

食安基発0721第1号

平成21年7月21日

内閣府食品安全委員会事務局評価課長 殿

厚生労働省医薬食品局

食品安全部基準審査課長



食品健康影響評価に係る追加資料の提出について

「高濃度にジアシルグリセロールを含む食品の安全性について」については、平成17年9月20日付け厚生労働省発食安第0920001号により、貴委員会に対し食品安全基本法（平成15年法律第48号）第24条第3項の規定に基づく食品健康影響評価を依頼しているところです。

今般、ジアシルグリセロールを高濃度に含有する油（以下、「DAG油」という。）には、3-MCPD エステルが高濃度で含有されている可能性があるとの報告がなされたことから、DAG油の製造者に調査を依頼したところ、3-MCPD エステルとして検出される物質については、グリシドール脂肪酸エステルである可能性が高いとの報告等がなされました。また、グリシドール脂肪酸エステルの安全性に関する情報は限定的であり、当該物質を摂取した際に遊離するグリシドール量については明かではないものの、グリシドールの発がんに関する資料の提供もあわせてなされたことから、別添のとおり提出いたします。

グリシドール脂肪酸エステルに関する資料

1. 3-クロロ-1,2-プロパンジオール、グリシドールおよびそれらの脂肪酸エステルに基づいた安全性に関する見解 (DAG 油製造者)
2. 精製植物油に含まれるグリシドール脂肪酸エステルの検出量評価のための初回推定 (BfR、2009年3月10日付け声明; 仮訳)
3. グリシドール脂肪酸エステルに関する質問と回答 (2009年4月30日付 BfR の FAQ; 仮訳)
4. Toxicology and carcinogenesis studies of Glycidol in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (National Toxicology Program, U. S. Department of Health and Human Services)

3-クロロ-1,2-プロパンジオール、グリシドールおよびそれらの脂肪酸エステル の分析に基づいたK社食用油の安全性に関する見解

2009.7.8

昨今、EU 諸国を中心に、食品中に含まれる微量成分の安全性に関する議論がなされており、その中で食用油に 3-chloro-1,2-propanediol（以下、3-MCPD と略す）、グリシドールおよびそれらの脂肪酸エステルが含まれることが報告されています。K社は、1999 年より DAG を主成分とする調理油(商品名:K社食用油)を厚生労働省許可特定保健用食品として発売しております。

本書には、EUで議論がなされています 3-MCPD、3-MCPD エステル、グリシドール、グリシドールエステルの4つの微量成分の分析と、その結果に基づいたK社食用油の安全性に関する見解を記します。

1. K社食用油に含まれる微量成分の分析

1.1 3-MCPD の分析

K社食用油(以下、K社食用油と略す)および他社製品について 3-MCPDを分析した結果を表1に示しました。分析は、フェニルホウ酸誘導体化法に従い、財団法人日本食品分析センターに依頼しました¹⁾。

表 1. 3-MCPD の濃度(単位は mg/kg)

	3-MCPD
K社食用油	定量下限以下
A社市販油1	定量下限以下
A社市販油2	定量下限以下
B社市販油1	定量下限以下

本分析法の定量下限:0.1 mg/kg

結果:K社食用油中の 3-MCPDは 0.1 mg/kgの定量下限以下でした。

1.2 3-MCPD エステルの分析

3-MCPDと同様に、K社食用油および他社製品について 3-MCPDエステルの分析を行いました。分析は、ドイツの公定法(以下、MCPD-FS分析法と略す)²⁾および塩素元素分析法の2つの方法で実施しました。塩素元素分析は株式会社三菱化学アナリティックに依頼し、燃焼イオンクロマトグラフィーを用いて 3-MCPDエステルの分子内に存在する塩素元素を直接分析しました。塩素元素分析の結果から、分子量換算により、遊離体としての 3-MCPD量を推算しました。

表 2. 3-MCPD エステルの濃度(単位は mg/kg;3-MCPD の遊離体換算)

	MCPD-FS 分析法による 3-MCPD 定量値 ^{*)}	塩素元素分析 ^{**)}	塩素元素分析法による 3-MCPD 推算値 ^{***)}
K社食用油	91.0	定量下限以下	<3.1
A社市販油1	0.5	1.0	3.1
A社市販油2	0.5	定量下限以下	<3.1
B社市販油1	2.0	1.6	5.0

*) 本分析法の定量下限:0.1 mg/kg。**) 本分析法の定量下限:1 mg/kg。***) 3-MCPD (MW=110.5) 中の塩素 (MW=35.5) の含有量は 32%であり、これを用いて換算。塩素元素分析の定量下限が 1 mg/kg であるため、3-MCPD 量を推算した場合の下限は 3.1 mg/kg となる。

結果:K社食用油中の 3-MCPD エステルの量について、MCPD-FS 分析法で測定したところ、高い値 (91.0mg/kg) が認められました。しかし、3-MCPD エステルであれば認められるべき塩素元素が定量下限以下 (1mg/kg 以下) であったことから、K社食用油中には 3-MCPD エステルは少なくとも 3.1mg/kg 以下であることが示されました。この結果は、MCPD-FS 分析法では 3-MCPD エステル以外の成分を検出していることを示唆するものです。

1.3 グリンドールの分析

MCPD-FS 分析法の妨害物質として知られているグリンドールの分析を実施しました²⁾。グリンドールの分析については標準法がありませんが、揮発性化合物を高感度かつ高選択的に分析できる Head Space GC-MS を用いました。

表 3. グリンドールの濃度(単位は mg/kg)

	グリンドール
K社食用油	定量下限以下
A社市販油1	定量下限以下
A社市販油2	定量下限以下
B社市販油1	定量下限以下

本分析法の定量下限:0.1 mg/kg

結果:表 3 に示すようにK社食用油中のグリンドールは 0.1 mg/kg の定量下限以下でした。なお、定量性がない 0.1 mg/kg 以下の定性分析において、極微小なピークが検出されました。

