

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5年度総括研究報告書

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

研究代表者 多田 敦子 国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部室長

研究要旨

食品添加物生産量調査・香料使用量及び SPET 法による調査に基づく摂取量推計に関する研究

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：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であることから、指定添加物についてその製造または輸入の営業の申請を行っている業者を対象に、令和4年度の取扱量について調査を行った。

香料化合物及び天然香料物質の使用量調査研究：香料化合物及び天然香料物質の安全性評価に必要な情報の一つに摂取量があり、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である。今年度は、日本の食品用の香料化合物及び天然香料物質の使用量調査（令和2年対象）と、同時期に実施された海外（欧米、中南米、中国等）の使用量調査結果に基づき、天然香料物質について日本と海外における使用量実態調査結果等を比較するとともに、日本の調査結果の考察を行った。

香料化合物の SPET 法による摂取量調査研究：FAO/WHO 合同食品添加物専門家委員会（JECFA）においては、MSDI 法を補完する方法として特定の食品分類における平均添加率に基づく摂取量推定方法（Single Portion Exposure Technique (SPET) 法）も併用されるようになってきており、日本における適用に向けた基礎的検討を目的として本研究を行った。今年度は、昨年度実施した予備調査結果や食品分類の検討を踏まえて方法を一部改訂し、計10品目の香料化合物について SPET 法による摂取量調査を実施した。

マーケットバスケット（MB）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、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各種香料の含有量をダイナミックヘッドスペース（DHS）-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。

ICP を用いた規格試験法に関する研究

本研究では、日本産業規格（JIS）で誘導結合プラズマ発光分光分析装置（ICP-

OES) を用いた規格試験が設定されている試薬品目のうち、第 10 版食品添加物公定書 (公定書 10) で成分規格が設定されている添加物品目を対象とし、公定書 10 の各条で規格が設けられている鉛及びヒ素について、内標準法 (内標準物質としてイットリウム (Y) 使用) を用いて、適切な測定波長の検討や、内標準法を用いる場合の適切な内標準濃度を検討した。その結果、測定波長は、ヒ素 (As) で 189.042 nm、鉛 (Pb) で 220.353 nm、Y で 371.030 nm が最も感度が良く、測定対象元素の強度に合わせ内標準濃度は 0.01 µg/mL とした。亜硫酸ナトリウム、塩化カリウム、炭酸カルシウム、硫酸マグネシウムを対象とし、異なる試料濃度の検液を用いて As 及び Pb の添加回収試験を行ったところ、試料濃度、検量線 (内標準法または絶対検量線法)、含まれるマトリックスの違いにより、測定値に与える影響が異なることが明らかとなった。

食品添加物の規格試験法の改良に関する調査研究

食品添加物の規格試験法の改良や精度向上を目指した研究の一環として、定量値の正確性の向上、国際調和等の観点より、米国食品規格集 (Food Chemicals Codex: FCC) 12などを参考に、現在の電位差滴定法から HPLC 法への定量法の改良に向けた検討を行った。その結果、アスパルテームの正確な定量における FCC 法の問題点が明確となるとともに、アスパルテーム定量法に対する提案法を見いだした。また、この提案法は、アスパルテーム製品中の不純物である L- α -アスパルチル-D-フェニルアラニンメチルエステル及び 5-ベンジル-3,6-ジオキソ-2-ピペラジン酢酸の同時分析が可能であることを明らかにした。

卓上 NMR を用いた規格試験の開発に関する研究

2S 体と 2R 体の光学異性体を持つナリンジンをモデルにして、ピーク高さ法による異性体比と純度の算出し、結果を評価した。この方法で算出された異性体比は参照値と比べて 0.3~3.7%の相対誤差を示し、大きな乖離は見られなかった。しかし、純度は参照値の約 50%と低い値を示した。異性体比の算出では、2S 体と 2R 体の異性体間で同程度の半値幅を持つプロトンピークを比較したが、純度の算出では、異なる半値幅を持つ内標準とナリンジンのプロトンピークを比較したため、純度が過小評価されたと考えられた。核磁気共鳴 (NMR) ピーク高さ法はプロトンが重なり合う卓上 NMR の解析に有用であるが、比較し合うプロトンピークの半値幅を考慮する必要があることが示唆された。

