

## 食品危害物質と機器分析

PoPo

食品・環境分析科学研究所（技術事務所）所長  
技術士（農業部門）農学博士 佐々木 正 興

### はじめに

食品の安全・安心への関心が特に高い昨今であるが、これは何も今に始まった問題ではなく、人類誕生以来の課題であろう。約20万年前に出現し、2万数千年前に絶滅したとされる旧人類のネアンデルタール人は不衛生なあるいは有害な食物の摂取や栄養失調などで寿命が短く、20歳までに半数が、90%が40歳未満で死亡していたと推定されている。狩をし、魚を捕り、木の実を採取する所謂、狩猟生活を長く続ける間に、多くの犠牲と苦い経験を経て有毒な動植物を見分け、腐敗したものは体調を崩すので食べない等、安全を確保する知識を獲得し、人口が増加するにつれ狩猟生活から定住して家畜を育て、植物を栽培するようになると加熱、乾燥あるいは塩蔵など食料を保存する技術も開発され、次第に安全で豊かな食生活を安定して営めるようになった結果、寿命も次第に延びていったものと推察される。勿論、医薬品や医療技術の進歩は言うまでもないが、食生活に起因するファクターも相当の比重を占めたはずである。しかし、人類は未だに食品に由来するリスクを完全に回避することができずにO-157、サルモネラ、ノロウイルス等に苦しめられているし、人間の活動がもたらす物質による原材料の汚染、食品の加工や調理工程で生成する物質、さらには意図的に毒物が混入されるなど、食品における新た

なりリスクも生まれている。大げさに言えば食品にまつわるリスクは人類が出現して以来今もって大問題ともいえよう。これらのリスク要因の特定に長い時間を掛けて解明される例も多いが、メタミドフォスによる冷凍餃子汚染事件における原因物質、あるいは食中毒発生時の原因微生物の特定の早さに驚かれる方も多いのではなかろうか。分析技術者や研究者の日頃の研鑽によって培われた原因はこれではないかと当りをつける感性の寄与も見逃せないが、アメリカ化学会発行のChemical Abstracts誌で使用される化学物質の登録番号であるCAS Noの付与数が3,000万種類ともいわれる物質の中から極微量の目的物質を短時間に特定し、定量できるのは、分析機器の驚異的な進歩に依ることも非常に大きい。本稿では食品危害因子の内、化学的因子といわれる物質の概要とそれらの定性と定量に利用されている多くの分析機器中でも特に広く活用され、効果をあげているクロマトグラフの内、ガスクロマトグラフと高速液体クロマトグラフについて記載する。

