

アドバンテームの食品添加物の指定に関する部会報告書（案）

今般の添加物としての新規指定並びに使用基準及び成分規格の設定の検討については、事業者より指定等の要請がなされた当該添加物について、食品安全委員会において食品健康影響評価がなされたことを踏まえ、添加物部会において審議を行い、以下の報告を取りまとめるものである。

1. 品目名

和名：アドバンテーム

英名：Advantame

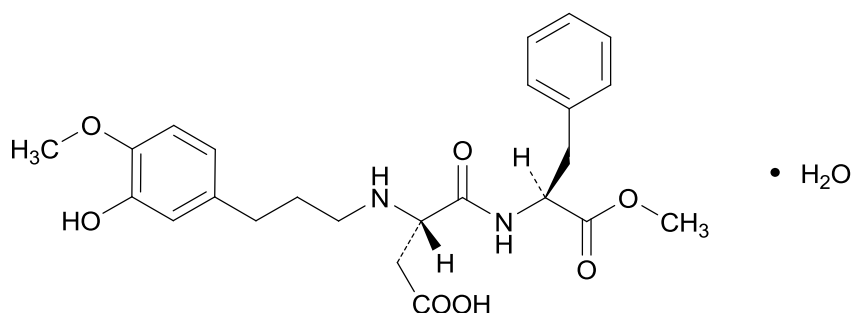
化学名：Methyl N-[3-(3-Hydroxy-4-methoxyphenyl)propyl]-L- α -aspartyl-L-phenylalaninate monohydrate

CAS 番号：714229-20-6

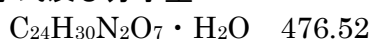
INS 番号：969

2. 構造式、分子式及び分子量

構造式：



分子式及び分子量：



3. 用途

甘味料

4. 概要及び諸外国での使用状況

(1) 概要

アドバンテームは、既存の甘味料であるアスパルテームと3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニルプロピオンアルデヒドとの還元アルキル化反応により合成されるジペプチドメチルエステル誘導体であり、使用する食品の種類や配合組成によって異なるが、砂糖の約14000～48000倍、アスパルテームの90～120倍の甘味度を持つ成分である¹⁾。

JECFAでは、第77回会合（2013年）に評価が行われており、一日摂取許容量（ADI）

を0-5 mg/kg 体重/日と設定されている。

(2) 諸外国での使用状況等

コーデックス委員会では、CCFA（コーデックス食品添加物部会）が作成する添加物の使用基準（GSFA¹（食品添加物に関するコーデックス一般規格））に規格は設定されていない。

米国では、フレーバーエンハンサーの用途では、FEMA-GRASとして、飲料、チューインガム及び乳製品への使用が認められている。甘味料としては、2009年に米国医薬品食品局（FDA）に申請されている。

欧州連合（EU）では、2010年に申請され、EFSAの安全性評価は終了しているが、2013年8月末時点において、使用は認められていない。なお、着香発酵乳製品（flavoured fermented milk products）、朝食シリアル、高級ベーカリー製品（fine bakery wares）、ココア及びチョコレート、チューインガム、着香飲料（flavoured drink）等、様々な食品への使用が提案されている。

オーストラリア・ニュージーランドでは、乳や生鮮品等の一部の食品を除き、幅広い食品にGMP（適正製造規範）での使用が認められている。

5. 食品添加物としての有効性

(1) 甘味度

アドバンテームの甘味強度は濃度及び含まれる食品により変化する。水溶液中で砂糖等価濃度 3~12%を示すアドバンテームの甘味倍率は、ショ糖の 14000~48000 倍、類似構造を有する既存甘味料アスパルテームの 90~120 倍であった（表 1 参照）。

¹ コーデックスにおける食品添加物の最も基本的な規格。食品添加物の使用に関する一般原則（食品添加物の安全性、使用の妥当性及び適正製造規範（GMP）の考え方等）、食品へのキャリーオーバー（食品の原材料の製造等に使用された食品添加物が食品中に存在すること）の考え方等の他、生鮮食品及び加工食品を階層的に分類した「食品分類システム」や、個別の食品添加物について、使用が認められている食品分類ごとに食品中の最大濃度を規定した「食品添加物条項」等から構成されている。

表 1 アドバンテームのシヨ糖及びアスパルテームに対する甘味倍率

砂糖等価甘味度 (% Sucrose Equivalency)	アスパルテームに対する甘 味倍率 (アドバンテーム/アスパ ルテーム)	シヨ糖に対する甘味倍率 (アドバンテーム /シヨ糖)
3	120	47,778
4	119	44,074
5	118	40,370
6	116	36,667
7	114	32,963
8	112	29,259
9	109	25,556
10	105	21,852
11	100	18,148
12	94	14,444

アドバンテームの味質特性に関して、味や香りなど官能的な特性を定量的に評価する定量的記述分析法(QDA法)²により、アスパルテームと比較したところ、各味質及びあと味のバランスは、アドバンテーム(5ppm)とアスパルテーム(500ppm)で類似している(図1及び図2参照)。