研究分担者

久保田浩樹 国立医薬品食品衛生研究所
建部 千絵 国立医薬品食品衛生研究所
大槻 崇 日本大学 生物資源科学部
西崎 雄三 国立医薬品食品衛生研究所

研究協力者

西島 基弘 実践女子大学名誉教授
脊黒 勝也 日本食品添加物協会専務理事
榊村 聡 日本香料工業会会長

寺見祥子 国立医薬品食品衛生研究所
藤原由美子 国立医薬品食品衛生研究所

平成 22 年、平成 27 年等に引続き、令和 2 年の使用量調査計画があり、日本における調査を実施し対応した。

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. 食品添加物生産量調査・香料使用量及び SPET 法による調査に基づく摂取量推計に関する研究

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

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、指定添加物の取扱量について生産・輸入業者にアンケート調査を行い、集計化を行った。

2) 香料化合物及び天然香料物質の使用量調査研究

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（IOFI）は安全性評価の基礎資料として JECFA へ最新の暴露量データを継続的に提供するという目的でグローバルな使用量調査が計画された。そこで、

今年度は、令和 2 年（2020 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（令和 3 年実施）結果を基に、同時期に実施された海外（米国、欧州、中南米、インドネシア、中国）の使用量調査結果に基づき、天然香料物質について日本と海外における使用量実態調査結果等を比較するとともに、日本の調査結果の考察を行うことを目的とした。

3) 香料化合物の SPET 法による摂取量調査研究

食品添加物の摂取される量を推定・把握することは、その添加物の安全性の担保において非常に重要であり、その推定方法には様々な方法がある。香料化合物に関しては従来、年間使用量に基づく Maximized Survey-derived Daily Intake (MSDI) 法が用いられてきた。MSDI 法は、年間使用量に基づく推定摂取量の算出方法であり、その香料がごく限られた用途に少量しか用いられないような場合、この方法では過小推定になる可能性が指摘されてきた。この問題を解消するため、FAO/WHO 合同食品添加物専門家委員会（Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives : JECFA）では近年、Single Portion Exposure Technique (SPET) 法という新しい方法も採用し、MSDI 法と併用してデータを求めるようになってきている。SPET 法は、食品に使用された香料の添加率とその食品の摂取量との積から香料の摂取量を推定する方

法であり、MSDI 法の評価結果を補完することが期待される。

本研究では、香料化合物の SPET 法による摂取量調査研究を行なうため、JECFA において香料化合物の摂取量の推定方法として従来から採用されている MSDI 法を補完する目的で新たに採用された SPET 法について検討し、推定方法としての妥当性を考察するとともに、香料化合物の摂取量推定に関して新たな知見を得ることを目的とする。

昨年度は 3 か年研究の初年度として、SPET 法に関する理解を深め、小規模での予備調査を行い、調査から集計、考察までの一連の作業を通じて調査方法の課題を検討した。今年度は、昨年度実施した予備調査結果や食品分類の検討を踏まえて調査方法の改訂を検討し、香料化合物品目数を増やして SPET 法による摂取量調査を実施することを目的とした。

2. マーケットバスケット (MB) 方式による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、香料の分析調査には有効な調査法であるが、極微量の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、ダイナミックヘッドスペース (DHS) を GC/MS と組み合わせることで、食品に含まれる極微量の化合物を高感度・簡便かつ選択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、DHS-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 2 年目である本年度はイソチオシアネート系香料に着目し調査を行った。

3. ICP を用いた規格試験法に関する研究

日本産業規格 (JIS) で有毒結合プラズマ発光分光分析装置 (ICP-OES) を用いた規格試験が設定されている試薬品目のうち、第 10 版食品添加物公定書 (公定書 10) で成分規格が設定されている添加物品目を対象とし、公定書 10 の各条で規格が設けられている鉛及びヒ素について、内標準法 (内標準物質としてイットリウム (Y) 使用) を用いて、適切な測定波長の検討や、内標準法を用いる場合の適切な検液中の試料濃度や内標準濃度の検討を行った。

4. 食品添加物の規格試験法の改良に関する調査研究

食品添加物公定書におけるアスパルテームの定量法では、電位差滴定法が規定されているが、定量値の正確性の向上、国際調和等の観点から、HPLC 法への変更が期待されている。

そこで、アスパルテームの成分規格の更なる向上に向けた検討の一環として、米国食品規格集 (Food Chemicals Codex: FCC) 12などを参考に、現在の

