

食品中の3-Monochloro-1,2-Propanediol (3-MCPD) の分析

北 村 章 深 田 剛 毅

緒 言

モノクロプロパンジオール (3-monochloro-1, 2-propanediol, 3-MCPD) は食品中の塩素と脂質の反応により生成する。動植物タンパク質加水分解物 (HVP; Hydrolyzed Vegetable Protein, HAP; Hydrolyzed Animal Protein) の生産において、タンパク質の加水分解と同時に脂質の加水分解が起こり生成したグリセリンと塩酸 (HCl) 由来の塩素が加熱により反応し、3-MCPD を生成する¹⁾と考えられる。

動物実験において3-MCPDの多量投与により発ガン性の疑いが1993年に報告された²⁾。これにより、3-MCPDの分析法の検討、食品中の3-MCPDの調査が開始された。

日本では、1995年にフェニルホウ酸 (phenylboronic acid) を用いた3-MCPD誘導体の分析法を用いて、液体では5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の検出限界で、4検体のしょう油からは検出されず、液体調味料4検体中2検体 (240 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、140 $\mu\text{g}/\text{kg}$) に検出され、粉体では50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の検出限界で粉末調味料4検体中2検体 (300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、380 $\mu\text{g}/\text{kg}$) に検出されたことが報告された³⁾。

イギリスでは、しょう油およびHVP中の3-MCPDの調査の報告^{4),5)}が1999年に行われ、1992年の調査よりも改善されているとしているが、調査したしょう油およびHVPの3分の1の検体が暫定的な上限値10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を超えていた。

EUでは2001年のレギュレーション⁶⁾にて3-MCPDの遺伝毒性が認められないとし、経口毒性等を考慮し2002年より3-MCPDのしょう油お

よびHVP中の上限値を20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (液体中に40%の乾物を含むとして、乾物中50 $\mu\text{g}/\text{kg}$) に規制するとした。

2001年のFAO/WHO合同食品添加物専門委員会会議 (JECFA) において、3-MCPDのin vivoの変異原性は認められないが、ラットの経口投与におけるLD₅₀は150mg/kgであると報告された⁷⁾。

諸外国の規制状況は、上記のようにEUは20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、米国はHVPについて1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、カナダはソース類について1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、オーストラリアはしょう油について200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、ニュージーランドはしょう油について200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、マレーシアはしょう油について1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、中国はしょう油について1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ となっている。

日本においては3-MCPDの規制は行われていないが、2002年に東京都が実施した検査結果では調味料14検体について3-MCPDを検出したものはなかったと報告している。

これまでに、3-MCPDは塩酸による動植物性タンパク質加水分解物 (HVP、HAP) もしくはHVPやHAPを混合した調味料に検出されており、3-MCPDの調査は3-MCPDの生成機構を考慮し、塩酸 (HCl) 由来の塩素を含む食品を対象としてきた。塩素は塩酸由来だけではなく塩 (塩化ナトリウム、NaCl) にも含まれ、塩と脂質を含み、その製造過程で加熱される食品は数多くあるが、HVP、HAPおよびしょう油以外の食品の3-MCPDに関するデータが少ないのが現状であった。EUでは2001年にSCCOP Task 3.2.9「データの収集と照合」が設定され、2004年に種々の食品に関しての3-MCPDに関する結果がまとめられた⁸⁾。その報告によれば、パン類において英国

177サンプル、フランス120サンプル、スウェーデン40サンプルの合計337サンプルの内173サンプル、51%に3-MCPDが検出された。

日本においてもしょう油やHVP以外の食品に関する3-MCPDの含有量に関するデータは少ない、そこでパン類、特に食パンに関して、3-MCPDの分析を行った。食パンはその製造過程で原料の塩とショートニング等の脂質が加熱されるため、3-MCPDが検出される可能性がある。また、食パンの一般的な食べ方として、バターもしくはマーガリン等の脂質を塗りトーストするため、3-MCPD生成へのトースト時間およびマーガリンの影響についても検討した。

