

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）  
食品添加物の安全性確保に資する研究  
令和3年度分担研究報告書

マーケットバスケット方式による低揮発性香料の摂取量調査の検討

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

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）方式による低揮発性香料の一日摂取量調査について検討を行った。低揮発性ケトン系香料を対象に MB 混合試料に含まれる香料の含有量を QuEChERS 法により抽出・精製後、GC/MS を用いて分析し、20 歳以上（成人）の喫食量をもとに推定一日摂取量を算出した。

MB 方式によるケトン系香料の一日摂取量はマルトールが 1.84 mg/人/日、エチルマルトールが 0.28 mg/人/日であった。FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA）において設定された許容一日摂取量（ADI）に基づいて、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）を求めたところ、マルトールが 3.1% であり、エチルマルトールが 0.2% であった。いずれの香料も ADI に比べて推定摂取量は十分に低いことが示された。

研究協力者  
寺見祥子 国立医薬品食品衛生研究所

A. 研究目的

食品添加物の安全性評価において許容一日摂取量（以下 ADI、mg/kg 体重/日）が設定された化合物については、当該食品添加物の一日摂取量が ADI 以下であれば健康への影響はないとみなされる。そのため、日常の食事を介して摂取される食品添加物の一日摂取量を推定し、ADI が設定されているものについてはその範囲内にあるかを確認することは、食の安全性を確保する上で

重要なことである。我が国では食品添加物の摂取量を把握するため、市販食品を 7 つの食品群に分けて混合し、この混合試料中に含まれる食品添加物を定量し、その結果に国民の平均的な各食品群の食品喫食量を乗じて摂取量を求める、マーケットバスケット（MB）方式による一日摂取量調査が実施されている<sup>1-3)</sup>。また、同時に厚生労働科学研究において、食品添加物の生産量統計を基にした食品添加物摂取量の推定が行われている<sup>4)</sup>。

香料については、他の食品添加物と異なり、種々の香料を微量ずつ混和し

た香料製剤として食品に使用されており、香料ごとの摂取量を正確に予測することが難しいことから、国際的に様々な摂取量推計法により検討が進められている。FAO/WHO合同食品添加物専門家会議（JECFA）では、Maximized Survey-Derived Intake（MSDI）法やSingle Portion Exposure Technique（SPET）法を採用しており、欧州食品安全機関（EFSA）では、MSDI法やAdded Portions Exposure Technique（APET）法を採用し、香料の評価が行われている。我が国では、食品安全委員会においてMSDI法により摂取量を推定し、香料の安全性評価が行われている。

MSDI法は、ある地域で1年間に使用された香料は、その地域の10%の人口が均等に消費したと仮定し、香料の年間生産量を人口の10%及び補正係数で割ることによる推計される。SPET法は、ある香料を含む食品を1品のみ毎日1食分食べると考えて想定される摂取量の推計法であり、コーデックス食品添加物一般基準（GSFA）の食品分類を参考にJECFAが設定した食品分類のうち、ある香料を添加される可能性があるすべての食品分類を特定し、その各食品分類への香料の標準添加率をその食品分類のportion size（単一食品の標準的な1食分の喫食量）に掛け合わせ、その中で最も高い値を摂取量とする推計法である。APET法は、SPET法と同様に食品分類毎の食品喫食量と香料の添加率を用いるが、元の食品に含まれる香料の含有量も添加率

に加えており、また、飲料とその他の食品の摂取量の最大値を合計する方法である。これらの摂取量推計法は、香料の生産段階における使用量又は添加率と食品の喫食量から求める推計法であり、食品製造段階で使用される使用量を用いて想定される最大摂取量を推計する手法として有効な手法であるが、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した報告は見当たらない。このため、我々はダイナミックヘッドスペース-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、分析法が必要になった。

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、食品に含まれる低揮発性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、本調査研究の1年目は低揮発性エステル系香料、2年目は低揮発性アルデヒド系香料について、QuEChERS-GC/MS分析法を用いたMB方式における香料の一日摂取量推計の実態調査を行ってきた。

本年度は低揮発性ケトン系香料の中で国内における使用量が多いマルト-

ル及びエチルマルトールに着目し調査を実施した。QuEChERS法により試料調製した後、GC/MSを用いてMB混合試料中の香料含量の分析を行い、成人の食品の喫食量における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、従来の香料の使用量及び摂取量に基づいた一日摂取量調査結果と比較し、MB方式の有用性及び問題点について検証を行った。

