

## 食品中安息香酸の摂取量と尿中馬尿酸濃度の用量-反応関係

後藤政幸、宮川豊美、鬘谷 要、大塚久美

### The Dose-Response Relationship between Benzoic Acid Intake from Foods and Urinary Hippuric Acid Concentration

Masayuki GOTOH, Toyomi MIYAKAWA, Kaname KATSURAYA and Kumi OTSUKA

In order to lower a false positive risk in biomonitoring workers exposed to toluene, the relationship between intake of benzoic acid (BA) contained in foods and urinary hippuric acid (HA) concentration was studied. Five male and female adults were administered placebo drink which contained 100 mg BA. The urinary HA/creatinine concentration before, 30 and 60 minutes after the administration were  $0.18 \pm 0.06$ ,  $1.82 \pm 0.33$  and  $1.68 \pm 0.49$  g/g, respectively. The urinary concentration ratio after 90 minutes was rapidly decreased, and after 180 minutes, it exhibited a value close to the basal level. The HA concentrations found in experiment in which subjects ate the dried fruit cranberry (containing 22 mg BA) were lower than that of placebo groups, but the excretion pattern was similar to each other. Gotoh (2002) reported the excretion of urinary HA when taking 137, 68.5 and 50 mg BA-containing soft drink. HA excretion patterns found in this report and that of reported in Gotoh were very similar, and showed a dose-response relationships between BA intake and urinary HA concentration. These results may suggest that the food derived HA can be estimated, if the amount of intaken BA from foods is determined.

キーワード：安息香酸、馬尿酸、トルエン、生物学的モニタリング、高速液体クロマトグラフィー

#### 緒 言

産業保健の場面において、トルエン取り扱い作業者の生物学的モニタリングとして尿中の馬尿酸濃度を測定する<sup>1)</sup>。この時、トルエンの中間代謝産物である安息香酸を含む食品類を摂取すると馬尿酸濃度が増加し、検診で偽陽性となるおそれがある。その為、不適切な尿試

料を採取しないように、モニタリング時には当該食品は摂食しないようにとの注意が喚起されている。しかし、実際の現場ではこの事が十分に理解されておらず、正確な検診に従った正しい保健指導が行われていないとの指摘もある<sup>2)</sup>。

先に著者らは清涼飲料水を用いて多量の安息香酸を摂取した場合、飲用30分後には American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) 勧告の生物学的曝露指標 (BEI) の馬尿酸値を上回る成績を報告してモニタリング誤判定の危険性を指摘した<sup>3)</sup>。もし多種類の安息香酸含有食品群においても、摂取した安息香酸量と尿中馬尿酸濃度の間に用量-反応関係が認められるのであれば、モニタリング時に食事内容調査を実施して、推定される安息香酸の摂取量から食品由来の馬尿酸濃度を推量して偽陽性判定の危険性を低下させることができると考える。本研究は生体内代謝に伴う両化合物の関係を明確にして、生物学的モニタリングの適正化に寄与することを目的とする。

### 試料および分析方法

添加物として安息香酸塩が記載されている医薬部外品ドリンク剤 (T製薬株式会社製造100 ml容量) を成人5人に飲用してもらった。安息香酸塩濃度は安息香酸として373mg/kgであった。安息香酸の測定は、試料50gに10%酒石酸溶液12ml、塩化ナトリウム30g、水75ml、シリコンオイル1滴を加えて水蒸気蒸留し、0.45  $\mu$ mメンブレンフィルターでろ過した後、後藤ら<sup>3)</sup>が開発した高速液体クロマトグラフ (HPLC) による安息香酸、馬尿酸、クレアチニン同時分析法に従った。ドリンク剤270ml、つまり安息香酸量として100mgを飲用してもらい、尿を経時的に採取した。尿の採取は飲用直前、飲用後30分ごとに3時間まで、各人につき7回採取し、合計35検体の尿試料を得た。また、対照の尿試料は5人に湯冷しを飲用してもらい同様に経時的に採尿したものをを用いた。

