

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 28 年度総括研究報告書

食品添加物の安全性確保のための研究

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長

研究要旨 食品添加物の安全確保には、その品質の担保と適正な使用が欠かせない。品質の担保に重要な成分規格とその試験法の向上と、摂取量等の使用実態の把握のため、以下の研究を行った。

香料規格及び食品添加物の摂取量推計に関する研究—香料化合物規格の国際整合化に関わる調査研究：香料化合物の規格を国際間で整合化することは安全性のために重要である。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）規格の検証が必要と考え、調査研究を行っている。本年度は、試験成績表・受け入れ検査の調査を行った品目のうち、詳細な検討が必要と判断した 52 品目の再調査及び 200 品目の試験成績表・受け入れ検査の実測値調査を行い、4 品目及び 40 品目は JECFA 規格で問題はなく、36 品目及び 79 品目については実測値を基に JECFA 規格の修正案を策定した。残りの 12 品目及び 81 品目はさらなる調査が必要と判断した。

生産量統計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日常生活における 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、既存添加物については出荷量の実態を把握することを目的とし、食品添加物製造・輸入業者を対象に、指定添加物及び既存添加物の国内流通量等を調査し、指定添加物の摂取量を推定するとともに、輸入食品中の保存料 10 品目について摂取量を推定した。指定添加物については概ね前回と同様の結果が得られ、保存料 10 品目の摂取量に対する輸入食品の寄与は少ないと推定された。また、既存添加物のうち、着色料、製造用剤の中に出荷量が増加した品目が見られた。

香料使用量に関わる調査研究：JECFAによる食品香料化合物の安全性評価に重要な摂取量を Maximized Survey-derived Daily Intake（MSDI）法で算出するには使用量データが必要になる。本年度は我が国における香料化合物使用量の定期調査を行うとともに、国際食品香料工業協会（IOFI）の香料化合物のグローバル使用量調査へのデータ提供を行った。また天然香料については、IOFI の調査リストと我が国の天然香料基原物質リストを比較照合して独自の調査リストを作成することで初のグローバル調査に対応した。

マーケットバスケット方式による香料の摂取量調査の検討

我が国の流通食品における香料摂取量の実態を明らかにするため、マーケットバスケット（MB）方式による香料の一日摂取量調査について検討を行った。

食品香料についての遺伝毒性評価予測システムの研究

香料について、構造活性相関 (SAR) の陽性予測のフォローアップの Ames 試験を 5 化合物について追加した結果、2-methyltetrahydrofuran-3-one のみが TA100 と TA98 において代謝活性化無の条件で弱い陽性という結果を得た。

食品添加物公定書一般試験法の改良に関する調査研究

食品添加物公定書一般試験法の改良に向けた検討を行うため、Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) 規格や米国の Food Chemicals Codex (FCC) 等に記載があるが、公定書の一般試験法では採用されていない点について、試験項目の比較及び一部の試験の内容の比較を行った。調査の結果を基に、今後公定書への追加を検討すべきと考えられる試験法について、汎用性及び国際整合の観点から検討したところ、質量分析計を用いる試験法や残留溶媒試験法等が対象となり得ると考えられる。

赤外スペクトル測定法に関する調査研究

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、近年普及著しい ATR 法の確認試験への利用の可能性を検討した。第 17 改正日本薬局方において ATR 法が採用されている品目について検討を行った。その結果、確認試験に ATR 法を取り入れる場合は、標準品との比較を行うか、プリズムの種類や補正の有無などの条件を規定した上で参照スペクトルとの比較を行うことが必要であると考えられた。

鉛及びヒ素の同時分析法に関する研究

第 9 版食品添加物公定書では多くの食品添加物において鉛及びヒ素の規格が設定されるが、その前処理法及び分析法は試料の性質により異なっている。本研究では鉛及びヒ素の同時分析を目的として、より簡便な前処理法として、キレート固相カートリッジ及び鉄共沈法による鉛及びヒ素の抽出方法について検討を行った。キレート固相カートリッジは鉛の抽出には適用可能であったがヒ素の抽出には適用できなかった。一方、鉄共沈法は試料 (ナトリウム塩及びカリウム塩) 中のヒ素(III)を次亜塩素酸ナトリウム溶液でヒ素(V)に酸化させ、鉄存在下で pH9 とすることで、90%以上の鉛及びヒ素が回収され、ICP による同時分析も可能であった。

研究分担者

久保田浩樹 国立医薬品食品衛生研究所
山田 雅巳 国立医薬品食品衛生研究所
多田 敦子 国立医薬品食品衛生研究所
北村 陽二 国立大学法人金沢大学
学際科学実験センター
建部 千絵 国立医薬品食品衛生研究所

A. 研究目的

食品添加物の安全確保には、その品質の確保と適正な使用が欠かせない。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成分規格とその試験法であり、食のグローバル化に伴い、これらの国際整合性への考慮が必要となっている。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。

1. 香料規格及び食品添加物の摂取量推計に関する研究

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である。日本国内で流通している香料化合物は、平成 22 年度の厚生労働科学研究での調査によると 2045 品目であるが、公式な規格が定められているものは 134 品目のみである。それ以外の類又は誘導体として指定されている 18 項目の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）。第 9 版食品添加物公定書改正作業等においては、FAO/WHO 食品添加物専門家会議（JECFA）規格を参考にしたが、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。そのため、香料化合物の規格値に関する実態調査を行い、JECFA 規格の検証及び修正案の作成を行うこととした。本研究では、昨年度実施した試験成績表・受け入れ検査（以下実測値（I）調査）の調査結果から、より詳細な検討が必要と判断した 52 品目について、さらなる調査（以下実測値（II）調査）を実施し、また、平成 25 年度の検討で実測値調査が必要とされたものから、新たに 200 品目の試験成績表・受け入れ検査の実測値調査を行った。

2) 生産量統計を基にした食品添加物摂取量

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にあつては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。指定添加物の摂取量の推定は、昭和 57 年を第 1 回とする調査研究であり、第 11 回に当たる。わが国における指定添加物の製造・輸入事業者を主対象に、自社における平成 25 年度中の食品添加物グレード品の取り扱いについて、アンケート調査を行い、精査、検討を加え、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、使用基準のある保存料 10 品目について摂取量を推定した。既存添加物等については、出荷量の実態を把握することを目的とし、平成 13 年度を第 1 回とし、第 6 回目に当たる調査研究を行った。本調査は、製造・輸入事業者を対象に、平成 26 年度の製造・輸入量についてアンケート調査を実施し、所要の集計作業を経て、研究班において解析を行った。

3) 香料使用量に関わる調査研究

JECFA による食品香料化合物の安全性評価は、主として代謝、毒性、摂取量の 3 つの情報に基づいている。それらの重要な要素の一つである摂取量を MSDI 法で算出するには使用量データが必要になる。我が国では、平成 12 年度（厚生科学研究）から平成 14 年度（厚生労働科学研究）、平成 16 年度から平成 18 年度（厚生労働科学研究）の 2 回にわたって、それぞれ 2002 年、2005 年に国内で流通している食品香料に使用されている