1.4 グリンドールエステルの分析

グリンドールと同様に、MCPD-FS 分析法の妨害物質として知られているグリンドールエステルについても分析を実施しました²⁾。本分析法にも標準的な方法がありませんが、油脂化合物を高感度かつ選択的に分析できる LC-MS (SIM) を用いました。分析の標品は、グリンドールオレイン酸エステルを用いました。

表 4. グリシドールエステルの濃度(単位は mg/kg)

	オレイン酸エステル ^{*)}	リノール酸エステル (推算値) ^{**)}	リノレン酸エステル (推算値) ^{**)}
K社食用油	73	200	100

*) 絶対検量線法、定量下限:2 mg/kg。 **) グリシドールオレイン酸エステルと同等の LC-MS 感度として算出。

結果:表 4 に示すようにK社食用油中には、グリシドールエステルが含まれることが確認されました。この総量は、推定値として 373mg/kgになります。これを 3-MCPD量に換算すると、123 mg/kgとなり、MCPD-FS分析法で測定した値(表2)に近い値になることがわかりました。この結果から、MCPD-FS分析法で検出された物質は、グリシドールエステルであると結論しました。

1.5 K社食用油中の微量成分の分析のまとめ

以上の微量成分の分析結果から、K社食用油には、グリシドールエステルが含まれていることがわかりました。3-MCPD、3-MCPD エステル、グリシドールは定量下限以下でした。

2. グリシドールエステルについて

分析の結果、グリシドールエステルが含まれることから、グリシドールエステルの安全性情報とこれまでにわかっている生成の原因、低減への取り組みを以下にまとめました。

2.1 グリシドールエステルの安全性情報

グリシドールエステルの安全性に関する文献や研究報告はほとんどなく、これまでに確認できた文献では、グリシドールエステルをマウスに皮下投与した発がん性試験がありました³⁾、IARCのモノグラフでは、この試験の結果ではグリシドールエステルのヒトにおける発がん性は評価できないGroup3 とされています⁴⁾。

EU では、グリシドールエステルの安全性が議論されはじめたことから、最新の安全性情報の収集を続けてまいります。

2.2 グリシドールエステル生成の原因

K社食用油製造の各工程において、MCPD-FS 量を測定したところ、最終工程の脱臭工程において生成することがわかりました。なお、2000年9月に、トレイ脱臭法(245℃、34分)から薄膜脱臭法(270℃、5分)に変更しておりますが、MCPD-FS 量を検証した結果、トレイ脱臭法では 77mg/kg、薄膜脱臭法では 72mg/kg であり、脱臭工程変更による違いは認められませんでした。

2.3 グリシドールエステル低減の取り組みについて

これまでのラボスケールの検討では、DAG 脱臭工程の後に蒸留することで、グリシドールエステルを低減できる可能性が示唆されました。今後は、グリシドールエステルを低減すべく工業生産規模での検討を鋭意進めてまいります。

3. DAG の安全性試験

これまでに DAG を用いて以下に示す各種安全性試験を実施しており、世界的に標準とされる発がん試験を含むすべての試験において安全性上の懸念は認められておりません(表5)。これらの中には、脱臭工程を変更した 2000 年 9 月以前の製品を使用した試験が含まれますが、上述のように脱臭工程の変更前後で MCPD-FS 量に変化はないことを確認しております。

表 5 K社で実施したDAGの各種安全性試験⁵⁾

項目	試験名(投与期間)	試験結果		
		DAG 最大摂取量 (体重 1kg あたり)		結果
急性毒性	ラット単回投与毒性	15g/kg		影響なし
変異原性	Ames 試験	in vitro 試験		陰性
	染色体異常試験	in vitro 試験		陰性
	小核試験	2g/kg		陰性
反復毒性		♂ (mg/kg)	♀ (mg/kg)	
	ラット亜急性毒性試験(28日)	3250	3550	毒性影響なし
	ラット亜急性毒性試験(90日)	3178	3835	毒性影響なし
	ラット慢性毒性試験(2年)	1770	2350	毒性影響なし
	イヌ慢性毒性試験(1年)	2541	2300	毒性影響なし
	ラット発癌性試験(一生涯)	1982 ^{*)} 1946 ^{**)}	2645 ^{*)} 2507 ^{**)}	毒性影響なし 発がん性なし
	マウス発癌性試験(一生涯)	7412	9796	毒性影響なし 発がん性なし
生殖毒性	催奇形性(器官形成期)		4630	催奇形性なし
	2世代生殖毒性(親, 子世 2 世代通して)	4630	4630	次世代影響なし

*) 制限給餌、**) 自由摂取

4. K社食用油の安全性に関する見解

3-MCPD、グリシドールおよびそれらの脂肪酸エステル⁴⁾の4つの微量成分についてK社食用油の分析を実施したところ、グリシドールエステルが含まれることがわかりましたが、K社食用油およびその主成分である DAG については世界的に標準とされる試験法を含む多くの試験で安全が確認されており、安全性については問題ないと考えております。グリシドールエステルについては現時点までの情報からは安全性への懸念を明確に示す報告はありませんが、K社食用油の成分として意図するものではないことから、その低減に取り組んでまいります。

引用文献

- 1) 牛島香代子ほか、3-クロロ-1,2-プロパンジオールのフェニルホウ産誘導体化法による分析, 食衛誌, 36, 360-364 (1994)
- 2) Ester-bound 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD esters) and 3-MCPD forming substances

Determination in fats and oils by GC-MS, In DGF Standard Methods Section C-Fats C-III 18

(09) . [www.dgfett.de/methods/c_iii_18\(09\)_e_3mcpd_ester.pdf](http://www.dgfett.de/methods/c_iii_18(09)_e_3mcpd_ester.pdf)

- 3) Swern D., et al, Investigation of fatty acids and derivatives for carcinogenic activity, *Cancer Research*, 30, 1037-1046 (1970).
- 4) IARC Monograph Volume 11, Glycidyl oleate, Glycidyl stearate (1976).
- 5) Morita, O., et al., Safety assessment of diacylglycerol oil as an edible oil: A review of the published literature, *Food and Chemical Toxicology*, 47, 9-21 (2009).

