

食品衛生基準科学研究費補助金（食品安全科学研究事業）
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 6 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。チオエーテル系香料を対象に 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 方式によるチオエーテル系香料の推定一日摂取量は、ジメチルスルフィドが 0.02 mg/人/日であり、ジアリルジスルフィドはいずれの試料でも定量限界未満であり 0 mg/人/日と推定された。

研究協力者

寺見祥子 国立医薬品食品衛生研究所
太田亜紀子 国立医薬品食品衛生研究所

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¹⁻³⁾。また、同時に食品衛生基準科学研究（令和 5 年以前は厚生労働科学研究）において、食品添加物の生産量調査を基にした食品添加物摂取量の推定が行われている⁴⁾。

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

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り推計される。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⁵⁻⁷⁾。

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にするため、MB 方式による香料の一日摂取量の推計を検討した。本年度はチオエーテル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 194 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

ジメチルスルフィド (DMS) 及びジアリルジスルフィド (DADS) は富士フイルム和光純薬(株)の試薬 (>90%) 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

DMS、DADS 各 1.0 g を少量のメタノールを入れた別々の 100 mL のメスフラスコにそれぞれ採取し、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、少量のメタノールを入れた 100 mL のメスフラスコに合わせ入れ、メタノールを加えて全量を 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) 検量線用標準液の調製

5 本の少量のメタノールを入れた 10 mL のメスフラスコに、香料標準原液 0.05、0.1、0.25、0.5 又は 1 mL をそれぞれ正確に加え、メタノー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 µL 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。

5) 器具及び装置

DHS システムとして DANI 製の DHS/P&T サンプリングシステム 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 100℃で 3 時間加熱後、放冷し分析に使用した。

6) DHS-GC/MS 測定条件

DHS 条件: カラム温度 60℃、ドライステップ トラップ温度 10℃、インジェクションステップ トラップ温度 250℃、バルブ及びトランスファーライン温度 260℃、インキュベーション時間 30 分、ストリッピング時間 20 分、ドライステップ時間 10 分

GC/MS 条件: カラム: Stabilwax (30 m × 0.32 mm I.D. 膜厚 0.5 µm)、カラム温度: 40℃ (8 min) → 10℃/min → 250℃ (6 min)、注入口温度: 220℃、インターフェース温度: 250℃、イオン源温度: 200℃、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: DMS m/z 62、DADS m/z 146、スキャン 測定質量数: m/z 45 ~ m/z 200

7) DHS-GC/MS 用試験溶液の調製

MB 試料 (1 群 1.0 g、2~7 群 0.2 g : それぞれ元の食品試料 1 群 1.0 g、2~7 群 0.1 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 μ 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

チオエーテル系香料の中で国内において使用量が多い DMS、DADS を対象に DHS-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 Stabilwax を用い GC/MS で分析したところ、DMS が 5.4 分、DADS が 20.4 分に溶出した。

各化合物について検量線の直線性を確認したところ DMS は、2.5~50 ng/mL、DADS は 5~100 ng/mL の範囲で概ね良い直線性 ($R^2=0.998$ 以上) を示した。MB 試料中における定量限界 ($S/N=10$) は、MB 試料中の含量換算として、DMS は、1 群 0.005 μ g/g (元の食品試料相当 0.005 μ g/g)、2~7 群 0.025 μ g/g (元の食品試料相当

0.05 μ g/g)、DADS は、1 群 0.01 μ g/g (元の食品試料相当 0.01 μ g/g)、2~7 群 0.05 μ g/g (元の食品試料相当 0.1 μ g/g) であった。

