

琉球大学学術リポジトリ

[総説]グリシドール脂肪酸エステル研究の最新の動向

メタデータ	言語: 出版者: 南方資源利用技術研究会 公開日: 2019-08-09 キーワード (Ja): グリシドール脂肪酸エステル, グリシドール, 食用油, ジアシルグリセロール, ヘモグロビンアダクト キーワード (En): glycidol fatty acid esters, glycidol, edible oil, diacylglycerol, glycidol-hemoglobin adduct 作成者: 桂木, 能久 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002017067

グリシドール脂肪酸エステル研究の最新の動向

桂木 能久

花王株式会社ヘルスケア食品研究所

Recent researches of glycidol fatty acid esters

Yoshihisa Katsuragi, Ph.D.

Health Care Food Research Laboratories, Kao Corporation

キーワード：グリシドール脂肪酸エステル、グリシドール、食用油、ジアシルグリセロール、ヘモグロビンアダクト

Keywords : glycidol fatty acid esters, glycidol, edible oil, diacylglycerol, glycidol-hemoglobin adduct

1. はじめに

2009年3月にドイツのリスク評価機関（BfR）は、世界で初めて食用油にグリシドール脂肪酸エステルが含まれていることを公表した。グリシドール脂肪酸エステルには、安全性が懸念される報告はないものの、グリシドールには発がん性を示す報告がある。論点は、グリシドール脂肪酸エステルを摂取した場合に、消化の過程で加水分解を受けて、グリシドールが生成することで安全性上の問題が生じないかにある。両物質の構造を図1に示した。BfRは、イニシャルアセスメント（BfR Opinion No.007/2009）^{1,2)}の中で、①グリシドール脂肪酸エステルの分析方法の確立、②安全性試験の実施、③事業者はALARAの原則（As Low As Reasonable Achievable: 合理的に達成可能な限りなく低く）に従いグリシドール脂肪酸エステルを低減することの3つを示した。

その後、日本において、2009年6月に花王は、特定保健用食品であったエコナクッキングオイル

（エコナ油）にグリシドール脂肪酸エステルが、他の食用油に比べ多く含まれていることを見出し、直ちに厚生労働省へ届け出た。そして、内閣府食品安全委員会において、安全性の審議が始まった。

本稿では、BfRおよび食品安全委員会が示したグリシドール脂肪酸エステルの3つの必要な取り組み、分析法の開発、低減策、安全性研究について最新の情報を記す。

2. 分析法の動向

2009年当時、グリシドール脂肪酸エステルは、食用油中に新たに見つかった微量成分である（図1）。

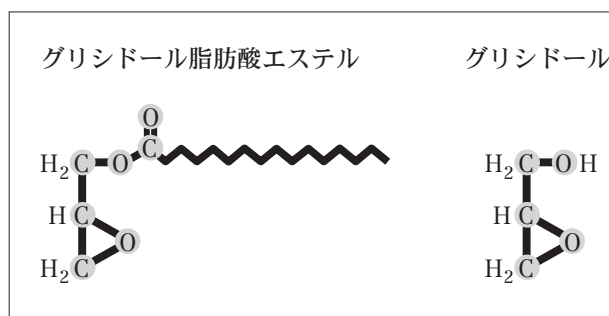


図1 グリシドール脂肪酸エステルとグリシドールの構造

このため標準の分析法がなく、いかなる研究を進めるにも正確な定量分析法が必要であり、これを確立することが急務であった。分析法の研究は、当時、ドイツのグループが積極的に開発を進める間接分析法と、日本油化学会（JOCS）および米国油化学会（AOCS）が進める直接分析法の2つが提案された。AOCSのProcess Contaminantの専門家会議において活発な議論が行われ、その結果、下記のようにAOCSとJOCSが共同で、LC-MSを用いる直接分析法を標準化することでリング試験が実施された。

直接分析法とは、食用油に含まれるC16からC18の主要な脂肪酸からなる5種類のグリシドール脂肪酸エステルを標準物質として用い、検量線から油脂中の含量を定量する方法である。分析には、LC-MSを用いて、直接、食用油中に含まれグリシドール脂肪酸エステルを定量する。定量性を保つには、サンプルとして用いる食用油に含まれるmono-, di- および tri-glycerideを除去することが課題であり、順層と逆層のシリカゲルカラムを用い、前処理をすることが必要であった。Masukawaら