香料化合物の使用量調査を実施してきた。さらに、国際食品香料工業協会（IOFI）が提唱した日米欧のそれぞれの国・地域で 2010 年中に使用したフレーバーリング物質の使用量調査に呼応して平成 22 年度から平成 24 年度の厚生労働科学研究の中で食品香料化合物の使用量調査を行った。2016 年 1 月、IOFI により、第 2 回目の香料化合物（合成香料）のグローバル使用量調査が提唱されるとともに、天然複合物質（天然香料）についても安全性評価の基礎データとするための使用量調査を依頼されたことから、我が国における香料化合物の使用量実態を把握するとともに、IOFI の第 2 回目のグローバル使用量調査に対してもデータを提供するため、前 3 回の使用量調査に引き続く定期調査として、香料使用量に関わる調査研究を行った。また、天然香料については、平成 25 年度から平成 27 年度の厚生労働科学研究において我が国の天然香料基原物質リストに記載されている品目の使用量を調査した経験を踏まえて、今回は IOFI の調査リストと天然香料基原物質リストを比較照合して我が国独自の調査リストを作成することで、天然複合物質としては初のグローバル使用量調査に対応した。

2. マーケットバスケット方式による香料の摂取量調査の検討

今回、流通する食品中からの香料化合物の摂取量を明らかにするため、MB 方式による香料の一日摂取量の推計を検討した。今年度はエステル系香料を対象に、DHS-GC/MS を用いて MB 方式による混合試料の分析を行い、20 歳以上の食品の喫食量から各種香料の一日摂取量の推計を行った。

また、MB 方式による香料の摂取量調査手法について、従来の生産・流通方式による一日摂取量調査結果と比較し、MB 方式の有用性について検証を行った。

3. 食品香料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、わが国独自の香料規格の向上が重要と考え、本研究では、適切な安全性評価の整備を目指す。安全性評価において最初のステップである遺伝毒性評価に焦点を絞り、構造活性相関手法に基づく遺伝毒性予測システムの研究について効率的かつ有効なアプローチを検討する。

欧米を中心として流通している食品香料のポジティブリスト化は、JECFA による安全性評価を軸として進行しており、国内における規格も、国際ハーモナイゼーションを踏まえた規格向上を検討することが望まれている。我が国では嗜好の違いから独自に使用されている食品香料が多く、それらについては JECFA による安全性評価がなされていないことから、日本で評価を実施する必要がある。しかし、1000 を超える数の香料の安全性評価を、期間、費用の面から効率化するため、構造活性相関手法（SAR）の導入により遺伝毒性評価を実施することを検討してきた。

香料に特異的な警告構造を検索することで、構造活性相関のモデルを香料に特化した形に改良し、遺伝毒性評価のスクリーニングに用いることを目指す。これまで、SAR モデルの陰性予測が簡易 Ames 試験と一致しなかった 12 化合物に着目し、一般化合物として市販されている 10 化合物について、標準的な Ames 試験では陰性であることを確認した。本研究課題では、さらに香料の Ames 試験データを

蓄積するため、SAR 予測結果が陽性の中の 5 物質について標準的な Ames 試験を実施した。

4. 食品添加物公定書一般試験法の改良に関する調査研究

食品添加物は、安全性確保のため、人の健康を損なうおそれのない場合に限り、その使用が認められ(指定)、その品質を担保するため、純度や成分について遵守すべき項目(成分規格)が設定される。食品添加物公定書(公定書)の一般試験法は、成分規格の試験に用いられる試験法をまとめたものである。一般試験法の改良は、規格試験の向上並びに規格基準の精度の向上に貢献し、食品添加物の安全の一層の確保に大きく繋がると考える。また近年、欧米で認められている食品添加物等の指定要請が増加しており、その手続きの迅速化が求められているが、成分規格設定の迅速化のためには、分析技術の進歩に対応して一般試験法を改良し、また国際整合化を図ることが必要と考えられる。

本研究においては、食品添加物規格設定時に用いる試験法の国際整合性を確保するために、国際的な食品添加物規格の一般試験法には設定されているものの公定書の一般試験法には設定されていない試験法を新たに導入することを目指し、その優先順位を検討するため、国際的な食品添加物規格の一般試験法と日本の食品添加物公定書における一般試験法とを比較検討した。

5. 赤外スペクトル測定法に関する調査研究

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、各種食品添加物の確認試験に

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、第 17 改正日本薬局方において ATR 法が採用されているモンテルカストナトリウムを取り上げ、ATR 法による IR 測定法を検討した。

6. 鉛及びヒ素の同時分析法に関する研究

第 9 版食品添加物公定書においては、海外規格との整合性をはかる目的から、一部の食品添加物を除き、鉛規格が設定されることとなり、一般試験法の鉛試験法において、前処理法の違いにより、第 1 法～第 5 法が検液の調製法として設定される。ヒ素規格についても、多くの食品添加物に設定されている。一般試験法のヒ素試験法において、前処理法の違いにより、検液の調製法に第 1 法～第 5 法が設定されており、測定は、装置 B または装置 C(水素化物発生装置)を使用して行うこととなっており、食品添加物毎にこれらの前処理法及び測定方法が規定されている。

高マトリックス中の鉛やヒ素の分析の前処理法としては、鉛で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、イオン交換樹脂法などの、共存元素との分離や目的元素の濃縮を行う方法が一般的に採用されており、第 9 版食品添加物公定書においても、ナトリウム塩等の高マトリックスを含む食品添加物中の鉛の前処理においては APDC 溶媒抽出法が第 5 法として設定される。

ヒ素においてはヒ素が金属イオンと沈殿しやすい性質を利用し、廃水中や土壌からヒ素を除去する方法や、キレート樹脂に金属塩を結合させ、ヒ素を精製する方法が多く報告されている。

本研究では、鉛試験法において第5法（APDC溶媒抽出法）が設定されている食品添加物（無機塩類）について、鉛及びヒ素の同時分析を目的とし、食品添加物として汎用されるナトリウム塩やカリウム塩の試料からの鉛及びヒ素のより簡便な前処理法としてキレート固相カートリッジや鉄共沈法を用いた前処理法の検討及び誘導プラズマ発光分析装置（ICP）による鉛及びヒ素の同時分析を行った。

B. 研究方法

1. 香料規格及び食品添加物の摂取量推計に関する研究

1) 香料化合物規格の国際統合化に関する調査研究

- (1) 平成 27 年度に行った実測値 (I) の調査結果で、より詳細な検討が必要となった品目の実測値 (II) と JECFA 規格との比較
- a 実測値 (II) の調査品目の選定
 - b 実測値 (II) 収集のための調査票の検討及び調査の実施
 - c 調査結果の集計と各規格項目の比較

(2) JECFA 規格と実測値 (I) の比較

- a 実測値 (I) 調査品目の選定
- b 実測値 (I) の調査のための調査票の検討及び実施
- c 各規格項目と JECFA 規格との比較
- d 次年度、実測値 (II) の調査を行う必要があると思われる品目の抽出

2) 生産量統計を基にした食品添加物摂取量の推定に関わる研究

—指定添加物の摂取量調査—

本調査は、日本国内の食品添加物製造事業者・輸入販売事業者に調査票を送付し、食品添加物原体（食品添加物の文字が表示されていて出荷されるもの及び自家消費されたもの：食品添加物グレード）の種類・生産・販売・使用についての調査である。