² 評価溶液 15ml を口に 10 秒間含んでから吐き出す。あと味は、更に 30 秒間待った時に感じられる味を評価する方法

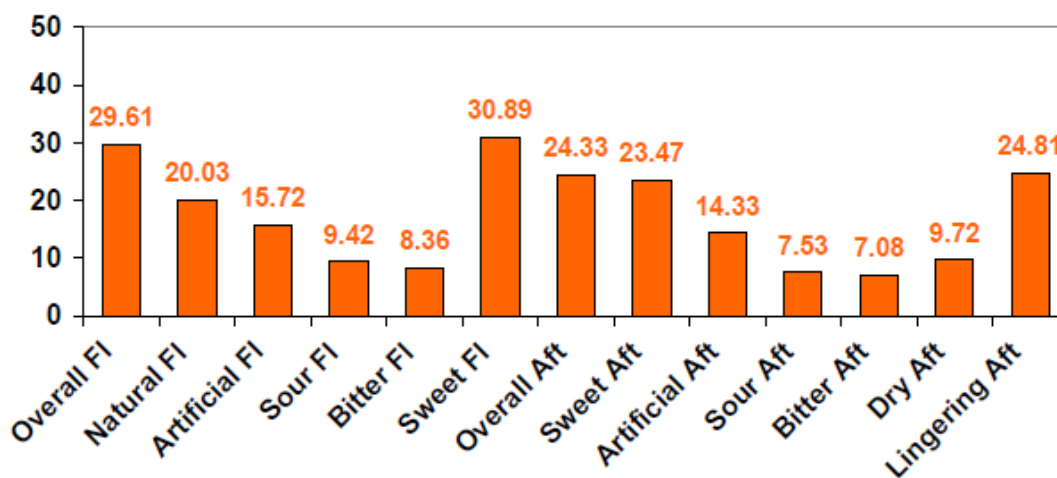


図1 アドバンテーム (5ppm) の味質特性※

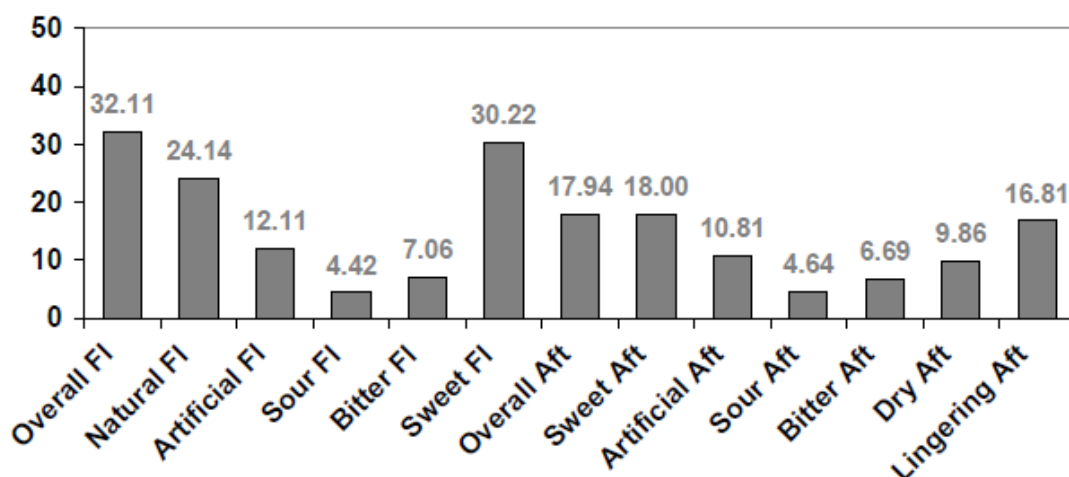


図2 アスパルテーム (500ppm) の味質特性※

※

Overall FI : 風味及び味全般、Natural FI : 砂糖のような自然な甘味

Artificial FI : 化学物質や薬品のような人工的な味、Sour FI : 酸味

Bitter FI : 苦味、Sweet FI : 甘味、Overall Aft : 後に残る味・風味全般

Sweet Aft : 後に残る甘味、Artificial Aft : 後に残る人工的な味

Sour Aft : 後に残る酸味、Bitter Aft : 後に残る苦味

Dry Aft : 後に感じられる乾いたような感覚、Lingering Aft : あと味が残るような感覚

(2) 安定性

乾燥粉末は室温で 60 ヶ月間安定(残存率 98.7~99.4%)、加速条件下(温度 40℃、湿度 75%)でも 6 ヶ月間安定(残存率 99.6~100%)であった¹⁾。熱安定性に関しては従来の

甘味料であるアスパルテームより改善されており、ケーキ中での含量は、焼成前 15.2ppm に対し、焼成後(180°C、35分)で 11.32ppm であり、焼成後残存率は 74.5%であった。

(3) 食品中での安定性

①卓上甘味料の安定性と甘味の経時変化

卓上甘味料を 25°C±2°C、相対湿度 60%±5%で 36ヶ月間保存し、保存期間中のアドバンテーム含量の変化を測定すると共に、官能検査により甘味の経時変化を評価した。

保存開始時のアドバンテーム含量は 446.1ppm、アドバンテームの主要分解物である *N*-[*N*-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-*L*- α -アスパルチル]-*L*-フェニルアラニン (ANS9801-acid) は検知されなかった。12ヶ月後及び 36ヶ月後保存検体中のアドバンテーム及び ANS9801-acid 含量は、それぞれ 434.2ppm、19.84ppm、及び 377.6ppm、53.04ppm であり、アドバンテーム残存率は、97.3%及び 84.6%であった。

一方、保存期間中の甘味に関しては、卓上甘味料用途として一般的であるアイスコーヒーに卓上甘味料 3.1ppm を添加・溶解した飲料で 5段階評価を行った。下位 2段階と評価した評価員は保存開始時に 0%、36ヶ月保存後に 23.5%と 75%未満であったことから、全保存期間を通じて甘味が維持されたと判断された。

②炭酸飲料中の安定性と甘味の経時変化

アドバンテームを添加したコーラタイプの炭酸飲料を調製し(pH3.2)、これを 25°C±2°C、相対湿度 60%±5%で 26週間保存し、保存期間中のアドバンテーム含量の変化を測定すると共に、官能検査により甘味の経時変化を評価した。

保存開始時のアドバンテーム濃度は 8.70 μ g/ml、26週間後の濃度は 4.16 μ g/ml で、残存率は 47.8%であった。保存期間中に生じた分解物は、ANS9801-acid、*N*-[*N*-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-*L*- β -アスパルチル]-*L*-フェニルアラニンメチルエステル (β -ANS9801)、*N*-[*N*-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-*L*- β -アスパルチル]-*L*-フェニルアラニン (β -ANS9801-acid) であった。

一方、保存期間中の甘味に関して 5段階評価を行ったところ、下位 2段階と判定した評価員の割合は保存開始時には 12.5%、26週間後には 35.3%と 75%未満であったことから全保存期間を通じて甘味が維持されたと判断された。

③ホットパック充填したオレンジジュース中での安定性と甘味の経時変化

約 4 μ g/ml のアドバンテームを含有するオレンジジュース(pH3.2)を、96°C±2°Cに昇温したプレート型熱交換器を通過させ、100mL ボトルに充填した。25°C±2°C、相対湿度 60%±5%で 26週間保存し、保存期間中のアドバンテーム含量の変化を測定すると共に、官能検査により甘味の経時変化を評価した。

ホットパック充填前のアドバンテーム濃度は 3.79 μ g/ml、充填後は 3.73 μ g/ml で

あり、残存率は98.4%であった。26週間保存後のアドバンテーム濃度は1.81 $\mu\text{g/ml}$ で、保存開始時(ホットパック充填後)からの残存率は48.4%であった。

一方、保存期間中の甘味に関して5段階評価を行ったところ、下位2段階と判定した評価員の割合は保存開始時には40.0%、26週後には56.3%と75%未満であったことから、全保存期間を通じて甘味が維持されたと判断された。

④イエローケーキ焼成工程及び保存期間中の安定性と甘味の経時変化

イエローケーキの焼成工程におけるアドバンテームの安定性について検討した。焼成前のイエローケーキ生地(pH6.0)中アドバンテーム含量は15.20ppm、類縁化合物であるANS9801-acid含量は2.29ppmであったが、180°C、35分間焼成後のアドバンテーム含量は11.32ppm、ANS9801-acid含量は5.57ppmで、アドバンテーム残存率は74.5%であった。

次に焼成後5日間の保存安定性試験を実施した。180°C、35分間焼成したイエローケーキを室温になるまで約30分間放置し、ポリエチレン製の袋に密封した。密封されたイエローケーキを小売用ケーキボックスにいれ、25°C \pm 2°C、相対湿度60% \pm 5%で保存した。保存開始時のイエローケーキ中アドバンテーム含量は、12.17ppm、ANS9801-acid含量は6.29ppm、5日間保存後のアドバンテーム含量は12.38ppm、ANS9801-acid含量は6.03ppmで、変化は認められなかった。

また、保存期間中の甘味に関して5段階評価を行ったところ、下位2段階と判定した評価員の割合は保存開始時には46.7%、5日後には25.0%と75%未満であったことから、全保存期間を通じて甘味が維持されたと判断された。

⑤チューインガム中での安定性と甘味の経時変化

約400ppmのアドバンテームを含有するチューインガムを調製し、25°C \pm 2°C、相対湿度60% \pm 5%で27週間保存し、経時的にアドバンテーム含量測定、及び甘味に関する5段階評価を行った。保存開始時のアドバンテーム含量は377.03ppm、保存27週後の同含量は350.35ppmで、残存率は92.9%であった。

また、保存期間中の甘味に関して5段階評価を行ったところ、下位2段階と判定した評価員の割合は保存開始時には31.3%、23週後には31.3%と75%未満であったことから、全保存期間を通じて甘味が維持されたと判断された。

⑥粉末飲料中での安定性と甘味の経時変化

調製後の飲料中においてアドバンテームが約4ppm含有されるように配合したレモンフレーバーの粉末飲料を調製し、10gずつアルミパウチに入れて熱シールし、室温条件(25°C \pm 2°C/相対湿度60% \pm 5%)、中間条件(30°C \pm 2°C/相対湿度65% \pm 5%)、加速条件(40°C \pm 2°C/相対湿度75% \pm 5%)の3通りの保存条件で、それぞれ12ヶ月間、6ヶ月

間、6ヶ月間保存した。保存開始時のアドバンテーム含量は、乾燥粉末中768.4ppm、室温条件保存12ヶ月で740.5ppm(残存率96.4%)、中間条件保存6ヶ月で739.8ppm(残存率96.3%)、加速条件保存6ヶ月で716.5ppm(残存率93.2%)であった。主要類縁物質であるANS9801-acidは、保存開始時の含量が3.29ppm、室温条件保存12ヶ月で6.90ppm、中間条件保存6ヶ月で8.66ppm、加速条件保存6ヶ月で31.99ppmと、保存開始時より増加した。