が開発した本方法³⁾は、世界に先駆けた直接定量分析方法であり、改良が加えられた後に^{4,5)}、AOCSとJOCSが合同で実施した標準化するためのリング試験（9か国、24試験機関が参加）に用いられた。その結果、精度や再現性が確認され、AOCSとJOCSがJointして開発した方法であることを示すAOCS/JOCS Cd 28-10が2010年にAOCSのOfficial methodとして収載され⁶⁾、日本油化学会においても基準油脂分析試験法「2.4.13-2013 グリシドール脂肪酸エステル（高速液体クロマトグラフィ質量分析法）」として登録された⁷⁾。

最近になって、より簡便に測定できる間接分析法の開発も進んでいる。間接法は、共存する3-モノクロロプロパンジオール脂肪酸エステル（3-MCPD脂肪酸エステル）も同時に測定する方法が開発されている。すなわち、グリシドール脂肪酸エステルの分子内エポキシサイドを臭素で処理することでモノプロプロパンジオール（MBPD）を生成させ、共存するMCPDと分けて定量する方法である。現在では、表1に示すように3つの方法がAOCSの

表1 グリシドール脂肪酸エステルの分析法

公定法番号	分析対象	特徴
AOCS/JOCS Official Method Cd 28-10 日本油化学会基準油脂分析試験法「2.4.13-2013 グリシドール脂肪酸エステル」	グリシドール脂肪酸エステル	直接分析法 ①固相抽出でGE画分を分取 ②5種類の脂肪酸エステル種（パルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸）を標準物質としてLC-MSにて定量
AOCS Official Method Cd 29a-13	グリシドール脂肪酸エステル、3-MCPD脂肪酸エステル、2-MCPD脂肪酸エステル	間接分析法 ①試料をBr塩含有溶液で処理し、GEをMBrPDエステルに変換の後、 ②弱酸条件でエステルを加水分解して遊離体に変換 ③遊離3-MBrPD(GE由来)、3-MCPD、2-MCPDを誘導化してGS-MSで定量
AOCS Official Method Cd 29b-13	グリシドール脂肪酸エステル、3-MCPD脂肪酸エステル、2-MCPD脂肪酸エステル	間接分析法 ①試料を弱アルカリ条件でエステルを加水分解して遊離体に変換 ②Br塩含有溶液で遊離グリシドールを3-MBrPDに変換 ③遊離3-MBrPD(GE由来)、3-MCPD、2-MCPDを誘導化してGS-MSで定量
AOCS Official Method Cd 29c-13	グリシドール脂肪酸エステル、3-MCPD脂肪酸エステル	間接分析法 ①試料を弱アルカリ条件でエステルを加水分解して遊離体に変換 ②Cl含有溶液(Assay-A:グリシドールを3-MCPDに変換)及びClを含まない溶液(Assay-B)で処理 ③遊離体を誘導化してGS-MSで定量。GEをAssay-AとBの差分で、3-MCPDをAssay-Bで定量

Official method として登録されている。

このほかにも、TOF-MS を用いてグリシドール脂肪酸エステルも 3-MCPD 脂肪酸エステルも同時に測定する方法⁸⁾ や LC-MS/MS 法⁹⁾ などが検討されている。

3. 低減化策

最近の研究から食用油製造の過程で、どのようなメカニズムでグリシドール脂肪酸エステルが生成されるのかがわかってきた。グリシドール脂肪酸エステルは、部分グリセリドを高温で加熱すると生成しやすくなる¹⁰⁻¹²⁾。この知見から、グリシドール脂肪酸エステルを発生させない取り組みとしては、とくに脱臭時の温度をコントロールすることが重要となる。一方、発生してしまったグリシドール脂肪酸エステルを除去する報告もあり、フライ油の再生剤に除去効果のあるものが見出されている¹³⁾。さらに、Shimizu らは、白土処理によるグリシドール脂肪酸エステルの除去を報告している¹⁴⁾。

グリシドール脂肪酸エステルは、その発生メカニズムが明らかになりつつある。一方で、3-MCPD 脂肪酸エステルは、その発生メカニズムがまだまだ不明な点が多いため、低減化技術の開発が容易でないことが油脂産業界の課題となっている。

