

各種調味料及び漬物中のクロロプロパノール類含有量調査

鈴木 仁*, 田端 節子**, 木村 圭介**,
飯田 憲司**, 鎌田 国広***

The Content of Chloropropanols in Various Seasonings and Pickles

Jin SUZUKI*, Setsuko TABATA**, Keisuke KIMURA**,
Kenji IIDA** and Kunihiko KAMATA***

Chloropropanols (3-chloro-1,2-propanediol (3-MCPD), 1,3-dichloro-2-propanol (1,3-DCP), 2,3-dichloro-1-propanol (2,3-DCP)) levels in 106 samples of seasonings and 25 samples of pickles were determined by gas chromatography with mass spectrometric detector (GC/MS). The limit of quantification was 0.01mg/kg.

3-MCPD was detected from 22 samples of 106 seasonings. In particular, high level 3-MCPD of 0.1mg/kg or more was detected from some samples from Thailand and the Philippines. 2,3-DCP was detected from 2 samples that detected a high level of 3-MCPD.

3-MCPD was detected from 3 samples of 25 pickles.

Keywords : クロロプロパノール chloropropanol, 3-クロロ-1,2-プロパンジオール 3-chloro-1,2-propanediol, 1,3-ジクロロ-2-プロパノール 1,3-dichloro-2-propanol, 2,3-ジクロロ-1-プロパノール 2,3-dichloro-1-propanol, 調味料 seasoning, 漬物 pickles, 醤油 soy sauce, ガスクロマトグラフィー/質量分析計 GC/MS

はじめに

クロロプロパノール類 (以下 CP) は、3-クロロ-1,2-プロパンジオール (以下 3-MCPD), 2-クロロ-1,3-プロパンジオール (以下 2-MCPD), 1,3-ジクロロ-2-プロパノール (以下 1,3-DCP) 及び 2,3-ジクロロ-1-プロパノール (以下 2,3-DCP) 等の総称で、ラットの雄性生殖能の低下や腎・肝毒性等が報告されているものもある。これらはタンパク質を塩酸でアミノ酸に加水分解する際に、原材料中の脂質と塩酸との副反応により生成することが知られている。近年、国内外ではアミノ酸液を調味料に使用した製品が販売されている。

3-MCPD の規制値は、マレーシア・中国・オーストラリア・ニュージーランドでは醤油に、アメリカでは植物タンパク加水分解物に設定され、EU では醤油・植物タンパク加水分解物双方に設定されている。また、カナダではオリエンタル・ソース類に設定されている。一方、日本では規制値は設定されていない。調味料中の CP 含有量については、2000~2002 年におけるアメリカ¹⁾ 及びイギリス²⁾ のデータはあるが、日本では 1995 年のデータのみである³⁾。そこで著者らは、2004 年度にインターネット上や東京都内の店頭で販売されている各種調味料中に含まれる CP 含有量調査を行った。また、原材料に醤油やタンパク加水分解

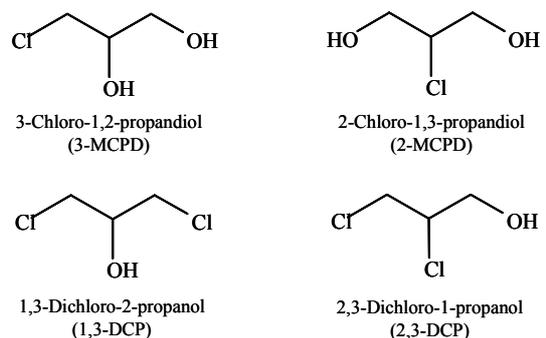


Fig. 1. Structures of Chloropropanols

物を使用した漬物・そうざいについても調査した。

実験方法

1. 試料

2004年6~12月にインターネット及び東京都内で市販されていた液体調味料(醤油, 魚醤, つゆ等) 106 試料及び 2004年10~11月に東京都内で市販されていた漬物・そうざい 25 試料を試料とした。調味料の内訳は国産 33, タイ産 22, 中国(含む香港)産 21, 韓国産 8, フィリピン産 7,

