

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23615010

研究課題名(和文)植物性食品中の2-アルキルシクロブタノンの動態解明と照射検知技術への応用

研究課題名(英文)Dynamics of 2-Alkylcyclobutanones in plant foods and their application in the detection of irradiation history

研究代表者

等々力 節子(TODORIKI, Setsuko)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・食品総合研究所・食品安全研究領域・上席研究員

研究者番号：30353973

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：高分解能ガスクロマトグラフ-質量分析(GC-HRMS)を用いる2-アルキルシクロブタノン類(2-ACBs)の高感度分析法を開発し、この化合物が非照射品には存在しない照射特異的な分解生成物であることを再確認した。さらに、1 kGyまたは5 kGy以上の照射を行った大豆、ナツメグ、カシューナッツなどの植物種子から2-ACBsが検出されること、貯蔵中の分解により含量減少が起こるが、30週間貯蔵後でも検出が可能であったことなどから、2-ACBsが植物性食品においても照射履歴の検知に有効な指標物質であると判断した。

研究成果の概要(英文)：Irradiation of fat containing food generates a family of molecules, namely 2-alkyl cyclobutanones (2-ACBs). Absence of 2-ACBs was confirmed in non-irradiated nutmeg and cashew nut using high-resolution gas chromatography-mass spectrometry. 2-ACBs were detected in irradiated soybeans and cashew nut at 1 kGy or greater and identified in the irradiated nutmeg at 5 kGy or greater. Radiation production yields of these 2-ACBs were 1.1 to 3.8 nmole/mole precursor fatty acids, same order as animal foods. 2-DCB and 2-dDCB was found in irradiated nutmeg even after 30 weeks of storage. These results indicate the usefulness of 2-ACBs as marker compound for the identification of irradiation history of food from plant origins.

研究分野：時限

科研費の分科・細目：安全環境計測法

キーワード：放射線照射食品 食品安全 リスク評価 履歴判別

1. 研究開始当初の背景

(1) 食品の放射線照射は、国際的に殺菌や植物検疫の目的での実用化が進んでいるが、我が国では、パレイショの芽止めを例外として、食品への放射線照射は原則禁止されたまま、国レベルでのリスク評価が進んでいない。

2010年5月に公表された厚生労働省の食品照射技術に関する見解では、食品衛生法の規制を変更して、照射の認可を香辛料などにも拡大するか否かの検討には、放射線照射によって分解生成する 2-アルキルシクロブタノン類(2-ACBs)に関する毒性学的知見、および、同化合物の暴露量評価の基礎となる植物性食品中での含有量に関する知見が不足しているとされた。

(2) 2-アルキルシクロブタノン(以下2-ACBs)は、放射線照射のみにより特異的に生成する脂肪(トリグリセリド)の分解生成物である。標準品の2-ACBsは、遺伝毒性を有する疑いがあること、また、2008年に、非照射の天然ナツメグおよびカシューナッツ中における検出したとされる報告があることから、リスク評価の観点と照射食品検知法の指標化合物としての信頼性の観点の両面から、植物性食品中での動態解明が重要な課題となっていた。

2. 研究の目的

本研究では、脂肪酸(脂肪)の放射線分解物である、2-ACBsについて、2次代謝産物の多い植物性食品中での高感度分析法を開発し、照射後の消長を明らかにする。これにより、照射食品中の2-アルキルシクロブタノンに由来する健康影響(リスク)評価の基本となる、暴露量評価の基礎データの取得を目指す。また、同時に低線量を照射した農産物の検知技術への応用の可能性を探る。

3. 研究の方法

(1) 2-ACBsの高感度検出法の検討：高分解能ガスクロマトグラフィー質量分析(GC-HRMS)計を用い、2-ACBsのフラグメントイオン m/z 98.073, 95.086 および 112.088 を検出対象として、未照射のナツメグ(5ロット)およびカシューナッツに添加した2-ACBs、2-decylcyclobutanone(2-DCB)、2-dodecylcyclobutanone(2-dDCB)、2-tetradecylcyclobutanone(2-tDCB)および2-tetradecenylcyclobutanone(2-tDeCB)の検出を行った。