### 食品危害物質の種類と由来

食品の危害因子はその概要を第1表に示したように、化学的、生物学的および物理的因子に大別される。

第1表 食品危害因子の概要

危害因子の分類	危害因子	代表例、誘起原因等	
1.化学的	1)原材料への汚染物質	1)自然毒 ①カビ毒 ②魚貝毒 ③植物毒 2)環境汚染物質 ①重金属 ②ダイオキシン類 ③残留性有機汚染物質(POPs) ④多環式芳香族炭化水素類(PAH類) 3)アレルギー原因物質 4)生産時使用物質 ①残留農薬・動物用医薬品	アフラトキシン、オクラトキシン、パツリン、DON、フウモニシン テトロドトキシン、シガトキシン類 毒キノコ、有毒植物 砒素、カドミウム、メチル水銀 ポリ塩化ジベンゾ-p-ジオキシン(PCDDs)、ポリ塩化ジベンゾフラン(PCDFs)、コプラナーPCB(Co-PCBs)の計222種類 残留性農薬(DDT,HCB)、ダイオキシン類等12種類 ベンゾ[a]ピレン等芳香環2ヶ以上の炭化水素 鶏卵、牛乳、米、小麦、ソバ、大豆、えび、かに等の蛋白質 適正量使用、散布時期遵守で回避
	2)食品への汚染物質	1)加工、調理時由来物 ①アクリルアミド ②クロロプロパノール類 ③トランス脂肪酸 ④エチルカーバメート ⑤ベンゾ[a]ピレン等のPAH類 ⑥食品添加物 2)容器由来内分泌攪乱物質 ①ビスフェノールA ②フタル酸エステル類 ③ノニルフェノール 3)保存中の変化(腐敗、変敗、酸化)、喫食 ①ヒスタミン ②過酸化脂質 ③ニトロ化合物 4)異物、異臭	アスパラギンと還元糖との120℃以上の加熱 油脂製造時の脱臭工程等 硬化油製造時の水素添加等 尿素+エタノールやシトルリン+エタノール 高温、長時間加熱や火炎接触調理 適正量使用、散布時期遵守で回避 ポリカーボネート原料モノマー、酸化分解 ポリ塩化ビニール等の可塑剤 ポリ塩化ビニールの酸化防止剤等 魚肉腐敗細菌の繁殖 不飽和脂肪酸の酸化による低級脂肪酸、アルデヒドの生成 保蔵、調理中、胃酸酸性下のアミンと亜硝酸との反応 昆虫、ガラス、毛髪、プラスチック、カビ臭ジオスミン、
2.生物的	病原微生物(食中毒)		
	①細菌	感染型(サルモネラ菌、腸炎ビブリオ、病原性大腸菌) 毒素型(黄色ブドウ球菌、ボツリス菌)	
	②ウイルス	肝炎ウイルス、ノロウイルス	
3.物理的	放射能汚染	核実験、旧ソ連チェルノブイリ原子力発電所事故	
4.意図的	化学物質のみならずあらゆる可能性	メタミドフォス、メラミン	

各因子の内、化学的因子は化学物質であり、それらには汚染された原料に由来する物質と加工あるいは調理中に生成する物質とがある。前者には自然毒であるカビ毒、フグ毒等の魚貝毒、毒キノコ等の植物毒、環境汚染物質の重金属、残留性有機汚染物質(POPs: Persistent Organic Pollutant)、有機物質の熱分解や化石燃料の燃焼等で生成するベンゾ[a]ピレン(ベンゾ[a]ピレンともいう)で代表される多環式芳香族炭化水素類(PAH: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons)等があり、環境汚染物質は食物連鎖により生物濃縮される物質も多く、深刻な問題を含んでいる。生産過程で使用される農薬や動物医薬品等も使用方法を誤れば危害因子になり得る。食品あるいはその原料中の蛋白質に起因する食物アレルギーは、花粉症、喘息、アトピー性皮膚炎と同様、増加傾向にあり注目されている。一方、後者の加工時の生成物には加熱が要因となるアクリルアミド、油脂の精製

や改質工程が関与するクロロプロパノール類、トランス脂肪酸、製造過程で生成する物質どうしの反応物であるエチルカーバメートなどがある。前出のベンゾ[a]ピレンは調理時にも生成し、特に肉類の高温、長時間や加熱や火炎を直接接触させる調理法で濃度が高くなるといわれている。食品添加物等も不適正な使用により危害要因となる。食品容器等から溶出する危害物質には内分泌攪乱物質(環境ホルモン)とされるビスフェノールA、フタル酸エステル類、ノニルフェノールなどがあげられる。食品の保存条件が不適切であるとヒスタミンや過酸化脂質の生成が促進され中毒の原因になる場合がある。異物では昆虫やガラス、プラスチックなどが多く、異臭の内容は食品の種類によっても様々であるが、ジオスミンや2-メチルイソボルネオールなどによるカビ臭がしばしば問題になる。生物的な要因の多くは細菌やウイルスによる食中毒である。意図的な要因の例ではメタ

