酸 (377 mg/人/日)、リン酸架橋デンプン (311 mg/人/日)、グリセリン脂肪酸エステル (212 mg/人/日) 等であった。また、ADI との比較からも問題がなかった。

なお、酢酸デンプン、ヒドロキシプロピル化リン酸架橋デンプン、リン酸架橋デンプン等の加工デンプンは、従来、国内では食品素材として扱われていたが、国際汎用添加物として、平成20年に指定され、本調査から加わったものである。

(2) 輸入食品中の食品添加物

平成 22 年度にはわが国は約 3,180 万トンの食品が輸入されている。その中には多くの加工食品が含まれていることから、輸入される加工食品中に含まれている食品添加物の含有量を推定することとした。前回調査では、消費者や食品関係業界の関心の高い安息香酸、安息香酸ナトリウム、ソルビン酸、ソルビン酸カリウムの 4 種類の保存料を対象とした。今回の調査では、発色剤である亜硝酸ナトリウム、硝酸カリウム及び硝酸ナトリウムと酸化防止剤である、エチレンジアミン四酢酸カルシウム二ナトリウム及びエチレンジアミン四酢酸二ナトリウムを調査対象品目とした。

平成22年度に届け出られた亜硝酸ナトリウムを使用した食品類は約76,447トンであった。その内、亜硝酸ナトリウムの使用基準のある食品(食肉製品(乾燥食肉製品、非加熱食肉製品、加熱食肉製品)、魚肉ソーセージ、すじこ及びたらこ)についてのみ算出した結果、亜硝酸ナトリウム含有量は合計で約3,198 kgであった。他の品目についても同様に集計した結果、輸入食品中の食品添加物量は、亜硝酸ナトリウム3,198 kg、硝酸カリウ

ムが4,642 kg, 硝酸ナトリウム1,006 kg, エチレンジアミン四酢酸カルシウム二ナトリウム799 kg及びエチレンジアミン四酢酸二ナトリウム71 kgであった。この量を国内における出荷量調査と比べると, 輸入食品中に含まれる割合は硝酸ナトリウム142%, 硝酸カリウム50%, エチレンジアミン四酢酸カルシウム二ナトリウム25%と高かったが, 亜硝酸ナトリウムは1.9%, エチレンジアミン四酢酸二ナトリウムは0%と低い結果となった。ただ, 亜硝酸ナトリウム以外は元々の量が少なく摂取量としては影響がない量になると考える。

(3) 既存添加物の製造・輸入量調査

平成6年の天然添加物生産アンケート調査の後, 「既存添加物名簿」+「一般飲食物添加物品目リスト」を対象に第1回の既存添加物生産アンケート調査が平成12年に行われ, 今回の平成24年の調査は第5回に相当する。

平成23年度において, 出荷量の多かったものは, 製造用剤ケイソウ土(58,420 トン), 製造用剤活性白土(31,900 トン), 製造用剤トレハロース(25,000), 製造用剤流動パラフィン(13,964 トン), 着色料カラメル I(13,530 トン) 等であった。

C-2 食品添加物の規格試験法向上のための赤外スペクトルに関する調査研究

1) ポリビニルピロリドンに関する検討

ポリビニルピロリドン類の検討において, 重合度の異なるPVP25, PVP30, PVP90を比較検討したところ, KBr法や, ペースト法では, 重合度の違いによってスペクトルが異なっており, また, いずれの化合物でも, 吸湿に起因すると考えられるピークが観測された。一方, ATR法で測定したところ, 3化

合物は同じスペクトルとなり, 吸湿によるピークも非常に小さかった。これらの結果は, ATR法では, 試料調製がほぼ不要であるため, 試料調製時の吸湿を避けることができたためと考えられる。従って, PVPのように, 重合度によって吸湿性が大きく変化し, ペースト法でも吸湿の生じるような取り扱いの難しい化合物には, ATR法による測定が最も適していると考えた。

