

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3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

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：食品添加物の安全性を確保する上で、摂取量推定は重要であることから、指定添加物の第13回調査として令和元年度の生産・輸入・販売・使用を対象に追調査を行った。また、既存添加物の第8回調査として令和2年度の出荷量について調査を行った。

香料使用量に関わる調査研究：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）による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Maximised 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。国際食品香料工業協会のグローバル使用量調査に合わせ、本年度は令和2年1月から12月に日本国内で食品香料として使用された香料化合物及び天然香料の使用量調査を実施した。

香料化合物規格の国際整合化に関わる調査研究：JECFAにより定められた香料化合物の化合物同定用の規格は重要な位置づけであるにもかかわらず、その検証は十分になされてきていないと考えられることから、JECFA規格の検証を行っている。令和2年度の研究では、検証の終了していない品目について、これまで収集したデータを詳細に検討し、今後の作業方針を立案した。本年度は、令和2年度に調査対象に決定した28品目について、再調査を含む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ケトン系香料の一日摂取量調査について検討を行った。MB混合試料に含まれる香料を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法（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。ケトン系香料マルトールの一日摂取量は1.84 mg/人/日、エチルマルトールの一日本摂取量は0.28 mg/人/日であった。JECFAにおいて設定された許容一日摂取量（ADI）に対する一日摂取量の割合（対ADI比）は、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。

食品添加物公定書一般試験法の改良に関する調査研究—一般試験法 質量分析法案の検討—

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、JECFA 規格や米国の Food Chemicals Codex 等に記載があり、一般試験法に優先的に追加検討すべき試験法として、MS を用いる試験法を挙げ、その検討を行った。平成 29 年度から令和 2 年度に、GC/MS や液体クロマトグラフィー質量分析法を用いる具体的な規格試験法の検証を行い、MS を用いたクロマトグラフィーによる定量法の課題について検討した。日本薬局方を参照して作成された食品添加物公定書の質量分析法の原案について検討し、本研究の検討により得られた結果等を基に変更及び追記を行い、食品添加物公定書一般試験法の質量分析法（案）を作成した。

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）について、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必要があると考えられた。以上の結果を踏まえ、食品添加物公定書一般試験法の赤外吸収スペクトル測定法に ATR 法を取り入れる場合の改正案を提案した。

残留溶媒試験法に関する研究

残留溶媒試験法において、海外で使用されている GC/MS 及び夾雑物の影響が少ないヘッドスペース (HS) 法を用いて、ショ糖脂肪酸エステル中のメタノール、2-プロパノール、2-ブタノン、酢酸エチル及び 2-メチル-1-プロパノールの分析法の検討を行った。HS-GC/MS の SIM モードで標準添加法により添加回収試験（10 µg/g 相当の各分析対象物質を添加）を行った。その結果、メタノールでは 100%、2-プロパノールで 78.7%、2-ブタノンでは 70.8%、酢酸エチルで 70.9% の回収率が得られた。2-メチル-1-プロパノールではショ糖脂肪酸エステルの影響でピーク形状が悪く定量が困難であった。以上の結果から、SIM モードを用いた HS-GC/MS はショ糖脂肪酸エステル中のメタノール、2-プロパノール、2-ブタノン及び酢酸エチルの定量法として有用な方法であることが明らかとなった。更に、これまでの調査及び結果を参考に一般試験法として残留溶媒試験法案を作成した。

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
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や試験法の整備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) 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（食品衛生法施行規則別表第1に掲げられている添加物）については品目ごとに原則としてその許容一日摂取量（ADI）が検討評価されており、行政上各添加物の日本人一人一日実摂取量の把握が求められている。本調査では、指定添加物の1日平均摂取量の把握を目的として、令和元年度の生産・輸入・販売・使用を対象に調査を行った。一方、既存添加物については、一定純度とする規格がないものもあることから、「既存添加物収載品目リスト」収載品目（既存添加物）及び「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」収載品目（一般飲食物添加物）のうち、食品添加物公定書で成分規格が定められている品目等の出荷量の実態を把握することを目的とし、令和2年度の製造・輸入の調査を行った。

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)

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）による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 Maximised 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。本年度は昨年度に作成した調査票を基に、令和2年1月から12月に日本で使用された香料化合物及び天然香料の使用量調査を実施

し、国際食品香料工業協会（IOFI）のグローバル使用量調査にデータの提供を行った。

3) 香料化合物規格の国際整合化に関する調査研究

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。平成27年度の厚生労働科学研究での調査によると我が国では2045品目の香料化合物が使用されているが、公式な規格が定められているものは141品目（令和4年5月16日現在）のみである。一方、香料化合物にはJECFA、欧州連合（EU）、中国、韓国等も規格を設定している。特に国際機関であるJECFAの規格は、わが国の食品添加物公定書だけでなく多くの国で公定規格を設定する際に参照されている。国際汎用香料化合物の規格設定や第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含量、物性値がJECFA規格に合致しない等の事例が確認されていた。このため、香料化合物の規格値に関する実態調査結果によるJECFA規格の検証作業を実施している。本年度は、令和2年度に調査対象に決定した28品目について再調査を含む規格案の検討を行った。