実験方法

1. 試料

スーパーマーケットで一般的に入手可能な2社の6枚切りの食パンを試料とした。2社をそれぞれA社、B社とした。A社の食パン1/4枚は平均16.5g、B社の食パン1/4枚は平均16.2gであった。マーガリンは雪印ファットスプレットを使用し、A社の食パン1/4枚当たり3gのマーガリンを塗布した。

2. 試薬

標準品としての片山化学工業株式会社製の3-monochloro-1,2-propanediol (3-MCPD) および内部標準品として同様に片山化学工業株式会社製の5つの水素を重水素で置き換えた3-monochloro-1,2-propanediol-d₅ (3-MCPD-d₅)を使用した。誘導体化試薬は東京化成工業株式会社製N-heptafluorobutyrylimidazole (HFBI)を使用した。HFBIを用いる3-MCPDの誘導体化による分析法はBrereton等の方法⁹⁾を参考に食パン中の3-MCPDの分析に適するように改変した。

3. トースト時間

食パン1枚を4つに切り、3分間予熱したオーブントースター (MITSUBISHI BO-Y50-S 1100w) で3分間、6分間、9分間のトーストを行った。

4. 試料液の調製

食パン1枚を4等分し、トースト処理したもの、しないもののそれぞれに100mlの5M NaCl溶液を加え、ホモジナイザー (Cell Master CM-100) を用いて、15000rpmで3分間処理し、食パンの懸濁液とし、この懸濁液をろ過し、ろ液を得た。このろ液を試料液とした。

5. 3-MCPDの確認

マーガリン未塗布でトースト処理をしていない食パンの試料液3gをエキストレルートNT3に負荷し、15分間静置後、非極性物質を取り除くためにhexane: diethylether (90:10) 混液15mlで洗浄し、続いてdiethylether 40mlで抽出し、sodium sulfateで脱水し、sodium sulfateを取り除くために、ろ過し、ろ液をナスフラスコに回収し、ロータリーエバポレーターを用いて、減圧下40℃で濃縮した。これをネジ付き試験管にdiethyletherで洗い込み、ここに窒素ガスを吹き付けdiethyletherを除去し、2,2,4-trimethylpentane 1mlを加え、続いて誘導体化試薬HFBIを50 μ lを加え、よく混合後70℃で20分間反応させた。放冷後、極性物質を取り除くために水1mlを加え反応液を洗浄し、2,2,4-trimethylpentane層を回収し、sodium sulfateで脱水後、その1 μ lを検出器として質量分析計を装備したガスクロマトグラフィー (GC-MS) に供した。GC-MSは島津製作所製GCMS-QP2010を用いた。

6. 3-MCPDの定量

食パンの試料液2gに内部標準として2ppmの3-MCPD-d₅を60 μ l加え、5M NaCl溶液で3gとした。この全量をエキストレルートNT3に負荷し、15分間静置後、hexane: diethylether (90:10) 混液15mlで洗浄し、続いてdiethylether 40mlで抽出し、sodium sulfateで脱水し、ろ過し、ろ液をナスフラスコに回収し、ロータリーエバポレーターを用いて、減圧下40℃で濃縮した。これをネジ付き試験管にdiethyletherで洗い込み、ここに窒素ガスを吹き付けdiethyletherを除去し、2,2,4-trimethylpentane 1mlを加え、続いて誘導体化試薬HFBI 50 μ lを加え、よく混合後70℃で20分間反応させる。放冷後、水1mlを加え反応液

を洗浄し、2,2,4-trimethylpentane 層を回収し、sodium sulfate で脱水後、その 1 μ l を GC-MS に供した。

7. GC-MS 測定条件

カラム：J & W Scientific DB-5、長さ30m、内径0.25mm、膜厚0.25 μ m、試料導入法：スプリットレス、試料注入口温度：270 $^{\circ}$ C、カラム温度：50 $^{\circ}$ C（1分間保持）-2 $^{\circ}$ C/分昇温-105 $^{\circ}$ C-20 $^{\circ}$ C/分昇温-250 $^{\circ}$ C（3分間保持）、キャリアーガス：ヘリウム100kPa、インターフェース温度：270 $^{\circ}$ C、イオン化法：電子イオン化法