2) ポリソルベート類に関する検討

次に, 構造の異なる4種のポリソルベート類を取り上げ, それぞれについて従来の液膜法や薄膜法とATR法でIRを測定し, 検討した。その結果, いずれの化合物も, ATR法で簡便な操作でスペクトルを得ることができたが, 従来法とATR法ではスペクトルが異なっていた。さらに, ポリソルベート65は, 他と比べて融点が高く, 冬場の気温の低い環境では, 測定中に固化する恐れがあった。従って, ATR法をポリソルベート類の確認試験に利用する場合には, 構造の違いに由来する物性(融点)の違いに応じて, 測定中に相変化が生じない適切な測定法を確立し, ATR法で測定したスペクトルを標準スペクトルとすべきであると考えた。

C-3 定量 NMR 法による定量用標準物質の純度分析法の確立

グルタミルバリルグリシンについて ^1H NMR, ^{13}C NMR 及び各種 2 次元 NMR (^1H - ^1H COSY, HMQC, HMBC) スペクトルの詳細な解析により, 各水素シグナルを帰属した。得られたスペクトルパターン情報を基に, qHNMR 法による含量の測定を行った。その結果, δ_{H} 0.97 (水素数 6), δ_{H} 2.10-2.20 (水素数 3), δ_{H} 2.54 (水素数

2), δ_H 3.82 (水素数 1), δ_H 3.97 (水素数 2) 及び δ_H 4.16 (水素数 1) にグルタミルバリルグリシンに由来するシグナルがそれぞれ観察された。これらのシグナルより算出されたグルタミルバリルグリシン含量は, δ_H 0.97, δ_H 2.54, δ_H 3.82, δ_H 3.97 及び δ_H 4.16 のシグナルでは, 99.4%–99.5%と同等の結果であった。一方, δ_H 2.10–2.22 のシグナルでは, 99.9%と他のシグナルと比べ高い結果を示した。これらのシグナルは, δ_H 2.13 (水素数 1) 及び δ_H 2.16 (水素数 2) のシグナルが部分的に重っており, シグナルはそれぞれ多重に分裂していることから, 積分範囲が通常よりも広くなり, 他のシグナルの定量値より大きくなったものと考えられた。これらの点を考慮し, 定量用シグナルとしては, δ_H 0.97, δ_H 2.54, δ_H 3.82, δ_H 3.97 及び δ_H 4.16 を用いることが適切と考えられた。なお, これらのシグナルの相対標準偏差 (RSD) は 0.1–0.2 % と良好であった。

C-4 ICP-MS 等を用いた食品添加物中の鉛分析法に関する研究

1) カートリッジへの鉛の吸着量の検討

Inert Sep ME-1 (250 mg/6 mL) への鉛吸着量を検討するために, 鉛濃度 0.2 $\mu\text{g/mL}$ の塩酸(1→4)溶液 20 mL, 50 mL, 100 mL, 200 mL を採取し, アンモニア水で pH5~6 に調整した液を試料液とし, 鉛の抽出操作を行なったところ, 87.3~96.2%の鉛が回収され, 4~40 μg 相当が吸着可能であることが明らかとなった。

