

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）

令和元年度総括研究報告書

食品添加物の安全性確保に資する研究

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長

研究要旨

食品添加物の摂取量推計及び香料規格に関する研究

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、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については概ね前回と同様の結果が得られた。

香料使用量に関わる調査研究（天然香料使用量の国際比較）：国際食品香料工業協会（IOFI）の指導の下、日米欧で同時期に実施された使用量調査の欧米のデータの提供を受けたことから、日本の使用量との比較、検討を行った。

香料化合物規格の国際整合化に関わる調査研究：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）により定められた香料化合物規格の検証を行っている。本年度は、これまでの調査で結論が得られなかった品目の追加の実測値（Ⅱ）調査及び JECFA に規格があるが、これまでに調査を行っていない品目の実測値（Ⅰ）調査を行い、実測データに基づく規格案の検討を行った。

マーケットバスケット（MB）方式による低揮発性香料の摂取量調査

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、MB方式による低揮発性香料の一日摂取量調査について検討を行った。エステル系香料を対象に MB 混合試料に含まれる各種香料の含有量を QuEChERS 法により抽出・精製後、ガスクロマトグラフィー質量分析（GC/MS）により分析し、20歳以上の喫食量をもとに推定一日摂取量を算出した。

食品添加物公定書一般試験法の改良に関する調査研究

液体クロマトグラフィー質量分析（LC/MS）を用いる試験法の妥当性を検討するため、ステビオール配糖体の JECFA 規格として記載されている LC/MS の条件を参照し、絶対検量線法及び内標準法により分析を行い、分析精度について調べた。その結果、LC/MS では、選択性が高く S/N 比も良好であったが、測定値のばらつきが大きく、検出限界や定量下限は σ 値を基にして求める方が良いものと考えられた。LC/MS では、対象化合物の検出感度と検出濃度に適した検量線や関係

線の濃度範囲を用いる必要があり、定量対象濃度に対して広すぎないことが重要と示唆された。本研究では、内標準と対象化合物の m/z 値が異なる場合、内標準法の精度は絶対検量線法とほぼ同じであったが、同一 m/z 値を用いる内標準法では約 10 倍精度が高かった。そのため、内標準と対象化合物とで検出感度の変化が同じ傾向を示す場合には、内標準法が精度の向上に有効と推察された。

赤外スペクトル測定法に関する研究

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法について、普及著しい減衰全反射法（ATR 法）も含め、規格設定に関わる調査、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、同一条件での測定を前提とした標準品との比較を行うか、測定試料の特徴も考慮し、品目毎に ATR 法での参照スペクトルとの比較、あるいは波数規定を定めていく必要があると考えられた。

残留溶媒試験法に関する研究

海外規格の一般試験法及び各条並びに公定書の各条における残留溶媒試験について調査を実施した。その結果、国際規格や公定書で共通に使用される残留溶媒試験法としては、蒸留-ガスクロマトグラフィー水素炎イオン化検出（GC/FID）、ヘッドスペース（HS）-GC/FID などがあり、また、定量法としては、内標準を用いた定量法、標準添加法による定量法などが多く設定されていたことから、一般試験法としてこれらの共通に使用されている試験法を設定することが必要であると考えられた。

研究分担者

久保田浩樹 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

物摂取量の推定に関わる研究

食品添加物を実際にどの程度摂取しているかを把握することは、食品添加物の安全性を確保する上で重要なことであり、生産量統計調査を基にした食品添加物摂取量の推定を継続した。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）については、日常生活における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昭和 57 年度より開始された、3 年を 1 クールとする調査研究を行っており、今回は第 12 回目となる。我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 28 年度中の食品添加

A. 研究目的

食品添加物の安全性確保には、一日摂取量の推計や品質を担保するための成分規格の設定が重要であることから、以下の研究を行った。

1. 食品添加物の摂取量推計及び香料規格に関する研究

1) 生産量統計調査を基にした食品添加

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。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、平成12年度に調査研究を開始し、今回の報告は第7回目に当たる。

2) 香料使用量に関わる調査研究(天然香料使用量の国際比較)

平成28年度に実施した国際食品香料工業協会(IOFI)のグローバル使用量調査(調査対象期間2015年1月~12月)で調査した天然香料の欧米での調査結果の提供を受け、IOFIの調査リストにあった天然香料について、欧米との使用量を比較・考察し、日本の天然香料の使用実態を明らかにするとともに天然香料のより良い調査方法を考察することを目的とした。

3) 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。国際機関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)では香料化合物の規格を設定しており、最近規格を設定した多くの国で参照されている。一方、第9版食品添加物公定書の改正作業等においては、国内に流通している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。そのため、JECFA規格の検証を行っている。本年度は、①これまでの調査で更なる検討が必要と判断した166品目のうち、

情報が得られる可能性の高いと思われる45品目の詳細な実測値調査及び②JECFAに規格があるが、平成30年度までに調査を行っていない1100品目のうち、我が国での使用実績が確認されている269品目の調査を行った。

2. マーケットバスケット(MB)方式による低揮発性香料の摂取量調査の検討

実際に流通している食品中の香料の含有量から平均的な一日摂取量を推計するため、我々はダイナミックヘッドスペース-ガスクロマトグラフィー質量分析(GC/MS)を用いて食品中の香料の含有量を分析し、一日摂取量の推計を試みてきた。この分析法は、高揮発性香料の分析調査には有効な調査法であるが、芳香族化合物等の低揮発性香料の食品中からの分析は難しく、分析法の見直しが必要になっていた。

近年、分析技術発展に伴い、農薬の分析等において分散型固相抽出法の1種であるQuEChERS法をGC/MSと組み合わせることで、食品に含まれる化合物を迅速・簡便かつ効果的に分析する方法が開発され、各種食品からの分析に応用されている。この分析法は、食品に含まれる一部香料の分析にも有効と考えられる。そこで、流通する食品中からの香料の摂取量を明らかにするため、QuEChERS-GC/MS分析法を用いてMB方式における香料の一日摂取量推計を検討した。本調査研究の1年目である本年度は低揮発性エステル系香料に着目し調査を行った。

3. 食品添加物公定書一般試験法の改良に関する調査研究—ステビオール配糖体のLC/MSによる分析法の検討—

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、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食品添加物公定書の一般試験法には設定されていない試験法として、質量分析計 (MS) を用いる試験法を導入する場合を想定し、液体クロマトグラフィー質量分析 (LC/MS) による絶対検量線法及び内標準法による分析精度について調べた。

