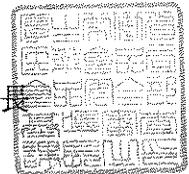




食安基発1108第1号  
平成22年11月 8日

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  
食品全部基準審査課長



食品健康影響評価に係る補足資料の提出依頼について（報告）

高濃度にジアシルグリセロールを含む食品に係る標記については、平成21年8月25日付け府食第812号及び平成21年9月4日付け府食第858号にて依頼され、平成21年9月17日付け食安基発0917第1号、平成21年12月1日付け食安基発1201第1号、平成22年6月1日付け食安基発0601第1号及び平成22年8月24日付け食安基発0824第2号にて、高濃度にジアシルグリセロールを含有する油の製造に責任を有している企業からの報告について報告したところです。

今般、平成21年8月25日付け府食第812号及び平成21年9月4日付け府食第858号において依頼されたグリシドール脂肪酸エステル及びグリシドールの毒性に関する情報について、当該企業から別添のとおり報告がありましたので、報告いたします。

なお、当該企業からの報告に関しては、製造者以外の独立した第三者機関において実施されていますが、国立医薬品食品衛生研究所の研究者を中心とした専門家による確認を実施したものではないことを申し添えます。



平成 22 年 11 月 8 日

厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課長 殿

花王株式会社  
代表取締役 社長執行役員  
尾崎 元規



グリシドール脂肪酸エステル及びグリシドールに関する補足資料の提出について

平素は格別のご高配を賜り厚く御礼申し上げます。

標記の件につきましては、基準審査課長殿より平成 21 年 9 月 8 日付け食安基発 0908 第 1 号「食品健康影響評価に係る補足資料の提出依頼について」を以って、ご連絡を頂いております。優先している 3 項目について、平成 21 年 11 月 30 日、平成 22 年 5 月 31 日、平成 22 年 8 月 23 日付けで、弊社よりご報告いたしました。

更に以下の調査及び評価（報告書は第三者試験機関から入手）を行いましたので提出させて頂きます。

1. グリシドール脂肪酸エステルを経口摂取した場合の体内動態試験

平成 22 年 8 月 23 日付けで、高用量のグリシドール脂肪酸エステル及びグリシドールをラットに投与した際の血中移行性に関する試験結果を報告致しました。また、サルを用いた試験を別途行い、種間差が示唆される結果が得られましたので、自主研究として合わせて提出致しました。

今回、信頼性確認チームによりバリデーションを受けました分析方法を用いて、上記の検討を実施しました同一の試験受託機関で、ラット及びサルでグリシドール脂肪酸エステルおよびグリシドールについて、それぞれ投与用量を合わせた血中移行性に関する試験を実施しましたところ、先に提出した自主研究と同様にラットとサルではグリシドール血中移行性に明確な種間差が認められました。第三者試験機関から試験報告書入手しましたので、提出いたします（別紙 1）。

2. グリシドールのヒト曝露指標としてのヘモグロビンアダクトに関する文献調査と検討

2-1. グリシドールのヒト曝露に関する文献情報

ヒト赤血球中のヘモグロビタンパク質への化学物質の付加体（ヘモグロビンアダクト）は、アクリルアミドをはじめとする反応性化学物質の曝露を評価する指標として活用されております。平成 21 年 11 月 30 日付けで提出したグリシドールの毒性に関する文献の中にも、ヒト赤血球中のヘモグロビタンパク質とグリシドールの反応生成物が存在することと生体内のグリシドールの起源が加熱食品の摂取や喫煙などである可能性を指摘する報告がなされております。今回、関連する文献を追加調査いたしましたので、その概要（別紙 2）と文献を提出いたします。

2-2. グリシドールのヘモグロビンアダクトとエコナクッキングオイル摂取との関係に関する検討

上記情報は、エコナクッキングオイルの摂取によるグリシドールのヒト曝露の可能性を探る上で有用と考え、グリシドールのヘモグロビン付加体量の検討を行いました。その結果、本検討ではエコナクッキングオイル摂取者と非摂取者の間にグリシドールのヘモグロビンアダクト量に差が無いことを示す結果が得られました。第三者試験機関から分析報告書入手し、自主研究としてまとめましたので、提出いたします（別紙 3）。

3. 食用油脂中のグリシドール脂肪酸エステルの分析方法に関する情報

日米欧で開発が進められています食用油脂中のグリシドール脂肪酸エステルの分析法につきまして、これまでに日本油化学会発行の専門誌 (J. Oleo Science, 59:81-88, 2010)、アメリカ油化学会の専門誌 (J. Am. Oil Chem. Soc., DOI:10.1007/s11746-010-1645-3, Published online: 26 September 2010) に投稿、受理されましたことを、平成 22 年 5 月 31 日および 8 月 23 日に報告させて頂きました。さらに本方法は、日本油化学会で評価していただき、わずかな改変を加えた方法を最終分析法とし、アメリカ油化学会の第 4 回専門家会議においても議論され、アメリカ油化学会が推薦する方法としても登録されました。現在、欧州の油科学専門誌に投稿中です。今後は、日米の油化学会が共同し、グリシドール脂肪酸エステルの分析標準化に向けたコラボラティブ試験が始まる予定です。

