

Table 1. List of the compounds tested.

No.	PAHs	No.	Pesticides Residues
1	1-Amino-4-nitronaphthalene	40	Acetamiprid
2	9,10-Dinitroanthracene	41	Azoxystrobin
3	1,3-Dinitronaphthalene	42	Carbendazim
4	1,5-Dinitronaphthalene	43	Chlorpyrifos
5	1,8-Dinitronaphthalene	44	Chlorpyrifos methyl
6	2-Nitroanthracene	45	Diazinon
7	9-Nitroanthracene	46	EPN
8	7-Nitrobenzo( <i>a</i> )anthracene	47	Fenitrothion
9	6-Nitrobenzo( <i>a</i> )pyrene	48	Flufenoxuron
10	1-Nitronaphthalene	49	Imazalil
11	2-Nitroanthracene	50	Imidacloprid
12	1-Chloronaphthalene	51	Kresoxim methyl
13	2-Chloronaphthalene	52	Leucomalachite green
14	1,4-Dichloronaphthalene	53	Malathion
15	Octachloronaphthalene	54	Methidathion
16	1,2,3,4-Tetrachloronaphthalene	55	Parathion methyl
17	1-Aminoanthracene	56	Phenthoate
18	2-Aminoanthracene	57	Primiphos methyl
19	1-Aminonaphthalene	58	Prothiofos
20	1,8-Diaminonaphthalene	59	Pyraclostrobin
21	Benzo( <i>c</i> )fluorene	60	Thiabendazole
22	Benzo( <i>a</i> )anthracene	61	Tolclofos methyl
23	Cyclopenta( <i>c,d</i> )pyrene	62	Tribenuron methyl
24	Chrysene	<b>No.</b>	<b>Amino acids and their metabolites</b>
25	5-Methylchrysene	63	4-Aminobutanoic acid
26	Benzo( <i>b</i> )fluoranthene	64	Agmatine
27	Benzo( <i>k</i> )fluoranthene	65	L-Arginine
28	Benzo( <i>j</i> )fluoranthene	66	Cadaverine
29	Benzo( <i>a</i> )pyrene	67	L-Glutamic acid
30	Indeno(1,2,3- <i>c,d</i> )pyrene	68	Histamine
31	Dibenzo( <i>a,h</i> )anthrathene	69	Histidine
32	Benzo( <i>g,h,i</i> )perylene	70	L-Lysine
33	Dibenzo( <i>a,l</i> )pyrene	71	L-Ornithine
34	Dibenzo( <i>a,e</i> )pyrene	72	L-Tryptophan
35	Dibenzo( <i>a,i</i> )pyrene	73	L-Tyrosine
36	Dibenzo( <i>a,h</i> )pyrene	74	Putrescine
37	Naphthalene	75	Tryptamine
38	Fluorene	76	Tyramine
39	Anthracene		

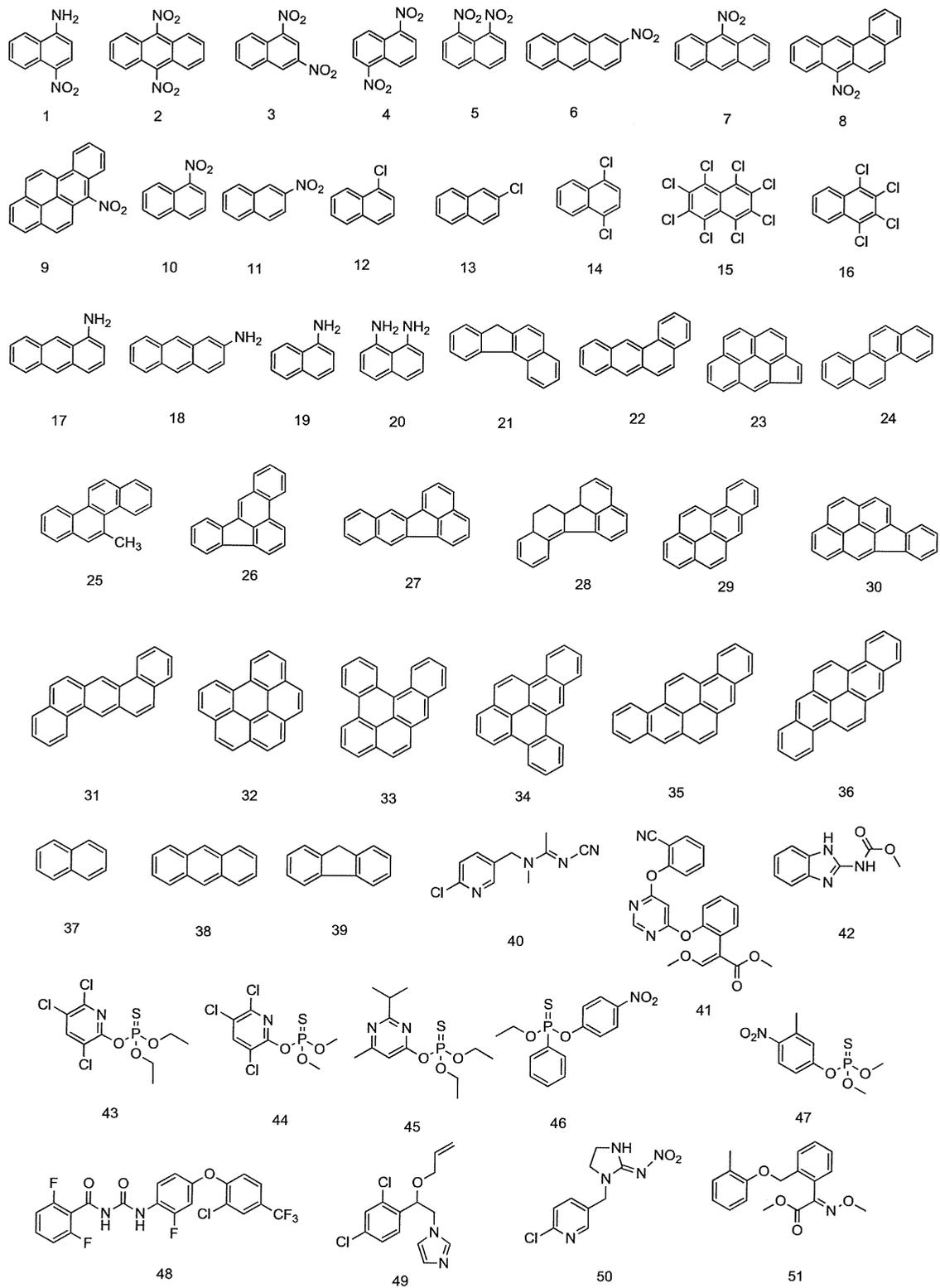


Figure 1. Cont.