(2) 植物性食品中での2-ACBsの定量：大豆(エンレイ、フクユタカ)、ナツメグ、カシューナッツについて、ガンマ線を1~30kGy照射し、超臨界流体抽出(SFE)法および、シリカおよびスルフォキシド結合シリカによる固相抽出を用いて精製した試料を用い、GC-MSにより、2-ACBsを定量した。別途、各試料から総脂質を抽出し、脂肪酸含量をGC分析により求め、先駆脂肪酸から対応する2-

アルキルシクロブタノンへのガンマ線照射による生成効率を求めた。

(3) 2-ACBsの安定性の検討

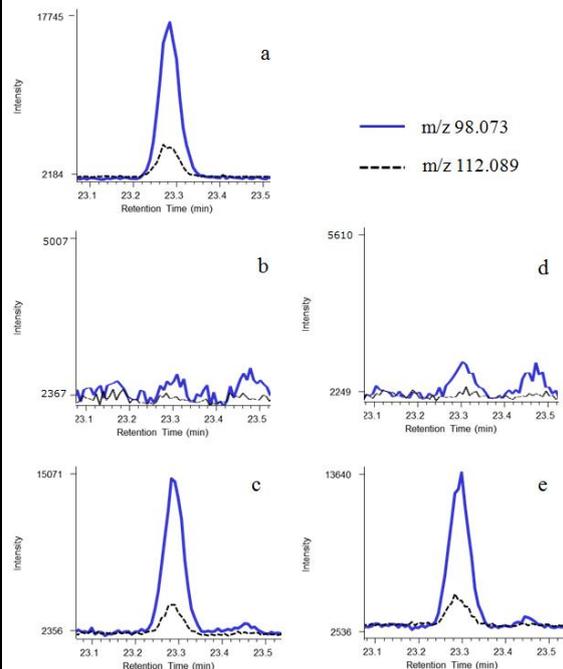
①2-dDCB標準化合物の脂質中での変動：50mgの2-dDCBを250 μ Lのオリーブ油に溶解し(濃度200mg/mL)、バイアル中で好気条件、室温(20 $^{\circ}$ C)で放置し、経時的な含量の変化をGCにより定量した。

②照射ナツメグの貯蔵中の含量変化：5kGyおよび10kGyの60-Coガンマ線を照射したナツメグを、8-10 $^{\circ}$ C大気下で遮光保存し、貯蔵中の2-decylcyclobutanoneおよび、2-dDCBの含量の経時的な変化を追跡した。

4. 研究成果

(1) 2-アルキルシクロブタノンの高感度定量法の検討：2-ACBsの天然存在の報告されているナツメグ(5ロット)およびカシューナッツ(2ロット)について、2-ACBsが検出できるか否かの検討を行った。SFEとSPEによる試料抽出前処理法を用い、SFEHRGC-MSによる検出を行うことで、カシューナッツに添加した、4ng/gの2-dDCB、8ng/gの2-tDCB、34ng/gの2-tDeCBの検出に成功したが、同時に分析した未照射(無添加)試料では、いずれの2-ACBsも検出されなかった。(図1)

図1. 天然非照射カシューナッツのGC-HRMSクロマトグラム(2-dDCB溶出時間付近)



(a) 6ng/mL 2-dDCB標準液; (b), 非照射カシューナッツ(control) Lot A; (c), 非照射(Lot A)+4ng/g 2-dDCB添加; (d), 非照射カシューナッツ(control) LotB; (e), 非照射カシューナッツ(LotB)+4ng/g 2-dDCB添加

同様にナツメグに添加した 0.016 $\mu\text{g/g}$ の 2-DCB, 0.032 $\mu\text{g/g}$ の 2-dDCB も GC-HRMS で検出できたが、同時分析した無添加 (コントロール) 試料には 2-DCB は検出されなかった。以上から、天然 (未照射) のナツメグ及び、カシューナッツにおける 2-ACBS の存在は、確認できないと結論した。