別紙 1

サルとラットにおけるグリシドール脂肪酸エステルの血中移行性の比較

2010年11月1日

花王株式会社

花王(株)による自主研究として、カニクイザルにグリシドールリノール酸エステル(GEL)あるいはグリシドール(G)を経口投与し、血中への移行性を検討した。また、同用量のGELあるいはGを投与したラットの血中移行性と比較することにより種間差に関する知見を得た。以下にそれぞれを報告する。

#### 1. カニクイザルを用いた血中移行性の検討(試験番号 B100780)

カニクイザル(雄 3~5 歳、各用量 3 個体)を用いて、GEL あるいは G を経口投与により投与した。GEL の投与用量はエコナクッキングオイルを摂取したヒトの一日推定曝露量<sup>\*1</sup>のそれぞれ 30、100、300、4600 倍に相当する 2.24、7.46、22.4、341 mg/kg 体重とした。また、G の投与用量は GEL と等モルにあたる 0.492、1.64、4.92、75 mg/kg 体重とした。75 mg/kg 体重は NTP によるラット発がん性試験の最高用量に相当する。いずれの群においても投与前および投与後 5、15、30 分、1、2、4、8、24、48、72、96 時間の血液を採取し、血漿中 G 濃度を測定した。なお、最高用量である GEL を 341 mg/kg 体重で投与した群及び G を 75 mg/kg 体重で投与した群については、血漿中 GEL 濃度も測定した。G と GEL 濃度の測定には、それぞれ GC/MS 法と LC/MS 法を用いた。これらの測定は、信頼性確認チームによりバリデーションを受けたラットの血漿中濃度測定方法に準じて行った。

表1に血漿中の G 濃度分析の結果を示した。

GEL を 2.24 あるいは 7.46 mg/kg 体重で投与した群、及び G を 0.492 あるいは 1.64 mg/kg 体重で投与した群の血漿中 G 濃度は、いずれの測定時点においても定量下限(0.2  $\mu$ g/mL)未満であった。

GEL を 22.4 mg/kg 体重で投与した群の血漿中 G 濃度は、いずれの測定時点においても定量下限(0.2  $\mu$ g/mL)未満であった。一方、G を 4.92 mg/kg 体重で投与した群では血漿中に G が検出され、投与後約 30 分後で最高値( $C_{max}$ ) 0.438  $\mu$ g/mL に達した後に漸減した。

GEL を 341 mg/kg 体重で投与した群、及び G を 75 mg/kg 体重で投与した両群の血漿中において G が検出された。GEL 投与群では、投与後約 2 時間で  $C_{max}$  1.46  $\mu$ g/mL に達した後に漸減した。一方、G 投与群では、投与後約 1 時間で  $C_{max}$  8.60  $\mu$ g/mL に達した後に漸減した。GEL 投与群の  $C_{max}$  は G 投与群の約 0.17 倍であった。

なお、表 1 の血漿中 G 濃度は、各時点の 3 個体の平均値を示した。一方、 $C_{max}$  は各個体ごとに算出した後に平均化した値を示した。

血漿中の GEL は、最高用量である GEL を 341 mg/kg 体重で投与した群、及び G を 75 mg/kg 体重で投与した群のいずれにおいても定量下限(0.005  $\mu$ g/mL)未満であった。本用量未満の用量で投与した群については、血漿中 GEL 濃度の測定は実施しなかった。

以上の結果から、本試験条件下において、雄性カニクイザルに推定ヒト曝露量<sup>\*1</sup>の 300 倍の GEL を投与した場合でも、血漿中の G は定量下限(0.2  $\mu$ g/mL)未満となることと、4600 倍の GEL を経口投与した際の血漿中 G 濃度は、等モルの G を投与した場合に比較して低くなることが明らかになった。

表1 カニクイザルを用いた単回経口投与による血漿中のG濃度分析結果

被験物質		GEL				G			
投与用量(mg/kg)		2.24	7.46	22.4	341	0.492	1.64	4.92	75
ヒト曝露量*1 比較(倍率)		×30	×100	×300	×4600	(×30)	(×100)	(×300)	(×4600)
血漿中の平均G濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	投与前	B.L.Q.	B.L.Q.	B.L.Q.	B.L.Q.	B.L.Q.	B.L.Q.	B.L.Q.	B.L.Q.
	5分				1.15				
	15分				0.319			4.21	
	30分				0.301*2			6.79	
	1時間				0.232			7.26	
	2時間				0.992			3.22	
	4時間				0.940			0.694	
	8時間				0.360			0.313	
	24時間				B.L.Q.			B.L.Q.	
	48時間								
	72時間								
	96時間								
C <sub>max</sub> ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )		B.L.Q.	B.L.Q.	B.L.Q.	1.46	B.L.Q.	B.L.Q.	0.438	8.60