* 東京都健康安全研究センター医薬品部医薬品研究科 169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

** 東京都健康安全研究センター食品化学部食品成分研究科

*** 東京都健康安全研究センター精度管理室

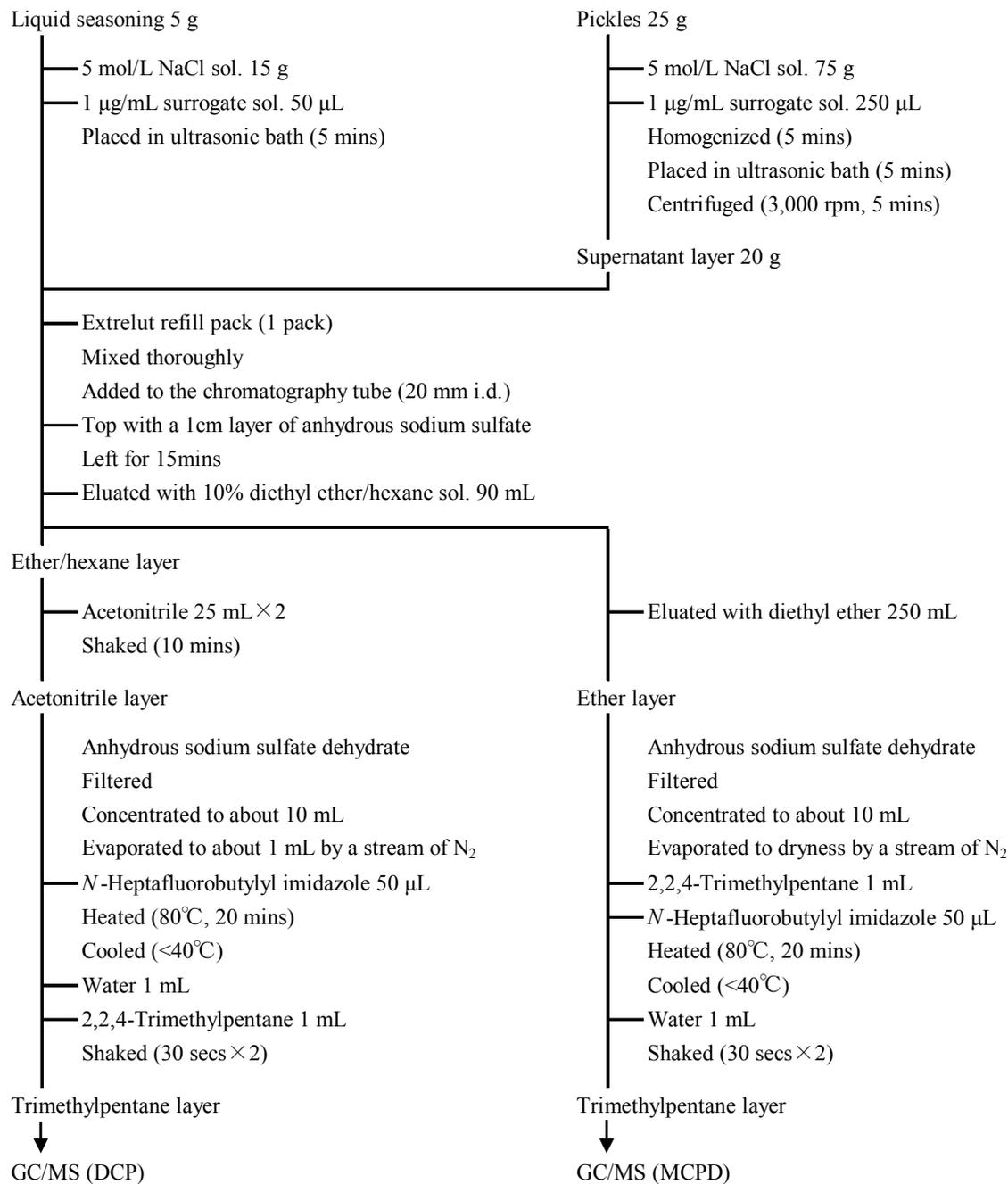


Fig. 2. Schematic Diagram for Determination of Chloropropanols in Seasonings and Pickles

