

## 指 摘 - 2

### 2-1.

エコナクッキングオイルを多量に摂取した時に大腸に到達し、さらには、糞便中に排出される脂肪分の総量、ジアシルグリセロール組成(1,2-体、と1,3-体の組成比)を検討すること。

### 2-2.

ジアシルグリセロールによるプロテインキナーゼC(PKC)の活性化を介して起こると考えられる以下の現象につき考察すること。

- ・大腸ポリープの選択的刺激
- ・発ガンプロモーターとしての作用
- ・発ガンへの関与が示唆されているiNOSの発現誘導
- ・PKC活性化を介したインスリン抵抗性の誘導

## 回 答 - 2 - 1.

エコナクッキングオイルを多量に摂取した際の糞便中の脂肪分の総量、ジアシルグリセロール組成(1,2-体、と1,3-体の組成比)に関しては、以下の実験により検討し、従来油を摂取した場合と差がないことを確認しました。

### <実験内容>

ラットを用い、エコナクッキングオイルまたは従来油を20wt%含む高脂肪食を2週間与えた後、3日間の糞便の分析を行いました。

その結果、糞便中脂肪分の総量はエコナクッキングオイル摂取群で $0.354 \pm 0.043$ g、従来油摂取群 $0.352 \pm 0.022$ g(平均±標準誤差)と有意な差は認められませんでした。

また、その組成に関するガスクロマトグラフィーによる解析の結果、多くは脂肪酸であり、両群間での組成に顕著な差を認めませんでした。

投与したエコナクッキングオイルまたは従来油の未消化物と思われるジアシルグリセロールは、1,2体、1,3体とも検出限界以下(50ppm以下)でした<sup>2)</sup>。

上記の結果は Morotomi らの報告<sup>3)</sup>(<sup>14</sup>C-ラベル 1,2-DAGをラットの胃に投与した場合、糞便において<sup>14</sup>C-ラベル 1,2-DAGが殆ど認められないことから、食事由来のDAGは大部分が小腸において吸収され、そのままの形で大腸には到達しないことを示唆)とも一致するものです。

以上より、エコナクッキングオイルを多量に摂取した際に、糞便中に排出される脂肪分の総量およびその組成は従来油を摂取した場合と差がなく、1,2-ジアシルグリセロール、1,3-ジアシルグリセロールともに検出されないことを確認しました。

#### 回答 - 2 - 2.

PKCはジアシルグリセロール(DAG)の分子種に対する立体特異性が高く、1,2-DAGにより活性化されますが<sup>4,5,6)</sup>、1,3-DAGでは活性化されないことが一般に認められています<sup>4,6)</sup>。

ヒトの脂質消化酵素が1および3位特異性のリパーゼであることから、従来油(トリアシルグリセロール)を摂取した場合の主な消化産物は1,2-DAGであることが予想され、文献的にも Hamosh ら<sup>7)</sup>、および Mattson ら<sup>8)</sup>は、従来油(トリアシルグリセロール)の摂食により、胃や小腸において1,2-DAGが生成することを報告しています。このことから消化管は通常多量の1,2-DAGに暴露されているものと考えられます。

表2に示すように、エコナクッキングオイルは、従来油に比較して多くの1,2-DAGを含有しますが、下記の理由から、エコナクッキングオイルを摂取した際に、消化管内および小腸上皮細胞での吸収後において(従来油を摂取した場合以上の)PKCの活性化による影響は起こり得ないと考えます。

表 2 エコナクッキングオイル及び市販従来油中のDAG含量

(%)

Sample		TAG	DAG			MAG
商品名	メーカー		DAG	1,2-	1,3-	
エコナクッキングオイル	花王	12.9	86.6	(31.1)	(55.5)	0.5
サラダ油	日清製油	98.3	1.7	(0.6)	(1.1)	0.0
キャノーラ油	日清製油	97.1	2.9	(1.0)	(1.9)	0.0
純正ごま油	日清製油	95.2	4.1	(1.2)	(2.9)	0.8
こめ油	HONEN	92.4	7.6	(2.4)	(5.2)	0.0
PURE Grapeseed Oil	HONEN	94.2	5.8	(2.1)	(3.7)	0.0
コーン油胚芽100	味の素	95.5	4.5	(1.5)	(2.9)	0.0
米胚芽油	吉原製油	91.2	8.8	(2.7)	(6.1)	0.0
純正ごま油	かどや	95.5	3.9	(1.2)	(2.7)	0.6