電位差滴定法から HPLC 法への定量法の改良に向けた検討を行った。

5. 卓上 NMR を用いた規格試験の開発に関する研究

定量 NMR (qNMR) は、スペクトル上のプロトン間の積分比を用いて、これらの存在比から試料の純度を算出することができる。積分法によるスペクトル解析は公定法に採用されているが、複数のプロトンが重なると個々を解析できないという欠点を持つ。一方、ピーク高さ法は、プロトンのピークの高さを基準とするため、ピークの頂点さえ離れていれば、それぞれの定量に利用できると考えられる。本研究では、スペクトル上でプロトンが重なり合うことの多い卓上 NMR の解析手法として、2*S* 体と 2*R* 体の光学異性体を持つナリンジンモデルにして、ピーク高さ法による異性比と純度の算出について評価することとした。

B. 研究方法

1. 食品添加物生産量調査・香料使用量及び SPET 法による調査に基づく摂取量推計に関する研究

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

調査内容

- (1) 調査法 アンケート方式
- (2) 調査対象年度 令和 4 年
- (3) 調査対象 指定添加物 474 品目
- (4) 調査内容

製造及び輸入した品目名、製造量及び輸入量、国内食品向け出荷量、国内食品

以外の用途向け出荷量、輸出量及び総出荷量

(5) 調査対象製造所

指定添加物の製造または輸入の営業の申請を行っている業者の全製造所。なお、該当品を取り扱わないことが確実である事業者は調査対象から除外し、今回の送付先は 468 事業者であった。

2) 香料化合物及び天然香料物質の使用量調査研究

—天然香料使用量の国際比較—

天然香料の令和 2 年 (2020 年) 1 月～12 月の使用量調査の結果に加え、IOFI が実施した同時期の米国、欧州、中南米、インドネシア、中国の使用量調査結果を整理し、日本と海外各国・地域との比較を行った。また、調査結果を使用して Maximized Survey-Derived Intake (MSDI) 法により摂取量を算出した。(JECFA “Working paper (monograph) format for flavouring agents” (12/2000) 記載の摂取量推定法による計算式を適用) 摂取量 ($\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$)

$$= \{ \text{年間使用量 (kg)} \times 10^9 (\mu\text{g/kg}) \} / \{ \text{消費者人口} \times \text{報告率} \times 365 \text{ 日} \}$$

消費者人口:

日本 1 億 2,000 万人 $\times 0.1 = 1,200$ 万人

米国 3 億 3,000 万人 $\times 0.1 = 3,300$ 万人

欧州 4 億 $\times 0.1 = 4,000$ 万人

中南米 6 億 5,000 万人 $\times 0.1$

$$= 6,500 \text{ 万人}$$

インドネシア 2 億 7,600 万人 $\times 0.1$

$$= 2,760 \text{ 万人}$$

中国 14 億 $\times 0.1 = 1$ 億 4,000 万人

(The World Bank Group, 2020)

報告率:

日本 90%、米国 90%、欧州 90%、中南米 70%、インドネシア 80%、中国 60%

3) 香料化合物の SPET 法による摂取量調査研究

昨年度実施した予備調査の結果を踏まえて今回の調査用に回答欄の書式を一部見直し、各食品分類に想定される香料化合物の標準添加率について新たに調査を行った。

調査対象物質:

1. エチルバニリン
2. エチルマルトール
3. 酢酸イソアミル
4. マルトール
5. アントラニル酸メチル
6. ベンズアルデヒド
7. エチルラクテート
8. シンナムアルデヒド
9. アセト酢酸エチル
10. サリチル酸メチル

得られたデータから SPET 法により推定摂取量を計算し、その値を MSDI 法、MB 法により得られた値等と比較を行った。

調査対象は、日本香料工業会の全会員企業 124 社とし、調査に当たっては各社の機密情報を取り扱うため、回答した会社名を記号化したほか、情報の漏洩管理には最大限の注意を払った。また、調査対象企業より送付されたファイルは会社名を記号化した上で各社のデータを統合し、1つの集計ファイルとした。

得られた回答データに基づき、SPET 法及び modified Theoretical Added Maximum Daily Intake (mTAMDI) 法による摂取量推計を行い、既に報告されてい

る MB 法及び MSDI 法での推計値や ADI と比較した。

2. MB 方式による香料の摂取量調査の検討

DHS-GC/MS 測定条件

DHS-条件: カラム温度 60°C、トドラストップ 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、ストリッピング時間 10 分、ドライステップ時間 4 分

GC/MS 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 (3 min) → 4°C/min → 170°C → 20°C/min → 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 アリルイソチオシアネート m/z 99、3-ブテニルイソチオシアネート m/z 113、4-ペンテニルイソチオシアネート m/z 127