本調査では、指定添加物（食品衛生法施行規則 別表第 1 に掲げられている添加物）について平成 25 年度の生産・販売・使用を対象に調査を行った。

1 年目調査 (26 年度) では 74.1%、2 年目、3 年目に実施された追調査により、最終的に回収率は 86.9%となった。（表 1）。

表 1 回収結果

	第 11 回		
	26 年度	27~28 年度	合計
発送	653	108(※1)	657(※2)
回収	484	87	571
回収率(%)	74.1	80.6	86.9

※1 未回答のため再発送した調査先 101 社 +27 年度に追加した 7 社。

※2 重複配布先、一括回答企業・転居先不明を除いた有効配布数。

—輸入食品中の食品添加物—

保存料の安息香酸、安息香酸ナトリウム、ソルビン酸、ソルビン酸カリウム、ソルビン酸カルシウム、デヒドロ酢酸ナトリウム、ナイシン、パラオキシ安息香酸エチル、パラオキシ安息香酸ブチル、パラオキシ安息香酸プロピルを含有量推定の調査対象とし、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 25 年 4 月 1 日から平成 26 年 3 月 31 日）及び輸入食品データ（輸入食品監視統計，平成 25 年 4 月 1 日から平成 26 年 3 月 31 日）を用い，輸入加工食品中の食品添加物含有量の推定を行った。

調査は上記 10 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。それ以外の食品は，その加工食品の原料の一部に今回の調査対象食品添加物が使用されており，含有量を推定することは困難と判断し，調査対象からははずすこととした。なお，届出時には食品添加物の含有量の記載が無いため，含有量は基準値の 50%量として計算を行った。

一既存添加物の製造・輸入量調査一

「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 365 品目並びに「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，品名に色素とうたわれている品目及びその他（一般飲食物添加物名番号一覧表記載品目），合わせて 53 品目を対象とした（合計 418 品目）。

本調査は，平成 25 年度の既存添加物等の製造・輸入の可能性のある事業者も対に調査票を送付し，製造・輸入を行っているものの品名，製造・輸入の区分，数量，用途別出荷量・輸出量等について行った。

最終的な調査票の回収率は 87.6%となり，製造または輸入していると回答した事業者は 244 社であった（表 2）。

表 2 本調査における回収結果

調査票配布数 (※)	回収数	回収率%
395	346	87.6

(※) 有効配布数（事業者数）：重複配布先，一括回答企業，転居先不明を除いたもの

3) 香料使用量に関わる調査研究

香料化合物については，「食品香料化合物データベース 2015」に基づき作成した使用量調査票を用い，平成 27 年（2015 年）1 月～12 月に国内で食品香料製造に使用した香料化合物の量について，食品香料を製造している会社 136 社から回答を得た。天然香料については，IOFI より提供された「NFCs Poundage Survey List」から日本における天然香料基原物質に該当する品目のうち FEMA GRAS リスト収載品を選択して独自に作成した調査票を用いて香料化合物と同様に調査を行った。

得られた回答については内容・数量等を精査した後，使用量を集計し，香料化合物については IOFI の「CDS Poundage Survey List（CDS : Chemical Defined Substance）」に転記した。また天然香料については「NFCs Poundage Survey List（NFC : Natural Flavoring Complex 天然フレーバー複合物質）」に記入し，ともに IOFI への報告を行った。

2. マーケットバスケット方式による香料の摂取量調査の検討

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装置を用いて，マーケットバスケット方式調査用加工食品群試料（MB 試料）中に含まれるエステル系香料を分析し，20 歳以上の成人の喫食量データを基に，摂取

量推計を行った。

1) DHS-GC/MS 測定条件

DHS 側条件 サンプルカップ温度：80°C，サンプルニードル温度：80°C，バルブオープン及びトランスファーライン温度：125°C，パージ時間：8 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：Stabilwax 60 m × 0.32 mm I.D. 膜厚 0.5 μm，カラム温度：40°C (1 min)→3°C/min→70°C(5 min)→20°C/min→250°C，注入口温度：200°C，インターフェース温度：230°C，イオン化法：EI，イオン化電圧：70 eV，測定モード：SIM，測定質量数：酢酸イソアミル *m/z* 87，酢酸エチル *m/z* 88，酢酸ブチル *m/z* 73，酢酸プロピル *m/z* 61，プロピオン酸エチル *m/z* 102，2-メチル酪酸エチル *m/z* 102，酪酸エチル *m/z* 116，酢酸-*d*₃エチル *m/z* 91，酪酸-4,4,4-*d*₃エチル *m/z* 119，酪酸-*d*₃-3-メチルブチル *m/z* 90。

2) DHS-GC/MS 用試験溶液の調製

MB 試料約 1.0 g を 40 mL の VOA バイアルに量り採り，攪拌子，塩化ナトリウム 5 g 及び水 10 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 10 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。

3. 食品香料についての遺伝毒性評価予測システムの研究

1) Ames試験の被験物質

6-amyl-2-pyrone，2-pentylfuran，

2-methyltetrahydrofuran-3-one，linalool oxide，2-isopropenyl-5-methyl-5-vinyltetrahydrofuranは，いずれも東京化成工業(株)製。

2-methyltetrahydrofuran-3-oneは注射用水(株)大塚製薬工場)に，その他の4化合物はdimethylsulfoxide (DMSO；和光純薬工業(株))に溶解して用いた。

陽性対照物質は，S9mix存在下，TA1535とWP2*uvrA*については2-aminoanthracene (2AA；和光純薬工業(株))を，TA100，TA98，TA1537についてはbenzo[a]pyrene (B[a]P；和光純薬工業(株))を用いた。S9mix非存在下ではTA100，TA98，WP2*uvrA*については2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide (AF-2；和光純薬工業(株))を，TA1535についてはsodium azide (NaN₃；和光純薬工業(株))を，TA1537については2-Methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)-aminopropylamino]acridine · 2HCl (ICR-191；Polysciences, Inc.)を用いた。NaN₃は注射用水に，その他はDMSOに溶解し，所定の濃度に調製したものを-20°C以下で冷凍保存し，用時解凍して用いた。

2) 検定菌

ネズミチフス菌4菌株，TA100，TA1535，TA98，TA1537及び，大腸菌WP2*uvrA*を試験に用いた。

3) 試験操作

Amesらの標準法を参考にして，プレインキュベーション法により，用量設定試験と本試験を各1回実施した。

4) 試験用量

用量設定試験においては，1.22，4.88，19.5，78.1，313，1250，5000 μg/plateの7用量を設定した。2-methyltetrahydro furan-3-one

以外は生育阻害が見られたので、本試験では生育阻害が認められた最低用量を最高用量に設定し公比 2 の 6 用量で実施した、2-methyltetrahydrofuran- 3-one は 5000 µg/plate を最高用量とし、公比 2 の 5 用量で実施した。

4. 食品添加物公定書一般試験法の改良に関する調査研究

1) 調査対象

- ・第 9 版食品添加物公定書案(公定書 9 版案)
- ・米国薬局方の米国食品化学物質規格集 第 10 版(FCC10: Food Chemicals Codex, 10th Edition)
- ・FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議(JECFA: Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives)の食品添加物規格総合概論 第 4 巻(JECFA vol4: Combined Compendium of Food Additive Specifications volume 4)