一方、保存期間中の甘味に関して5段階評価を行ったところ、下位2段階と判定した評価員の割合は保存開始時に13.3%、室温条件保存12ヶ月で20.0%、中間条件保存6ヶ月で6.7%、加速条件保存6ヶ月で6.7%といずれも75%未満であったことから、全保存期間を通じて甘味が維持されたと判断した。

6. 食品安全委員会における評価結果

食品添加物としての指定及び規格基準設定並びに食品中の残留基準設定のため、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第24条第1項第1号及び第2項の規定に基づき、平成24年3月30日付け厚生労働省発食安0330第2号により食品安全委員会あて意見を求めたアドバンテームに係る食品健康影響評価については、以下の評価結果が平成25年7月30日付け府食第628号で通知されている。

【食品健康影響評価（添加物評価書抜粋）】

アドバンテームの体内動態及び一般薬理に係る知見を検討した結果、安全性に懸念を生じさせるようなものはないと判断した。

本委員会としては、アドバンテーム及びその分解物について遺伝毒性の懸念はないと判断した。

本委員会としては、アドバンテームについての急性毒性、反復投与毒性、発がん性、生殖発生毒性及びアレルギー性の試験成績を検討した結果、ウサギを用いた出生前発生毒性試験においてアドバンテーム1,000 mg/kg体重/日以上投与群で母動物に認められた消化器障害及びそれに伴う一般状態の悪化を投与に起因する変化と考え、その下の用量である500 mg/kg体重/日をアドバンテームの毒性に係る最小のNOAELと考えた。また、発がん性は認められないと判断した。

本委員会としては、入手したヒトにおける知見から、アドバンテームについて、安全性上の懸念をもたらすような証拠は得られていないと判断した。

アドバンテームはL-フェニルアラニン化合物であるが、吸収率が最大で20%であ

る上に、主な血中、尿中及び糞中代謝物は ANS9801-acid であることから、体内においてフェニルアラニンが生じる量は非常に低く、アドバンテームの摂取によってフェニルアラニン摂取量が増加することによるリスクは無視できると判断した。

本委員会としては、認められた毒性所見及び我が国において使用が認められた場合の添加物「アドバンテーム」の推定摂取量（3.57 mg/人/日（0.0714 mg/kg 体重/日））を勘案すると、添加物「アドバンテーム」の ADI を特定することが必要と判断した。本委員会としては、ウサギを用いた出生前発生毒性試験の NOAEL 500 mg/kg 体重/日を根拠とし、安全係数 100 で除した 5.0 mg/kg 体重/日を添加物「アドバンテーム」の ADI とした。

ADI	5.0 mg/kg 体重/日
（ADI 設定根拠資料）	出生前発生毒性試験
（動物種）	ウサギ
（投与方法）	強制経口投与
（無毒性量設定根拠所見）	消化器障害及びそれに伴う一般状態の悪化
（無毒性量）	500 mg/kg 体重/日
（安全係数）	100

7. 摂取量の推計

食品安全委員会の評価の結果によると次のとおりである。

【一日摂取量の推計等（添加物評価書抜粋）】

Ⅲ. 一日摂取量の推計等

指定等要請者によれば、添加物「アドバンテーム」は、甘味料として様々な食品に使用されることが想定されるとされており、平成 20 年国民健康・栄養調査の食品群別摂取量（総数）及び各食品の推定糖類含量に基づき、現在の食品からの糖類推定摂取量が全てアドバンテームに置き換わると仮定した場合、本品目の推定一日摂取量は 2.42 mg/人/日（0.0484 mg/kg 体重/日）になるとされている。ただし、高甘味度甘味料が使用された製品が多く流通している現在においても、糖類全てを高甘味度甘味料で置き換えた製品は少なく、複数の高甘味度甘味料を併用することが一般的であることから、食品中の糖類を全てアドバンテームに置き換えることは、甘味料の大量摂取を行う消費者を考慮しても、過剰な見積もりと考えられるとされている。

一方、指定等要請者によれば、国内における砂糖、異性化糖、加糖調製品（砂糖の量に換算）の年間需要量を基に、これら全てがアドバンテームに置き換わり、アドバ

ンテームの甘味度をショ糖の 20,000 倍と仮定した場合、添加物「アドバンテーム」の推定一日摂取量は 3.57 mg/人/日 (0.0714 mg/kg 体重/日) になるとされている。

本委員会としては、推計値が過小にならないよう留意し、本品目の推計一日摂取量を 3.57 mg/人/日 (0.0714 mg/kg 体重/日) と考えた。

IV. フェニルアラニン摂取量に関する考察

指定等要請者によれば、アドバンテームを摂取した場合、体内で速やかに ANS9801-acid に変換され、主な代謝物として尿や糞便中に排泄されることから、アドバンテーム摂取によってフェニルアラニン摂取量が増加することによるリスクは無視できるとされている。仮に、アドバンテームが全てフェニルアラニンに変換されると想定した場合、上述のアドバンテームの推定一日摂取量から我が国におけるフェニルアラニンの摂取量を算出すると、フェニルアラニンの推定摂取量は 839 μ g/人/日 (16.8 μ g/kg 体重/日) となり、フェニルケトン尿症患者の摂取目安量 (2 歳児で 200~220 mg/人/日、5 歳児で 300~600 mg/人/日) の 0.14~0.42% に相当する。

8. フェニルアラニンの摂取について

食品安全委員会の評価の結果によると次のとおりである。

【一日摂取量の推計等 (添加物評価書抜粋)】 (再掲)

IV. フェニルアラニン摂取量に関する考察

指定等要請者によれば、アドバンテームを摂取した場合、体内で速やかに ANS9801-acid に変換され、主な代謝物として尿や糞便中に排泄されることから、アドバンテーム摂取によってフェニルアラニン摂取量が増加することによるリスクは無視できるとされている。仮に、アドバンテームが全てフェニルアラニンに変換されると想定した場合、上述のアドバンテームの推定一日摂取量から我が国におけるフェニルアラニンの摂取量を算出すると、フェニルアラニンの推定摂取量は 839 μ g/人/日 (16.8 μ g/kg 体重/日) となり、フェニルケトン尿症患者の摂取目安量 (2 歳児で 200~220 mg/人/日、5 歳児で 300~600 mg/人/日) の 0.14~0.42% に相当する。

【食品健康影響評価 (添加物評価書抜粋)】 (再掲)

アドバンテームは L-フェニルアラニン化合物であるが、吸収率が最大で 20% である上に、主な血中、尿中及び糞中代謝物は ANS9801-acid であることから、体内においてフェニルアラニンが生じる量は非常に低く、アドバンテームの摂取によってフェニルアラニン摂取量が増加することによるリスクは無視できると判断した。

9. 新規指定について

アドバンテームを食品衛生法第 10 条の規定に基づく添加物として指定することは、食品安全委員会による摂取量推計が同委員会の設定した ADI を下回っていることから、差し支えない。

