

表8 2-methyl-3-pentanone の Ames 試験結果

代謝活性化 系の有無	試験物質用量 (µg/plate)	試験実施期間: 2015年1月22日より2015年1月26日			
		復帰変異数		コロニー数/plate(平均)	
		塩基対置換型	フレームシフト型	TA100	TA98
S9 mix (-)	0 (陰性対照)	120 (120)	120 (20)	21 (20)	18 (20)
	156	129 (132)	134 (15)	10 (15)	19 (15)
	315	119 (130)	141 (22)	22 (22)	22 (22)
	625	128 (135)	141 (16)	18 (16)	13 (16)
	1250	135 (131)	126 (22)	20 (22)	24 (22)
	2500	156 (139)	122 (24)	23 (24)	24 (24)
	5000	116 * (116)	116 * (116)	26 * (27)	28 * (27)
	S9 mix (+)	0 (陰性対照)	136 (124)	111 (22)	27 (22)
156		145 (127)	108 (24)	28 (24)	19 (24)
315		139 (137)	135 (31)	34 (31)	27 (31)
625		154 (153)	152 (23)	21 (23)	25 (23)
1250		158 (159)	160 (25)	28 (25)	21 (25)
2500		133 (138)	142 (25)	28 (25)	21 (25)
5000		118 * (122)	126 * (122)	24 * (24)	23 * (24)
陽性対照		S9 mixを必要としないもの	名称 用量(µg/plate)	AF-2 0.01	AF-2 0.1
	S9 mixを必要とするもの	名称 用量(µg/plate)	2AA 1	2AA 0.5	
陰性対照	S9 mixを必要としないもの	名称 用量(µg/plate)	AF-2 1258	AF-2 1262	521 525
	S9 mixを必要とするもの	名称 用量(µg/plate)	2AA (1260)	2AA (523)	

陰性対照, ジメチルスルホキシド
AF-2, 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, 2AA, 2-Aminocanthracene
*, 生育阻害が認められた。

表9 3,4-dimethoxyacetophenone の Ames 試験結果

代謝活性化 系の有無	試験物質用量 (µg/plate)	試験実施期間: 2015年1月22日より2015年1月26日				
		復帰変異数		コロニー数/plate(平均)		
		塩基対置換型	フレームシフト型	TA100	TA98	
S9 mix (-)	0 (陰性対照)	120 (120)	120 (20)	21 (20)	18 (20)	
	515	136 (119)	101 (19)	22 (19)	15 (19)	
	625	115 (120)	126 (21)	21 (21)	20 (21)	
	1250	127 (121)	114 (20)	17 (20)	23 (20)	
	2500	119 (125)	130 (15)	19 (15)	10 (15)	
	5000	112 (108)	103 (17)	17 (17)	16 (17)	
	S9 mix (+)	0 (陰性対照)	136 (124)	111 (22)	27 (22)	17 (22)
		156	132 (136)	140 (34)	36 (34)	32 (34)
315		128 (134)	139 (21)	19 (21)	22 (21)	
625		132 (130)	128 (30)	32 (30)	27 (30)	
1250		137 (131)	125 (25)	26 (25)	29 (25)	
2500		121 (125)	124 (21)	19 (21)	23 (21)	
5000		101 * (114)	126 * (114)	17 * (20)	22 * (20)	
陽性対照		S9 mixを必要としないもの	名称 用量(µg/plate)	AF-2 0.01	AF-2 0.1	
	S9 mixを必要とするもの	名称 用量(µg/plate)	2AA 1	2AA 0.5		
陰性対照	S9 mixを必要としないもの	名称 用量(µg/plate)	AF-2 1258	AF-2 1262	521 525	
	S9 mixを必要とするもの	名称 用量(µg/plate)	2AA (1260)	2AA (523)		

陰性対照, ジメチルスルホキシド
AF-2, 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, 2AA, 2-Aminocanthracene
*, 生育阻害が認められた。

表10 dinonyl sulfide の Ames 試験結果

代謝活性化 系の有無	試験物質用量 (µg/plate)	試験実施期間: 2015年1月26日より2015年1月29日				
		復帰変異数		コロニー数/plate(平均)		
		塩基対置換型	フレームシフト型	TA100	TA98	
S9 mix (-)	0 (陰性対照)	88 (91)	93 (21)	21 (21)	20 (21)	
	315 †	136 (129)	121 (20)	14 (20)	26 (20)	
	625 †	124 (119)	114 (17)	20 (17)	14 (17)	
	1250 †	134 (117)	100 (16)	17 (16)	14 (16)	
	2500 †	118 (116)	114 (28)	23 (28)	33 (28)	
	5000 †	141 (135)	128 (17)	16 (17)	18 (17)	
	S9 mix (+)	0 (陰性対照)	121 (121)	121 (30)	34 (30)	25 (30)
		315	133 (131)	128 (39)	41 (39)	36 (39)
625		127 (122)	116 (40)	44 (40)	36 (40)	
1250 †		149 (143)	136 (28)	28 (28)	28 (28)	
2500 †		112 (118)	123 (34)	32 (34)	36 (34)	
5000 †		130 (129)	128 (33)	27 (33)	38 (33)	
陽性対照		S9 mixを必要としないもの	名称 用量(µg/plate)	AF-2 0.01	AF-2 0.1	
		S9 mixを必要とするもの	名称 用量(µg/plate)	2AA 1	2AA 0.5	
陰性対照	S9 mixを必要としないもの	名称 用量(µg/plate)	AF-2 1162	AF-2 1156	450 498	
	S9 mixを必要とするもの	名称 用量(µg/plate)	2AA (1159)	2AA (464)		

陰性対照, アセトン
AF-2, 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, 2AA, 2-Aminocanthracene
†, 試験が認められた。

表11 SAR予測と FAT/Ames 試験結果の相関

		FAT/Ames 試験	
		陽性	陰性
SAR	陽性	12	42
	陰性	3 (12-9)	69 (60+9)

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

研究分担者 久保田 浩樹 国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部主任研究官

研究要旨 希釈過酸化ベンゾイルを添加した小麦粉を用いて小麦粉菓子を作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ガスクロマトグラフ質量分析計を用いて分析を行った。

使用基準の半分及び最大使用量に相当する 33 及び 66 mg/kg の過酸化ベンゾイル (BPO) を添加した小麦粉を用いてバターケーキ及びクッキーを作成し、菓子中の揮発性化合物を分析したところ、66 mg/kg の BPO 添加バターケーキ及びクッキー中のベンゼン残存量は、それぞれ 9.4 ng/g 及び 2.5 ng/g であった。菓子中のベンゼン量は BPO の添加量に応じて増加した。