2) 調査方法

(1) 一般試験法の項目による比較

公定書 9 版案一般試験法項目と FCC10 及び JECFA vol4 における試験法との比較を行い、FCC10 及び JECFA vol4 における試験法には記載があるが公定書 9 版案には記載のない一般試験法項目について一覧表を作成した。

(2) 個別一般試験法の内容についての比較

近年使用頻度が高まっている質量分析計を検出器として用いる試験法や、現在は各条規格に個別に設定されているが、一般試験法としての規格設定の検討を要すると考えられる残留溶媒試験法(Residual Solvents)について、試験の内容の比較を行い、公定書では設定がされていない事項等を確認した。

5. 赤外スペクトル測定法に関する調査研究

測定試料のモンテルカストナトリウムは、市販品(ナカライテスク社製)を用いた。この試料について、ATR 法により IR を測定した。測定に用いる装置による違いを検討するため、2 社(A 社, B 社)の機器メーカーの装置で測定し、また、プリズムの違いを検討する目的で、ダイヤモンドプリズム、ZnSe プリズム、Ge プリズムでの測定を行った。さらに、ATR 補正機能の違いについても検討を行った。

本研究での ATR 法の測定には、A, B 社ともに、一回反射 ATR 装置(入射角 45°)を用い、分解能は 4 cm⁻¹、測定領域は 4000~600 cm⁻¹(Ge プリズムのみ 4000~700 cm⁻¹)で測定を行なった。また、それぞれについて、解析ソフトで ATR 補正を行った。

6. 鉛及びヒ素の同時分析法に関する研究

1) ICP法による鉛及びヒ素の定量

試験溶液、標準溶液及び空試験溶液につき、ICP-AES法により次の波長における発光スペクトル線の発光強度を測定した。

220.353nm : Pb

193.76nm : As (III) , As (V)

2) 鉄共沈法による鉛及びヒ素の抽出法の検討

塩化ナトリウムまたは塩化カリウムに Pb・As混合標準原液を添加し、硝酸(1→100)溶液 20 mL を加え溶かし、アンモニア水で pH9 となるように調整した試料液に次亜塩素酸水 0.2 mL、鉄溶液 0.5 mL、1 M 酢酸アンモニウム溶液 5 mL を加え、アンモニア水で pH9 に調整した後、10 分静置した。必要に応じて遠心分離(3000 rpm, 5 分間)し、沈殿を回

収した。得られた沈殿を水10 mLで洗浄し、硝酸（1→10）溶液1 mLを加え、沈殿を溶かし、水で10 mLとし試験溶液とした。1) ICP法によるヒ素、鉛及び鉄の定量に従い測定し、検量線より、試験溶液中の鉛及びヒ素の濃度を算出し、鉛及びヒ素の添加回収率を求めた。

試料液のpH、次亜塩素酸ナトリウム溶液添加量及び鉄添加量について検討を行った。

（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

1. 香料規格及び食品添加物の摂取量推計に関する研究

1) 香料化合物規格の国際整合化に関わる調査研究

(1) 実測値 (II) と JECFA 規格との比較

a) 実測値 (II) の調査品目の選定

平成 27 年度の実測値 (I) の調査で、追加の調査が必要と思われた 52 品目に対して実測値 (II) の調査を行った。

b) 実測値 (II) の収集のための調査票の検討及び調査の実施

調査対象規格項目：含量、含量の範囲（異性体）、定量法、屈折率、比重、酸価、融点・凝固点、（比）旋光度（測定条件）

対象機関：平成 22 年度の使用量調査時に使用報告のあった会社

c) 調査結果の集計と各規格項目の比較

調査対象の 52 品目すべてで 1 製品以上の測定値が得られた。各測定値と JECFA 規格の比較整理を行い、検証結果を総合的に検討した。JECFA 規格を満たしているものは 5 品目、満たしていないものは 47 品目であった。満たしているものの中、1 品目は屈折率

が JECFA 規格の上限値のため、規格変更が望ましいと思われた。満たしていない 47 品目中で実測値より JECFA 規格の修正が必要と判断したものは 35 品目であった。融点、屈折率、比重が混在したため、もしくは異性体の取り扱いが不明なため、規格設定できなかったものが 12 品目あった。

(2) JECFA 規格と実測値 (I) の比較

a) 実測値 (I) 調査品目の選定

調査対象品 1088 品目中、実測値調査を行っていないものの中から、使用量の多い 200 品目を実測値 (I) の調査品目とした。

b) 実測値 (I) の調査のための調査票の検討及び実施

調査対象規格項目：含量、含量の範囲、定量法、屈折率、比重、酸価、融点・凝固点、（比）旋光度（測定条件）

対象機関：平成 22 年度の使用量調査時に使用報告のあった会社

c) 各規格項目と JECFA 規格との比較

調査対象の 200 品目のうち、183 品目でデータが得られた。得られなかった 17 品目については、次年度実測値 (II) の調査対象品目とし、本年度は検討しなかった。各項目の検証結果を総合的に検討した。JECFA 規格項目が問題なしと判定された品目は 32 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 8 品目であった。JECFA 規格に合致しているが、JECFA 規格の上限値もしくは下限値のため、規格変更が望ましいものは 11 品目、実測データが 2 つで JECFA 規格に合致しているが、JECFA 規格の上限値もしくは下限値のため、規格変更が望ましいものは 2 品目、また JECFA 規格を満たさないが本年度の実測値 (I) で規格案が設定でき

たものは 53 品目、JECFA 規格を満たさずデータ数が 2 つであったものの本年度の実測値 (I) で規格案が設定できたものは 13 品目であった。これら 119 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。これらを除く 81 品目は次年度、実測値 (II) の調査を行う必要があると思われるが、今回データが得られなかったものもあることを踏まえ、使用量の確認をする必要もあると考える。

(3) 問題点の整理

異性体混合物の GC 法による含量測定の場合、その多くはどのピークを合算するのか明確にされていない。また、規格項目自体の妥当性に由来する不一致は、屈折率、比重、融点・凝固点、酸価、旋光度等において多数見られた。

規格の幅に関しても、屈折率等通常ある程度の幅が必要な項目に対して、1 点の規格が設定されているもの、幅が著しく狭いもの、逆に著しく広いものも存在した。また実測値の多くが JECFA 規格の上限値もしくは下限値のものがあった。そのような場合、JECFA 規格に合致はしているが、変更した方が良いという判断を行った。これにより将来高純度品が流通しても問題発生が少なくなると思われる。

屈折率、比重、旋光度の測定温度が統一されていない点も問題と考えられた。上記の問題については必ずしも JECFA 規格が誤っているわけではないが、測定条件が統一されていない場合は、測定者の負担増となることから修正が望ましい。今後の各国での調査結果も踏まえ、JECFA にガイドライン作成を提案する必要があると考えられる。

2) 生産量統計を基にした食品添加物摂取量の推定に関わる研究

—指定添加物の摂取量調査—

(1) 調査結果のまとめ方、査定

前回までと同様に、ADI との比較において、一人一日摂取量で問題となる品目は無かった。これらは指定添加物につき、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につき、集計、点検、再度のアンケート等を行い、生産流通量を整理した後、約 1 年かけて食品添加物別に一日摂取量を求めるための作業を進めた結果である。最終作業の内容は、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。