精製植物脂に含まれるグリシドール脂肪酸エステルの検出量評価のための初回推定

BfR（連邦リスク評価研究所）の2009年3月10日付け声明 No. 007/2009

シュトゥットガルト化学獣医学検査局（CVUA）が、パーム油ベースの精製植物脂からグリシドール脂肪酸エステルを検出した。しかし、現時点で利用可能な分析方法では精確な量は測定できず、推定されるだけである。しかも、人間の場合では、消化のあいだにグリシドール脂肪酸エステルからどの程度の量のグリシドールが遊離するかも知られていない。動物実験からの知識によると、グリシドールは人間に対し発癌危険性があると分類付けされる。

このような重大な危険可能性があることや、マーガリンおよび乳幼児用ミルクなどの製品に精製食用脂が使用されていることから、BfRはCVUAの所見を重く受け止め、検出されたエステル結合グリシドールが健康リスク因子であるかどうかを評価するため初めて推定所見を出している。この推定では、グリシドールは消化のあいだ脂肪酸エステルから完全に遊離し、体内に行き渡るという「最悪のケース」を前提している。これ迄のところ、植物脂中のグリシドール脂肪酸エステルについては、精確な含有量として確実な測定結果は出ていないので、BfRは、食用脂1kgには1mgのグリシドールが含まれるという仮説から出発している。

BfRはこの計算基礎の上に立って、人工的な乳児用ミルクしか与えられない乳児は、健康上憂慮すべき量のグリシドールを摂取していることになるとの結論を出している。したがって、乳児用ミルク製品のメーカーは、用心のため、これらの製品中のグリシドール脂肪酸エステル含量をできる限り下げようとする努力をなすべきである。なにしろ、非授乳幼児にとっては、目下のところ、精製脂を含む乳児用ミルク製品に代るものがないからである。これら製品には乳児にとっては発育に不可欠な栄養分が含まれているので、BfRは非授乳幼児の親には、製品に上記事情があっても続けて使用することを勧めている。信頼の置けるリスク評価のための確立した検証データを得るには、グリシドール脂肪酸エステルに適した検出方法の開発およびバリデーションが緊急を要すると、BfRは見なしている。さらに、人体中におけるグリシドール脂肪酸エステルのグリシドールへの転換に関する研究も同様に不可欠である。

精製植物脂におけるグリシドール脂肪酸エステルの検出が、この脂肪中に同じく存在する3-MCPD脂肪酸エステルのリスク評価のための基本的確認事項に影響を及ぼすことは現時点ではない。

1. 評価の対象

近年、精製食用脂およびそれより製造された食品の中に 3-モノクロルプロパンジオール (3-MCPD) 脂肪酸エステルが検出されたが、連邦リスク評価研究所はそれを健康の観点から評価した (BfR 2007)。

2009 年 1 月 26 日付け公布により、これに関してシュトゥットガルト化学獣医学検査局 (CVUA) の新たな認識が BfR に伝わった。それによると、精製パーム油では 3-MCPD のエステルのほかにかなりな量 (1 桁の ppm 領域) のグリシドール脂肪酸エステルが直接検出された¹。グリシドールは、国際的には、人間に対し発癌危険性があると分類付けされる。これ迄に得られた数少ないデータが、品質上バリデーションされていない方法によって求められたものであっても、BfR はグリシドールの持つ重大なリスク可能性を鑑み、上記の所見を当問題について行う初回推定のきっかけとした。

BfR には、それに加え、3-MCPD 脂肪酸エステルに対する従来のリスク評価が今後も有効なのか、あるいは新たな認識を基に修正する必要があるのかについて、意見表明が求められている。

2. 結果

シュトゥットガルト CVUA によって報告された分析結果は、精製食用脂中にはグリシドール脂肪酸エステルが存在するとの従来の推定を裏付けるものであった。しかし、現時点では根拠付けされた暴露査定は不可能である。それには、乳児用ミルク製品に使用される脂肪を含め、関連する

¹ その間 2009 年 2 月 19/20 日に、健康面からの食品評価のための DFG 評議委員会 (SKLM) の会議で農林食品省 (バーデン・ヴュルテムベルク) よりシュトゥットガルト CVUA の新たなデータが紹介され、解説された。

「エステル結合したグリシドールの定量測定は、バリデーションされた測定法がないことから、目下のところ限られた範囲でしか可能でない。しかし、示差法によればグリシジルエステルの含有量を推定することが可能である。初回の検査結果 (表参照) が示すように、脂肪酸に結合したグリシドールの量は 1 桁の ppm 領域内で変動している。

母体 (数量)	3-MCPD エステル (*)	グリシジルエステル (*)
パーム油		
オリーブ油		
ひまわり油		
菜種油		
大豆油		
アザミ油		
トウモロコシ胚芽油		

(*) 3-MCPD またはグリシドールとして計算。

上記のデータは、ラボで新たに開発した方法による最初の測定結果である。バリデーションされて、その他装置で確認された分析結果も、マーガリンなどの合成食用脂および乳児用ミルク製品についてのデータも揃っていない。したがって、現時点では上記のデータによって具体的な暴露査定を行うことはできない。大まかな暫定的推定には、BfR は項目 3.4.5 に示すように、グリシドールの想定含量としては 1mg/kg 脂肪を基本にしている。

すべての精製食用脂におけるグリシドール脂肪酸エステルについて確立した定量測定が必要になる。その目的の達成には、然るべき分析方法の開発およびバリデーションが緊急課題である。