B.L.Q.:定量化下限(0.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )未満

\*1 グリンドール脂肪酸エステルが373  $\mu\text{g}/\text{g}$ 濃度で混入している食用油(エコナクッキングオイル)を体重50kgのヒトが1日10g摂取した場合の曝露量(373  $\mu\text{g}/\text{g} \times 10\text{g} \div 50\text{kg} = 74.6\text{ } \mu\text{g}/\text{kg}$ )をもとに算出。

\*2 30分時点の採血において3頭に11分の遅れが生じたが、表1では30分として記載した。

## 2. ラットを用いた血中移行性の検討(試験番号 B101004)

ラットを用いた血中移行性については、既にNTPラット発がん性試験の最高用量での検討結果を報告した。今回は、カニクイザルの試験と同用量のGELあるいはGをラット(Crl:CD(SD)系、雄7週齢、各時点3個体)に経口投与し、血漿中G濃度を測定した。すなわち、GELの投与用量は、エコナッキングオイルを摂取したヒトの一日推定曝露量<sup>\*1</sup>のそれぞれ30、100、300倍に相当する2.24、7.46、22.4mg/kg体重とした。Gの投与用量はGELと等モルの0.492、1.64、4.92 mg/kg体重とした。いずれの群においても投与後5、15、30分、1、2、4、8、24時間の血液を採取し、血漿中G濃度を測定した。G濃度の測定は、ラットの血漿中濃度測定方法として信頼性確認チームによりバリデーションを受けたGC/MS法を用いて行った。なお、血漿中GELはNTPによるラット発がん性試験の最高用量であるGの75 mg/kg体重での投与群、及び等モルのGELの341 mg/kg体重での投与群の結果から、定量下限(0.005  $\mu\text{g/mL}$ )未満であると予想されたことから、今回はGEL濃度の測定は実施しなかった。

表2に血漿中のG濃度分析の結果を示した。

GELを2.24 mg/kg体重で投与した群、及びGを0.492 mg/kg体重で投与した群の血漿中のGは、いずれの測定時点においても定量下限(0.2  $\mu\text{g/mL}$ )未満であった。

GELを7.46 mg/kg体重で投与した群、及びGを1.64 mg/kg体重で投与した両群の血漿中においてGは検出され、GEL投与群では、投与後30分で $C_{\text{max}}$  0.374  $\mu\text{g/mL}$ に達した後に漸減した。一方、G投与群では、投与後15分で $C_{\text{max}}$  0.516  $\mu\text{g/mL}$ に達した後に漸減した。GEL投与群の $C_{\text{max}}$ はG投与群の約0.72倍であった。

GELを22.4 mg/kg体重で投与した群、及びGを4.92 mg/kg体重で投与した両群の血漿中においてGは検出され、GEL投与群では、投与後15分で $C_{\text{max}}$  1.21  $\mu\text{g/mL}$ に達した後に漸減した。一方、G投与群では、投与後15分で $C_{\text{max}}$  2.05  $\mu\text{g/mL}$ に達した後に漸減した。GEL投与群の $C_{\text{max}}$ はG投与群の約0.59倍であった。

以上のことから、本試験条件下において、雄性ラットに推定ヒト曝露量<sup>\*1</sup>の30倍のGELあるいはGを投与した場合でも、血漿中のGは定量下限(0.2  $\mu\text{g/mL}$ )未満となることと、推定ヒト曝露量<sup>\*1</sup>の100倍以上の用量では血漿中にGが検出されることが明らかになった。

表2 ラットを用いた単回経口投与による血漿中のG濃度分析結果

被験物質		GEL			G				
投与用量(mg/kg)		2.24	7.46	22.4	0.492	1.64	4.92		
ヒト曝露量 <sup>*1</sup> 比較(倍率)		×30	×100	×300	(×30)	(×100)	(×300)		
血漿中の平均G濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	投与後	5分	B.L.Q.	B.L.Q.	B.L.Q.	0.295	1.31		
		15分		0.304		1.21	0.516	2.05	
		30分		0.374		1.21	0.457	1.52	
		1時間		B.L.Q.		0.662	B.L.Q.	B.L.Q.	0.627
		2時間				0.447			
		4時間		B.L.Q.		B.L.Q.	B.L.Q.	B.L.Q.	B.L.Q.
		8時間							
		24時間							
C <sub>max</sub> ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )		B.L.Q.	0.374	1.21	B.L.Q.	0.516	2.05		

B.L.Q.: 定量下限(0.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )未満

\*1 グリンドール脂肪酸エステルが373  $\mu\text{g}/\text{g}$ 濃度で混入している食用油(エコナクッキングオイル)を体重50kgのヒトが1日10g摂取した場合の曝露量(373  $\mu\text{g}/\text{g} \times 10\text{g} \div 50\text{kg} = 74.6\text{ }\mu\text{g}/\text{kg}$ )をもとに算出。