## B. 研究方法

### 1) 調査食品

平成22年度食品等試験検査費事業「食品摂取頻度・摂取量調査の特別集計業務報告書」(独立行政法人 国立健康・栄養研究所)<sup>5)</sup>の調査結果に基づいて作成した加工食品群別年齢層別の食品喫食量リストに従い、7食品群189食品に集約した。ただし、一日喫食量が多く、食品添加物の使用頻度の高い食品については、一つの食品に対し原則として異なる企業の2~3製品を購入することとし、実際には286製品を購入した。

### 2) MB方式調査用加工食品群試料 (MB試料)

購入した食品を、食品喫食量リストに従い、1~7群に分類し、成人の一日喫食量をもとに採取し、1群はそのまま、2~7群は等量の水を加え、それぞれ均質磨砕した。これをMB方式調査用加工食品群試料(MB試料)として本研究に用いた。この試料はポリエチレン容器に分注し、-20℃以下の冷凍庫

にて冷凍状態で保存した。分析前に室温状態にて解凍し、実験に使用した。

### 3) 試薬

マルトール(3-ヒドロキシ-2-メチル-4-ピロン)は富士フイルム和光純薬株式会社の試薬(99.0%以上)、エチルマルトール(2-エチル-3-ヒドロキシ-4-ピロン)は東京化成工業株式会社の試薬(99.0%以上)を用いた。マルトール-d<sub>3</sub>はTronto Research Chemicalsの安定同位体試薬を用いた。その他の試薬は試薬特級を用いた。

### 4) 香料混合標準原液の調製

マルトール、エチルマルトール、各1.0gを少量のアセトニトリルを入れた別々のメスフラスコ100mLに採取し、アセトニトリルを加えて全量を100mLとし、香料標準原液とした(濃度10mg/mL)。各香料標準原液1mLを少量のアセトニトリルを入れたメスフラスコ100mLに採取し、アセトニトリルを入れて全量100mLとし、香料混合標準原液Iとした(濃度100µg/mL)。香料混合標準原液I1mLを少量のアセトニトリルを入れたメスフラスコ50mLに採取し、アセトニトリルを入れて全量50mLとし、香料混合標準原液IIとした(濃度2µg/mL)。香料標準原液I及びIIは冷蔵庫にて保管した。

### 5) 内部標準原液の調製

マルトール-d<sub>3</sub>10mgを少量のアセトニトリルを入れたメスフラスコ10mLに採取し、アセトニトリルを加えて全量を10mLとした(濃度1mg/mL)。この溶液5mLを少量のアセトニトリ

ルを入れたメスフラスコ 50 mL に採取し、アセトニトリルを入れて全量 50 mL とし、内部標準原液とした（濃度 100 µg/mL）。内部標準原液は冷蔵庫にて保管した。

#### 6) 検量線標準溶液の調製

5 本の少量のアセトニトリルを入れた 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、香料混合標準原液 II 0、0.5、1、2.5 又は 5 mL を正確に加え、アセトニトリルを加えて正確に 10 mL とし検量線用標準液とした。検量線用標準液は冷蔵庫にて保管した。

#### 7) 器具及び装置

器具：試料調製キットとして AOAC 2007.01 に準拠した Q-sep QuEChERS 抽出塩キット Q150 及び Q-sep QuEChERS 精製キット Q251（島津ジーエルシー）を用いた。

装置：GC/MS は島津製作所製の GCMS-QP2020NX を用いた。

#### 8) GC/MS 測定条件

カラム：InertCap Pure-WAX（30 m × 0.25 mm I.D. 膜厚 0.25 µm）、カラム温度：40 °C（5 min）→5 °C/min→240°C、注入口温度：220°C、インターフェース温度：240°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：マルトール  $m/z$  126、エチルマルトール  $m/z$  140、マルトール- $d_3$   $m/z$  129。

#### 9) 試験溶液の調製

QuEChERS 法（AOAC 2007.01）<sup>6)</sup> を用い、以下の方法により試料調製を

行った。MB 1、2、4、5、7 群試料は約 5.0 g、MB 3、6 群試料は約 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、1,500×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 30 秒間攪拌した後、遠心（1 分間、1500 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。