実験結果及び考察

1. 食パン中の 3-MCPD の確認

実験方法の 5. 3-MCPD の確認の項に従い、食パンを 5M NaCl 溶液で抽出し、HFBI で誘導体化後 GC-MS に注入した結果、標準品の 3-MCPD の HFBI 誘導体と同一のリテンションタイムにマススペクトルを得た。Fig.1. に A 社の食パンより得られたマススペクトルを示す。このマススペクトルを標準品の 3-MCPD の HFBI 誘導体のマススペクトルと比較したところ、類似性が高く、3-MCPD であることが推定された。

また、Fig.1. のマススペクトルを解析すると、

フラグメンテーション前の親化合物 ($M = [CH_2(COOCF_2CF_2CF_3)CH(COOCF_2CF_2CF_3)CH_2Cl]$) の分子量は 502 であり、質量電荷比 (m/z) 453 は $[M-CH_2-Cl]^+$ に、 m/z 289 は $[M-(COOCF_2CF_2CF_3)]^+$ に、 m/z 275 は $[M-(COOCF_2CF_2CF_3)-CH_2]^+$ に、 m/z 253 は $[M-(COOCF_2CF_2CF_3)-HCl]^+$ に、 m/z 169 は $[CF_3CF_2CF_2]^+$ に帰属できることより、得られたマススペクトルは 3-MCPD の HFBI による誘導体であると同定した。同様に B 社の食パンより得られたマススペクトルにおいても 3-MCPD の HFBI による誘導体であると同定した。

これらのことより、両社の食パンに 3-MCPD が含まれていることを定性的に確認した。

2. 食パン中の 3-MCPD の定量

定量には選択的イオンモニター法を用い、3-MCPD の HFBI 誘導体のフラグメントイオンは m/z として 253 を、3-MCPD- d_5 の HFBI 誘導体のフラグメントイオンは m/z として 257 を使用し、それぞれのピーク面積比と標準品 3-MCPD の濃度との関係より 3-MCPD の濃度を求め、食パン中の 3-MCPD 量を得た。

Table 1. に示すように、A 社食パンでは 1.92 μ g/kg から 13.27 μ g/kg を示し、平均 6.72 μ g/kg であった。B 社食パンでは 3.67 μ g/kg から 12.08 μ g/kg を示し、平均 8.50 μ g/kg であった。