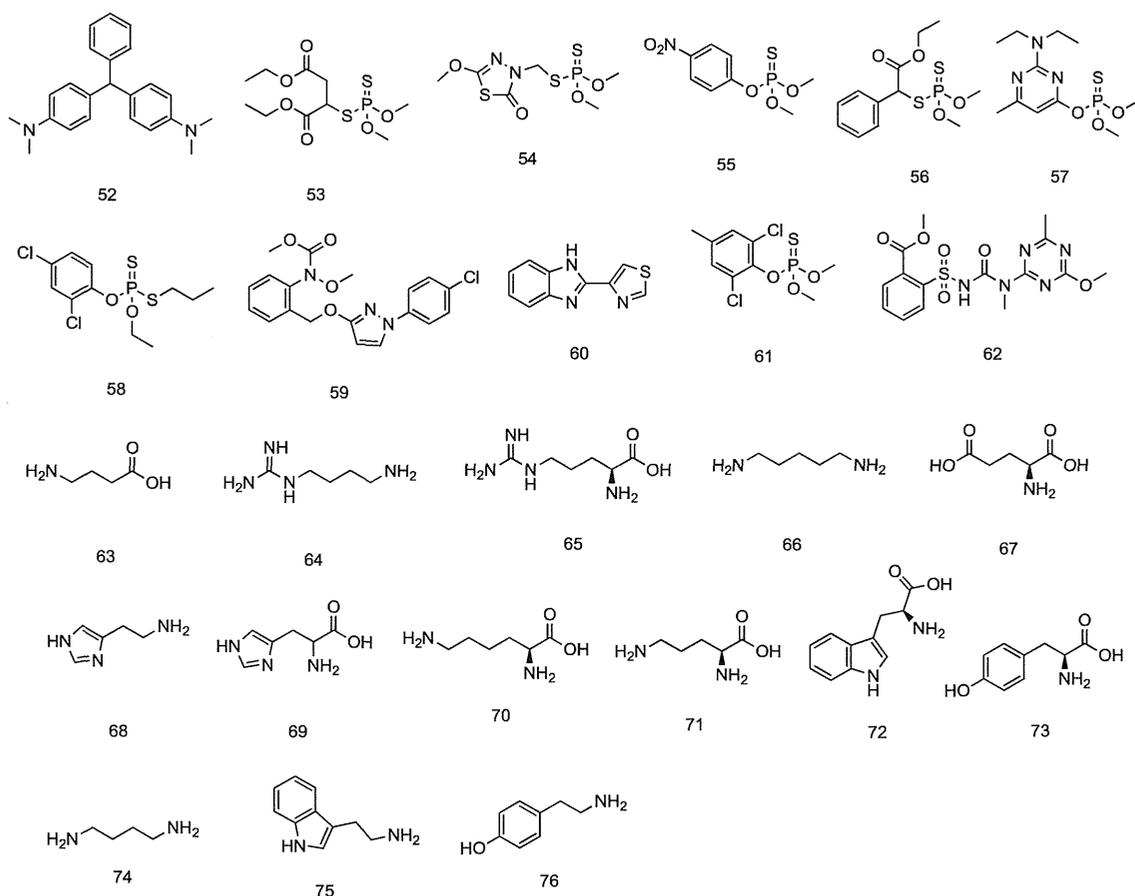


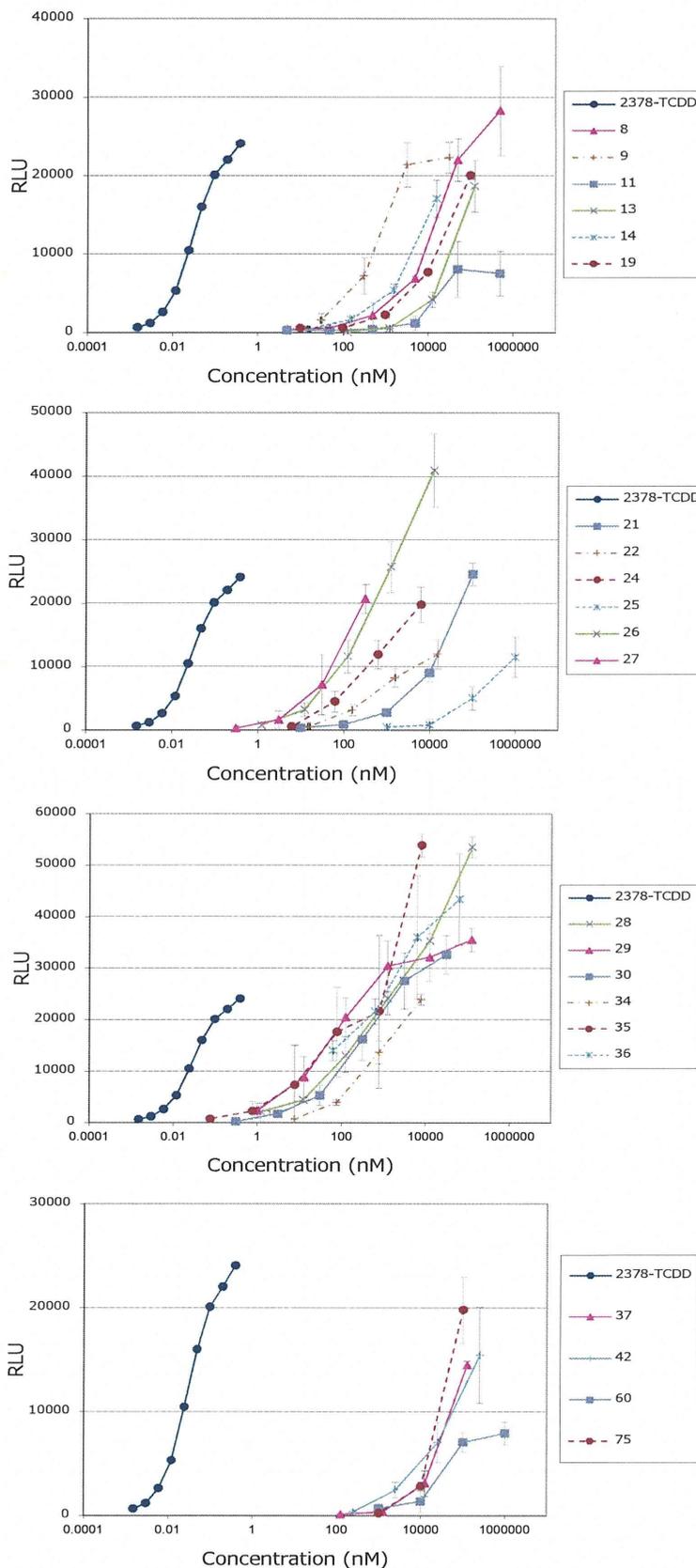
Figure 1. Chemical structures of the compounds tested.

## 2.2. Evaluation of AhR Activity

AhR activation mediated by target compounds was evaluated using the CALUX assay. The CALUX assay was conducted as follows: mouse hepatoma H1L6.1c2 cells (*ca.*  $1.5 \times 10^5$  cells/well) [10] were cultured in 96-well culture plates, and the target compounds were dissolved in DMSO and added at final concentrations of 0.1–100,000 nM in 4–6 steps. The final DMSO concentration was 1% in the cell culture medium. The plates were then incubated at 37 °C in 5% CO<sub>2</sub> for 24 h for optimal expression of luciferase activity. After incubation, cell viability was confirmed by microscopy, the medium was removed, and the cells were lysed. Luciferin was then added as a substrate, and luciferase activity was determined using a luminometer (Centro LB 960; Berthold Technologies, Bad Wildbad, Germany) and recorded as relative light units (RLUs). Results are presented as mean  $\pm$  SD of at least two or three independent measurements per experiment.

## 3. Results and Discussion

The compounds examined in this study are listed in Table 1, and their chemical structures are shown in Figure 1. In addition, the results for compounds that showed AhR activity are depicted in Figure 2 and Table 2.



**Figure 2.** Concentration-response curve of luciferase activity induced by the selected compounds and 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD). Approximately  $1.5 \times 10^5$  cells/well were cultured in 96-well culture plates and exposed to 0.1–100,000 nM concentrations of the selected compounds for 24 h. Cells were then lysed, and luciferase activity was measured using luciferin. The numbers within the graph correspond to the numbers in Table 1.

**Table 2.** Responses of the reporter gene system to the selected compounds.

Compounds	EC <sub>RLU5000</sub> <sup>a</sup> , nM (REP) <sup>b</sup>
TCDD	0.01 (1)
7-Nitrobenzo( <i>a</i> )anthracene (8)	$1.70 \times 10^3$ ( $5.9 \times 10^{-6}$ )
6-Nitrobenzo( <i>a</i> )pyrene (9)	$1.76 \times 10^2$ ( $5.7 \times 10^{-5}$ )
2-Nitroanthracene (11)	$3.81 \times 10^4$ ( $2.6 \times 10^{-7}$ )
2-Chloronaphthalene (13)	$2.56 \times 10^4$ ( $3.9 \times 10^{-7}$ )
1,4-Dichloronaphthalene (14)	$1.46 \times 10^3$ ( $6.8 \times 10^{-6}$ )
1-Aminonaphthalene (19)	$5.00 \times 10^3$ ( $2.0 \times 10^{-6}$ )
Benzo( <i>c</i> )fluorene (21)	$2.31 \times 10^3$ ( $4.3 \times 10^{-6}$ )
Benzo( <i>a</i> )anthracene (22)	$8.87 \times 10^2$ ( $1.1 \times 10^{-5}$ )
Chrysene (24)	$2.41 \times 10^2$ ( $4.1 \times 10^{-5}$ )
5-Methylchrysene (25)	$2.97 \times 10^4$ ( $3.4 \times 10^{-7}$ )
Benzo( <i>b</i> )fluoranthene (26)	19.7 ( $5.1 \times 10^{-4}$ )
Benzo( <i>k</i> )fluoranthene (27)	2.36 ( $4.2 \times 10^{-3}$ )
Benzo( <i>j</i> )fluoranthene (28)	18.8 ( $5.3 \times 10^{-4}$ )
Benzo( <i>a</i> )pyrene (29)	3.72 ( $2.7 \times 10^{-3}$ )
Indeno(1,2,3- <i>c,d</i> )pyrene (30)	20.3 ( $4.9 \times 10^{-4}$ )
Dibenzo( <i>a,e</i> )pyrene (34)	$1.13 \times 10^2$ ( $8.8 \times 10^{-5}$ )
Dibenzo( <i>a,i</i> )pyrene (35)	6.17 ( $1.6 \times 10^{-3}$ )
Dibenzo( <i>a,h</i> )pyrene (36)	9.32 ( $1.1 \times 10^{-3}$ )
Naphthalene (37)	$3.77 \times 10^4$ ( $2.7 \times 10^{-7}$ )
Carbendazim (42)	$1.30 \times 10^4$ ( $7.7 \times 10^{-7}$ )
Thiabendazole (60)	$7.10 \times 10^4$ ( $1.4 \times 10^{-7}$ )
Tryptamine (75)	$2.51 \times 10^4$ ( $4.0 \times 10^{-7}$ )

<sup>a</sup> Concentration of compounds required to produce a luciferase activity of 5000 relative light unit (RLU). Values were calculated from the slope of the linear portion of each dose-response curve. <sup>b</sup> REPs were determined as the ratios of the concentrations of TCDD and the tested compound at EC<sub>RLU5000</sub>.

