

平成30年8月30日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26460886

研究課題名(和文) 汚染危険食品に含まれる未知有害化学物質の検索と毒性の解明

研究課題名(英文) A search for unknown toxic compounds in processed foods and in eluates from food containers under various conditions

研究代表者

佐藤 啓造 (Sato, Keizo)

昭和大学・医学部・教授

研究者番号：20162422

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：加工食品44品目から残留農薬202種類はすべて検出されなかった。唯一、医薬用外劇物として検出されたのはキムチ関連7食品からトルエン、キシレンが検出されたが、いずれも許容限度(50ppm)未満であった。その他、指定化合物3102種、食品香料参考規格1482種の食品添加物が検出された。容器から溶出される化学物質の検索では食品衛生法で規定されていない植物油浸漬で電子レンジ750W1分間加熱により中国製弁当箱からヘキサデカノイックアシッドブチルエステル、オクタデカノイックアシッドブチルエステル、トランス-9-オクタデカノイックアシッドが検出されたが、環境ホルモン様物質は検出されなかった。

研究成果の概要(英文)：Two hundred and two any residual pesticides were not detected from fourty four processed foods even made in China. Only xylene was detected from seven processed foods, especially from kimchis, but the amounts were under 50 ppm. When a lunch box made in China filled with vegitable oill was heated with a microwave oven (750W) for 1 min, hexadecanoic acid butylester, octadecanoic acid butylester and trans-9-octadecanoic acid were detected from the eluate, but no environmental estrogenic substances were detected from the eluate.

研究分野：法医学

キーワード：食品容器 溶出 加工食品 残留農薬 環境ホルモン GC/MS LC/ESI-MS/MS QToF-MS

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 昨今、超巨大地震および、それに伴う津波、原子力発電所事故により土壌、川の水、海水、農作物、魚類などが放射性物質を初めとする未知の有毒成分により汚染され、汚染を除去するためには、どのような物質で、どの程度汚染されているかを的確に把握する必要がある。とりわけ、食品がどんな有毒成分で、どの程度汚染されているかを正確に分析することが求められている。このことは海外からの輸入食品についても、最新鋭の分析機器を用いて再度、検討する必要がある。

(2) 食品保存容器の原料となる樹脂や可塑剤に含まれる化学物質が食品の保存中に溶出してくることが知られている。たとえば、食品保存容器として広く用いられているポリ塩化ビニル、ポリスチレン、ポリカーボネートから化学物質フタル酸エステル、スチレンダイマー・トリマー、ビスフェノール A がそれぞれ溶出されてくることが報告されている。しかし、食品保存容器から、そのような条件下で、どの程度の化学物質が溶出されてくるか、溶出予測モデルは作成されていない。また、溶出されてくる化学物質の中には従来からの化学物質検出法であるガスクロマトグラフィー (GC) / 質量分析法 (MS) や高速液体クロマトグラフィー (HPLC) / MS では検出できない物質も多く含まれているはずである。

## 2. 研究の目的

(1) 各種の食品保存容器に水と油を種々の比率で入れ、温度、pH、保存期間をさまざまに変化させ、容器から溶出されてくる化学物質を従来からの分析法である GC/MS、LC/MS のほか、最新鋭で未知の化学物質の同定能力に優れ、かつ高感度な LC/タンデム MS (MS-MS) さらに Q-ToF 型 LC/MS-MS により定性・定量し、データを統計学的に解析することにより化学物質の溶出予測モデルを作成すること

である。分子量 4000 までの物質の同定能力に優れた LC/MS-MS (API4000QTrap) と分子量 20 ~ 100,000 までの未知微量化学物質を小数点以下 4 ケタまでの高精度で高感度に同定できる Waters Q-ToF 型 LC/MS-MS を用いて分析するので、多数の未知の化学物質が発見されることが予測される。既知の化学物質についても従来は検出されなかった条件下で検出される可能性も十分ある。逆に、本研究で検出されなければ、食品の保存法の安全性が保証されるといえる。