4. 安全性研究の動向

2009 年 6 月にエコナ油にグリシドール脂肪酸エステルが含まれていることがわかって以来、食品安

全委員会にて審議が続いている¹⁵⁻¹⁷⁾。先にも記したように、グリシドール脂肪酸エステルを摂取した場合に、消化の過程でグリシドールが生成され、安全性上の懸念が生じないかが課題である。そこで、グリシドール脂肪酸エステルを摂取した場合の遺伝毒性と体内動態のデータが優先的に評価された。遺伝毒性に関しては、Ames 試験、*in vitro* 染色体異常試験、*in vivo* 小核試験が実施され、すでに報告されている¹⁵⁾。体内動態研究においては、グリシドール脂肪酸エステル投与後に、血漿中にグリシドール脂肪酸エステルは検出されなかった。一方、グリシドールは血漿中に検出されたが、動物種差があることが明らかとなった¹⁶⁾。

さらに、最新の体内動態研究として注目されているヒトヘモグロビンアダクトを測定する研究が報告された¹⁸⁻²⁰⁾。近年、欧州を中心に、化学物質の曝露評価に用いられる方法であり、食品中のアクリルアミドのヒトへの実質上の曝露量が議論されている。今回、グリシドール脂肪酸エステルを摂取した場合に、それが体内でグリシドールに分解され、その結果、生体がどの程度グリシドールに曝露されているかを知る有効な手段として、ヘモグロビンアダクト試験を実施した。すなわち、2009 年当時、グリシドール脂肪酸エステルが含まれていたエコナを摂取した場合に、生体内でグリシドールに曝露されていたのかを検証する研究である。図 2 にヘモグロビンアダクトの概略を示す。ヒトの赤血球は 120 日程度の長い寿命を持つことから、ヘモグロビンアダ

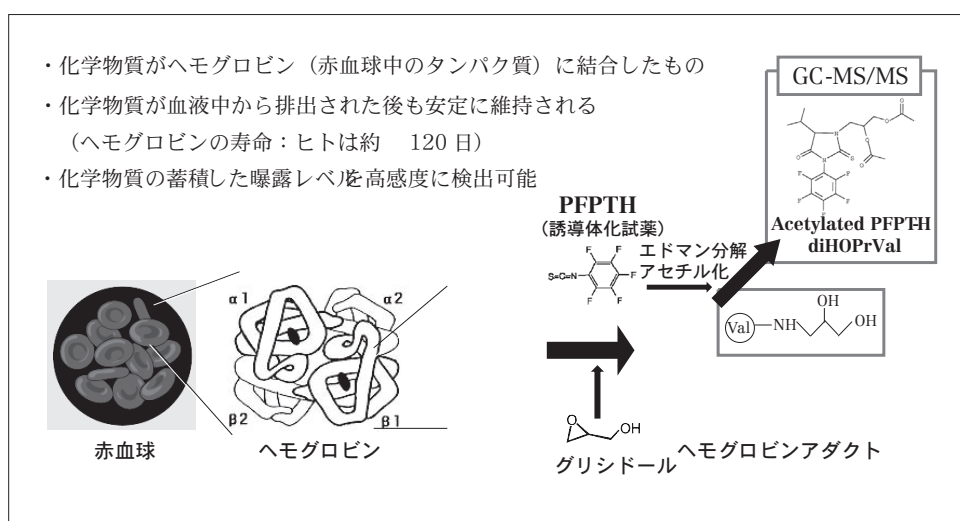


図 2 ヘモグロビンアダクトの検出方法

クト量を測定すると、採血時から遡って4ヶ月間に曝露された化学物質量を反映する感度の高い解析が可能となる。

本田らは、グリシドール脂肪酸エステルを含んでいたジアシルグリセロール (DAG 油、エコナ油) の摂取者と非摂取者のグリシドールのヘモグロビンアダクト (G アダクト) の量を測定し、グリシドールの曝露量を評価した^{18,19)}。その結果、DAG 油摂取者の G アダクト量は非摂取者と比較して増加しておらず、非摂取者においても一定量の G アダクトが検出された。この結果は、DAG 油の摂取に由来するグリシドールの実質的な曝露はなかったこと示唆する結果であった。

さらに、花王では、グリシドール脂肪酸エステルを含んだ DAG 油において、発がん試験を含む 12 種類の世界標準とされる安全性試験を実施しており問題は認められていない²¹⁾。

5. おわりに

2009 年に、これまで知られていなかったグリシドール脂肪酸エステルが食用油に見つかった。安全性が懸念されるグリシドールに曝露される可能性があることから、世界的な関心事となり、本稿に示す 3 つの研究が活発になされた。日本では、エコナ油の一件以来、5 年間にわたり食品安全委員会がグリシドール脂肪酸エステルの安全性評価を継続している。グリシドール脂肪酸エステルを含んだエコナ油に関する数多くの安全性試験の結果や本稿で紹介した最近のグリシドール脂肪酸エステルの安全性試験の結果、そして健康被害が報告されていない事実を踏まえて、早期の審議の結着が待たれるところである。