(2) アンケート申告数値の取扱い

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を対象とした。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。本調査研究では、食添グレード品の出荷量あるいは食品向け出荷量の積算値の根拠を、アンケート集計結果に基づいて行っているのであるが、一方で事業者からの申告値に拘束されてしまいがちでもある。報告の有無、数値ミスなどがまず勘案されなければならないが、さらに、整理された積算値に大きな間違いがないかどうかを確認するため、業界誌あるいは研究員の市場見積り値との整合性を検証することがどうしても必要である。作業に3年間を要する理由でもある。

(3) 使用査定量

最終集計値の見積もりの際には最新の食品

産業統計等による加工食品の生産変動等を考察し、アンケートにおける申告集計を基に、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。

このアンケート集計でもっとも注意する必要があるのが、生産され、出荷された食品添加物グレード品を純度の高い原材料として用い、新たに別の添加物が製造されるケースであり、調査しないと二重積算となる。リン酸が良い例で、リン製造所から食添グレードのリン酸が販売され、リン酸化合物メーカーが購入して各種リン酸塩を合成している。

(4) 摂取量と一人一日平均摂取量

食品添加物は一般の加工食品及び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。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及び食

べ残し等が発生する。本調査では、人の口に入らない食品添加物量を原則として 20%と見積り、単純な摂取量は使用査定量の 80%を基本として算出されているが、本報告書では輸入食品を勘案しなければならない対象添加物がある。

摂取量までの数値は、原則として有効数字 3 桁としている。年間の国民全体の摂取量から一人一日平均摂取量を求める計算は、今回であれば、平成 25 年人口 12,700 万人で除し、さらに 365 (日) で除している。一人一日摂取量は mg 数となる。総供給量の査定にあたっては随所で四捨五入によって桁数を丸めている。一人一日摂取量計算については、計算上算出されたものは、原則、有効数字 3 桁 (摂取量が 0.1mg 未満のものは 2 桁、0.01mg 未満のものは 1 桁) で表示してある。

5) 出荷量、使用査定量、摂取量の例示と査定の必要性

表1に出荷量の上位ランキング10品目を例示し、標記の3数値を示す。

表1 申告値集計上位10品目添加物の使用査定量と摂取量計算の対比例(第11回分)

食品添加物名	食品向け出荷量 (申告値) (t)		使用査定量 考察値 (t)	摂取量 (t)
塩酸	177,834	>	100,000	-
二酸化炭素	160,426	=	160,426	19144
酢酸デンプン	142,432	=	142,432	113,946
次亜塩素酸ナトリウム	107,562	>	200	-
L-グルタミン酸ナトリウム	103,070	<	120,000	96,000
水酸化ナトリウム	68,265	>	68,000	-
D-ソルビトール	54,580	<	76,040	51,710
ヒドロキシプロピル化リン酸 架橋デンプン	47,878	=	47,878	38,302
リン酸架橋デンプン	37,389	=	37,389	29,911
酸化デンプン	26,911	=	26,911	21,529

食品向け出荷量は企業の添加物毎の申告値の積算量である。アンケート回答からみると、

食品グレード品の出荷量のうち、実際に食品に使用されている量が正確に把握できていないケースもあると考えられる。「使用査定量」及び「摂取量」はアンケートで申告された食品向け出荷量をもとに（この数値には使用対象不明の医薬品向け、再合成原材料向けも含まれると考えて）、実際に製造に使用された量、実際に人の口に入る量を査定した数値である。一般の指定統計ではこのような査定をするシステムにはなっていない。

－輸入食品中の食品添加物－

平成 25 年度にはわが国は約 3,100 万 t の食品を輸入している、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亜硝酸ナトリウム、硝酸カリウム、硝酸ナトリウムの 3 種類の発色剤、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 2 種類の酸化防止剤を対象とした。

今回の調査では、保存料の安息香酸、安息香酸ナトリウム、ソルビン酸、ソルビン酸カリウム、ソルビン酸カルシウム、デヒドロ酢酸ナトリウム、ナイシン、パラオキシ安息香酸エチル、パラオキシ安息香酸ブチル、パラオキシ安息香酸プロピルの 10 種類を対象品目とした。

保存料10品目の輸入食品中の含有量推定値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安息香酸570%、安息香酸ナトリウム3.8%、ソルビン酸が11.3%、ソルビン酸カリウムが3.1%、ソルビン酸カルシウムが0%、デヒドロ酢酸ナトリウムが0%、ナイシンが0%、パラオキシ安息香酸エチルが

0%、パラオキシ安息香酸ブチルが0%、パラオキシ安息香酸プロピルが0%であった。安息香酸は食品向け出荷量が無く、輸入食品中に約5.7 tと推定したが、安息香酸ナトリウムと合算してみると12.6 t (6.9%)であった。また、ソルビン酸及びソルビン酸カリウムが多かったが、摂取量としては影響がない量になると考えられる。

－既存添加物の製造・輸入量調査－

出荷量の多かったものは、製造用剤ケイソウ土 (57,054 t)、製造用剤生石灰 (48,600 t) 製造用剤活性白土 (31,837 t)、着色料マリールゴールド色素 (28,028 t)、製造用剤トレハロース (26,004 t)、製造用剤パーライト (16,300 t)、着色料カラメル 1 (13,757 t)、製造用剤活性炭 (9,903 t)、着色料トウガラシ色素 (9,827 t) 製造用剤ヘキサン (8,402 t) 等であった。

既存添加物の場合、少量需給品の場合が多いため、自社の製品リストにはあるが、注文があったときだけ製造するため、調査年次には発注がなかったというケースがある。また、ある年に製造し数年間は販売のみ行っているような場合、調査年次に出荷がなければゼロとして報告されるケースもある。いずれも少量生産品目と推定されるが、出荷がないからといって市販流通がないとは一概に言えない。

3) 香料使用量に関わる調査研究

－香料化合物（合成香料）使用量調査－

有効回答会社 44 社から回収された回答データの整理、精査、検討を行った。

(1) 日本で使用されている食品香料化合物の品目数と年間使用量

我が国における香料化合物の総使用量は 1,248.99 t であり、前回調査(平成 22 年)の

1,249,27 tと比較してほぼ同じだった。また FEMA GRAS 品目は 1,538 品目 (IOFI への報告は 1,445 品目), 1,240.99 t であった。

(2) 日本の香料化合物リストと IOFI のフレーバー物質リストの違いについて

日本では香料化合物に該当しないが IOFI の調査リストに記載されている物質が 208 品目あった。日本では天然香料に属するもの、類別香料に該当しない未認可の香料物質の他、他の添加物用途で使用されている品目もある。この違いは、日本の香料化合物リストには着香の目的で使用されている物質が記載されているのに対して、IOFI の調査リストの元になる FEMA GRAS リストには香料製剤の副剤などに用いられる物質も含まれているためと考えられる。

