

食用油等のグリシドール脂肪酸エステルの含有実態調査結果について

平成 22 年 5 月 18 日
食品安全部基準審査課

1. 経緯

高濃度にジアシルグリセロール (DAG) を含む食品 (花王 (株) 「健康エコナクッキングオイル」等) については、発がんプロモーション作用についての懸念から、平成 17 年以降、食品安全委員会において食品健康影響評価が継続されている。

昨年 7 月、高濃度に DAG を含む油 (DAG 油) の製造過程において、意図せず不純物として、一般の食用油 (植物油をいう。以下同じ。) に比べ、高濃度のグリシドール脂肪酸エステルが生成することが判明し、当該物質は発がん物質であるグリシドールの関連物質であることから、食品安全委員会において、DAG と併せて評価を行うこととされた。このため、昨年 8 月、食品安全委員会より食品健康影響評価に係る補足資料として、以下を提出するよう依頼があった。

- ・食用油等に含まれるグリシドール脂肪酸エステルの分析法を検討すること
- ・グリシドール脂肪酸エステルについて、DAG 油以外の食用油等の含有量の実態調査を行い、グリシドール脂肪酸エステルの高い含有が DAG 油に特有なものか否か考察すること

これを受け、国立医薬品食品衛生研究所食品部において、食用油等のグリシドール脂肪酸エステル含有実態調査を実施した。

2. 調査概要

- ・調査対象食品

DAG 油については市販品を入手し、その他の食用油については (社) 日本植物油協会、マーガリン及びファットスプレッドについては日本マーガリン工業会、乳幼児用調製粉乳については (社) 日本乳業協会より入手した (各 2 製品 3 ロット)。

- ・分析対象物質

食用油中の含量割合の高い脂肪酸上位 3 種 (パルミチン酸、オレイン酸、リノール酸) の各グリシドール脂肪酸エステルとした。

- ・分析方法

常温下で液状の食用油を対象として妥当性確認した抽出法により得られ

た試料を LC/MS により分析した（定量限界 5ppm）。常温下で固形のマーガリン及びファットスプレッドについては日本農林規格、乳幼児用調製粉乳については食品衛生法に記載されている油脂含有率に係る規格試験法により油脂を抽出し、以降の操作は食用油の分析法に従った（別紙 1 参照）。

・分析結果

DAG 油については、すべての製品からその他の食品に比較して高濃度のグリシドール脂肪酸エステル（3 種の脂肪酸エステルの合計値 166～286 ppm）が検出された。その他の食用油については、こめ油から定量限界をわずかに上回る検出が確認されたが（3 種の脂肪酸エステルの合計値 10.3～16.1ppm）、マーガリン、ファットスプレッド及び乳幼児用調製粉乳については、すべて定量限界未満であった（別紙 2 参照）。

3. 結 論

食用油等に含まれるグリシドール脂肪酸エステルの分析法を検討し、これにより分析を行ったところ、DAG 油のみにその他の食用油等に比べ、高濃度のグリシドール脂肪酸エステルの含有が認められた。

<別紙 1> グリシドール脂肪酸エステル分析法の概要

1. 食用油の分析フロー

試料

- ↓ サンプル (100 mg) を遠心管に採取
- *常温下で固体の試料は加温 (55°C) して溶解

抽出

- ↓ アセトニトリル (4 mL) を加え混合
- *常温下で固体の試料は加温 (55°C) したアセトニトリルを加え混合
- ↓ 遠心 (3,500 rpm、室温) 10 分

上清

- ↓
- オクタデシルシリル化シリカゲル (ODS) カートリッジカラム
- ↓ メタノール (1 mL)、アセトニトリル (2 mL) を順次添加しコンディショニング
- ↓ 上清を全量添加
- ↓ アセトニトリル (4 mL) で溶出