（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) 分析条件の検討

低揮発性ケトン系香料の中で国内において使用量が多いマルトール及びエチルマルトールを対象に、GC/MS を用いた分析法の検討を行った。

検討対象とした香料化合物を表 1 に示した。各香料を混合した検量線標準溶液を GC/MS により分析した時のクロマトグラムを図 1、スキャンモードにおける各香料のマススペクトルを図 2 に示した。カラムとして InertCap Pure-WAX を用い GC/MS で分析したところ、マルトール、エチルマルトールがこの順序で 30～35 分の間に溶出した。

マルトールは、内部標準物質として

同時に添加したマルトール-d<sub>3</sub>と分離せずに検出された。しかしながら、測定質量数を選択することで、別々のピークとして分離することができた。

各化合物について検量線の直線性を確認したところ0.1~1.0 µg/mLの範囲で概ね良い直線性 (R<sup>2</sup>=0.999以上) を示した。食品分析の経験に基づく検量線の最小濃度による定量限界は、試料中の含量換算で1群0.2 µg/g、2、4、5、7群0.4 µg/g、3、6群2.0 µg/gであった。

## 2) 添加回収試験

MB 試料 5 g に 1.0 µg/g となるように標準液を添加し、添加回収試験を実施した (表 2)。なお、予備検討において、MB 3 群及び 6 群試料については、無添加試料から検量線測定範囲を超える濃度のマルトールが検出されたため、試料採取量を 1.0 g に変更し、試料中に 5.0 µg/g となるように検量線標準液を添加し添加回収率を求めた。

2 群 (穀類) に添加したマルトール及びエチルマルトールにおいて、回収率が 70% 以下となり、7 群 (果実類・野菜類・海藻類) に添加したマルトール及びエチルマルトールの回収率が 120% をやや上回った。これらはマトリクスの影響によると考えられるが、今回は参考数値として求めた。その他の食品群に添加した各香料の回収率は 85.2~116.9% の概ね良好な回収率が得られた。そこで、本試験法を用いて MB 試料に含まれる各種香料化合物の含有量の調査を行った。

## 3) MB 方式による一日摂取量の推計

MB 試料中の低揮発性ケトン系香料

含有量を表 3 に示した。また、表 4 に成人の喫食量に基づく MB 方式の推定一日摂取量を示した。マルトール 1.84 mg/人/日であり、エチルマルトール 0.28 mg/人/日であった。

マルトールは 1 群 (調味嗜好飲料) 以外の全ての食品群から検出された。主に 3 群及び 6 群の加工食品に多く含まれていた。マルトールは、焼き菓子やプリン等に使用されているが、糖の分解生成物としても知られており、麦芽、焙煎コーヒー、ココア、パン、バター、種実類、味噌等の大豆加工品など様々な食品に含まれている<sup>7-10)</sup>。このため、今回算定された MB 方式による推定一日摂取量は食品由来成分と添加香料の合計量と考えられた。マルトール摂取量の 76.4% が 3 群食品であった。3 群食品には大豆加工品や種実類が含まれており、3 群を構成する 36 食品の内、食品表示に香料を含む記載は豆乳飲料一製品のみであったことから、マルトール摂取量は、食品由来が占める割合が高いと考えられた。

エチルマルトールは、2 群、5 群及び 6 群食品から検出された。主にアイスや、パン・焼き菓子等に使用されており、今回の分析の結果、検出された食品群と良い一致を示した。

平成 29 年度厚生労働科学研究における香料化合物の使用量に基づいた MSDI 法による摂取量の推定<sup>11)</sup>では、マルトール 3.19 mg/人/日、エチルマルトール 11.0 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定より低い結果となった。MSDI 法

は、香料の年間生産量を人口の10%及び補正係数(報告率)で割ることにより算出する推計法であり、生産・流通や食品廃棄によるロス分も含まれるため摂取量が多く推計される傾向がある。このため、MB方式による一日摂取量の方が低くなったと考えられる。

#### 4) 一日摂取量の ADI との比較

JECFA で ADI が定めら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。JECFA の ADI は体重 1 kg 当たりの値 (mg/ kg 体重/日) で示されるため、成人の平均体重を乗じて成人一人当たり (mg/人/日) に換算し算出した (表 5)。なお、成人の平均体重として、「平成 22 年度 厚生労働省 食品等試験検査費事業 食品摂取頻度・摂取量調査の特別集計業務報告書追加資料」別添 1 記載の成人の平均体重 (58.8 kg) を用いた。