参考文献

- 1) BfR Opinion No.007/2009, 10 March (2009) http://www.bfr.bund.de/cm/349/initial_evaluation_of_the_assessment_of_levels_of_glycidol_fatty_acid_esters.pdf
- 2) BfR Opinion の日本語訳, 2009 年 7 月 22 日開催の食品安全委員会新開発食品 (第 61 回)・添加物 (第 74 回) 合同専門調査会, <http://www.fsc.go.jp/fscis/meetingMaterial/show/kai20090722sh1>
- 3) Masukawa Y. et al., A new analytical method for the quantification of glycidol fatty acid esters in edible oils, *J. Oleo Sci.*, 59, 81-88 (2010)
- 4) Masukawa Y. et al., Generalized method to quantify glycidol fatty acid esters in edible oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 88, 15-21 (2010)
- 5) Shiro H. et al., Direct method for quantification of glycidol fatty acid esters in edible oils, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 113, 356-360 (2011)
- 6) Join AOCS/JOCS official method Cd28-10 Glycidyl fatty acid esters in edible oils at http://search.aocs.org/methods/search_methods_view_method.cfm?method=cd28_
- 7) 桂木能久, 河合滋, 木船信行, グリシドール脂肪酸エステルの直接分析法の開発, *オレオサイエンス*, 12, 573-581 (2012)
- 8) Haines T. et al., Direct determination of MCPD fatty acid esters and glycidyl fatty acid esters in vegetable oils by LC-TOFMS, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 88, 1-14 (2011)
- 9) MacMahon S et al., Occurrence of 3-MCPD and glycidyl esters in edible oils in the United States, *Food Addit Contam. A*, 30, 2081-92 (2013)
- 10) Shimizu M. et al., Generation of 3-monochloro-1,2-propanediol and related materials from tri-, di-, and monoolein at deodorization temperature, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 114, 1268-1273 (2012)
- 11) Destailhats, F. et al., Glycidyl esters in refined palm (*Elaeis guineensis*) oil and related fractions. Part I: Formation mechanism, *Food Chem.*, 131, 1391-1398 (2012)
- 12) Craft, B.D. et al., Glycidyl esters in refined palm (*Elaeis guineensis*) oil and related fractions. Part II: Practical recommendations for effective mitigation, *Food Chem.*, 132, 73-79 (2012)
- 13) Strijowski, U. et al., Removal of 3-MCPD esters and related substances after refining by adsorbent material, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 113, 387-392 (2011)
- 14) Shimizu, M. et al., Elimination of glycidyl palmitate in diolein by treatment with activated bleaching earth, *J. Oleo Sci.*, 61, 23-28 (2012)
- 15) Ikeda N. et al., Genotoxicity studies of glycidol fatty acid ester (glycidol linoleate) and glycidol,

- Food Chem. Toxicol., 50, 3927-3933 (2012)
- 16) Wakabayashi K. et al., Species differences in toxicokinetic parameters of glycidol after a single dose of glycidol or glycidol linoleate in rats and monkeys, *J. Toxicol. Sci.*, 37, 691-698 (2012)
- 17) 第6回 高濃度にジアシルグリセロールを含む食品に関するワーキンググループ(2014年7月7日開催)
<http://www.fsc.go.jp/fsciis/meetingMaterial/show/kai20140707so1>
- 18) Honda H. et al., Measurement of glycidol hemoglobin adducts in humans who ingest edible oil containing small amounts of glycidol fatty acid esters, *Food Chem. Toxicol.*, 49, 2536-2540 (2011)
- 19) Honda H. et al., Glycidol exposure evaluation of humans who have ingested diacylglycerol oil containing glycidol fatty acid esters using hemoglobin adducts, *Food Chem. Toxicol.*, 50, 4163-4168 (2012)
- 20) Honda H. et al., Characterization of glycidol-hemoglobin adducts as biomarkers of exposure and in vivo dose, *Toxicol. Appl. Pharm.*, 275, 213-220 (2014)
- 21) Morita O. et al., Safety assessment of diacylglycerol oil as an edible oil: A review of the published literature, *Food Chem. Toxicol.*, 47, 9-21 (2009)