### 3.1. PAHs

Of the 19 PAH compounds examined, 13 induced marked AhR activity in the CALUX assay. Furthermore, these PAH compounds increased AhR activity in a concentration-dependent manner (Figure 2 and Table 2). The only PAHs that failed to induce activity were cyclopenta(*c,d*)pyrene (23), dibenzo(*a,h*)anthracene (31), benzo(*g,h,i*)perylene (32), dibenzo(*a,l*)pyrene (33) and anthracene (39); while fluorene (38) induced only weak activity. Of the 20 PAH derivatives (nitrated, halogenated and aminated PAHs), 7-nitrobenzo(*a*)anthracene (8), 6-nitrobenzo(*a*)pyrene (9), 2-chloronaphthalene (13), 1,4-dichloronaphthalene (14) and 1-aminonaphthalene (19) exhibited strong activity, while 2-nitroanthracene (11) and 2-aminoanthracene (18) exhibited weak activity (Figure 2 and Table 2). According to scientific reports on the carcinogenicity of PAHs, dibenzo(*a,i*)pyrene (35) is classified as a group 2B carcinogen (possibly carcinogenic to humans), while benzo(*g,h,i*)perylene (32) is listed as a group 3 carcinogen (unclassifiable in regards to carcinogenicity to humans) [11]. Although these discrepancies indicate no correlation between carcinogenicity and AhR activity, further studies will be necessary to determine whether carcinogenicity is associated with the degree of toxicity of PAHs. In recent years, concerns have been raised regarding the possible presence of PAH derivatives in foods [12]. Our results indicate a potential positive correlation between the quantities of aromatic rings in the associated PAH derivatives and AhR activity: as the number of aromatic rings increased, AhR activity tended to increase. Conversely, there appeared to be a negative correlation between the number of chlorine atoms associated with halogenated PAH derivatives (*i.e.*, chlorinated compounds) and AhR activity. Meanwhile, differences in the number and positions of nitro groups associated with nitrated derivatives did not affect the intensity of AhR activity; however, increased activity was observed for compounds containing four or more aromatic rings. 1-Aminonaphthalene (19) was the only aminated derivative to induce AhR activity, and no correlation between the structure and activity was observed (Figures 1 and 2 and Table 2).

As shown in Figure 2, the sensitivity of this assay to PAHs was approximately 1000 times weaker than that to TCDD; however, the values of the maximum RLUs were approximately two times greater. This may have been due to the differences between DXNs and PAHs in regards to metabolic rates and the genes involved. It is also possible that this is due to cross-talk between the AhR and compounds associated with cell signaling and protein degradation pathways [13]. Nevertheless, our findings suggest that this assay could be applied to the analysis of PAH levels in foods, and may therefore provide a more cost-effective test for use in the food industry in the future.

A few studies have examined AhR activities of PAHs using stable rat H4IIE hepatoma cells transfected with AhR-controlled luciferase reporter gene plasmid after 24-hour incubation [14,15]. Our results for the relative potencies (REP) for the eleven PAHs (22, 24–30, 34–36) as shown in Table 2, when compared with the previously reported REP values based on EC<sub>20</sub> or EC<sub>25</sub> [14,15], showed significant differences only for 5-methylchrysene (25), while all the other PAHs were different by at most about one order of magnitude. Metabolic differences between mouse and rat cell lines for the PAHs may account for the differences.

### 3.2. Pesticides

Examination of 23 pesticides revealed that carbendazim (42) and thiabendazole (60), both of which have an indole skeleton (Figure 1), exhibited strong AhR activation (Figure 2 and Table 2). These results were consistent with those of previous studies that found that indole-type compounds exhibit AhR activity [16,17]. Takeuchi *et al.* [18] examined AhR activity of fifteen pesticides (42–47, 49, 50, 53–56, 58, 60, 61) tested in the present study using the recombinant mouse hepatoma cell line (DR-EcoScreen cells) after 24-hour incubation. There was good comparability with both results excepting chlorpyrifos (43). They found chlorpyrifos (43) has AhR activity, although it had no AhR activity in our CALUX assay. The difference in response to chlorpyrifos (43) is unclear at this time but may be related to the structure of the dioxin-responsive luciferase reporter plasmids to generate stable cell lines.

### 3.3. Amino Acids and Their Metabolites

Among the 14 amino acids or amino acid metabolites examined to study of the relationship between structure and AhR activity, AhR activity was only induced by tryptamine (75). Similar to carbendazim and thiabendazole, tryptamine has an indole skeleton (Figures 1 and 2 and Table 2). Health-Pagliuso, *et al.* [19] reported that L-tryptophan (72) and its metabolite, tryptamine (75) induced AhR-dependent gene expression using the recombinant mouse hepatoma cell line (H1L1.1c2) after 4-hour incubation. However, we observed that L-tryptophan (72) did not show any agonistic activity at the tested concentrations. This is probably due to the different characteristics in the recombinant mouse hepatoma cell lines. The H1L1.1c2 cell allows for detection of AhR-active compounds that generally inactivated by metabolism in longer-time incubations.

A variety of genes, such as the cytochrome P4501A1 gene, is shown to be directly regulated by the AhR system in the CALUX cell line. Therefore, the CALUX assay is considered more appropriate for detecting AhR-active compounds that are relatively stable metabolically during the exposure time, and less appropriate for detecting AhR-active compounds that are metabolically converted to non-AhR binding forms in shorter-time incubations. Metabolically labile compounds, (*i.e.*, PAHs) tend to exhibit low AhR activities in the CALUX assay.

It is not recommended to conclude that the toxicities of chemicals should only be determined by their AhR activation. Although AhR activation is the key in causing dioxin-like toxicities, AhR activation followed by various signal activation expressions are also important in causing toxicity. Our results simply show if the tested compounds activated the AhR. Our results are useful however, in understanding the identification and characterization of AhR ligands in the CALUX assay.

#### 4. Conclusions

To identify toxic substances with DXN-like activity and to examine whether there was a correlation between AhR activities and the chemical structures of the candidate substances, we assessed the AhR activities of 39 PAHs (including nitrated derivatives, halogenated derivatives, and aminated derivatives), 23 pesticides, six amino acids, and eight amino acid metabolites using the CALUX assay. The majority of the PAHs examined (13 of 19) exhibited marked AhR activity. Notable, those PAH derivatives that contained multiple aromatic rings tended to be associated with greater activity. Conversely, lower levels of AhR activity were associated with halogenated derivatives that had multiple chlorine atoms. Meanwhile, there was no correlation between AhR activity and the number and position of nitrate and amine groups on the nitrated and aminated derivatives. Of the pesticides, amino acids, and amino acid metabolites tested, only those compounds with indole structures exhibited marked AhR activity.

In this study, we identified numerous AhR active (DXN-like) substances using the convenient CALUX assay for AhR ligand activity. Although the amounts of these compounds found in food would likely be minute, further studies are needed to assess the effects of these compounds on human health and to enhance the safety management of ordinary foods.

**Acknowledgments:** We thank Akane Yonehara for her technical assistance. This work was supported by a Health Sciences Research Grant from the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan.