溶媒留去

- ↓ 窒素ガスで溶媒を留去
- ↓ 残渣はクロロホルム (2 mL) に溶解

シリカゲルカートリッジカラム

- ↓ クロロホルム (2 mL) を添加しコンディショニング
- ↓ 試料液を一部採取 (200 μ L) し添加
- ↓ クロロホルム (8 mL) で溶出

溶媒留去

- ↓ 窒素ガスで溶媒を留去
- ↓ 残渣はメタノール/2-プロパノール混合溶液 (1:1) (1 mL) に溶解

LC/MS 分析

2. マーガリン及びファットスプレッドの分析フロー

試料

- ↓ サンプル (1.5 g) をビーカーに秤量
- ↓ 分液ロートにジエチルエーテル (80 mL) で洗い込む

抽出

- ↓ 無水硫酸ナトリウム 10 g を加え、4~5 秒激しく振り混ぜて放置
- ↓ この浸とう操作を 5 回程度繰り返す

ろ過

↓ ジエチルエーテル溶液をナスフラスコにろ過

溶媒留去

*日本農林規格では恒温水槽（50～80℃）を使用するが、GE を構成している脂肪酸の酸化を防ぐため、下記の操作に変更した。

↓ 減圧下、40℃で溶媒を留去

↓ 窒素ガスを吹き付けて溶媒を留去（60℃）

乾燥

*日本農林規格では恒温乾燥器（105℃）を使用するが、GE を構成している脂肪酸の酸化を防ぐため、下記の操作に変更した。

↓ デシケーター内で減圧下、一晚以上放置

抽出油脂

↓ 秤量

食用油中の GE 分析法に従い分析

3. 乳幼児用調製粉乳の分析フロー

試料

*分析に必要な油脂を十分に確保するため、食品衛生法に記載されている試料量の 5 倍量を試験に供した。従って、抽出操作に用いる全ての溶媒についても食品衛生法に記載されている 5 倍量を使用した。

↓ サンプル（5 g）をビーカーに秤量し、温水 20 mL に溶解

抽出

*食品衛生法ではレーリッヒ管を使用しているが、本研究では分液ロートを代わりに使用した。また、抽出液に含まれる水分を除去するため、無水硫酸ナトリウムによる脱水操作を本試験で追加した。

↓ 全量を分析ロートに移し、温水（15 mL×2 回）、アンモニア水（10 mL）、エチルアルコール（50 mL）でビーカーを順次洗い込み、良く混和

↓ ジエチルエーテル（125 mL）を加え、静かに回転した後、振とう（30 秒）

↓ 石油エーテル（125 mL）を加え、振とう後（30 秒）、2 時間以上静置

↓ 上清を採取

↓ 下層にジエチルエーテル（125 mL）、石油エーテル（125 mL）を加え、振とう後（30 秒）、2 時間以上静置

↓ 上清を採取

↓ 下層にジエチルエーテル（125 mL）、石油エーテル（125 mL）を加え、振とう後（30 秒）、2 時間以上静置

↓ 上清を採取

↓ 得られた上清を無水硫酸ナトリウムで脱水後、ろ過

溶媒留去

*食品衛生法では恒温水槽（約 75℃）を使用するが、GE を構成している脂肪酸の酸化を防ぐため、下記の操作に変更した。

↓ 減圧下、40℃で溶媒を留去

↓ 窒素ガスを吹き付けて溶媒を留去（60℃）

乾燥

*食品衛生法では恒温乾燥器（100～105℃）を使用するが、GE を構成している脂肪酸の酸化を防ぐため、下記の操作に変更した。

↓ デシケーター内で減圧下、一晚以上放置

抽出油脂

↓ 秤量

食用油中の GE 分析法に従い分析

4. LC/MS 分析条件

LC 条件

カラム：L-column ODS（4.6 mm×150 mm, 5 μm）

ガードカラム：L-column ODS（4.6 mm×10 mm, 5 μm）

移動相 A：アセトニトリル：メタノール：水=17：17：6（v/v/v）

移動相 B：2-プロパノール

グラジエント：0.0 min（A98%, B2%）→15.0 min（A55%, B45%）→15.1 min（A0%, B100%）→25.0 min（A0%, B100%）→25.1 min（A98%, B2%）→35.0 min（A98%, B2%）