台湾産 4, インドネシア産 2, オーストラリア産 2, シンガポール産 2, ベトナム産 2, スイス産 1, ベリーズ産 1 及びペルー産 1 試料であった。漬物・そうざいの内訳は中国産 16, 韓国産 8 及び国産 1 試料であった。

2. 調査項目

3-MCPD, 1,3-DCP 及び 2,3-DCP の 3 項目である。

3. 試薬

3-MCPD, 1,3-DCP : 和光純薬工業 (株) 製特級

2,3-DCP : Avocado Research Chemicals Ltd. 製

3-MCPD-*d*₅, 1,3-DCP-*d*₅ : Cambridge Isotope Laboratories,

Inc. 製

ジエチルエーテル (以下エーテル) : 関東化学 (株) 製特級

N-ヘプタフルオロブチリルイミダゾール (以下 HFBI) : Pierce Chemical Co. 製

水 : 超純水製造装置 Milli-Q SP TOC (日本ミリポア (株) 製) で製造した比抵抗値 18 MΩ・cm の超純水

充填剤: エキストレルート NT 充填剤 (MERCK KGaA 製) その他の試薬は和光純薬工業 (株) を使用した。

4. 装置

ガスクロマトグラフ-質量分析計 (GC/MS) : ガスクロマ

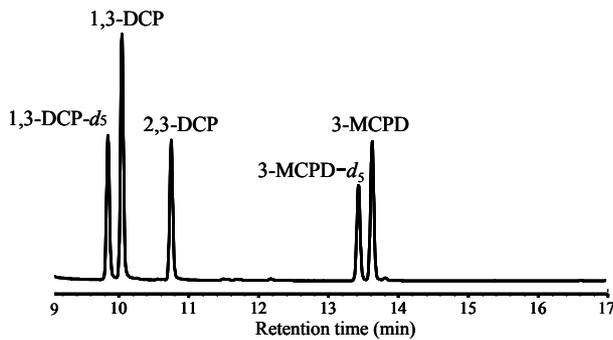


Fig.3. SIM Chromatogram of Chloropropanols

トグラフ HP6890, 質量分析計 HP5973, 以上 Hewlett Packard Co.製

5. GC/MS 測定条件

カラム : DB-5MS (0.25 mm i.d.×30 m, 膜厚 0.25 μ m, Agilent Technologies, Inc.製)

カラム温度 : 50 $^{\circ}$ C (2 分) \rightarrow 2 $^{\circ}$ C/分 \rightarrow 80 $^{\circ}$ C (0 分) \rightarrow 15 $^{\circ}$ C/分 \rightarrow 300 $^{\circ}$ C/分 (15 分)

注入量 : 1 μ L (スプリットレス)

ヘptaフルオロブチリル誘導体 (以下 HFB) モニターイオン (m/z) :

3-MCPD : 253, 275, 289, 291, 453 (主に 253 を使用)

1,3-DCP : 110, 111, 275 (主に 275 を使用)

2,3-DCP : 110, 111, 253 (主に 253 を使用)

3-MCPD- d_5 : 257, 456 (主に 257 を使用)

1,3-DCP- d_5 : 278

6. 標準溶液及びサロゲート溶液の調製

1) 標準溶液 3-MCPD, 1,3-DCP 及び 2,3-DCP 各々 100 mg を精密にはかり, 各々 酢酸エチル 100 mL に溶解し, 1,000 μ g/mL 標準原液とした。これらを 2,2,4-トリメチルペンタン (以下イソオクタン) で希釈・混合し調製した。