**Author Contributions:** The listed authors contributed as follows: M.N. and H.H. conducted the assay and Y.A. and M.Y. analyzed the data. T.T., R.M., R.T. and T.W. helped interpreting the results. Y.A. organized the study and wrote the manuscript. All authors approved the final version.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

#### References

1. Matsuda, R. Estimation of dietary intake of contaminants. *Shokuhin Eisei Kenkyu* **2013**, *63*, 9–19.
2. Matsuda, R.; Watanabe, T. Shokuhin Karano Yugaibusshitsu Sessyuryousuitei to Sonoigi. *Farumashia* **2013**, *49*, 17–21.
3. Tsutsumi, T.; Matsuda, R. Estimation of dietary intake of dioxins. *Shokuhin Eisei Kenkyu* **2013**, *63*, 7–19. [[CrossRef](#)]
4. Jira, W.; Ziegenhals, K.; Speer, K. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) method for the determination of 16 European priority polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked meat products and edible oils. *Food Addit. Contam.* **2008**, *25*, 704–712. [[CrossRef](#)]
5. Daiokishinrui Ni Kakawaru Seibutsukenteihou Manual. *Environment Management Bureau; Ministry of Environment: Tokyo, Japan*, 2010.
6. Masaki, K.; Kawami, H.; Tanaka, T.; Handa, Y.; Nakamura, F.; Matsui, S.; Matsuda, T. Aryl hydrocarbon receptor ligand activity of polycyclic aromatic ketones and polycyclic aromatic quinones. *Environ. Toxicol. Chem.* **2007**, *26*, 1370–1379. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Tsutsumi, T.; Amakura, Y.; Nakamura, M.; Brown, D.J.; Clark, G.C.; Sasaki, K.; Toyoda, M.; Maitani, T. Validation of the CALUX bioassay for the screening of PCDD/Fs and dioxin-like PCBs in retail fish. *Analyst* **2003**, *128*, 486–492. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Overmeire, I.V.; Clark, G.C.; Brown, D.J.; Chu, M.D.; Cooke, W.M.; Denison, M.S.; Baeyens, W.; Srebrnik, S.; Goeyens, L. Trace contamination with dioxin-like chemicals: Evaluation of bioassay-based TEQ determination for hazard assessment and regulatory responses. *Environ. Sci. Policy* **2001**, *4*, 345–357. [[CrossRef](#)]
9. Hoogenboom, L.; Goeyens, L.; Carbonnelle, S.; van Loco, J.; Beernaert, H.; Baeyens, W.; Traag, W.; Bovee, T.; Jacobs, G.; Schoeters, G. The CALUX bioassay: Current status of its application to screening food and feed. *Trends Anal. Chem.* **2006**, *25*, 410–420. [[CrossRef](#)]
10. Han, D.; Nagy, S.R.; Denison, M.S. Comparison of recombinant cell bioassays for the detection of Ah receptor agonists. *BioFactors* **2004**, *20*, 11–22. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

11. International Agency for Research on Cancer (IARC). Some non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons and some related exposures. In *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*; IARC: Lyon, France, 2010; Volume 29, pp. 36–37.
12. Hayakawa, K.; Tang, N.; Toriba, A.; Kameda, T. Hazardous atmospheric pollutants in East Asia: Polycyclic aromatic hydrocarbons and nitropolycyclic aromatic hydrocarbons. *Bunseki* **2008**, *278*–284.
13. Zhao, B.; Bohonowych, J.E.S.; Timme-Laragy, A.; Jung, D.; Affatato, A.A.; Rice, R.H.; di Giulio, R.T.; Denison, M.S. Common commercial and consumer products contain activators of the aryl hydrocarbon (dioxin) receptor. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e56860. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Machala, M.; Vondráček, J.; Bláha, L.; Ciganek, M.; Neča, J. Aryl hydrocarbon receptor-mediated activity of mutagenic polycyclic aromatic hydrocarbons determined using *in vitro* reporter gene assay. *Mutat. Res.* **2001**, *497*, 49–62. [[CrossRef](#)]
15. Behnisch, P.A.; Hosoe, K.; Sakai, S. Brominated dioxin-like compounds: *In vitro* assessment in comparison to classical dioxin-like compounds and other polyaromatic compounds. *Environ. Int.* **2003**, *29*, 861–877. [[CrossRef](#)]
16. Gasiewicz, T.A.; Kende, A.S.; Rucci, G.; Whitney, B.; Willey, J.J. Analysis of structural requirements for Ah receptor antagonist activity: Ellipticines, flavones, and related compounds. *Biochem. Pharmacol.* **1996**, *52*, 1787–1803. [[CrossRef](#)]
17. Ashida, H.; Nishiumi, S.; Fukuda, I. An update on the dietary ligands of the AhR. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* **2008**, *4*, 1429–1447. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Takeuchi, S.; Iida, M.; Yabushita, H.; Matsuda, T.; Kojima, H. *In vitro* screening for aryl hydrocarbon receptor agonistic activity in 200 pesticides using a highly sensitive reporter cell line, DR-EcoScreen cells, and *in vivo* mouse liver cytochrome P450-1A induction by propyl, diuron and linuron. *Chemosphere* **2008**, *74*, 155–165. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Health-Pagliuso, S.; Rogers, W.J.; Tullis, K.; Seidel, S.D.; Ceniijn, P.H.; Brouwer, A.; Denison, M.S. Activation of the Ah receptor by tryptophan and tryptophan metabolites. *Biochemistry* **1998**, *37*, 11508–11515. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



© 2016 by the authors; licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons by Attribution (CC-BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

# 世界各国のトランス脂肪酸のリスク管理について

A Review on Trans Fatty Acid Risk Management by Different Countries

国立医薬品食品衛生研究所  
安全情報部

畝山智香子, 登田美桜

Division of Safety Information on Drug and  
Food  
National Institute of Health Sciences

Chikako UNEYAMA, Miou TODA

## I はじめに

2015年6月に、米国FDAが工業的に生産されるトランス脂肪酸を含む油脂（部分水素添加油）をGRAS（generally recognized as safe：一般的に安全とみなされる）から外すという最終決定を行い<sup>1)</sup>、それが日本国内では「トランス脂肪酸禁止」という正確でない表現で報道された。実際にはこれはトランス脂肪酸を巡る世界のさまざまな動きの最終段階であり、トランス脂肪酸問題はほぼ終わったと言える。日本では断片的に話題になるだけで全体像が伝えられることがあまりないので、ここで概要をまとめてみる。

## II トランス脂肪酸と健康影響

### 1 トランス脂肪酸の定義

まず、「トランス脂肪酸とは何か」であるが、最も単純な言い方をすれば油脂の構成成分である脂肪酸のうち、トランス型の二重結合をもつもの

のである。しかし食品中のトランス脂肪酸に関しては国により若干定義が異なる。おもな違いは天然由来のトランス脂肪酸を含めるかどうかと共役二重結合を含めるかどうかである。日本の消費者庁のトランス脂肪酸の情報開示に関する指針<sup>2)</sup>ではコーデックス委員会において採択された定義と同様、「少なくとも一つ以上のメチレン基で隔てられたトランス型の非共役炭素-炭素二重結合を持つ単価不飽和脂肪酸及び多価不飽和脂肪酸のすべての幾何異性体」と定義している。つまり天然由来のトランス脂肪酸は含まれるが共役リノール酸はトランス脂肪酸には含まない。フランスではAFSSA（現ANSES）が「少なくとも一つ以上の二重結合がトランスになっている不飽和脂肪酸」を採用し、二重結合の位置や脂肪酸の起源によらない<sup>3)</sup>。つまり共役リノール酸もトランス脂肪に含む。さらにスイスなどは「食用油脂のトランス脂肪は100g中2gまで」といった規制を行っているが、その場合、乳製品などに含まれる天然由来のものは規制対象から外している。韓国では

特に天然由来かどうかについては問わないようである。

いずれの定義を用いる場合でも、健康影響や規制という観点から問題になるのは天然由来のものではなく部分水素添加植物油脂を作る際に副生成物として生じる「人工のトランス脂肪酸」である。本稿では特に断らない限り、トランス脂肪酸は日本の定義を用いる。

## 2 健康影響

トランス脂肪酸の健康影響については、おもにトランス脂肪酸摂取量の多い国での研究で、トランス脂肪酸の摂取量が多いと冠動脈心疾患リスクが上がる事が示されている。例えば代表的な疫学研究である Nurses' Health Study では、総エネルギー摂取量に占めるトランス脂肪酸割合が2.9%以上の最も多く摂っている群に比べて、最も少なく摂っている1.3%以下の群は14年間のフォローアップ期間での冠動脈心疾患の相対リスクが0.3から0.71（不飽和脂肪酸の摂取量により異なる）と低いことが報告されている<sup>4)</sup>。トランス脂肪酸は血中LDLコレステロール濃度を上げ、HDLコレステロール濃度を下げることが確認されていて、おおむね総エネルギー摂取量の2%以上で冠動脈心疾患リスクを上げることはかなり信頼性が高いと言える。一方で乳製品由来のトランス脂肪酸ではそのような影響はみられないという報告があるが、乳製品や肉などからトランス脂肪酸のみを大量に摂取するのは不可能なので、天然のトランス脂肪酸には悪影響がないというより影響が小さく観察できないのであろう。乳製品を多く摂るとトランス脂肪酸摂取量は総エネルギー摂取量の1%近くになる。