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

流通する食品中からの香料の摂取量を明らかとするため、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、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ール及びエチルマルトールに着目し調査を実施した。

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—一般試験法 質量分析法案の検討—

食品添加物は、原則として、人の健康を損なうおそれのない場合として厚生労働大臣が定める場合に限り、その使用が認められ(指定)、その品質を担保するために純度や成分について遵守すべき項目(成分規格)が設定されている。成分規格に記載の各試験に用いられる試験法は、食品添加物公定書の一般試験法の項にまとめられている。そのため、一般試験法の改良は、規格試験の質の向上並びに規格基準の精度向上に貢献するものである。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法の進歩に対応して一般試験法を改良するだけでなく、国際整合化を図ることが必須であると考えられる。

令和元年度には、液体クロマトグラフィー質量分析法(LC/MS)を用いる定量法の精度について調べるため、具体的な試験法として JECFA 規格の Method of assay (定量法)として記載されている溶媒グラジェントによる LC/MS 条件を参照し、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、令和2年度は、アイソクラティック LC/MS 条件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。今年度は、

これまでの検討結果を踏まえ、食品添加物公定書一般試験法の質量分析法案の検討を行った。

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、現在では食品添加物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、我が国での食品添加物等の規格基準の向上を目的として、ATR法について、規格設定に関する調査、検討を行った。

5. 残留溶媒試験に関する調査研究

シヨ糖脂肪酸エステルは、シヨ糖を親水基、脂肪酸を親油基とした非イオン界面活性剤であり、日本で古くから使用が認められている食品添加物である。食品添加物公定書におけるシヨ糖脂肪酸エステルの純度試験には「その他の溶媒」として2-ブタノン(10 µg/g以下)、酢酸エチル、2-プロパノール及びプロピレングリコール(合計量として0.035%)、メタノール(10 µg/g以下)、2-メチル-1-プロパノール(10 µg/g以下)の規格が定められており、プロピレングリコールを除く各分析対象物質は標準添加法による水素炎イオン化検出器を用いたヘッドスペースガスクロマトグラフィー(HS-GC/FID)を用いて定量する方法が設定されている。本研究では昨年検討した方法を元に、HS-GC/MSを用いた各分析対象物質(メ

タノール、2-プロパノール、2-ブタノン、酢酸エチル及び 2-メチル-1-プロパノール) の定量法について検討した。なお、プロピレングリコールについては、食品添加物公定書においてもプロピレングリコールのみピリジンに溶解し直接注入法でGC/FIDで別に分析することとなっており、今回検討する他の溶媒と沸点が大きく異なり、同一条件では分析が困難と判断し対象外とした。

更に、これまでの調査及び検討結果を参考に一般試験法として残留溶媒試験法案を作成した。

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) 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)-1 指定添加物

本調査は、日本国内の食品添加物製造所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、自家消費されたもの）の種類・生産・輸入・販売・使用についての量的調査である。令和2年度の追調査として、アンケート個票並びに、その集計表を点検して、記入不備・記入値等に疑問のある業者を抽出して、電話・メール照会等を行い、集計化向上と精密化を期した。さらに、本年度新たに追加した2社への調査に加え、初年度未回答企業への電話・メールでの再調査を57件、合計59件の調査を行った。その結果49社から回答を得た。

1)-2 既存添加物

- ・調査方法：アンケート方式
- ・調査対象期間：令和2年4月から令和3年3月までの1年間あるいは令和2年を過半日数含む1年間
- ・調査対象企業：平成30年度に実施された調査の回答状況を基に、既存添加物等の製造・輸入の可能性のある企業を広く対象とした。
- ・調査対象添加物：既存添加物名簿に記載されている全品目357品目並びに一般飲食物添加物リストのうち、第9版食品添加物公定書で成分規格が定められている品目等55品目(計412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
- 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) 用途別出荷量、輸出货量

2) 香料使用量に関わる調査研究

昨年度作成した香料化合物及び天然香料の調査票を使用し、令和2年1月から12月に国内で食品香料製造に使用した香料化合物及び天然香料の量について、食品香料を製造している会社に調査を依頼し、回答を得た。

得られた回答については内容・数量等を精査し、バリデーションの作業を行い、使用量を集計した。IOFIの調査リストは「CDS Poundage Survey List」（化学的に定義された物質使用量調査リスト）、「NCS Poundage Survey List」（天然複合物質（いわゆる天然香料）使用量調査リスト）、「Regional Review List」の3つがあり、香料化合物と天然香料の分類

