

## 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

後藤政幸, 宮川豊美, 鬘谷 要

### Effect of a Large Amount of Benzoic Acid Containing Soft Drinks Intake on the Urinary Hippuric Acid Concentration

Masayuki GOTOH, Toyomi MIYAKAWA and Kaname KATURAYA

安息香酸含有飲料水摂取時における尿中馬尿酸濃度の変化を観察することにより、トルエン取り扱い作業者の生物学的モニタリングに与える影響を考察した。成人5人にダイエットコカ・コーラ（保存料として安息香酸を使用）を500ml飲用（安息香酸量68.5mg摂取）してもらい尿中馬尿酸濃度（クレアチニン比）を30分毎、3時間にわたり測定した。結果、飲用前 $0.15 \pm 0.11$ g/g creatinine（平均値 $\pm$ 標準偏差値）であった馬尿酸濃度は、30および60分後には $1.53 \pm 0.30$ および $1.12 \pm 0.41$ g/g creatinineとなり、90分以降は急激に減少し、180分後にはほぼ飲用前の状態になった。また、1000ml飲用（安息香酸量137mg摂取）した時の最高値は、30分後の $3.05 \pm 0.61$ g/g creatinineであった。本値はACGIH勧告のトルエン取り扱い作業者に対する保全のための生物学的曝露指標値2.5g/g creatinineを上回っており、その判定評価に大きな誤りを生じる可能性があることが分かった。さらに、安息香酸が元来食品に含まれているクランベリー飲料を500ml飲用（安息香酸量50mg摂取）した結果（ $n = 1$ ）、尿中馬尿酸の排泄パターンはダイエットコカ・コーラの場合とほぼ同様であった。クランベリー飲料には安息香酸含有のことが記載されていないことから、特にこのような成分由来の食品については、安息香酸含有の事実を正確に把握してモニタリング時には飲用しないようにすべきである。

キーワード：馬尿酸、安息香酸、尿代謝産物、トルエン、高速液体クロマトマトグラフィー

### 緒 言

有機溶剤取り扱い作業者の健康管理を目的に、尿中の代謝産物の測定が行われている。トルエン曝露の場合、一般的に生物学的曝露指標（BEI）<sup>1)</sup>として尿中の馬尿酸を測定する。一方、トルエンはその代謝過程において、中間代謝産物として安息香酸を産生する。安息香酸はベリーやプラムのような果物に含まれており、また保存料として清涼飲料水等にも添加さ

れている。このようなことからトルエン曝露の生物学的モニタリング実施時に安息香酸を含有している食品を摂取するとモニタリングに影響を与えることが考えられる。著者らは、成人に2種の安息香酸含有飲料水を飲用してもらい、馬尿酸の排泄過程を詳細に検討した。その結果、これらの飲料水を一般的な摂取量で飲用した場合、生物学的モニタリングの判定に大きな影響を与え、さらに多量に摂取すれば判定を誤らせる可能性が十分にあることを見いだした。

### 試料および分析方法

保存料として安息香酸ナトリウムの添加が記載されている清涼飲料水のダイエットコカ・コーラ(品名:炭酸飲料、原材料名:カラメル色素、酸味料、甘味料(アスパルテーム-L-フェニルアラニン化合物)、香料、保存料(安息香酸Na)、カフェイン、販売者:コカ・コーラナショナルセールス)を成人5人に飲用してもらった。安息香酸ナトリウム濃度は安息香酸として0.137g/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、下記に述べる高速液体クロマトグラフ(HPLC)を用いた安息香酸、馬尿酸、クレアチニン同時分析法に従った。ダイエットコカ・コーラを500mlおよび1000ml、つまり安息香酸量として68.5mgおよび137mg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、合計それぞれ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用いた。

もう1つの供試飲料水として、元来食品中に安息香酸を含有しているクランベリーの果汁飲料(品名:50%クランベリー果汁入り飲料、原材料名:クランベリー・砂糖、販売者:マルカイコーポレーション)を成人1人に飲用してもらった。安息香酸濃度は0.100g/kgであった。クランベリー飲料を500ml、つまり安息香酸として50mgを飲用してもらい、前記と同様に、飲用前、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>2)</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測定の条件は次のとおりである。カラム:ステンレス製 $\phi$ 4.6mm $\times$ L150mm、充填剤:TSKgel ODS 80 Tm、5 $\mu$ m(TOSOH製)。