今回の調査結果をもとに、BPO を添加した小麦粉菓子からのベンゼンの経口暴露量を推計したところ、20 歳以上における一人当たりの耐容一日摂取量 (TDI) に対する一日摂取量の割合は 0.01% であり、BPO を添加した食品からのベンゼン暴露量は、TDI を大きく下回ることが確かめられた。

A. 研究目的

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¹⁾。本品の主成分である BPO は、加熱、衝撃、摩擦などによって爆発を起こしやすいため、25%の水を添加したものが試薬として販売されている。食品添加物製剤として用いられる希釈過酸化ベンゾイルは、BPO をミョウバン、リン酸のカルシウム塩類、硫酸カルシウム、炭酸カルシウム、炭酸マグネシウム及びデンプンのうち 1 種以上のもので希釈した製剤であり、BPO 19.0~22.0%を含むと規定されている²⁾。

わが国では、希釈過酸化ベンゾイルに使用

基準が設定されており、小麦粉以外の食品に使用してはならず、小麦粉 1kg につき 0.30g 以下に使用が制限されている。2004 年に食品中の BPO の改正分析法が通知され、市販食品の検査が行われている³⁾。

2010 年に輸入食品検査の過程で、海外では BPO 32%を含む製剤が流通している実態が明らかとなった。このため、小麦粉及びその加工品より、使用基準相当量を超える BPO が検出された場合には、食品衛生法 11 条違反として取り扱うように通知⁴⁾されるとともに、薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会において、希釈過酸化ベンゾイル中の BPO 含有量を 19.0~22.0%から 19.0~35.0%に変更し、使用基準を希釈過酸化ベンゾイルとしての限度値設定から、

BPO としての使用限度値への改正が検討されている。

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⁵⁾、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⁶⁾。

International Agency for Research on Cancer (IARC) ではベンゼンを Group 1 に分類している (IARC, 1995)⁷⁾。わが国では、水道法水質基準において、Integrated Risk Information System (IRIS, 2000)⁸⁾ における 10^{-5} 発がんリスクに関する評価などを参考に 0.01 mg/L に設定しており⁹⁾、また、WHO 水道水水質ガイドライン第 4 版においても、ガイドライン値を 0.01 mg/L としている¹⁰⁾。食品安全委員会は、清涼飲料水の規格基準の改正に係る食品健康影響評価において、ベンゼンのリスク評価において、非発がん毒性を指標とした場合の TDI を 18 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日、発がん性を指標とした場合の発がんユニットリスクを 2.5×10^{-2} (mg/kg 体重/日) と設定している。平成 26 年 12 月に清涼飲料規格が改正され、ミネラルウォーター類のうち殺菌または除菌を行うものについては、ベンゼンを 0.01 mg/L に設定している¹¹⁾。

これまでに、食品添加物製剤として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¹²⁾、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について明らかとするため、各種小麦粉食品中のベンゼン残存量を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 (DHS-GC/MS) を用いて分析を行った。昨年度は、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、BPO の添加量に応じてベンゼンが増加し、主にパンの耳の部分に残存していることが明らかとした。2 年目である本年度は、小麦粉菓子について同様に調査を行った。さらに、この調査結果を用いて小麦粉菓子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

1) 試料

バターケーキ及びクッキーの材料として、薄力粉、バター、砂糖、卵及びベーキングパウダーを用いた。これら食材は都内スーパーで購入し、オーブンレンジで焼成した。

2) 試薬

BPO は東京化成工業(株)製の過酸化ベンゾイル (約 25%水湿潤品) を用いた。ベンゼン標準原液及びフルオロベンゼン標準原液は、関東化学(株)製の水質試験用を用いた。塩化ナトリウムは和光純薬工業(株)製の水質試験用、メタノールは和光純薬工業(株)製のトリハロメタン測定用を用いた。その他は、試薬特級を用いた。

過酸化ベンゾイル (約 25%水湿潤品) は第 8 版食品添加物公定書の希釈過酸化ベンゾイルの定量法²⁾に従い、BPO 含量を求めた。その後、過酸化ベンゾイル (約 25%水湿潤品) に、BPO 含量が食品添加物含量規定の最大量 (22%) となるように、トウモロ

コシ製デンブンを加えて乳鉢中で良く混和し、22%希釈過酸化ベンゾイルを調製した。調製した22%希釈過酸化ベンゾイルは実験に使用するまで冷蔵庫にて保管した。

3) 内部標準溶液の調製

少量のメタノールを入れた10 mLのメスフラスコに、フルオロベンゼン標準原液1 mLを正確に採り、メタノールを加えて正確に10 mLとし、内部標準原液とした。内部標準原液1 mLを正確に採り、メタノールを加えて正確に10 mLとし、内部標準溶液とした。

4) ベンゼン標準液の調製

試料添加用のベンゼン標準液として、少量のメタノールを入れた2本の10 mLのメスフラスコに、ベンゼン標準原液0.05 または0.5 mLを正確に採り、メタノールを加えて正確に10 mLとし、5及び50 µg/mLのベンゼン標準液を調製した。

5) 器具及び装置

オーブンレンジはパナソニック製NE-M156を用いた。試験液のバイアルはI-CHEM製のEPA規格に準拠したVOAバイアル(テフロンライナー/シリコンセプタムを装着したキャップ付)を用いた。なお、バイアルは100°Cで3時間加熱後、放冷し、バイアル内部及びセプタムを窒素パージ処理した後、分析に使用した。

DHS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、DHS分析用に短く成型された長さ4.8cmのニードル(ジ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。

6) 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°C，ベーク時間：15 min，ベーク温度：230°C，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°C (2 min)→4°C/min→100°C→20°C/min→200°C(3 min)，注入口温度：160°C，インターフェース温度：200°C，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

7) 試料調製方法(バターケーキ及びクッキーの調製法)

薄力粉に対しBPOが33または66 mg/kgとなるように22%希釈過酸化ベンゾイルを添加し、BPOを添加した小麦粉(薄力粉)を調製した。

バターケーキ、クッキーの材料組成を以下に示す。

バターケーキ：小麦粉(薄力粉) 100 g，食塩不使用バター100 g，砂糖 100g，卵 100 g，牛乳 15 g，ベーキングパウダー 7g

クッキー：小麦粉(薄力粉) 120 g，食塩不使用バター60 g，砂糖 40 g，卵黄 15g

バターケーキは、手作業で生地を作成した後、オーブンレンジで170°C，40分間焼成した。クッキーは、フードプロセッサーで生地を混和後、棒状に成形し冷蔵庫にて30分間放置後、カットし、オーブンレンジで170°C，27分間焼成した。