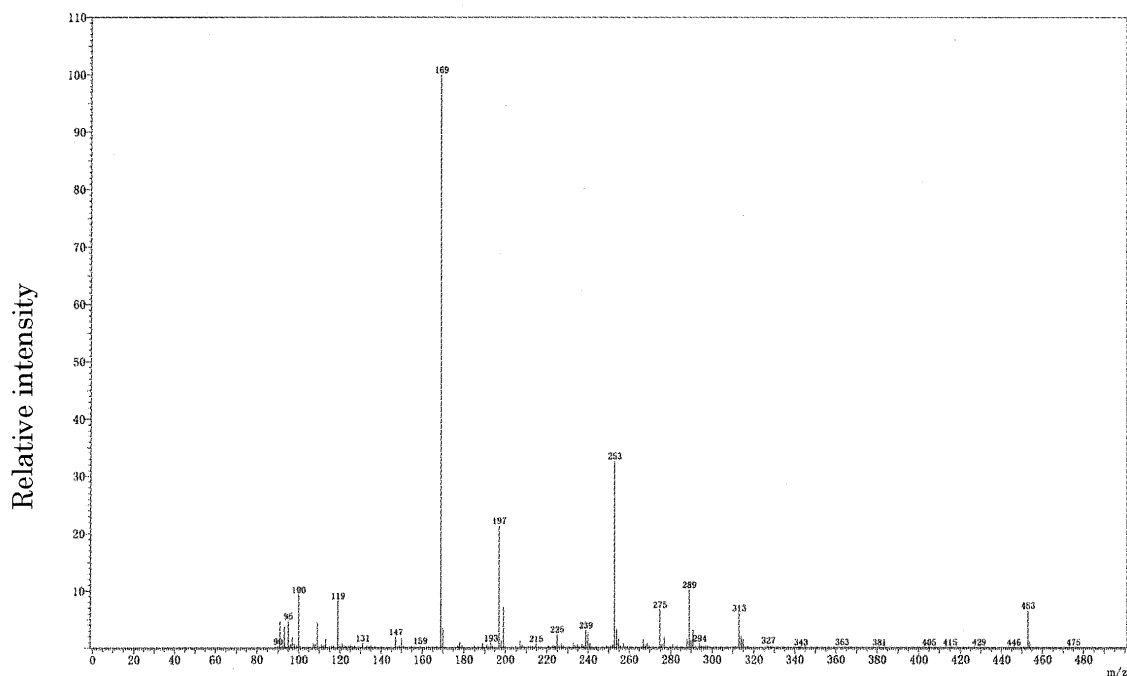


Fig.1. Mass spectrum of HFBI derivative from the bread of A corporation.

Table 1. Quantity of 3-MCPD in breads.

	3-MCPD ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	
	Bread of A corporation	Bread of B corporation
	1.92	5.50
	3.05	7.21
	3.92	10.23
	4.47	12.59
	5.05	13.27
Average	6.72	8.50
Standard deviation	3.99	4.38

EU の 2004 年の報告⁸⁾ではパン類の 51% に 3-MCPD が検出されている。今回の調査した 2 社の食パンの両方に 3-MCPD が検出され、濃度のバラツキはあるが $14\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満の 3-MCPD が含まれていることを確認した。

3. トースト時間及びマーガリン塗布の影響

食パン中の 3-MCPD 濃度の変化よりトースト時間およびマーガリン塗布の影響を観察した。なお測定には A 社の食パンを使用した。Fig.2. にトースト時間およびマーガリン塗布の影響による食パン中の 3-MCPD 量の変化を示す。