3-MCPD 脂肪酸エステルリスク評価に関する BfR の基本的確認事項（2007）は、今後も有効性を持つ。しかし、現在得られている結果を基本にすれば、グリシドール脂肪酸エステルおよび 3-MCPD 脂肪酸エステル用の分析方法の確立およびバリデーションの後には暴露査定を下方修正しなければならないことも起こり得よう。しかしこれ迄の認識に基づけば、大まかには、それ程大きな修正は必要ないこと、および非授乳児における乳製品の体内消費による 1 日当りの許容摂取量（TDI）の超過が依然続くことは現時点でも言うことができる。

3-MCPD 脂肪酸エステルについてのリスク評価とは関係なしに、精製食用脂中のグリシドール脂肪酸エステルリスク評価も必要である。グリシドールは、国際癌研究機関（IARC）によって「人間に対し発癌危険性あり」（2A 群）と分類付けされた遺伝子毒性の発癌物質である。グリシドール脂肪酸エステルについての毒物学研究データは存在しない。したがって、グリシドール脂肪酸エステルは経口摂取後体内でグリシドールへ加水分解されるのかどうか、されるとすればどの程度なのかも分かっていない。現時点では最悪ケースを仮定して、完全な加水分解状態からスタートしなければならない。幼児用ミルク製品中のグリシドール含量を 1mg/kg 脂肪と仮定すれば、暴露マージン（MoE）の概算では、その値は非授乳幼児に対しては 10,000 を明かに下回り、したがって危険、あるいは健康上躊躇すべきと判定されることになる。その場合、経口摂取されたグリシドールまたはグリシドール脂肪酸エステルのうち、胃内の塩酸によって 3-MCPD または 3-MCPD 脂肪酸エステルへ変換される割合は、人間とげっ歯動物間で比較可能であると前提している。

シュトウツガルト CVUA によって指定された 1 桁 ppm 領域の濃度が、バリデーションされた方法およびその他装置による測定で確認すべきであるなら、ALARA=As Low As Reasonably Achievable（合理的に達成可能な限りの低濃度）原理に従って、精製植物性食用脂中のグリシドール脂肪酸エステル量を可能な限り下げることがあらゆる努力を行わねばならないだろう。このことは特に、乳児用ミルク製品の製造に使用される脂肪に当てはまる。

3. 根拠付け

3.1 シュトウツガルト CVUA の分析結果

シュトウツガルト CVUA は、パーム油ベースの 4 種類の植物脂において、これ迄その存在が論

議されてきたグリシドール脂肪酸エステルを検出した。BfR の知るところでは、このパーム油脂は、AG Analytik の委託を受けて BfR が精製食用脂に対して行った 3-MCPD 脂肪酸エステルのリングテストの結果に基づき、つまりその際得られた 3-MCPD 含量に関し、方法に依存して非常に大きな差異が観察されたことから選択されたものである (BfR 2008a、2008b)。その差異について考えられる原因としては、前記精製油脂中のグリシドール脂肪酸エステルの存在が論議された。グリシドールが食用脂中に非結合形態で存在しているか否かについては、これ迄知られていない。予期されたとおり、シュトゥットガルト CVUA の試験では非処理油 (天然オリーブ油、パーム原油) にはグリシドール脂肪酸エステルは検出されなかった。

シュトゥットガルト CVUA からの書簡に記載された事項以外は、BfR には、その他精製食用脂中のグリシドール脂肪酸エステルの検出に関するデータは提出されなかった。グリシドール脂肪酸エステルの明確な同定および定量化を後付けで証明する資料は、BfR にはこれ迄提示されたことがない。

確実な暴露査定には、当該食用脂中のグリシドール脂肪酸エステルに対し確立した定量測定が必要である。それには、分析法の緊急な開発が要望されている。非授乳幼児に対しては特別な検証事情があるため (下記説明および 3-MCPD 脂肪酸エステルに関するレポート BfR 2007 参照)、特に乳児用食品の分析研究は重要である。

3.2 3-MCPD 脂肪酸エステルに関するこれ迄のリスク評価

BfR (2007) によって実施された 3-MCPD 脂肪酸のリスク評価は、危険可能性および TDI 値に関しては今後も有効性を維持する。しかし、暴露査定について注意すべきことであるが、3-MCPD 脂肪酸エステルの測定のためのリングテスト (BfR 2008a、2008b) の場合、何種類かの脂肪では適用分析法の如何によっては 3-MCPD 含量の測定値が高くなり過ぎることがあった。特にパーム油ベースの精製硬質脂肪の分析では、シュトゥットガルト CVUA によって開発された方法により所見の体系的確認が行われた。

3-MCPD 脂肪酸エステルの分析測定には、目下 BfR にて方法の最適化が行われている。確立された結果がないので、精製食用脂中の 3-MCPD 脂肪酸エステルに対する暴露査定の確認作業は行うことができない。これ迄の認識に基づけば、大まかには、暴露査定については比較的大きな下方修正は必要ないこと、および非授乳児においては乳児用ミルク製品の体内消費による TDI 値の超過が依然続くことは確言できる。したがって、精製食用脂中の 3-MCPD 脂肪酸エステル量を技術的に減少させるための対策への要望は変わらず維持される。

精製食用脂中に相当な量で含まれるグリシドール脂肪酸エステルに関して言えば、この化合物の場合経口摂取後胃の中では塩酸により多量に 3-MCPD 脂肪酸エステルに置換されるということが排除し得ない（下記参照）。そのような 3-MCPD の生成は、検証時に追加事項として考慮する必要がある。胃腸管路で行われるこの反応については、現在のところ確かなことが分かっていないので、この考え方はリスク評価では当面考慮に入れることができない。

精製食用脂中のグリシドール脂肪酸エステルの存在という新たに発現した問題に関しては、グリシドールは固有の危険可能性を有しているので、3-MCPD 脂肪酸エステルに対するリスク評価からは独立した別なリスク評価が必要である。

