

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：82601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05924

研究課題名(和文)食品に含有・付着している無機ナノ粒子の実態とばく露量推定に関する研究

研究課題名(英文) Research on exposure estimation of inorganic nanoparticles contained in / adhered to food

研究代表者

鈴木 美成 (Yoshinari, Suzuki)

国立医薬品食品衛生研究所・食品部・室長

研究者番号：40469987

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：食品のような固体試料から銀ナノ粒子(Ag-NP)を抽出し、sp-ICP-MS法へ供する前処理法について検討を行ったところ、酵素を用いた前処理法が最適であった。この方法を牡蠣試料へ適用したところ、平均粒径24～32 nm、最大粒径 63～361 nmのAg-NPを検出した。また、コンポジット試料をもちいて、平均的な日本人のAg-NPの曝露量を推定したところ、Ag-NPの曝露量は1.8 µg/person/day、150億 粒子/person/dayと推定された。Ag-NPのTDI と比較するとハザード比は1.3%と推定され、Ag-NPの食事性曝露による健康リスクは小さいと推定された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ナノマテリアル (NMs) の工業的利用の増加に伴い、食品を介したNMsのヒトへの曝露による安全性への影響が懸念されている。また、新型コロナウイルスの蔓延に伴い、抗菌材として使用されている銀ナノ粒子 (Ag-NP) によるリスクに関心が高まっている。本研究は、このようなAg-NPに関して、平均的な食事性曝露量を評価したものである。推定されたAg-NPの耐容摂取量と食事性曝露量を比較し、Ag-NPの健康リスクが低いことを明らかとした。

研究成果の概要(英文)：A preparation method for extracting silver nanoparticles (Ag-NPs) from solid samples such as food products for sp-ICP-MS was investigated, and an enzyme-based extraction method was found to be appropriate. When this method was applied to oyster samples, Ag-NPs with an average particle size of 24-32 nm and a maximum particle size of 63-361 nm were detected. Using the composite samples, we estimated the average Japanese exposure to Ag-NPs to be 1.8 µg/person/day, or 15 billion particles/person/day. The health risk from dietary exposure to Ag-NPs was estimated to be small.

研究分野：食品衛生学

キーワード：ナノ粒子 ICP-MS 食事性曝露

1. 研究開始当初の背景

ナノ材料の毒性に関する研究は多く、特に吸入暴露に関する評価は多く行われてきた。経口暴露による毒性評価は吸入暴露と比較して少ないが、*in vitro* の実験では TiO₂ が代謝機能や栄養吸収に影響を与える結果が報告されている。EU の新規食品規則改正案では、人工ナノ材料を含む新規食品の上市は認可が必要となった (2018 年 1 月 1 日施行)。日本では、2010 年に内閣府食品安全委員会による「食品分野におけるナノテクノロジー利用の安全性評価情報に関する基礎的調査報告書」が東レリサーチセンターによりまとめられて以降、厚生労働省の「ナノ材料安全対策調査事業報告書」では食品及び食品容器に関する情報は除かれている。つまり、食品/食品接触材料に使用されているナノ材料の現状は明らかでない。

食品接触材料としては、食品の保存性を高めるためにナノ材料が添加されている。とくに、銀による抗菌効果を期待して銀ナノ粒子 (Ag-NPs) を使用した製品が多い。近年、少量であるものの、Ag-NPs 含有ポリプロピレン容器からの Ag-NPs の脱離や食品への移動が報告されている。このように食品生産者が意図しない過程で、NPs が食品に混入する可能性がある。生鮮食品においても、マーケットで購入した二枚貝から TiO₂-NPs が検出されたとの報告もあることから、環境中に放出された NPs が生鮮食品に吸収/付着され、食品としてヒトが曝露するというルートも懸念される。

2. 研究の目的

食品に含まれるナノ材料に関して、その粒径や数濃度は不明であるし、どの食品に NPs が多いのかも情報がなく食品中 NPs の実態は不明である。また、非意図的に食品混入/蓄積した NPs に関する情報はない。