図に示すように、トーストするための加熱の時

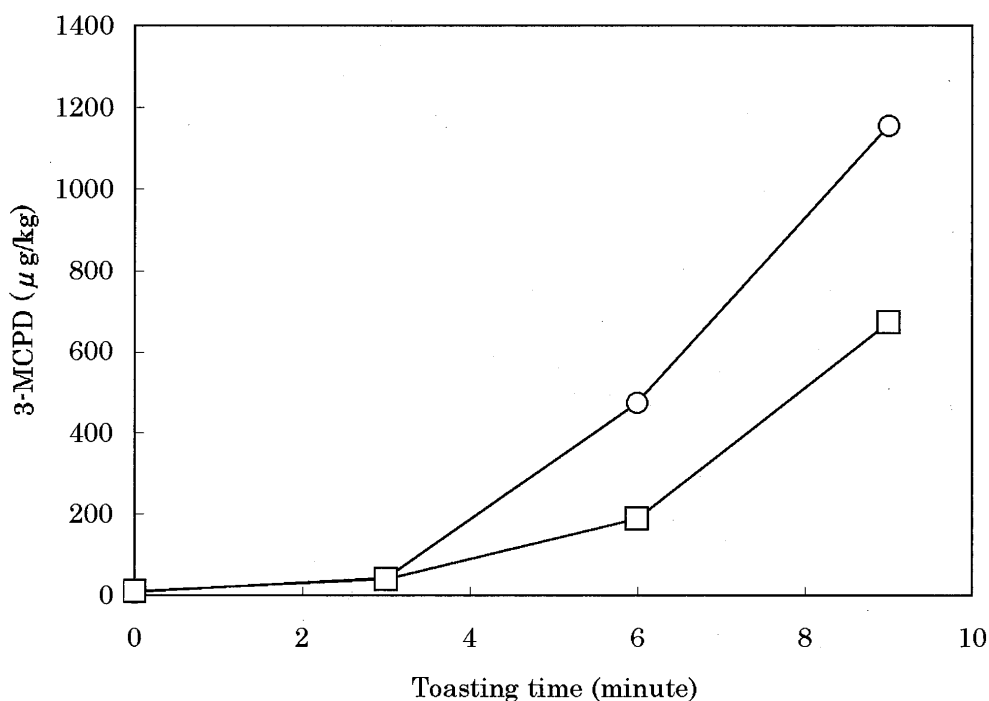


Fig. 2. Effect of toasting time and spreading margarine on 3-MCPD formation in breads.

—○—: bread without margarine, —□—: bread spread with margarine.

間に依存して食パン中の 3-MCPD が増加する。このことより、トーストのような一般的に家庭で行われている加熱によって食パン中の塩(NaCl)由来の塩素とショートニング等の脂質と反応し 3-MCPD が生成していると推察される。

加熱による 3-MCPD の増加は 3 分目までは緩やかであるが、3 分以降 9 分までに急激に 3-MCPD が増加する。この増加はマーガリンを塗布しない方が顕著である。3-MCPD の原料と考えられる脂質であるマーガリンを塗布した方が反応を促進し、3-MCPD 濃度が高くなると考えたが、結果は逆であった。

Fig. 3. にトーストの状態を示す。6 分目でマーガリン未塗布と塗布のトーストの状態を比較すると、マーガリン未塗布の方が焦げた状態である。炭化した状態を指標とすると、マーガリンを塗布した方が炭化が抑制されている。このことはマーガリンを塗布した方が 3-MCPD の生成が少ないことと合致し、マーガリンを塗布することで食パンへの熱の伝わりを遅延させていると考えられる。

まとめ

緒言で述べた 2001 年の JECFA⁷⁾において、3-MCPD の暫定最大耐容 1 日摂取量 (PMTDI)

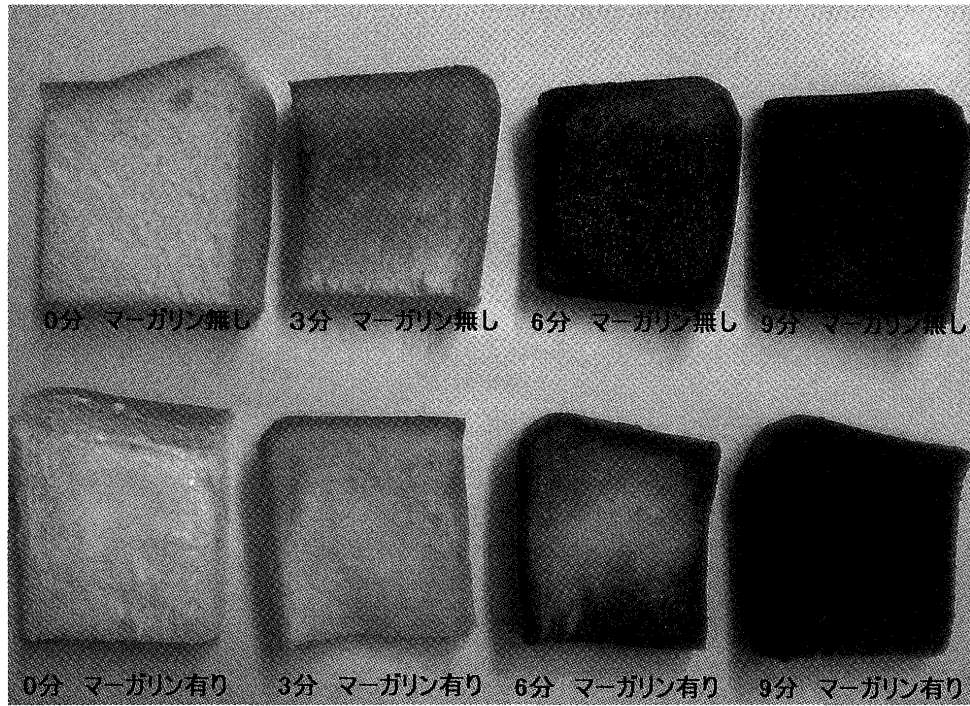


Fig.3. Condition of toasts.