4. 赤外スペクトル測定法に関する研究

赤外スペクトル (IR) 法は、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。また、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基準の向上を目的として、ATR 法も含め、規格設定に関わる調査、検討を行った。

5. 残留溶媒試験に関する調査研究

他方、科学技術の進展等に伴い、我が国と同様に諸外国においても試験法の見直しが行われており、我が国においても諸外国の状況を鑑み、必要に応じて見直しを進めており、直近の事例では、鉛試験法に関して、米国の米国食品化学物質規格集 (FCC11) を参考に改正したところである。

一方、国内規格である日本薬局方 (局方) や日本産業規格 (JIS) においても海外との整合性から試験法の見直しが行わ

れている。一般試験法においても局方や JIS を参考に行っている試験法については、順次比較を行い、見直しを行うことが必要と考えられる。

残留溶媒試験法は食品添加物中に残留する有機溶媒を試験する方法として、FCC11 の General Test and Assays や、JECFA の COMBINED COMPENDIUM OF FOOD ADDITIVE SPECIFICATIONS vol. 4 (JECFA 4) に一般試験法として設定されているが、日本では食品添加物個別の成分規格において残留溶媒の規格が設定されているのみで、一般試験法としては設定されていない。本研究では、公定書における一般試験法としての残留溶媒試験法の設定を目的とし、海外規格における残留溶媒試験法について調査を行い、今後公定書において一般試験法として残留溶媒試験法を設定するための問題点等について考察した。

B. 研究方法

1. 食品添加物の摂取量推計及び香料規格に関する研究

1) 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する研究

(1) 指定添加物の摂取量調査

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。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 28 年度の生産・販売・使用を対象

に調査を行った。

1年目調査(平成29年度)では77.0%、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89.2%となった(表1)。

(2) 既存添加物の製造・輸入量調査

「既存添加物名簿収載品目リスト」に記載されている全品目 365 品目について平成 29 年度の生産・販売・使用を対象に調査を行った。

本調査は、既存添加物の製造・輸入の可能性のある事業者調査票を送付し、製造・輸入を行っているものの品名、製造・輸入の区分、数量について行った。

最終的な調査票の回収率は89.5%となり、製造または輸入していると回答した事業者は243社であった(表2)。

2) 香料使用量に関わる調査研究(天然香料使用量の国際比較)

平成 28 年度に実施した IOFI の使用量調査リストに記載された天然香料の平成 27 年 (2015 年) 1 月~12 月の使用量調査の結果に加え、IOFI から入手した同時期の欧米の使用量調査結果を比較、考察した。

3) 香料化合物規格の国際整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) 平成 30 年度に行った実測値 (I) の調査結果で実測値 (II) 調査が必要となった品目、及び今までの更なる調査でも結論が得られなかった品目の更なる実測

値 (II) 調査と JECFA 規格との比較

(2) JECFA 規格と実測値 (I) の比較

2. MB 方式による低揮発性香料の摂取量調査の検討

1) GC/MS 測定条件

カラム : Stabilwax (60 m×0.32 mm i.d. 膜厚 0.5 μm)、カラム温度 : 40°C(3 min)→5°C/min→250°C(5 min)、注入口温度 : 240°C、インターフェース温度 : 250°C、イオン源温度 : 200°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 : アセト酢酸エチル m/z 88、アントラニル酸メチル m/z 119、エチル ラクテート m/z 75、酢酸イソアミル m/z 70、サリチル酸メチル m/z 120、2-(4-メチル-5-チアゾリル)エチル アセテート m/z 125、酪酸エチル m/z 88

2) 試験溶液の調製

QuEChERS 法 (AOAC 2007.01) を用い、以下の方法により試料調製を行った。試料約 1.0 g を 50 mL 遠心チューブに採り、水 5 mL、内部標準原液 100 μL 及び 1%酢酸アセトニトリル溶液 10 mL を添加し、よく攪拌した。無水硫酸ナトリウム 6 g、無水酢酸ナトリウム 1.5 g を加え、直ちにキャップで密封後、1 分間振とうした後、遠心 (1 分間、1500×g) した。この上清の一部を硫酸マグネシウム 150 mg、PSA 50 mg、C₁₈ 充填剤 50 mg を含んだ 2 mL 遠心チューブに採取し、タッチミキサーで 1 分間攪拌した後、遠心 (1 分間、1,500 回転/分) した。上清を GC/MS バイアルに採取し試験溶液とした。

3. 食品添加物公定書一般試験法の改良に関する調査研究—ステビオール配糖体の LC/MS による分析法の検討—

第 87 回 JECFA 会議にて審議されたステビオール配糖体規格の定量法として記載されている LC/MS 条件を参照した。JECFA 規格の定量法では、LC/MS を定性とピークの分子量推定の目的に使用し、定量計算は紫外吸光光度検出 (UV) によるピーク面積を基に行うこととなっているが、本研究では、LC/MS での課題抽出のため、LC/MS によるピーク面積を用い、液体クロマトグラフィー紫外吸光光度検出 (LC/UV) によるピーク面積を用いた場合と比較した。

4. 赤外スペクトル測定法に関する研究

測定は、分解能 4 cm^{-1} (32 回繰り返す)、測定領域 $4000\sim 600\text{ cm}^{-1}$ で行なった。液膜法の測定には、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。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 $4000\sim 600\text{ cm}^{-1}$ で測定を行った。

5. 残留溶媒試験に関する調査研究

1) 国際規格における一般試験法の残留溶媒試験法の調査

JECFA4, Organic Components, Residual solvents (Method I 及び

Method II) の試験方法及び FCC11 の General Test and Assays, Appendix VIII: Oleoresins, Residual Solvent (Oleoresins) について調査した。

2) 公定書及び国際規格における成分規格各条の調査

FCC 11、JECFA 規格及び公定書において成分規格各条において残留溶媒または有機溶媒の残留規格が設定されているものについて調査を実施した。

(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

1. 食品添加物の摂取量推計及び香料規格に関する研究

1) 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する研究

(1) 指定添加物の摂取量調査

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・輸入事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。

① 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品として生産し、あるいは輸入して出荷した量とその輸入量及び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、食品用として前年販売した量を「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ている。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については、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必要である。作業に3年間を要する理由でもある。

② 使用査定量

最終集計値の見積りの際には、最新の食品産業統計等による加工食品の生産変動などを考察し、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、査定を進めている。

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。

③ 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による様々な廃棄が発生する。本調査では人の口に入らない食品添加物量を、20%と見積り、食品向け出荷量推定値（使用査定量）の

80%をもって実際に人の口に入る摂取量とした。

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28年人口12700万人で除し、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。