2) サロゲート溶液 3-MCPD- d_5 及び 1,3-DCP- d_5 各々 100 mg を精密に秤り, 酢酸エチル 100 mL に溶解しサロゲート原液とした。これをイソオクタンで 1,000 倍に希釈し調製した (1 μ g/mL)。

7. 試験溶液の調製

Fig. 2 に従って行った。液体調味料は, 塩化ナトリウム水溶液及びサロゲート物質を加えて超音波による抽出後, 充填剤を加えてスパーテルで攪拌しながら吸着させた。10%エーテル-ヘキササン溶液で DCP2 種を溶出し, さらにエーテルで 3-MCPD を溶出させた。得られた溶出液を各々 HFB 化して試験溶液を調製した。

漬物・そうざいは, 塩化ナトリウム水溶液及びサロゲート物質を加え, ホモジナイズ, 超音波による抽出及び遠心分離を行った。得られた上清について, 液体調味料に準じて調製した。

8. 定量法

標準溶液にサロゲート溶液を加えて, 試験溶液の調製と同様に操作し, HFB 誘導体化したものをを用いて検量線を作成した。3-MCPD 及び 1,3-DCP はサロゲート補正を行って定量し, 必要に応じて標準添加法を併用した。2,3-DCP について絶対検量線法を用いた。なお, 本法の定量下限値は 0.01 mg/kg であった。

結果及び考察

1. 分析法の検討

GC/MS による食品中の CP 分析法として, DCP では試料直接ヘッドスペース導入法⁴⁾ 及びカラム抽出-HFB 化法⁵⁾ が報告されて, MCPD の分析法としてはカラム抽出-フェニルホウ酸誘導体 (以下 PB) 化法³⁾ 及び DCP と同様のカラム抽出-HFB 化法⁶⁾ が報告されている。DCP 分析において用いられていたカラム抽出-HFB 化法と MCPD 分析の同法は, モニターイオン等の GC/MS 条件が若干異なるのみであり, 誘導体化, クリーンアップ等の試料調製の操作に相違は見られず, DCP と MCPD を同時に測定する一斉分析法としての可能性が認められた。MCPD の GC/MS 昇温条件を用い, 各 CP 誘導体の分離を検討したところ, 十分な分離が確認された (Fig. 3)。なお, 各 CP 誘導体の定量に際して, 3-MCPD 及び 2,3-DCP では m/z 253, 1,3-DCP は m/z 275, 3-MCPD- d_5 は m/z 257, 1,3-DCP- d_5 は m/z 278 をモニターイオンとして使用した。一部試料では m/z 253 に妨害が認められたことにより, その際には 3-MCPD は m/z 453, 2,3-DCP は m/z 111, 3-MCPD- d_5 は m/z 456 を使用した。なお, 2-MCPD は純度の確かな標準品が入手できなかったため, 測定項目から削除した。

3-MCPD が検出された試料について, より正確な定量値を得るためにサロゲート法と標準添加法を併用して定量を行った。多くの試料ではサロゲート法のみでの定量値と併用した方法の定量値はほぼ一致したが, 高濃度 (0.1 mg/kg 以上) 検出した試料では分析法間で定量値に 20%以上異なる場合があった (Table 1)。この要因として, 標準溶液を分析した際には標準物質とサロゲート物質はクロマトグラム上では完全に分離していることから, 実試料の場合にはマ

Table 1. Difference between Analysis Methods of 3-MCPD Fixed Quantity Value (mg/kg)

Sample	Used Sarrogate Method Only	Used Sarrogate Method together with Standard Addition Method
A	0.26	0.26
B	7.5	6.0
C	13	9.1
D	1.6	1.9
E	0.93	0.87
F	0.82	0.71