ー天然香料使用量調査ー

有効回答会社 49 社から回収された回答データの整理、精査、検討を行った。

(1) 日本で使用されている FEMA GRAS 記載の天然香料の品目数と年間使用量

我が国における FEMA GRAS 記載の天然香料は濃縮度(fold)により細分化された項目まで含めると 254 品目が使用されており、総使用量は 1,403.05 t であった。過去我が国では数次にわたる香料化合物使用量調査、及び平成 27 年度厚生労働科学研究で天然香料基原物質リスト記載の全天然香料について総使用量の調査を実施しており、天然香料の使用量は香料化合物よりはるかに多かったことが明らかになっているが、今回の FEMA GRAS 記載物質に限った調査においても、香料化合物より天然香料の使用量が多いことが分かった。

2. マーケットバスケット方式による香料の

摂取量調査の検討

1) MB 方式による一日摂取量の推計

今回調査したエステル系香料のうち、最も一日摂取量が多かったのは酢酸エチル 1.896 mg/人/日であり、その他の香料はプロピオン酸エチル 0.050 mg/人/日、酢酸プロピル 0.041 mg/人/日、酪酸エチル 0.125 mg/人/日、2-メチル酪酸エチル 0.025 mg/人/日、酢酸ブチル 0.047 mg/人/日、酢酸イソアミル 0.150 mg/人/日であった。酢酸エチルは全ての食品群から検出された。特に 1 群調味嗜好飲料、5 群油脂類・乳類、6 群砂糖類・菓子類、7 群果実類・野菜類・海藻類に多く含まれていた。酢酸エチルは食品成分としてワイン等に含まれるとの報告があり、天然由来の食品成分と添加香料の合計量と考えられた。その他の香料は、主に 1 群、5 群及び 6 群 試料に含まれていたが、一日摂取量は酢酸エチルに比べて少ない量であった。

平成 24 年度厚生労働科学研究における食品香料化合物の使用量及び摂取量に関わる調査研究では、酢酸エチル 18.444 mg/人/日、プロピオン酸エチル 9.273 mg/人/日、酢酸プロピル 2.006 mg/人/日、酪酸エチル 1.299 mg/人/日、2-メチル酪酸エチル 2.305 mg/人/日、酢酸ブチル 4.176 mg/人/日、酢酸イソアミル 1.102 mg/人/日と推計されており、今回の調査結果は、使用量による摂取量推計の結果より低い結果となった。一般に生産量や使用量に基づく推計では生産・流通や食品廃棄によるロスも含まれるため摂取量が多く推計される傾向があり、MB 方式による一日摂取量が低くなったと考えられた。

2) 一日摂取量の ADI との比較

FAO/WHO 合同食品添加物専門家委員会 (JECFA) で ADI (mg/kg 体重/日) が定め

られている食品添加物について、ADI (mg/kg 体重/日) に対する体重あたりの一日摂取量 (mg/kg 体重/日) の割合 (対 ADI 比) を求めた。体重あたりの一日摂取量 (mg/kg 体重/日) は、一人あたりの一日摂取量 (mg/人/日) を国民全体の平均体重 (55.1 kg) で割って求めた。なお、酢酸ブチル、酢酸プロピル、プロピオン酸エチル、2-メチル酪酸エチルに関しては、JECFA において「Acceptable」と評価しているため、算定から除外した。

ADI が設定されている酢酸イソアミル (0-25 mg/kg 体重/日)、酢酸エチル (0-15 mg/kg 体重/日)、酪酸ブチル (0-3 mg/kg 体重/日) について対 ADI 比を求めたところ、対 ADI 比が最も高かった香料は酢酸エチルの 0.14% であり、酪酸ブチルは 0.01%、酢酸イソアミル 0.05% であった。いずれも ADI を大きく下回っていた。

MB方式による一日摂取量推計では、流通する食品を食品喫食量リストに基づき購入し、分析する必要があるため、分析調査可能な香料の種類や数に制約があり、現在流通する様々な香料をまとめて調査するのは難しい。しかしながら、天然由来の食品成分に含む平均的な香料の一日摂取量調査結果が得られ、従来の摂取量推計法では新しい知見を得ることができた。このため、従来の香料の一日摂取量評価手法を補完する役割を果し、今後の食品衛生の向上することが期待される。

3. 食品香料についての遺伝毒性評価予測システムの研究

6-amyl-2-pyrone, 2-pentylfuran, linalool oxide, 2-isopropenyl-5-methyl-5-vinyltetrahydrofuran については、用いたいずれの検定菌においても、S9 mix の有無にか

かわらず、陰性対照値の 2 倍以上となる変異コロニー数の増加は認められなかった。一方、2-methyltetrahydrofuran-3-one は、TA100 と TA98 において S9mix 非存在下で陰性対照値の 2 倍以上となる変異コロニー数の増加が認められた。比活性値は TA100 において 45 rev./mg であり遺伝子突然変異誘発能は弱いものと考えられた。

本研究課題では、これまでに 126 の香料についての、SAR モデルによる Ames 試験の判定予測と簡易 Ames 試験 (FAT) 結果を得ている (表 3(a))。

表 3 SAR モデルによる Ames 試験の判定予測と実施した試験結果の相関 (126 物質について)

(a) FAT のみ実施していた時の相関

		SAR 予測	
		陽性	陰性
FAT 結果	陽性	1 2	1 2
	陰性	4 2	6 0

(b) Ames 試験実施結果により補正した相関

		SAR 予測	
		陽性 (補正 2)	陰性 (補正 1)
Ames/FAT 結果	陽性	1 1	2
	陰性	4 3	7 0

補正 1: SAR 予測陰性/FAT 結果陽性の 10 物質について Ames 試験を実施した結果、すべて陰性であったため、SAR 予測陰性/FAT 陽性から 10 物質を除き (12→2)、SAR 予測陰性/FAT 陰性に 10 物質を加える (60→70) 補正を行った。

補正 2: SAR 予測陽性/FAT 結果陽性の 2 物質と SAR 予測陽性/FAT 結果陰性の 3 物質について、Ames 試験を実施した結果、SAR 予測陽性/FAT 結果陽性の 2 物質のうち 1 物質が陰性であったことから、SAR 予測陽性/実施試験結果陽性から 1 物質を除き (12→11)、SAR 予測陽性/実施試験結果陰性に 1 物質を加える (42→43) 補正を行った。

表 3(b)の補正 1 は 3 種類の SAR モデルにおいていずれも「陽性のカテゴリではないもの」と判断された 72 のうち、FAT の結果が陽性になった香料 12 種類から 10 物質を選んで実施した Ames 試験 (2 菌株) が陰性だったことを反映させたものである[平成 27 年度分担研究報告書「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」山田雅巳]。今回、SAR 予測陰性の物質同様、この表の中で SAR 予測が陽性だった物質 (12 物質と 42 物質の合計 54 物質) についても Ames 試験を実施する必要があると考えた。

この 54 物質の中で FAT の結果を無視して、Ames 試験のデータがなく、同一メーカーの市販品が入手できる 20 物質について、類縁化合物等の参考文献を調査し、結果の予測が難しいと考えられた(データがない) 5 物質、6-amyl-2-pyrone , 2-pentylfuran , 2-methyltetrahydrofuran-3-one , linalool oxide , 2-isopropenyl-5-methyl-5-vinyl tetrahydrofuran を選んで、標準の 5 菌株を用いた Ames 試験を実施した。その結果、5 物質中 1 物質が陽性の結果となったので表 3 の(b)で補正 2 を加えた。この香料を陽性と予測した SAR モデルは MultiCASE のみだった。