④ 出荷量、使用査定量、摂取量の例示と査定の必要性

表3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。

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研究員が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。

2) 既存添加物の製造・輸入量調査

調査結果の一部を表4（甘味料、着色料の一部）に示す。また、表4には、参考までに、製造量と輸入量の合計値を食品への使用量とみなし、人が摂取する量

を計算して記載した。「摂取量」、「一人当たり一日摂取量」とは、それぞれ廃棄量（食品ロス）を20%とした場合の1年間に国民が摂取した総量、人口12700万人と1年365日として割ったものである。既存添加物については、量的に少ないものも多く、一定純度とする規格が無いものもあり、積算値が意味をなさない場合がある。これらの数値は、あくまで参考値である。

2) 香料使用量に関わる調査研究(天然香料使用量の国際比較)

(1) 日米欧の品目数と年間使用量

各国・地域の天然香料の使用品目及び使用量について、先ず全体像を把握するため、IOFIのグローバル使用量調査リスト中、①日本の天然香料に該当する品目と②天然香料に該当しない品目に分類して各国・地域の各使用品目数、数量について比較した。

IOFIのグローバル使用量調査リスト収載品目数は、日本：248品目、米国：284品目、欧州：297品目と、日本が最も少ないことが明らかになった。これはIOFIのグローバル使用量調査リストがFEMA GRAS（FEMAがフレーバーとしての使用において安全と見なされる物質として公開したものを指す）を基に作成されているため、日本では馴染みの少ない品目が多く含まれていることが理由としてあげられる。なお、オレンジ由来の香料は、IOFIのグローバル使用量調査リストでは、濃縮度別など22品目に細分化されているが、日本の回答を見る限りでは、区分が明確でないため細分化し

た回答が得られなかった可能性がある。

また、日本では天然香料に該当しない品目が、米国では7品目、欧州では8品目使用されていた。これらはステビア抽出物やカンゾウ抽出物で、日本では主に甘味料に該当するために天然香料としての報告はなかった。香料の定義の異なる欧米では甘味料としてだけの使用ではなく、フレーバーの機能として使用されている実態も明らかになった。

総使用量で見ると米国が7374tと最も多く、次いで欧州の3801t、日本は1328tと一番少なかった。人口比が日本、米国、欧州で1:3:4であることを考慮すると、米国はかなり多くの天然香料を使用していることが分かった。

(2) 使用量の多い品目の比較

① 日本

日本で特徴的に多く使用されているものは、シソ、グレープフルーツであった。シソは、日本の特有の食品であること、グレープフルーツは、日本においてスポーツ飲料等によく使用されていることが理由としてあげられる。

オレンジやレモンなど柑橘系以外で日本での使用量順位が高い品目としては、フェネグリークがある。フェネグリークは、カレーフレーバーやメープルフレーバーに使用されている。またLITSEA CUBEBA OILの使用量も他地域と比較して多い。

② 米国

米国で特徴的に多く使用されているものは、トウガラシ、ヒッコリー、ニンニク、スペアミント、ローズマリー、ニューサンキンバイヨウエキ、ユッカ、ニア

ウリ、ブドウであった。

ヒッコリーやスペアミントは、米国で嗜好性の高い香調を有している。

その他、米国において特徴的なものは、**GLUCOSYL STEVIOL GLYCOSIDES**等であり、日本では天然香料に該当しないが、欧米ではフレーバーの機能として広く使用されている実態がある。

③ 欧州

欧州で特徴的に多く使用されているものは、ハッカ、マンゴスチン、ホップ、タマネギ、カンゾウであった。マンゴスチンは、欧州の使用量が特異的に多い。新たに **FEMA GRAS** に登録された原料であり、まだ他の地域で広く使用されていないためと考えられる。

(3) 日米欧の使用量及び推定摂取量での比較

日本は使用量 100kg 以下の累積占有率が約 60%なのに対し、米国では約 36%、欧州では約 29%と、日本は欧米に比べ、使用量が少ない品目の品目数が多い。

(4) 基原で分類した場合の比較

① 一般食品由来などの属性

日米欧全ての地域で、オレンジ、レモン、グレープフルーツ等の柑橘類やニンニク、トウガラシ、ショウガ、シソ等の一般的な食品として分類される品目由来の香料使用量が最も多かった。

バニラ、ハッカ、ペパーミント、フェネグリーク、スペアミントなどの香辛料やハーブ由来の天然香料は、日米欧全ての地域で使用品目数が多く、使用量としては一般的な食品として分類される品目由来に次いで多かった。

② 天然香料基原物質リスト以外の基原

物質

今回の調査で平成22年10月20日 消費表第377号 消費庁次長通知「食品衛生法に基づく添加物の表示等について」別添2、天然香料基原物質リストに掲載のない品目は7品目であった。そのうち、**TASMANNIA LANCEOLATA EXTRACT**は日本のみで、**GINGER MINT OIL**は欧州のみで使用が報告され、残りの5品目は欧米で使用が報告されている。

(5) 製法から見た考察

日本、米国、欧州において、同一基原物質で製法の違いによる品目別の使用量を比較すると、ホップとワームウッドは **OIL** と **EXTRACT** があるが、日本と米国では使用量のほとんどが **OIL** であるのに対し、欧州では使用量のほとんどが **EXTRACT** であることが特筆すべきところである。

(6) 天然香料に該当しない物質の考察

今回の調査では、日本では天然香料に該当しないが、米国、欧州で使用実績が報告されたものとして8品目あった。

このうち、6品目はステビア抽出物、1品目はカンゾウ抽出物であり、両者とも日本では甘味料に該当するため、香料使用量の調査結果としては日本と米国、欧州で顕著な差が出た。

(7) PYROLIGNEOUS ACID 等の考察

PYROLIGNEOUS ACID 及び **PYROLIGNEOUS ACID, EXTRACT** は日本では天然香料として取り扱われているが、米国では香料化合物、欧州では天然香料及び香料化合物のどちらにも属さない **Smoke Flavouring** として取り扱われている。そのため、今回の調査では欧

州は調査対象外とされた。

香料の分類においては上述のような違いが確認されるものの、香料としての使用目的は各国とも共通しており、一般的にロースト様あるいは燻製感を有する香味を付与する目的で使用されている。

3) 香料化合物規格の国際整合化に関する調査研究

(1) 平成 30 年度に行った実測値 (I) の調査結果で実測値 (II) 調査が必要となった品目及び今までの更なる調査でも結論が得られなかった品目の更なる実測値 (II) 調査と JECFA 規格との比較