ミドフォスやメラミンなどの事件が起こっており、今後益々対策を強化しなければならない分野であろう。

国際がん研究機関（IARC：International Agency for Research on Cancer）は化学物質をはじめ、ヘリコバクター・ピロリ、肝炎ウイルスなどの微生物、喫煙などの生活環境などの各項目について発癌のリスクを判定し、グループ1～4に分類した一覧表を公表している。第2表にはグループ1および2に分類されている食品危害要因物質の例を示した。グループ3（ヒトに対する発癌性が分類できない：Not Classifiable as to its Carcinogenic、収載数：512）およびグループ4（ヒトに対する発癌性がおそらくない、収載はカプロラクタムのみ）は省略した。

この表に見るように食品危害物質の中には「ヒトに対する発がん性がみとめられる」のグループ1に分類されている重大な物質が含まれている。この内、アフラトキシンは税関におけ

る命令検査項目になっており、10ppb以上が検出され食品衛生法違反と判定されることもしばしばで、2010年12月の違反件数は、とうもろこしが7、ピーナッツが1の計8件であった。その外では砒素やカドミウムの重金属、環境汚染物質があり、調理方法によっても生成するベンツ[a]ピレンなども含まれる。グループ2にはカビ毒や農薬が多く、フランなどの食品加工時の生成物もみられる。

### クロマトグラフィーの誕生とその発展

クロマトグラフィーの誕生は、1906年まで遡る。当時ワルシャワ大学で葉緑素（クロロフィル）の研究をしていたロシア人のM.Tswettは炭酸カルシウムの粉末をガラス管（カラムまたはTswett管という）に詰め、これに石油エーテル（石油ベンジン、軽質ガソリンの一種）に溶かした粗製の葉緑素を流すと、白い炭酸カルシウムの円柱の中に緑や黄色に着色した層に分かれてくる現象をみつけた。炭酸カル

第2表 国際がん研究機関（IARC）による発癌リスク一覧のグループ1および2に掲載されている食品危害物質例

分類	グループ内の収載数	物質名	備考
グループ 1 ヒトに対する発癌性が認められる (Carcinogenic)	107	アフラトキシン類 ベンツ[a]ピレン 砒素および無機砒素化合物 カドミウムおよびカドミウム化合物	カビ毒 PAH類 重金属 重金属
グループ 2A ヒトに対する発癌性がおそらくある (Probably Carcinogenic)	58	アクリルアミド グリシドール エチルカルバメート(ウレタン) ニトロソアミン カプタホール 無機の鉛化合物	食品加熱生成物 油脂、農薬等の安定剤 発酵生産物等 食品成分反応生成物 農薬 重金属
グループ 2B ヒトに対する発癌性が疑われる (Possibly Carcinogenic)	249	アフラトキシンM <sub>1</sub> オクラトキシン A フモニシン B <sub>1</sub> フモニシン B <sub>2</sub> フサリン C フラン アセトアルデヒド DDT クロロブレン クロロタロニル ヘプタクロル 5-メチルクリセン メロニダゾール 鉛	カビ毒 カビ毒 カビ毒 カビ毒 カビ毒 食品加熱生成物 発酵生産物等 農薬 農薬 農薬 農薬 農薬 農薬 農薬 重金属