流速：1 mL/min

注入量：20 μL

カラム温度：40℃

MS 条件

イオン化法：APCI ポジティブ

コロナ電流：5.0 μA

ペーポライザ温度：500℃

シースガス：40

AUX ガス：5

キャピラリー温度：340℃

SIM モニターイオン：m/z 313（パルミチン酸グリシジル）

m/z 337（リノール酸グリシジル）

m/z 339（オレイン酸グリシジル）

Dwell time：約 0.3 秒

<別紙2> グリシドール脂肪酸エステル分析結果

1. 食用油中のグリシドール脂肪酸エステル類濃度

食用油	製品情報		グリシドール脂肪酸エステル類, ppm ¹⁾			
			パルミチン酸 グリシジル	オレイン酸 グリシジル	リノール酸 グリシジル	合計 ²⁾
DAGを主成分とする油	製品A	ロット1	5.7	105	139	249
		ロット2	5.2	117	156	277
		ロット3	(4.0)	74	96	174
	製品B	ロット1	5.5	100	129	234
		ロット2	5.6	119	161	286
		ロット3	(3.7)	70	93	166
なたね油	製品A	ロット1	- ³⁾	-	-	-
		ロット2	-	-	-	-
		ロット3	-	(1.1)	-	(1.1)
	製品B	ロット1	-	-	-	-
		ロット2	-	-	-	-
		ロット3	-	-	-	-
大豆油	製品A	ロット1	-	-	-	-
		ロット2	-	-	-	-
		ロット3	-	-	-	-
	製品B	ロット1	-	-	-	-
		ロット2	-	-	-	-
		ロット3	-	-	-	-
コーン油	製品A	ロット1	-	(1.9)	(3.3)	(5.2)
		ロット2	-	(1.4)	(1.9)	(3.3)
		ロット3	-	(1.7)	(3.1)	(4.8)
	製品B	ロット1	-	(1.8)	(3.0)	(4.9)
		ロット2	-	(1.9)	(3.0)	(4.9)
		ロット3	(0.77)	(1.7)	(2.7)	(5.2)
こめ油	製品A	ロット1	-	(2.3)	(2.2)	(4.5)
		ロット2	-	(2.1)	(2.0)	(4.1)
		ロット3	-	(2.1)	(1.9)	(4.1)
	製品B	ロット1	(1.3)	(4.6)	(4.3)	(10)
		ロット2	(2.1)	7.4	6.7	16
		ロット3	(1.5)	5.4	(4.6)	11
紅花油	製品A	ロット1	-	(0.75)	-	(0.75)
		ロット2	-	-	-	-
		ロット3	-	-	-	-
	製品B	ロット1	-	(0.93)	-	(0.93)
		ロット2	-	-	-	-
		ロット3	-	(1.3)	-	(1.3)
ごま油	製品A	ロット1	-	-	-	-
		ロット2	-	-	-	-
		ロット3	-	-	-	-
	製品B	ロット1	-	-	-	-
		ロット2	-	-	-	-
		ロット3	-	-	-	-
綿実油	製品A	ロット1	-	(0.82)	-	(0.82)
		ロット2	-	(0.85)	-	(0.85)
		ロット3	-	-	-	-
	製品B	ロット1	-	(1.5)	(0.86)	(2.4)
		ロット2	-	(1.6)	(0.99)	(2.6)
		ロット3	-	(1.6)	(1.0)	(2.6)
ひまわり油	製品A	ロット1	-	(1.6)	-	(1.6)
		ロット2	-	(1.4)	-	(1.4)
		ロット3	-	(1.3)	-	(1.3)
	製品B	ロット1	-	(1.6)	(0.85)	(2.5)
		ロット2	-	(1.6)	(0.82)	(2.4)
		ロット3	-	(1.6)	(0.85)	(2.5)
オリーブ油	製品A	ロット1	-	-	-	-
		ロット2	-	-	-	-
		ロット3	-	-	-	-
	製品B	ロット1	-	-	-	-
		ロット2	-	-	-	-
		ロット3	-	-	-	-
パーム油	製品A	ロット1	-	-	-	-
		ロット2	-	-	-	-
		ロット3	-	-	-	-
	製品B	ロット1	-	-	-	-
		ロット2	-	-	-	-
		ロット3	-	-	-	-