が各国、地域で違う品目は「Regional Review List」に記載されている。得られた結果について、IOFIのそれぞれのリストに記入し、報告を行った。

3) 香料化合物規格の国際整合化に関わる調査研究

本研究では、これまでに JECFA 規格の検証ができていない品目のうち、令和2年度研究にて検証のための分析計画を立案した28品目について、以下の手順で問題点を検証、整理し規格案の設定を行った。

3)-1 実測値(Ⅱ)調査のための予備検討と調査の実施

- ・規格設定に必要な情報の確認、整理
- ・実測値(Ⅱ)調査方針の決定
- ・実測値(Ⅱ)調査票の検討及び調査の実施、集計結果のまとめ

3)-2 JECFA 規格と実測値(Ⅱ)の品目ごとの比較、検証

- ・実測値(Ⅱ)調査結果と各規格項目の比較
- ・JECFA 規格と実測値の違いについての考察及び提案
- ・各規格項目の判定結果と総合判定

2. MB 方式による低揮発性香料の摂取量調査の検討

1) MB 方式調査用加工食品群試料 (MB 試料)

購入した286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試料として本研究に用いた。

2) 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。

3) 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。MB 1、2、4、5、7群試料は約5.0g、MB 3、6群試料は約1.0g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6g、無水酢酸ナトリウム1.5g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。

4) 食品添加物の一日摂取量の推定

1~7群のMB試料中の低揮発性ケトン系香料含有量(mg/g)を求め、各群の喫食量(g/人/日)を乗じ、1~7群の和を成人の一日総摂取量(mg/人/日)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——一般試験法 質量

分析法案の検討一

平成 29 年度から令和 2 年度までに行った、具体的な分析対象物質についての質量分析計を用いるクロマトグラフィーによる検討を以下に示す。

- 1) ローズマリー抽出物 JECFA 規格案の GC-MS 分析法
- 2) ヒドロキシプロピルメチルセルロース JECFA 規格 GC-MS 分析法
- 3) ステビオール配糖体の LC/MS によるグラジエント分析法
- 4) ステビオール配糖体の LC/MS によるアイソクラティック分析法

これらの検討で得られた結果を基に、食品添加物公定書一般試験法の質量分析法に記載すべきと考えられる内容について、文章案を検討した。

4. 赤外スペクトル測定法に関する研究

測定試料は、市販品を用いた。本研究で測定に用いた赤外分光光度計は、JASCO FT/IR-4100（日本分光社製）である。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) HS-GC/MS 条件

1)-1 GC/MS 条件

カラム：DB-624 UI（ $30\text{ m} \times 0.25\text{ mm}$ I.D. 膜厚 $1.4\ \mu\text{m}$ ）、カラム温度： 40°C （5 min） $\rightarrow 40^\circ\text{C}/\text{min} \rightarrow 240^\circ\text{C}$ （3min）、注入口温度： 200°C 、キャリアーガス：ヘ

リウム、キャリアーガス流量： $1\text{ mL}/\text{min}$ 、スプリット比： $30:1$ 、スプリット流量： $30\text{ mL}/\text{min}$ 、トータルフロー： $34\text{ mL}/\text{min}$ 、セプタムパージフロー： $3\text{ mL}/\text{min}$ 、カラム流量： $1\text{ mL}/\text{min}$ 、イオン源温度： 230°C 、イオン化法：EI、四重極温度： 150°C 、電子エネルギー： 70.0 eV 、測定モード：スキャン及び SIM、スキャン範囲（ m/z ）： $30\sim 150$ 、選択イオン（ m/z ）： 32 （メタノール）、 43 （2-ブタノン、酢酸エチル、2-メチル-1-プロパノール）、 45 （2-プロパノール）。

1)-2 HS サンプラー条件

バイアル平衡化温度： 80°C 、バイアル平衡化時間：40 分、トランスファーライン温度： 150°C 、注入時間： 0.5 min 、バイアルサイズ： 20 mL 、バイアル攪拌：レベル 4、充填圧力： 15 psi

2) HS 条件の最適化

標準液を用いて、標準液の添加容量、平衡化温度、平衡化時間について検討した。

3) 添加回収試験

ブランク試料液及び添加試料液 1~6 について HS-GC/MS 条件でメタノール、2-プロパノール、2-ブタノン、酢酸エチル及び 2-メチル-1-プロパノールのピーク面積値を測定（SIM モード）し、得られたクロマトグラムから、メタノール、2-プロパノール、2-ブタノン、酢酸エチル及び 2-メチル-1-プロパノールのピーク面積を求めた。横軸に各溶媒の濃度（ $\mu\text{g}/\text{g}$ ）、縦軸に各分析対象物質のピーク面積をとり、グラフにそれぞれの値をプロットし、関係線を作成し、関係線の横軸との交点と原点との距離から、添加試

料中のメタノール、2-プロパノール、2-ブタノン、酢酸エチル及び2-メチル-1-プロパノールの濃度を求めた(μg/g)。ブランク試料液から各分析対象物質が検出された場合は、得られた濃度から試料由来の濃度を差し引き、添加回収率(%)を求めることとした。