分析法には誘導結合プラズマ質量分析 (ICP-MS) を高時間分解モードで測定する単一粒子 (sp) -ICP-MS を用いることを念頭に置いた。sp-ICP-MS 法は、動的光散乱や顕微鏡を用いた測定と異なり、複数の粒径が混合している試料であっても対応できることに加えて、金属量を測定することが可能である。sp-ICP-MS 法は水懸濁液中の NPs の測定法として、ISO/TS 19590:2017 に規定されているが、食品試料のような固体試料から抽出する方法については確立されていない。

そこで、本研究は、食品に含まれる NPs を分析するための方法を確立するとともに、日本における食品中に含まれる NP の実態を調査することを目的とした。

3. 研究の方法

元素分析には、ICP-MS (iCAPQ, サーマフィッシャーサイエンティフィック社製) を用いた。Total Ag の分析には試料 0.50 g を石英製分解容器に量りとり、硝酸 5 mL 及び過酸化水素水 2 mL を加えた後にマイクロ波分解を行い、分解後の溶液に混合内部標準溶液 0.5 mL を添加後、水で 50 mL に定容したものを測定溶液とした。

ナノ粒子の測定には、試料 0.5 g を量り取り、酵素溶液 (パンクレアチン、リパーゼ) 7 mL を添加し、超音波バスにて 10 分間処理を行い、ヒートブロック状で 37 °C 60 分加熱した。室温に戻した後、遠心分離 (2600g, 30 分間) で得られた上清を 100 mL メスフラスコに移した。残差に対して同様の操作を行い、得られた上清を 100 mL メスフラスコに合わせた後、1% Tween-20 で定容した。溶解性の Ag を除くために、定容した溶液 10 mL を 50-kDa のカットオフ値の限外濾過フィルターを用いて Ag-NP 画分を分離した。回収した Ag-NP 画分は 50 mL メスフラスコに移し、1% Tween-20 で定容し、測定溶液とした。

適宜 1% Tween-20 で希釈した後、単一粒子 (single particle, sp) -ICP-MS 法を用いて、Ag-NP の粒子数濃度、粒子質量濃度、単一粒子質量分布を測定した。sp-ICP-MS 測定においては、信号の取り込み時間を 0.5 ms とし、1~5 分間の時間分解分析を行った。

sp-ICP-MS での試料輸送効率は、粒径 60 nm の銀ナノ粒子を用いて測定日ごとに算出した値を用いた。

4. 研究成果

sp-ICP-MS で得られたデータを解析法として、信号強度がポアソン分布に近似することおよび NP 由来の信号が複数の読み込み時間に跨って検出されることに注目し、ベイズ推定を用いた新規アルゴリズムについて検討した。新しく提案した方法は、既存の計算方法よりも妥当な推定結果を得られることが示された。ただし、粒径が異なる粒子が混合している場合には適用できないことから、アルゴリズムを発展する必要があることが示された。

食品試料のような固体試料から抽出する方法について検討するために、環境中に放出された Ag-NPs を蓄積している蓋然性が高い牡蠣試料を対象に検討を行った。金属 NP を溶解しない方法として、界面活性剤・アルカリ処理・酵素処理を中心に前処理条件を検討した。その結果、酵素溶液（パンクレアチンとリパーゼ）を用いた前処理方法が最も有効であることが示された（図 1）。酵素溶液による処理後、限外濾過フィルターを用いてイオン性の Ag を除いたのち sp-ICP-MS で分析を行った。その際のイオンの積分時間は 0.5 ms とした。この前処理法を、牡蠣試料へ適用したところ、平均粒径 24 ~ 32 nm、最大粒径 63 ~ 361 nm の Ag-NPs を検出した。Total Ag 濃度が増加するほど粒子数濃度は有意に増加することが明らかとなった。