8) 検量線用標準溶液の調製

6本の少量のメタノールを入れた10 mLのメスフラスコに、内部標準原液1 mLずつを正確に採り、ベンゼン標準原液0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5または1 mLを正確に加え、メタノールを加えて正確に10 mLとし、検量線用標準原液とした。VOAバイアルに攪拌子、塩化ナトリウム3 g及び水15 mLを採り、次いでマイクロシリンジを使用して検量線用標準原液を2 µL注入し、直ちにキャップで密封し、検量線用標準溶液とした。

9) DHS-GC/MS用試験溶液の調製

バターケーキ及びクッキーは、ブレンダーで粉砕し、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

1) DHS-GC/MS 分析条件の検討

粉砕したバターケーキに2.0 gに5 µg/mLのベンゼン標準液2 µLを添加した試料についてDHS-GC/MSで分析した時のトータルイオンクロマトグラムをFig. 1に示した。16.2分にベンゼン、16.8分に内部標準物質であるフルオロベンゼンのピークが検出された。クッキーの試験溶液においても同様の結果が得られた。また、ベンゼンの保持時間近傍に疑似ピークが検出された。これらはNIST及びWileyライブラリとの比較から、

食品成分由来の3-メチル-ブタナール及び2-メチル-ブタナールと推定された。ただし、測定質量数を選択することで、これら疑似ピークをベンゼン及び内部標準物質と分離し、特異的に検出できるため定量には影響なかった。なお、S/N比10とした定量限界は0.4 ng/gであった。

2) ベンゼンの添加回収試験

粉砕したバターケーキ及びクッキーに5 ng/gまたは50 ng/gとなるようにベンゼン標準液を添加し、これら食品からの添加回収試験を実施した(Table 1)。ベンゼン無添加のバターケーキ及びクッキーのベンゼン含量は、それぞれ 0.5 ± 0.02 ng/g及び 0.5 ± 0.05 ng/gであった。無添加食品由来のベンゼンを除いた添加回収率は5 ng/g添加において105.3~110.0%、50 ng/g添加は102.2~105.5%であり、相対標準偏差は2.1%以下の良好な結果を示した。そこで本試験法を用いてバターケーキ及びクッキーをモデル食品とした小麦粉菓子中のベンゼン残存量について調査を実施した。

3) BPO を添加した小麦粉より作成したバターケーキ及びクッキー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バターケーキ(以後、BPO添加バターケーキとする)中のベンゼン残存量を調べた。66 mg/kgのBPO添加バターケーキ(バターケーキへのBPO添加量0.02 mg/gに相当)の試験溶液のトータルイオンクロマトグラムをFig. 2に示した。BPO無添加のバターケーキではベンゼン保持時間のピークは定量限界レベルであったが、66 mg/kg BPO添加バターケーキにおいてピーク面積の増加が確認された。また、このピークのマススペク

トルをベンゼンの検量線標準液と比較したところ非常に良い一致を示し、検出されたピークはベンゼンと同定された (Fig. 3).

BPO 添加バターケーキよりベンゼンが検出されたことから、次に小麦粉への BPO 添加濃度を変化させてバターケーキ及びクッキーを焼成し、BPO 添加濃度による小麦粉菓子中のベンゼン残存量の変化を調べた (Fig. 4, 5). また同時に、66 mg/kg の BPO を添加した小麦粉中のベンゼン量も調べた。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%) を使用して使用基準値の半分 (0.15g/kg) を添加した場合及び使用基準値 (0.30g/kg) を添加した場合にあわせて 33 mg/kg, 66 mg/kg に設定した。

各 BPO 添加バターケーキを分析したところ、BPO 無添加バターケーキのベンゼン含量は 0.7 ng/g であったが、33 mg/kg, 66 mg/kg の BPO 添加バターケーキから、それぞれ 3.9 ng/g, 9.4 ng/g のベンゼンが検出された。また、同様に BPO 添加クッキーを分析したところ、BPO 無添加のベンゼン含量は 0.6 ng/g であったが、33 mg/kg, 66 mg/kg の BPO 添加クッキーから、それぞれ 1.3 ng/g, 2.5 ng/g のベンゼンが検出され、バターケーキ及びクッキー中のベンゼン残存量は BPO 添加量に対応して増加した。また、BPO 添加した小麦粉中のベンゼン含量は 0.4 ng/g であり、この小麦粉を用いて作成したバターケーキ中のベンゼン含量 (9.4 ng/g) より低い値を示した。

4) BPO 添加バターケーキ中のベンゼン分布状況の分析

BPO 添加バターケーキ中のベンゼンの分布状態を調べるため、バターケーキの外側と

内側におけるベンゼン残存量の比較を行った (Fig. 6). 66 mg/kg の BPO 添加バターケーキを作成し、(a) バターケーキの外側から深さ 1 cm 以上内側の部分 (Inside), (b) 外側からの深さ 1 cm までの外側の部分 (Outside) 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、バターケーキ内部 (Inside) のベンゼン残存量は低く、5.6 ng/g であったが、バターケーキ外側 (Outside) には 11.1 ng/g のベンゼンが残存することが明らかとなった。

5) BPO 添加バターケーキ及びクッキーの焼成温度によるベンゼン残存量の比較

BPO 添加バターケーキ及びクッキーの生地を焼成するときの焼成温度によるベンゼン残存量の変化について調べた (Fig. 7, 8).

66 mg/kg の BPO 添加バターケーキ及びクッキー生地を作成し、焼成温度 160°C または 170°C で焼成した。なお、焼成時間は同じ時間とした。バターケーキでは、焼成温度 160°C のときのベンゼン含量は 15.4 ng/g であったが、170°C では 9.4 ng/g であり、ベンゼンの残存量が約 0.6 倍に減少した。また、クッキーでは、焼成温度 160°C のベンゼン含量は 3.1 ng/g であったが、170°C では 2.5 ng/g であり、焼成温度の上昇にともないベンゼン残存量が減少した。

D. 考察

1) バターケーキ及びクッキー中のベンゼン分析法の条件検討

バターケーキ及びクッキーに含まれるベンゼン残存量を明らかとするため、上水試験法の揮発性化合物分析法を参考に DHS-GC/MS 法による分析を行った。本法は揮発性化合物だけを試料から遊離して

