

の黄変ウェル出現頻度 (%) は、それぞれ陰性対照値および陽性対照値とした。

(倫理面への配慮)

該当する研究ではない。

C. 研究結果

C-1 SAR

わが国独自の食品香料について、JECFAの構造グループ番号のあるものを1774物質抽出し、前出の3つのソフトウェアでSARを実施した。3つのソフトでも陽性だった物質は1品目、いずれか2つのソフトで陽性になった物質は25品目、いずれか1つのソフトで陽性になった物質は147品目あった。その中で流通量の多いもの、純度が95%以上のもので、試験可能な量が入手できた43品目を選んだ。

C-2 FATの結果

SARの予測結果が一つもしくは二つ陽性だった43品目についてのFATの結果は、37品目が総合判定陰性で、陽性になったのは6品目であった(別紙表2)。SARの予測結果で一つのソフトのみが陽性とした品目は8個でそのうち6個がFATで陽性だった(図1)。SARの予測結果で二つのソフトが陽性と判定した33品目はFATでは1品目も陽性にならなかった。

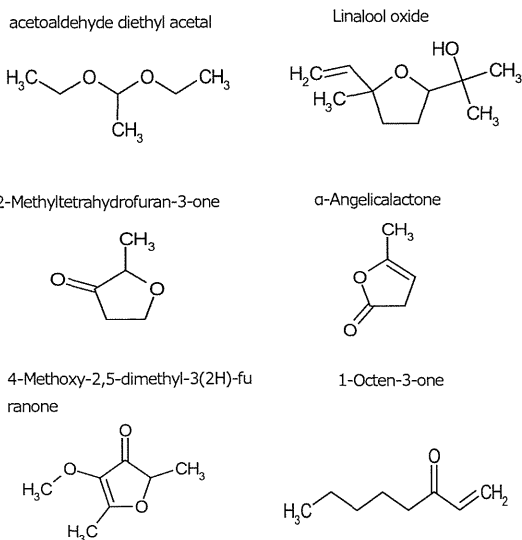


図1 FAT陽性判定の6品目

D. 考察

SARの結果とFATの結果の対照表から、陽性判定のFATとの一致率(感度)は、DEREK、MCASE、AWORKSの順に11%、10%、4%、陰性判定のFATとの一致率(精度)は同じく、81%、77%、70%と算出された。MCASEはFAT陽性品目6個中、3個を陽性と判定していたが、43品目中30品目を陽性としていたことから、ヒット率が高くなったのは、多く陽性判定を出していたためと考えられ、精度は必ずしも高いとは言えない。

今回の43品目についてTiMeSモデルでAmes試験結果を予測したところ14個が陽性と予測されたが、その中にFAT陽性判定の6個は含まれていなかった。現時点でTiMeSには香料の遺伝毒性予測のための基本データが不足していることが考えられる。また、予測モデルを複数使用することが必ずしも予測性を上げることにつながらないことが分かった。

本研究課題で対象にしているのは香料で、一般的な化学物質とは異なる構造のものが多く含まれていると考えられる。したがって、予測性を上げるためにはSARのモデルのアラートについてカスタマイズの必要があるだろう。今回の判定率の差は決して大きくはないが、DEREKには「判定はできない(E, equivocal)」という判定基準があるなど、より細かい予測をしているので、香料の予測については今後DEREKを中心に予測性を上げていくのがよいかもしれない。

E. 結論

昨年の結果を踏まえ、わが国独自の食品香料の中から、SARによる予測が陽性になったものについて簡易遺伝毒性試験を実施するという手順を取った。簡易遺伝毒性試験で陽性になったものは約10%であった。SARによる遺伝毒性の予測は、横に広げるよりも、一つのソフトに絞って香料を対象にカスタマイズすることが効率よい安全性評価につながることを示唆された。