Table 2. Contents of 3-Chloro-1,2-propandiols in Liquid Seasoning

Country of Origin	Sample	Number	Positive of Numbers	3-MCPD (mg/kg)
Japan	Soy Sauce	12	6	0.02 (3), 0.03, 0.05 (2)
	Drip of Roast Meat	1	1	0.01
	Oyster Sauce	1	1	0.02
	Seasoning Made of Soy Sauce	13	3	0.01, 0.02, 0.04
	Soybean Paste	3	0	
	Miscellaneous Sauce	3	0	
Thailand	Soy Sauce	7	2	0.71, 0.87
	Fish Sauce	6	1	0.26
	Oyster Sauce	2	0	
	Chilli Sauce	1	0	
	Soybean Paste	1	0	
	Miscellaneous Sauce	5	0	
China	Soy Sauce	10	0	
	Fish Sauce	2	0	
	Oyster Sauce	7	0	
	Chilli Sauce	1	0	
	Miscellaneous Sauce	1	0	
Korea	Soy Sauce	3	0	
	Drip of Roast Meat	2	2	0.02, 0.03
	Fish Sauce	2	0	
	Shrimp Sauce	1	0	
The Philippine	Soy Sauce	4	3	1.9, 6.0, 9.1
	Fish Sauce	3	0	
Taiwan	Soy Sauce	2	1	0.04
	Oyster Sauce	1	0	
	Miscellaneous Sauce	1	0	
Australia	Abalone Sauce	2	2	0.01 (2)
Other		9	0	
Total		106	22	0.01~9.1

(): The number of samples

トリックス効果が生じてくることが推察された。そこで定量は、サロゲート補正した定量値を採用することを基本とし、0.1 mg/kg 以上検出した試料に関しては、標準添加法を併用した定量値を用いることとした。

2. 調味料中の CP 含有量

調味料中の 3-MCPD 及び 2,3-DCP の含有量について、検出量を原産国及び種類別に分類し、3-MCPD は Table 2 に、2,3-DCP は Table 3 に示した。なお 1,3-DCP は全試料検出されなかった。

調味料中の 3-MCPD は、国産品 11 試料及び輸入品 11 試料から検出された。国産品の最高値は 0.05 mg/kg であり、アメリカなどの規制値 (1 mg/kg) よりかなり低い値であった。

一方輸入品では、タイ産では 0.26~0.87 mg/kg、フィリピン産では 1.9~9.1 mg/kg と高濃度検出された試料がみられた。従来の報告において高濃度検出される事例が多かった中国産では全試料検出されなかった。

試料の種類別では、醤油及び醬油を原材料とするものからの検出事例が多かった。また、0.5 mg/kg 以上検出された 5 試料すべてが醤油であった。一方、魚醤はフィリピン産の 1 試料を除き検出されなかった。このことは、醤油と魚醤の製法の違いによるものと考えられる。

2,3-DCP は 3-MCPD が検出されたタイ産 2 試料から検出された。DCP 類は 3-MCPD が多量に存在するときに検出され相関性があるといわれているが、今回の調査では検出事例も少ないため相関性について検討していない。

Table 3. Contents of 2,3-Dichloro-3-propanol in Liquid Seasoning

Country of Origin	Sample	Number	Positive of Numbers	2,3-DCP (mg/kg)
Japan	Soy Sauce	12	0	
	Drip of Roast Meat	1	0	
	Oyster Sauce	1	0	
	Seasoning Made of Soy Sauce	13	0	
	Soybean Paste	3	0	
	Miscellaneous Sauce	3	0	
Thailand	Soy Sauce	7	2	0.01 [3-MCPD 0.87mg/kg] 0.02 [3-MCPD 0.71mg/kg]
	Fish Sauce	6	0	
	Oyster Sauce	2	0	
	Chilli Sauce	1	0	
	Soybean Paste	1	0	
	Miscellaneous Sauce	5	0	
China	Soy Sauce	10	0	
	Fish Sauce	2	0	
	Oyster Sauce	7	0	
	Chilli Sauce	1	0	
	Miscellaneous Sauce	1	0	
Korea	Soy Sauce	3	0	
	Drip of Roast Meat	2	0	
	Fish Sauce	2	0	
	Shrimp Sauce	1	0	
The Philippine	Soy Sauce	4	0	
	Fish Sauce	3	0	
Taiwan	Soy Sauce	2	0	
	Oyster Sauce	1	0	
	Miscellaneous Sauce	1	0	
Australia	Abalone Sauce	2	0	
Other		9	0	
Total		106	2	0.01~0.02