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) 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 μL 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 用試験溶液とした。

3. ICP を用いた規格試験法に関する研

究

測定波長は、ヒ素 (As) で 189.042 nm、鉛 (Pb) で 220.353 nm、Y で 371.030 nm が最も感度が良く、測定対象元素の強度に合わせ内標準濃度は 0.01 µg/mL とした。亜硫酸ナトリウム、塩化カリウム、炭酸カルシウム、硫酸マグネシウムを対象とし、異なる試料濃度の検液を用いて、As 及び Pb の添加回収試験を行ったところ、試料濃度、検量線（内標準法または絶対検量線法）、含まれるマトリックスの違いにより、測定値に与える影響が異なることが明らかとなった。検液中の試料濃度が低くなると、マトリックスの影響は小さくなるが、測定対象元素の濃度も低くなり強度も低くなることから、測定対象元素とマトリックスの種類や濃度の組み合わせによって良好な回収率が得られる場合と得られない場合があった。

4. 食品添加物の規格試験法の改良に関する調査研究

FCC12 で示されている分析法 (FCC 法) について、アスパルテームおよび 5-ベンジル-3,6-ジオキソ-2-ピペラジン酢酸 (DKP) 並びに L- α -アスパルチル-D-フェニルアラニンメチルエステル (L, D-APM) 分析の適用性を分析時間や分離度の点から評価した。また、提案法を基に、これら 3 種の測定対象並びに L, D-APM を一定量添加したアスパルテーム試料の分析を行った。

5. 卓上 NMR を用いた規格試験の開発に関する研究

試料は食品添加物として流通するナリ

ンジン 3 社 4 製品を用いた。キラル HPLC と積分法による内部標準 qNMR を用いて、ナリンジンの異性体比と絶対純度を算出し、参照値とした（異性体比 (2S/2R 比) 0.859~0.935、絶対純度 80.2~94.2%)。

ピーク高さ法は、スペクトル上でナリンジンの 2S 体と 2R 体を識別可能であったラムノース 1 位 (Rha-H1) とグルコース 1 位 (Glc-H1) を用いて解析した。

(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. 食品添加物生産量調査・香料使用量及び SPET 法による調査に基づく摂取量推計に関する研究

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

調査票回収結果

今回は初年度の第 1 次調査で 78.2% の回収率を挙げ、前回の初年度の水準 (79.6%) と同程度であった。

調査票の課題への対応

今回も従来 of 調査票を見直して、調査票回答者にとっての「分かり易さ」と「回答作業の効率化が」図れるように留意した。結果として第 1 次調査での高回答率維持に反映されたものと見ている。

調査結果

回収された調査票もとにデータをコンピュータ入力し集計を行い下記の集計資料を作成した。

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、輸出货量調べ

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

回収した調査票を1次集計したうえで、
研究グループ会議を開催し、第13回まで
の調査結果その他の情報から、再調査、
精密調査をすべき対象の企業の摘出を行
い、次年度は、これらが、単なる回答忘
れなのか、OEM、製造の国外化、あるいは、
事業終了が原因なのかについて、電話の
聞き取り調査等で、明らかにしてゆく。
加えて、既存添加物についての第9回目
の摂取量推定のためのアンケート調査を
実施する。

2) 香料化合物及び天然香料物質の使用 量調査研究

日本と海外（米国、欧州、中南米、イ
ンドネシア、中国）のIOFIのグローバル
使用量調査リスト中の天然香料の使用量
は、日本が273品目/1,427t、米国が300
品目/6,387t、欧州が318品目/5,340t、
中南米が274品目/2,527t、インドネシ
アが202品目/510t、中国が214品目/2,246t
という結果になった。日本が使用品目数
では日本が欧米及び中南米に比べ少なく、
インドネシア及び中国より多い結果にな
った。これはIOFIのグローバル使用量調
査リストがFEMA GRAS物質（Flavor and
Extract Manufacturers Association of
the United States 米国食品香料工業協
会において Generally Recognized as
Safe “一般に安全とみなされる物質）で
構成されているため、日本、インドネシ
ア、中国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。加えてインドネシア、中国では独自