もう1つの供試食品として、自然食品中に安息香酸を含有している乾燥クランベリー (S食品工業株式会社販売80g容量) を成人1人に摂食してもらった。安息香酸分析は前記と同様に行い、その濃度は135mg/kgであった。クランベリーを160g、つまり安息香酸として22mgを摂食してもらい、同様に、飲用直前、飲用後30分ごとに3時間まで、合計7検体の尿を採取した。

全ての尿試料について、馬尿酸およびクレアチニンの測定を行った。両化合物の分析はHPLCを用いたOgataら<sup>4)</sup>の方法に従った。安息香酸、馬尿酸、クレアチニン、メチルアルコール (HPLC用)、リン酸二水素カリウム、リン酸、1-デカンスルホン酸ナトリウム、アセトニトリル (HPLC用) は和光純薬製を用いた。HPLCは島津製LC-6A形、UV検出器SPD

-6A形、データ処理装置C-R6Aを使用した。HPLC測定の場合は次のとおりである。カラム：ステンレス製φ4.6mm×L150mm、充填剤：TSKgelODS80Tm、5μm (TOSOH製)。移動相：[20mMリン酸二水素カリウム溶液 (pH3.3) + 3 mM1-デカンスルホン酸ナトリウム] / アセトニトリル = 85/15。測定波長：225nm。流量：0.7ml/min。圧力：100kg/cm<sup>2</sup>。

## 結 果

表1にドリンク剤を安息香酸として100mg飲用した時の飲用直前、飲用後3時間までの尿中馬尿酸濃度 (クレアチニン比) を平均値±標準偏差値 (n = 5) で、また乾燥クランベリーを22mg摂取した時の成績 (n = 1) を示した。両者ともに尿中馬尿酸濃度は摂取30または60分後で最大になり、その後、漸次減少して180分後にはかなりの低値になった。これらの馬尿酸排泄の経時変化のパターンは、清涼飲料水と果実飲料を用いて多量の安息香酸を摂取した時の後藤ら<sup>3)</sup>の報告と類似する結果であった。

クレアチニン未補正の馬尿酸濃度から求めた馬尿酸の排泄速度 (馬尿酸濃度×尿量/時間) は、ドリンク剤の場合は飲用後30分間で最も速く、1.28mg/minであった。乾燥クランベリーの場合は飲用後30および60分間で最も速く0.80mg/minの同値であった。また、モル量で算出した摂取安息香酸量に対する排泄馬尿酸量の割合を観察すると、ドリンク剤 (安息香酸100mg摂取) の場合は約73%、乾燥クランベリー (安息香酸22mg摂取) の場合は約67%であった。

## 考 察

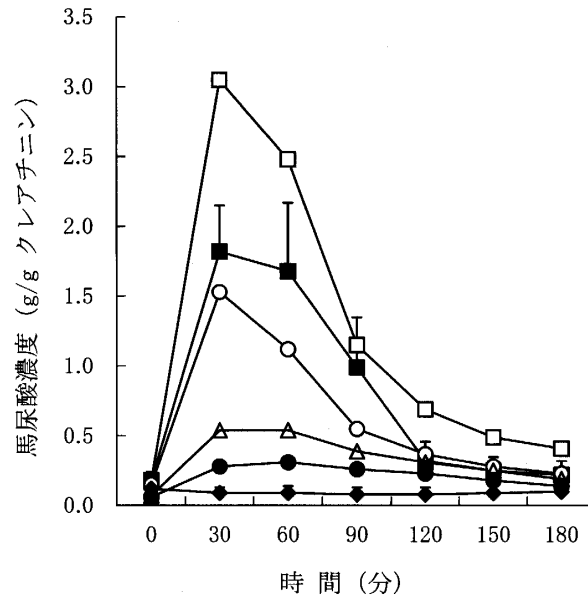
本研究では、ドリンク剤および乾燥クランベリーを用いて、摂取された安息香酸と摂取3時間経過の間における尿中馬尿酸濃度および馬尿酸量の関係を検討した。その成績は、先に本研究とは異なった食品種類で多量の安息香酸を摂取した場合の馬尿酸の排泄を検討した後藤ら<sup>3)</sup>の報告と類似したものであった。両研究における尿中馬尿酸の排泄の経時変化をまと

