

審査の結果の要旨

氏名 宮崎（中村） 絹子

3-クロロ-1,2-プロパンジオール脂肪酸エステル類（3-MCPD-Es）、2-クロロ-1,3-プロパンジオール脂肪酸エステル類（2-MCPD-Es）、及びグリシドール脂肪酸エステル類（Gly-Es）は、食用油脂の精製（主に脱臭工程）時に生成することが明らかになった新規リスク物質である。2009年、ドイツリスク評価研究所が3-MCPD-Es、Gly-Esの健康影響評価を公表した当初、ドイツ脂質科学会標準法C-III 18 (09)がこれら物質の定量に用いられていたが、後に分析精度に問題があることが指摘された。リスク管理措置の必要性の検討、また食品の安全性確保には、これら物質を精度良く定量できる方法が必須である。本論文は、全5章からなる本論と総括により構成される。

本論第1章では、研究背景と過去のこれらの物質の分析法開発の動きについて論じられている。各エステル類は結合する脂肪酸の種類、数・位置によりそれぞれ数十の類縁化合物が存在するため、単一の物質に分解後に分析する間接分析法が主流であった。通常、この分解には酸やアルカリが用いられるが、pHの変化により2-/3-MCPD-EsとGly-Es間の意図しない変換が生じることが報告されていたため、分析法開発の最重要課題は、意図しない変換を防いだ分解手法の確立であることが述べられている。

第2章では、pHを著しく変化させず、水系の穏やかな条件下における分解手法として、リパーゼに着目し、その利用の検討が記されている。リパーゼは由来によって分解特異性が異なるが、MCPD-Es、Gly-Esの加水分解に適したリパーゼとして *Candida cylindracea* 由来リパーゼを見出した。さらに、Gly-Esの不安定な分解物（グリシドール）を臭素化することにより、MCPD-EsとGly-Esを区別して同時分析することを可能とした。その結果、油脂の物性に関わらず、幅広い食用油脂（魚油を除く）中の2-/3-MCPD-Es、Gly-Esを精度良く、迅速に定量できる酵素的間接分析法を確立した。同時期に報告された米国油化学会 Official method 3法のうちCd29aは希硫酸・メタノール、Cd29bは低濃度のアルカリ・メタノール、かつ低温（-22℃）と、穏やかな条件下において16時間かけてメタノリシスを行う。Cd29cは高濃度のアルカリ・メタノールにより5分程度でメタノリシスが完了するが、3-MCPD-EsとGly-Esを区別して同時分析す

ることができないため 1 試料につき 2 つの方法で分析する必要がある。これら 3 法と比べ、酵素的間接分析法の加水分解は 0.5 時間で完了するため迅速であり、かつ、MCPD-Es と Gly-Es を同時に分析できるという利点を有する。

第3章では、市場に流通する食品の安全性保証のツールとして、酵素的間接分析法を活用できるよう、全13機関にて合同試験を実施している。遊離型3-MCPD、2-MCPD、Gly相当量0.61～4.64 mg/kgを含むパーム液体油、パーム固体脂、なたね油3種、米ぬか油の計6種を合同試験用の油脂試料とした。室内相対標準偏差 (RSD_r) は1.8～8.4%、室間相対標準偏差 (RSD_R) は5.0～18.1%であり、酵素的間接分析法は十分な室間再現精度を有することが認められた。2016年に日本油化学会 基準油脂分析試験法 基準法2.4.14-2016として登録されている。

第4章では、基準油脂分析試験法の適用範囲外である魚油を対象とするため、分析法の改良が検討されている。*C. cylindracea*由来リパーゼは、炭素鎖長18以下の脂肪酸エステルに対する分解特異性は高いが、一方でドコサヘキサエン酸 (DHA) エステルに対する分解特異性が低い。DHAが結合した3-MCPD、Glyの加水分解に適したリパーゼとして *Burkholderia cepacia*由来リパーゼが最適であることを明らかにした。さらにグリシドールの臭素化剤の添加を加水分解前から後に変更することで、魚油を対象とした改良法を確立した。この改良法は、2017年に基準油脂分析試験法 奨7-2017として登録されている。

第5章では、食用油脂から油脂含有食品に適用範囲を拡大することを目的とした検討が記されている。油脂含有食品のうち、マヨネーズ、マーガリン等の高脂質食品は酵素的間接分析法を適用できることが示された。調製粉乳やルウのような高タンパク・高炭水化物の食品は、酵素的間接分析法では食品成分の除去が不十分であったことから、簡易な前処理 (液液抽出) を追加した酵素的間接分析法で分析した。前処理の追加により、水溶性の食品成分を除去することができ、調製粉乳、ルウ、チョコレート等にも適用できることが明らかとなった。

今後、食用油脂及び油脂含有食品中の 2-/3-MCPD-Es、Gly-Es を精度良く、かつ迅速に定量できる酵素的間接分析法は、食品業界の自主検査や行政の含有実態調査に活用され、市場に流通する食品の安全性保証への貢献が期待される。これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士 (農学) の学位論文として価値あるものと認めた。