(2) 超巨大地震の被災地や原子力発電所事故周辺の地域からの農産物や海産物について、同時に、海外からの輸入食品についても、上記の LC/MS-MS や Q-ToF 型 LC/MS-MS、さらに従来からの GC/MS-MS を用いて定性・定量することにより未知の有害化学物質を検索することを目的とする。本研究で用いる分析機器は高精度かつ高感度であり、我々は抽出法についても熟練しているので、本研究で有害化学物質が検出されなければ、当該食品は安全である可能性が極めて高い。

## 3. 研究の方法

### (1) 食品に含まれる未知有害化学物質

#### 材料

東京都内のスーパーマーケットおよび中華街で購入したカクテキ、スリムカクテキ、キムチ、冷凍あさり、冷凍ブロッコリー、冷凍野菜ミックス、冷凍とん汁の具、生餃子、水餃子、野菜炊き合わせ、筑前煮、ひじきと豆のサラダ、ニシン甘酢煮など 44 食品の国内産、中国産、韓国産のものを分析した。

#### 分析方法

#### ) 分析対象

GC/MS 分析対象農薬はテトラコナゾール、カルボキシシン、トリアゾホスなど 87 種、LC-ESI/MS-MS 分析対象農薬はメソミル、ジクロメジン、ラクトフェンなど 115 種について各食品の残留農薬の有無を調べた。同時に、

同じ条件下にて未知有害化学物質の有無についても検討した。

#### )食品前処理法の概要

厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課通知による「加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法について」(平成 25 年 3 月 26 日通知)で示されている前処理法を用いた。

#### )GC/MS、LC/MS 分析

GC/MS は既知の残留農薬については SIM モードで、未知の化学物質についてはスキャンモードで分析した。LC/MS、LC/MS-MS については既知の残留農薬については農薬特異的 SRM (selective reaction monitoring) モードで、未知の化学物質については QToF-MS のスキャンモードで分析した。

#### (2)容器から溶出される化学物質の検索

##### 材料

東京都内の雑貨店、日用品店で購入したカップ麺用の容器、合成漆器、カラー椀、レジヤースプーン、弁当箱、サラダパック、割り箸、カラー箸、ゴム風船など 33 品目(日本製と中国製の両方)の容器類を用いた。

##### 溶出方法

食品衛生法で規定される 4 種類の疑似溶媒〔( ) 水性食品の保存には水(蒸留水)、( ) pH5 以下の酸性食品では 4%酢酸、( ) アルコール性食品では 20%エタノール、( ) 油性食品ではヘプタン〕のほか、( ) 植物油を容器に入れ、電子レンジを使用した後に植物油に移行した化学物質についても分析した。具体的な溶出条件は( ) 水 95 60 分間浸漬、( ) 4%酢酸 4 1 週間浸漬、( ) 20%エタノール 25 1 週間浸漬、( ) ヘプタン 25 60 分間浸漬、( ) 植物油 20ml を容器にのせて容器表面を十分浸せるよう上下左右に容器を傾けた後に 750W 電子レンジで 1 分間加熱した。

#### GC/MS、LC/MS 分析

LC/MS はイオン化はエレクトロスプレーを用い、QToF-MS のスキャンモードで分析した。

GC/MS もスキャンモードで分析した。

#### 化合物の検索方法

質量分析で得られたマススペクトルは NIST ライブラリ(2011 年 CD 版)のほか、Web で公開されている Mass Bank、Mass-Finder、Chem Spider を利用して未知化合物の検索を行った。

## 4 . 研究成果

### (1)食品に含まれる未知有害化学物質の分析

#### GC/MS による残留農薬の分析

今回使用した前処理法と GC/MS 分析で 87 種すべての農薬が夾雑物と交差することなく分析できたが、対象食品 44 品目から 87 種の残留農薬は国産、中国産、韓国産にかかわらず、すべて検出されなかった。