(花王調べ)

- (1) ラットを用い、エコナクッキングオイルまたは従来油を 10wt% 含む高脂肪食を 9 日間与えた後、一晩絶食後、各試験油 10wt% 含む高脂肪食を摂食させ、摂食 1 時間、2 時間、および 5 時間後の胃内および小腸内の脂質組成を分析しました。

その結果、胃(図 2)および小腸(図 3)の何れの時間においても、エコナクッキングオイル摂取時と従来油摂取時で、1,2-DAG 量に有意な差を認めませんでした<sup>9,10)</sup>。

このことから、エコナクッキングオイルを摂取した際にも、PKC の活性化に関与する可能性がある 1,2-DAG の消化管内の量は、従来油(トリアシルグリセロール)を摂取した時以上には増加しないと判断されます。

- (2) 以下の 1)~3) の実験と報告より、エコナクッキングオイルを摂取した際に、従来油を摂取した際に比べて、1,2-DAG の体内への吸収量が増加することはないと判断されます。

- 1) ラットを用い、エコナクッキングオイルまたは従来油を 10wt% 含む高脂肪食を 9 日間与えた後、一晩絶食後、各試験油を 10wt% 含む高脂肪食を摂食させ、摂食 1 時間、2 時間、および 5 時間後に腹大動脈より採血を行い、血液中の脂質組成を分析しました。

その結果、エコナクッキングオイルまたは従来油の摂食により、両者

の間で血中 1,2-DAG 量に有意な差を認めず(図 4)、その絶対量も血中中性脂肪 (TAG) 量の数十分の 1 程度と極めて微量でした<sup>11)</sup>。

2) ラットに 100mg の放射標識したジオレイン (DAG) またはトリオレイン (TAG) を含むエマルジョンを胃内に投与した後、経時的に胸管リンパ液を回収しました。

胸管リンパ液中の 1,2-DAG のラベル量を測定した結果、DAG 摂取群は TAG 摂取群と比べ、摂取 1 時間後において有意に低い値を示し、それ以後は両群で有意な差は認められませんでした<sup>12)</sup>。

3) 細胞の外から来た長鎖脂肪酸の DAG (エコナクッキングオイル中の DAG は、これに相当します) は細胞に入りにくいと報告されています<sup>13)</sup>。