10. 規格基準の設定について

同法第 11 条第 1 項の規定に基づく規格基準については、次のとおりとすることが適当である。

(1) 使用基準について

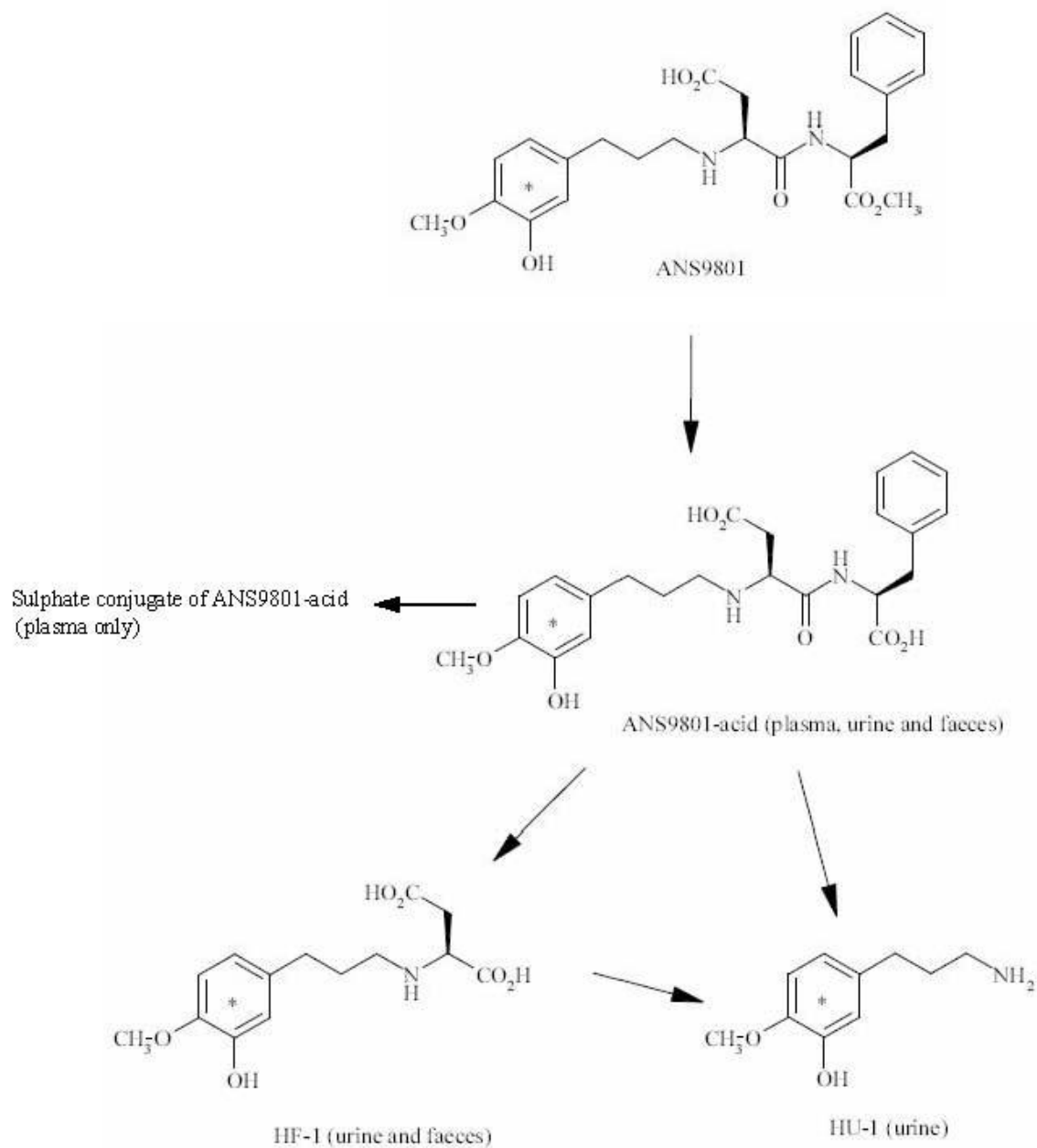
食品安全委員会による評価結果及び摂取量推計において、過剰な見積もりで行った摂取量推計が ADI に比べて小さいことから、使用基準は設定しないことが適当である。

なお、オーストラリア及びニュージーランドにおいては、GMP のもとでの使用が認められている。

(2) 成分規格について

成分規格を別紙 2 のとおり設定することが適当である（設定根拠は別紙 3 のとおり）。

動物（ラット、イヌ）及びヒトでの検討結果に基づくアドバンテームの主要代謝経路



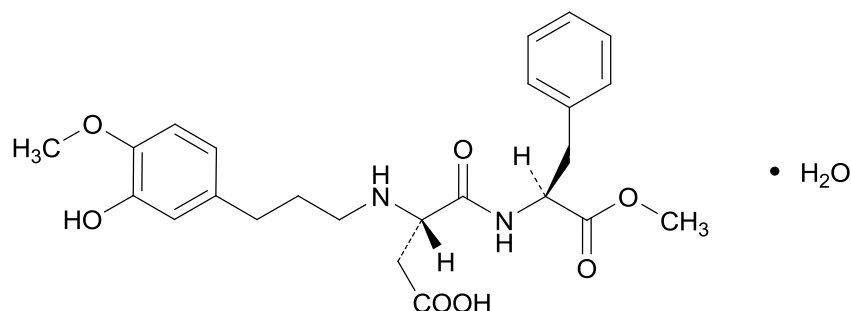
略称	名称等
ANS9801	アドバンテーム
ANS9801-acid	<i>N</i> -[<i>N</i> -[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]- <i>L</i> - α -アスパルチル]- <i>L</i> -フェニルアラニン
HF-1	<i>N</i> -(3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル)- <i>L</i> -アスパラギン酸
HU-1	3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)-1-プロピルアミン

成分規格案

アドバンテーム

Advantame

N{*N*[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-*L*- α -アスパルチル}-*L*-フェニルアラニン
1-メチルエステル

C₂₄H₃₀N₂O₇·H₂O

分子量 476.52

Methyl *N*[3-(3-Hydroxy-4-methoxyphenyl)propyl]-*L*- α -aspartyl-*L*-phenylalaninate
monohydrate [714229-20-6]

含量 本品を無水物換算したものは、アドバンテーム (C₂₄H₃₀N₂O₇=458.50) 97.0～102.0%を含む。

性状 本品は、白～帯黄白色の粉末である。

確認試験 本品を赤外吸収スペクトル測定法中の臭化カリウム錠剤法により測定し、本品のスペクトルを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。

純度試験 (1) 比旋光度 $[\alpha]_D^{20}$: -39～-46° (0.2g, エタノール (99.5), 100ml, 無水物換算)

(2) 鉛 Pb として 1.0 μ g/g 以下

本品 4.0g を量り、白金製、石英製若しくは磁製のるつぼ又は石英製ビーカーに入れる。硫酸 (1→4) を加えて試料全体を潤した後、徐々に温度を上げ、試料が炭化し、硫酸の白煙が発生しなくなるまで加熱する。必要があれば硫酸 (1→4) を更に加え、試料がほとんど炭化するまで加熱する。試料が炭化した後、必要があれば容器に緩くふたをして電気炉に入れ、徐々に温度を上げて 450～600°C で強熱して灰化する。炭化物が残る場合は、必要があればガラス棒で碎き、硫酸 (1→4) 1 ml 及び硝酸 1 ml で潤し、白煙が発生しなくなるまで加熱した後、電気炉で強熱して完全に灰化する。残留物に塩酸 (1→4) 10ml を入れ、水浴上で加熱して蒸発乾固する。残留物に少量の硝酸 (1→100) を加え、加温して溶かし、冷後、更に硝酸 (1→100) を加えて正確に 10ml とし、検液とする。なお、500°C 以下で灰化操作を行う場合には、耐熱ガラス製ビーカーを使用することができる。別に、鉛標準原液 1 ml を正確に量り、水を加えて正確に 100ml とする。

この液 4 ml を正確に量り、硝酸(1→100)を加えて正確に 10ml としたものを比較液とする。検液及び比較液につき、鉛試験法第 1 法により試験を行う。

(3) *N*[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L- α -アスパルチル-L-フェニルアラニン 1.0%以下

本品約 0.1g を精密に量り、水/アセトニトリル混液 (7:3) を加えて溶かし、正確に 100ml とし、検液とする。別に *N*[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L- α -アスパルチル-L-フェニルアラニン約 0.1g を精密に量り、水/アセトニトリル混液 (7:3) を加えて溶かし、正確に 100ml とする。この液 2ml を正確に量り、水/アセトニトリル混液 (7:3) を加えて正確に 20ml とする。この液 2ml を正確に量り、水/アセトニトリル混液 (7:3) を加えて正確に 20ml とし、標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ 20 μ l ずつ量り、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行う。検液及び標準液の *N*[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L- α -アスパルチル-L-フェニルアラニンのピーク面積 A_T 及び A_S を測定し、次式により *N*[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L- α -アスパルチル-L-フェニルアラニンの量を求める。

N[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L- α -アスパルチル-L-フェニルアラニンの量 (%)

$$= \frac{W \text{ (g)}}{\text{試料の採取量 (g)}} \times \frac{A_T}{A_S}$$

ただし、W : *N*[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L- α -アスパルチル-L-フェニルアラニンの採取量