3.3 エステル結合グリシドールの危険可能性

グリシドール脂肪酸エステルの毒物学データは提供されていない。3-MCPD 脂肪酸エステルのリスク評価（BfR 2007）では、腸通過のあいだにエステル分裂がどの程度の規模で起こり得るかという問題が既に詳細に論じられた。モノエステルおよびジエステルの分裂については、3-MCPD 脂肪酸エステルに関する試験管内データがあるが、当データの生体内環境への転用性が論議された。グリシドール脂肪酸エステルについては、そのような研究はこれ迄実施されなかった。これに関する結果がない以上、以下に行っている計算については最悪ケースを想定して、腸の通過時には完全なエステル分解が起こり、それより遊離したグリシドールは経口摂取されたグリシドールと全く同様にバイオアベイラブルであることを前提している。

3.4 非結合グリシドールの危険可能性

グリシドールは、最近では 2000 年に IARC によって（IARC 2000）、ドイツでは MAK 委員会によって（MAK 2000）毒性評価された。グリシドールは IARC により「人間に対して発癌危険性あり」（2A 群）と分類付けされている。MAK 委員会は、カテゴリー 2（長期動物実験からの十分な量の結果または動物実験と疫学研究での推定事項から、発癌性へ無視できない程度関与していると前提されるため、人間に対して発癌性ありと見なされる物質）への分類付けを行った。ヨーロッパ化学品規制法の一環として、グリシドールは EEC 基準 67/548 の付則 1 にリストアップされている。この付則には CMR 特性（Cancerogen=発癌性、Mutagen=変異原性、Reproduktionstoxisch=生殖毒性）を持つ物質が列挙されている。グリシドールは、発癌性 2、変異原性 2、生殖毒性 2 に分類付けされている

（ヨーロッパ化学品事務局、<http://ecb.jrc.ec.europa.eu/classification-labelling>）。評価状況はこ

のように明確であるため、以下では危険可能性についての主要認識だけを要約する。ただ、MoEの概算のための初期値の決定については、データ状況に詳細に立ち入ることとする。

3.4.1 作用因子

グリシドールは工業界では様々な化学品の合成に使用されている。グリシドールはエポキシド構造なので、代謝活性化を要しないアルキル化特性を有している。

3.4.2 グリシドールの動力学に関する認識事項

^{14}C でマーキングしたグリシドール（用量 37.5 および 75mg/kg 体重）を食道ゾンデによりラットに投与方法で、その動力学が研究された（Nomeir 他、1995 年）。供与した放射能は、72 時間内で、そのうちの 40~42%が尿と共に、10~12%が糞と共に排泄された。投与から 24 時間後でも 72 時間後でも、検査器官のすべてに放射能が検出されたが、これは、マーキングされたグリシドールに由来する放射能が非常によく分布していることを示唆している。様々な器官で検出された放射能は無変化のグリシドールから発しているのではなく、グリシドールのエポキシド基と求核基との反応から生じた物質に起因していることを前提としなければならない。放射能の最高濃度領域は、血液細胞、甲状腺、肝臓、腎臓および脾臓で、最低濃度領域は脂肪組織、骨格筋肉および血漿で計測された。

グリシドールは広範囲に代謝する。 ^{14}C でマーキングしたグリシドールのラットへの経口投与および静脈内投与によると、尿中に 15 種類の代謝基質が検出されたが、その大多数は同定されなかった（Nomeir 他、1995 年）。経口摂取の後には、グリシドールは胃の中で塩酸の作用を受けて一部 3-MCPD に変換されることを想定しなければならない（MAK 2000）。その場合 pH 値の違いにより生物種属間で差の生じることが考えられる²。人間の胃液の pH 値（1.6~4.5）は、マウス（pH3.1~4.5）やラット（pH3.0~5.0）に比べて少なくとも平均すれば低い²が、そのことと、人間においてグリシドールから 3-MCPD への変換率が高くなる可能性との関係は明かになっていない。この変換がグリシドール脂肪酸エステルにおいて一役を担っているのか否かの研究は存在しない。

² 様々な種属の胃液における pH 値の相違一覧は、文書化資料「情報要件および化学品安全性評価に関する基準」の第 R.7.12 章「毒物動力学」の項目 R.7c「最終点の特別基準」から見て取れる。

この文書化資料は ECHA ウェブサイト、

http://guidance.echa.europa.eu/docs/guidance_document/information_requirements_r7c_en.pdf?vers=20_08_08 で閲覧可能である。

グリシドールは、(親電子性の) エポキシド構造を持つので、反応能を持つ求核基と直接反応することができ(例えば、タンパク質および GSH (グルタチオン) からの SH 基との反応、試験管内では DNA との反応も証明されている。Segal 他、1990 年)、あるいはまた、酵素により(エポキシド加水分解酵素の作用下で) または酵素の作用なく、グリセリンの生成下で加水分解させることができる。エポキシド加水分解酵素による触媒作用下でのグリシドールからのグリセリンの生成は、ラットの肝臓、肺のミクロソームによる試験管内インキュベートによって証明された(Patel 他、1990 年)。グリシドールはグルタチオンと接合する。¹⁴C でマーキングしたグリシドールに「ラット肝の可溶性分画」においてグルタチオンによりインキュベートした後には接合体 S-(2,3-ジヒドロキシプロピル)-グルタチオン(放射能の 50~60%) およびグリセリン(放射能の 30~35%) が検出された(Jones、1975 年)。腹膜内でグリシドール処理したラットの場合でも、S-(2,3-ジヒドロキシプロピル)-グルタチオンおよびそれより生成された後続生成物 S-(2,3-ジヒドロキシプロピル)システインが尿中に分析測定可能なレベルで認められた(NTP=国家毒性プログラム 1990 年)。