表1 ドリンク剤および乾燥クランベリー摂取による尿中馬尿酸濃度の変化

	摂取経過時間後の尿中馬尿酸濃度 (g/gクレアチニン)						
	摂取直前	30分後	60分後	90分後	120分後	150分後	180分後
ド リ ン ク 剤 <sup>1)</sup>	0.18±0.06	1.82±0.33	1.68±0.49	0.99±0.36	0.32±0.14	0.25±0.10	0.22±0.10
乾燥クランベリー <sup>2)</sup>	0.06	0.28	0.31	0.26	0.23	0.18	0.14

1) 安息香酸100mg摂取、平均値±標準偏差値 (n = 5)。2) 安息香酸22mg摂取、n = 1。

図1 安息香酸各摂取量と尿中馬尿酸濃度 (g/gクレアチニン) の経時的変化。  
(本研究および後藤ら<sup>3)</sup>の報告による)

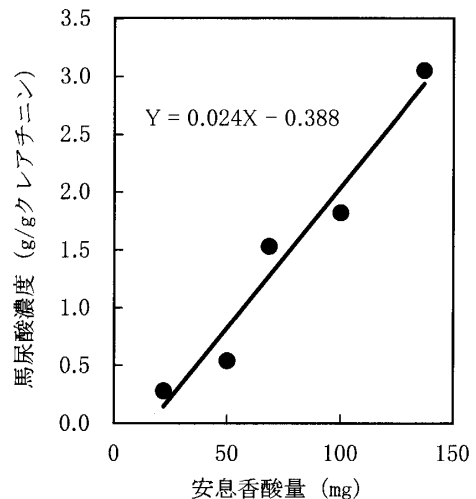


- ：安息香酸137mg (n = 5)、平均値 (後藤ら<sup>3)</sup>)
- ：安息香酸100mg (n = 5)、平均値±標準偏差値 (本研究)
- ：安息香酸68.5mg (n = 5)、平均値 (後藤ら<sup>3)</sup>)
- △：安息香酸50mg (n = 1) (後藤ら<sup>3)</sup>)
- ：安息香酸22mg (n = 1) (本研究)
- ◆：対照 (n = 5)、平均値±標準偏差値 (本研究)

めて図1に示した。経時変化のパターンは摂取した異なった食品の種類(清涼飲料水、果実飲料、ドリンク剤、乾燥果実)に関わらず概ね同様であった。また、それらの排泄の濃度の多少は食品形態とは無関係であるように思われた。本研究と後藤らの成績による摂取安息香酸量と摂食30分後の尿中馬尿酸濃度の関係を図2に示した。2化合物の間には明確な用量-反応関係が認められ、その相関係数は0.98、回帰直線式 $Y = 0.024X - 0.388$ であった。

本研究では、安息香酸量と馬尿酸量の割合は後藤らの報告に見られた傾向は認められなかった。つまり、清涼飲料水を用いた後藤らの結果では、3時間の観察において安息香酸137および68.5mg摂取群で馬尿酸排泄量はそれぞれ

図2 安息香酸摂取量と摂食30分後尿中馬尿酸濃度の関係。(本研究および後藤ら<sup>3)</sup>の報告による)



れ47および60%と摂取量が多くなれば排泄割合が低くなる結果であったのに対し、本研究では同様の観察時間においてドリンク剤（安息香酸100mg摂取）は73%、乾燥クランベリー（安息香酸22mg摂取）は67%であり、後藤らの結果と異なっていた。この理由の一つとして、摂食した食品の種類が起因していることが考えられる。先に述べたように、馬尿酸排泄の経時的变化のパターンは食品の種類が異なっても共通性が認められたが、生体内における両化学物質の収支は、食品それぞれの分解・消化・吸収の特性と深くかつ複雑な関連があり、3時間内での観察、さらに尿試料だけの供試実験では十分に解明できないのかも知れない。この件についてはより詳細に検討すべきである。