の天然香料リストを運用しているため、
日本より品目数が制限されている。また
日本では調査対象としなかった品目が、
米国では13品目、欧州では12品目、中
南米では12品目、インドネシアでは4品
目、中国では2品目使用されていた。こ
れらは主にステビア抽出物で、日本では
甘味料に該当するため天然香料として調
査対象としなかった。香料の定義が異な
る海外（米国、欧州、中南米、インドネ
シア、中国）では甘味料としての使用の
みではなく、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。

また、日本では天然香料として取り扱
われるが、欧米では Chemically Defined
Substances など天然香料以外の分類に
なっている品目が4品目あった。グロー
バルハーモナイゼーションを推進してい
く中では、分類の統一も必要であると考
えられる。

各国で使用量が上位にある品目はオー
レンジ、グレープフルーツやレモンなど
の柑橘精油、バニラエキスやハッカ、ペ
パーミント精油など共通していた。これ
らは主要な天然香料であるため、各地域
で多く使用されていることが明らかとな
った。

日本が他地域に比べ特徴的であった品
目は、グレープフルーツとシソがあげら
れる。グレープフルーツは日本ではスポ
ーツドリンクの市場規模が大きく、その
カテゴリーでグレープフルーツ香料が多
く使用されている。シソ（PERILLA OIL）
は摂取量も他地域の1,000倍以上で、他
の基原植物と比較し日本の摂取量が多
く、日本人に嗜好性の高いハーブであること

があげられる。

GINGER OLEORESIN、CAPSICUM OLEORESINなどは海外の使用量が多く、日本は使用量が少ない。この理由の一つとして考えられるのは、分類の違いから、海外ではフレーバーとして使用されているものが、日本においては香辛料抽出物として使用されているという可能性がある。

日本は使用量 100kg 以下の累積占有率が約 54%なのに対し、米国では 35%、欧州では約 31%、中南米・中国では約 48%、インドネシアでは約 63%となっている（表 1）。このことから分かるように、日本は欧米に比べ使用量の少ない天然香料が品目全体の多くを占めていることが分かった。これは、日本市場に多種多様の加工食品が流通しているが、一品目の流通量が他の国・地域と比べ少量であり、少量多品種の製品開発が行われていることが要因であると推測される。

3) 香料化合物の SPET 法による摂取量調査研究

調査結果をまとめ、考察を行った。

1) 調査方法について

今後、継続的に見ていく必要があると考えられる課題として、以下の点が挙げられた。

新製品、期間限定品などでは他との差別化のため、添加率を通常よりも上げた製品も出てくる可能性がある。調査のタイミングによってはこのことで標準添加率の値が大きく変わり SPET の算出値に影響する可能性も考えられる。よって、一度調査をした品目についてもある程度定期的に添加率の見直しをしていく必要

があるとがんが得られた。また、調査結果のバリデーションの必要性の有無についても、検討を要すると考えられた。

1) 調査結果について

個々の品目の SPET 法、MSDI 法、MB 法、mTAMDI 法による推定値、及び ADI 等と比較を行ったところ、シナムアルデヒドにおける SPET 法の値は、MSDI 法や MB 法より高く、mTAMDI 法の値より 2 割ほど高く、NOEL より低かった。残り 9 品目の SPET 法の値は、MSDI 法や MB 法の値より高い一方、mTAMDI 法の値、ADI (又は NOEL) より低かった。MB 法は食事の実態に合わせて市場から食品を集めて分析して求める値であるため、他の間接的な方法と比較して、より実態を反映している値とされている。MSDI 法は香料として使用された化合物の量から推算するため、間接的な方法の中では比較の実態を反映しているとされ汎用されてきた。しかしながら双方とも、食品摂取の偏りは考慮されていないという問題がある。SPET 法は食品摂取の偏りを考慮するために導入された方法であり、今回の調査では MSDI 法・MB 法双方より大きな推定値となった。ただし、現段階では調査対象となった香料の数が限られていることから、今後調査を継続していく中で必ずしもこれと同じ結果になるとは限らず、引き続き確認が必要である。今回の調査により得られた値を他の推定法による値と比較した結果は、4 種の推定法について一般的に言われている傾向を反映していた。各推計法の特徴があるため、今後も複数の方法を併用して検討していくことが望ましいと考えられる。また、食品分類項目に関し

では、今後更なる留意が必要であると考えられた。食品分類をさらに細分化することは回答者の労力を増やすことにもなるが、日本での調査には日本特有の食品に合わせたカテゴリー設定が必要であることも推測できる。一方で、分類を変更すると過去のデータとの比較が難しくなることも想定されるので、変更による課題もあり、今後検討が必要と考えられた。