### 3. ラットとカニクイザルの種間差の考察

上記の2つの試験の結果と既に提出済みのNTPによるラット発がん性試験の最高用量であるGの75 mg/kg体重での投与群、及び等モルのGELの341 mg/kg体重での投与群の結果(2010年8月26日付け、食品安全委員会提出資料)を表3と図1~3にまとめた。

100倍量のGELあるいはGを投与した場合、ラットでは血漿中にGが検出されたが、カニクイザルでは定量下限(0.2  $\mu$ g/mL)未満であった。

300倍量のGELあるいはGを投与した場合にも、ラットでは血漿中にGが検出された。一方、カニクイザルにおいては、G投与では血漿中にGが検出されたが、GEL投与では定量下限(0.2  $\mu$ g/mL)未満であった。

4600倍量のGELあるいはGを投与すると、ラットとカニクイザルのどちらでも血漿中にGが検出された。しかし、GELを投与した場合の血漿中Gの $C_{max}$ は、カニクイザルではラットの約0.056倍であり、Gを投与した場合の血漿中Gの $C_{max}$ は、カニクイザルではラットの約0.26倍であった。

今回の検討結果は、以前に提出した自主検討結果と同様に、ラットとカニクイザルの間にGEL及びG投与後のGの血中移行性に種間差が認められることを示しているものと考えられる。

表3 GELまたはG投与後のラットとカニクイザルの血漿中G濃度( $C_{max}$ )の比較

被験物質		GEL				G			
投与用量 (mg/kg)		2.24	7.46	22.4	341	0.492	1.64	4.92	75
ヒト曝露量*1比較 (倍率)		×30	×100	×300	×4600	(×30)	(×100)	(×300)	(×4600)
ラット	$C_{max}$ ( $\mu$ g/mL)	B.L.Q.	0.374	1.21	26.0	B.L.Q.	0.516	2.05	33.6
カニクイザル	$C_{max}$ ( $\mu$ g/mL)	B.L.Q.	B.L.Q.	B.L.Q.	1.46	B.L.Q.	B.L.Q.	0.438	8.60

B.L.Q.: 定量下限(0.2  $\mu$ g/mL)未満

\*1 グリシドール脂肪酸エステルが373  $\mu$ g/g濃度で混入している食用油(エコナクッキングオイル)を体重50kgのヒトが1日10g摂取した場合の曝露量(373  $\mu$ g/g×10g÷50kg=74.6  $\mu$ g/kg)をもとに算出。

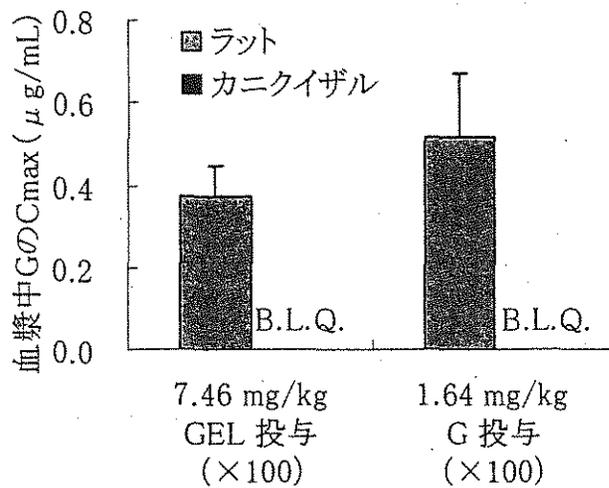


図1 血漿中 G の C<sub>max</sub> の比較(100倍量)

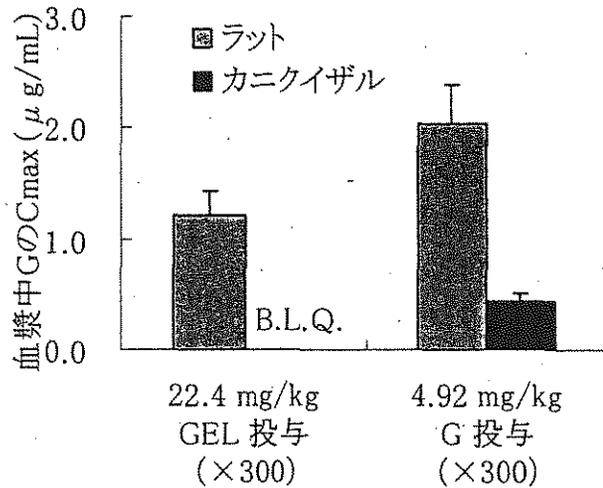


図2 血漿中 G の C<sub>max</sub> の比較(300倍量)