WHOではトランス脂肪酸摂取量は総エネルギー摂取量の1%以下を勧告している。単純に高用量から低用量域に用量-反応関係を外挿して

1%以下でも有害影響があるという主張もあるが、疫学的に確認されているわけではない。そもそも摂取量推定はそれほど正確ではない。疫学研究に共通の問題であるが、トランス脂肪酸摂取量の多い人たちは他の食事要因にも問題のある場合が多く、運動やライフスタイル要因とも交絡があるので、ある程度の幅を考慮して数値を解釈すべきである。

## Ⅲ トランス脂肪酸問題の経緯

トランス脂肪酸についての歴史的経緯を表1にまとめてみた。

人工のトランス脂肪酸を含む部分水素添加油が食品に広く使われるようになったのは1980年代であるとされる。当時は動物性の脂肪に多い飽和脂肪が心血管系の健康によくないので植物性の不飽和脂肪に置き換えることでより健康的になると宣伝されて広まったようだ。つまりバターよりマーガリンのほうがよいという主張であった。不飽和脂肪酸の一種であるトランス脂肪酸の影響についてはまだ知られていなかった。1990年代にはいると部分水素添加油に含まれるトランス脂肪酸の健康影響についての研究・報告が次々発表されるようになり、2002年にはWHO/FAOと米国科学アカデミーがトランス脂肪酸の悪影響を確認し、摂取量を減らすことを勧告する<sup>5)</sup>。それ以降、各国がトランス脂肪酸の摂取量を減らすための対策を次々に行ってきた。有名なのは2003年にデンマークが食品中のトランス脂肪酸含量の上限を定める規制を行ったことである。その他の国も企業の自主的対策を要請したり専門の委員会を作って検討をはじめたり、市販製品のモニタリングをしたりといった形で何らかの対策をとっている<sup>6-8)</sup>。日本でも2004年に食品安全委員会がトランス脂肪酸についてのファクトシートを発表している。そして各国の市場調査の結果や専門委員会

表1 トランス脂肪酸についての歴史的経緯

年	月	海外	日本
1980年代		米国で飽和脂肪への懸念から部分水素添加植物油の使用が拡大。	
1990年代		トランス脂肪の心血管系悪影響に関する報告が増える。	
2002		「食事、栄養および慢性疾患予防に関する WHO/FAO 合同専門家会合」、トランス脂肪酸の平均摂取量を一日あたりの総エネルギー摂取量の1%未満とする目標を示す。	
2002		米国科学アカデミーの微量栄養素委員会がトランス脂肪摂取量はできるだけ少なくするよう助言。	
2003		デンマーク、販売・供給される食品に含まれるトランス脂肪酸については、最終製品に含まれる油脂100gあたり2gを超えてはならないとする規則。	
2004	12		食品安全委員会がトランス脂肪酸についてのファクトシート公表。
2004	12	欧州 EFSA、新規食品成分としてのエノバ油評価でトランス脂肪含量を下げるよう指示（通常のマーガリンを含む液状油が1%以下なのに対して4%以上）。	
2004		アルゼンチン、自主的トランス脂肪酸の削減を要請。	
2005	12	カナダ、栄養成分表示にトランス脂肪酸を義務化。	
2005	4	仏 AFSSA、トランス脂肪酸の報告書と助言を発表。	
2006	1	米国、栄養成分表示にトランス脂肪酸を義務化。	
2006		アルゼンチン、食品中の人工トランス脂肪酸の表示を義務化。	
2006	7	Codex 第29回総会で栄養表示ガイドラインにトランス脂肪酸の定義を追加。	
2007	7	ニューヨーク市、飲食業のトランス脂肪酸を一食あたり0.5g未満に制限。	
2007	12	韓国 KFDA（当時）、栄養成分表示にトランス脂肪酸を義務化。	
2007	12	英国 FSA、トランス脂肪に対しては自主的アプローチを推奨。	
2008		スウェーデン食品局、2007年のトランス脂肪酸測定結果を発表。スウェーデンは規制によらず食品業界との対話で対応してきたが、規制を行ったデンマークと同じ傾向であるとした。	
2008	1	台湾、栄養成分表示にトランス脂肪酸を義務化。	
2008		ヘルスカナダ、トランス脂肪酸含量が減っていると発表。	

年	月	海外	日本
2008	4	スイス, 食用植物油脂 100 g あたりトランス脂肪酸の総量は 2 g を超過してはならないという規則を導入。	
2009	9	オーストリア, 含量規制人工トランス脂肪酸が 100 g あたり 2 g 以上の油脂の国内流通を禁止。脂肪分が 20% 未満の加工食品やファストフードについては, 人工的なトランス脂肪酸の最大許容含有量を全脂肪 100 g あたり 4 g とした。	
2009	9	ブリティッシュコロンビア, 人工トランス脂肪の食品提供業者での使用制限。使用するすべてのマーガリンや油脂のトランス脂肪は総脂肪の 2% 以下, その他の食品については総脂肪含量の 5% 以下でなくてはならないとした。	
2009	11		福島瑞穂内閣府特命担当大臣が「トランス脂肪酸の含有量の表示の検討を消費者庁に指示した」と記者会見で語った。
2009	12		消費者庁がトランス脂肪酸に係る情報の収集・提供に関する関係省庁等担当課長会議(第一回)を開催。
2009	12	フィンランド EVIRA, マーガリンやスプレッド製品のトランス脂肪は少ないと報告(したがって問題にならない)。	
2010	7	香港, 栄養成分表示義務化。トランス脂肪酸を含む。	
2010			食品安全委員会, 「食品に含まれるトランス脂肪酸」について自ら評価を開始。
2011	1	カリフォルニア州, 人工トランス脂肪酸を禁止(一食あたり 0.5 g 以下)。	
2011	2		消費者庁, 「トランス脂肪酸の情報開示に関する指針」を公表。
2012	3		食品安全委員会, 「食品に含まれるトランス脂肪酸」の評価書を発表。
2012	5	シンガポール, 食用油脂のトランス脂肪酸の上限を 2% に設定。	
2012	11	EVIRA, 食用油や植物油を含む製品に 2% 以上のトランス脂肪は検出されないと報告。	
2012	12	KFDA, トランス脂肪酸の含量実態調査結果を発表(99% が 0.2 g 未満)。	
2013		英国保健省, 加工食品のトランス脂肪酸含量は相当減っているという報告。	

年	月	海外	日本
2014	4		消費者委員会食品表示部会等に提出されたトランス脂肪酸に関する資料のなかで、「食品安全委員会食品健康影響評価の概要」とされている部分が事実と異なっていることから、食品安全委員会が科学的に行った食品健康影響評価を説明する資料を改めて作成。
2014	4		消費者委員会、食品ワーキング・グループで食品の安全・表示等についての検討開始。
2014		アルゼンチン、加工食品のトランス脂肪酸を総脂肪の5%以内に規制 <sup>25)</sup> 。	
2015	2	豪州・ニュージーランド FSANZ、オーストラリアとニュージーランドの食品のトランス脂肪酸濃度が低い ため表示の義務化は正当化できないと結論。	
2015	4		食品表示法施行。
2015	5		消費者委員会食品ワーキング・グループ、「トランス脂肪酸に関するとりまとめ」を発表。
2015	6	FDA、2018年以降人工トランス脂肪酸をGRASから外すことを決定。	
2015	7	香港食品健康書記 Ko Wing-man 博士、部分水素添加油の使用を禁止する計画は政府にはないと語る。	
2015	8	British Medical Journal に「トランス脂肪は死亡や心疾患リスクの大きいことと関連するが、飽和脂肪は関連しない」というレビューが発表された。	

の結論などをうけて既存の食品栄養成分表示にトランス脂肪酸含量の表示を加えたり、事業者への成分変更を求めたりといった具体的対策を実施していったのが2000年代半ば頃である。食品事業者も部分水素添加植物油中のトランス脂肪酸含量を削減したり、部分水素添加油を別の油脂に変更したりといった対策をとり、急激にトランス脂肪酸摂取量は減っていった。日本に関係のある出来事としては、2004年に日本で特定保健用食品として販売されている油脂を欧州で販売するにあたり、欧州では食経験のない新規食品についてはEFSAの評価が必要であるので評価を受けたところ、トランス脂肪酸含量が4%以上と多いの