2) 添加回収試験

1 群 MB 試料 1.0 g (元の食品試料 1.0 g 相当) に 0.05 μ g/g、2~7 群 MB 試料 0.2 g (元の食品試料 0.1 g 相当) に 0.25 μ 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)。予備検討において、2~6 群 MB 試料 1.0 g (元の食品試料 0.5 g 相当) に 0.05 μ g/g を添加し、添加回収試験を実施したところ、MB 試料に検量線標準液添加後、速やかに分析した場合には概ね良い回収結果がみられたが、分析時間経過とともに回収率が 50% 以下まで減少する傾向がみられた。DHS-GC/MS 法ではバイアル中の試料から分析対象物をバイアルヘッドスペース中に揮発させて取り出す際に、試料を加温しており、分析経過時間による回収率低下の要因の一つとして、チオエーテル化合物が加温により分解した可能性も考えられる。2~6 群 MB 試料については、DHS-GC/MS 法による調製条件の見直しを行い、試料採取量を 0.2 g (元の食品試料 0.1 g 相当) に変更したところ回収率の改善がみられたため、採取量を変更し以下の検討を行った。また、7 群 MB 試料については、検量線範囲の上限を超える DMS が検出されたため、検量線の範囲内に入るように試料採取量を 0.2 g (元の食品試料 0.1 g 相当) に変更し、添加回収試験を実施した。

DMS 及び DADS の 6 群の添加回収率が、それぞれ 129%、120% になった。これら

はマトリックスなどの影響による可能性も考えられるが、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 81.1～118%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 試料に含まれるチオエーテル系香料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 試料中のチオエーテル系香料含有量 ($\mu\text{g/g}$ 元の食品試料換算含有量として)を表 3 に示した。DMS が 1 群及び 7 群から検出された。7 群から検出された DMS 保持時間のピークは、GC/MS のスキャンモードによるマススペクトル解析により、検量線標準液の DMS 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。推定一日摂取量 ($\text{mg}/\text{人}/\text{日}$) は、20 歳以上の人々の体重 1 kg 当たりの推定一日摂取量 (mg/kg 体重/日) に 20 歳以上の人々の平均体重 (kg) を乗じて求めた。なお、20 歳以上の人々の平均体重として、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) の 20 歳以上人々の平均体重 (58.8 kg) を用いた。

チオエーテル系香料の推定一日摂取量は、DMS が $0.02 \text{ mg}/\text{人}/\text{日}$ であり、DADS はいずれの試料でも定量限界未満であり $0 \text{ mg}/\text{人}/\text{日}$ と推定された。

DMS は、天然由来の食品成分として発酵食品、コーン缶や青のり、野菜などの食品に存在し、キャベツの腐敗臭や、低濃度では「磯の香り」の原因物質として知られている。また、香料として、肉加

工品や焼菓子等に添加されている⁸⁻¹¹⁾。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¹²⁾では、DMS $1.608 \text{ mg}/\text{人}/\text{日}$ 、DADS $0.003 \text{ mg}/\text{人}/\text{日}$ 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。こうした点も、MB方式による一日摂取量の方が低くなった要因の可能性の一つと考えられる。

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ことから DMS、DADS に許容一日摂取量 (ADI) は設定していない。従来から実施されている国内の香料化合物の使用量に基づいた MSDI 法とは別に、流通食品から調査する MB 方式による調査からも、DMS の推定一日摂取量は低いことが示された。

D. 結論

国内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。チオエーテル系香料の DMS 及び DADS について、DHS-GC/MS 法を用いて分析を行った。

MB 方式によるチオエーテル系香料の推定一日摂取量は、DMS が $0.02 \text{ mg}/\text{人}/$

日であり、DADS はいずれの試料でも定量限界未満であり 0 mg/人/日と推定された。これより、MB 方式による調査からも、DMS の推定一日摂取量は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、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、従来から実施されている国内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. 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, 2005, 24, 299-310
- 2) 河崎裕美他：食品化学学会誌, 2011, 18, 150-162
- 3) 久保田浩樹他：食品化学学会誌, 2017, 24, 94-104
- 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) Pinho O.: J. Chromatography A, 2006, 1121, 145-153
- 6) Darren J. Caven-Quantrilla: J. Chromatography A, 2011, 1218, 875-881