2. MB 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 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アリルイソチオシアネート(AITC)の0.08 mg/人/日であり、3-ブテニルイソチオシアネート(3-BITC)が0.02 mg/人/日、4-ペンテニルイソチオシアネート(PITC)が0.01 mg/人/日であった。

2) 一日摂取量の ADI との比較

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 ADI が設定されていない。参考として欧州食品安全機関 (EFSA)における AITC の ADI 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%であった。このため、AITC の対 ADI 比は、ADI に比べ十分に低いと考えられた。

3. ICP を用いた規格試験法に関する研究

JIS 試薬規格において、前処理なく調

製した検液について ICP-OES を用いた元素分析が設定されている異なる無機塩で、添加物でもある 4 品目 (亜硫酸ナトリウム、塩化カルシウム、炭酸カリウム及び硫酸マグネシウム) について、ICP-OES を用いた内標準法及び絶対検量線法による As 及び Pb の定量法について検討した。内標準法において As、Pb 及び Y の最適な測定波長及び内標準 (Y) 濃度を検討したところ、As は 189.042 nm、Pb は 220.353 nm、Y は 370.030 nm での感度が良好であった。内標準法では亜硫酸ナトリウムではいずれの検液でも回収率 70%未満または 130%以上の結果が得られ、マトリックスの影響が大きかった。塩化カルシウムの検液 1 及び 2 (0.02 g/mL) 炭酸カリウムの検液 2 (0.04 g/mL)、硫酸マグネシウムの検液 1~3 (0.02~0.08 g/mL) で 70~120%の良好な回収率が得られた。なお、いずれの無添加試料からも As 及び Pb は検出されなかった。また絶対検量線法では、亜硫酸ナトリウムの検液 1 及び 2 (0.02 及び 0.04 g/mL) 及び炭酸カリウムの検液 1~3 (0.02~0.08 g/mL) において As で内標準法より良好な回収率が得られたものの、Pb では硫酸マグネシウムの検液 1 (0.02 g/mL) での 71.8%以外、いずれの品目、検液でも回収率は 65.3%以下と低かった。

4. 食品添加物の規格試験法の改良に関する調査研究

まず FCC 法におけるアスパルテームおよび 5-ベンジル-3,6-ジオキソ-2-ピペラジン酢酸 (DKP) 並びに L- α -アスパルチル-D-フェニルアラニンメチルエステ

ル (L, D-APM) の適用性を検証した。その結果、カラム圧やアスパルテームと L, D-APM の分離度並びに分析時間の点で FCC 法に問題があることが判明した。そこで種々の検討を繰り返した結果、流速を 0.8 mL/min, 移動相を 2 種の溶液 (移動相 A: 0.05 mol/L リン酸二水素ナトリウム: 0.05 mol/L リン酸水素二ナトリウム = 1: 1, 移動相 B: 0.05 mmol/L リン酸二水素ナトリウム: 0.05 mmol/L リン酸水素二ナトリウム: アセトニトリル = 4: 4: 2) のグラジエント分析を用いる提案法により、FCC 法における問題点を解決できることが判明し、アスパルテーム、L, D-APM、DKP の 3 種の成分が良好に分析可能であることが明らかとなった。なお、この提案法は、2024 年 2 月 9 日に公表された第 10 版食品添加物公定書における L, D-APM の純度試験に採用されている。本検討において、提案法はアスパルテームの定量も可能であり、現在の電位差滴定法の代替法としても有用と考えられた。また、DKP を含めたアスパルテーム、L, D-APM、DKP の同時定量も可能であることから、各化合物の定量法、確認試験法における分析法の統一など、本法は規格試験法の効率性や実用性の向上にも資するものと思われる。

5. 卓上 NMR を用いた規格試験の開発に関する研究

ピーク高さ法から算出した異性体比は、参照値との相対誤差が 0.3~3.7% であり、参照値と大きく乖離することはなかった。他方、絶対純度においては、全ての試料において参照値に対して 50% 程度低い純

度値であった。この原因として、比較するプロトンピークの半値幅の違いが考えられた。異性体比算出においては、異性体間で同一のプロトンピーク、すなわち半値幅の近いプロトンピークを比較したため、参照値と同等の結果が得られた。しかし、純度算出においては、qNMR 用内標準のプロトンピークに対して、ナリンジンのプロトンピークが幅広であったため、純度が過小評価されたと考察した。NMR ピーク高さ法は、プロトンが重なりあうことの多い卓上 NMR の解析手法として有用と考えられるが、異性体比や純度の計算に用いるプロトンピークの半値幅について考慮する必要がある。