GC/MS で分析するため、微量の揮発性化合物を高感度かつ選択的に分析することができた。本試験法の添加回収率は 102.2～110.0%、相対標準偏差も 2.1%以内の良い結果を示した。DHS-GC/MS では、試料バイアルを加熱して揮発性化合物を試料から揮発遊離しているため、熱により分解しやすい BPO がバイアル加熱中に熱分解して分析中にベンゼンをさらに生成し、試料中の真値より高い値を示すことが懸念された。しかし、66 mg/kg の BPO を添加した小麦粉中のベンゼン量は 0.4 ng/g であり、この小麦粉から作成したパン中のベンゼン残存量(9.2 ng/g)より低い値を示した。このため分析過程における BPO 熱分解によるベンゼン生成影響は限定的であり、定量結果に影響はなかったと考えられる。

2) BPO 添加量によるバターケーキ及びクッキー中のベンゼン残存量の調査

小麦粉への BPO 添加量とバターケーキ及びクッキー中のベンゼン残存量の関係について調べたところ、BPO 添加量に応じて、試料中のベンゼン含量が増加した。昨年度の研究において BPO を添加してパンを作成した場合、微量のベンゼンを生成することが明らかとしたが、小麦粉菓子においても同様にベンゼンが生成することが確かめられた。

BPO は加熱により、フェニルラジカルを生成するため、食品中においても高温で加熱処理した場合には、BPO の一部がフェニルラジカルとなり、その一部がベンゼンとしてバターケーキやクッキーに残存したと考えられた。

66 mg/kg BPO 添加したバターケーキ及びクッキー中のベンゼン残存量は、それぞれ 9.4 ng/g 及び 2.5 ng/g であった。米国食品医

薬品局 (FDA) ではトータルダイエツ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¹³⁾、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 添加バターケーキ及びクッキー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。

3) BPO 添加バターケーキ中のベンゼン分布状況の分析

BPO 添加バターケーキ中のベンゼンの分布状態を調べるため、バターケーキの採取部位によるベンゼン残存量を比較したところ、バターケーキの内側よりも、外側に約 2 倍のベンゼンが残存していることが明らかとなった。昨年度の研究において、BPO 添加パン中のベンゼンはパンの内側より耳の部分に主に残存することを明らかとしており、バターケーキにおいても同様の結果が得られた。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、バターケーキ生地をオーブンで焼成する時に、高温にさらされる生地の表面部分が、内部よりも BPO の分解反応が進み、結果としてバターケーキ外側のベンゼン残存量が高くなったと考えられる。

4) BPO 添加バターケーキ及びクッキーの焼成温度によるベンゼン残存量の比較

66 mg/kg の BPO 添加バターケーキ及びクッキー生地を作成し、焼成温度 160℃または 170℃で焼成したところ、焼成温度の上昇にともないベンゼン残存量が 0.6～0.8 倍に減少した。BPO は加熱により分解反応が進むが、160℃と 170℃では BPO 分解反応に大きな影響を及ぼす温度差ではなく、むしろ、焼成温度を高めることにより試料中に残存するベンゼンが大気中に揮散しやすくなり、

170℃ではベンゼン残存量が減少したと考えられた。なお、バターケーキやクッキーの焼成温度は170℃が一般的であり、170℃における結果が、実際の菓子中のベンゼン残存量に近い値と考えられる。

5) BPO 添加小麦粉菓子からのベンゼン暴露量の推計

BPO 添加小麦粉菓子を喫食したことによるベンゼンの暴露量の推計を行った。小麦粉菓子の喫食量は独立行政法人 国立健康・栄養研究所の平成22年度食品摂取頻度・摂取量調査の特別集計業務報告書¹⁴⁾の表7食品添加物のマーケットバスケット調査データの6群砂糖類・菓子類に分類されるケーキ・ペストリー類及びビスケット類の喫食量を参考にした。小麦粉菓子中のベンゼン残存量代表値として、今回の調査において使用基準の中で最も残存量が高かった66 mg/kg BPO 添加時のバターケーキ(9.4 ng/g)及びクッキー(2.5 ng/g)のベンゼン残存量の結果を用い、それぞれをケーキ・ペストリー類及びビスケット類に当てはめた。これらのデータをもとに20歳以上のヒト一人当たりの小麦粉菓子からのベンゼン推定暴露量を計算した。

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。今回の調査結果を評価値の厳しいTDIと比較した場合、TDIに対する小麦粉菓子からの暴露量の割合は0.01%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0.03%

0.01%、0.01%であり、最大でも評価値の0.03%以下であった。なお、算定された小麦粉菓子の推定暴露量は、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 添加した小麦粉菓子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。

E. 結論

BPO を添加した小麦粉を用いてバターケーキ及びクッキーを作成したところ、これら菓子より微量のベンゼンが検出された。バターケーキ中のベンゼン量はBPO 添加量に応じて増加し、内側より外側に残存していることが明らかとなった。また、バターケーキ及びクッキー中のベンゼン残留量は、焼成温度の上昇により減少しており、生成したベンゼンの一部は大気中に揮散していると考えられた。

さらに、今回の調査結果により得られたベンゼン残存量をもとに、小麦粉菓子からのベンゼン暴露量を推計したところ、20歳以上における一人当たりのTDIに対する一日摂取量の割合は0.01%であり、BPO 添加小麦粉菓子の摂取によるベンゼン暴露量は評価値に比べて十分に低いことが確かめられた。

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) “第8版食品添加物公定書解説書”, 谷村 頭雄監修, 東京, 廣川書店, 2007, p.D-422-D-425
- 2) “食品添加物公定書第8版”, 厚生労働省, 2007, p301-302
- 3) 厚生労働省医薬食品局食品全部基準 審査課長: 食安基発第 0513003 号, 2004
- 4) 厚生労働省医薬食品局食品全部基準 審査課輸入食品安全対策室長: 食安輸発 0416 第 1 号, 2010
- 5) P., Sykes: “基本有機反応機構”, 東京化学同人, 1996, p71
- 6) Rastogi, S. C.: Bull. Environ. Contam. Toxicol., 1994, 53, p747-752
- 7) International Agency for Research on Cancer (IARC), IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Suppl. 7, 1987, p120-122
- 8) Integrated Risk Information System. IRIS (2000)
- 9) 厚生労働省令第百一号:水質基準に関する省令, 2003
- 10) WHO: Guidelines for Drinking-water Quality 4th Ed., 2011
- 11) 厚生労働省令第四百八十二号: 食品, 添加物等の規格基準の一部を改正する件
- 12) Saiz, A. I.: J. Agric. Food Chem., 2001, 49, 98-102
- 13) FLEMING-JONES, M.E., Smith, R. E.: J. Agric. Food Chem., 2003, 51, p8120
- 14) 西 信雄: 独立行政法人 国立健康・栄養研究摂取頻度・摂取量調査の特別集計業務報告書, 2012