- 7) Bicchi C.: J. Chromatography A, 2004, 1024, 217-226
- 8) 松浦弘明他：分析化学, 2005, 11, 1075-1082
- 9) 飯田遥他：日本水産学会誌, 1985, 51, 1145-1150
- 10) Song X.: LWT Food Science and Technology, 2021, 146, 111427
- 11) Breeden D. C.: Journal of Food Composition and Analysis, 1992, 5, 134-138
- 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. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
1) 久保田浩樹、寺見祥子、太田亜紀子、建部千絵、多田敦子、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ラクトン系香料の一日摂取量調査. 第 61 回全国衛生化学技術協議会年会 (2024. 11) (堺)

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

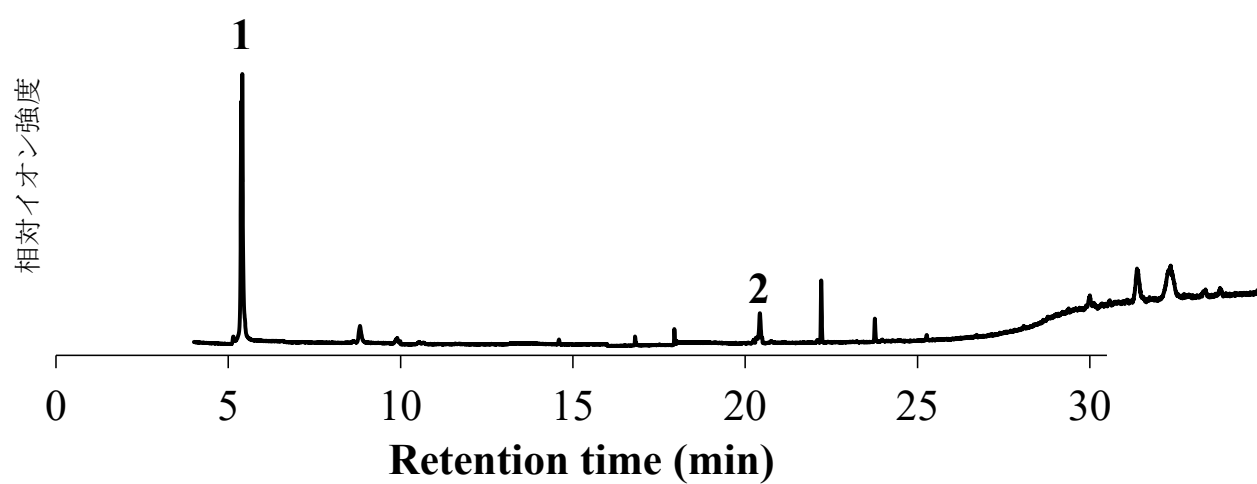
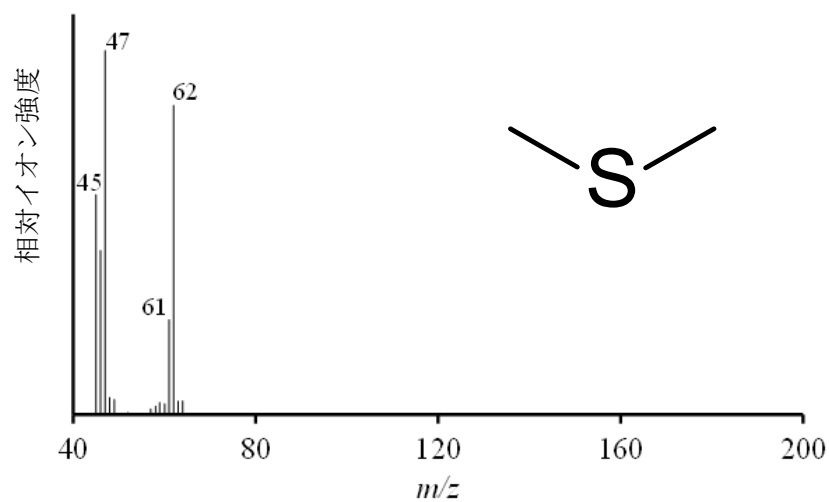