2-ACBS は、加熱や他の食品加工処理で生成せず、放射線照射のみによって生ずる放射線特異的分解生成物であると考えられ、この化合物の検出を根拠に、食品の照射履歴の有無を確認する検知法のマーカーとして、国際的な標準分析法やわが国の行政検査における分析法として利用されている。ところが、天然 (非照射) ナツメグおよびカシューナッツからの検出報告 (Variyer, 2008) がなされ、検知法の指標化合物としての信頼性に疑義が生じていた。本報告では、HR-MS を用いたより高感度な検出法を用いても、2-ACBS が天然 (非照射) 植物性原料から検出されず、同化合物の植物性食品の放射線照射履歴の検出指標としての妥当性が再確認された。

(2) 植物性食品中での 2-ACBS の定量：植物種子試料から SFE および SPE を用いて抽出・精製した試料を GC-MS で分析することで、1 kGy 以上のガンマ線を照射した大豆 (エンレイ、フクユタカ)、カシューナッツから、2-dDCB、2-tDeCB および 2-tDCB を、また、5 kGy 以上のガンマ線を照射したナツメグから 2-DCB および 2-dDCB の検出が可能であった。これらの化合物のは線量依存的に増加し、各試料の脂肪酸含量から、1 kGy の照射で生ずる先駆脂肪酸あたりの 2-ACBS をまとめると表 1 のようになり、これまで報告されてきた畜肉等と同レベルの生成効率が確認された。

表 1. 植物性食品での 2-ACBS の生成効率

食品	nmole/mmole 脂肪酸/kGy			
	2-DCB	2-dDCB	2-tDCB	2-tDeCB
カシューナッツ	-	1.3	1.3	1.7
ナツメグ	1.3	3.8	-	-
大豆(フクユタカ)	-	1.5	1.1	2.2
大豆(エンレイ)	-	1.7	1.2	2.4

(3) 2-ACBS の安定性の検討

① 2-dDCB 標準化合物の脂質中での変動：50mg の 2-dDCB を 250 μL のオリーブ油に溶解し (濃度 200mg/mL)、バイアル中で好気条件、室温 (20°C) で放置し、経時的な含量の変化を GC により定量した結果、ガスクロマトグラムのピーク面積から、その含量の低下が認められ、室温・72 時間放置後には、初期濃度の 74% までの減少が認められた。(図 2) この時、ガスクロマトグラムには、48 時間以降、GC 分析によるクロマトグラムに、2-dDCB より遅い保持時間に、新規ピークを確認した (図 3)。

このピークは、72 時間後にはさらにピーク面積が増加し、2-dDCB が酸素存在下で変化して生じたものと推察された。

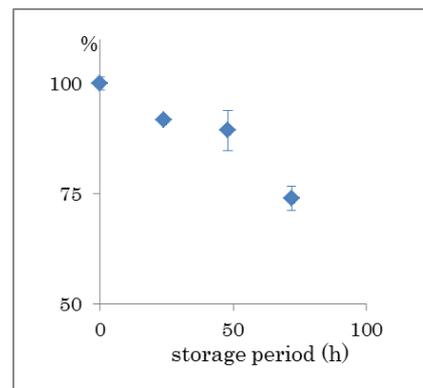


図 2. オリーブ油中の 2-dDCBs の濃度減少

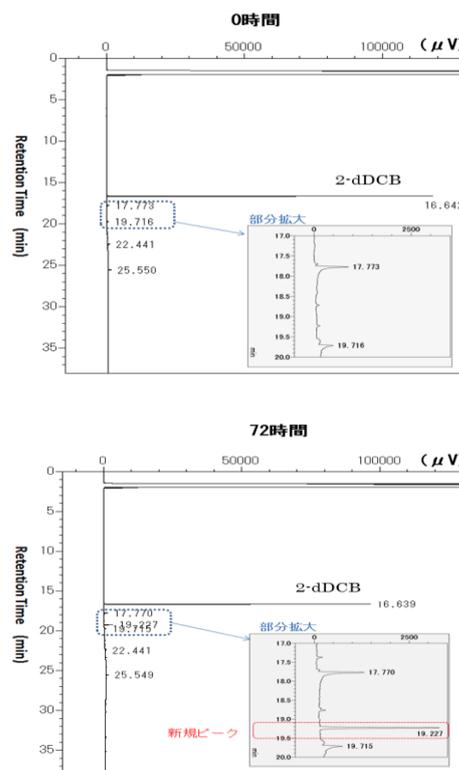


図 3. オリーブ油に溶解した 2-dDCBs のガスクロマトグラム (分解物の生成)