一般的に、Ames 試験が陽性になる化合物は全体の約 10%であることを考えると、5 物質中 1 物質が陽性というのは、通常より陽性の割合が高かったことになり、SAR 予測陽性の香料を優先して Ames 試験を実施してゆくことが望ましいことが示唆されたと考える。さらに、物質数を増やして Ames 試験を実施し検証する必要があるだろう。

4. 食品添加物公定書一般試験法の改良に関する調査研究

公定書 9 版案、FCC10 及び JECFA vol4 における試験法の比較を行った。

1) 一般試験法の項目による比較

FCC10 及び JECFA vol4 における試験法と公定書 9 版案における一般試験法との比較を行い一覧表を作成した。その結果、試験法の大項目は公定書 9 版案にも FCC10 や JECFA vol4 と同様の設定があるものの、その中の細かい試験項目の一部は設定されていない場合が見受けられた。公定書 9 版案に記載される添加物品目では設定の必要のない項目であっても、今後国外から指定要請される添加物品目によっては、試験項目の設定が必要となる可能性も考えられた。

公定書の一般試験法で設定のない項目の内、残留溶媒試験法については、いくつかの各条品目に設定されており、試験法の操作方法の再検討も含めて一般試験法へ設定することを検討するのがよいと考えられた。

2) 個別一般試験法の内容についての比較

さらに、質量分析計を検出器として用いる試験法、及び今後一般試験法として規格設定を検討すべきと考えられる残留溶媒試験法について、試験項目の内容を調査し比較した。調査の結果、FCC10 や JECFA vol4 では、近年質量分析計を検出器として用いる試験法項目の記載が追加されていることが分かった。また、残留溶媒試験法は、FCC9 や JECFA vol 4 では一般試験法に項目があるが、公定書 9 版案の一般試験法では項目が設定されていない。しかしながら、公定書のいくつかの添加物品目の各条規格では、既に個別に試験法が設定されている。これら公定書各条内の試験法は、FCC9 や JECFA vol4 の一般試験法とは異なるものの、むしろ十分な検討を行った上で設定された試験法もあり、これら既に各

条で採用されている残留溶媒試験法の例を含め、さらに試験方法の再検討を行った上で、今後一般試験法の設定を検討するのがよいと考えられた。

5. 赤外スペクトル測定法に関する調査研究

本研究では、食品添加物等の国内規格基準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、第17改正日本薬局方においてATR法が採用されているモンテルカストナトリウムを取り上げ、ATR法によるIR測定法を検討した。

1) 測定装置による違いに関する検討

測定に用いる装置による違いを検討するため、2社の機器メーカーの装置でダイヤモンドプリズムを用いて測定した。

その結果、A社のスペクトルとB社のスペクトルは、全体の強度は異なるものの、ピークの相対強度や波数はほぼ一致し、同じプリズムを用いたATR測定においては、機器メーカー間での差はほぼ無いものと考えられた。

2) プリズムの違いに関する検討

ATR法は、プリズムと試料の境界面で入射光が全反射する際に、試料への光のもぐり込みが生じ、その時の光の吸収を測定している。もぐり込み深さはプリズム、試料の屈折率に依存するため、プリズムによってもぐり込み深さが異なり、スペクトルが異なる可能性が考えられる。そこで、プリズムによる違いを検討するため、A社の装置において、ZnSeプリズム、Geプリズムでも測定を行った。その結果、ZnSeプリズムでは、ダイヤモンドプリズムでのスペクトルとほぼ一

致したが、Geプリズムでは、全体にピーク強度が弱く、特に高波数側では、他のプリズムでは観察されたピーク(2920 cm⁻¹, 2970 cm⁻¹付近)が、ピークとして認識できないほど小さかった。従って、ATR測定においては、プリズムによって違いが有ると考えた。

3) ATR補正機能の違いに関する検討

ATR法は原理的に、ピーク強度が波数に依存し、低波数側ほどピーク強度が大きくなるため、一般に、機器メーカーの解析ソフトには、ATR補正機能が備わっている。そこで、機器メーカー間でのATR補正機能の違いについて比較検討を行った。今回は、ダイヤモンドプリズムでのスペクトルについてATR補正を行った。その結果、A社のATR補正後のスペクトルに比べ、B社のATR補正後のスペクトルでは高波数側(3000 cm⁻¹以上)が低くなるなど、両者は一致しなかった。従って、ATR補正機能は機器メーカーにより違いがあるものと考えた。

第17改正日本薬局方において、ATR法の測定法としては「ATR(減衰全反射)プリズム面に試料を密着させ、その反射スペクトルを測定する。」とあり、今回扱ったモンテルカストナトリウムのATR法での確認法は、標準品との比較となっている。本研究で得られた結果より、食品添加物の測定法をATR法で規定する場合は、ATR補正を行わない、生スペクトルの測定結果を用いる必要があり、確認法として参照スペクトルとの比較、或いは波数規定を行う場合は、プリズムの種類や補正の有無などの条件を規定する必要があると考えられた。条件の既定を行わない場合は、同一条件で測定することを前提として標準品との比較が妥当であると考えられた。なお、今回は、入射角45°の一回反射

の条件でしか検討できなかったが、ATR モジュールとして、多重反射型や入射角可変型の製品も市販されており、今後、これらのモジュールの可否も含め、規定を検討する必要があると考えられた。

6. 鉛及びヒ素の同時分析法に関する研究

1) ICPによる鉛及びヒ素の同時測定

Pb・As混合標準液を用いて、ICPにより測定し検量線を作成したところ、ヒ素は0.075～1.5 µg/mL、鉛は0.025～1 µg/mLの範囲で $R^2>0.999$ の良好な直線性が得られた。

2) 鉄共沈法による鉛及びヒ素の抽出法の検討

(1) pHの検討

ヒ素 (III) とヒ素 (V) では、形態により鉄との共沈しやすさが異なることから、塩化ナトリウム2 gに鉛及びヒ素を添加 (Asとして3 µg/g, Pbとして2 µg/g相当添加) し、次亜塩素酸ナトリウム溶液を加えてヒ素 (III) をヒ素 (V) にした後、pHを9に調整し、鉄共沈を行った。その結果、鉛及びヒ素で90%以上の回収率が得られた。そこで、試料に塩化カリウムを用い、同様に次亜塩素酸ナトリウム溶液を加え、pH1～11に調整した後、鉄共沈法を行ったところ、pH9で鉛及びヒ素で90%以上の回収率が得られた。以上の結果から、試料液はpH9に調整し鉄共沈法を行うこととした。

(2) 次亜塩素酸ナトリウム溶液添加量の検討

鉄共沈法における次亜塩素酸ナトリウム溶液量の最適化を行うため、塩化ナトリウム及び塩化カリウムに2 gに鉛及びヒ素を添加 (Asとして3 µg/g, Pbとして2 µg/g相当添加) し、0～2000 µLの次亜塩素酸ナトリウム溶液を加え、鉄共沈法を行ったところ、次亜塩素