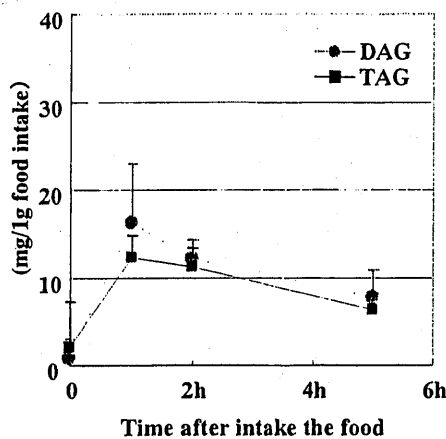


図 2 DAG または TAG 摂食後の胃内容物中 1,2-DAG 量

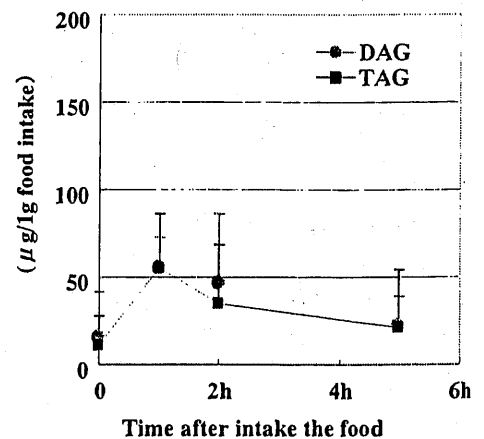


図 3 DAG または TAG 摂食後の小腸内容物中 1,2-DAG 量

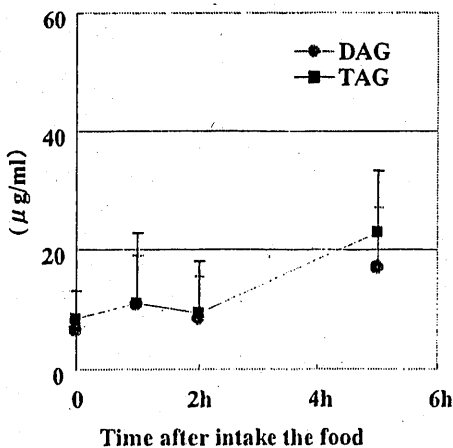


図 4 DAG または TAG 摂食後の血清中 1,2-DAG 量

iNOSと発ガンの関連に関しては、Hiroseらの論文<sup>14)</sup>に、

- ①1,2-DAGによるPKCの活性化が大腸細胞の増殖を促すこと。
- ②PKCの活性化がiNOSを誘導している可能性があること。
- ③iNOSの誘導によるNOの過剰発現が、DNAへのダメージ等を通して発ガンに関与している可能性があること。

が述べられていますが、上述のように、エコナクッキングオイルを摂取した際に、消化管内および血液中において1,2-DAGが上昇する事実はないことから、iNOSを誘導する可能性はないと考えます。

以上より、エコナクッキングオイルを摂取した際に、従来油以上に消化管内および吸収後において1,2-DAG量の上昇はなく、PKCの活性化による影響は従来油同様に起こり得ないと考えます。

従って、PKCの活性化を介して起こる以下の現象に関する懸念は全くないものと考えます。

- ・大腸ポリープの選択的刺激
- ・発ガンプロモーターとしての作用
- ・発ガンへの関与が示唆されているiNOSの発現誘導
- ・PKC活性化を介したインスリン抵抗性の誘導

さらに、エコナクッキングオイルにつきましては、現在までに社外第三者機関において以下の各試験を行い、安全性を確認し、報告しています。

1) 変異原性試験：

- ①細菌を用いる復帰突然変異試験<sup>15)</sup>(GLP)
- ②哺乳類の培養細胞を用いる染色体異常試験<sup>16)</sup>(GLP)
- ③マウスを用いる小核試験<sup>17)</sup>(GLP)

2) 急性毒性試験：

- ①ラット単回経口投与毒性試験<sup>18)</sup>(GLP)

3) 反復投与毒性試験：

- ①ラット28日間反復投与毒性試験<sup>19)</sup>(GLP)
- ②幼若イヌを用いた1年間混餌投与毒性試験<sup>20)</sup>(GLP)

③ ラットを用いた長期栄養試験<sup>21)</sup>(2年間混餌投与)

今回さらに、GLPに対応した、2年間にわたるガン原性試験が終了し、その結果が得られましたので報告します。

4) 2年間ガン原性試験<sup>22)</sup>

別紙-2の試験方法に従い、ジアシルグリセロールのラット2年間ガン原性試験を実施しました。

その結果、ジアシルグリセロールを混餌投与にて最大2645.1mg/kg/dayの用量で約2年間投与しましたが、ジアシルグリセロール投与に起因する一般毒性学的な変化およびガン原性は認められませんでした。

別紙-2に試験方法および結果の概略を示します。

既に報告した、変異原性試験、急性毒性試験、反復投与毒性試験、および、今回新たに報告した反復投与毒性試験(2年間ガン原性試験)の結果、何れの試験においても、エコナクッキングオイルの安全性について問題となる結果は得られていません。

以上より、エコナクッキングオイルに関する現在までの検討で、安全性上問題となる点はまったく無いものと考えます。

## 指摘 - 5

エコナクッキングオイルのトランス酸の生成をできる限り減らす企業努力をすること。また、その安全性について説明すること。

## 回答 - 5

### 1. トランス酸量の低減について

エコナクッキングオイルのトランス酸量は、一般の食用油（3%以下）より高く、約5%です（表3）。

食用油に含まれるトランス酸は主に精製工程の加熱により生成します。花王は、現在、原料および全製造工程を見直し、使用原料油の低トランス化によって1~2%、製造工程の温度管理などの最適化によって約1%程度のトランス酸の低減を検討しており、年内を目標に製品トランス酸量を3%以下に減らすよう努力しております。

表3-1 食品中のトランス酸(市販精製油)