② 照射ナツメグの貯蔵中の含量変化：5 kGy および 10 kGy の 60-Co ガンマ線を照射したナツメグを、8-10°C 大気下で遮光保存し、貯蔵中の 2-DCB および、2-dDCB の含量の経時的な変化を追跡した。これらの 2-ACBs は貯蔵期間に応じて減少し、2-DCB および 2-dDCB は照射直後に比較して、30 週後には 65% および 75% となった (図 4)。従って、照射ナツメグ中においても、オリーブ油中に比べて分解速度は小さいものの、なんらかの分解反応が起こっていることが推察された。ただし、2-ACBs の残存量は照射履歴の検知の指標として、十分であり、これらを用いた検知の有用性が示唆された。

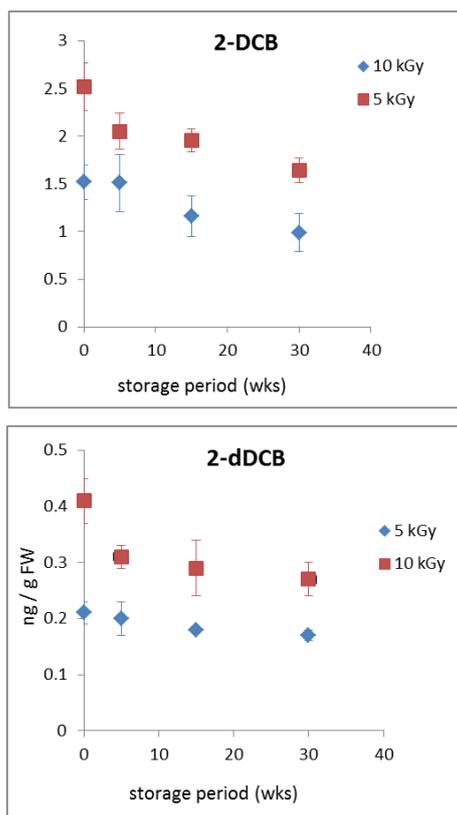


図 4. 照射ナツメグ中の 2-DCB および 2-dDCB の貯蔵中の濃度変化 (8-10°C)

脂質含量の多い植物種子においては、殺菌だけでなく、殺虫を想定した 1 kGy 程度の線量でも 2-ACBs の検出が可能であったが、検出可能な期間については、今後さらに確認する必要があると考えられた。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 2 件)

- ①Chen,S., Tsutsumi,T. Takatsuki,S. Matsuda,R. Kameya, H., Nakajima,M., Furuta, M., Todoriki,S. Identification of 2-Alkylcyclobutanones in Cashew Nut (*Anacardium Occidentale*), 食品照射、査読有, 47(2012) pp19-28
<http://dx.doi.org/10.5986/jrafi.47.19>
- ②Chen,S., Tsutsumi,T. Takatsuki,S. Matsuda,R. Kameya, H., Nakajima,M., Furuta, M., Todoriki, S. Identification of 2-alkylcyclobutanones in nutmeg (*Myristica fragrans*) Food Chemistry 査読有, 134 (2012) pp359-365.
DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.02.176

[学会発表] (計 1 件)

- ①等々力節子、亀谷宏美、矢野えりか、森山達哉、河村幸雄、ガンマ線照射した大豆の品質解析 (2) 脂質成分およびアレルギー性、第 50 回アイソトープ・放射線研究発表会 2013 年 7 月 4 日 (東京大学)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・食品総合研究所・食品安全研究領域・上席研究員

等々力 節子 (TODORIKI, Setsuko)

研究者番号：30353973