#### GC/MS による未知有害化学物質の検索

TIC (total ion chromatogram) には多数のピークが検出されたが、マススペクトルから化合物の同定ができたのは全体の約 1/4 であり、食品由来のアミノ酸、糖、脂肪、テルペンなどのほか、指定化合物 3102 種、食品香料参考規格 1482 種の食品添加物が検出され、具体的には佃煮のりではピペリン、ひじきと豆のサラダではペリルアルデヒドとビタミン E、みそかつおにんにくではソルビン酸、韓国産キムチにはアジピン酸が多量に検出された。また、ぬか漬け、発酵白菜キザミ食品、辣腐豆腐などから発酵に伴って生成される脂肪酸エチルエステルが多量に検出された。今回、唯一医薬用外劇物として検出されたのはキムチ関連 7 食品からトルエン、キシレンが検出されたが、許容限度(50ppm)未満であった。キシレンはキムチ関連食品の発酵過程で生成されたと推測される。

#### LC/MS による残留農薬の分析

LC-ESI/MS-MS による SRM で個々の農薬に特徴的なピークは 115 種全て検出されなかった。

#### LC/MS による未知有害化学物質の検索

QToF-MS による精密質量の検索では 1 つのピ

ークについて 50 種以上の化合物がヒットし、化合物の同定には至らなかった。脂肪、アミノ酸、ペプチド、糖類などのメタボロミクス解析に有用なデータは豊富に存在するが、未知有害化合物の同定には至らなかった。

#### (2)容器から溶出される化学物質の検索

95 水 60 分浸漬の GC/MS 分析では合成漆器からベンゼンカルボキシリックアシッドジプロピルエステルが検出された。LC-ESI/MS 分析ではゴム風船から分子量差 78 の化合物が周期的に検出され、天然物由来の重合体と推測されたほか、ブルーカップ、カラー箸、カップ麺用の容器から未知の化合物が検出された。これらは中国製のもので多数検出された。また、柔軟性を持たせた容器から合成漆器で検出された化合物と同程度の量の未知ピークが検出されたが、硬質性の容器からは MS の検出ピークがほとんど認められなかったため、容器の柔軟剤が溶出されていると推測される。ヘプタン 25 60 分間浸漬ではブルーカップからジエチレングリコールジベンゾエートやトリエチレングリコールジベンゾエートと考えられるピークが GC/MS で検出された。植物油・電子レンジ使用による溶出では弁当箱〔商品名：メンズランチボックス（ポリエチレン・ポリプロピレン、中国製）〕からヘキサデカノイックアシッドブチルエステル、オクタデカノイックアシッドブチルエステル、トランス-9-オクタデカノイックアシッドが検出された。食品衛生法で規定された疑似溶媒ヘプタン浸漬ではこの 3 種の化合物は検出されなかった。また、同じポリエチレン・ポリプロピレンを用いたクリームしぼり袋（製造国不明）からは植物油・電子レンジ使用の溶出でも 3 種の化合物は検出されなかった。さらに、いずれの溶出方法でも環境ホルモン様物質は検出されなかった。

#### <引用文献>

厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審

査課通知、「加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法について」2012 年 10 月 13 日（2018 年 5 月 6 日アクセス）  
<http://www.mhlw.go.jp/topics/yunyu/other/2012/dl/130326-01.pdf>

#### 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

#### 6 . 研究組織

##### (1)研究代表者

佐藤 啓造 (SATO, Keizo)

昭和大学・医学部・教授

研究者番号：20162422

##### (2)研究分担者

李 曉鵬 (中内 曉博)(LEE, Xiao-Pen)

昭和大学・医学部・准教授

研究者番号：90245829

藤城 雅也(FUJISHIRO, Masaya)

昭和大学・医学部・助教

研究者番号：00527161