① 実測値 (II) の調査品目の選定

平成 30 年度までに結論が得られなかった 173 品目中 7 品目は平成 27 年の使用量調査で使用実績がないものであったため、対象から除いた。平成 30 年度の実測値 (II) 調査で JECFA 規格妥当性の判断ができなかった 34 品目と検討に必要なデータを 2 個以上得られなかった 132 品目の計 166 品目のうち、天然由来及び使用会社数が 2 社以下の品目を除いた 45 品目に対して実測値 (II) の調査を行った。

② 実測値 (II) の収集のための調査票の検討及び調査の実施

調査対象とする規格項目は、JECFA 規格にある項目を必須とし JECFA 条件で実測してもらうこととした。加えて、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) 旋光度で実測データがある場合はその値も報告してもらうこととした。そして自

主規格作成のための流通規格調査の経験から、測定条件の異なるデータ、例えば比重に関しては 20℃、25℃、30℃等のもものが混在していることがわかっていたため、測定条件毎の記入欄を設け誤記を防止するようにした。加えて、過去の調査で異性体、不純物量の確認が必要と思われる品目に対して、GC チャート及びその帰属データの提出も依頼した。本年度は平成 27 年に使用報告があった会社すべてを対象として調査を行った。

③ 調査結果の集計と各規格項目の比較

含量情報がないデータは不採用とした。調査対象の 45 品目中 2 製品以上の測定値が得られた 40 品目について検討することとした。各測定値が JECFA 規格を満たしているか、満たしていない場合はどのような違いがあるかを平成 30 年度までのデータも含めて、含量、融点・凝固点、屈折率、比重、酸価、(比) 旋光度の規格項目毎に判断基準に基づき記号を付け整理した。明らかな異常値が報告されている製品は外れ値として集計には用いなかった。

④ 総合判定

2 製品以上の測定値が得られた 40 品目について③の各規格項目の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 4 品目 (総合判定: O、OK)、JECFA 規格に問題があるが、実測データより規格案が設定できたものは 28 品目 (XO、SO)、更なる調査が必要なものは 8 品目 (X) であった。

詳細に見ると JECFA 規格を満たしている 4 品目中、JECFA 規格に全く問題ないと判断されたものは 2 品目 (総合判

定：O)、JECFA 規格に合致しているが厳しすぎる(狭すぎる)ため変更した方が良いものは2品目(総合判定：OK)であった。

JECFA 規格に問題があるが、実測データより規格案が設定できた28品目中、3つ以上の実測データより規格案が設定できたものは27品目(総合判定：XO)、いずれかのJECFA 規格項目が1点規格だが3つ以上の実測データより規格案が設定できたものが1品目(総合判定：SO)であった。

(2) JECFA 規格と実測値(I)の比較

① 実測値(I)調査品目の選定

JECFA に規格があるが、平成30年度までに調査を行っていない1100品目のうち、我が国では香料でない130品目、使用禁止1品目(Methyl eugenol、別名オイゲニルメチルエーテル)、個別指定品目137品目及び使用報告がない563品目を除いた269品目を実測値(I)の調査品目とした。

② 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。また、測定条件毎の記入欄を設け誤記を防止するようにした。本年度は平成27年に使用報告があった会社すべてを対象として調査を行った。

③ 各規格項目とJECFA 規格との比較

含量情報がないデータは不採用とした。調査対象の269品目のうち、180品目で測定値が得られた。検討に必要なデータ

を2個以上得られなかった121品目(ND)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。検討に必要なデータを得られた品目については、JECFA 規格を満たしているか、満たしていない場合はどのような違いがあるかを、含量、融点・凝固点、屈折率、比重、酸価、(比)旋光度の規格項目毎に判断記号を付け、整理した。明らかな異常値が報告されている製品は外れ値として集計には用いなかった。

④ 総合判定

2製品以上の測定値が得られた59品目について(3)の各規格項目の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19品目(総合判定：O、OK、OW、OY、△)、JECFA 規格に問題があるが、実測データより規格案が設定できたものは27品目(XO、X△)、JECFA 規格に問題があり、かつ現時点では規格案の設定ができないものは13品目(総合判定：X)であった。

JECFA 規格に問題があるが、実測データより規格案が設定できた27品目中、3つ以上の実測データより規格案が設定できたものは26品目(総合判定：XO)、JECFA 規格に問題があり2つしか実測データが得られなかったが規格案が設定できたものが1品目(X△)であった。

(3) 問題点の整理と今後の方針

次年度以降の調査に関して以下の問題点と方針を決定した。

① JECFA 規格条件と流通品の規格条件が異なるものが多々あった(例：比重の測定温度)。次年度以降も実測値(II)で調査品目ごとに測定条件を付けて調

査を行う。

- ② 含量が JECFA 規格より低い場合、含量規格の設定ができなかった。次年度以降も第 2 成分情報を求めていく。
- ③ JECFA 規格で含量測定法が化学法のものでは GC に変更していくことが望ましいと考える。
- ④ JECFA 規格には凝固点・屈折率・比重が設定されているものがある。今回調査した Levulinic acid については安定な過冷却状態を保つことが確認されたので凝固点は設定せず屈折率・比重を設定した。今後も同様な判断を行っていく。
- ⑤ 含量以外の JECFA 規格項目の情報が得られなかったものが多々あった。JECFA では第 53 回会議（1999 年）で香料化合物の最低含量値 95% を含めた規格を設けることが決まり、第 57 回会議（2001 年）において香料化合物の規格基準の設定が行われた。同会議では、香料化合物の規格に不可欠な情報として、下記の 3 項目が掲げられた。
 - ・ 化学式と分子量
 - ・ 確認試験
 - ・ 最低含量

少なくとも 3 つの規格項目に関しては調査が必要と考える。

(4) 今後の検討課題

更なる調査が必要なものの中には天然物を原料とする合成もしくは単離した品目がある。これらの多くは混合物であり、その詳細な組成がわかっていないものも多く、一定した実測値データが得られなかった。そのような流通実態からも通常の香料化合物と同様な規格項目の設定は

難しいと思われる。従って、このような香料化合物は、例えば最低含量、原材料、合成方法等で安全性を担保すべきかと思われる。

2. MB 方式による低揮発性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 MB 方式により調査した香料のうち、最も一日摂取量が多かったのはエチルラクテート 1.41 mg/人/日であり、アントラニル酸メチル 0.04 mg/人/日、酢酸イソアミル 0.09 mg/人/日、サリチル酸メチルは 0.02 mg/人/日であった。