図 1. 検量線用標準溶液 (各 50 ng/mL) の GC/MS クロマトグラム
1 : ジメチルスルフィド, 2 : ジアリルジスルフィド
(検出 : m/z 45 ~ m/z 200)

1) ジメチルスルフィド (DMS)



2) ジアリルジスルフィド (DADS)

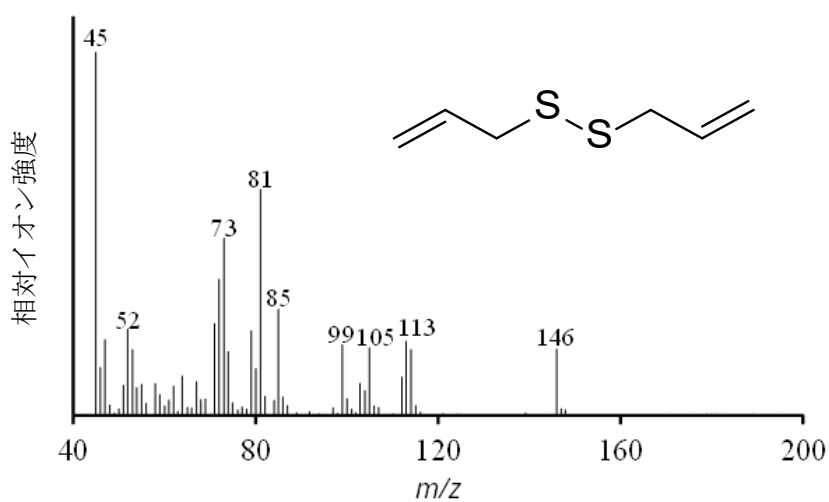


図2. 測定対象香料のマススペクトル

表 1. 検討対象候補としたチオエーテル系香料

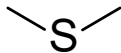
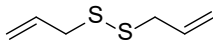
No.	品目名	CAS No.	分類	構造式	J E C F A 現在の推定摂取量に基づく結論
1	ジメチルスルフィド	75-18-3	チオエーテル類		No safety concern
2	ジアリルジスルフィド	2179-57-9	チオエーテル類		No safety concern

表 2. マーケットバスケット試料におけるチオエーテル系香料の添加回収試験

No.	化合物名	回収率 平均値 (%)						
		1群 嗜好飲料 ・調味料	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 乳類・ 油脂類	6群 砂糖類・ 菓子類	7群 果実類 ・野菜類 ・海藻類
1	ジメチルスルフィド	81.5	105	104	113	97.9	129	81.1
2	ジアリルジスルフィド	118	93.9	87.2	103	104	120	92.6

(n=5)

表 3. マーケットバスケット試料中のチオエーテル系香料含有量

		20歳以上 単位：μg/g						
No.	化合物名	食 品 群						
		1群 嗜好飲料 ・調味料	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 乳類・ 油脂類	6群 砂糖類・ 菓子類	7群 果実類 ・野菜類 ・海藻類
1	ジメチルスルフィド	0.015	ND	ND	ND	ND	ND	0.20
2	ジアリルジスルフィド	Tr (0.006)	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND：定量限界（ジメチルスルフィド：1群0.005 μg/g, 2-7群 0.05 μg/g, ジアリルジスルフィド：1群0.01 μg/g, 2-7群 0.1 μg/g）未満

(n=3)

表 4. マーケットバスケット方式によるチオエーテル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 嗜好飲料 ・調味料	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 乳類・ 油脂類	6群 砂糖類・ 菓子類	7群 果実類 ・野菜類 ・海藻類	
1	ジメチルスルフィド	0.01	0	0	0	0	0	0.004	0.02
2	ジアリルジスルフィド	0	0	0	0	0	0	0	0

*1 測定の結果、含量が定量限界未満の場合は0とした。

*2 推定一日摂取量 (mg/人/日) = 20歳以上の人の体重1 kg当たりの推定一日摂取量 (mg/kg体重/日) × 20歳以上の人の平均体重 (kg) 20歳以上の人の平均体重として、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)の20歳以上人の平均体重 (58.8 kg) を用いた。