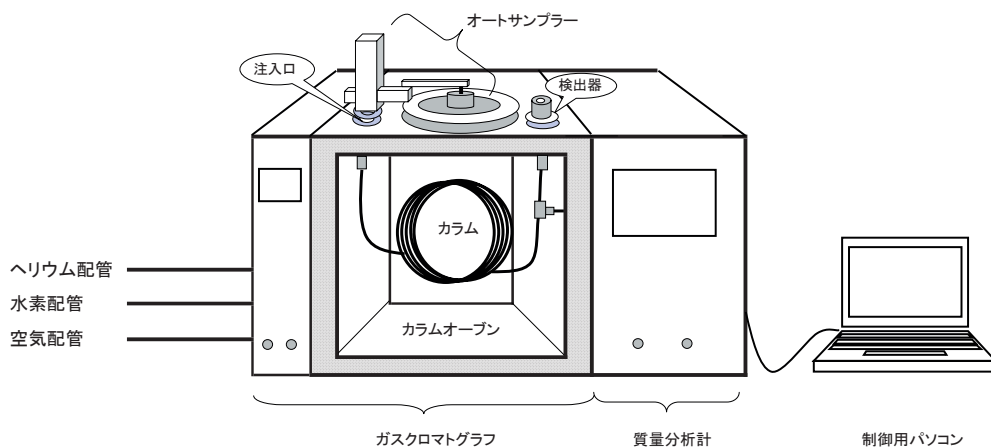
シウムに吸着されやすい成分はカラムの上方にとどまり、吸着されにくい成分ほど石油エーテルによって下方に運ばれて複数の葉緑素がそれぞれ分離したのである。吸着剤に対する吸着性の違いを利用してカラムの中で物質を分離する方法をTswettはクロマトグラフィー〔Chromatographyという術語のchromato-はギリシャ語のchroma（色）に、-graphyはgraphos（書くあるいは記録）に由来〕と、その器具をクロマトグラフ（Chromatograph）と名付けた。この手法を用いることにより、複数の葉緑素のそれぞれの含量を算出することも出来る。Tswettの発明から約25年後の1941年、イギリスのA.J.P.MartinとR.L.M.Syngeが含水シリカ（二酸化珪素）をカラムに充填して蛋白質の構成アミノ酸を分離する新しいクロマトグラフィーを考案して急速に発展した。さらに、彼らは1944年に、濾紙を利用したペーパークロマトグラフィー（PPCまたはPC）を発表し、1952年度のノーベル化学賞を受賞した。その後、ガラス、プラスチック、アルミ板等にシリカ、アルミナ、珪藻土、セルロース等を塗布した薄層クロマトグラフィー（TLC）、ガスクロマトグラフィー、ガスクロマトグラフ（GC）と質量分析計（MS）とを直結し、MSを検出器として使用するGC-MS、高速液体クロマトグ

ラフィー（HPLC）、HPLCと質量分析計を直結したLC-MSなど多くの機器と分析法が実用化され、物質の特定、定量、精製などに広く利用されている。

## ガスクロマトグラフ（GC）とGC-MSの概要

GCを極イメージ的に表現しようとすれば、陸上のハードル競技に例えることができよう。第1図はGCの加熱オープン扉を取り外した状態のGC-MSの模式図で、サンプルの注入口は競技のスタートライン、カラムはトラック、トラック上におかれたハードルはカラムの内面に化学的に結合された高分子の0.1～5.0μmの薄膜（液相という）に相当する。

検出器はゴールラインそして加熱オープンはスタンドであり、そこにいる観客である。選手達がスタートの合図で勢いよく飛び出してゴールに向かうように、200～300℃に加熱されている注入口に注入されたサンプルは一瞬のうちに気化し、ボンベから供給されるヘリウムに押されて検出器に向かう。選手がゴールまでに行くつものハードルを飛び越える様に、サンプルは液相への溶解と揮発を繰り返しながら進む。身軽で足が早く、ハードルを飛び越えるのも得意な選手が最初にゴールする様に、分子量が小さく、沸点の低いアセトアルデヒドやメタノー