Table 4. Contents of 3-Chloro-1,2-propanediol in Pickles

Country of Origin	Number	Positive of Numbers	3-MCPD (mg/kg)
Japan	1	0	
China	16	3	0.03, 0.06, 0.07
Korea	8	0	
Total	25	3	0.03~0.07

3. 漬物・そうざい中の CP 含有量

漬物・そうざい中の 3-MCPD の含有量について、検出量を原産国に分類し、Table 4.に示した。なお、1,3-DCP 及び 2,3-DCP は検出されなかった。漬物・そうざい中の 3-MCPD は、中国産 3 試料から検出された。中国産の漬物・そうざい中の 3-MCPD に関し、原材料の市販の物と製造工程が異

なる醤油や、調味液のタンパク加水分解物に含まれていることが示唆された。今後、さらに詳細な検討が必要であると考える。

まとめ

インターネット上や東京都内の店頭で販売されている各種調味料や漬物等に含まれる CP 含有量調査を行った。調味料中の 3-MCPD は、国産品 33 試料中 11 試料及び輸入品 73 試料中 11 試料から検出された。国産品の最高値は 0.05 mg/kg であり、検出濃度はアメリカなどの規制値よりもかなり低い値であった。輸入品では、タイ産及びフィリピン産で高濃度検出されたものもあった。従来の報告では検出事例の多かった中国産が全試料で検出されなかった。2,3-DCP はタイ産 2 試料からのみ検出された。漬物・そう

ざい中の 3-MCPD は、全 25 試料中中国産 3 試料から検出された。1,3-DCP は調味料及び漬物・そうざいすべての試料で検出されなかった。今回のデータは、すでに報告されているデータと比較すると、検出値や検出率が著しく減少していることより各国で改善が進んでいるものと考えられた。近年、CP は塩酸によるタンパク質の加水分解以外でも生成することが判明している⁷⁻⁹⁾。これらの事例では CP 生成量が少ないことから、低濃度検出されたものについては今後より詳細に生成要因について検討していく必要があると考える。

本調査は、当センター広域監視部と協同し、先行調査として実施したものである。

(本調査研究の概要は日本食品衛生学会第 89 回学術講演会(2005年5月,東京)で発表した。)

文 献

- 1) Nyman, P. J., Diachenko, G. W., and Perfetti, G. A. : *Food Addit. Contam.*, **20**, 909-915, 2003.
- 2) Crews, C., Hasnip, S., Chapman, S., et. al. : *Food Addit. Contam.*, **20**, 916-922, 2003.
- 3) 牛島香代子, 出口佳子, 菊川浩史, 他 : 食衛誌, **36**, 360-364, 1995.
- 4) Crews, C., LeBrun, G., Brereton, P., et. al. : *Food Addit. Contam.*, **19**, 343-349, 2002.
- 5) Nyman, P. J., Diachenko, G. W., and Perfetti, G. A. : *Food Addit. Contam.*, **20**, 903-908, 2003.
- 6) Brereton, P., Kelly, J., Crews, C., et. al. : *J. AOAC Int.*, **84**, 455-465, 2001.
- 7) Crews, C., Hough, P., Brereton, P., et. al. : *Food Addit. Contam.*, **19**, 22-27, 2002.
- 8) Hamlet, C. G., Sadd, P. A., Crews, et. al. : *Food Addit. Contam.*, **19**, 619-631, 2002.
- 9) Breitling-Utzmann, C. M., Hrenn, H., Haase, N. U., et. al. : *Food Addit. Contam.*, **22**, 97-103, 2005.