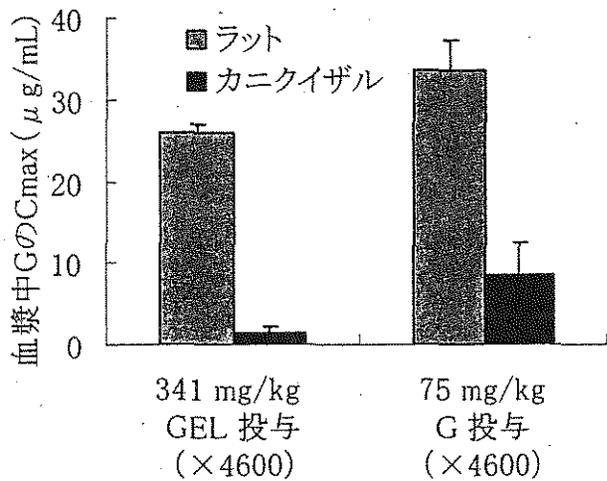


図3 血漿中 G の C<sub>max</sub> の比較(4600倍量)

グリシドールの曝露指標としてのヘモグロビンアダクトと  
日常生活におけるグリシドールの曝露に関する知見

ヘモグロビンアダクトとは、体内に取り込まれた様々な化学物質が赤血球のヘモグロビンと結合したものである。ヒトの場合、ヘモグロビンの寿命はおよそ 120 日であることから、ヒトにおける長期間の化学物質曝露評価指標として様々な評価に利用されている。IARC、EPA、JECFA 等の機関によるアクリルアミド等の発がん性ハザード評価やリスク評価においても、ヒトの曝露指標としてヘモグロビンアダクトが活用されている<sup>1-3)</sup>。また、糖尿病患者あるいは高血糖者の長期間の血糖コントロール指標の一つであるヘモグロビン A<sub>1c</sub> もその一つである。

ヒトの血中ヘモグロビンの N 末端のバリンには、グリシドールが付加したと思われる N-(2,3-dihydroxypropyl)valine (diHOPrVal) が見出されている。この diHOPrVal は、特別な化学物質曝露の履歴がないヒトにおいても認められることから、日常生活におけるグリシドールなどのジヒドロキプロピル化を引き起こす化学物質の曝露が示唆されている。

Landin らは、以下のことから食品の加工や生体内の代謝過程で生じるグリシドールあるいは食品以外の日常環境要因に由来するグリシドールの曝露があると推定している<sup>4, 5)</sup>。

- ・ラットに高温処理を施した食餌を摂取させるとヘモグロビンの diHOPrVal が増加<sup>5)</sup>
- ・食品中のグリセロールが加熱されるとグリシドールが速やかに生成<sup>6)</sup>
- ・グルコースが加熱されるとエチレンオキサイドに似た反応性を示す<sup>7)</sup>
- ・食品中に生成したグリセロールハロヒドリン<sup>8, 9)</sup>が、化学的にまたは生体中の代謝によってグリシドールを生成<sup>10)</sup>
- ・アリルアルコールの生体内での代謝により、グリシドールが生成される可能性<sup>11)</sup>
- ・煙草の煙にグリシドールが含有<sup>12)</sup>

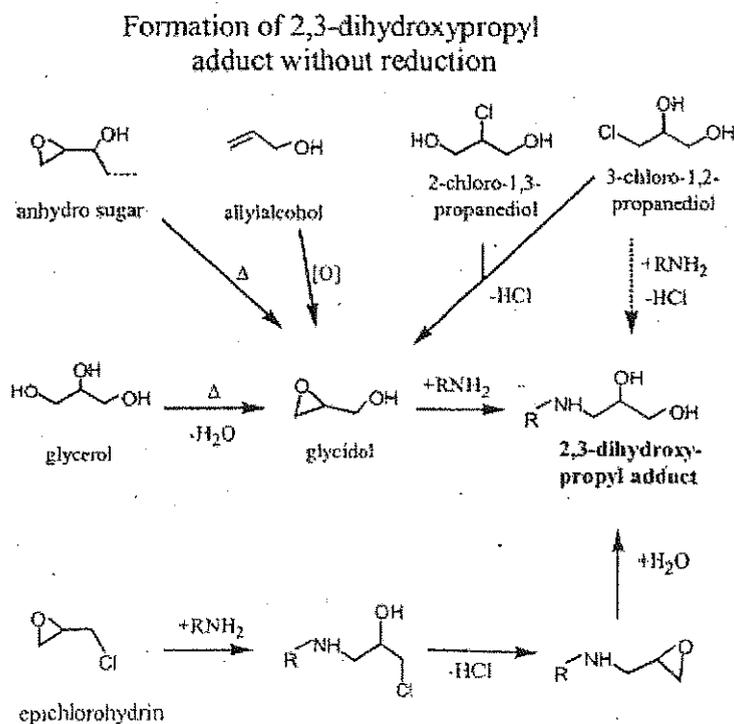


図) グリシドールのヘモグロビンアダクトの推定生成過程  
(Landin et al., 2000 の Figure 1 を抜粋)