第1図 GC-MS装置の模式図

ルのような物質は短時間で検出器に達する。それに対して、足はめっぽう速いがハードルの苦手な選手は1位にはなれず、2番手、3番手になり、どちらも苦手な選手はスタンドの熱い声援を受けてやっとゴールということになる。同じように沸点が高く、揮発し難い分子量のやや大きいあるいは液相に溶解している時間の長い物質は加熱オープン温度をあげてようやく検出器に到達するという具合である。実際の分析では高分離を維持しつつ、分析時間を短縮するために温度を徐々に上げていく昇温法とよばれる手法を採用する。最近ではハイスルーブットと称して高分離を維持しつつ、分析時間を短縮して数多くのサンプルを効率よく処理できるように、最大1,800°C/min超急速加熱が可能な機種も市販されている。カラムで最も多く使用されているヒューズドシリカキャピラリーカラム (Fused Silica Capillary Column) はポリイミド樹脂で強化された石英製の中空管で、内径が0.05mm～0.53mm、長さは10mから、性質の似た物質が数多く含まれる石油製品分析用の150mまで、内面に結合させる液相の組成の異なる多くの種類が市販されている。走る距離が長く、ハードルの数の多い種目の方がゴール時の選手がバラけるように、石油製品のようなサンプルの場合は長いカラムの方がそれぞれの物質がよく分かれて検出器に到達するので検出しやすく、有効である。分析者は目的物質の分析に合ったカラムを選択し、先ず、分析対象物質の標準品を分析、注入してから検出器に到達するまでの時間 (リテンションタイムといってR.T.と表わす) を計測しておき、次に実サンプルを分析して標準品と同じ時間に検出される物質があるか否かを調べ、サンプル中に目的の物質の有無が分かるという仕組みである。検出器にはやや感度は劣るものの無機物、有機物に拘わらず検出が可能な熱伝導度検出器 (TCD: Thermal Conductivity Detector)、最も広く使用され有機物全般に高感度な水素炎イオン化検

出器 (FID: Flame Ionization Detector)、窒素、硫黄、燐や塩素などが含まれる有機物のそれぞれに特異的に感度の高く物質の選択性に優れた検出器など特徴的な機種も実用化され、リテンションタイムの値だけでは紛らわしい物質を選択して分析するのに役立っている。

第1図におけるGCの部分にはヘリウムの他に水素と酸素が必要なFID付き装置を表している。カラムは出口近くで分岐し、一方はGCの検出器へ、他方は質量分析計に繋がってGCとGC-MSによる同時分析の場合を示しているが、それぞれ単独の分析も可能で、GC-MS単独分析で必要なガスはヘリウムのみである。GC-MSはGCの検出器に物質の質量を測ることのできる質量分析計を直結した装置で、競技のゴールラインに選手の体重を瞬時に高精度で測定する装置を取り付けたようなものである。選手ならば顔やゼッケン番号あるいは写真判定でタイムと順位を正確に決めることができるが物質の場合はそういうことは出来ないで質量を測るのである。質量分析計を付加することにより、GCによる分析で得られるR.T.のデータと選択性の高い検出器による感度の比較とに限られる情報から質量のデータが加わり物質を特定する精度が飛躍的に向上する。

農薬等の一斉分析では一度に何百種類もの物質をモニターするのでGC-MSが必須であり、最近ではより高精度なGC-MS-MSがかなり普及し、さらに物質の小数点以下の質量まで測れるGC-TOF (Time of Flight) も開発され、普及しはじめている。

定量のイメージは体重も走る早さもまったく同じクロン人間がもし存在し、その異なる集団が競技をすると、団体の数だけ分かれて、同じ団体の属する人はすべて同時にゴールするのであろう。それぞれの団体に属する人数に応じて即ち、物質の濃度に比例して検出器に表示される値が大きくなることにより定量することが出来る。最近のこれらの機器の感度は非常に高

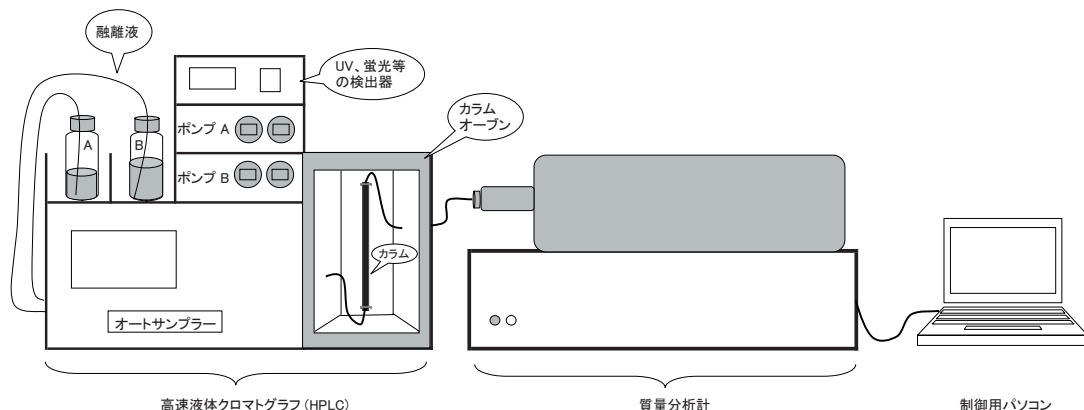
く、10億分の一の濃度 (ppb) を検出するのに必要なサンプルの量は超微量の 1 ml の千分の一、1  $\mu$ l で充分である。