2) 一日摂取量の ADI との比較

JECFA で ADI が設定されている食品添加物について、一人当たりの ADI (mg/人/日) に対する一人当たりの一日摂取量 (mg/人/日) の割合 (対 ADI 比) を求めた。アントラニル酸メチル (0~1.5 mg/kg 体重/日)、酢酸イソアミル (0~3 mg/kg 体重/日)、サリチル酸メチル (0~0.5 mg/kg 体重/日) について対 ADI 比を求めたところ、サリチル酸メチルが 0.08% で最も高く、アントラニル酸メチル 0.04%、酢酸イソアミル 0.05% であった。このため、今回調査した香料化合物の対 ADI 比は最大でも 0.08% であり、ADI に比べ十分に低く、現状において、安全性上の特段の問題はないと考えられた。

3. 食品添加物公定書一般試験法の改良に関する調査研究—ステビオール配糖体の LC/MS による分析法の検討—

1) 標準液の分析におけるピーク形状、ピークの選択性及び検出感度

LC/MS の絶対検量線法、内標準法、LC/UV の絶対検量線法、内標準法で標準液を分析し、各方法でのレバウジオシド A 及びステビオシドの検出結果から、ピーク形状、ピークを選択性、検出感度について調べた。

ピーク形状は、レバウジオシド A 及びステビオシド共に、LC/UV より LC/MS の方がシャープであり、良好であった。

ピークを選択性は、LC/MS では、 m/z 803 では両化合物が検出されるため LC/UV と同様、分離が重要となるが、レバウジオシド A は m/z 965、ステビオシドは m/z 641 で検出した場合は、それぞれ対象化合物のピークのみが検出され、選択性は良好であった。

検出限界及び定量下限を S/N 比の値を基準に S/N=3 及び S/N=10 相当として求めたところ、LC/MS では LC/UV の 40 分の 1 以下の値となった。一方、6 回繰り返し測定を行い、測定値の標準偏差 (σ) に倍率 t (4.03) を掛け、濃度に換算した値を検出限界とし、定量下限を検出限界の 3 倍として求めたところ、LC/MS は LC/UV より低値となったが、その差は 2 分の 1 以内であった。今回の分析法で、LC/MS は LC/UV より S/N 比が良好であったが、繰り返し測定精度が劣ることから、精度を考慮した検出限界、定量下限の値はほぼ同レベルとなったと考えられる。

2) 試料中のレバウジオシド A の定量

LC/MS での検量線 (m/z 965) 及び関係線 (m/z 965/ m/z 641) はレバウジオシド A 標品の濃度 3 点 (1~10 $\mu\text{g/mL}$ 及び 5~20 $\mu\text{g/mL}$) により、LC/UV での検

量線及び関係線はレバウジオシド A 標品の濃度 4 点 (1~20 $\mu\text{g/mL}$) により直線性が得られ、それぞれ R^2 は 0.9724 及び 0.9843 と 0.9988 であり、これら範囲の検量線及び関係線を定量計算に用いた。その結果、LC/MS での絶対検量線法、内標準法から算出したレバウジオシド A の含量 (%) は、1~10 $\mu\text{g/mL}$ の検量線及び関係線を用いた場合はそれぞれ 88.0 及び 85.6%、5~20 $\mu\text{g/mL}$ の検量線及び関係線を用いた場合はそれぞれ 95.8 及び 91.6%であった。LC/UV での絶対検量線法、内標準法から算出したレバウジオシド A の含量 (%) は、1~20 $\mu\text{g/mL}$ の検量線及び関係線を用いて算出し、それぞれ 94.6 及び 95.1%となった。LC/MS では測定対象濃度を中心となるような検量線を用いる方が、LC/UV に近い値となった。

3) 定量精度

LC/MS での絶対検量線法、内標準法、LC/UV での絶対検量線法、内標準法での 6 回繰り返し測定時の定量精度として、各方法での相対標準偏差 (RSD) (%) を求めた。その結果、LC/MS では検量線の濃度 1~10 $\mu\text{g/mL}$ を用いた場合の RSD は LC-UV の場合とほぼ同じであったが、5~20 $\mu\text{g/mL}$ では大きい傾向がみられた。 m/z 803 を用いた場合、絶対検量線法での精度は、 m/z 965 を用いた場合とほぼ同じであったが、内標準法では、1~10 $\mu\text{g/mL}$ 及び 5~20 $\mu\text{g/mL}$ の濃度範囲の関係線を用いた場合、それぞれ RSD は約 10 分の 1 の 0.33 及び 0.50%と非常に低い値となり、内標準物質と同じ m/z による検出では、選択性は低くなるものの、

精度は良好になることが示唆された。

4. 赤外スペクトル測定法に関する研究

参考となる規格基準を調査した結果、透過法である既存の測定法と、反射法である ATR 法が同列に扱われているものがある一方で、欧州薬局方 (European Pharmacopoeia : EP) では、両者を明確に区別していた。ATR 法は、原理的に波長依存性があり、基本的に透過法によるスペクトルとは異なるため、透過法によるスペクトルとの比較による確認は問題がある。実際に、試料としてテルピネオールを用いて検討したところ、従来の測定法 (透過法) である液膜法と ATR 法とを比較すると、ATR 法で得られたスペクトルは、液膜法によるスペクトルと相対強度が異なる箇所が認められるなど、両者のスペクトルは異なっていた。従って、確認試験において ATR 法で得られたスペクトルと、透過法で得られたスペクトルの比較による確認は問題があると考えられた。

一方で、食品添加物 (香料) には、異性体混合物が規定される場合がある。異性体混合物の場合には、異性体の混合比率によって、スペクトルが異なることが考えられる。そこで、異性体を有するテルピネオールを取り上げ、複数のメーカー品に関して比較検討を行った。A 社は α 、 β 、 γ の異性体を含む、とされ、純度 90% (以上) であり、B 社は異性体混合物とされ、純度 95% (以上) であり、C 社は α 、 γ 異性体混合物とされ、純度 97% である。液膜法で測定した結果、A、B 社はほぼ一致したが、異性体の混合率

の異なる C 社では、A、B 社では認められなかった 2834 cm^{-1} のピークが認められるなど、A、B 社と C 社の間では、スペクトルに差が認められた。ATR 法で測定した場合でも、同様の傾向を示した。従って、異性体混合物として規定する場合には、各異性体の含有率の限度なども規定することが必要であると考えられた。