1) 試料の定量限界は5ppm、検出限界は0.75ppmとした。試料濃度が定量限界未満であるが、検出限界以上である場合は、測定値に () を付した。

2) 定量限界未満の数値もそのままの値を用いて合計した。各測定値がいずれも定量限界未満である場合は、合計値に () を付した。

3) 検出限界未満

4) 本試験法は常温下で液状の植物油を適用範囲としている。したがって、常温下で固体のパーム油(製品A)については本試験法の適用範囲外である。

2. 食用油を原料に含む食品中のグリシドール脂肪酸エステル類濃度

食用油脂を原料に含む食品 ¹⁾	製品情報		抽出油脂中のグリシドール脂肪酸エステル類, ppm ²⁾				製品中のグリシドール脂肪酸エステル類, ppm ³⁾			
			パルミチン酸 グリシジル	オレイン酸 グリシジル	リノール酸 グリシジル	合計 ⁴⁾	パルミチン酸 グリシジル	オレイン酸 グリシジル	リノール酸 グリシジル	合計 ⁴⁾
マーガリン	製品A	ロット1	- ⁵⁾	(1.2)	-	(1.2)	- ⁵⁾	(0.87)	-	(0.87)
		ロット2	-	(1.1)	-	(1.1)	-	(0.80)	-	(0.80)
		ロット3	-	(1.3)	-	(1.3)	-	(1.0)	-	(1.0)
	製品B	ロット1	-	-	(0.97)	(0.97)	-	-	(0.71)	(0.71)
		ロット2	-	-	(0.89)	(0.89)	-	-	(0.68)	(0.68)
		ロット3	-	-	(0.94)	(0.94)	-	-	(0.72)	(0.72)
ファット スプレッド	製品A	ロット1	-	-	-	-	-	-	-	-
		ロット2	-	-	-	-	-	-	-	-
		ロット3	-	-	-	-	-	-	-	-
	製品B	ロット1	-	-	(0.87)	(0.87)	-	-	(0.60)	(0.60)
		ロット2	-	-	(0.82)	(0.82)	-	-	(0.56)	(0.56)
		ロット3	-	(0.82)	(1.2)	(2.1)	-	(0.56)	(0.85)	(1.4)
乳幼児用 調製粉乳	製品A	ロット1	-	-	-	-	-	-	-	-
		ロット2	-	-	-	-	-	-	-	-
		ロット3	-	-	-	-	-	-	-	-
	製品B	ロット1	-	(0.85)	-	(0.85)	-	(0.22)	-	(0.22)
		ロット2	-	(0.96)	-	(0.96)	-	(0.24)	-	(0.24)
		ロット3	-	(0.84)	-	(0.84)	-	(0.21)	-	(0.21)

1) 本試験法は常温下で液状の食用油を適用範囲としている。したがって、食用油を原料に含むマーガリン、ファットスプレッド及び乳幼児用調製粉乳については本試験法の適用範囲外であるため、得られた分析値の信頼性は低い。

2) 抽出油脂中の定量限界は5ppm、検出限界は0.75ppmとした。試料濃度が定量限界未満であるが、検出限界以上の場合は、測定値に () を付した。

3) 抽出油脂含量に基づく算出した製品中濃度。定量限界及び検出限界は、それぞれマーガリン (約3.7ppm、約0.56ppm)、ファットスプレッド (約3.3ppm、約0.50ppm)、乳幼児用調整粉乳 (約1.2ppm、約0.18ppm)。試料濃度が定量限界未満であるが、検出限界以上の場合は、測定値に () を付した。

4) 定量限界未満の数値もそのままの値を用いて合計した。各測定値がいずれも定量限界未満である場合は、合計値に () を付した。

5) 検出限界未満