D. 結論

1. 食品添加物生産量調査・香料使用量及び SPET 法による調査に基づく摂取量推計に関する研究

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

指定添加物の第 14 回調査の初年度として、基礎的な情報を得た。今後、追加調査及び査定並びに摂取量推定へと段階的にまとめていく。

2) 香料化合物及び天然香料物質の使用量調査研究

香料化合物及び天然香料物質の安全性評価に必要な情報の一つに摂取量があり、摂取量を MSDI 法で算出するには使用量データが必要である。今年度は、令和 3 年に実施した日本の食品用の香料化合物及び天然香料物質の使用量調査 (令和 2 年対象) と、同時期に実施された海外 (欧米、中南米、中国等) の使用量調査結果

に基づき、天然香料物質について日本と海外における使用量実態調査結果等を比較するとともに、日本の調査結果の考察を行った。その結果、使用品目数及び使用量は欧米より低い値であった。

3) 香料化合物の SPET 法による摂取量調査研究

JECFA においては、MSDI 法を補完する方法として特定の食品分類における平均添加率に基づく摂取量推定方法 (SPET 法) も併用されるようになってきており、日本における適用に向けた基礎的検討を目的として本研究を行った。今年度は、昨年度実施した予備調査結果や食品分類の検討を踏まえて方法を一部改訂し、計 10 品目の香料化合物について SPET 法による摂取量調査を実施した。今回対象とした品目では、概ね年間使用量を元にして求める MSDI 法と同レベルの値となった。

2. MB 方式による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。イソチオシアネート系香料について、DHS-GC/MS を用いて分析した。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/日と最も高く、3-BITCが0.02 mg/人/日、PITCが0.01mg/人/日であった。AITCについて EFSA の ADI との対 ADI 比を求めたところ、6.7% であり、ADI に比べ十分に低いと考えられた。

3. ICP を用いた規格試験法に関する研究

検液中の試料濃度、検量線 (内標準法または絶対検量線法)、含まれるマトリックスの違いにより、測定値に与える影響が異なることが明らかとなった。試料濃度が低くなると、マトリックスの影響は小さくなるが、測定対象元素の濃度も低くなり強度も低くなることから、測定対象元素とマトリックスの種類や濃度の組み合わせによって良好な回収率が得られる場合と得られない場合があることが明らかとなり、硫酸マグネシウムについては内標準法であれば、いずれの試料濃度の検液でも 70~114% 回収率が得られ、試料を硝酸 (1→100) で溶解するのみで、ICP-OES の内標準法で As 及び Pb の分析が可能であると考えられた。

4. 食品添加物の規格試験法の改良に関する調査研究

本研究では、食品添加物の規格試験法の改良や精度向上を目指した研究の一環として、定量値の正確性の向上、国際調和等の観点より、FCC12などを参考に、現在の電位差滴定法から HPLC 法への定量法の改良に向けた検討を行った。その結果、アスパルテームの正確な定量における FCC 法の問題点が明確となるとともに、アスパルテーム定量法に対する提案法を見いだした。また、この提案法は、アスパルテーム製品中の不純物である L, D-APM 及び DKP の同時分析が可能であることを明らかにした。

5. 卓上 NMR を用いた規格試験の開発に

関する研究

NMR スペクトル上で、2種の立体異性体に由来するプロトンが重なり合うナリンジンをモデルにして、NMR ピーク高さ法による異性体の分離分析を検討した。

ピーク高さ法は、解析に用いるプロトンの半値幅の影響を強く受けることは明らかであった。ピーク高さ法による純度算出では、半値幅の異なるピーク同士 (qNMR 用内標準 vs. ナリンジンの Rha-H1 又は Glc-H1) を計算に用いたため、参照値と大きく乖離した結果が導かれた。

一方、ピーク高さ法で求めた異性体比は、参照値と大きく乖離することはなかった。これは、異性体間で半値幅がほぼ同じプロトンピーク同士を比較していたためである。

ピーク高さ法は卓上 NMR 等の低磁場 NMR スペクトルの解析の一つとして有用と考えられるが、正確な結果を得るためには、半値幅が同程度のプロトン同士を比較する必要がある。この点を考慮すれば、ピーク高さ法を用いた NMR 試験を、特に異性体比の確認に応用することが可能と考えられる。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表等