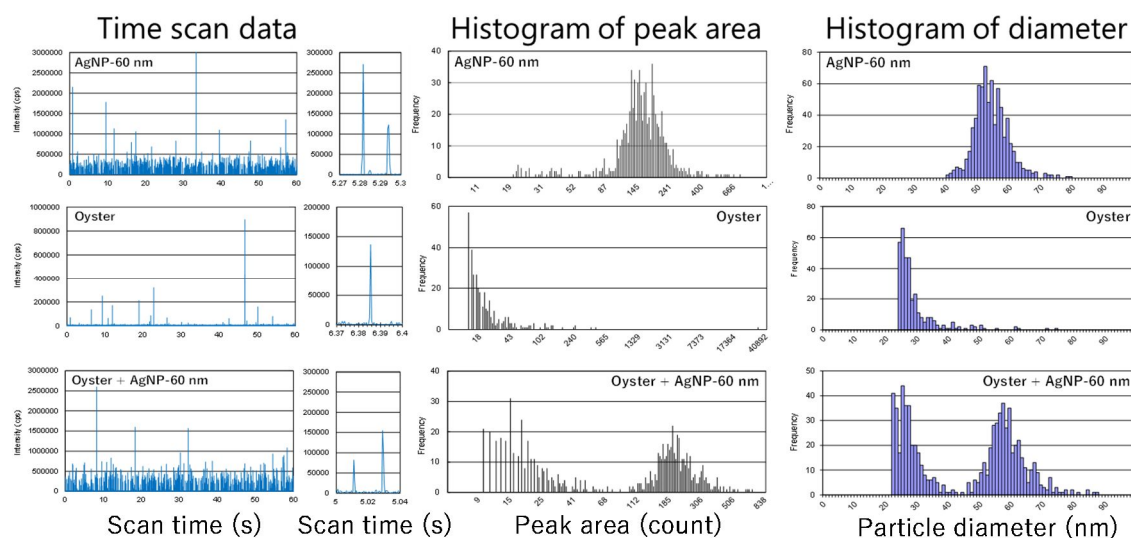


図 1 酵素溶液を用いた前処理法による銀ナノ粒子の添加回収試験

また、コンジット試料をもちいて、平均的な日本人の Ag-NP の曝露量を推定した。Ag-NPs は様々な食品群から検出されたが、飲料水ではほとんどがイオン性の Ag として存在していたのに対して、果実類・緑黄色野菜・豆類・乳製品では 80%以上の Ag が NP として存在していた。Total Ag および Ag-NP の曝露は、1.91 ~ 4.87 および 1.78 ~ 1.79 $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ と推定された。また、粒子数としては $1.4 \times 10^{10} \sim 1.5 \times 10^{10}$ particle/person/day と推察された。平均体重 55 kg を用いて、Hadrup と Lam [2014, DOI: 10.1016/j.yrtph.2013.11.002] が導出した Ag-NP の TDI ($2.5 \mu\text{g}/\text{kg}\text{-bw}/\text{day}$) と比較すると、ハザード比は 1.3%と推定された。現在得られたデータから判断すると、Ag-NP の食事性曝露による健康リスクは小さいと推定された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Suzuki Yoshinari, Kondo Midori, Akiyama Hiroshi, Ogra Yasumitsu	4. 巻 307
2. 論文標題 Presence of nano-sized mercury-containing particles in seafoods, and an estimate of dietary exposure	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Environmental Pollution	6. 最初と最後の頁 119555 ~ 119555
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.envpol.2022.119555	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鈴木美成, 岡本悠佑, 近藤翠, 谷泉美, 田中佑樹, 小椋康光, 穠山浩
2. 発表標題 sp-ICP-MS法によるナノ粒子の特性解析へのベイズ推定の有効性
3. 学会等名 メタルバイオサイエンス研究会2020（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木美成, 張本雅恵, 近藤翠, 穠山浩, 堤智昭
2. 発表標題 魚介類試料中に含まれている銀ナノ粒子測定のための前処理法の開発
3. 学会等名 環境化学物質3学会合同大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yoshinari Suzuki, Yusuke Okamoto, Izumi Tani, Midori Kondo, Hiroshi Akiyama
2. 発表標題 Development of sample preparation method to analyze silver nanoparticles in fish foodstuff using sp-ICP-MS
3. 学会等名 The 2021 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------