F. 研究発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況
なし

表1 H24年度FATを実施した検体一覧

識別番号	名称	CAS番号	性状
1	5-Methyl-2-phenyl-2-hexenal	21834-92-4	液体
2	Methyl 2-furoate	611-13-2	液体
3	Acetaldehyde diethyl acetal	105-57-7	液体
4	Furfural	98-01-1	液体
5	4-Pentenyl isothiocyanate	18060-79-2	液体
6	Acetaldehyde propyleneglycol acetal	3390-12-3	液体
7	Linalool oxide (furanoid)	60047-17-8	液体
8	3-Butenyl isothiocyanate	3386-97-8	液体
9	2-Pentanone	107-87-9	液体
10	Methyl propionate	554-12-1	液体
11	5-Hexenyl isothiocyanate	49776-81-0	液体
12	2-(4-Methyl-5-thiazolyl)ethyl propionate	324742-96-3	液体
13	2-Methyltetrahydrofuran-3-one	3188-00-9	液体
14	alpha-Angelicalactone	591-12-8	液体
15	2, 5-Dimethyl-4-oxo-3(5H)-furylacetate	4166-20-5	液体
16	4-Methoxy-2, 5-dimethyl-3(2H)-furanone	4077-47-8	液体
17	sec-Butyl isothiocyanate	4426-79-3	液体
18	2, 3-Hexanedione	3848-24-6	液体
19	Acetaldehyde diisoamyl acetal	13002-09-0	液体
20	Isobutyl isothiocyanate	591-82-2	液体
21	2, 4-Decadien-5-olide	27593-23-3	液体
22	Isopropyl isothiocyanate	2253-73-8	液体
23	Methyl 2-nonenoate	111-79-5	液体
24	Furfuryl methyl disulfide	57500-00-2	液体
25	2-Pentylfuran	3777-69-3	液体
26	Hexyl isothiocyanate	4404-45-9	液体
27	trans-2-Decenal	3913-81-3	液体
28	4'-Methoxycinnamaldehyde	1963-36-6	粉末
29	S-Ethyl ethanethioate	625-60-5	液体
30	trans-2-Dodecenal	20407-84-5	液体
31	Methyl 2-methoxybenzoate	606-45-1	液体
32	1-Octen-3-one	4312-99-6	液体*
33	Amyl isothiocyanate	629-12-9	液体
34	trans-2-Tridecenal	7069-41-2	液体
35	2-Undecenal	2463-77-6	液体
36	4-Methoxy-2-methyl-2-butanethiol	94087-83-9	液体
37	Furfuryl isovalerate	13678-60-9	液体
38	3-Mercapto-3-methylbutanol	34300-94-2	液体
39	1, 2-Di[(1'-ethoxy)ethoxy]propane	67715-79-1	液体
40	2-Ethenyl-5-isopropenyl-2-methyltetrahydrofuran	13679-86-2	液体
41	1-Hydroxy-4-methyl-2-pentanone	68113-55-3	液体
42	trans, trans-2, 4-Octadienal	30361-28-5	液体
43	Acetaldehyde ethyl cis-3-hexenyl acetal	28069-74-1	液体

表2 SAR の予測と FAT の結果の対照表

識別 番号	名称	DEREK	MCASE	ADWKS	FAT
1	5-Methyl-2-phenyl-2-hexenal			P	-
2	Methyl 2-furoate	E	P		-
3	Acetaldehyde diethyl acetal		P		+
4	Furfural	E	P	P	-
5	4-Pentenyl isothiocyanate		P	P	-
6	Acetaldehyde propyleneglycol acetal	P		P	-
7	Linalool oxide (furanoid)		P		+
8	3-Butenyl isothiocyanate		P	P	-
9	2-Pentanone	P	P		-
10	Methyl propionate	P	P		-
11	5-Hexenyl isothiocyanate		P	P	-
12	2-(4-Methyl-5-thiazolyl)ethyl propionate	P	P		-
13	2-Methyltetrahydrofuran-3-one		P		+
14	alpha-Angelicalactone			P	+
15	2, 5-Dimethyl-4-oxo-3(5H)-furylacetate		P	P	-
16	4-Methoxy-2, 5-dimethyl-3(2H)-furanone	P			+
17	sec-Butyl isothiocyanate		P	P	-
18	2, 3-Hexanedione	P	P		-
19	Acetaldehyde diisoamyl acetal	P		P	-
20	Isobutyl isothiocyanate		P	P	-
21	2, 4-Decadien-5-olide	P		P	-
22	Isopropyl isothiocyanate		P	P	-
23	Methyl 2-nonenoate	P		P	-
24	Furfuryl methyl disulfide	P	P		-
25	2-Pentylfuran	E			-
26	Hexyl isothiocyanate		P	P	-
27	trans-2-Decenal		P	P	-
28	4'-Methoxycinnamaldehyde		P	P	-
29	S-Ethyl ethanethioate	P	P		-
30	trans-2-Dodecenal		P	P	-
31	Methyl 2-methoxybenzoate	P	P		-
32	1-Octen-3-one	P			+
33	Amyl isothiocyanate		P	P	-
34	trans-2-Tridecenal		P	P	-
35	2-Undecenal		P	P	-
36	4-Methoxy-2-methyl-2-butanethiol	P	P		-
37	Furfuryl isovalerate	E			-
38	3-Mercapto-3-methylbutanol	P	P		-
39	1, 2-Di[(1'-ethoxy)ethoxy]propane	P		P	-
40	2-Ethenyl-5-isopropenyl-2-methyltetrahydrofuran	P		P	-
41	1-Hydroxy-4-methyl-2-pentanone		P	P	-
42	trans, trans-2, 4-Octadienal		P	P	-
43	Acetaldehyde ethyl cis-3-hexenyl acetal	P		P	-

P : 陽性判定、空欄 : 陰性判定、E : 疑陽性 (判定できない)

+ : FAT 陽性判定、- : FAT 陰性判定

食品添加物と食品成分等の複合作用による副生成物の解明

研究分担者 久保田浩樹 国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部主任研究官

研究要旨 各種生鮮食品を次亜塩素酸ナトリウムにより殺菌処理したときに生成するハロ酢酸類の推定暴露量を調査するため、殺菌洗浄処理モデルを用いて生鮮食品中のハロ酢酸残存量を ECD 検出器付ガスクロマトグラフ分析装置により分析を行った。