操作条件

検出器 紫外吸光光度計 (測定波長 210 nm)

カラム充てん剤 5 μ m の液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲル
カラム管 内径 4.6mm, 長さ 25cm のステンレス管

カラム温度 50 $^{\circ}$ C 付近の一定温度

移動相 A リン酸二水素カリウム 13.6g を量り、水 1000ml を加えて溶かし、リン酸を用いて pH2.8 に調整する。この液 900ml にアセトニトリル 100 ml を加える。

移動相 B リン酸二水素カリウム 13.6g を量り、水 1000ml を加えて溶かし、リン酸を用いて pH2.8 に調整する。この液 400 ml にアセトニトリル 600 ml を加える。

濃度勾配 A : B (85 : 15) で 30 分間保持し、A : B (85 : 15) から (75 : 25) までの直線濃度勾配を 25 分間行い、更に、A : B (75 : 25) から (0 : 100) までの直線濃度勾配を 20 分間行い、A : B (0 : 100) で 15 分間保持する。

流量 1.0 ml/分

(4) 他の類縁物質 1.5%以下

純度試験 (3) の検液及び標準液をそれぞれ 20 μ l ずつ量り、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行う。検液のアドバンテーム及び *N*-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L- α -アスパルチル-L-フェニルアラニンのピーク以外のピークの合計面積 A_{sum} 及び標準液の *N*-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L- α -アスパルチル-L-フェニルアラニンのピーク面積 (A_s) を測定し、次式により他の類縁物質の量を求める。ただし、面積測定範囲は *N*-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L- α -アスパルチル-L-フェニルアラニンの保持時間の 3 倍までとする。

他の類縁物質の量 (%)

$$= \frac{W \text{ (g)}}{\text{試料の採取量 (g)}} \times \frac{A}{A_s}$$

ただし、 W : *N*-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L- α -アスパルチル-L-フェニルアラニンの採取量

操作条件 純度試験 (3) の操作条件を準用する。

水分 5.0%以下 (0.1 g, 直接滴定)

強熱残分 0.2%以下 (550 $^{\circ}$ C, 3 時間)

定量法 本品約 0.04g を精密に量り、水/アセトニトリル混液 (7:3) を加えて溶かし、正確に 50ml とする。この液 10ml を正確に量り、内標準溶液 5ml を正確に加え、更に水/アセトニトリル混液 (7:3) を加えて正確に 50ml とし、検液とする。別に定量用アドバンテーム約 0.04g を精密に量り、水/アセトニトリル混液 (7:3) を加えて溶かし、正確に 50ml とする。この液 10ml を正確に量り、内標準溶液 5ml を正確に加え、更に水/アセトニトリル混液 (7:3) を加えて正確に 50ml とし、標準液とする。ただし、内標準溶液は、安息香酸 0.04g を正確に量り、水/アセトニトリル混液 (7:3) を加えて 50ml としたものを用いる。検液及び標準液をそれぞれ 20 μ l ずつ量り、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行う。安息香酸のピーク面積に対するアドバンテームのピーク面積比 Q_T 及び Q_S を求め、次式により含量を求める。

アドバンテーム ($C_{24}H_{30}N_2O_7$) の含量 (%)

$$= \frac{\text{無水物換算した定量用アドバンテームの採取量 (g)}}{\text{無水物換算した試料の採取量 (g)}} \times \frac{Q_T}{Q_S} \times 100$$

操作条件

検出器 紫外吸光光度計 (測定波長 280 nm)

カラム充てん剤 5 μ m の液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲル

カラム管 内径 4.6mm, 長さ 25cm のステンレス管

カラム温度 40℃付近の一定温度

移動相 A リン酸二水素カリウム 13.6g を水 1000ml に溶かし, リン酸で pH2.8 に調整する。この液 750ml にアセトニトリル 250ml を加える。

移動相 B リン酸二水素カリウム 13.6g を水 1000ml に溶かし, リン酸で pH2.8 に調整する。この液 500ml にアセトニトリル 500ml を加える。

濃度勾配 A : B (100 : 0) で 20 分間保持し, A : B (100 : 0) から (0 : 100) までの直線濃度勾配を 5 分間行い, A : B (0 : 100) で 5 分間保持する。

流量 1.0ml/分

試薬・試液

アドバンテーム, 定量用 $C_{24}H_{30}N_2O_7 \cdot H_2O$ 本品は白～帯黄白色の粉末である。

含量 本品を無水物換算したものは, アドバンテーム ($C_{24}H_{30}N_2O_7$) 99.0%以上を含む。

確認試験 本品を赤外吸収スペクトル測定法中の臭化カリウム錠剤法により測定するとき, $3,405\text{ cm}^{-1}$, $3,320\text{ cm}^{-1}$, $2,945\text{ cm}^{-1}$, $1,717\text{ cm}^{-1}$, $1,661\text{ cm}^{-1}$, $1,582\text{ cm}^{-1}$, $1,376\text{ cm}^{-1}$, $1,242\text{ cm}^{-1}$, $1,131\text{ cm}^{-1}$ 及び 703 cm^{-1} 付近に吸収を認める。

純度試験 (1) 比旋光度 $[\alpha]_D^{20}$: $-39 \sim -46^\circ$ (0.2 g, エタノール (99.5), 100 ml, 無水物換算)

(2) 類縁物質 *N*[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L- α -アスパルチル-L-フェニルアラニンとして 1.0%以下

本品約 0.1g を精密に量り, 水/アセトニトリル混液 (7 : 3) を加えて溶かし, 正確に 100ml とし, 検液とする。別に *N*[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L- α -アスパルチル-L-フェニルアラニン約 0.1g を精密に量り, 水/アセトニトリル混液 (7 : 3) を加えて溶かし, 正確に 100ml とする。この液 2ml を正確に量り, 水/アセトニトリル混液 (7 : 3) を加えて正確に 20ml とする。この液 2ml を正確に量り, 水/アセトニトリル混液 (7 : 3) を加えて正確に 20ml とし, 標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ 20 μ l ずつ量り, 次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行う。検液のアドバンテーム以外のピークの合計面積及び標準液の *N*[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L- α -アスパルチル-L-フェニルアラニンのピーク面積 A_T 及び A_S を測定し, 次式により類縁物質の量を求める。ただし, 面積測定範囲は *N*[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L- α -アスパルチル-L-フェニルアラニンの保持時間の 3 倍までとする。

$$\text{類縁物質の量 (\%)} = \frac{W \text{ (g)}}{\text{試料の採取量 (g)}} \times \frac{A_T}{A_S}$$

操作条件 「アドバンテーム」の純度試験 (3) の操作条件を準用する。

水分 5.0%以下 (0.1 g, 直接滴定)

強熱残分 0.2%以下 (1g, 550°C, 3時間)

定量法 本品約 0.5 g を精密に量り, エタノール (95) 100 ml に溶かし, 0.1 mol/L 水酸化ナトリウム液で滴定する。終点の確認は, 通例, 電位差計を用いる。別に空試験を行い補正する。

0.1mol/L 水酸化ナトリウム液 1 ml = 45.85 mg $C_{24}H_{30}N_2O_7$

4 級アンモニウム化親水性ポリマーゲル, 液体クロマトグラフィー用 液体クロマトグラフィー用に製造したもの。

液体クロマトグラフィー用 4 級アンモニウム化親水性ポリマーゲル 4 級アンモニウム化親水性ポリマーゲル, 液体クロマトグラフィー用を見よ。

液体クロマトグラフィー用 4 級カルボキシル化スチレン系ゲル 4 級カルボキシル化スチレン系ゲル, 液体クロマトグラフィー用を見よ。

4 級カルボキシル化スチレン系ゲル, 液体クロマトグラフィー用 液体クロマトグラフィー用に製造したもの。

L-ヒスチジン $C_6H_9N_3O_2$ 本品は白色の結晶又は粉末である。

含量 本品は, L-ヒスチジン 98.0%以上を含む。

純度試験 比旋光度 $[\alpha]_D^{20}$: +12.0°~+13.0° (1 g, 塩酸, 10 ml)。

定量法 本品約 0.15g を精密に量り, ギ酸 2mL に溶かし, 酢酸 50mL を加え, 0.1mol/L 過塩素酸液で滴定する。別に空試験を行い補正する。