(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. 食品添加物の摂取量推計及び香料規格に関する研究

1) 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する研究

1)-1 指定添加物

昨年度の追調査を行った結果、49社から回答を得た。令和2年度と令和3年度の合計調査数は507件、回収数は451件、回収率は89.0%であった。

回収された調査票をもとにデータをコンピュータ入力し集計を行い、集計1 食品添加物用途別 食品添加物名と全出荷量、食品向け出荷量、輸出量調べ及び集計2 食品添加物名別 製造会社数、全出荷量、食品向け出荷量、輸出量調べを作成した。

1)-2 既存添加物

調査票発送数は355件、回収数は288件(回収率81.1%)、そのうち、製造・輸入ありは227件(回収に対する比率78.8%)であった。

出荷量の多い既存添加物、取り扱い企業の多い既存添加物をまとめた。なお、追調査を行っており、本報告は暫定値である。

2) 香料使用量に関する調査研究

2)-1 香料化合物

2)-1-1 本調査の報告率

令和2年1月～12月の有効回答会社51社の食品香料年間販売量から日本香料工業会会員124社の販売量に基づき算出した報告率は、91.9%であった。本調査においても過去と同様に高い報告率が得られたことから、本調査結果は国内における香料化合物の使用実態を十分に反映していると言える。

2)-1-2 日本で使用されている香料化合物の品目数と年間使用量

品目数は1843品目、総使用量は1278.16トンであり、前回調査(平成27年)の1248.99トンと比較してほぼ同じだった。またFEMA GRAS品目は1520品目(IOFIへの報告は1429品目)、1273.21トンであった。日本で使用されている香料化合物の中でFEMA GRAS品は、使用量で99.6%、品目数で82.5%であった。使用量で見るとFEMA GRAS品が多く使用されていることが分かった。

日本では異性体を区別して調査したがFEMA番号が同じ品目(メントール、ヘキセナール、ボルネオール等)があり、合算して報告しているため品目数に差異が生じている。

2)-1-3 日本の香料化合物リストとIOFIの調査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の調査リストに収載されている物質が215品目あった。これらは、日本では天然香料に該当するもの、類又は誘導体として指定されている18項目の香料に該当しない未認可の香料物質や他の添

加物用途で使用されている品目である。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。

2)-2 天然香料

2)-2-1 本調査の報告率

令和 2 年 1 月から 12 月の有効回答会社 53 社の食品香料年間販売量から日本香料工業会会員 124 社の販売量に基づき算出した報告率は、92.0%であった。このように高い報告率が得られたことから、本調査結果は国内における天然香料の使用実態を十分に反映していると言える。

2)-2-2 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品目数は 269 品目使用されており、総使用量は 1422.58 トンであり、前回調査(平成 27 年)の 1403.05 トンと比較してほぼ同じだった。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)-2-3 日本で追加調査した天然香料

ウーロンチャ、カカオ、カツオブシ等の 14 基原物質を追加調査した。総使用量としては 1108.75 トンであった。

2)-2-4 FEMA GRAS リスト記載の天然複合物と日本の天然香料基原物質の違いについて

本調査では、IOFI から提供された

「NCS Poundage Survey List」を編集し、日本独自の調査票を作成したが、日本の天然香料基原物質リストとは以下に示すような多くの違いが見られた。

①FEMA GRAS リストでは濃縮度の異なるテルペンレス品やfold品について別番号や番号に -A、-B などの記号をつけて区別したのものがある(lemon, lime, orange など)。

②製法、形態、産地などによりそれぞれの FEMA 番号を当てられているものがある。

③日本では天然香料とみなされているが FEMA GRAS リストには無い品目がある(リンゴなどの果実系、ミルク等の乳製品系、動物系、加工食品系等)

2)-3 Regional Review 品目リストについて

前回の IOFI のグローバル使用量調査において、香料化合物と天然香料のいずれに該当させて調査するかの判断が各国、地域で異なる品目がいくつか存在した。これらの取り扱いについてはその後 IOFI 側でも議題となり、今回、5 品目が Regional Review という形で回覧されたが、日本の調査では 1 品目はエステル類に属する香料化合物、残りの 4 品目は天然香料に該当するとした。

3) 香料化合物規格の国際整合化に関する調査研究

3)-1 実測値(Ⅱ) 調査のための予備検討と調査の実施

28 品目の問題点と対応方針に基づき、実測値調査を行うために、規格設定に必要な情報の確認を行い、調査方針を決定、アンケート調査を実施した。

3)-1-1 実測値（Ⅱ）調査方針

「問題がないことが判明したもの」とした3品目は調査対象から除外した。

「データ数が少ないため判断できなかったもの」8品目と「複数の組成の異なる製品群が流通している可能性があるもの」の14品目の合計22品目について今年度の実測値（Ⅱ）調査の対象とした。

「複数の組成の異なる製品群が流通している可能性があるもの」と判断していた品目のうち、2,4,5-Trimethylthiazole（JECFA No.1036）については、予備検討の実測値（Ⅱ）の結果により JECFA 規格が実際の値と異なっている可能性が高いと判断できたため新規の実測値調査の対象からは除外した。また、「その他（物質の同定、測定条件等に問題のあるもの）」と判断した2品目は、含量組成が一定でない可能性が考えられたため、別途定量 NMR を使用した検討を行うこととし、対象から除外した。

3)-1-2 実測値（Ⅱ）調査票の検討及び調査の実施

対象の22品目について R3 実測値（Ⅱ）調査票を作成してアンケート調査を行った。全ての対象品目で FID による GC チャート及び GC 測定条件（カラムの種類、長さ等）、副成分の帰属成分名、保持時間、ピーク面積（%）の情報提供をお願いした。

本年度は平成 27 年に使用報告のあった会社に令和 2 年に使用報告のあった会社を追加して、調査期間を令和 3 年 10～11 月として実施した。

3)-1-3 実測値（Ⅱ）調査結果の集計

アンケート調査の結果、36 社から合計 166 製品の回答が得られた。

これまでのアンケート調査結果と同様に一覧にまとめて比較、検証を行った。

3)-2 JECFA 規格と実測値（Ⅱ）の品目ごとの比較、検証

新たに収集した実測値（Ⅱ）データを追加し、令和 2 年度に分析方法や問題点を検討した 28 品目について JECFA 規格との比較を行い検証した。検証にはこれまでに得られた実測値（Ⅱ）データを用い、データ数の少ない品目については実測値（Ⅰ）データも加味して検討した。

規格項目ごとに規格比較判断基準に基づく記号を付けて整理した。その結果、JECFA 規格で問題のなかった品目（O）が1品目、データの再検討で規格設定が可能であった品目（XO）が11品目、規格設定が困難であった品目（X）が3品目、これまでの規格設定指針に加え、新たな考え方を取り入れ規格案の設定が可能となった品目（XO2）が13品目であった。

- ・規格設定が困難な品目について（X）

規格設定が出来なかった3品目のうち、2品目（2,5-dihydroxy-2,5-dimethyl-1,4-dithiane と 2-thienylmercaptan）は、これらの化合物自体変化しやすく、測定時の組成が一定でない可能性が示唆されるため規格設定は困難と判断した。

残る1品目は bisabolene で、組成の近い副成分が多数かつ主成分の含量が 50%以下であり、天然原料を使用している可能性が高いと考えられた。JECFA 規格は異性体を規定していないため規格化は困難であると判断した。このような天然物系の混合物については副成分の組成を明記すること並びに、最低含量は 50%

以上を担保することが望ましいと考えられた。

・規格設定指針に加え、新たな考え方を取り入れ規格案を設定した品目 (XO2)

これらの品目には、異性体や同族体などの副成分の範囲を規定することで、規格設定が可能となったもの、液体と固体の製品が混在して流通しているもの、含量が低いために屈折率や比重の幅を規格設定指針よりも広げた製品があった。これらの製品については、JECFA 規格に合致はしないが、実際に流通している製品の実情に合わせて規格の見直しが必要と考えられた。

・今後の検討課題

今回 JECFA 規格に合致していない品目についても規格設定を行ったが、これらの安全性についての検証は行っていない。そのため、安全性については担保できるかどうかの検証が必要と考えられるが、副成分や最低含量について流通実態を反映した規格設定も必要になると考えている。

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

MB方式の推定一日摂取量は、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 (いも類・豆類・種実類) 及び6群 (砂糖類・菓子類) 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。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。

2) 一日摂取量の ADI との比較

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 ADI に対する一日摂取量の割合 (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。

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、今回調査したマルトール等の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。

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—一般試験法 質量分析法案の検討—

第十八改正日本薬局方（JP18）では、一般試験法に質量分析法が既に設定されている。そのため、JP18の質量分析法を参照し、試験法記載の構成については食品添加物公定書の一般試験法の書きぶりに合わせ、まず、食品添加物公定書の質量分析法の原案が作成された。

そこで、これまでの研究の結果等に基づき、食品添加物公定書の質量分析法の原案について検討し、その変更及び追記を行い、別紙1に示す質量分析法（案）を作成した。主な変更・追記部分を以下に示す。なお、質量分析法の原案からの変更・追記箇所は、以下の記載及び別紙1の質量分析法（案）に、下線を引いて示した。

1) 操作法(1)確認の試験の項 「クロマトグラフィー等の分離分析と組み合わせて確認試験を実施することもできる。」：複数の成分を含む食品添加物を対象とする場合、質量分析法とクロマトグラフィーとの組み合わせは、被検成分の定量のみでなく、その確認を行う上でも有用であったため、追記した。

2) 操作法(2)純度及び定量の試験の項
・「純度及び定量の試験」：食品添加物公定書の成分規格では純度試験のみでなく定量法でも活用できることから、文言を追記した。

・「液体クロマトグラフィー質量分析で用いる移動相の条件はカラム分とイオン化の両方に適した組成となるよう考慮する必要がある。」：質量分析法と液体クロ

マトグラフィーを組み合わせる上で留意すべき点について追記した。

・「より正確な値や精度のよい結果を得るために、測定対象とする被検成分の安定同位体標識化合物や類似化合物等を内標準物質として試験溶液に添加する方法も可能である。」：食品添加物中の被検成分を分析対象とする場合、安定同位体標識化合物の入手が困難な場合も多いため、内標準物質として類似化合物を追記した。内標準物質の無い場合、質量分析法による定量では、FID や UV による検出等に比べ精度が劣る傾向が見られたが、内標準物質を用いることで、精度が向上したため、この点を追記した。

・「被検成分や内標準物質の分析対象イオンには、純度試験及び定量に適したイオンを選択するよう留意する。また、標準溶液の分析結果から作成する検量線や、内標準物質に対する被検成分の検出感度の比から得られる関係線は、純度試験及び定量に適した濃度範囲の値を用いるよう留意する。」：被検成分や内標準物質に由来するイオンが複数認められる場合、定量に用いるイオンの選択は結果に影響を及ぼしたため、この点について追記した。また、FID や UV での検出に比べ、検量線や関係線の直線性の得られる範囲の幅が狭い傾向にあり、被検成分の濃度に対して、検量線や関係線の範囲が適切であるよう留意すべき点について追記した。

3) その他、食品添加物公定書の一般試験法として変更や追記が必要と考えられた点

・全体 食品添加物試料は、単一成分で

はなく、多種成分の混合物であることも多く、測定対象はその中の一部の成分であると考えられることから、測定対象の表現を「試料」ではなく「被検成分」とした。

・操作法の項 「成分規格・保存基準各条等に従って検液を調製し、規定された操作条件に従って測定する。質量分析は、分子の質量や構造情報に基づく特異的な検出法として、確認、純度や定量等の試験に用いられる。」：食品添加物公定書の一般試験法として必要な記載を追記した。

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として、JP18 (JP18解説書、JP18技術情報 (JPTI 2021)を含む)、USP Food Chemical Codex 12th edition (FCC 12th)、European Pharmacopoeia 10th edition (EP 10th)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法を特に区別せずに規定しているものがある一方で、EP 10thでは、両者を明確に区別しており、確認方法も標準品との比較であった。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、試料としてキシリトールを取り上げて比較検討を行った。その結果、キシリトール標準品をATR法で測定したスペクトルと、透過法である錠剤法で測定された参照スペクトル (第9版食品添加物公定書掲載) とを比較すると、ATR法で得られたスペクトルは、参照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、透過法で得られた既存の参照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、キシリトールを用いて、測定前の処理に関して検討を行った。第9版食品添加物公定書のキシリトールの確認試験の(2)として、「本品を減圧下、酸化リン(V)デシケータ中で24時間乾燥し、赤外吸収スペクトル測定法中の錠剤法により測定し、本品のスペクトルをキシリトール標準品のスペクトル又は参照スペクトルと比較するとき、同一波数のところに同様の強度の吸収を認める。」と規定されている。そこで、A社キシリトールを乾燥せずにATR法で測定したスペクトルと、乾燥したキシリトール標準品のスペクトルを比較した結果、3100~3400cm⁻¹付近のスペクトル形状が異なっていたが、A社キシリトールを乾燥した後に測定したスペクトルは、乾燥したキシリトール標準品のスペクトルと合致した。従って、ATR法での測定を規定する場合でも、測定条件 (測定前の処理を含む) を規定することが必要であり、標準品も、同様の測定条件で測定する必要があると考えられた。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り、確認試験にATR法を取り入れる場合、同一条件での測定を前提とした標準品との比較を行う必要があると考えられた。以上の結果を踏まえ、食品添加物公定書 一般試験法 赤外吸収スペクトル測定法にATR法を取り入れる場合の改正案を提案した。

5. 残留溶媒試験に関する調査研究

1) HS 条件の最適化

1)-1 標準液の添加容量の検討

標準添加法における試料に添加する標準液の添加量について検討するため、3種類の混合標準液（0.002 g/mL×5 μL、0.0002 g/mL×50 μL、0.00005 g/mL×200 μL）を添加し（いずれも各分析対象物質として 10 μg 相当）、測定（SIM モード）を行った。その結果、混合標準液の添加容量を増やすと感度が低くなり、5 μL 添加が最も感度が高かったため、以後 5 μL を添加することとした。

1)-2 平衡化温度の検討

平衡化温度を 50、60、70 及び 80℃で変化させ、各分析対象物質のシグナル面積を測定した。その結果、いずれも加熱温度が高くなるにつれて各分析対象物質のシグナル面積値が大きくなる傾向が見られたことから、面積値のばらつきも小さく、ある程度の感度が得られる温度として、平衡化温度は 80℃とした。

1)-3 平衡化時間の検討

バイアル平衡化温度を 80℃で、バイアル平衡化時間を 10、20、30、40、50 及び 60 分間とし、各分析対象物質のシグナル面積を測定した。その結果、2-プロパノール、2-ブタノン及び酢酸エチルは 20 分での感度が高かったが、メタノールでは 40 分の感度が最も高く、ばらつきが小さかった（相対標準偏差（RSD）< 0.4%）。その他の分析対象物質でも 40 分でのばらつきが小さい傾向が見られた（RSD<2.1%）。以上の結果から、平衡化時間は現在の食品添加物公定書でのバイアル平衡化時間と同じ 40 分とした。

2) 添加回収試験

添加用標準液をシヨ糖脂肪酸エステル 1 g に添加し（各分析対象物質 10 μg/g 相当）、標準添加法により各分析対象物質の含量を求め、回収率を求めた。ブランク試料液からはいずれの分析対象物質も検出されず、回収率は、メタノールでは 100%、2-プロパノールで 78.7%、2-ブタノンでは 70.8%、酢酸エチルで 70.9%、2-メチル-1-プロパノールでは 24.8%となった。シヨ糖脂肪酸エステルを加熱した場合、2-メチル-1-プロパノールはピーク形状が非常に悪くなることから、標準添加法で定量値が正しく得られていない可能性が考えられ、GC 条件などさらなる検討が必要と考えられた。その他の分析対象物質では 70~100%の概ね良好な回収率が得られたことから HS-GC/MS を用いたメタノール、2-プロパノール、2-ブタノン及び酢酸エチルの分析法として有用な方法であると考えられた。

3) 一般試験法（残留溶媒試験法）案の作成

食品添加物公定書において残留溶媒規格が設定されている添加物としてはウエランガム、ルチン（抽出物）、加工ユーケマ藻類、カロブビーンガム、キサントガム、グアーガム、ジェランガム、植物性ステロール（遊離体高濃度品）、植物性ステロール（遊離体低濃度品）、精製カラギナン、ナリンジン、マクロホモプシスガム、ヤマモモ抽出物、ラムザンガム、カカオ色素、シヨ糖脂肪酸エステル、ヒドロキシプロピルセルロース、ペクチン、クチナシ青色素、スクラロース、乳酸等がある。そのうち、共通の器具、操作方法を用いている試験法について一般試験

法を作成することとした。多くの添加物で共通の操作方法として使用されているものとしては、蒸留法と水素炎イオン化検出器を用いた GC 法であったため、器具の種類により装置 A~C、操作法として、装置 A~C を用いる場合としてそれぞれ試験法案を作成した。更に、食品添加物公定書では未だにガラス管を用いたパックドカラムを用いる方法が設定されているものも多いが、近年パックドカラムが取り付けられない GC 装置も多くなっていることから、キャピラリーカラムを用いた試験法が代用できるような一般的なキャピラリーカラムを用いた条件を参考にできるように記載した。

HS-GC 法を用いた試験法が設定されている添加物もいくつかあるが、いずれも各添加物の性質に応じた溶媒や操作法が設定されており、共通の条件で分析することは困難であることから、現段階では一般試験法として提示せず、限外ろ過法と共に、残留溶媒試験法の説明文に HS-GC 法や遠心式限外ろ過ユニットを用いた方法について説明を加え、詳細な試験法としては今後設定することとした。残留溶媒試験法案は別紙に示した。

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) 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では、追加調査を実施し、既存添加物については基礎的な情報を得た。

2) 香料使用量に関わる調査研究

本年度、令和 2 年 1 月から 12 月に日本で食品香料として使用された香料化合物及び天然香料の使用量調査を実施した。この研究は、我が国における香料化合物及び天然香料の使用実態について継続的な調査を実施するとともに、IOFI から要請されたグローバル使用量調査にデータを提供するものでもある。本年度は IOFI の第 3 回目のグローバル使用量調査に合わせ、IOFI の調査リストの品目に加え、グローバル調査リストにない品目で使用量の多い 14 基原物質について昨年度の厚生労働科学研究で作成した調査票を用い、日本での天然香料の使用量調査を実施した。

有効回答会社は香料化合物で 51 社、天然香料で 53 社であった。これらに対する食品香料の年間販売量及び日本香料工業会会員 124 社に対する食品香料の年間販売量に基づいて算出した結果、報告率はそれぞれ、91.9%、92.0%であった。本調査において高い回答率が得られたことから、本調査結果は国内における香料化合物及び天然香料の使用実態を十分に反映していると言える。

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 1843 品目、年間総使用量は 1278.16 トンであった。このうち FEMA GRAS リスト収載品目については 1520 品目、1273.21 トンであった。また天然香料については、IOFI の調査リストの FEMAGRAS リスト収載品目数は濃縮物(fold 品)を含め 269 品目、年間総使用量は 1422.58 トンであった。また IOFI の調査リストにな