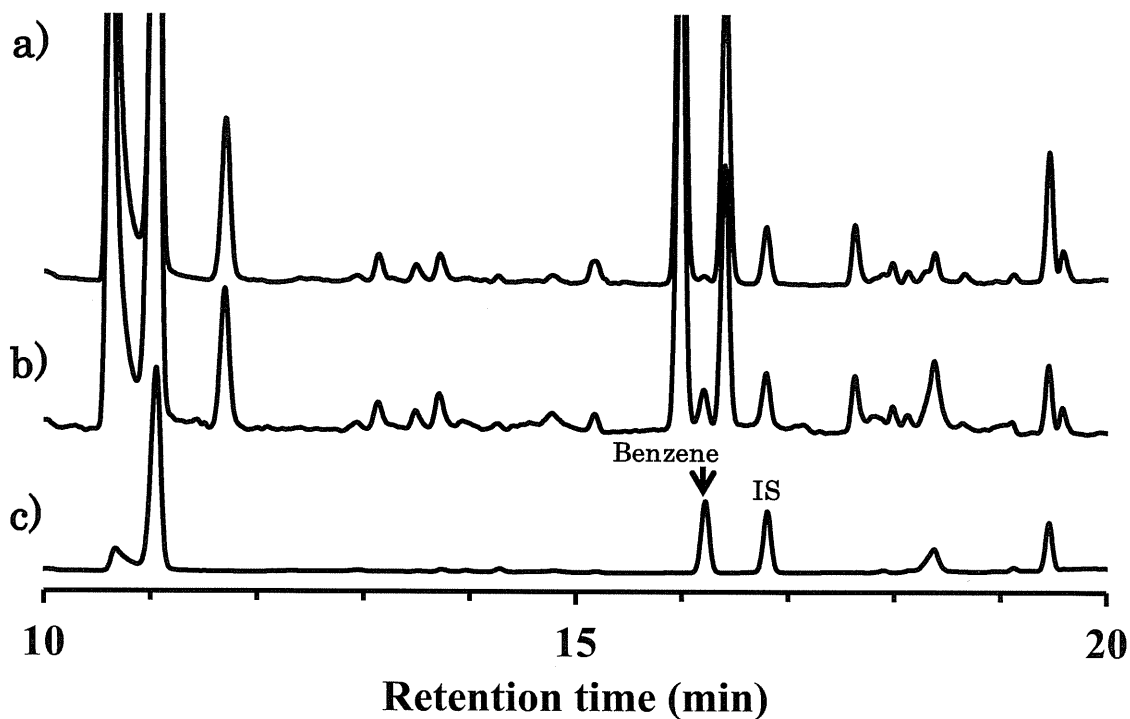


Fig. 1. 検量線用標準液及びベンゼン添加バターケーキ試験溶液のGC/MS クロマトグラムの比較

a) ベンゼン無添加バターケーキ試験溶液, b) 5 ng/g ベンゼン添加バターケーキ試験溶液, c) 検量線用標準溶液(0.7 ng/mL)

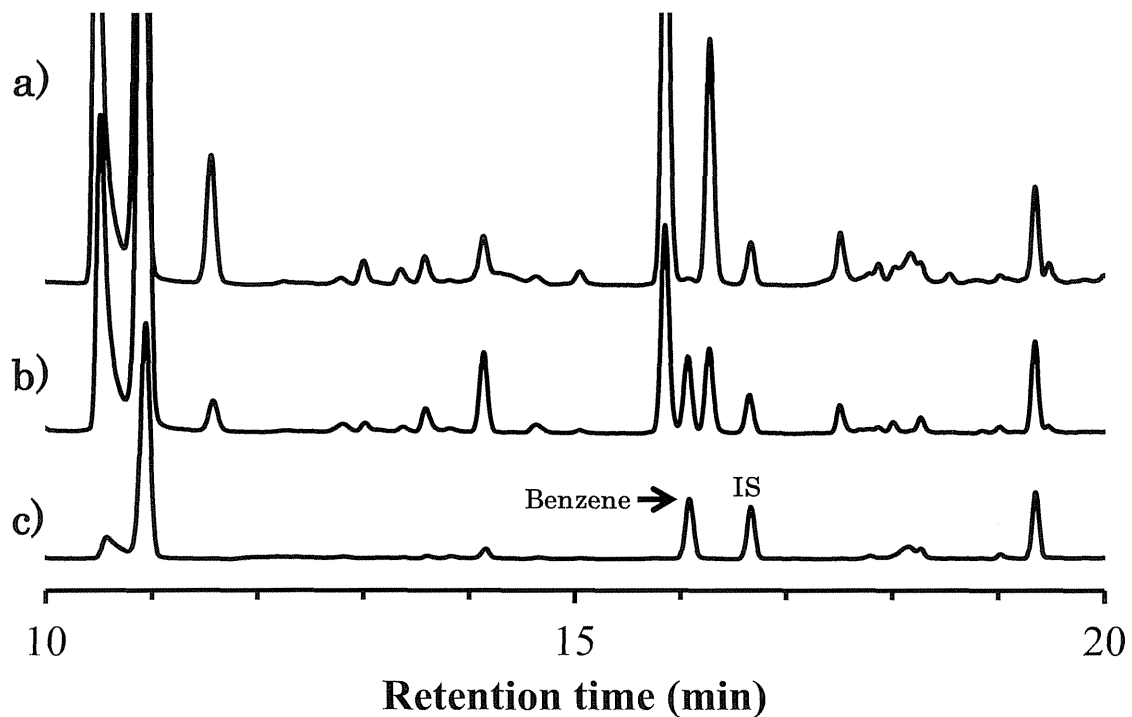


Fig. 2. 検量線用標準液及び過酸化ベンゾイル添加バターケーキ試験溶液の GC/MS クロマトグラムと比較

a) 過酸化ベンゾイル無添加の小麦粉を用いて作成したバターケーキの試験溶液, b) 66 mg/kg 過酸化ベンゾイル添加小麦粉を用いて作成したバターケーキの試験溶液, c) 検量線用標準溶液(0.7 ng/mL)