2) 鉛の添加回収試験

塩化カリウム, 塩化アンモニウム, 酢酸ナトリウム, 硝酸ナトリウム, 硫酸ナトリウムを試料とし, 各試料に 2 $\mu\text{g/g}$ となるように

鉛を添加し, 固相カートリッジによる鉛の添加回収試験(試行回数 $n=3$)を行なった。

いずれも空試験溶液からは鉛が検出されず, 塩化カリウムで 105.2 \pm 3.0%, 塩化アンモニウムで 102.6 \pm 5.8%, 酢酸ナトリウムで 98.4 \pm 3.1%, 硝酸ナトリウムで 89.8 \pm 3.9%の良好な回収率が得られた。しかし, 硫酸ナトリウムでは 4.46 \pm 3.3%となり, 添加回収率が低かった。これは, 硫酸イオンと鉛が塩酸溶液中で硫酸鉛となり不溶化し, 固相カートリッジを通過できなかつたと考えられる。硫酸鉛は塩酸溶液中で加熱することでアニオン交換され塩化鉛となり可溶化する。そこで, 鉛を 2 $\mu\text{g/g}$ となるように鉛を添加した硫酸ナトリウムを試料とし, 塩酸(1→4)溶液に溶解し, 300°Cで加熱し, 液量が半分程度になるまで濃縮後, 蒸発した水を補った後, 固相カートリッジで鉛を抽出したところ, $n=3$ での平均回収率は 92.7 \pm 3.3%となり, 良好な結果が得られた。

C-5 日本独自の香料化合物についての遺伝毒性評価予測システムの研究

SARでAmes試験結果を予測した物質126化合物を3回に分けて簡易Ames試験 (FAT) を実施した結果と, SARの各モデルの予測との相関を調べた。SARの予測結果が陽性でFATが陽性であった物質は12化合物でいずれも一つのモデルだけが陽性を予測したものであった。一方, 陰性予測で陰性であったもののほとんどが, 3つのモデルともに陰性の予測をしたものであった。パラメータを算出したところ, いずれのモデルも精度, 一致率に大きな差はなかったが, 偽陽性率, 偽陰性率についてはMultiCASEが他より15%程

度小さい値であり、より良い結果を示した。SARモデルがいずれも陰性を予測し、FATの結果が陽性だった化合物(表3)は、香料における18項目の中の3, 4, 5類がほとんどで、構造の共通性が見られた。

FATの陽性を正しく予測できた化合物が、SARモデルごとに異なっていたことから、複数のSARモデルが陽性と判断すれば陽性の可能性が高いとは言えないことがわかる。一方、それぞれのSARモデルが陰性と判定し、実際に陰性だった化合物にはほとんど重なりがあり、複数のSARモデルが陰性と判定した場合、実際の化合物に変異原性がないと考えてよいだろう。SARで陽性と判定されなかったにもかかわらず、FATで陽性になった12化合物について文献検索等から得られた情報では、いずれの化合物についても構造類似物質の安全性には懸念がないとされている。したがって、これら12化合物については標準的なAmes試験を実施して、FATの結果を確認することが必要であると考ええる。

C-6 食品添加物の食品中における消長と副生成物に関する研究

1) BPOを添加した小麦粉より作成したパン中のベンゼン残存量の調査

BPOを添加した小麦粉を用いて作成したパン(以後、BPO添加パンとする)中のベンゼン残存量を調べた。小麦粉へのBPO添加量は、現在の食品添加物製剤の希釈過酸化ベンゾイル(BPO含量22%)を、使用基準値の半分量(0.15g/kg)添加した場合及び使用基準値量(0.30g/kg)添加した場合、さらに高いBPOを含む希釈過酸化ベンゾイルを使用基準値量(0.30g/kg)添加した場合にあ

わせて33, 66及び105 mg/kgに設定した。

各BPO添加パンを分析したところ、BPO無添加パンからはベンゼンは検出されなかったが、33, 66及び105 mg/kgのBPO添加パンから、BPO添加量に対応し、それぞれ3.6, 5.0及び9.2のベンゼンが検出された。

2) BPO添加食パンの採取部位によるベンゼン残存量の比較

BPO添加パン中のベンゼンの分布状態を調べるため、ソフト食パンの各部位におけるベンゼン残存量を調査した。105 mg/kgのBPO添加パンを調製し、ソフト食パンを(a)パンの外側から深さ2 cm以上内側の上側3分の1(Upper inside), (b)外側からの深さ2 cm以上内側のパン下側3分の2(Lower inside), (c)外側からの深さ2 cmまでのパンの耳部分(Crust)の3つの部位に分け、それぞれにおけるベンゼン残存量を分析した。分析の結果、パンの内側のUpper insideとLower insideのベンゼン残存量は低く、2.3~2.4 ng/gであったが、パンの耳(Crust)には16.8 ng/gのベンゼンが残存することが明らかとなった。BPOの加熱分解によりベンゼンが生成していると考えられ、パン生地をオーブンで焼成する時に、高温にさらされるパン生地の表面部分が、内部よりもBPOの分解反応が進み、結果としてパンの耳のベンゼン残存量が高くなったと考えられる。