ヒトでは摂取された安息香酸は生体内代謝されて馬尿酸として尿中に排泄される<sup>5)</sup>。産業保健の場面において、トルエン取り扱い作業員に対する生物学的モニタリングは尿中の馬尿酸濃度を測定するため、トルエンの中間代謝産物である安息香酸を含有する食品を摂食すると偽陽性になる可能性がある。検診時の問診において注意したにも関わらず不注意に安息香酸含有食品を摂食した場合、その内容を聴取して排泄される馬尿酸濃度を見積り、偽陽性の程度を推定できればスクリーニング判定のリスクが低減されてモニタリングはより効果的となる。ACGIH勧告の馬尿酸BEI値（2.5g/gクレアチニン）に受容有効数値（シグナル/ノイズ）3を除いた値は約0.8mgであり、本値は安息香酸約50mgの摂取に相当する。この判断に従うと、本研究で用いたドリンク剤1本および乾燥クランベリー1袋は安息香酸37.3および10.8mgを含有しており、それぞれは受容有効数値以下であることから、モニタリング時に不注意にこれらを摂食しても偽陽性の判定に大きく寄与するものではないと考える。

今後は、同様に安息香酸を含んでいると言われている他のベリー類やプラムについても代謝・排泄を検討し、モニタリング判定のリスクへの関与の程度を検討する予定である。

## 要 約

- 1) ドリンク剤および乾燥クランベリーを安息香酸量として100および22mg相当量摂食した時、30～60分後に尿中馬尿酸濃度（クレアチニン比）は最高値になり、その後漸減して180分後にはかなりの低値になった。
- 2) 摂取した安息香酸量と30分後の尿中馬尿酸濃度（g/gクレアチニン）の間には用量-反応関係が認められ、その相関係数は0.98、回帰直線式 $Y = 0.024X - 0.388$ であった。
- 3) ACGIH勧告の馬尿酸BEI値（2.5g/gクレアチニン）に対する受容有効数値（シグナル/ノイズ=3）から算出された安息香酸量は約50mgであり、この値をモニタリングの摂食許容安息香酸量として提案する。

## 謝 辞

本研究は平成15年度和洋女子大学学内共同研究奨励の援助により行われた。また、研究の遂行にあたり、資料の提供および貴重な助言を戴いた、本学大学院村田光範教授、小林修平教授に深謝申し上げます。

## 文 献

- 1) ACGIH編 (緒方正名訳)、生物学的曝露指標、72-77、1987、同文書院
- 2) 労働福祉事業団神奈川産業保健推進センター編、産業保健調査研究報告書「神奈川における有機溶剤業務作業場の環境条件と代謝物に関する研究」、1-14、(1999)
- 3) 後藤政幸、宮川豊美、鬘谷要、安息香酸含有飲料水多量摂取が尿中馬尿酸濃度に及ぼす影響、和洋女子大学紀要 (家政系編)、第43集187-192、(2002)
- 4) Ogata M. and Taguchi T.: Simultaneous determination of urinary creatinine and metabolites of toluene, xylene, styrene, ethylbenzene and phenol by automated highperformance liquid chromatography. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 61, 131-140 (1988)
- 5) Wu H. and Elliott H.C. Jr.: Urinary excretion of hippuric acid by men. *J. Appl. Physiol.*, 16 (3), 553-556 (1961).

後 藤 政 幸 (家政学部健康栄養学科教授)

宮 川 豊 美 (家政学部健康栄養学科教授)

鬘 谷 要 (家政学部服飾造形学科助教授)

大 塚 久 美 (家政学部健康栄養学科助手補)