3.4.3 グリシドールの遺伝子毒性作用および発癌作用

グリシドールは、DNA を直接アルキル化することができ、試験管内での精製 DNA によるインキュベートにおいて付加体を形成する(Segal 他、1990 年)。これがグリシドールにより遺伝子毒性作用を誘発する原因になることがある。グリシドールは原核生物を含む試験管内の被験体に対し、代謝活性化体の添加の有無に係わりなく変異原性作用を示した(Wade 他、1979 年、Thompson 他、1981 年、NTP 1990 年)。グリシドールは、試験管内の様々な哺乳類細胞に対し、殆どの場合では代謝活性化体の添加の有無に係わりなく、広角スペクトルの遺伝子毒性作用(遺伝子変異原性、染色体異常、姉妹染色分体の交換、想定外の DNA 合成)を誘発した(IARC 2000、MAK 2000)。グリシドールは、げっ歯類に対しては生体内でも、すなわち腹膜内への注入後骨髓細胞内にマイクロ核の生成を誘発する作用を示した(NTP 1990 年)。げっ歯類生体内での染色体異常の誘発に関しては出版物が存在し、様々な結果を報告している。例えば、MAK (2000 年) に引用されている Thompson および Gibson のポジティブな結果(1984 年) および IRAC (2000 年) に引用されている Thompson および Hiles のネガティブな結果(1991 年)である。

少量グリシドールの経口長期暴露の場合、癌発生リスクを最も重大な最終点と見なさなければならぬ。これに関しては、マウスとラットに対し食道ゾンデを通じてグリシドールを 2 年に亘り投与して行った、1990 年来の「国家毒性プログラム」(NTP)の研究が特に重要である(NTP 1990)。

雌雄 50 匹ずつの B6C3F₁ マウス群に、それぞれ体重 1kg につき 0 または 25 または 50mg のグリ

シドールを1週間に5日間、計103週間投与した。研究の終了時点では、雌マウスの高用量群は対照群に比べて生存率が著しく低下した。組織検査では、雌雄動物のハーダー腺に著しい腫瘍発生が増大が認められた。雌動物ではその傾向は既に低用量群から顕著であった。雄動物の高用量群では、その上、肝臓の腺腫/癌、前胃および皮膚の扁平上皮乳頭腫、肺の肺胞/気管支腫瘍の発生が著しく高まった。雌動物の高用量群では、この状況は乳腺の腺癌および皮下の肉腫/線維肉腫に当てはまった。

雌雄50匹ずつのFischerラット群に、それぞれ体重1kgにつき0または37.5または75mgのグリシドールを1週間に5日間、計103週間投与した。雌雄動物の両投与群では生存率が著しく低下した。雄動物の両投与処理群に対する組織検査では、鞘膜および腹膜の中皮腫、脳の神経膠腫および特定皮膚腫瘍の発生が増大しているのが認められた。それらのうちの高用量群に限って、前胃、腸、乳腺、甲状腺および皮脂腺における腫瘍発生が増大が著しかった。雌動物の両投与群では、乳腺、前胃および脳に腫瘍発生が増大が認められた。それらのうちの高用量群に限り、陰核腺、口粘膜領域の腫瘍および白血病の発生増大が著しかった。

要約すれば、グリシドールは、経口投与後様々な組織に癌の発生を誘発させ得る遺伝子毒性作用機構を持つ発癌物質と評価付けすることができる。しかし、腎腫瘍は観察されなかった。想定される胃の中での塩酸の作用によるグリシドールから3-MCPDへの変換は、少なくともげっ歯動物では定量的でないのが明らかである。それは、3-MCPDの場合ラットに対しては腎腫瘍を誘起するのがその特徴になっているからである (BfR 2007)。

グリシドールについては、その作用機構からは、毒物学上問題のない安全な閾値またはTDI値を導き出すことは不可能であることが分かる。それに対応して、使用者への暴露をできる限り低く抑えるためにあらゆる努力をしなければならない必要最小限原理 (ALARA 原理) が適用される。

3.4.4 危険可能性の定量化

上段で詳細に説明した、マウスおよびラットによるNTPの研究は量的評価、すなわち基準値としての作用用量の推定および暴露マージン (MoE) の算定に利用することができる。この評価コンセプトを遺伝子毒性発癌物質に適用することは2005年にEFSAによって提案された (EFSA 2005)。MoE値は、人間における暴露用量に対する動物実験での作用用量の比を表わす無次元数である。MoEコンセプトにより、食品中に存在する様々な遺伝子毒性発癌物質のリスク可能性の大きさを比較表示することが試みられている。これは、発癌性作用と用量との関係が異なった物質間で比較できるとの仮定のもとで成り立つことである。

EFSA (2005) によって提案されたコンセプトによれば、動物実験に基づく作用用量の基準値には次の2つのパラメータを算出することができる。

- T25 は、動物の生存期間内に全動物の 25%に当る動物の特定組織に癌を惹き起こす、1 日当りの常用的用量 mg/kg 体重として定義付けされている。この計算では当該組織での自然発生癌の分だけ修正しなければならない。人間に対する癌罹病リスクの程度を低く分類付けできるようにするには、T25 に関連する MoE 値を 25,000 超に設定すべきであろう。
- BMDL 10 は、特定組織に関し、対照動物に比較して 10%高い発癌率に該当する水準のベンチマーク用量であり、その場合 95%信頼性領域の下限が求められる。計算では用量/作用の関係について具体的な数学的モデルを想定しており、それは異なる用量について十分なデータが揃っている場合に限り有意であり可能である。人間に対する癌罹病リスクの程度を僅少と分類付けできるようにするには、BMDL 10 に関連する MoE 値を 10,000 超に設定すべきであろう。

2 種用量による NTP の研究からのデータでは T25 値の測定だけが有用である。雄ラットの場合、最も敏感で重大な現象は鞘膜および腹膜での中皮腫の形成である。この現象を呈したのは対照群では 49 動物のうちの 3 例であったが、用量を 37.5mg グリシドール/kg 体重とした動物群では 50 匹のうちの 34 例がそうであった。なお、ここでは、投与したのは一週間 7 日のうちの 5 日だけであったことを考慮しなければならない。対応の用量修正では、前記データから 1 日当たり 10.2mg/kg 体重の T25 値が算出される。さらに先で説明する MoE 値の計算では、この T25 値は数値的には一日当たり 4.06mg/kg 体重の BMDL 10 値に相当している。BMDL 10 値およびそれより算出される MoE 値は、他の多くの発癌性物質（例えばアクリルアミド）で使用され、これらの物質との比較計算の改善が可能になるので、この換算は有意である。