- 1) International Agency for Research on Cancer. Some industrial chemicals. Lyon: IARC; 1994. (IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human. Vol. 60. p. 389-433).
- 2) U.S. Environmental Protection Agency. Toxicological review of acrylamide. 2010 Mar;12-57.
- 3) The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Acrylamide. Safety evaluation of certain contaminants in food. 2006; 8-26.
- 4) Landin HH, Grummt T, Laurent C, Tates A. Monitoring of occupational exposure to epichlorohydrin by genetic effects and hemoglobin adducts. *Mutat Res.* 1997 Nov 28;381(2):217-26.
- 5) Landin HH, Tareke E, Rydberg P, Olsson U, Törnqvist M. Heating of food and haemoglobin adducts from carcinogens: possible precursor role of glycidol. *Food Chem Toxicol.* 2000 Nov;38(11):963-9.
- 6) Hauschild R, Petit J. Contribution à l'étude la déshydratation thermique du glycérol pur. *Bulletin de la Société Chimique de France, Mémoires.* 1956;878-81.
- 7) Pictet A, Castan P. Sur la glucosane. *Helvetica Chimica Acta* 1920;3:645-7.
- 8) Hamlet CG. Analytical methods for the determination of 3-chloro-1,2-propandiol and 2-chloro-1,3-propandiol in hydrolysed vegetable protein, seasonings and food products using gas chromatography/ion trap tandem mass spectrometry. *Food Addit Contam.* 1998 May-Jun;15(4):451-65.
- 9) Piasecki A, Ruge A, Marquardt H. Malignant transformation of mouse M2-fibroblasts by glycerol chlorohydrines contained in protein hydrolysates and commercial food. *Arzneimittelforschung.* 1990 Sep;40(9):1054-5.
- 10) Jones AR. The metabolism of 3-chloro-, 3-bromo- and 3-iodopropan-1,2-diol in rats and mice. *Xenobiotica.* 1975 Mar;5(3):155-65.
- 11) Patel JM, Wood JC, Leibman KC. The biotransformation of allyl alcohol and acrolein in rat liver and lung preparations. *Drug Metab Dispos.* 1980 Sep-Oct;8(5):305-8.
- 12) Schumacher JN, Green CR, Best FW, Newell MP. Smoke composition. An extensive investigation of the water-soluble portion of cigarette smoke. *J Agric Food Chem.* 1977 Mar-Apr;25(2):310-20.

以上

花王自主研究

グリシドールのヒト曝露指標としてのヘモグロビンアダクトと  
エコナクッキングオイル摂取の関係に関する検討

2010年11月 1日

花王株式会社

## 1. はじめに

グリシドール（以後 G と表記）はエポキシ環の開裂を初期反応としてタンパク質と反応し、付加体を形成することが知られている（Landin *et al.* 1996）。ヒトの赤血球は約 120 日という長い寿命を持つことから、赤血球中のヘモグロビンタンパク質と化学物質との付加体（Hb アダクト）は、アクリルアミドをはじめとする多くの反応性化学物質の曝露を評価する指標として用いられている（Törnqvist and Landin. 1995, Boogaard. 2002, Ogawa *et al.* 2006, US EPA. 2010）。G についても、*ex vivo* 試験において Hb アダクト（diHOPrVal: N-(2,3-dihydroxypropyl)-DL-valine、以後 G アダクトと表記）を形成することと、改変エドマン分解法を用いた GC-MS/MS による超微量分析技術が報告されている（Landin *et al.* 1996）。加えて、化学物質による特定の曝露履歴のないヒトおよびラットの赤血球においても、G アダクトが検出されることが報告されており（Landin *et al.* 1996, 1997, 2000）、その原因として食品成分に由来する G 曝露の可能性が指摘されている（Landin *et al.* 2000）。

一方、エコナクッキングオイル（以後エコナ油と表記）に微量含まれるグリシドール脂肪酸エステル（GE）は、エコナ油の摂取によりヒトの体内で G に変換する可能性が指摘されている。

本検討では、G の曝露指標となると考えられる G アダクトの定量を行い、エコナ油の摂取と G アダクトの関係を検証した。

## 2. 方法

採血およびヒトグロビンの精製は、花王株式会社安全性評価研究所にて実施した。GC-MS/MS による G アダクト定量は、株式会社住化分析センターにおいて実施した。

### 2-1. 被験者

花王株式会社の社員の中からエコナ油を日常的に摂取している 7 名と、摂取していない 6 名を被験者とした。エコナ油摂取者は、「採血日の直前まで月に約 20 日以上、エコナ油を調理油に使用した食事をしている者」と定義した。なお、G アダクトは喫煙により増加する可能性が示唆されているため（Landin *et al.* 1996, Landin *et al.* 1997）、エコナ油を用いた食事の頻度に加えて、喫煙本数についても調査を行った。エコナ油非摂取の非喫煙者を「対照群」、エコナ油摂取の非喫煙者を「エコナ群」、エコナ油非摂取の喫煙者を「喫煙群」、エコナ油摂取の喫煙者を「エコナ喫煙群」とした。対照群は 5 名、エコナ群は 6 名、喫煙群およびエコナ喫煙群は各 1 名であった。採血は 2009 年 11 月あるいは 2010 年 4 月に実施した。被験者が摂取したと考えられる 2008 年 9 月～2009 年 9 月（最終出荷月）の間に製造されたエコナ油中に微量含有するグリシドール脂肪酸エステル濃度は、ドイツの公定法で分析された MCPD-FS 濃度として平均 65.7 (49.6～93.4)  $\mu\text{g/g}$  であった。