で一般の植物油同様の1%未満に下げるよう指摘されている<sup>9)</sup>。ところが食品安全委員会のファクトシートもこの特定保健用食品の問題も、日本のメディアが取り上げることはほとんどなかった。一方で2007年にニューヨーク市がレストランで提供される食品中のトランス脂肪酸含量に規制を設けたこと<sup>10)</sup>についてはなぜか日本で注目され報道された。2010年頃までにはほとんどの国でトランス脂肪酸についての対策は出そろい、対策の成果として国民の摂取量が低下していることが続々と発表されていた<sup>11-24)</sup>。

2009年、日本で消費者庁を担当することになった福島瑞穂内閣府特命担当大臣がトランス脂肪酸

表2 トランス脂肪酸の一人あたりの摂取量

	1日あたり摂取量 (g)	摂取エネルギーに占める割合 (%)	推定方法 ( ) 内はトランス脂肪酸含有量の調査年
日本 (平均)	1.56	0.7	生産量から推定 (1998年)
	1.3	0.6	生産量から推定 (2006年)
	0.7	0.3	積み上げ方式 (2006年)
米国 (成人平均)	5.8	2.6	積み上げ方式 (1994～1996年)
EU諸国			積み上げ方式 (1995～1996年)
男性平均			
最小値 (ギリシャ)	1.2	0.5	
最大値 (アイスランド)	6.7	2.1	
女性平均			
最小値 (ギリシャ)	1.7	0.8	
最大値 (アイスランド)	4.1	1.9	
オーストラリア (2歳以上平均)	1.4	0.6	積み上げ方式 (2006年)
ニュージーランド (15歳以上平均)	1.7	0.7	積み上げ方式 (2006年)

(食品安全委員会より)

の表示を検討するよう指示し、それまでほとんど動きのなかった日本国内での評価や検討が始まった。2009年以降消費者庁の表示の指針の発表や食品安全委員会での評価、消費者委員会での議論等があったが、評価結果は基本的には2004年時点でのファクトシートと同様、日本人の摂取量は少なく問題になることはないというものであった。世界での動きを反映して業界の自主的対策により食品中のトランス脂肪酸含量はさらに減っていたので、表示を含めて特に対策の必要性は低いことが確認されている(表2)。

そして世界で最もトランス脂肪酸摂取量の多い国の一つであったアメリカでは、2006年に連邦政府が栄養成分表示にトランス脂肪酸含量を表示することを義務化して以来、州や市レベルで食品中の上限基準を設けたりしてはいたが、徐々に食品中のトランス脂肪酸は減っていった。同時に国民の関心も移り変わり、2013年にUSDAが発表した、1989年から2010年までに新たに販売された

食品の健康や栄養に関する強調表示を調査した報告書によると、トランス脂肪ゼロなどのトランス脂肪に関する強調表示は2007年をピークに減少し、2010年の流行はもはや脂肪ではなくグルテンであった<sup>26)</sup>。こうしたことを背景に、FDAは2013年に部分水素添加油脂をGRASから外すことを提案し<sup>27)</sup>、2015年に最終決定としたのである。企業には完全履行は2018年と時間的猶予も与えた。いきなり厳しい規則を押しつけたのではなく、状況をみながら徐々に対策を強化してきたのであり、もしもどこかの時点で十分であると判断されていればそれ以上の強い対策はとらなかったかもしれない。実際には広く使われていた過去があるためか、規制しなければ不十分と判断される状況だったので規制に至った。2018年以降部分水素添加油脂を使いたい場合には、新規の食品添加物として安全性に関するデータを揃えたうえでFDAに認可を申請することになる。

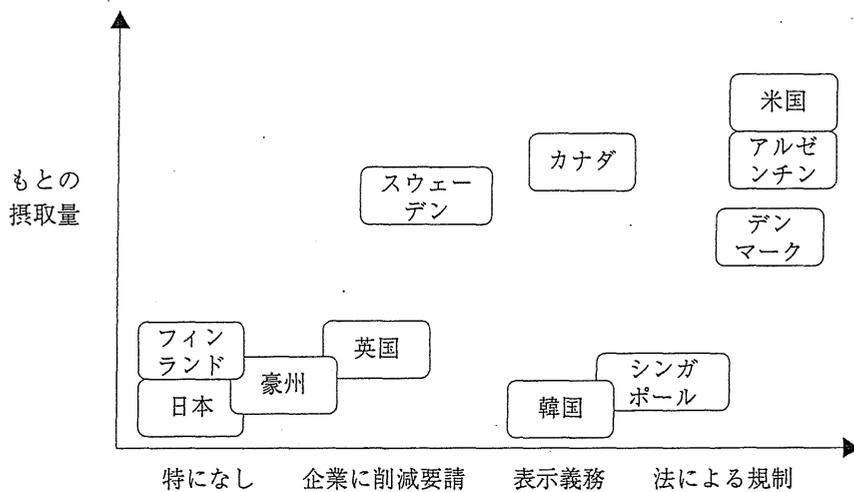


図1 トランス脂肪酸を巡る対応のイメージ図

#### IV 各国の摂取量と対応

前章で、トランス脂肪酸については世界各国でいろいろな対応がとられたと述べたが、それを大雑把にまとめると図1のようになる。国による対応としては特になしにもしない、企業に公式に削減を要請する、栄養成分表示の義務化、法により使用を制限したり食品中の上限を定めたりする、の順番に強力な対応とみなして横軸に並べた。もともと国によりトランス脂肪酸の摂取量は異なっていたが、おおまかな傾向としては摂取量の多い国ほど強力な規制を行っている。それは当然ではあるが、もともとの摂取量が同程度であっても違う対応をしている事例もある。例えばスウェーデンとデンマークはもともと同じような摂取状況であったが、削減対策としてはスウェーデンが企業による自主的削減を要請したのに対し、デンマークは法により食品の基準を決めるという異なる対応を行った。どちらも結果としてはトランス脂肪酸の摂取量が減っている。デンマークは基準を設定した効果で減ったと、スウェーデンは法律を作ったりしなくても減らすことができ費用対効果の高いやり方だったとそれぞれが自己評価している。日本、韓国、シンガポールは食生活が欧米

とは相当異なるのでもともとトランス脂肪酸の摂取量は少なかったが、それでも韓国やシンガポールは食品中の基準を設定している。韓国の場合は設定した基準に違反するような食品はもともとほとんど存在しないので、基準を設定したことによる摂取量削減効果は不明であるが、検査を行って合格率が高いと発表することで国民を安心させるという効果を出しているようだ。このような違いは国民が国に何を期待しているのかということや、リソースの割り当てなど、科学的リスク以外の要因で生じていると考えられる。もちろんどのようなリスク管理手段をとるかはその国ごとに選択すべきことではあるが、なぜそのような手法をとったのかは説明されるべきだし、それについての消費者も含めた関係者の合意形成が必要であろう。

結果としてはほぼすべての国で人工のトランス脂肪酸の摂取量は減っている。

#### V 結 果

ところで、食事由来トランス脂肪酸摂取量を減らすことの最大の目的は、冠動脈心疾患を減らすことである。実は冠動脈心疾患は世界中で1980年代以降順調に減り続けている。例えば米国で