0.1mol/L 過塩素酸 1mL=15.52g $C_6H_9N_3O_2$

N-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L- α -アスパルチル-L-フェニルアラニン $C_{28}H_{28}N_2O_7$ 白色~黄色の粉末である。

含量 本品は定量するとき, N-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L- α -アスパルチル-L-フェニルアラニン 94%以上を含む。

純度試験 (1) 塩化物 Cl として 1.0%以下

本品約 0.01g を精密に量り, 水/アセトニトリル混液 (7:3) を加えて溶かし, 正確に 100ml とし, 検液とする。別に塩化ナトリウム約 0.016g を精密に量り, 水を加えて溶かし, 正確に 100ml とし, 標準液 (1) とする。この 2ml を正確に量り, 水を加えて正確に 20ml とし, 標準液 (2) とする。検液並びに標準液 (1) 及び (2) 30 μ l につき, 次の操作条件でイオンクロマトグラフィーを行う。標準液 (1) 及び (2) の塩化物

のピーク面積を測定し、検量線を作成する。次に検液の塩化物のピーク面積を測定し、検量線から検液中の塩化物濃度 (g/ml) を求め、次式により塩化物の量を求める。

$$\text{塩化物の量 (\%)} = \frac{\text{検液中の塩化物濃度 (g/ml)}}{\text{試料の採取量 (g)}} \times 10000$$

操作条件

検出器 電気伝導度検出器

カラム充てん剤 6 μ m の液体クロマトグラフィー用 4 級アンモニウム化親水性ポリマーゲル

カラム管 内径 4.6mm, 長さ 15cm のポリエーテルケトン管

カラム温度 40℃付近の一定温度

移動相 炭酸水素ナトリウム 201.62mg 及び無水炭酸ナトリウム 264.98mg を水 1000ml に溶かす。

流量 塩化物の保持時間が約 7 分になるように調整する。

(2) ナトリウム Na として 5.0%以下

本品約 0.01g を精密に量り、水/アセトニトリル混液 (7 : 3) を加えて溶かし、正確に 100ml とし、検液とする。別に塩化ナトリウム約 0.006 g を精密に量り、水を加えて溶かし、正確に 100ml とし、標準液 (1) とする。この 2ml を正確に量り、水を加えて正確に 20ml とし、標準液 (2) とする。検液並びに標準液 (1) 及び (2) 30 μ l につき、次の操作条件でイオンクロマトグラフィーを行う。標準液 (1) 及び (2) のナトリウムのピーク面積を測定し、検量線を作成する。次に検液のナトリウムのピーク面積を測定し、検量線から検液中のナトリウムの濃度 (g/ml) を求め、次式によりナトリウムの量を求める。

$$\text{ナトリウムの量 (\%)} = \frac{\text{検液中のナトリウム濃度 (g/ml)}}{\text{試料の採取量 (g)}} \times 10000$$

操作条件

検出器 電気伝導度検出器

カラム充てん剤 5 μ m の液体クロマトグラフィー用 4 級カルボキシル化スチレン系ゲル

カラム管 内径 4.6 mm, 長さ 15 cm のポリエーテルケトン管

カラム温度 40℃付近の一定温度

移動相 L-ヒスチジン 77.58mg を精密に量り、2mol/L メタンサルホン酸溶液 1.25ml を正確に加え、水 1000ml に溶かす。

流量 ナトリウムの保持時間が約4分になるように調整する。

水分 1.0%以下 (0.1 g, 直接滴定)

定量法 本品 0.01 g を量り、水/アセトニトリル混液 (7:3) を加えて溶かし、正確に 50 ml とし、検液とする。検液 20 μ l を量り、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、ピーク面積を測定するとき、すべての成分のピーク面積の総和を 100 とし、それに対する主ピークの面積百分率を求め、C (%) とする。ただし、面積測定範囲は *N*-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-*L*- α -アスパルチル-*L*-フェニルアラニンの保持時間の6倍までとする。次式により含量を求める。

N-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-*L*- α -アスパルチル-*L*-フェニルアラニンの含量 (%)

$$= (100 - \text{ナトリウムの量} - \text{塩化物の量} - \text{水分}) \times \frac{C (\%)}{100}$$

操操作条件 「アドバンテーム」の定量法の操作条件を準用する。

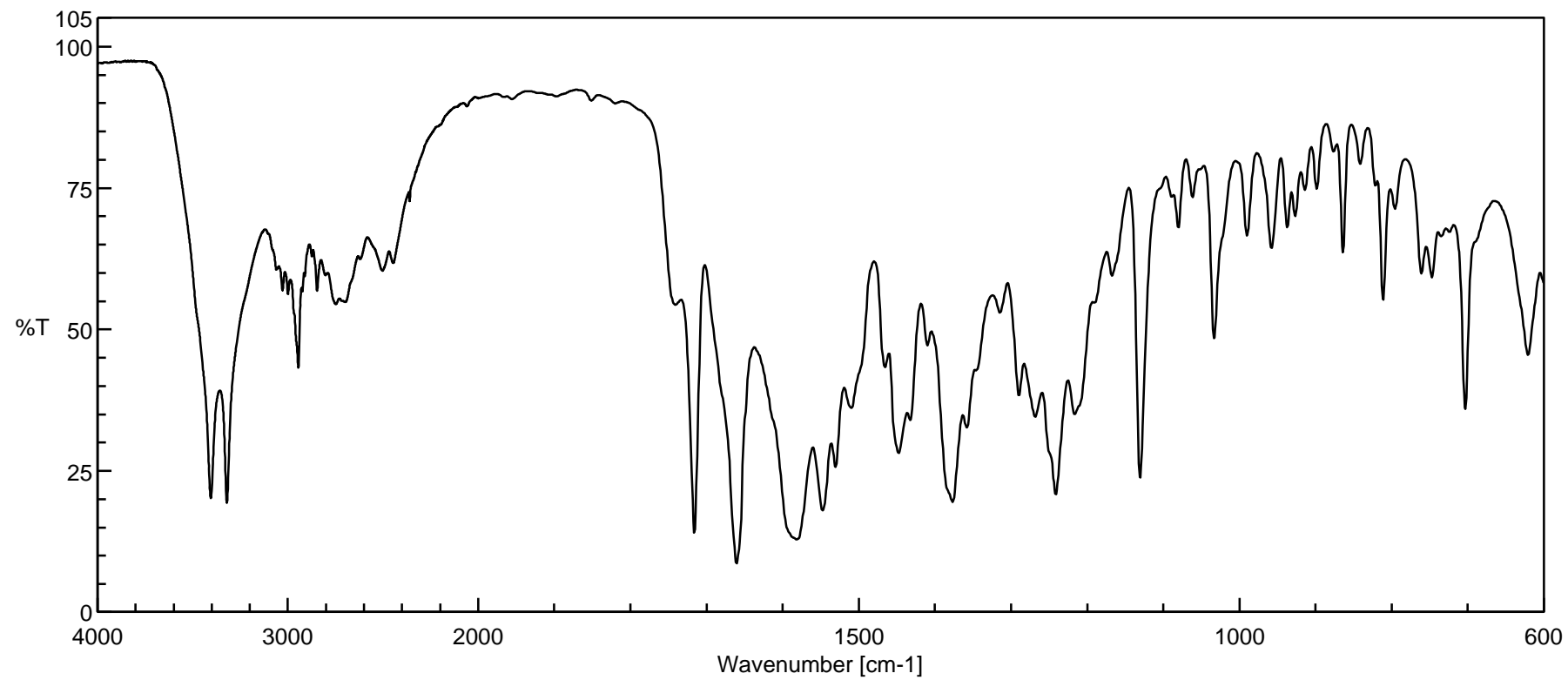
メタンスルホン酸 CH₄O₃S 本品は無～うすい黄褐色の澄明な液体である。

含量 本品は、メタンスルホン酸 98.0%以上を含む。

定量法 本品約 2g を精密に量り、水 40mL に溶かし、1mol/L 水酸化ナトリウムで滴定する (指示薬 プロモチモールブルー試液 2 滴)。別に空試験を行い補正する。