## 2-2. 調理油 1 日摂取量の推定

BDHQ\*は食事習慣アンケートとして、類似の質問票や食事アセスメント法に比べて優れたものであることが報告されている（佐々木, 2004）。この BDHQ を用いて、被験者の調理油摂取量を計算した。

\*BDHQ（簡易型自記式食事歴法質問票：brief-type self-administered diet history questionnaire）は大規模な栄養疫学研究に用いることを目的として、東京大学大学院医学系研究科教授佐々木敏博士により開発された食事習慣調査用アンケートである。BDHQ の妥当性に関しては、研究報告書（佐々木, 2004）に妥当性の検討結果が報告されており、他の類似の質問票や食事アセスメント法に比べると優れたものであることが示されている。BDHQ は専用の栄養価計算プログラムによっておよそ 30 種類の栄養素とおよそ 50 種類の食品の摂取量を算出できる。

## 2-3. 採血方法

ヘパリン処理した注射筒を用いて 20mL 採血した。採血した血液から遠心分離機を用いて血球を分離し、1~2 倍容の生理食塩水で 2 回洗浄した後、- 80℃で使用まで保存した。

## 2-4. ヒトグロビンの精製

Mowrer らの方法に基づき、凍結保存した血球サンプルに 1.5 倍量の MilliQ 水を加えて溶血させた後、5 倍容の氷冷した塩酸イソプロパノール溶液を緩やかに加えて混和した。その後、細胞膜などの残骸を遠心分離により除去し、上清に塩酸イソプロパノール溶液と等量の酢酸エチルを緩やかに注ぐことで、タンパク質を析出させた。最後に酢酸エチルで 2 回、ペンタンで 2 回洗浄したのちに乾燥させ、ヒトグロビンを精製した（Mowrer *et al.* 1986, Törnqvist *et al.* 1994）。精製したサンプルは、名称をコード化し、株式会社住化分析センターに送付した。

## 2-5. G アダクト定量

G アダクトは、改変エドマン分解法（Landin *et al.* 1996）に準じて、株式会社住化分析センターで定量した（報告書番号：8181739-00-2）。

### 3. 結果

ヒト血液試料中の G アダクト、および BDHQ を用いて推定した調理油の一日摂取量を表 1 に示した。株式会社住化分析センターの報告書中のサンプル名との対応は、別表 1 に示した。全てのヒト血液試料中に定量下限 (0.6 pmol/g globin) 以上の G アダクトが存在した。対照群の平均 G アダクトは  $7.3 \pm 3.5$  pmol/g globin、エコナ群の平均 G アダクトは  $3.3 \pm 1.5$  pmol/g globin であった。

表 1 被験者の属性およびヒトグロビン中の G アダクト測定結果

	年齢 (歳)	性別	エコナ油摂取の有無		喫煙 (本/日)	G アダクト (pmol/g)	調理油の 一日推定摂取量 (g/day)
			社員食堂	自宅			
対照 1	51	M	△	×	0	13	7.98
対照 2	43	M	×	×	0	5.6	9.19
対照 3	46	F	×	×	0	8.7	1.44
対照 4	45	M	×	×	0	6.0	4.99
対照 5	27	M	×	×	0	3.7	8.57
エコナ 1	42	F	○	○	0	1.2	5.53
エコナ 2	46	M	○	○	0	5.1	5.92
エコナ 3	34	M	○	○	0	2.5	10.09
エコナ 4	28	M	○	○	0	2.3	15.27
エコナ 5	53	M	○	×	0	4.2	0.80
エコナ 6	43	M	○	△	0	4.3	18.32
喫煙 1	48	M	×	×	15	4.4	6.01
エコナ喫煙 1	47	M	○	○	18	2.0	9.62

M:男性、F:女性、○:エコナ油の摂取は月平均 20 日以上、△:月 5 日以下、×:非摂取

#### 4. 考察

図1に各被験者のGアダクトの結果を示した。今回の検討においては、エコナ群の平均Gアダクトは対照群と比較して高値ではなかった。なお、Landinらが1997年に報告している調査結果に基づいて、特定の化学物質に暴露されていないドイツ人とスウェーデン人のグロビン中平均Gアダクトは、対照群（非喫煙群）で $3.6 \pm 3.0$  pmol/g globin、喫煙群で $11.9 \pm 10.1$  pmol/g globinと算出された。