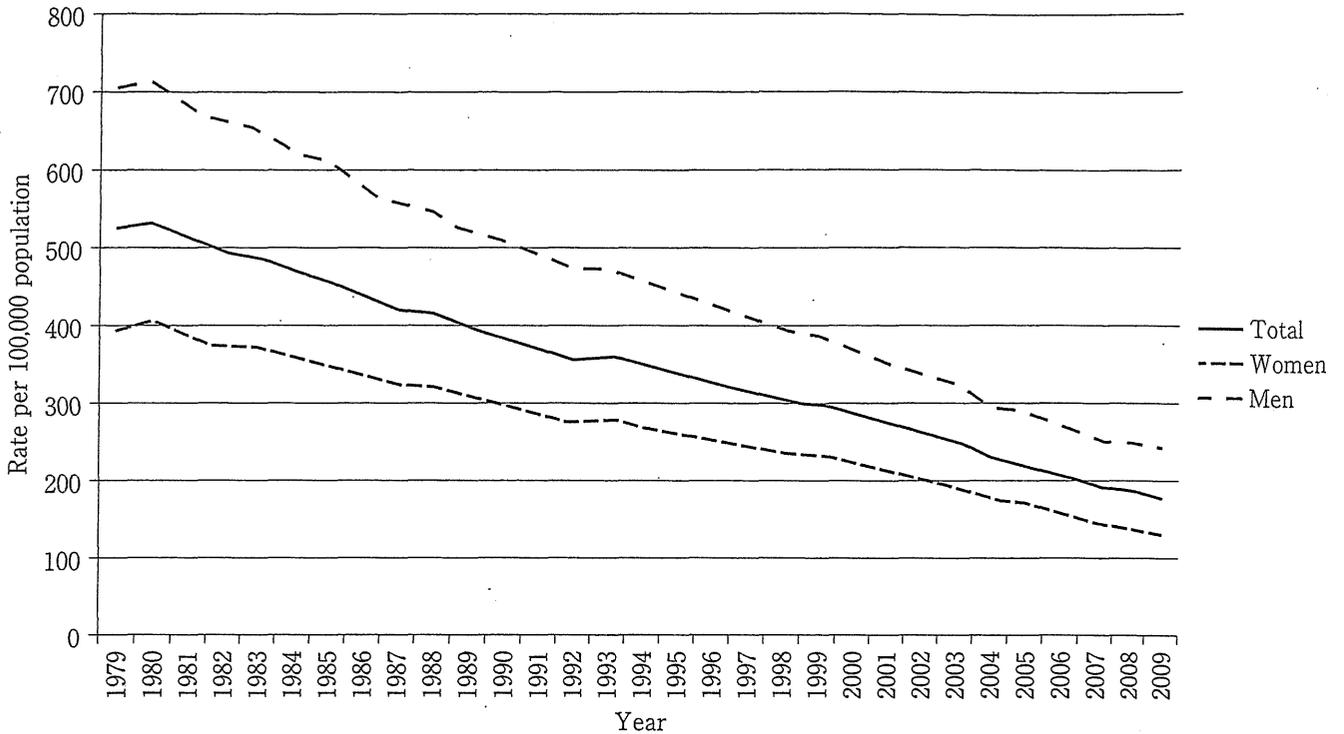


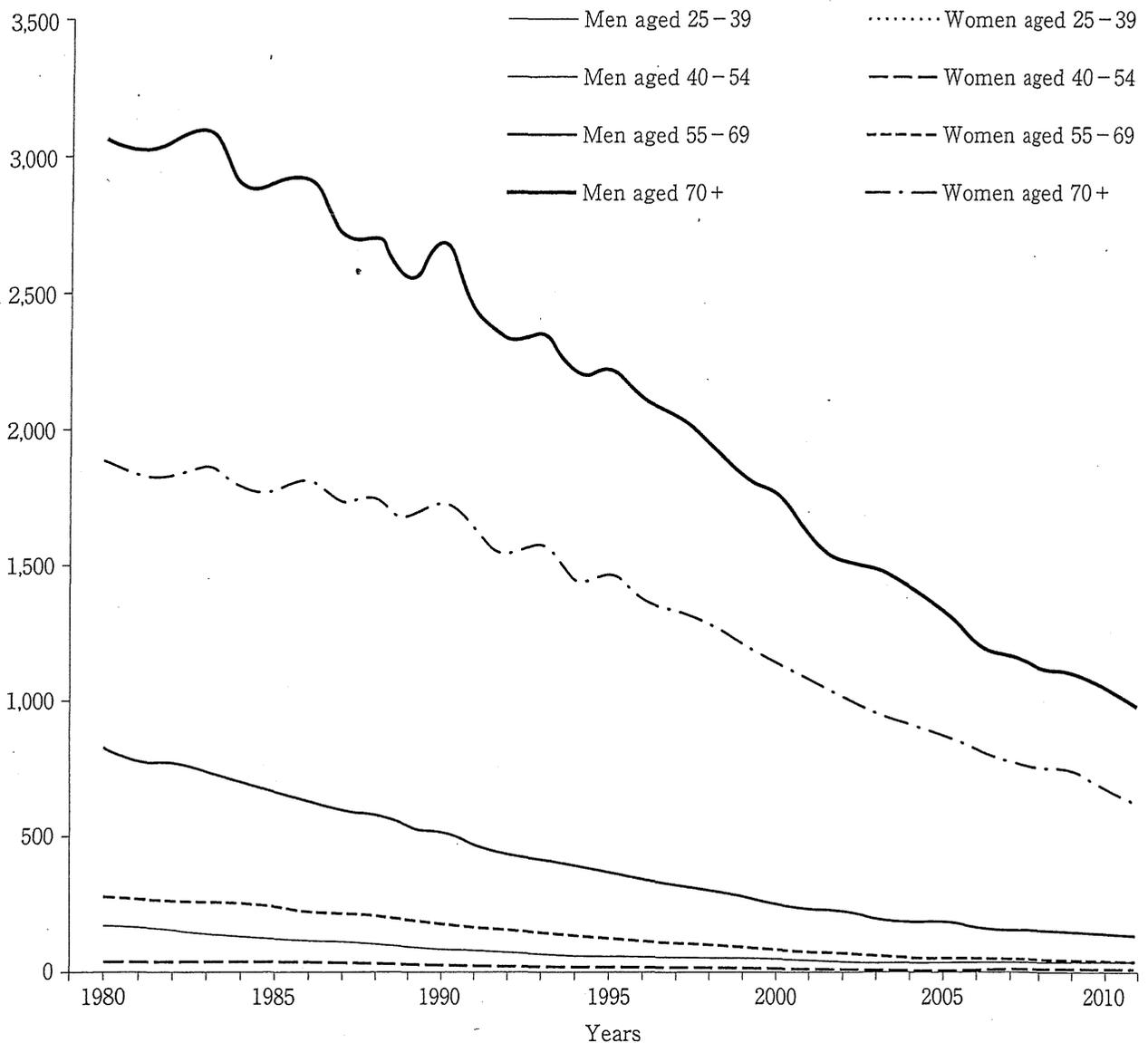
図2 25才以上の米国成人の冠動脈心疾患による年齢調整死亡率<sup>28)</sup>

の25才以上の成人の冠動脈心疾患による年齢調整死亡率は図2のようで、トランス脂肪摂取量が増えていた1980年代でも減少している<sup>28)</sup>。トランス脂肪摂取量がアメリカほど多くはなかったオーストラリアでも冠動脈心疾患の年次傾向は図3に示すように同様である<sup>29)</sup>。そしてもともと欧米ほど冠動脈心疾患が多くはない日本でも減少している。これは煙草対策と医療が大きく、例えば1987年にFDAが最初のスタチン系医薬品ロバスタチンを認可して以来、スタチン系医薬品は広範に使用されるようになった。救命救急技術も進歩した。もちろんトランス脂肪酸対策のような食生活の改善も寄与因子ではあろうが、アメリカ人の肥満率を見る限り、アメリカ人の食生活がよくなったと考えるのは難しい。CDCによると18才以上のアメリカ人の肥満(BMIが30 kg/m<sup>2</sup>以上)の割合は、男性が1999～2002年には26%だったのが2007～2010年には33%、女性は1999～2002年が32%で2007～2010年は35%と着実に

増えている<sup>30)</sup>。肥満は冠動脈心疾患のリスク要因であるが、アメリカ人は肥満が増加していながら冠動脈心疾患による死亡率は劇的に低下しているのである。このため、トランス脂肪酸の摂取量を減らしたことがどれだけ冠動脈心疾患を減らすのに寄与しているのかを推定するのは難しい。もちろん一定の仮定のうえに計算することは可能で、2015年6月のFDAの発表ではそうした仮定のもとに計算してトランス脂肪酸の摂取量削減で数千人の命が救われると計算している。

そしてこの冠動脈心疾患の大幅な減少はもう一つの余波を産みだした。これまで冠動脈心疾患のリスク要因とされてきた飽和脂肪酸の影響が観察し難くなったのである<sup>31)</sup>。ある病気の罹患率が高い場合にはそれに影響を与える要因を見つけるのは比較的簡単である。しかし、患者が減ると同じ率で影響を与えたとしても効果としては確認されにくくなる。かつては飽和脂肪酸もトランス脂肪酸も明確にリスク要因だったかもしれないが、現

Deaths per 100,000 population



Notes:

1. Age standardised to the Australian Estimated Resident Population as at 30 June 2001.
2. Deaths for 2009 and 2010 are based on revised and preliminary versions respectively and are subject to further revision.

Source: AIHW National Mortality Database.