ADI が設定されているマルトール (0.1 mg/kg 体重/日)、エチルマルトール (0.2 mg/kg 体重/日) について対 ADI 比を求めたところ、マルトールが 3.1%、エチルマルトールが 0.2% であった。このため、今回調査した香料化合物は、何れも対 ADI 比 3.1% 以下であり、いずれの香料も摂取量は十分に低いことが示された。

## D. 結論

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の検討を行っ

た。低揮発性ケトン系香料としてマルトール及びエチルマルトールについて、QuEChERS-GC/MS 法を用いて分析を行った。

MB 方式による低揮発性ケトン系香料の一日摂取量は、マルトールが 1.84 mg/人/日、エチルマルトールが 0.28 mg/人/日であった。また、対 ADI 比は、マルトール 3.1%、エチルマルトール 0.2% であった。MB 方式により推定されるマルトール及びエチルマルトールの摂取量の ADI に対する割合は最大でも 3.1% 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。

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、今回調査したマルトールなど食品由来成分にも含まれる香料化合物については、食品由来成分と添加香料の合計量としての一日摂取量調査結果が得られ、従来の摂取量推計法にはない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。

## E. 研究発表

なし

## F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

## G. 参考論文

- 1) 四方田千佳子：マーケットバスケット方式による甘味料及び保存料等の摂取量調査, JAFAN, 24(6) , 299-310 (2005)
- 2) 河崎裕美他：食品化学学会誌, 18, 150-162 (2011)
- 3) 久保田浩樹他：食品化学学会誌, 24, 94-104 (2017)
- 4) 令和元年度厚生労働科学研究報告書「食品添加物の安全性確保に資する研究」
- 5) 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)
- 6) AOAC Official Method 2007.01: Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate (2013)
- 7) Stofberg J, Grundschober F: Perfumer & Flavorist, 12, 27-56 (1987)
- 8) Nijssen LM, van Ingen-Visscher CA, Donders JJH: Volatile compounds in food, Zeist, the Netherlands (2017) (<http://www.vcf-online.nl/VcfHome.cfm>)
- 9) Belitz H-D, Grosch W, Schieberle P: Food Chemistry, 4th ed. (2009).
- 10) 菅原悦子：日本食品工業学会誌, 38, 1093-1097 (1991)
- 11) 平成 29 年度厚生労働科学研究報告書「食品添加物の安全性確保のための研究」

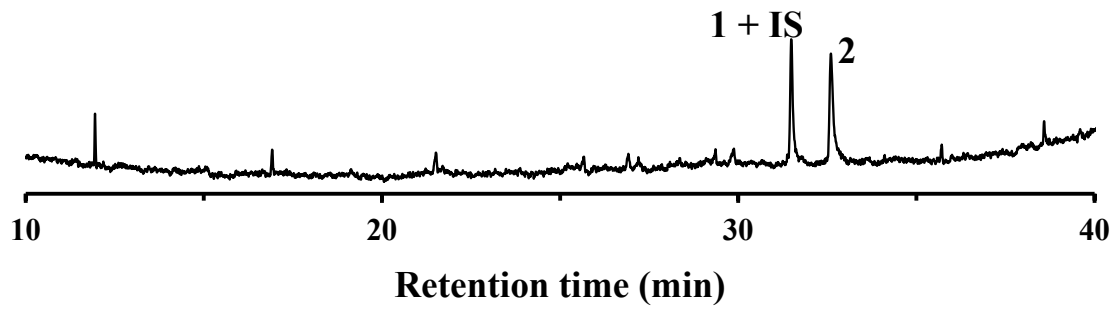
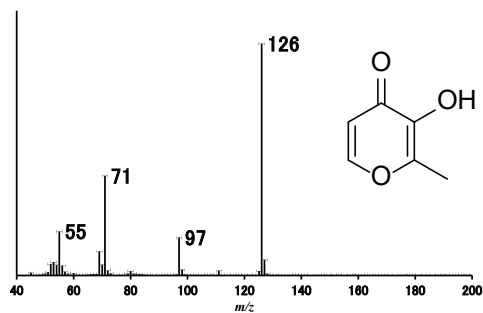