移動相：[20mMリン酸二水素カリウム溶液 (pH3.3) + 3 mM 1-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

HPLC法同時分析による馬尿酸、クレアチニンおよび安息香酸標準品のクロマトグラムを Fig. 1.(A)に、また、Fig. 1.(B)にダイエットコカ・コーラ500ml飲用 (安息香酸68.5mg摂取) 後、30分経過時の尿試料のクロマトグラムを示した。本分析による3化合物の分離は良好であり、かつ尿および飲料水の試料において、クロマトグラム上に妨害ピークは全く認めなかった。尿中に添加した馬尿酸標準品2.5、5および10mg/lの回収率は、それぞれ100、99および99%であった。また尿添加のクレアチニン標準品10、20および40mg/lの回収率は、それぞれ97、99および98%であった。水中に添加した安息香酸標準品の回収率は、0.1および0.2 g/kgの時、両者ともに82%であり、3化合物の回収率は良好であった。また、馬尿酸、クレアチニンおよび安息香酸標準品の検量線はそれぞれの回収率試験の濃度範囲において直線性が認められた。なお、回収率試験は3回行った。

Fig. 2に安息香酸添加清涼飲料水 (ダイエットコカ・コーラ) を安息香酸として68.5mg (●)

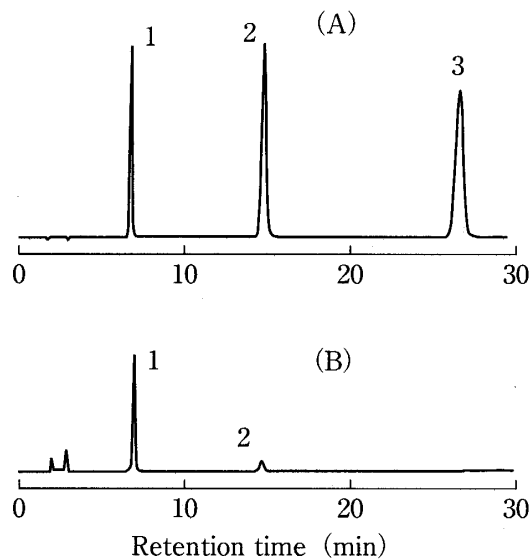


Fig. 1 (A): HPLC chromatogram of standards hippuric acid, creatinine and benzoic acid. (B): HPLC chromatogram of a human urine sample after 30 minutes by the drinking of 500 ml diet coca-cola.  
Peak 1: hippuric acid, peak 2: creatinine, peak 3: benzoic acid.

および137mg (■) 飲用した時の飲用前、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±標準偏差値で示した。両摂取量ともに、尿中馬尿酸濃度は飲用後30分で最大になり、その後、漸次減少して180分後にはかなりの低値になった。

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は、飲用後30分の間で最も速く、摂取量68.5および137mgでそれぞれ1.00および1.40mg/minであった。また、摂取した安息香酸ナトリウムに対する尿中排泄馬尿酸量の割合を観察すると、68.5mg摂取群で約60%、137mg摂取群で約47%であった。

食品由来の安息香酸含有飲料水 (クランベリー飲料) を安息香酸量として50mg (▲) 摂取した時の飲用前、飲用後3時間までの尿中馬尿酸濃度 (クレアチニン比) を同様にFig. 2に示した。尿中馬尿酸濃度は飲用後30~60分で最大になり、その後、減少した。本成績は1人の飲用試験の結果であるが、馬尿酸の経時的な排泄パターンは、安息香酸添加清涼飲料水を飲用した場合とほぼ同様であった。