5. 残留溶媒試験に関する調査研究

1) 国際規格における残留溶媒試験法

JECFA4 の方法、FCC11 Appendix XIII の方法いずれも HS-GC を用いる方法 (キャピラリーカラム使用) であるが、JECFA4 では残留溶媒をほとんど含まないブランク試料を使用し、内標準を用いる方法で、試料の性質により水を加える Method I とメタノールを加える Method II の 2 つの方法が設定されている。一方 FCC11 では標準液、試料液、試料に標準液を添加した添加試料液を用いる方法である。

2) 各国際規格及び日本における各条での残留溶媒規格について

JECFA 規格及び FCC11 規格の各条では一般試験法の残留溶媒試験だけではなく、各条にのみ記載される残留溶媒試験法がある。そこで、JECFA 規格及び FCC11 規格の各条に記載されている残留溶媒試験法について調査した。更に FCC11 規格の各条では残留溶媒規格ではないが有機不純物規格としてガスクロマトグラフィー水素炎イオン化検出 (GC/FID) やヘッドスペース (HS) - GC/FID を用いた試験法が多く記載されていることから、これらの試験法につい

でも調査した。

2)-1 JECFA 規格での各条の残留溶媒試験法

JECFA 規格各条において残留溶媒規格が設定されている 28 品目であった。JECFA4 の方法を引用している品目は 22 品目あり、そのうち、試験法に JECFA4 参照とだけ記載されているものが 11 品目、Residual solvent の Method I を指定しているものが 6 品目、JECFA4 の Residual solvent の HS-GC の部分のみ引用され、詳細な条件は各条に記載されているものが 4 品目、JECFA4 の GC の部分のみ引用され、蒸留後 GC/FID を用いるものが 1 品目あった。また、JECFA4 の方法が引用されていないものは 6 品目あり、GC/FID (キャピラリーカラム使用) が設定されている品目が 1 品目、HS-GC/FID が設定されている品目が 2 品目、パーミアンドトラップ法によるものが 1 品目、詳細な方法が不明なものが 2 品目であった。

2)-2 FCC11 での各条の残留溶媒試験法

FCC11 各条で残留溶媒規格が設定されている品目は 16 品目あった。そのうち、一般試験法の Residual Solvent Appendix VIII を引用しているものは 5 品目あった。その他の品目では、直接注入の GC/FID が 1 品目、蒸留後 HS-GC が 1 品目、HS-GC/FID が 8 品目、HS-GC/MS が 1 品目あった。

2)-3 FCC11 での各条の有機不純物試験法

FCC11 各条では、17 品目について有機不純物規格が設定されており、そのう

ち 9 品目では HS-GC/FID による標準液との比較、内標準を用いた標準液による検量線から定量する方法、内標準を用いた標準添加法、有機不純物がほとんどない USP 標準品をブランク試料として用いる方法などがそれぞれ設定されている。その他に、ガラスカラムを用いた炎光光度検出器による GC、1.8 m×3.2 mm i.d. のステンレスカラムを用いた GC/FID が設定されている品目があった。また、有機不純物が存在しない試料を作成し、そこへ測定対象有機化合物の標準液を加えたものを標準液とし、標準液と試料液を HS-GC/FID で分析し、試料由来のマトリックスの影響を考慮した定量法が設定されている品目もあった。

2)-4 公定書での各条の残留有機溶媒試験法

26 品目で純度試験において有機溶媒の残留規格が設定されていた。16 品目は蒸留液等の GC/FID (パックドカラム使用)、3 品目は抽出液等の GC/FID (キャピラリーカラム使用) が、5 品目は HS-GC/FID (キャピラリーカラム) が設定されている。また、2 品目は比色法が設定されている。

2)-5 各条における海外規格と公定書規格の試験法の比較

海外規格では多くの試験法でキャピラリーカラムを用いた HS-GC/FID が用いられているのに対し、公定書各条ではパックドカラムを用いた GC/FID が用いられていることが多いことが明らかとなった。JECFA 規格では JECFA4 の方法を引用している品目においては、各条に詳細な方法を記載しているもの以外では、

残留溶媒の少ないブランク試料をどのように入手するか、また、Method I または II のどちらを使うかなど、詳細が示されず不明な点が多いものが多い。一方、FCC11 では FCC11 の Appendix XIII の方法をそのまま引用しているものは 16 品目中 5 品目と少なく、FCC11 の Appendix XIII を引用していない試験法では、残留溶媒を含まない USP 試料に標準液を添加して定量する方法、標準添加を行う方法、残留溶媒と取り除いた Stripped 試料を調製する方法など、マトリックスの影響を考慮するための、様々な試験方法の詳細が各条で設定されている。これらの方法は JECFA 規格各条で詳細な分析法が示されていない品目でも参考になる可能性があると言える。

2)-6 公定書で一般試験法として残留溶媒試験法を設定するための考慮すべき点

海外規格や公定書での試験法をまとめた結果、残留溶媒試験法としては、蒸留-GC/FID、HS-GC/FID が多いことが分かった。また、GC での定量では、内標準を用いた定量法、標準添加法による定量法などがあり、一般試験法として設定するためにはこれらの共通に使用されている試験法を設定することが必要であると考えられた。

また、公定書ではパックドカラムを用いた GC/FID が多く設定されているが、ピーク感度が悪いことや、キャリアガスが多量に必要であること、近年パックドカラムを設置することができない GC 装置も多いこと、また海外規格の試験法との整合性の点からも、キャピラリーカラムへの変更が必要と考えられる。

製造基準で残留溶媒規格が設けられている天然香料等の品目については、有機溶媒等で抽出された抽出物やそれらに油などが混合されたものも多く、蒸留法で残留溶媒を分析するためには、有機溶媒を用いて蒸留-GC/FID で分析しなければならないため、環境への影響も考慮すると HS-GC/FID が望ましいと考えられる。しかし、HS-GC/FID で精度よく分析するためには HS サンプラーの設置や、希釈するための溶媒の選択が重要である。JECFA4 のように希釈溶媒がメタノールや水だけでは試料を完全に溶解できず、精度よく分析できない可能性もあるため、FCC11 の方法や JECFA 規格各条で使用された希釈溶媒などを参考に、汎用性の高い希釈溶媒を選択する必要があるであろう。

D. 結論

1. 食品添加物の摂取量推計及び香料規格に関する研究

1) 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、第 12 回の調査として、平成 28 年度の生産・流通量調査を行った。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。既存添加物に関しては第 7 回の調査として、平成 29 年度の実産量統計調査をまとめた。

2) 香料使用量に関わる調査研究(天然香料使用量の国際比較)