MoE コンセプトにおける上記基準値の使用では、経口摂取されたグリシドールまたはグリシドール脂肪酸エステルのうち、胃の塩酸によって 3-MCPD または 3-MCPD 脂肪酸エステルへと変換される割合は、人間とげっ歯動物間では比較可能であると前提されている。

3.4.5 グリシドールに対する暴露可能性および暴露マージン (MoE) についての仮説的計算

シュトゥットガルト CVUA によって決定された、精製食用脂中のグリシドール脂肪酸エステル含量は、これ迄バリデーションされた方法で定量測定されたことも、別な装置によって確認されたこともなかった。しかも、これ迄のところ、例えばマーガリンなど調製食用脂のデータは一切存

在しない。したがって、BfR は大まかな暫定的暴露査定では、精製食用脂のグリシドール含量が 1mg/kg であることを前提にしている。

植物性食用脂に対する成人人体の消費データに関するものとして、3-MCPD 脂肪酸エステルに対する BfR の評価 (BfR 2007) では、Robert Koch 研究所の栄養調査 (RKI 2002) からの認識が使用された。女性に比べて多くの脂肪を消費する男性の場合では、1日の脂肪消費量は 20g (第3四分位数) または 80g (最大) と設定された。

これより、グリシドールの仮説的暴露は 1日当り $20\mu\text{g}$ (第3四分位数) または $80\mu\text{g}$ (最大) となり、これは体重 60kg の場合 0.33 または $1.33\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重に相当する。

これらの値から、前章の説明に従って MoE 値として 12,200 または 3,050 (計算基準値=BMDL 10) が算出される。MoE 値が 10,000 超であれば、その時の発癌リスクはむしろ低いほうに分類付けされる (EFSA 2005、BfR 2005)。これは、男性が精製植物脂を 1日当り 20g 消費する場合に相当しよう。1日当りの脂肪消費量が 80g と高ければ、算出 MoE 値は 3,050 で、より高いリスクを伴っている。

3.4.5.1 非授乳幼児の状況

非授乳幼児にとっては、生後数週間、数ヶ月のあいだは、個別成分から工業的に製造された幼児用ミルク製品が頼りである。それらの脂肪成分としては精製植物脂の使用されることが圧倒的に多い。非授乳幼児は、生後数ヶ月の間は高いエネルギー需要と急速な成長により、体重当りでは成人より明かに高い脂肪需要 (誕生から間もない時点では最大約 $6\text{g}/\text{kg}$ 体重) を示し、現状ではその大部分が精製植物脂でカバーされている。幼児用ミルク製品は、様々な植物油の組み合わせで母乳に比較可能な脂肪酸分布状態になっている。その場合脂質源としては、なかでもひまわり油、菜種油 (カノーラ油)、サフロール油、亜麻仁油、ココ椰子油、胡桃油、大豆油、パーム油およびパーム核油が用いられる (Ptok 他、2006 年)。

幼児用ミルク製品の脂肪についても同様に、グリシドール含量 $1\text{mg}/\text{kg}$ 体重に相当するとの仮説を立てれば、生後間もない乳児の最大負荷はグリシドール暴露量 $6\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重で、MoE 値にして 670 という結果になる。この値はアクリルアミドに対する MoE 値レベルになる (暴露査定の如何により 130~760 の範囲。O'Brian 他、2006 年、計算基準値=BMDL 10)。

立てられた仮説 (グリシドール含量 $1\text{mg}/\text{kg}$ に相当、エステル結合からの完全遊離) のもとでの上記の結果は、非授乳児における発癌リスクの増大懸念を根拠付けることになる。但し、MoE

コンセプトに基づくリスク比較は生涯の暴露を対象とするが、非授乳児が受ける高い暴露は生後比較的短い期間についてのものであることに注意しなければならない。他方、子供への発癌作用の可能性を鑑みた場合、発癌作用の可能性を持つ物質に対しては暴露回避の可能性があるようなら、基本的には非常に厳しい基準を設けるべきである。

より詳しい観察には、この場合もやはり、幼児用ミルク製品に含まれるグリシドール脂肪酸エステル量の定量分析が必要である。しかし、現時点からでも、少なくとも 10,000 という MoE 値の予備設定下で、乳児用ミルク製品に使用される脂肪のグリシドールとしての含有量が 0.067mg/kg を超えないように確保することは可能である。新たに開発される分析法は、感度がこの領域をカバーできなければならない。含有量がこれを超える場合には、3-MCPD 脂肪酸エステルの評価のところで既に確認したように (BfR 2007)、引き下げのためにあらゆる努力をなすべきであろう。この場合、非授乳幼児に対しては目下のところ代替栄養食品が存在しない。

3.5 行動の必要性および行動の選択

3.5.1 分析法の開発

精製食用油脂に含まれるグリシドールまたはその脂肪酸エステルの定量測定のための然るべき分析法の開発およびバリデーションには、研究の緊急実施の必要性が指摘される。

3.5.2 毒物学的研究の必要性

動力学的観点からの解明には、グリシドール脂肪酸エステルからのグリシドールのバイオアベイラビリティ（例えば、加水分解の完全性、胃内での 3-MCPD への置換の pH 依存性）に関する実験的研究が不可欠である。

3.5.3 含有量の縮減

植物性食用脂に含まれるグリシドール脂肪酸エステルを可能な限り減少させるには、ALARA 原則に沿ってあらゆる努力がなされるべきであろう。そのためには、技術的方法の変更および非精製脂との交換可能性を検討すべきであろう。