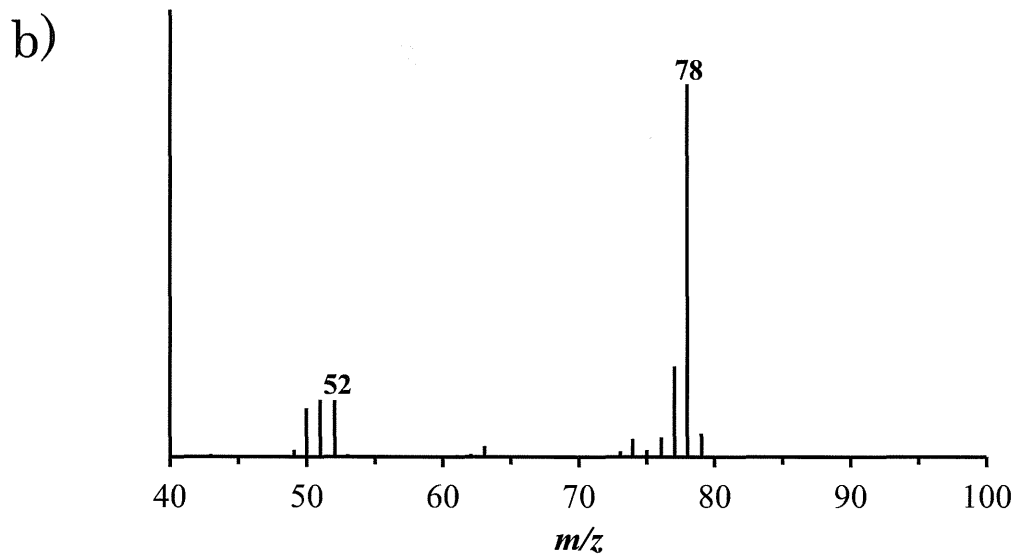
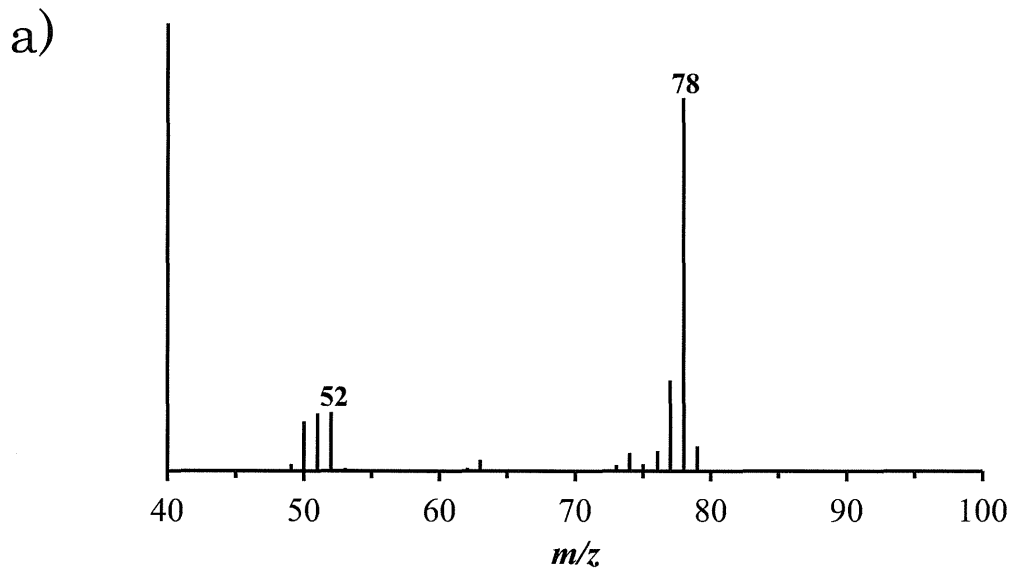


Fig. 3. 検量線用標準液と過酸化ベンゾイル添加バターケーキ試験溶液ピークのマスペクトルの比較

a) ベンゼン標準液(0.7 ng/mL), b) 66 mg/kg 過酸化ベンゾイル添加小麦粉を用いて作成したバターケーキ試験溶液

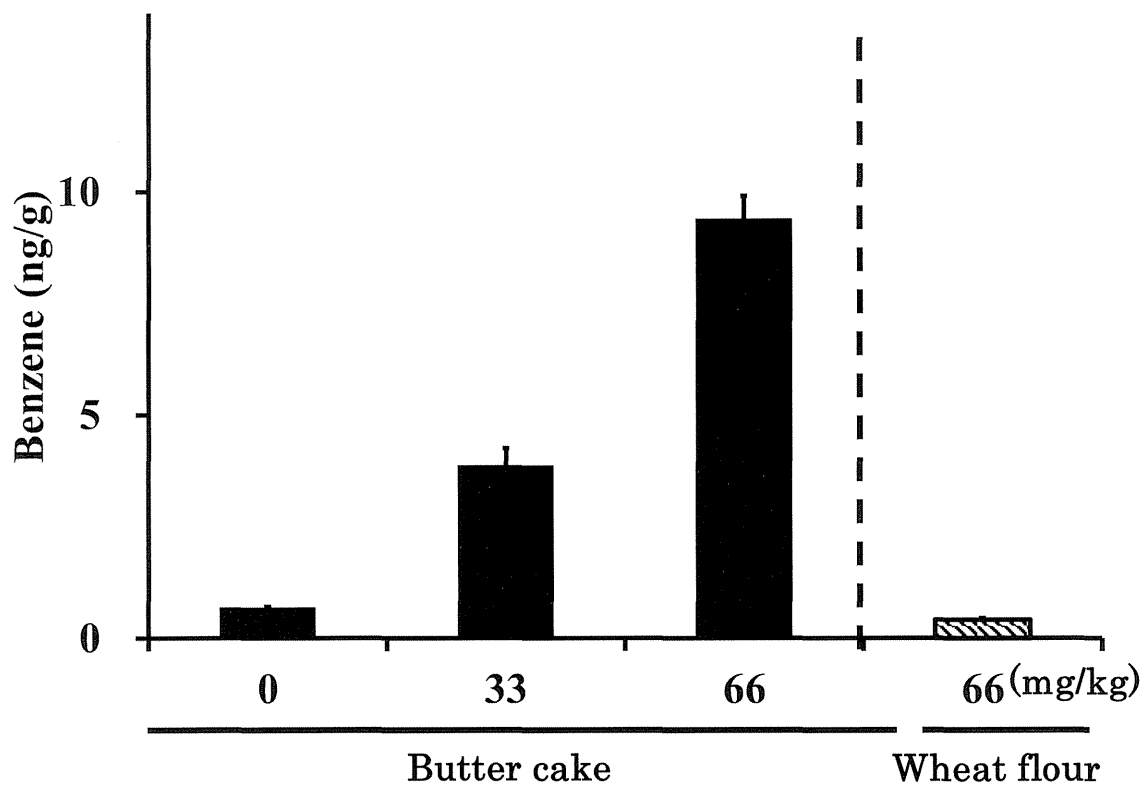


Fig. 4.過酸化ベンゾイル添加量によるバターケーキ及び小麦粉中のベンゼン量の比較

過酸化ベンゾイルを 0, 33, 66 mg/kg 添加した小麦を用いて作成したバターケーキ及び 66 mg/kg の過酸化ベンゾイルを添加した小麦粉中のベンゼン残存量を分析した.