3) BPO添加パンの種類によるベンゼン残存量の比較

105 mg/kg BPO添加のソフト食パン、及びバターロールを調製し、各パン中のベンゼン残存量を調べた。ソフト食パンは14.2 ng/g、バターロールは11.8 ng/gであった。

米国食品医薬品局（FDA）ではトータルダイエットスタディの一環として食品中の揮発性化合物の残存量を継続的にモニタリングしており、様々な食品に1~190 ng/gのベンゼンが含まれていることを報告している。今回のBPO添加パン中のベンゼン残留量は、これら食品中のベンゼン残留量の範囲内に含まれる結果であった。

4) BPO添加パンからのベンゼン暴露量の推計

BPO添加パンを喫食したことによるベンゼンの暴露量の推計のため、希釈過酸化ベンゾイル（BPO 含量 22%）を使用基準値量（0.30g/kg）添加して調製したソフト食パンのベンゼン残存量（5.0 ng/g）の結果を用いた。20歳以上の一人当たりのパン及び菓子パンからのベンゼン推定暴露量を計算したところ、0.003 µg/kg 体重/日であった。食品安全委員会の化学物質・汚染物質専門調査会清涼飲料水部会では、ベンゼンの評価結果を、発がん性を指標とした場合の発がんユニットリスク（VSD）を 2.5×10^{-2} (mg/kg 体重/日)、非発がん毒性を指標とした場合の耐容一日摂取量（TDI）を18 µg/kg 体重/日としている。今回の調査結果をTDIと比較した場合、TDIに対するパン及び菓子パンの暴露量の割合は0.02%であった。また、1-6歳、7-14歳、15-19歳の各年齢層のTDIに対する割合は、それぞれ0.02%、0.05%、0.03%であり、最大でも評価値の0.05%以下であった。なお、算定されたパン及び菓子パンの推定暴露量は、本調査結果の使用基準最大限度における残存量を代表値として計算した結果であり、実際の暴露量はもっと低い数値になると予想される。このため、BPO添加したパン及び菓子パンからのベンゼン経口暴露量

は、評価値に比べて十分に低い値であり、健康に影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。

D. 結論

D-1 食品添加物規格試験法の向上と使用実態の把握等

1) 香料化合物規格の国際整合化に関わる調査研究

香料化合物規格の国際整合化に関わる調査研究では、1,068品目のJECFA規格と自主規格を比較検討し、JECFA規格の精査が必要と思われる品目の抽出を行ったところ、979品目が実測値の調査が必要と考えられた。一方、実際に258品目の実測値より検討したところ、114品目については暫定的ながら、検証の緊急度は低いと考えられた。一方、JECFA規格と自主規格の不一致の原因としては、規格値が異なる点の他、JECFAの規格設定の根拠の問題も多いことがわかった。さらにJECFA規格には許容幅や測定条件に問題があると思われる項目も多数存在した。規格値の異常の修正だけでなく、これらの項目に関しても今後検討が必要である。

2) 天然香料の使用量調査に関わる調査研究

我が国で使用している天然香料の使用量調査に関わる調査研究では、使用量を把握するための調査方法を検討する目的で、調査項目の検討及び予備調査を行い、得られた回答結果から調査方法につき考察した。予備調査により浮かび上がった問題点及び集計段階で行われた種々の議論から、天然香料の使用量の調査には多くの困難があることが明らかになった。しかしながら今回の予備調査により使用量の把握が大きな意義をもつこと