図1. 検量線標準溶液 (1  $\mu\text{g/mL}$ ) の GC/MS クロマトグラム

1: マルトール, 2: エチルマルトール, IS: マルトール- $\text{d}_3$

1) マルトール



2) エチルマルトール

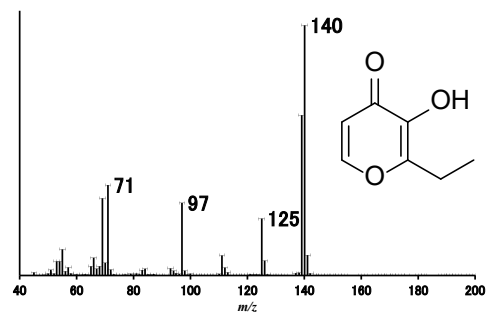


図2. 測定対象香料のマススペクトル



表 1. 検討対象としたケトン系香料化合物

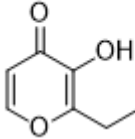
#	品目名	CAS No	類	構造式	J E C F A 評価 ADI (mg/kg体重)
1	マルトール maltol (3-Hydroxy-2-methyl-4-pyrone)	118-71-8	個別指定品目		0-1 mg/kg体重
2	エチルマルトール ethyl maltol (2-Hydroxy-2-ethyl-4-pyrone)	4940-11-8	ケトン類		0-2 mg/kg体重

表 2. マーケットバスケット試料からのケトン系香料の添加回収試験

No.	化合物名	回収率 (%)													
		1群		2群		3群		4群		5群		6群		7群	
		調味嗜好飲料		穀類		いも類・豆類・ 種実類		魚介類・肉類・ 卵類		油脂類・乳類		砂糖類・菓子類		果実類・野菜 類・海藻類	
	mean*1	SD	mean*1	SD	mean*1	SD	mean*1	SD	mean*1	SD	mean*1	SD	mean*1	SD	
1	マルトール	90.4	± 7.1	64.8	± 3.7	112.1	± 31.0	116.9	± 6.3	115.7	± 8.1	108.3	± 8.3	133.0	± 9.6
2	エチルマルトール	113.0	± 7.9	53.7	± 11.5	101.1	± 11.5	85.2	± 5.4	116.4	± 17.0	105.8	± 2.6	120.6	± 6.0

\*1 The analyses were replicated five times

表3. マーケットバスケット試料中のケトン系香料含有量

成人 単位：μg/g

No.	化合物名	食品群						
		1群 調味嗜好飲料	2群 穀類	3群 いも類・豆類・種実類	4群 魚介類・肉類・卵類	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
1	マルトール	ND	1.46	11.1	1.50	0.54	4.68	0.85
2	エチルマルトール	ND	1.76	ND	ND	0.86	0.53	ND

ND：定量限界（1群 0.2 μg/g, 2, 4, 5, 7群 0.4μg/g, 3, 6群 2.0 μg/g）未満

(n=3)

表4. マーケットバスケット方式によるケトン系香料の推定一日摂取量

成人 単位：mg/人/日

No.	化合物名	食品群							総摂取量
		1群 調味嗜好飲料	2群 穀類	3群 いも類・豆類・種実類	4群 魚介類・肉類・卵類	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	
1	マルトール	0	0.18	1.41	0.07	0.03	0.14	0.02	1.84
2	エチルマルトール	0	0.21	0	0	0.05	0.02	0	0.28

\*1 測定の結果、含量が定量限界未満の場合は0とした。

表5. マーケットバスケット方式による推定一日摂取量と ADI の比較

No.	化合物名	一日摂取量 (mg/人/日)	ADI (mg/kg体重/日)	一人当たりの	
				一日摂取許容量* <sup>1</sup> (mg/人/日)	対ADI比* <sup>2</sup> (%)
1	マルトール	1.84	0-1	58.8	3.1
2	エチルマルトール	0.28	0-2	117.6	0.2

\*1:ADIの上限×58.8（成人の平均体重，kg）

\*2：対ADI比（%）＝一人当たりの推定一日摂取量（mg/人/日）／一人当たりの一日摂取許容量（mg/人/日）×100

JECFAのADIは，体重1 kg当たりの値（mg/kg 体重/日）で示されているため，成人の平均体重を58.8 kgとし，成人一人当たり（mg/人/日）に換算し，算出した。