香料化合物と違い、天然香料は産地の違い、季節変動や製法の違いなどで構成成分に差があるため、安全性評価に単純

に結び付けられるものではないが、天然香料の使用実態を把握することは重要と考え、従来から実施している香料化合物の使用量調査に加えて、天然香料に関しても、IOFIの指導の下、平成27年(2015年)1月から12月に使用された天然香料の使用量について、日米欧で初めて同時期に調査を実施した。日米欧でグローバルに調査を実施するため、香料業界でよく使用されているFEMA GRAS物質を元に、調査用にアレンジしたリストで調査を実施した。IOFIから欧米の使用量データの提供を受け、日本の使用量との比較、検討を行った。検証の結果分かったことは以下の通りである。

- ① 日米欧の品目数と年間使用量は、日本が248品目、1328t、米国が291品目、7374t、欧州が305品目、3801tという結果になった。人口比が日本、米国、欧州で1:3:4であることを考慮すると、米国はかなり多くの天然香料を使用していることが分かった。
- ② 日本では天然香料に該当しない品目が、米国では7品目、欧州では8品目使用されていた。これらはステビア抽出物やカンゾウ抽出物で、日本では甘味料に該当するために天然香料としての報告はなかった。特にステビア抽出物は欧米ではフレーバーとして広く使用されていることが確認された。また日本では天然香料として取り扱われるが欧米では天然香料以外のステータスになっている品目が4品目あった。これらは日米欧三極の香料の定義の違いによるものであり、単純に今回の結果の数値を比較することができない要因

となっている。

- ③ 日米欧で使用量が上位にある品目はオレンジ、グレープフルーツやレモンなどの柑橘類、バニラエキスやハッカ、ペパーミントなどが共通していた。これらは主要な天然香料の原料であるため、各地域で多く使用されていることが明らかとなった。
- ④ 新しく使用が確認された天然香料は、7品目あった。新たに使用が確認される天然香料もあることから、定期的な使用量調査を行うことが重要と考えられる。

3) 香料化合物規格の国際統合化に関する調査研究

平成30年度までの調査で結論が得られなかった173品目から、平成27年の使用量調査で使用量報告がなかった7品目を除いた166品目のうち、天然由来及び使用会社数が2社以下の品目を除いた45品目に対して実測値(Ⅱ)の調査を行った。その結果、4品目はJECFA規格で問題ないが、そのうち2品目は厳しすぎる(狭すぎる)ため変更した方が良いものであった。また、28品目はJECFA規格の修正が必要と判断した。13品目は再調査が必要と考えられた。

また、JECFAに規格があるが、平成30年度までに調査を行っていない1100品目のうち、我が国では香料でない130品目、使用禁止1品目(Methyl eugenol、別名オイゲニルメチルエーテル)、個別指定品目137品目及び使用報告がない563品目を除いた269品目の実測値(Ⅰ)調査を行い、180品目で測定値が得られた。このうち、検討に必要なデータを2個以

上得られた 59 品目について精査した。19 品目は JECFA 規格で問題ないと判断した。JECFA 規格を満たしていない 40 品目中、27 品目は実測値より JECFA 規格の修正が必要と判断した。134 品目は再調査が必要と考えられた。

2. MB 方式による低揮発性香料の摂取量調査の検討

流通食品における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調査について検討を行った。低揮発性エステル系香料について、QuEChERS 法により抽出・精製後、GC/MS を用いて分析した。

MB 方式によるエステル系香料の一日摂取量は、エチル ラクテートが最も高く 1.41 mg/人/日であり、アントラニル酸メチル 0.04 mg/人/日、酢酸イソアミル 0.09 mg/人/日、サリチル酸メチル 0.02 mg/人/日であった。また、対 ADI 比は、サリチル酸メチルが 0.08% で最も高く、アントラニル酸メチル 0.04%、酢酸イソアミル 0.05% であった。MB 方式により推定される主な低揮発性エステル系香料の摂取量の ADI に対する割合は最大でも 0.08% であり、ADI に比べ十分に低く、現状において、安全性上の特段の問題はないと考えられた。

3. 食品添加物公定書一般試験法の改良に関する調査研究—ステビオール配糖体の LC/MS による分析法の検討—

食品添加物公定書の一般試験法の 1 つとして、濃度測定を目的とした LC/MS を導入することを想定し、分析精度につい

て調べた。ステビオール配糖体の JECFA 成分規格に記載されている LC/MS の条件を基に、絶対検量線法及び内標準法により分析を行い、検討した。その結果、LC/MS では、選択性が高く S/N 比も良好である一方、定量値のばらつきが大きく、検出限界や定量下限は σ 値を基にして求める方が良いものと考えられた。LC/MS では、対象化合物の検出感度と検出濃度に適した検量線や関係線の濃度範囲を用いる必要があり、定量対象濃度に対して広すぎないことが重要と示唆された。本研究では、内標準と対象化合物の m/z 値が異なる場合、内標準法の精度は絶対検量線法とほぼ同じであったが、同一 m/z 値を用いる内標準法では約 10 倍精度が高かった。そのため、内標準と対象化合物とで検出感度の変化が同じ傾向を示す場合には、内標準法が精度の向上に有効と推察された。

4. 赤外スペクトル測定法に関する研究

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、普及著しい減衰全反射法 (ATR 法) も含め、規格設定に関わる調査、検討を行った。ATR 法は、原理的に波長依存性があり、基本的に透過法によるスペクトルとは異なるため、透過法によるスペクトルとの比較による確認は問題がある。実際に、試料としてテルピネオールを用いた場合、従来測定 (透過) 法である液膜法と ATR 法とを比較すると、ATR 法で得られたスペクトルは、液膜法によるスペクトルとは異なっていた

ことから、確認試験において ATR 法で得られたスペクトルと、透過法で得られたスペクトルの比較による確認は問題があると考えられた。また、テルピネオールを用いて異性体混合物に関して検討した結果、液膜法、ATR 法いずれで測定した場合でも、異性体の混合比率の異なる試料間では、スペクトルに差が認められた。従って、異性体混合物として規定する場合には、各異性体の含有率の限度なども規定することが必要であると考えられた。今後、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、同一条件での測定を前提とした標準品との比較を行うか、測定試料の特徴も考慮した上で、品目毎に ATR 法での参照スペクトルとの比較、あるいは波数規定を定めていく必要があると考えられた。

5. 残留溶媒試験に関する調査研究

海外規格の一般試験法及び各条ならびに公定書の各条における残留溶媒試験について調査を実施した。JECFA4 及び FCC11 それぞれで設定されている一般試験法における残留溶媒試験法の調査及び、海外規格及び公定書における各条での残留溶媒試験法について調査を行った。