酸ナトリウム溶液を加えないものでは鉄の沈殿が生成せず、次亜塩素酸ナトリウム溶液を加えたもの (200～2000 µL) では沈殿が生成した。得られた沈殿を精製し、鉛及びヒ素の回収率を求めたところ、無添加の場合は鉛及びヒ素の回収率が10%以下であったが、200 µL以上ではいずれも80%以上の回収率が得られた。以上の結果から、次亜塩素酸ナトリウム溶液は、ヒ素 (III) をヒ素 (V) とし、鉄と共沈させるために添加する必要があるが、添加する量は回収率に大きな影響を与えないと考え、次亜塩素酸ナトリウム溶液の添加量は200 µLとした。

(3) 鉄添加量の検討

鉄共沈法における次亜塩素酸ナトリウム溶液量の最適化を行うため、塩化ナトリウム及び塩化カリウム2 gに鉛及びヒ素を添加 (Asとして3 µg/g, Pbとして2 µg/g相当添加) し、次亜塩素酸ナトリウム溶液200 µLを加え、鉄溶液 (鉄として50～2000 µg) を加え、鉄共沈法を行ったところ、いずれの試料においてもヒ素では400 µg以上の鉄の添加で80%以上、鉛では200 µg以上の鉄の添加で90%以上の回収率が得られた。鉄の添加量を1000 µg以上に増やした場合、ICP測定の際、鉄マトリックスの干渉を受けやすく、測定値のばらつきが見られたことから、1000 µg以下が望ましいと考えた。そこで、塩化カリウムを試料とし、鉄溶液を鉄として50～1000 µgの範囲で添加し、鉛及びヒ素の回収率 (n=3) を求めたところ、ヒ素は鉄200 µg以上で90%以上、鉛は鉄100 µg以上で90%以上の回収率が得られ、500 µg以上では回収率のばらつきが小さかった (標準偏差 < 3%)。以上の結果から、鉄添加量は500 µgとした。

D. 結論

1. 香料規格及び食品添加物の摂取量推計に関する研究

1) 香料化合物規格の国際整合化に関わる調査研究

本年度、2つの調査を行った。1つ目は、平成27年度の実測値(I)の調査でさらなる調査が必要と判断された52品目の実測値(II)の調査である。その結果、4品目はJECFA規格で問題なく、1品目はJECFA規格では上限値もしくは下限値のため修正が必要、35品目はJECFA規格の修正が必要、12品目はより詳細な検討が必要と考えられた。

2つ目は、自主規格とJECFA規格との比較により、規格に問題を持つ可能性のある品目の中から200品目の実測値(I)の調査である。その結果40品目はJECFA規格で問題なし、13品目はJECFA規格では上限値もしくは下限値のため修正が必要なもの、66品目はJECFA規格の修正が必要、81品目はさらなる調査が必要と考えられた。

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

第11回の指定添加物の摂取量の推定では、国民1人が1日に摂取する指定添加物量は、過去の調査結果と大きく外れるものではなく、またADIとの比較からも問題がなかった。

輸入食品中の食品添加物含有量推定では、保存料の安息香酸、安息香酸ナトリウム、ソルビン酸、ソルビン酸カリウム、ソルビン酸カルシウム、デヒドロ酢酸ナトリウム、ナイシン、パラオキシ安息香酸エチル、パラオキシ安息香酸ブチル、パラオキシ安息香酸プロピルの量を推計し、国内における出荷量調査と比べた結果、いずれも摂取量としては影響がない量になると考えられた。

既存添加物に関しては第6回の調査として、平成26年度の実測値統計調査をまとめた。

3) 香料使用量に関わる調査研究

我が国における香料化合物(合成香料)及び天然香料の使用量調査を実施した。過去、香料化合物については平成13年、平成17年及び平成22年に日本で使用された香料化合物の品目及びその使用量について実態調査を行った。

天然香料については、IOFIの調査リストのうち日本の天然香料基原物質に該当するFEMA GRASリスト掲載品目について日本独自の調査票を作成し、天然香料としては初のグローバル使用量調査に協力した。本調査によって、我が国において使用されていた香料化合物の総数は1,938品目、年間総使用量は約1,249 tであった。このうちFEMA GRASリスト掲載品目については1,538品目(FEMA番号としては1,445品目)、1,241 tであった。また天然香料については、FEMA GRASリスト掲載品目のみの調査ではあったが使用されていた総数は濃縮物(fold品)を含め254品目、年間総使用量は約1,403 tであった。

2. マーケットバスケット方式による香料の摂取量調査の検討

流通食品からの香料の摂取量の実態を明らかにするため、MB方式による香料の一日摂取量の推計について検討した。エステル系香料を対象にDHS-GC/MSを用いて分析したところ、一部の揮発性の低い香料において測定不能となったが、揮発性の高い酢酸エチル、酪酸エチル、酢酸イソアミルについては概ね良い分析精度が得られた。

MB方式による香料の一日摂取量は、酢酸エチルが最も高く、1.896 mg/人/日であり、

酪酸エチル0.047 mg/人/日，酢酸イソアミル0.086 mg/人/日であった。また，対ADI比が最も高かったのは，酢酸エチル0.14%であり，その他の香料は酪酸エチル0.01%，酢酸イソアミル0.05%であった。いずれの香料もADIを大きく下回ることが確かめられた。

3. 食品香料についての遺伝毒性評価予測システムの研究

SARモデルにより陽性と予測された54物質のうち，5物質についてAmes試験実施のフォローをした。「SARモデルにはアラートの違いがあるため，複数のSARモデルによるAmes試験の陰性予測は正しいと考えてよく，安全性評価をする際には，優先順位を下げてよい。」という考え方に問題はない。

4. 食品添加物公定書一般試験法の改良に関する調査研究

食品添加物公定書一般試験法の改良に向けた検討を行うため，Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) 規格や米国のFood Chemicals Codex (FCC) 等に記載があるが，公定書の一般試験法では採用されていない点について，試験項目の比較及び一部の試験の内容の比較を行った。調査の結果を基に，今後公定書への追加を検討すべきと考えられる試験法について，汎用性及び国際整合の観点から検討したところ，質量分析計を用いる試験法や残留溶媒試験法等が対象となり得ると考えられる。

5. 赤外スペクトル測定法に関する調査研究

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，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，同一の条件で，ATR 補正を行わなければ，機器メーカーによるスペクトルの違いは無いことが確認できた。一方，同一の装置でも，プリズムの種類によりスペクトルが異なる可能性があること，ATR 補正機能は機器メーカーにより違いがある可能性があることを示した。以上より，食品添加物の確認試験に，ATR 法を積極的に取り入れていくべきであるが，確認試験に ATR 法を取り入れる場合は，標準品との比較を行うか，プリズムの種類や補正の有無などの条件を規定した上で参照スペクトルとの比較，或いは波数規定を行うことが必要であると考えられた。

6. 鉛及びヒ素の同時分析法に関する研究

本研究により，ナトリウム塩はカリウム塩の試料に対し，鉄共沈法では，次亜塩素酸ナトリウム溶液 (0.2 mL) を加えてヒ素 (III) をヒ素 (V) にし，鉄溶液 (鉄として500 µg) を添加した後，酢酸ナトリウム溶液を加え，pH9にすることで，ナトリウムやカリウムのような高マトリックス存在下で鉛及びヒ素が鉄と共に共沈し，90%以上の回収率が得られることが明らかとなった。鉄共沈法は非常に簡便で，操作も容易であることから，食品添加物の規格試験の簡便化につながるであろう。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし