

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）  
食品添加物の試験法の検討及び摂取量に基づく安全性確保に向けた研究  
令和5年度分担研究報告書

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

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）方式による香料の一日摂取量調査について検討を行った。イソチオシアネート系香料を対象に MB 混合試料に含まれる香料の含有量をダイナミックヘッドスペース（DHS）-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 方式によるイソチオシアネート系香料の推定一日摂取量は、アリルイソチオシアネート（AITC）が 0.08 mg/人/日、3-ブテニルイソチオシアネートが 0.02 mg/人/日、4-ペンテニルイソチオシアネートが 0.01 mg/人/日であった。FAO/WHO 合同食品添加物専門家委員会（JECFA）では、これら化合物を香料として使用する限りにおいて安全性に懸念がないと考えられるとして許容一日摂取量（ADI）は設定されていない。参考として欧州食品安全機関（EFSA）における AITC の評価結果をもとに ADI（mg/kg 体重/日）に対する 1 kg 体重当たりの推定一日摂取量（mg/kg 体重/日）の割合（対 ADI 比）を求めたところ 6.7%であり、AITC の推定摂取量は EFSA の ADI との比較においても低い値を示した。

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委員会（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。

分析技術の発展にともない、固相マイクロ抽出法や、スターバー抽出法、ダイナミックヘッドスペース（DHS）法を GC/MS と連携させることにより、食品に含まれる微量の揮発性成分を高感度かつ選択的に分析することが可能になっている。これらの分析法は、食品に含まれる揮発性の高い香料成分の分析にも有効であり、多くの報告がある<sup>5-7)</sup>。

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とするため、MB 方式による香料の一日摂取量の推計を検討した。本年度はイソチオシアネート系香料の中で国内における使用量が多い香料に着目し調査を実施した。DHS-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 方式の有用性及び課題について考察を行った。

## B. 研究方法

#### 1) MB方式調査用加工食品群試料(MB試料)

MB試料のための食品としては、「食品摂取頻度・摂取量調査 令和2年度 調査報告書」(東京大学大学院医学系研究科社会予防疫学分野 佐々木敏教授、令和3年3月)の食品添加物調査用の食品摂取量データに基づいて作成した食品喫食量リストにより、関東地域のスーパー等で、市販されている計193食品(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、一つの食品に対し異なる企業の2~3製品を購入したため、実際には287製品)を購入した。

購入した食品を、食品喫食量リストに従い、1~7群毎に分類し、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。

#### 2) 試薬

アリルイソチオシアネート(AITC)、*sec*-ブチルイソチオシアネート(*s*-BITC)、3-ブテニルイソチオシアネート(3-BITC)、4-ペンテニルイソチオシアネート(PITC)は東京化成の試薬(95.0%以上)を用いた。その他の試薬は試薬特級を用いた。

#### 3) 香料混合標準原液の調製

少量のアセトニトリルを入れた別々の100 mLのメスフラスコに、AITC、*s*-BITC、

3-BITC、PITC各1.0 gをそれぞれ精密に量って採取し、メタノールを加えて全量を100 mLに定容し、香料標準原液とした(濃度10 mg/mL)。各香料標準原液2 mLを正確に採取し、少量のアセトニトリルを入れた100 mLのメスフラスコに合わせ入れ、アセトニトリルを加えて全量を100 mLに定容し、香料混合標準原液とした(各濃度200 µg/mL)。香料混合標準原液は冷蔵庫にて保管した。

#### 4) 内部標準液の調製

少量のアセトニトリルを入れた100 mLのメスフラスコに、*s*-BITC 1.0 gを精密に量って加え、アセトニトリルを加えて全量を100 mLに定容した(濃度10 mg/mL)。この溶液1 mLを正確に採取し、少量のアセトニトリルを入れた100 mLのメスフラスコに採取し、アセトニトリルを加えて全量を100 mLに定容し、内部標準原液とした(濃度100 µg/mL)。内部標準原液2 mLを正確に採取し、少量のアセトニトリルを入れた10 mLのメスフラスコに入れ、アセトニトリルを加えて全量を20 mLに定容し、内部標準液とした(濃度20 µg/mL)。内部標準液は冷蔵庫にて保管した。

#### 5) 検量線用標準液の調製

6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、内部標準液2 mLずつを正確に採り、香料混合標準原液0、0.05、0.1、0.25、0.5又は1 mLをそれぞれ正確に加え、アセトニトリルを加えてそれぞれ正確に10 mLとし、検量線用標準原液とした。20 mLのヘッドスペースバイアルに塩化ナトリウム1 g及び水2 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 5  $\mu$ L 注入し、直ちにテフロンライナー/シリコンセプタムを装着したスクリュウキャップで密封し、検量線用標準溶液とした。

#### 6) 器具及び装置

DHS システムとして DANI 製の DHS/P&T サンプルングシステム Master DHS を用いた。GC/MS は島津製作所製の GCMS-QP2020NX を用いた。

試験液のバイアルはジーエルサイエンス製のヘッドスペースバイアル (20 mL、テフロンライナー/シリコンセプタムを装着したスクリュウキャップ付) を用いた。なお、バイアルは予め 100°C で 3 時間加熱後、放冷し、分析に使用した。

#### 7) DHS-GC/MS 測定条件

DHS 条件: カラム温度: 60°C、トドライステップ トラップ温度: 10°C、インジェクションステップ トラップ温度: 280°C、バルブ及びトランスファーライン温度: 260°C、インキュベーション時間: 10 分、ストリップング時間: 10 分、ドライステップ時間: 4 分

GC/MS 測定条件 カラム: InertCap Pure-WAX (30 m  $\times$  0.25 mm I.D. 膜厚 0.25  $\mu$ m)、カラム温度: 40°C (3 min)  $\rightarrow$  4°C/min  $\rightarrow$  170°C  $\rightarrow$  20°C/min  $\rightarrow$  300°C、注入口温度: 300°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: AITC  $m/z$  99、s-BITC  $m/z$  115、3-BITC  $m/z$  113、PITC  $m/z$  127

#### 8) DHS-GC/MS 用の試験溶液の調製

MB 試料 (1~4 及び 6~7 群 1.0 g、5 群

0.5 g: それぞれ元の食品試料 1 群 1.0 g、2~4 群及び 6~7 群 0.5 g、5 群 0.25 g 相当) を 20 mL のヘッドスペースバイアルに量り採り、塩化ナトリウム 1 g 及び水 2 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 5  $\mu$ L 注入し、直ちにキャップで密封した後、ボルテックスミキサーでバイアル中の試料を良く攪拌し、DHS-GC/MS 用の試験溶液とした。

#### 9) 添加回収試験

1~4 及び 6~7 群 MB 試料 1.0 g (元の食品試料 1 群 1.0 g、2~4 群及び 6~7 群 0.5 g 相当)、5 群 MB 試料 0.5 g (元の食品試料 0.25 g 相当) に各香料濃度が 0.05  $\mu$ g/g となるように香料混合標準原液を添加し、添加回収試験を実施した (表 2)。5 群 MB 試料については、予備検討において検量線範囲の上限を超える AITC が検出されたため、試料採取量を 0.5 g (元の食品試料 0.25 g 相当) し、同様に添加回収試験を行った。

(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) 分析条件の検討

イソチオシアネート系香料の中で国内において使用量が多い AITC、3-BITC、PITC 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の構造式を表 1 に示した。各香料を混合した検量線用標準液を 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、AITC、3-BITC、PITCがこの順序で10~20分の間に溶出した。

各化合物について検量線の直線性を確認したところ2~50 ng/mLの範囲で概ね良い直線性 ( $R^2=0.999$ 以上)を示した。定量限界 ( $S/N=10$ ) は、MB試料中の含量換算で1-4及び6-7群0.005  $\mu\text{g/g}$ 、5群0.01  $\mu\text{g/g}$  (それぞれ1群0.005  $\mu\text{g/g}$ 、2-4及び6-7群0.01  $\mu\text{g/g}$ 、5群0.02  $\mu\text{g/g}$ 元の食品試料)であった。

## 2) 添加回収試験

添加回収試験を実施したところ(表2)、PITCの1群及び4群試料での添加回収率は、それぞれ120.6%、63.9%と70~120%の範囲から少し外れ、マトリックスの影響が推測されたものの、その他の食品群に添加した各香料の回収率は71.0~117.4%の概ね良い回収率が得られた。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試料中のイソチオシアネート系香料含有量 ( $\mu\text{g/g}$ 元の食品試料)を表3に示した。AITCが1群、2群、5群、6群及び7群から検出され、3-BITC及びPITCが7群のみから検出された。検出された各化合物のピークは、GC/MSのスクリーンモードによるマススペクトル解析により、各イソチオシアネート標準溶液のマススペクトルと良い一致を示した。

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。AITCが

0.08 mg/人/日、3-BITCが0.02 mg/人/日、PITCが0.01 mg/人/日であった。

これらイソチオシアネート系香料は、天然由来の食品成分としてワサビ、ブロッコリー、大根、キャベツ、白菜などのアブラナ科の野菜に含まれている。また、AITCは、調味料、ノンアルコール飲料、アイス類、キャンデー、焼き菓子等に添加されている<sup>8-11)</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原材料由来成分と添加香料の合計量と考えられた。