1) 稲井隆之、浮田英生、大橋篤志、樺沢正志、児高由以子、澤野友信、関谷史子、土屋一行、寺川将樹、長屋有紀子、松井敏晃、久保田浩樹、建部千絵、佐藤恭子、多田敦子、日本における食品香料

化合物の使用量調査結果 (2020 年)、
日本食品化学学会誌、30、158-164
(2023)

2) Fuji Y, Uchida K, Akashi T, Ohtsuki T, Matsufuji H, Hirai Y M, Molecular Identification of UDP-Sugar-Dependent Glycosyltransferase and Acyltransferase Involved in the Phenylethanoid Glycoside Biosynthesis Induced by Methyl Jasmonate in *Sesamum indicum* L. *Plant and Cell Physiology*, **64**, 716-728 (2023)

2. 学会発表

1) 建部千絵、藤原由美子、久保田浩樹、多田敦子、杉本直樹：アルギン酸の硫酸塩試験法に関する検討、日本食品化学学会 第 29 回学術大会 (2023. 6) (富山)

2) 建部千絵、藤原由美子、久保田浩樹、多田敦子、杉本直樹、qNMR を用いた食用タール色素成分規格で使用される不純物定量用試薬の純度測定、第 5 回日本定量 NMR 研究会年会 (2023. 12) (川崎)

3) 加藤千穂、西崎雄三、大槻崇、松藤寛、阿部裕、多田敦子、杉本直樹、qNMR におけるピーク高さ法の検討：naringin の場合、第 5 回日本定量 NMR 研究会年会 (2023. 12) (川崎)

4) 加藤菜帆、大槻崇、松藤寛、¹H-定量 NMR に基づいた Single-reference HPLC 法による健康食品中のアントシアニン定量について、第 5 回日本定量 NMR 研究会年会 (2023. 12) (川崎)

5) 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日摂取量調査、第 60 回全国衛生化学技術協議会年会 (2023. 11) (福島)

6) 加藤菜帆、大槻崇、松藤寛、定量 NMR に基づいた相対モル感度を用いた Single-reference HPLC 法による健康食品中のアントシアニンの定量について、食品科学工学会第 70 回大会 (2023. 8) (京都)

7) 加藤菜帆、大槻崇、松藤寛、相対モル感度 (RMS) を用いた Single-reference HPLC による健康食品中のアントシアニ

ン定量法の開発、AOAC INTERNATIONAL JAPAN SECTION 第 26 回年次大会 (2023. 7) (東京)

8) 加藤菜帆、大槻崇、松藤寛、健康食品中のアントシアニン定量における相対モル感度 (RMS) を用いた Single-reference HPLC 法の適用について、日本食品化学学会 第 29 回学術大会 (2023. 5) (富山)

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 使用量毎品目数及び占有率

使用量 [kg]	品目数					
	占有率(%)					
	累積占有率(%)					
	日本	米国	欧州	中南米	インドネシア	中国
$X \leq 0.1$	18	0	13	13	25	17
	6.59	0.00	4.09	4.74	12.38	7.94
	6.59	0.00	4.09	4.74	12.38	7.94
$0.1 < X \leq 1$	23	21	12	30	36	18
	8.42	7.00	3.77	10.95	17.82	8.41
	15.02	7.00	7.86	15.69	30.20	16.36
$1 < X \leq 10$	39	23	21	25	26	25
	14.29	7.67	6.60	9.12	12.87	11.68
	29.30	14.67	14.47	24.82	43.07	28.04
$10 < X \leq 100$	68	61	52	64	40	43
	24.91	20.33	16.35	23.36	19.80	20.09
	54.21	35.00	30.82	48.18	62.87	48.13
$100 < X \leq 1,000$	61	72	87	58	44	28
	22.34	24.00	27.36	21.17	21.78	13.08
	76.56	59.00	58.18	69.34	84.65	61.21
$1,000 < X \leq 10,000$	41	69	85	52	22	47
	15.02	23.00	26.73	18.98	10.89	21.96
	91.58	82.00	84.91	88.32	95.54	83.18
$10,000 < X \leq 100,000$	20	35	35	28	8	32
	7.33	11.67	11.01	10.22	3.96	14.95
	98.90	93.67	95.91	98.54	99.50	98.13
$100,000 < X$	3	19	13	4	1	4
	1.10	6.33	4.09	1.46	0.50	1.87
	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
品目数合計	273	300	318	274	202	214