油の種類	(n)	t-C18:1	t-C18:2	t-C18:3	総トランス酸
ごま油	10	0.1	0.3	0.0	0.4
サフラワー(オレイン)	4	0.1	0.2	0.0	0.3
サフラワー(リノール)	5	0.1	1.6	0.0	1.7
サフラワー(オレイン・リノール)	4	0.1	0.7	0.0	0.8
コーン油	7	0.0	0.9	0.2	1.1
菜種油	11	0.1	0.5	1.7	2.3
菜種・大豆油	7	0.0	0.4	1.6	2.0
綿実油	3	0.1	0.5	0.0	0.6

日本油化学会誌, 48, 877-883, 1999<sup>37)</sup>より抜粋

表3-2 食品中のトランス酸(エコナクッキングオイル)

油の種類	(n)	t-C18:1	t-C18:2	t-C18:3	総トランス酸
エコナクッキングオイル	-	0.0	2.9	2.3	5.2

BUNSEKI KAGAKU, 51, 437-442, 2002<sup>38)</sup>より

## 2. 日本人におけるトランス酸摂取の現状と安全性について

トランス酸は、上述した精製工程の加熱以外にも、油脂の水素添加（硬化）によって生成し、硬化油脂を含む食品に比較的多量に含有されます（表4、5）。また、牛など（反芻動物）の胃において微生物により生成されるので乳製品や肉などの脂肪（表6、7）にも少量含まれます。

表4 硬化油中に含まれるトランス酸

硬化油脂	サンプル数	融点範囲(°C)	トランス酸含量 脂肪酸組成(%)
パーム硬化油	6	42-52	8.2-25.6
ナタネ硬化油	11	22-43	25.1-47.0
大豆硬化油	15	30-55	25.3-46.1
コーン硬化油	5	35-40	39.3-46.6
硬化魚油	10	30-42	22.3-31.1

日本油化学会誌、48, 1411-1414, 1999<sup>39)</sup>から抜粋

表5 市販マーガリンの油脂中に含まれるトランス酸

パッケージ	サンプル数	トランス酸含量 脂肪酸組成(%)
Carton	4	15.2-28.3
Cup	15	1.5-21.5
Fat spread	22	5.2-17.3

日本油化学会誌、47, 195-199, 1998<sup>40)</sup>より抜粋

表6 市販牛乳中の乳脂肪中に含まれるトランス酸

牛の種類	サンプル数	トランス酸含量 脂肪酸組成(%)
Jergy	9	2.7-5.7
Holstein	8	4.2-6.7
Guernsey	1	3.8
Unknow	50	3.1-7.5

日本油化学会誌、47, 277-282, 1998<sup>41)</sup>より抜粋

表7 市販牛肉の油脂中に含まれるトランス酸

部位	サンプル数	トランス酸含量 脂肪酸組成(%)
サーロイン	16	2.8-5.5
ヒレ	3	2.4-3.3
ロース	5	2.7-4.8
かた	3	2.9-5.3
ハラ	5	2.6-6.8

日本油化学会誌、47, 495-499, 1998<sup>42)</sup>より抜粋

日本人のトランス酸の平均的摂取量は、平成12年度国民栄養調査を元に算出しますと、0.9g/日/人となり、総エネルギー摂取に対する比率としては約0.4%です（表8）。

表8 トランス酸摂取量の日米比較

	日本※4	米国※5
トランス酸摂取量(g/day)	0.9	5.3
エネルギー(%)	0.4	2.6

エネルギー(%): 総摂取エネルギーに対する摂取エネルギー比率

※4: 平成12年国民栄養調査の油脂摂取量<sup>43)</sup>、及び、各食品のトランス酸含量(文献値)から算出

※5: J Am Diet Assoc, 99, 166-174, 1999<sup>44)</sup>



最近の米国調査において、米国人のトランス酸摂取量は5.3g/日/人、総エネルギー比 2.6%となっており<sup>44)</sup>、日本人の約6倍に達しています。トランス酸の多量摂取は、LDL-コレステロールの増加と HDL-コレステロールの低下により、動脈硬化リスク因子とされている LDL/HDLコレステロール<sup>※6)</sup>を増大させることが、米国 National Academy of Science (NAS) によって指摘されています(図5)<sup>45)</sup>。

こうした背景から、FDAは、栄養表示として飽和酸に加えてトランス酸量の表示も義務付けるよう2003年3月施行予定で検討しています。

一方、日本人でのトランス酸摂取の影響については臨床データがなく、その影響を明確にすることはできませんが、NASのレポート<sup>45)</sup>に日本人のトランス酸摂取量(0.9g/日/人、総エネルギー比 0.4%)をプロットすると動脈硬化のリスクはかなり低いと考えられます(図5)。