## 高速液体クロマトグラフ (HPLC) と LC-MS の概要

HPLC (High Performance Liquid Chromatograph または High Pressure Liquid Chromatograph の略) は装置名からも分かるように、物質を検出器に運ぶ媒体は溶離液といわれる有機溶媒や緩衝液あるいはそれらの混合液で、分離の原理は GC と同じである。第 2 図に HPLC と質量分析計とが接続された LC-MS の模式図を示した。

カラムは 1.7  $\mu$ m ~ 10  $\mu$ m の球状のシリカやポリマーに化学物質を結合させた微粉末をステンレス管に高圧で充填したものである。分析用のカラムのサイズは内径 1 mm ~ 4.6mm、長さは GC の場合に比べて極端に短く、3 cm ~ 25cm、充填剤の径は 1.7  $\mu$ m ~ 10  $\mu$ m 程度が普及している。分析ではなく、混合物を精製して単一の物質を得る目的には実験室で使用する内径が 10mm、20mm 程度のものから工場生産規模用の 50mm、100mm、200mm のような巨大なカラムまで市販されている。細い管に細かい充填剤を詰めたカラムにガスより高粘度の液体を流すため、カラムの入り口は高

圧になるので、送液ポンプは 400kgf/cm<sup>2</sup> (約 3.92MPa) もの圧力に耐えられるように設計されている。HPLC でもハイスループット化傾向が強く、カラムおよび充填剤のサイズが年々ダウンサイジングされていくのに対応して耐圧 1,000kgf/cm<sup>2</sup> (98.07MPa) の装置も市販されている。HPLC で高頻度に使われる主な検出器には、感度が低く、物質の判別指標が R.T. のみで定性能力にも劣るが、無機物、有機物を問わずに検出できることが利点の示差屈折率検出器 (RI : Refractive Index Detector)、紫外部あるいは可視部に吸収を有する物質に有用で、感度にも優れる紫外可視検出器 (UV/VIS : Ultra Violet/ Visible Detector)、適用できる物質は限られるが、紫外線下で蛍光を発する物質には高感度な分析が可能な蛍光検出器 (FL : Fluorescence Detector) などがある。ガスクロマトグラフは揮発性の物質が分析の対象になるのに対して、HPLC は揮発性物質より圧倒的に数の多い不揮発性の物質を対象とし、紫外可視検出器あるいは蛍光検出器で検出できない物質も数多く存在するので、定性能力に優れ、高感度が期待できる LC-MS の開発が望まれていたが、液体を流す HPLC と高真空装置である質量分析計とを接続するインターフェイスの開発が遅れ、実用化されたのは比較的最近のことである。GC の場合のオープンの役割は高分離



第 2 図 LC - MS 装置の模式図

を維持しつつR.T.の遅い物質を早く検出器に送り込むことであったが、HPLCのオープンの機能は少し異なる。選手がレース前に準備体操などで体を温めて怪我を防止するように、予めカラムを40℃位に加温して、圧力が高くなりすぎて、カラムが壊れたり、送液ポンプが止まったりするのを防止し、室温に左右されて変動しやすいR.T.を一定に保つための装置である。単一の溶離液を使用するアイソクラチック法もあるが、高分離と分析時間の短縮の両立を図るGCの昇温法に匹敵する方法が第2図に示した(A)、(B) 2種の溶離液を用意し、分析中にその比率を変化させていく方法がグラジエント法である。