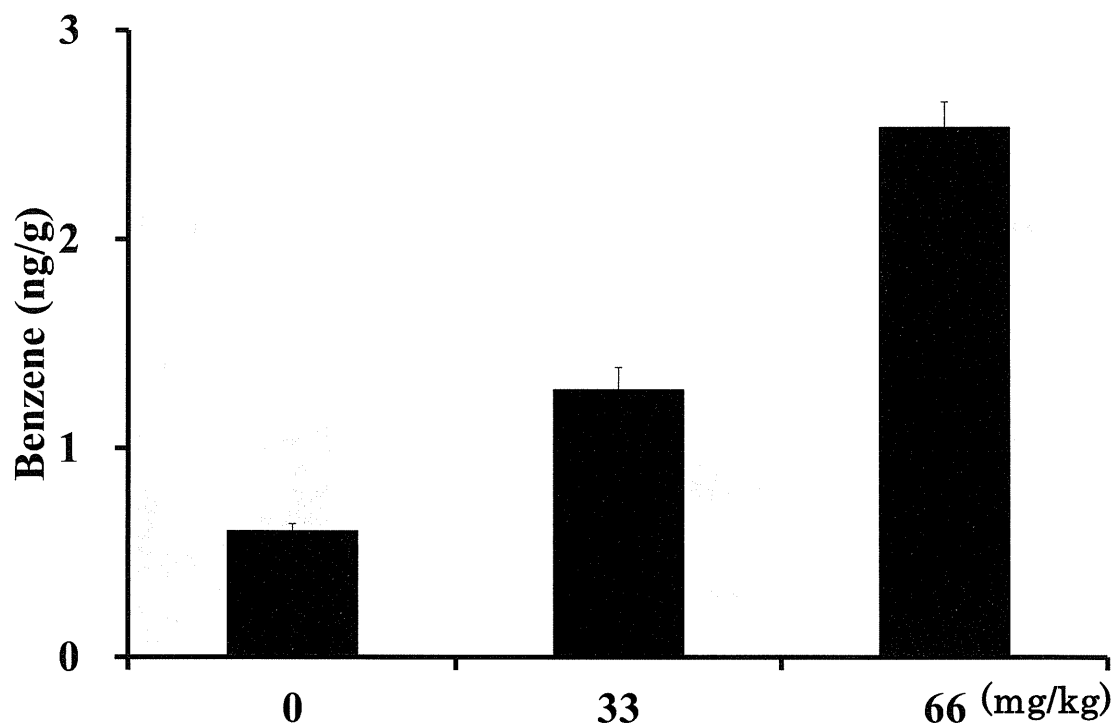


Fig. 5.過酸化ベンゾイル添加量によるクッキー中のベンゼン量の比較

過酸化ベンゾイルを 0, 33, 66 mg/kg 添加した小麦を用いて作成したクッキー中のベンゼン残存量を分析した.