1mol/L 水酸化ナトリウム液 1mL=96.11 CH₄O₃S

アドバンテーム



アドバンテーム規格設定の根拠

アドバンテームは第77回 JECFA 会議において、毒性学的評価、暴露評価及び規格設定の対象となったが、規格については、会議の結果、tentative となった。JECFA 規格が設定されなかったことから、指定要請者により提出された成分規格案（指定要請規格案）を参考に成分規格案を設定した。

含量

指定要請の資料によれば、実生産プロセスで製造した12ロットの含量（無水物換算）が98.4～100.5%であり、ロット間の標準偏差とロット内の標準偏差を合わせた標準偏差より求めた平均値±3σが98.0～101.7%であったことから、含量97.0～102.0%（無水物換算）と規定しており、本規格案ではこれを採用した。

性状

指定要請の資料によれば、実生産プロセスで製造した12ロットの色調及び形状は帯黄白色又は白色の粉末であり、提供を受けた試料は白色であったことから、本規格案では「本品は白色～帯黄白色の粉末である。」とした。

確認試験

指定要請規格案では、確認試験として赤外吸収スペクトル法の臭化カリウム錠剤法が採用されていたことから、同法を採用することとした。なお、水分が設定されていることから、試料の乾燥について検討したところ、乾燥することにより、臭化カリウム錠剤の調製中の吸湿によりスペクトルの再現性が悪くなることから、乾燥は行わないこととした。

純度試験

(1) 比旋光度

指定要請の資料によれば、アドバンテームはアスパルテームを N-アルキル化することにより製造するため、原料のアスパルテーム及びその立体異性体の立体配置が、そのままアドバンテームにも引き継がれると考えられるが、実生産プロセスで製造した12ロット中に類縁物質試験で確認可能な LD (L-α-アスパルチル-D-フェニルアラニン) -アドバンテームは検出されなかった (0.02%未満)。申請法で製造したアドバンテームへの立体異性体の混入量は極めて少ないことから、立体異性体を別に管理する必要はないと判断し、立体配置を確認する方法として比旋光度を検討した。実生産プロセスで製造した12ロットの比旋光度（無水物換算）は-41.1～-44.1°であり、ロット間の標準偏差とロット内の標準偏差を合わせた標準偏差を求め、平均値±3σを計算すると、-39.9～-45.9° (平均値-42.9°) であったことから、 $[\alpha]_D^{20}$: -39～-46° (0.2 g, エタノール (99.5), 100 ml, 無水物換

算)」としており、本規格案ではこれを採用した。

(2) 鉛

指定要請規格案では、規格値 Pb として 1.0 μ g/g が設定され、試験法として湿式灰化－原子吸光光度法（電気加熱方式）が採用されていたが、本規格案では、新規指定の甘味料の規格に準じ、試験法として乾式灰化－原子吸光光度法（フレイム方式）を採用し、「Pb として 1.0 μ g/g」を採用した。添加回収試験を行ったところ、回収率は、102 \pm 0.6%と良好であった。

(3) *N*[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L- α -アスパルチル-L-フェニルアラニン

指定要請の資料によれば、*N*[*N*[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L- α -アスパルチル]-L-フェニルアラニン (ANS9801-acid) はアドバンテームの加水分解物であり、25 $^{\circ}$ C/60%RH の安定性試験では 60 ヶ月で 0.09~0.10%、40 $^{\circ}$ C/75%RH では 6 ヶ月で 0.10~0.12%の増加が認められている。一方、ANS9801-acid はアドバンテームの主な代謝物の 1 つであり、アドバンテームを動物（マウス、ラット、イヌ、ウサギ）に投与した場合に大部分が速やかに ANS9801-acid に変換され体内に暴露されることが確認されているため、その毒性はアドバンテームの安全性試験において同時に評価されている。アドバンテームの無毒性量はウサギ出生前発生毒性試験の結果より 500mg/kg/day で、アドバンテームの推定一日摂取量 0.0714 mg/kg/day に比べて大きく、十分な安全域が確保されていると考えられたことから、「*N*[*N*[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L- α -アスパルチル]-L-フェニルアラニンとして 1.0%以下」を設定することとされた。同じアスパルテーム誘導体であるネオテームでも、遊離酸の規格値を設定していることから、本規格案でもこれを採用した。

(4) 他の類縁物質

指定要請の資料によれば、安全性試験に使用したロットの他の類縁物質総量は 0.47~1.27% (ANS9801-acid 換算) であり、ウサギの出生前発生毒性試験から得られた無毒性量 (500mg/kg/day) における他の類縁物質総量 (500mg/kg/day x 0.47% = 2.35mg/kg/day) は、アドバンテームの推定一日摂取量 (0.0714 mg/kg/day) から算出した類縁物質の推定一日摂取量 (0.0714 mg/kg/day x 1.27% = 0.000907mg/kg/day) に比べて大きく、十分な安全域が確保されていると考えられ、この点と含量の規格値を考慮し、他の類縁物質は総量で管理し、「他の類縁物質 1.5%以下」を設定することとされた。同じアスパルテーム誘導体であるネオテームでも、同様の規格値を設定していることから、本規格案でもこれを採用した。

水分

アドバンテームは1水和物であり、理論水分量は3.8%である。指定要請の資料によれば、実生産プロセスで製造した12ロットの水分量は3.8~4.2%であり、ロット間の標準偏差と分析法バリデーションで得られたロット内の標準偏差を合わせた標準偏差を求め、平均値 $\pm 3\sigma$ を計算すると3.5~4.3%であったことから、「5.0%以下」を設定することとされ、本規格案でもこれを採用した。

強熱残分

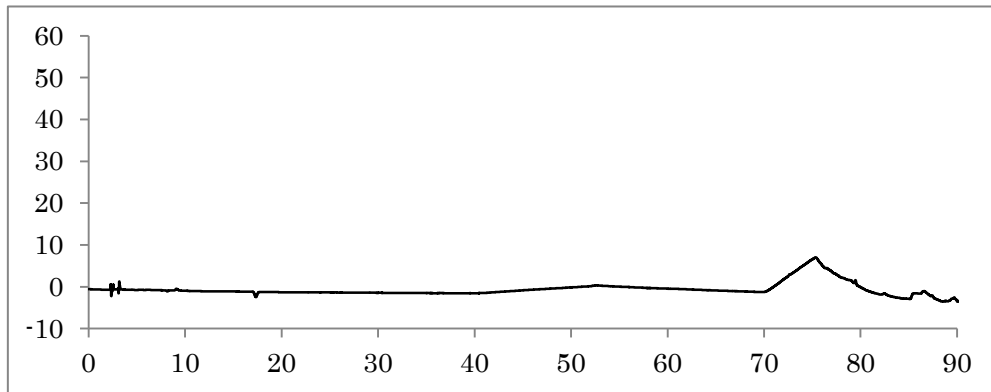
指定要請の資料によれば、実生産プロセスで製造した12ロットの強熱残分0.0~0.1%であったことから、「0.2%以下」を設定することとされ、本規格案でもこれを採用した。

定量法

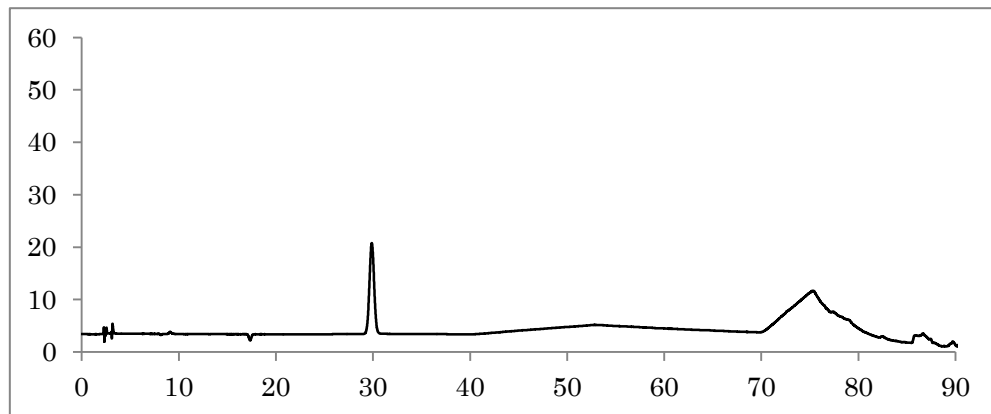
指定要請規格案では、定量法として、純度99.0%以上の定量用アドバンテームを標準物質とし、安息香酸を内標準物質とする、内標準法が設定されていたことから、本規格案でもこれを採用した。なお、分析時間短縮のため、濃度勾配条件を変更した。