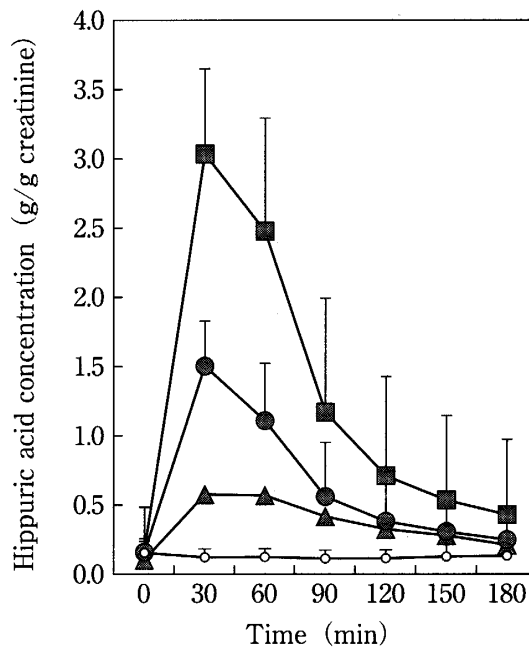


Fig. 2 Hippuric acid concentrations in urine after administration of 68.5 (●) and 137 (■) mg benzoic acid in the diet coca-cola. ○: Control. Each point and horizontal bars indicate mean ± standard deviation (n=5). And, hippuric acid concentrations in urine after administration of 50 mg (▲) benzoic acid in cranberry drink (n=1).

## 考 察

ヒトでは、摂取された安息香酸は代謝されて尿中に馬尿酸として排泄されることがよく知られている<sup>3)</sup>。トルエンの中間代謝産物である安息香酸の食物からの摂取が尿中馬尿酸濃度に影響を与えるならば、有機溶剤取り扱い作業員におけるトルエンのBEIとして尿中馬尿酸濃度を使用するうえで問題を引き起こす。

安息香酸含有清涼飲料水を一般的な飲用量（500ml）で摂取した場合、飲用後30～60分経過時に尿中馬尿酸濃度は増加し、その濃度は生物学的モニタリングに大きな影響を及ぼすことが判明した。特に夏期には多量（1000ml）に飲用することも予想され、その影響はより一層懸念される。本研究のダイエットコカ・コーラ1000mlを飲用した実験において、30分経過時の尿中馬尿酸濃度平均値3.05g/g creatinineは、ACGIH（American Conference of Governmental Industrial Hygienists）勧告のBEI値である2.5g/g creatinineを上回っており、モニタリングを行う際、判定を誤らせる危険性が十分にある。また、クランベリー飲料のように安息香酸含有の記載が無く、元来食品に含まれている飲料水に対しては、その含有量を正確に把握し、飲用が問題であればモニタリング時には摂取しないようにすべきである。

本研究は非曝露者に対する報告であり、今後は有機溶剤取り扱い作業員に対して労働時に安息香酸含有飲料水を飲用してもらい、尿中馬尿酸濃度への影響を検討したい。また、他のベリー類食品も同様に安息香酸を含んでいることが予想されることから、さらなる検討が必要である。

## 要 約

安息香酸含有飲料水の摂取による尿中馬尿酸濃度の変化を観察することにより、トルエン取り扱い作業員の生物学的モニタリング時の影響を考察した。

- 1) ダイエットコカ・コーラ（保存料として安息香酸を使用）を500ml飲用（安息香酸量68.5mg摂取）した場合、30～60分後に尿中馬尿酸濃度（クレアチニン比）は高くなり、モニタリングに影響を与えることが判明した。
- 2) ダイエットコカ・コーラを1000ml飲用（安息香酸量137mg摂取）した時の尿中馬尿酸最高濃度3.05g/g creatinineは、ACGIH勧告のBEI値2.5g/g creatinineよりも高値であり、労働衛生保全の判定評価を行う時に大きな誤りを生じる可能性があることが分かった。
- 3) クランベリー飲料（元来食品に安息香酸を含有）を飲用した場合、尿中馬尿酸排泄パターンはダイエットコカ・コーラと同様の傾向を示すことから、安息香酸含有の表示が無いこ

これらの食品については特に注意すべきである。

## 謝 辞

試料提供および化学分析にご協力いただいた大塚久美助手補、高橋亜矢子助手補、健康栄養学科4年常世田純子、二宮由美の方々に厚くお礼を申し上げます。また、本研究は和洋女子大学学内共同研究奨励費の援助により行われた。

## 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) Ogata M. and Taguchi T.: Simultaneous determination of urinary creatinine and metabolites of toluene, xylene, styrene, ethylbenzene and phenol by automated high-performance liquid chromatography. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, **61**, 131-140 (1988).
- 3) 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 (短期大学部食物栄養学科教授)

宮 川 豊 美 (家政学部健康栄養学科教授)

髪 谷 要 (短期大学部服飾生活学科助教授)