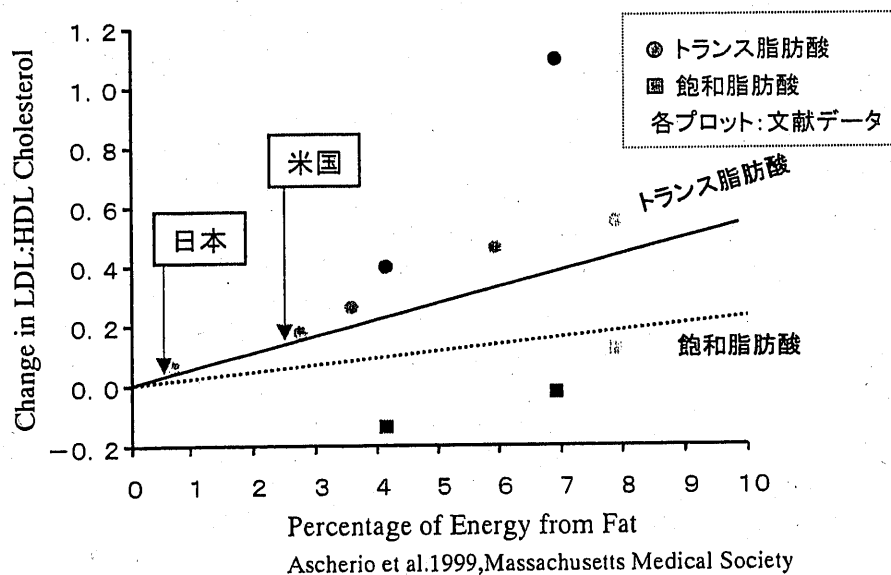


図5 トランス脂肪酸、飽和脂肪酸摂取による動脈硬化リスクに対する影響

(Letter Report on Dietary Reference Intakes of Trans Fatty Acids<sup>45)</sup>より抜粋)

仮に、食用油をエコナクッキングオイルに、マヨネーズをエコナマヨネーズタイプに置き換えた場合でもトランス酸摂取量は1.3g/日/人、総エネルギー

※6): LDL/HDL コレステロールは動脈硬化のリスク指標として用いられる

ギー比 0.6%程度であり(表9)、米国の摂取量に比べてその影響は小さいものと考えられます。

表9 国民栄養調査からの算出値

食品群		油脂 摂取量(g)	トランス酸 摂取量(g)
見える油	植物油	8.9	0.18
	マーガリン	1.2	0.13
	バター	0.8	0.03
	マヨネーズ類	3.2	0.06
	動物性油脂	0.2	0.01
見えない油	肉など	12.9	0.19
	卵	4.4	0.03
	乳製品	4.6	0.21
	菓子類	2.2	0.03
	その他	18.9	—
合計		57.3	0.87

エコナを使用した場合のトランス酸摂取増加量

▶ 0.28g (エネルギー%; 0.13%)

▶ 0.10g (エネルギー%; 0.05%)

食用油、マヨネーズをエコナに替えた場合でも 日本人の1日総トランス酸摂取量は1.3g(エネルギー比; 0.6%)程度であり、米国での摂取量の1/4程度にすぎない。

指摘 - 7

エコナクッキングオイルの天ぷらや炒める等調理実態に見合った加熱後における、グリセリドダイマーの生成の有無を一般食用油と当該品との比較を検討すること。また、これらの加熱油を用いて動物試験によりその安全性を検討すること。

回答 - 7

加熱による油脂の劣化には、酸化分解と重合の2つがあります。酸化分解については、主にカルボニル価(COV)の上昇によってその劣化程度を確認できます。家庭調理をモデル化した加熱試験においてエコナクッキングオイルと従来油の劣化程度をCOVの変化から比較した実験結果が報告されています(図9<sup>59)</sup>、図10<sup>60)</sup>、図11<sup>61)</sup>)。