その結果、いずれの方法も HS-GC/FID であるが、JECFA4 では残留溶媒をほとんど含まないブランク試料を使用し、内標準を用いる方法で、試料の性質により水を加える Method I とメタノールを加える Method II の2つの方法が設定されていた。一方 FCC11 では標準

液、試料液、試料に標準液を添加した添加試料液を用いる方法であった。また、それ以外の方法として、各条では蒸留-GC/FID、HS-GC/FID 等が設定され、定量法としては、内標準を用いて定量する方法、標準添加法により定量する方法などが設定されていた。

以上の結果から、国際規格や公定書で共通に使用される残留溶媒試験法としては、蒸留-GC/FID、HS-GC/FID などがあり、また、GC での定量では、内標準を用いた定量法、標準添加法による定量法などが多く設定されていたことから、一般試験法としてこれらの共通に使用されている試験法を設定することが必要であると考えられた。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) Atsuko Tada, Fuyuko Hioki, Noriko Furusho, Naoko Masumoto, Chiye Tatebe, Hiroki Kubota, Kyoko Sato, Validation of a quantification method using gas chromatography- mass spectrometry. -Intra-laboratory validation for specifications of food additive-, ICoFF2019, 2019.12 (Kobe)

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1 回収結果

	第 12 回		
	平成 29 年度	平成 30～令和元年度	合計
発送	593	113 ^{※1}	595 ^{※2}
回収	456	75	531
回収率(%)	77.0	66.4	89.2

※1 未回答のため再発送した調査先 108 社+平成 30 年度に追加した 5 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

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(%)
363	325	89.5

※ 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

表 3 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 12 回分）

食品添加物名	食品向出荷量 (申告値)(トン)		使用査定量 考察値(トン)	摂取量 (トン)
二酸化炭素	359,208	≒	359,000	26,021
次亜塩素酸ナトリウム	196,964	>	200	—
酢酸デンプン	132,032	=	132,032	105,626
水酸化ナトリウム	117,815	>	75,000	—
塩酸	114,361	≒	114,000	—
L-グルタミン酸ナトリウム	103,626	=	103,626	82,901
D-ソルビトール	52,007	>	49,180	33,443
硫酸	49,406	≒	49,000	—
リン酸架橋デンプン	44,789	=	44,789	35,831
ヒドロキシプロピル化リン酸架橋デンプン	36,564	=	36,564	29,251

表 4 指定添加物 一人一日摂取量 総括表 (用途別、抜粋)

用途名	添加物 番号	品名	区分	食品向け出荷量 (kg)	使用査定量 (kg)	摂取量 (kg)	一人一日摂取量 (mg/人/日)A	ADI (mg/人/日)B	ADI比 (A/B %)	注
甘味料	15	アスパルテーム	1	336,000	383,000	306,000	6.61	2,204	0.3	
甘味料	16	アセスルファムカリウム	1	373,691	427,000	342,000	7.37	826.5	0.9	
甘味料	26	アドバンテーム	1	0	0	0		275.5		
甘味料	106	キシリトール	1	1,630,000	4,315,000	3,452,000	74.5	特定せず		
甘味料	121	グリチルリチン酸二ナトリウム	1	0	0	0				
甘味料	164	サッカリン	1	5,000	3,000	2,400	0.052	209.4	0.03	1)
甘味料	165	サッカリンカルシウム	1	0	0	0		255.2		1)
甘味料	166	サッカリンナトリウム	1	243,308	167,000	125,000	2.67	235.8	1.1	1)
甘味料	227	スクラロース	1	125,120	118,000	94,000	2.04	826.5	0.3	
甘味料	233	D-ソルビトール	1	52,007,090	49,180,000	33,443,000	721	特定せず		
甘味料	291	ネオテーム	1	100	125	100	0.0022	110.2	0.002	
甘味料	388	D-マンニトール	1	3,422,655	3,200,000	2,560,000	55.2	特定せず		
着色料(タール)	207-1	食用赤色2号	2	1,140	1,359	1,087	0.023	27.55	0.09	
着色料(タール)	207-2	食用赤色2号アルミニウムレーキ	2	0	0	0				
着色料(タール)	208-1	食用赤色3号	2	1,560	2,100	1,344	0.029	5.51	0.5	2)
着色料(タール)	208-2	食用赤色3号アルミニウムレーキ	2	910	0	0				
着色料(タール)	209-1	食用赤色40号	2	710	1,016	408	0.008	385.7	0.002	2)
着色料(タール)	209-2	食用赤色40号アルミニウムレーキ	2	95	0	0				
着色料(タール)	210	食用赤色102号	2	17,670	17,782	13,514	0.292	220.4	0.1	
着色料(タール)	211	食用赤色104号	2	240	303	238	0.005			
着色料(タール)	212	食用赤色105号	2	194	307	221	0.005			
着色料(タール)	213	食用赤色106号	2	1,480	1,818	1,454	0.031			
着色料(タール)	214-1	食用黄色4号	2	27,110	28,987	18,552	0.400	413.25	0.1	2)
着色料(タール)	214-2	食用黄色4号アルミニウムレーキ	2	1,930	0	0				
着色料(タール)	215-1	食用黄色5号	2	13,170	14,701	11,761	0.254	137.75	0.2	2)
着色料(タール)	215-2	食用黄色5号アルミニウムレーキ	2	1,070	0	0				
着色料(タール)	216-1	食用緑色3号	2	200	175	140	0.003	1,377.5	0.0002	2)
着色料(タール)	216-2	食用緑色3号アルミニウムレーキ	2	0	0	0				
着色料(タール)	217-1	食用青色1号	2	3,605	4,712	3,770	0.081	668.75	0.01	2)
着色料(タール)	217-2	食用青色1号アルミニウムレーキ	2	1,611	0	0				
着色料(タール)	218-1	食用青色2号	2	367	561	449	0.010	275.5	0.04	2)
着色料(タール)	218-2	食用青色2号アルミニウムレーキ	2	610	0	0				
着色料	28	β-アポ-8'-カロテナール	3	0	0	0		2.755		
着色料	101	β-カロテン	3	5,740	5,700	4,560	0.098	275.5	0.04	3)
着色料	102	カンタキサンチン	3	0	0	0		1.378		
着色料	171	三二酸化鉄	3	0	0	0		27.55		
着色料	257	鉄クロロフィリンナトリウム	3	691	690	552	0.012	特定せず		
着色料	265	銅クロロフィリンナトリウム	3	3,043	3,000	2,400	0.051	826.5	0.006	
着色料	266	銅クロロフィル	3	308	310	248	0.005	826.5	0.0006	