グリシドール脂肪酸エステルに関する質問と回答

2009年4月30日付 BfR の FAQ (よくある質問のリスト)

バーデン＝ヴュルテンベルク州の監視当局によって、精製植物性食用油の検査の際に、グリシドール脂肪酸エステルが検出されている。これらの脂肪酸エステルの含量は、パーム油において最高であった。消化されると、これらグリシドール脂肪酸エステルからグリシドールが分離してくる可能性がある。グリシドールは、国際的委員会によって、発癌物質として分類されている。精製食用油、とりわけパーム油は、種々の食品に、またとりわけ初期乳児用食品およびその後の使用のための乳児用食品にも、含まれているので、連邦リスク評価研究所 (BfR) は、検出された含量の健康へのありうるリスクの最初の評価を行った。もっとも好ましくないと考えられる場合には、当研究所の見解では、もっぱら産業製品の乳児用食品を与えられている乳児が健康上懸念される量のグリシドールを摂取する可能性を除外できない。それゆえ、製造業者らは、初期乳児用食品およびその後の使用のための乳児用食品中のグリシドール脂肪酸エステルの含量を最低限に抑えるべく大いに努力すべきである。授乳を受けていない乳児らのためのこれらの製品はなお生命に不可欠なものであり、生命に不可欠な栄養素を含有しているから、BfR は、両親らに、いかなる場合にもそれらを使用し続けるよう勧告する。

グリシドール脂肪酸エステルとは？

食品中の脂肪はグリセリントリ脂肪酸エステルである。グリセリン分子は3つの結合部位のそれぞれを介して脂肪酸に結合している。グリセリンとは異なり、グリシドールでは、それらの結合部位の2つが1個の酸素原子によって架橋されており、そのため、1つの結合部位のみが遊離のものであり、そこに1個の脂肪酸が結合する。それゆえ、これらのグリシドール脂肪酸エステルは脂肪と構造上近縁の化合物である。

グリシドール脂肪酸エステルはどのようにして生成するのか？

グリシドール脂肪酸エステルは植物性油脂の精製の際に生成する。この方法は、植物性原料から飲食に適する食用油を製造するために何十年も前から用いられている；その際に、たとえば不快な、また苦味のある臭気物質および味覚物質が除去される。精製プロ

セス（熱処理、脱臭）の条件下で、これらの脂肪分子から水および2個の脂肪酸残基が分離して、とりわけグリシドール脂肪酸エステルが生成する。従来用いられてきた精製プロセス以外の、グリシドール脂肪酸エステルが生成しないプロセスがあるのかどうか、BfR は知らない。ここでは、製造業者らに、当該物質が精製植物性油脂から除去あるいは完全に消去されるような方法を探求し、ないしは現行の方法をそのようにさらに発展させることを求める。未精製油脂中には、グリシドール脂肪酸エステルは存在しない。

どのような食品中にグリシドール脂肪酸エステルが含まれている可能性があるか？

グリシドール脂肪酸エステルは、原則的には、精製植物性油脂を含有するすべての食品に含まれている可能性がある。初期およびその後の乳児食もそれらの食品に属する。これまででもっとも高い含量が測定されたのはパーム油である。パーム油分の高い食品もきわめて高いグリシドール脂肪酸エステル含量を示すと推定できる。しかし、BfR は、精製油脂を用いて製造された食品中のグリシドール脂肪酸エステル含量に関する試験結果をいまだ持合わせていない。現在、グリシドール脂肪酸エステルの含量を精密に測定できる信頼性ある測定方法を求めて研究が行なわれているところである。

グリシドール脂肪酸エステルからはどのような健康上のリスクが生じるのか？

グリシドール脂肪酸エステルは、消化されると、分解されて、グリシドールを遊離する可能性がある。グリシドールは、いくつかの学識者委員会（IARC、MAK 委員会）によって遺伝毒性的に発癌性であるものとして分類されている。遺伝毒性的発癌性物質については、安全摂取量を定めることができない。もっとも、体内でのグリシドール脂肪酸エステルからのグリシドールの解裂がどの程度に起こるのかは、未知である。BfR は、不十分なデータに基づいたその最初の暫定的評価では、人体によって取り込まれたグリシドール脂肪酸エステルが100%分解され、それによりグリシドールが全部遊離されるという前提から出発している。すなわち、BfR は、もっとも好ましくないと考えられる場合から出発している（ワーストケースの考察）。

授乳せずに、産業的に製造された乳児用ミルクで乳児を育てている母らはどのような態度をとるべきか？

乳児用ミルク（初期用およびその後のためのミルク）は、組成上、生後数か月間の乳児の特別な要求に適合したものである。それらは、栄養素必要量に関する現在の科学的知識に従って個々の成分から調製されている。脂肪分としては、ずっと前から、精製植物性脂肪が用いられている。これらの脂肪中にグリシドール脂肪酸エステルが検出されたゆえに、乳児用ミルク中にこれらの化合物が存在するという前提からも出発すべきである；BfR は、乳児用ミルク中のグリシドール脂肪酸エステルの含量に関する測定結果をいまだ持合わせていない。しかし、この予想されている心配事は新たに発生したのではなく、すでに数十年来存在していたように思われる。その限りでは、新しい事態があるわけではない：授乳を受けていない乳児にとっては、産業製品の乳児用ミルクの代替品はない。授乳を受けることができないときには、それによってのみ最適の栄養を確保できる。それゆえ、BfR は、両親らに、乳児用に特別に製造された製品を彼らの乳児らにこれまで通り与えるよう強く推奨する；これらの製品は乳児の生命に不可欠な栄養素を含有しているからである。

NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM
Technical Report Series
No. 374



TOXICOLOGY AND CARCINOGENESIS
STUDIES OF
GLYCIDOL
(CAS NO. 556-52-5)
IN F344/N RATS AND B6C3F₁ MICE
(GAVAGE STUDIES)

U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES
Public Health Service
National Institutes of Health