い天然香料 14 基原物質の使用量は 1108.75 トンであった。

香料化合物及び天然香料の使用量調査は、常に香料物質が我が国において安全に使用されているという確認のためにも行政機関や IOFI の指導の下に今後も継続性を持って定期的実施していく必要がある。今回行った調査方法及びその調査回答の処理は、そのような今後の実態調査の進め方の基本となり、将来の安全性評価のためのデータ作成に大きく貢献する。

3) 香料化合物規格の国際整合化に関わる調査研究

昨年度の計画に基づき、実測値 (II) データを得るための調査内容を事前検討し、新たなデータ収集が必要な 22 品目についてアンケート調査を実施した。

調査結果は 36 社から合計 166 製品の回答が得られた。これまで収集したデータに今回のデータを加えて JECFA 規格の妥当性を検討した。

その結果、JECFA 規格で問題のなかった品目 (O) が 1 品目、データの再検討で規格設定が可能であった品目 (XO) が 11 品目、規格設定が困難であった品目 (X) が 3 品目、これまでの規格設定指針に加え、新たな考え方を取り入れ規格案の設定が可能となった品目 (XO2) が 13 品目であった。

今回 JECFA 規格に合致していない品目についても規格設定を行ったが、これらの安全性についての検証は行っていない。そのため、安全性については担保できるかどうかの検証が必要と考えられるが、副成分や最低含量について流通実態

を反映した規格設定も必要になってくると考えている。

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き 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、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。

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——一般試験法 質量

分析法案の検討一

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、JECFA 規格や米国の FCC 等に記載があり、一般試験法に優先的に追加検討すべき試験法として、MS を用いる試験法を挙げ、その検討を行った。平成 29 年度から令和 2 年度に、GC/MS や LC/MS を用いる具体的な規格試験法の検証を行い、MS を用いたクロマトグラフィーによる定量法の課題について検討した。JP18 を参照して作成された食品添加物公定書の質量分析法の原案について検討し、本研究の検討により得られた結果等を基に変更及び追記を行い、食品添加物公定書一般試験法の質量分析法（案）を作成した。この質量分析法の案は、第 10 版食品添加物公定書検討会において議論され、合意が得られた。

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 IR 法について、ATR 法も含め、規格設定に関わる調査、検討を行った。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 法を特に区別せずに規定してものがある一方で、EP 10th では、両者を明確に区別していた。試料としてキシリトールを取り上げて比較検討を行った結果、確認試験において ATR 法で得られたスペクトルと、透過法で得られた既存の参照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、測定前の処理に関して検討を行ったところ、

乾燥せずに測定した場合のスペクトルは、乾燥して得られたスペクトルとは異なっていた。従って、ATR 法での測定を規定する場合でも、測定条件（測定前の処理を含む）を規定することが必要であり、標準品も、同様の測定条件で測定する必要があると考えられた。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り、確認試験に ATR 法を取り入れる場合、同一条件での測定を前提とした標準品との比較を行う必要があると考えられた。以上の結果を踏まえ、食品添加物公定書 一般試験法 赤外吸収スペクトル測定法に ATR 法を取り入れる場合の改正案を提案した。この赤外スペクトル測定法案は、第 10 版食品添加物公定書検討会において議論され、合意が得られた。

5. 残留溶媒試験に関する調査研究

HS-GC/MS を用いたシヨ糖脂肪酸エステル中のメタノール、2-プロパノール、2-ブタノン、酢酸エチル及び 2-メチル-1-プロパノール分析法の検討を行った。10 µg/g 相当の各分析対象物質を添加したシヨ糖脂肪酸エステル 1 g を用いて、標準添加法により添加回収試験を行った。その結果、メタノールでは 100%、2-プロパノールで 78.7%、2-ブタノンでは 70.8%、酢酸エチルで 70.9%の回収率が得られた。2-メチル-1-プロパノールではシヨ糖脂肪酸エステルの影響でピーク形状が悪く定量が困難であった。以上の結果から、SIM モードを用いた HS-GC/MS はシヨ糖脂肪酸エステル中のメタノール、2-プロパノール、2-ブタノン及び酢酸

エチルの定量法として有用な方法であることが明らかとなった。食品添加物公定書において残留溶媒の規格が設定されている成分規格を元に、共通の器具、操作を用いる試験について、一般試験法として残留溶媒試験法案を作成した。この残留溶媒試験法案は、第 10 版食品添加物公定書検討会において議論され、合意が得られた。

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) 建部千絵、久保田浩樹、多田敦子、佐藤恭子、HS-GC/MS を用いたショ糖脂肪酸エステル中の DMSO 及び DMF 同時分析法の検討、日本食品衛生学会 第 118 回学術講演会、Web 開催 (2021.11)

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