令和元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>12)</sup>では、AITC 2.819 mg/人/日、3-BITC 0.060 mg/人/日、PITC 0.170 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より低い数値となった。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) AITC推定一日摂取量のADIとの比較

JECFAでは、香料として使用する限りにおいて安全性に懸念がないと考えられるとしてAITC、3-BITC及びPITCに許容一日摂取量(ADI)は設定されていない。参考値として、EFSAにおけるAITCのADI(0.02 mg/kg体重/日)を用いてADI(mg/kg体重/日)に対する推定一日摂取量(mg/kg体重/日)の割合(対ADI比)を求めた。AITCについて、推定一日摂取

量 (mg/人/日) を成人の平均体重(対象リストの対応値)で除して、成人体重 1 kg 当たりの推定一日摂取量 (mg/kg 体重/日) に換算したところ、0.001 mg/kg 体重/日であった。AITC の対 ADI 比を求めたところ 6.7%であった。これにより EFSA の ADI との比較においても、MB 調査による AITC の推定一日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。イソチオシアネート系香料の AITC、3-BITC、PITC について、DHS-GC/MS 法を用いて分析を行った。

MB 方式によるイソチオシアネート系香料の一日摂取量は、AITC が 0.08 mg/人/日、3-BITC が 0.02 mg/人/日、PITC が 0.01 mg/人/日であった。また、EFSA の AITC の ADI との比較において対 ADI 比は 6.7%であり、AITC の推定摂取量は ADI と比較し低い値を示した。

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、MB 方式による香料の摂取量調査では、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たし、今

後の食品衛生の向上することが期待される。

#### E. 参考文献

- 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 3 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」(2022)
- 5) O., Pinho: J. Chromatography A, 2006, 1121, 145-153
- 6) Darren J. Caven-Quantrilla: J. Chromatography A, 2011, 1218, 875-881
- 7) C., Bicchi: J. Chromatography A, 2004, 1024, 217-226
- 8) 宮澤紀子他：日本調理科学会誌，49，138-146 (2016)
- 9) The EFSA Journal 8(12), 1943 (2010)
- 10) The EFSA Journal 813, 1-39 (2008)
- 11) Flavor Extract Manufacturers Association: Food Technologists, 19(2) (1965)
- 12) 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」(2020)

#### F. 研究業績

#### 学会発表等

- 1) 久保田浩樹、寺見祥子、建部千絵、多田敦子、佐藤恭子、杉本直樹：マーケットバスケット方式による加工食品中のマルトール及びエチルマルトールの一〇日摂取量調査. 第 60 回全国衛生化学技術協議会年会 (2023.11.9-10) (福島)

#### 論文発表等

なし

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

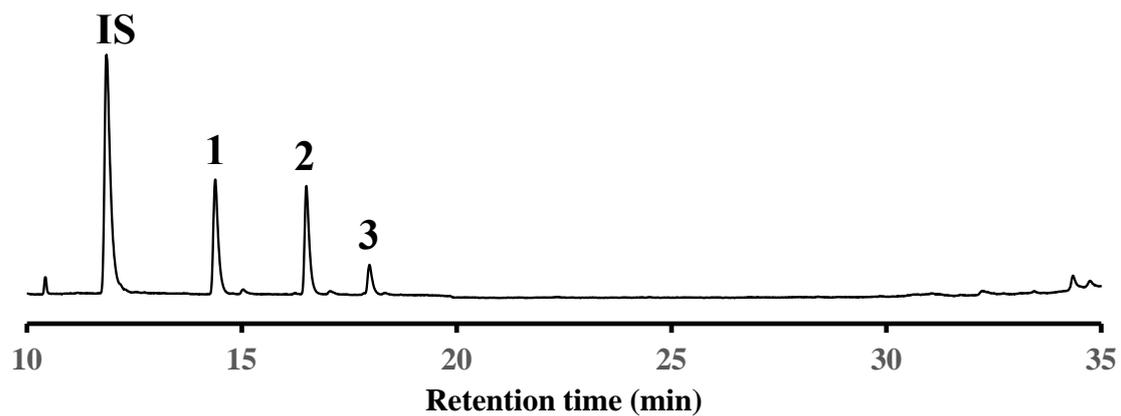
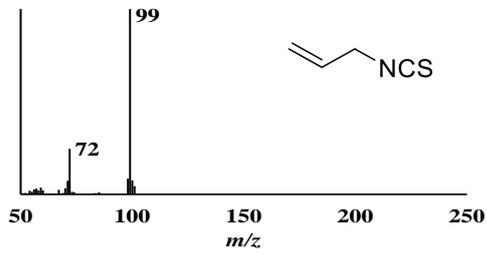