純度試験 (3)及び(4)

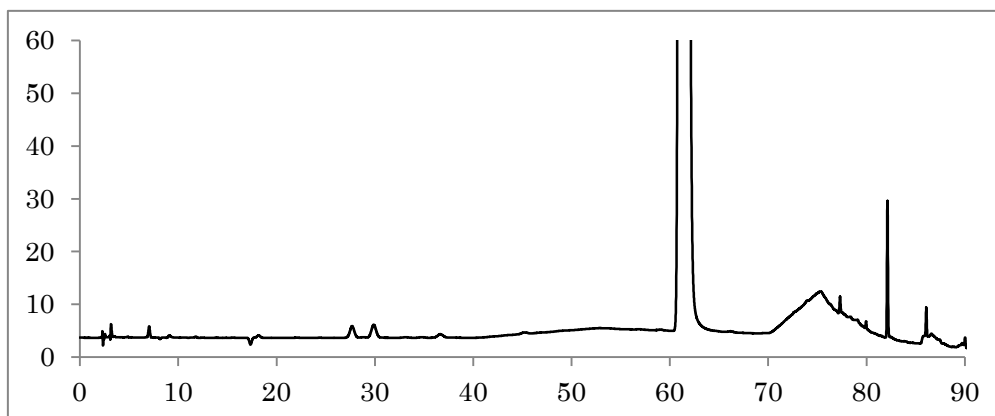
ブランク (水/アセトニトリル混液 (7 : 3))



N-[3-(3 ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L- α -アスパルチル-L-フェニルアラニン

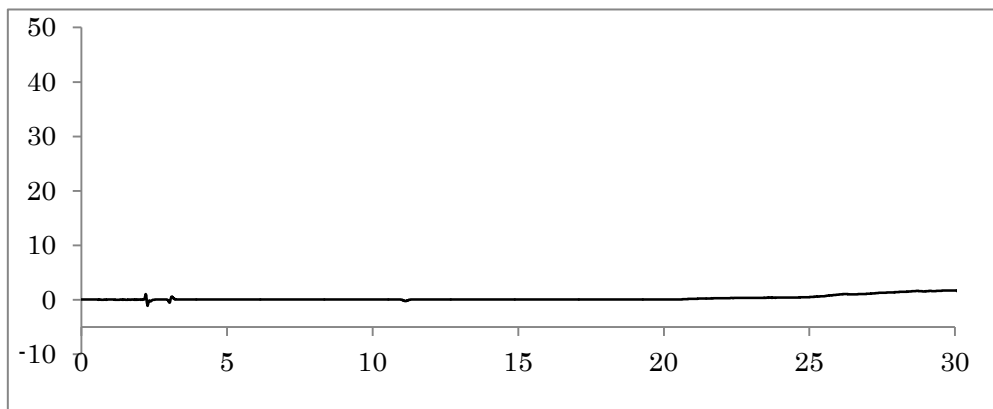


アドバンテーム (食品添加物グレード) 検液

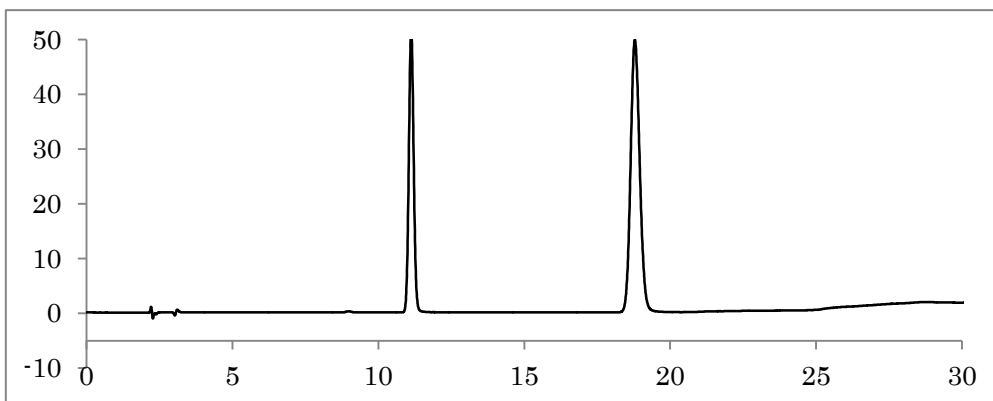


定量法

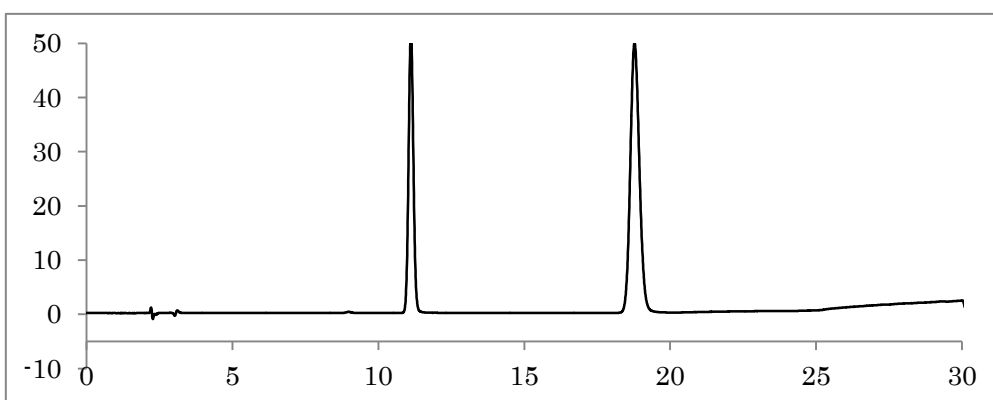
ブランク (水/アセトニトリル混液 (7 : 3))



定量用アドバンテーム



アドバンテーム (食品添加物グレード) 検液



これまでの経緯

平成24年	3月30日	厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに 食品添加物の指定に係る食品健康影響評価を依頼
平成24年	4月5日	第426回食品安全委員会（要請事項説明）
平成24年	6月26日	第107回食品安全委員会添加物専門調査会
平成24年	7月27日	第108回食品安全委員会添加物専門調査会
平成25年	3月27日	第116回食品安全委員会添加物専門調査会
平成25年	5月27日	第425回食品安全委員会（報告）
平成25年	5月28日	食品安全委員会における国民からの意見募集 （～平成25年6月26日）
平成25年	7月30日	第483回食品安全委員会（報告） 食品安全委員会より食品健康影響評価の結果の 通知
平成25年	10月18日	薬事・食品衛生審議会へ諮問
平成25年	10月30日	薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会

●薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会
[委員]

氏名	所属
穂山 浩	国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部長
井手 速雄	東邦大学名誉教授
井部 明広	実践女子大学生活科学部食生活科学科教授
小川 久美子	国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター病理部長
鎌田 洋一	岩手大学農学部共同獣医学科教授
北田 善三	畿央大学健康科学部健康栄養学科長・教授
佐藤 恭子	国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部第一室長
中島 春紫	明治大学農学部農芸化学科教授
堀江 正一	大妻女子大学家政学部食物学科教授
山内 明子	日本生活協同組合連合会執行役員組織推進本部本部長
由田 克士	大阪市立大学大学院生活科学研究科教授
吉成 浩一	東北大学大学院薬学研究科薬物動態学分野准教授
若林 敬二※	静岡県立大学環境科学研究所教授

※部会長