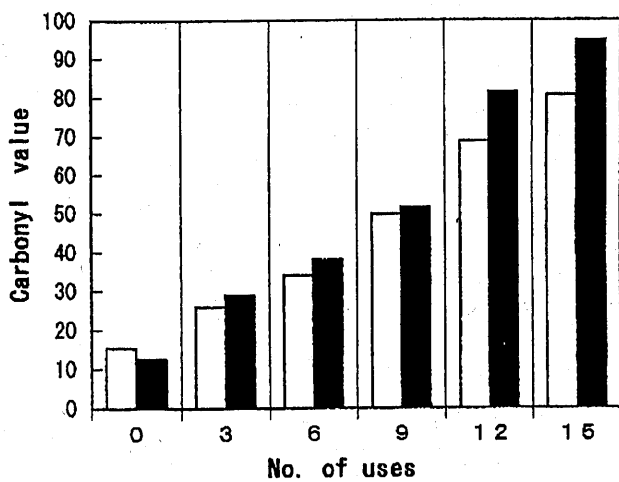


図9 Carbonyl Value (COV, meq/kg of lipids) of Frying Oil.  
□: DG oil, ■: TG oil

Ohno, J. Oleo Sci., 51, 275-279, 2002

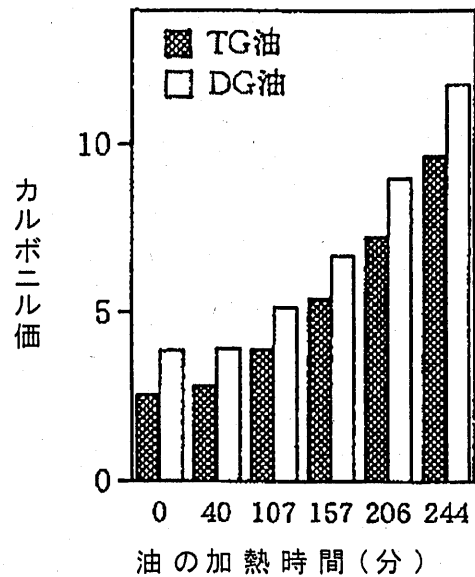


図10 油の化学的性状変化

福田ら, 日本調理科学会誌, 35, 172-179, 2000

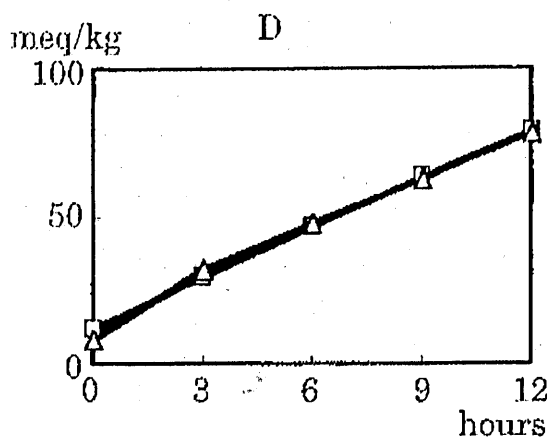


図 11 Changes in viscosity, POV, amount of conjugated polyunsaturated fatty acids, COV and AV of TAG and DAG during thermal oxidation without light at 180°C

A, viscosity ; B, POV ; C, amount of conjugated polyunsaturated fatty acids ; D, COV ; E, AV.

—□—, TAG ; —△—, DAG

中津川ら, 日本食品化学工学会誌, 48, 429-436, 2001

カルボニル価 (COV) 測定法、単位について

図 6、8 ; 単位 : meq/kg

測定法 : 熊沢らの方法、油化学, 14(4), 167- , 1965<sup>62)</sup>

図 7 ; 単位 : なし

測定法 : 衛生試験法<sup>63)</sup>、基準油脂分析試験法<sup>64)</sup>

換算式 : 熊沢らの方法 = 衛生試験法 × 2.5

(基準油脂分析試験法解説<sup>64)</sup>より)

いずれの報告においても、エコナクッキングオイルと従来油の加熱による COV 上昇には、差が認められていません。これらの結果から、家庭での通常の加熱調理条件下における酸化分解の起こり易さは、エコナクッキングオイルと従来油とで同等と考えます。

一方、重合については、アマニ油や大豆油の酸化加熱によって生じるグリセリドダイマーの毒性に関する大藤らの報告<sup>65,66)</sup>があります。

その毒性を示す画分は珪酸カラムクロマトグラフィーを用いたエチルエーテル画分で、分子量約 2000 (従ってトリグリセリドのダイマーと推定)、カルボニル価 (COV) 約 800 meq/kg、と極度に酸化された成分と推定されています<sup>65)</sup>。また、このエーテル画分を約 1.5% 含む、COV が 144.6 meq/kg の油にも毒性が懸念されると報告されています<sup>66)</sup>。