を $2 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重 (体重 1 kg 当たり $2 \mu\text{g}$) と勧告している。毎日摂取しても安全と考えられる 1 日当たりの摂取量を TDI といい、毒性が認められない量に安全係数をかけて求められる。PMTDI は暫定的に定められた TDI を示している。

Fig.2. より、マーガリン未塗布トースト時間 6 分の時の 3-MCPD は $474 \mu\text{g}/\text{kg}$ 含まれていた。今回使用した食パンは約 $70\text{g}/\text{枚}$ であった。体重 50kg のヒトがマーガリン未塗布トースト時間 6 分の食パンを 3 枚食すると仮定すると $99.54 \mu\text{g}$ ($474 \mu\text{g} \times 70\text{g}/1000 \times 3$ 枚) の 3-MCPD を摂取することとなる。PMTDI は $100 \mu\text{g}/50\text{kg}$ ($2 \mu\text{g} \times 50$) であるため、仮定したヒトの摂取量 $99.54 \mu\text{g}$ は PMTDI とほぼ同等の摂取量となる。

Fig.3. よりマーガリン未塗布トースト時間 6 分のトーストの状態を見ると焦げがひどく食するのに適していないことがわかる。使用したトースターが 1100w であり、一般家庭で使用される 600w よりも高出力であり、 600w のトースターを使用した場合はここで示したトースト時間 6 分の状態になるにはより長い持間が必要と考えられる。トースト時間を指標とせず、食パンのトーストの状態を指標として焦げが進んだ食パンは食さない方が適当であろうと考える。

今回示した、6 分間のトーストの状態を超える

ような焦げた状態の食パンは食には適さないということは JEFCA の PMTDI の基準に鑑みてのことである。2001 年に SCF (Scientific Committee for Food、EU の食品科学専門家委員会) で 3-MCPD に関する新しい見解が出された場合は、3-MCPD の上限値を見直すとしている。現在、3-MCPD の上限値の見直しは行われておらず、他の国の規制状況に比べると厳しい状況は継続している。

文献

- 1) J.Velisek, J.Davidek, V.Kubelka, G.Janicek, Z.Svabodova and Z.Simicova, *J.Agric. Food Chem.*, **28**, 1142-1144, 1980
- 2) Food Chemical News, CRC Press INC., Washington, December 6 1993
- 3) 牛島香代子、出口佳子、菊川浩史、野村孝一、足立忠夫、*食衛誌*、Vol.36、No.3、360-364、1995
- 4) Ministry of Agriculture, Fisheries and Food UK (1999) Food Surveillance Sheet No. 181, London
- 5) Ministry of Agriculture, Fisheries and Food UK (1999) Food Surveillance Sheet No. 187, London
- 6) European Commission Regulation (EC) No.466/2001, Official Journal of the European Communities L77/1 of 16 March 2001
- 7) 食品安全情報レポート、vol.4、東京都、平成16年(2004年)8月26日
- 8) Collection and collation of data on levels of 3-monochloropropanediol (3-MCPD) and related substances in foodstuffs (June 2004)
http://europa.eu.int/comm/food/food/chemicalsafety/contaminants/scoop_3-2-9_final_report_chloropropanols_en.pdf
- 9) P.Brereton, J.Kelly, C.Crews, S.Honour, R.Wood, A.Davies, *Journal of AOAC international* **84/2**, 455-465 2001