### 分析機器の最近の動向

経験を積むこともなく短時間に、簡単に、微量物質の特定と定量が可能になることはよこばしいことではあるが、便利になればなるほど装置の値段が益々高額になり、パソコンと同じで数年も経てば陳腐化してしまうことは困ったものである。機器メーカーの政策もあって値段がある程度上がるのは仕方がないにしても、何千万あるいは億単位の装置を次々と購入しなければ食品の安全・安心を確保するための分析ができなくなり、分析のコストがどんどん上昇していくことには疑問を感じる。それに、サンプルをオートサンプラーに乗せれば分析操作は勿論、結果の解析、レポート作成まで自動で行ってくれるので、非常に便利な反面、装置はブラックボックス化されているため、データがどのように処理され、どのような経過を経て算出されているのかをうかがい知ることができない。そのために、サンプルの調製上あるいは装置の不具合、解析時のデータの採取方法の誤りなどによって、本来なら出るはずがない値であっても、経験が浅いとレポート結果を鵜呑みにしてしまう可能性がないともいえない。いくら自動化されても数値の最後の判断はヒトであることの意

識が疎かになる傾向が否めない。しかも、最近では、機器メーカーのホストコンピュータの遠隔操作によって装置不具合の診断、稼動状況などの管理を一括して依頼することも可能になりつつある。分析は装置に、管理はメーカーに任せ、研究者や分析従事者は研究戦略を練ることなどに時間を割く方が賢明であるとの考えもあるかもしれない。しかし、どんな分野においても分析は研究の基礎であり、研究戦略の構築にあたっては、研究の開始および各進捗段階で必要となる分析対象物質とその濃度、分析精度などの分析レベルそれに対応できる機器を把握しなければ戦略を立てられるはずもない。そのためには分析装置の仕組み、どういった分析に向く機器なのか、サンプルの調製法など、分析全般を熟知する必要がある。分析あるいは研究に携る者は便利さに流されることなく学会、文献や書物あるいはメーカーの主催する講習会などを通じて基礎的な知識と新しい情報を入手し、研鑽を積むことが極めて大切ではなかろうか

### おわりに

食品危害化学物質は分子量89.03のカルバミン酸エチル（ウレタン）のような低分子化合物からアレルギーの原因物質である高分子の蛋白質、化学構造がよく似た多数の同族体、異性体の集合体であるダイオキシン、世界中で約1,000種類ともいわれる農薬類など実に多種、多様で、一般的に超微量である。しかも、対象物質それぞれに異なった困難が伴う。例えば、ダイオキシンの場合は化学構造、性質の極めて類似した物質群を区別して分析しなければならないのに対して、農薬の場合は逆に化学構造、性質等が大幅に異なる何百もの物質を一斉に測定する必要がある。成分組成の極めて複雑な食品中から精度よく、確実にしかも迅速にこれらを分析するには最新の機器をもってしても簡単ではない。メタミドフォス混入冷凍餃子事件やメラミン入り粉乳事件等の際には大きく報道されるの

は当然としても、分析の難しさ、時間的な制約に悩みながら食の安全・安心を守るために、多くの技術者が日々地道な努力をつづけていることも事実である。科学技術、分析機器の進歩により新たな食品危害化学物質が見出されたり、意図的因子による新たなリスクが発生する可能性も否定できず、益々重要度が高まるであろう食品危害化学物質の分析に的確に対処するためには、現状に甘んじることなく経験を積み重ねて感性と総合的な技術を磨く弛まぬ努力が必須であろう。

以上

技術コンサルタントとしての主たる分野

1. 食品の香り成分、食品衛生に関わる微量物質（残留農薬、添加物、カビ毒等）についての調査、分析、研究
2. 食品の異物の分析、解析および苦情相談
3. 機器分析（GC、GC-MS、GC-MS-MS、HPLC、LC-MS-MS等）による分析および指導
4. 醸造物（特に醤油）に関する研究開発