ただし、これらの研究に使用された油は、空気を吹き込みながら185℃で90時間加熱された大豆油<sup>65)</sup>や油揚げに150℃で2ヶ月半使用された菜種油<sup>66)</sup>であって、一般家庭での加熱調理(160~180℃、数時間程度)では起こりえない極端な条件で使用された油です。

昭和54年6月29日付け環食第161号通知の別紙「弁当及びそうざいの衛生規範」<sup>67)</sup>に以下の記載があります。

揚げ処理中の油脂が、発煙、いわゆるカニ泡、粘性などの状態から判断して次のアからウにいたり、明らかに劣化が認められる場合には、その全てを新しい油脂と交換すること。

ア 発煙点が170℃未満になったもの

イ 酸価が2.5を越えたもの

ウ カルボニル価が50<sup>\*7)</sup>を越えたもの

※7): 衛生試験法による分析値、大藤らの分析法に換算すると  
125meq/kg

この衛生規範によれば、大藤らの報告に記載された毒性が懸念される油(COV:144.6meq/kg)は、廃棄すべき極端に劣化した油ということになります。

家庭で起こりうる程度の繰り返しフライ調理のモデルとして表10に示した冷凍スライスポテトの8時間連続フライ試験を行い、この時の酸化分解の程度をCOVで、また重合の程度をAOCS試験法(OFFICIAL METHODS AND RECOMMENDED PRACTICES OF THE AMERICAN OIL CHEMIST'S SOCIETY)によるダイマー量の測定<sup>68)</sup>によって評価しました。

表10 8時間連続加熱試験条件

調理器具	電気フライヤー
揚げ種	冷凍スライスポテト 1回分:油に対し10%(重量)
調理条件	サンプル量:各油1kg 温度:180℃(設定) 揚げ回数:8回/Hr 揚げ時間:3min/回 調理時間:8時間 差し油:なし

その結果、COVは市販サラダ油；33、エコナクッキングオイル；31で両者の差もほとんど認められませんでした。また、ダイマー生成量についてもエコナクッキングオイルと市販従来油とに差は認められませんでした(図12)。<sup>69)</sup>

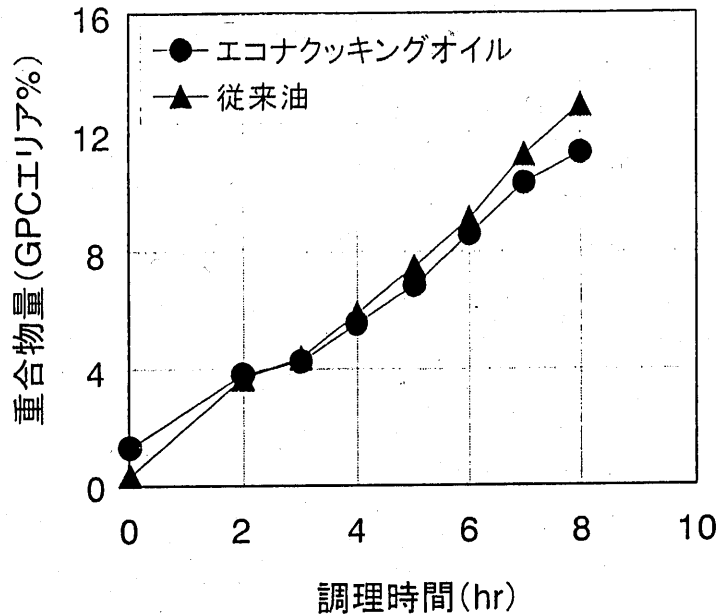


図12 加熱調理時の重合物量変化

また、今回評価を行った油(8時間加熱、重合物12%程度、COV30程度)について、ラット単回投与による急性毒性試験を実施しましたが、市販従来油<sup>70)</sup>、エコナクッキングオイル<sup>71)</sup>共に5000mg/kgの投与でも毒性は認められませんでした。

以上のように、エコナクッキングオイルの加熱安定性は酸化分解(COV)および重合(ダイマー生成量)のいずれにおいても従来の食用油と同等であり、また、加熱油を動物に投与した場合にも従来油と異なる影響は認められませんでした。