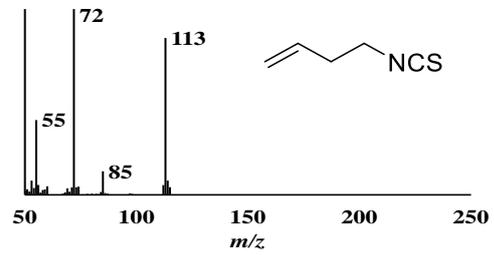
図1. 検量線用標準溶液 (各 50 ng/mL) の GC/MS クロマトグラム

1 : アリルイソチオシアネート, 2 : 3-ブテニルイソチオシアネート,  
3 : 4-ペンテニルイソチオシアネート, IS: 内標準物質 *sec*-ブチルイソチオシアネート

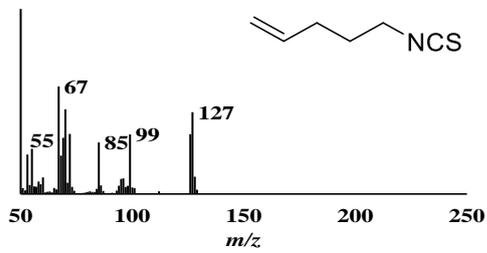
1) アリルイソチオシアネート



2) 3-ブテニルイソチオシアネート



3) 4-ペンテニルイソチオシアネート



4) *sec*-ブチルイソチオシアネート  
(内部標準物質)

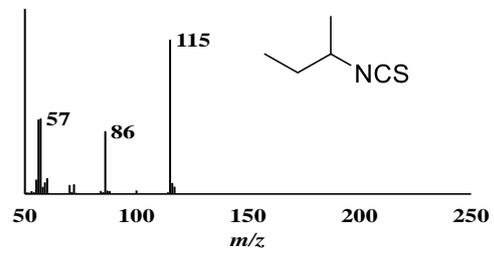


図2. 測定対象香料及び内部標準物質のマススペクトル

表 1. 検討対象候補としたイソチオシアネート系香料

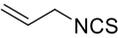
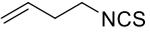
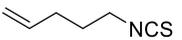
No.	品目名	CAS No.	分類	構造式	J E C F A 現在の推定摂取量に基づく結論
1	アリルイソチオシアネート	57-06-7	個別指定	 NCS	No safety concern
2	3-ブテニルイソチオシアネート	3386-97-8	イソチオシアネート類	 NCS	No safety concern
3	4-ペンテニルイソチオシアネート	18060-79-2	イソチオシアネート類	 NCS	No safety concern

表 2. マーケットバスケット試料におけるイソチオシアネート系香料の添加回収試験結果

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* <sup>1</sup>	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	
1	アリル イソチオシアネート	88.8	± 13.1	93.5	± 5.1	117.4	± 2.7	72.1	± 2.9	96.5	± 9.0	99.9	± 4.7	86.9	± 3.6
2	3-ブテンニル イソチオシアネート	108.5	± 9.3	88.8	± 6.1	107.8	± 6.6	71.0	± 4.5	103.9	± 5.5	107.7	± 2.9	92.2	± 5.7
3	4-ペンテニル イソチオシアネート	120.6	± 13.7	84.0	± 10.6	86.8	± 6.5	63.9	± 3.7	101.4	± 10.3	89.2	± 18.8	93.1	± 4.3

The analyses were replicated five times

表3. マーケットバスケット試料中のイソチオシアネート系香料含有量

20歳以上 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	アリル イソチオシアネート	0.05	0.12	ND	ND	0.29	0.01	0.15
2	3-ブテンル イソチオシアネート	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.13
3	4-ペンテンル イソチオシアネート	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.67

ND：定量限界（1群0.005 μg/g, 2-4群及び6-7群 0.01 μg/g, 5群 0.02 μg/g）未満

(n=3)

表 4. マーケットバスケット方式によるイソチオシアネート系香料の推定一日摂取量

20歳以上 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	アリル イソチオシアネート	0.04	0.02	0	0	0.02	0.0003	0.003	0.08
2	3-ブテンル イソチオシアネート	0	0	0	0	0	0	0.02	0.02
3	4-ペンテンル イソチオシアネート	0	0	0	0	0	0	0.01	0.01

\*1 測定の結果、含量が定量限界未満の場合は0とした。