以上のことから、エコナ摂取によるG曝露の増加はない、もしくは、あったとしても非常に低いものであることが示唆された。

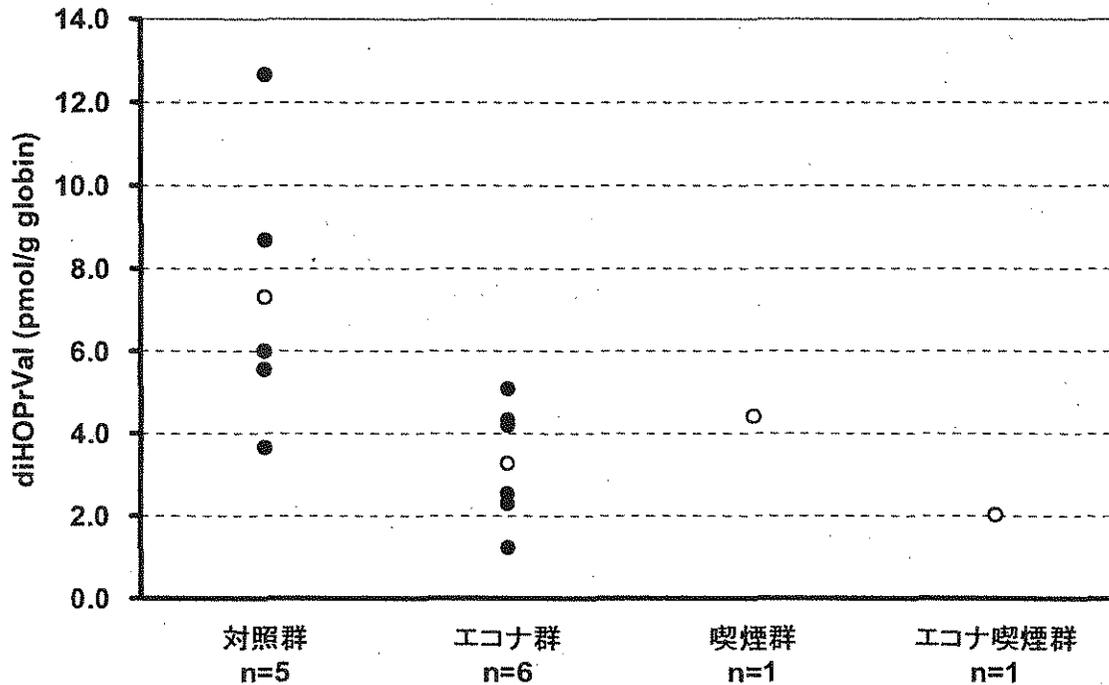


図1 各被験者のGアダクト

Gアダクトの個体値を黒い点で、平均値を白い点で示した。

検体数が1つのものは個体値を白い点で示した。

## 5. 引用文献

Boogaard, P.J., 2002. Use of haemoglobin adducts in exposure monitoring and risk assessment. *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 778, 309-322.

Landin, H.H., Osterman-Golkar, S., Zorcec, V., Törnqvist, M., 1996. Biomonitoring of epichlorohydrin by hemoglobin adducts. *Anal. Biochem.* 240, 1-6.

Landin, H.H., Grummt, T., Laurent, C., Bates, A., 1997. Monitoring of occupational exposure to epichlorohydrin by genetic effects and hemoglobin adducts. *Mutat. Res.* 381, 217-226.

Landin, H.H., Tareke, E., Rydberg, P., Olsson, U., Törnqvist, M., 2000. Heating of food and haemoglobin adducts from carcinogens: possible precursor role of glycidol. *Food Chem. Toxicol.* 38, 963-969.

Ogawa, M., Oyama, T., Isse, T., Yamaguchi, T., Murakami, T., Endo, Y., Kawamoto, T., 2006. Hemoglobin adducts as a marker of exposure to chemical substances, especially PRTR class I designated chemical substances. *J. Occup. Health* 48, 314-328.

Törnqvist, M., 1994. Epoxide adducts to N-terminal valine of hemoglobin. *Methods Enzymol.* 231, 650-657.

Törnqvist, M., Landin, H.H., 1995. Hemoglobin adducts for in vivo dose monitoring and cancer risk estimation. *J. Occup. Environ. Med.* 37, 1077-1085.

US EPA., 2010. Toxicological Review of Acrylamide. In support of Summary Information on the Integrated Risk Information System (IRIS).

佐々木敏. 生体指標ならびに食事歴法質問票を用いた個人に対する食事評価法の開発・検証 (分担研究総合報告書). 厚生科学研究費補助金 がん予防等健康科学総合研究事業: 「健康日本21」における栄養・食生活プログラムの評価方法に関する研究 (総合研究報告書:平成13~15年度:主任研究者:田中平三). 2004: 10-44.

別表1 株式会社住化分析センターの報告書中のサンプル名との対応

本資料中のサンプル名	株式会社住化分析センター 分析報告書中のサンプル名 (報告書番号：81811739-00-2)
対照 1	NENT 1
対照 2	NENT 2
対照 3	NENT 3
対照 4	NENT 4
対照 5	NENT 5
エコナ 1	ENT 1
エコナ 2	ENT 2
エコナ 3	ENT 3
エコナ 4	ENT 4
エコナ 5	ENT 11
エコナ 6	ENT 12
喫煙 1	NET 1
エコナ喫煙 1	ET 1