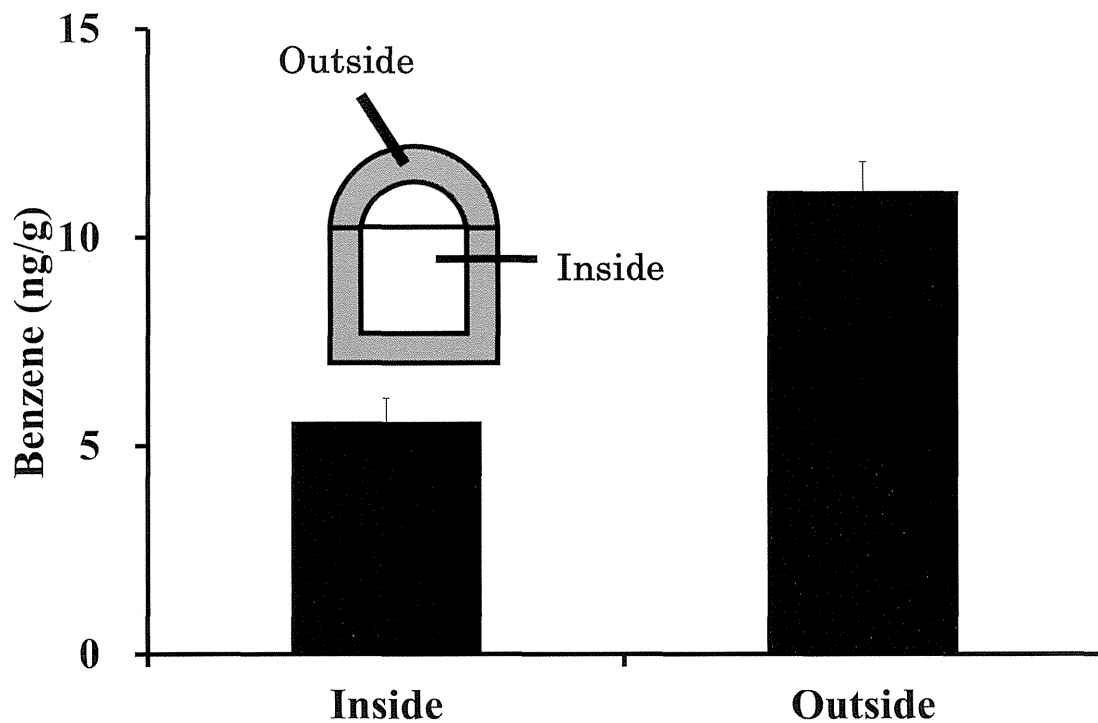


Fig. 6. 過酸化ベンゾイル添加バターケーキの採取部位によるベンゼン残存量の比較

66 mg/kg の過酸化ベンゾイルを添加した小麦粉より作成したバターケーキの各採取部位におけるベンゼン残存量を分析した。

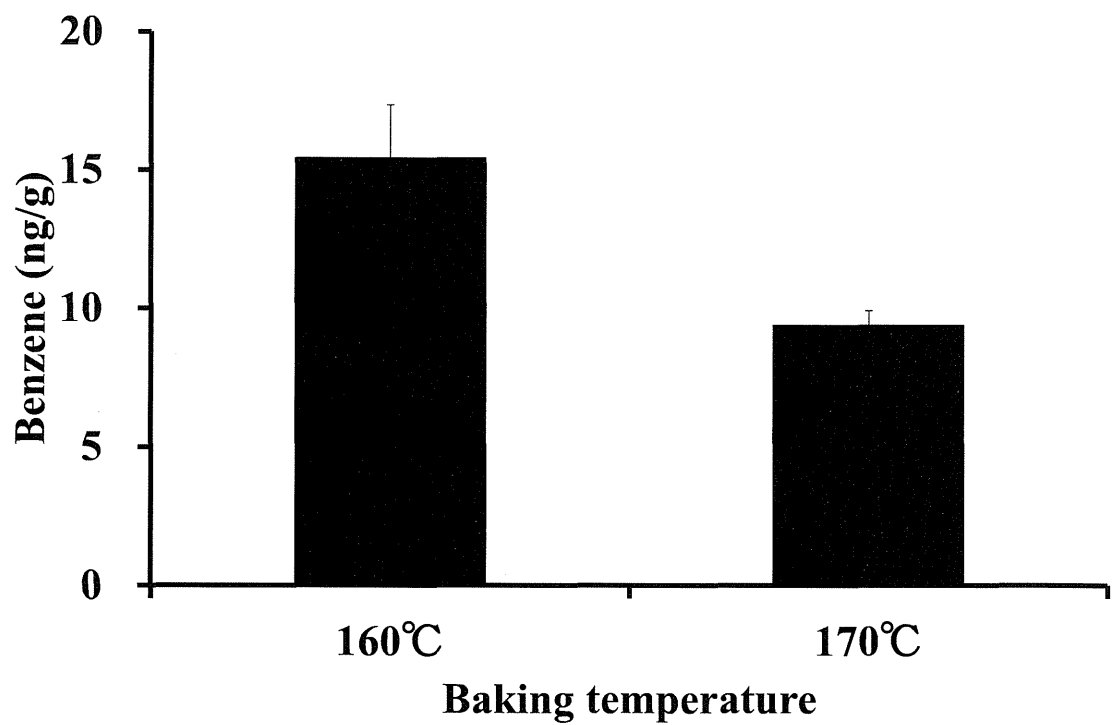


Fig. 7. 過酸化ベンゾイル添加バターケーキの焼成温度によるベンゼン残存量の変化

66 mg/kg の過酸化ベンゾイルを添加した小麦粉より作成したバターケーキ生地を 160°C または 170°C で焼成したときのバターケーキ中のベンゼン残存量を分析した。

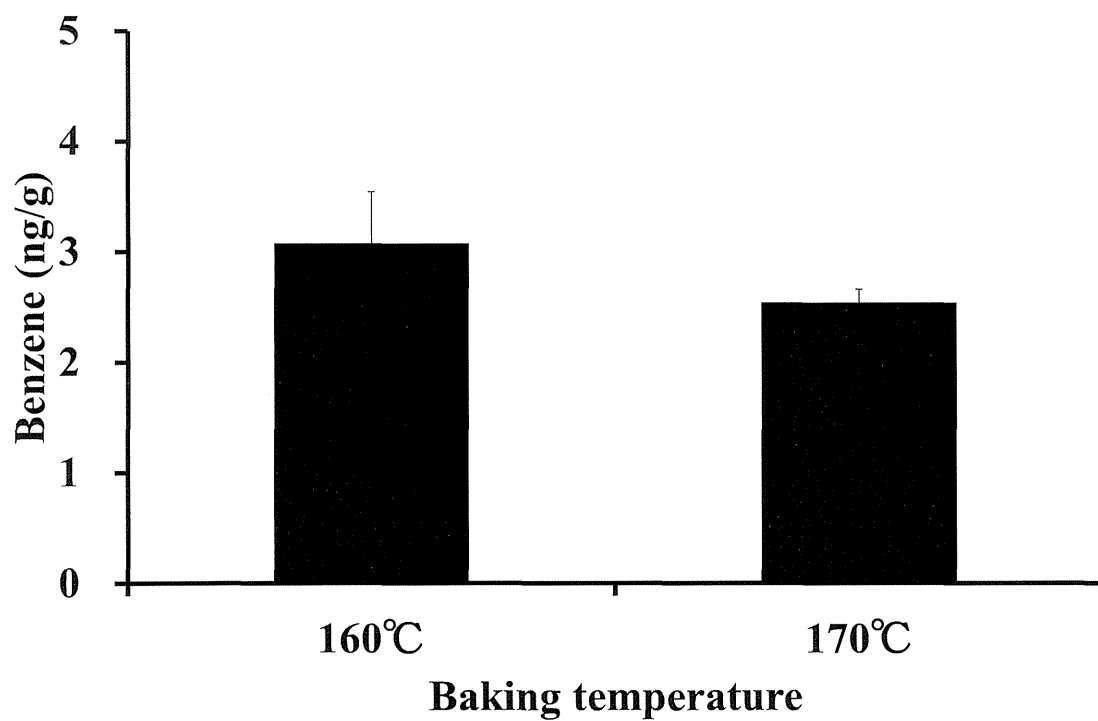


Fig. 8. 過酸化ベンゾイル添加クッキーの焼成温度によるベンゼン残存量の変化

66 mg/kg の過酸化ベンゾイルを添加した小麦粉より作成したクッキー生地を 160°C または 170°C で焼成したときのクッキー中のベンゼン残存量を分析した。

Table 1. 小麦加工食品からのベンゼン添加回収試験

Products	Amount of added benzene					
	Not added		5 ng/g		50 ng/g	
	Avg. (ng/g)	RSD (%)	Avg. ^{*1} (ng/g)	RSD (%)	Avg. (ng/g)	RSD (%)
Butter cake	0.5	4.0	6.0	2.1	51.6	0.8
Cookie	0.6	7.9	5.9	0.6	53.4	0.6

^{*1} n=5

^{*2} Not detected < 0.4 ng/g

平成 26 年度 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」

香料化合物規格の国際統合化に係わる 調査研究

機 関 名 日本香料工業会
研究者名 近 藤 隆 彦

平成 26 年度

香料化合物規格の国際統合化に係わる
調査研究

平成 27 年 3 月

機 関 名 日本香料工業会

研究者名 近藤 隆彦