Figure 2.1: Trends in age-specific CHD death rates, 1979-2010

図3 冠動脈疾患死亡率の傾向：年齢集団別 豪州保健福祉研究所報告書<sup>29)</sup>

在ではそれほど明確な影響は観察できなくなっている。トランス脂肪酸については現在の世界では大量に摂取している人たちの集団はほぼ存在しないので疫学研究を改めて行うことは不可能であり、「過去の問題」である。飽和脂肪酸についてはまだこれから紆余曲折が予想される。

食品中の天然のトランス脂肪酸が減ったりなくなったりしたわけではないが、人為的に加えられるトランス脂肪酸を管理することにより、トランス脂肪酸の健康問題はほぼ解決することができた、といえる。これは食品中の汚染物質や製造副生成物としてはどちらかといえばまれな、管理が

比較的容易で解決しやすい問題であった。ただし、リスク管理そのものの困難さの程度とは別に、日本ではリスクコミュニケーションについては相当な課題が明らかになったことも確かである。特に科学的根拠に基づかない各種対応は税金やもともと

少ない専門家の時間などのリソースを無駄にし、国民の利益にならないものである。トランス脂肪酸の事例は、最小限の資源で最大限の利益を得るためにはどのような対応が望ましいのかを考えるための参考として学ぶことは多いと考える。

## 参 考 文 献

- 1) FDA. The FDA takes step to remove artificial trans fats in processed foods. 2015 [cited 2015; Available from: <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm451237.htm>.
- 2) 消費者庁. トランス脂肪酸に関する情報. 2011; Available from: <http://www.caa.go.jp/foods/index5.html>.
- 3) AFSSA. 食品中トランス脂肪酸の健康リスクとベネフィットについて. Accessed 2005: <http://www.afssa.fr/ftp/afssa/basedoc/CP.pdf>.
- 4) Hu, F.B. and *et al.*, Dietary Fat Intake and the Risk of Coronary Heart Disease in Women. *N Engl J Med* 1997. 337: p.1491-1499.
- 5) NAS. Report Offers New Eating and Physical Activity Targets To Reduce Chronic Disease Risk. 2002; Available from: <http://www8.nationalacademies.org/onpinews/newsitem.aspx?RecordID=10490>.
- 6) KFDA. トランス脂肪酸低減化推進など子供食ベ物安全対策政策ロードマップ用意. Accessed 2006: [http://www.kfda.go.kr/open\\_content/kfda/news/press\\_view.php?seq=1086&av\\_pg=1&service\\_gubun=&textfield=&keyfield=](http://www.kfda.go.kr/open_content/kfda/news/press_view.php?seq=1086&av_pg=1&service_gubun=&textfield=&keyfield=).
- 7) ヘルスカナダ. Health Canada welcomes final report from Trans Fat Task Force. Accessed 2006: [http://www.hc-sc.gc.ca/ahc-asc/media/nr-cp/2006/2006\\_50\\_e.html](http://www.hc-sc.gc.ca/ahc-asc/media/nr-cp/2006/2006_50_e.html).
- 8) BLW. ミルクや肉もトランス脂肪酸を含む. 2007; Available from: <http://www.blw.admin.ch/dokumentation/00016/00261/index.html?lang=de&msg-id=10803>.
- 9) EFSA, Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to an application to market Enova oil as a novel food in the EU. *The EFSA Journal*, 2004. 159: p.1-19.
- 10) NYC. MORE THAN 80 % OF NYC RESTAURANTS NOW USING ZERO GRAMS TRANS FAT OILS 2007; Available from: <http://www.nyc.gov/html/doh/html/pr2007/pr052-07.shtml>.
- 11) スウェーデン食品局. Fat Quality 2007. Accessed 2008: [http://www.slv.se/upload/dokument/rapporter/matnaring/2007\\_fettkvalitet\\_version\\_1.pdf](http://www.slv.se/upload/dokument/rapporter/matnaring/2007_fettkvalitet_version_1.pdf).
- 12) 香港食品安全センター. Warning issued on trans fat. 2008; Available from: [http://www.cfs.gov.hk/english/programme/programme\\_rafs/programme\\_rafs\\_n\\_01\\_07.html](http://www.cfs.gov.hk/english/programme/programme_rafs/programme_rafs_n_01_07.html).
- 13) EVIRA. No harmful trans fats found in margarines and fat spreads. Accessed 2009: [http://www.evira.fi/portal/en/research\\_on\\_animal\\_diseases\\_and\\_food/current\\_issues/?bid=1824](http://www.evira.fi/portal/en/research_on_animal_diseases_and_food/current_issues/?bid=1824).
- 14) FSAI. FSAI Survey Shows Low Trans-Fatty Acid Content in Fast Food 2009; Available from: <http://www.fsai.ie/pr07042009.html>.
- 15) KFDA. '08年度お菓子類のトランス脂肪酸実態調査結果発表. Accessed 2009: [http://kfda.go.kr/open\\_content/news/press\\_view.php?seq=1674&av\\_pg=2&textfield=&keyfield=](http://kfda.go.kr/open_content/news/press_view.php?seq=1674&av_pg=2&textfield=&keyfield=).
- 16) ヘルスカナダ. Trans Fat. 2009; Available from: <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/nutrition/gras-trans-fats/index-eng.php>.
- 17) ヘルスカナダ. The Government of Canada Releases Data Showing Trans Fat Levels in Canadian Foods are Declining 2009; Accessed 2009: [http://www.hc-sc.gc.ca/ahc-asc/media/nr-cp/\\_2009/2009\\_15-eng.php](http://www.hc-sc.gc.ca/ahc-asc/media/nr-cp/_2009/2009_15-eng.php).

- 18) FSA, National Diet and Nutrition Survey published, 2010.
- 19) FSANZ. Trans fatty acids. Accessed 2010: <http://www.foodstandards.gov.au/consumerinformation/transfattyacidsdecem4187.cfm>.
- 20) KFDA. 菓子類のトランス脂肪酸大きく減って-菓子類中94%が0.2 g未満. Accessed 2010: <http://www.kfda.go.kr/index.kfda?mid=56&page=safeinfo&mmid=327&seq=11137&cmd=v>.
- 21) RIVM. Dutch National Food Consumption Survey 2007-2010: Diet of children and adults aged 7 to 69 years. 2011; Available from: <http://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/350050006.html>.
- 22) Sonia Y. Angell and *et al.*, Change in Trans Fatty Acid Content of Fast-Food Purchases Associated With New York City's Restaurant Regulation: A Pre-Post Study *Ann Intern Med.*, 2012. 2: p.81-86.
- 23) Steen Stender and *et al.*, A trans European Union difference in the decline in trans fatty acids in popular foods: a market basket investigation. *BMJ Open* 2012. 2: p.e000859.
- 24) EVIRA. Harmful trans fatty acid contents low in spreads and vegetable fat ice creams. 2012 [cited 2015; Available from: [http://www.evira.fi/portal/en/food/current\\_issues/?bid=3195](http://www.evira.fi/portal/en/food/current_issues/?bid=3195).
- 25) Rubinstein, A. and *et al.*, Eliminating artificial trans fatty acids in Argentina: estimated effects on the burden of coronary heart disease and costs. *Bulletin of the World Health Organization* 2015. 93: p.614-622.
- 26) USDA. Introduction of New Food Products With Voluntary Health-and Nutrition-Related Claims, 1989-2010. 2013 [cited 2015; Available from: <http://www.ers.usda.gov/publications/eib-economic-information-bulletin/eib108.aspx>.
- 27) FDA. FDA takes step to further reduce trans fats in processed foods. 2013; Available from: <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm373939.htm>.
- 28) Ford, E.S. and *et al.*, Challenges of Ascertaining National Trends in the Incidence of Coronary Heart Disease in the United States. *J Am Heart Assoc.*, 2014. 3: p.e001097.
- 29) Welfare, A.I.o.H.a. Trends in coronary heart disease mortality: age groups and populations. 2014; Available from: <http://www.aihw.gov.au/WorkArea/DownloadAsset.aspx?id=60129547044>.
- 30) CDC, Obesity-United States, 1999-2010. *MMWR*, 2013. 62: p.120-128.
- 31) Souza, R.d. and *et al.*, Intake of saturated and trans unsaturated fatty acids and risk of all cause mortality, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ*, 2015. 351: p.h3978

## 製造業・販売業・飲食店のための HACCP 入門

プラン作成から実施まで

HACCP システムについて基礎的な事項から、製造業・販売業・飲食店の業態別導入ポイントまでをわかりやすく解説。

●B5判・40ページ ●411円（本体価格＋税）

公益社団法人日本食品衛生協会