生鮮野菜（葉菜類及び根菜類）及び魚介類（鮮魚、貝類）、鶏肉等、計 13 品目を次亜塩素酸ナトリウムにより殺菌処理を行ったとき、ジクロロ酢酸及びトリクロロ酢酸が生成し、食品の種類により生成量に違いがみられた。また、殺菌処理した試料を水道水で流水洗浄し、流水洗浄による副生成物の除去効果について調べたところ、洗浄後には食品の副生成物量が減少していることが示された。さらに、殺菌料として次亜塩素酸ナトリウムの代わりに次亜塩素酸水でカット野菜を殺菌処理した場合、消毒副生成物はいずれも生成せず、次亜塩素酸ナトリウムとは異なる挙動を示しことが明らかとなった。今回の調査結果をもとに、次亜塩素酸ナトリウムによる殺菌処理後の生鮮食品からのジクロロ酢酸及びトリクロロ酢酸の経口暴露量を推計したところ、ジクロロ酢酸残存量の実質安全量(VSD)に対する割合は 9.5%であり、トリクロロ酢酸残存量の耐容一日摂取量量(TDI)に対する割合は 1.9%であり、いずれもリスク評価値を下回っていることが確かめられた。

A. 研究目的

次亜塩素酸ナトリウム（次亜 Na）は、野菜や魚介類加工品及び食品製造工程に用いられる装置や器具などの殺菌料として広く利用されている食品添加物であり、食品衛生における微生物学的危害防止ため重要な役割を果たしている。

次亜 Na は古くから水道の消毒薬としても利用されてきたが、1972 年に Rook らが河川水からクロロホルム(CF)を検出し¹⁾、また、河川水の塩素処理によって CF、ブromoジクロロメタン(BDCM)、ジブromoクロロメタン(DBCM)、ブromoホルム(BF)から構成されるトリハロメタン(THM)が生成することが知られている²⁾。また、これまでに THM の他にも、ハロアセトニトリルや、抱水クロラール、ハロ酢酸などの

様々な消毒副生成物の存在が確認されている。

このため、世界中で消毒副生成物の健康影響について評価を行い、飲料水の水質基準値を設定している。WHO の飲料水ガイドライン第 4 版³⁾では、CF が 0.3 mg/L、BDCM が 0.06 mg/L、DBCM が 0.1 mg/L、BF が 0.1 mg/L、ジブromoアセトニトリル(DBAN)が 0.07 mg/L、ジクロロアセトニトリル(DCAN)は 0.02 mg/L(暫定)、ジクロロ酢酸(DCAA)は 0.05 mg/L(暫定)、トリクロロ酢酸(TCAA)は 0.2 mg/L をガイドライン値としている。米国 EPA では総 THM の最大許容濃度が年間平均として 0.08 mg/L、総ハロ酢酸の最大許容濃度が 0.06 mg/L であり⁴⁾、また、EU では、総 THM として 0.1 mg/L に設定している⁵⁾。

現在、わが国では水道水の水質基準において、THM類は総THMとして0.1 mg/L、CFが0.06 mg/L、BDCMが0.03 mg/L、DBCMが0.1 mg/L、BFが0.09 mg/L、クロロ酢酸が0.02 mg/L、DCAAが0.04 mg/L、TCAAが0.2 mg/L以下に設定されている⁶⁾。また、水質管理目標設定項目としてDCANが0.01 mg/L、抱水クロラールが0.02 mg/Lに暫定的に設定され、TCAN、BAN、DBAN、プロモクロロ酢酸(BCAA)、プロモジクロロ酢酸(BDCAA)、ジプロモクロロ酢酸(DBCAA)、プロモ酢酸(MBAA)、ジプロモ酢酸(DBAA)、トリプロモ酢酸(TBAA)は要検討項目になっている。

食品中のTHM残存量の調査については、米国食品医薬品局(FDA)がトータルダイエツトスタディの一環として継続的にモニタリングを行っており⁷⁾、油脂類や乳製品、野菜類など様々な食品よりTHMが検出されている⁸⁻¹¹⁾。また、これまでに食品の次亜Na処理にともなうTHM生成影響についても調査が行われ、鶏肉や野菜類の塩素殺菌処理によりCFが生成¹²⁻¹⁵⁾し、また、牛乳製造プラントにおいて次亜Naと界面活性剤を併用して殺菌洗浄した時のCFの生成挙動について報告されている¹⁶⁻¹⁸⁾。しかし、これら研究の多くは一部の食品に限られており、また、THM以外の消毒副生成物の調査は限定的であり、生鮮食品由来の消毒副生成物の暴露影響について十分な調査が行われていない。

近年、新たな殺菌料として希塩酸や食塩水を電気分解することで次亜塩素酸を主成分した殺菌液を生成する装置(いわゆる電解水製造装置)の一部が次亜塩素酸水として食品添加物に認可され、徐々に普及し始めている¹⁹⁾。次亜塩素酸水は、有効塩素濃度及びpHにより分類され、現在のところ強酸性次亜塩素酸水、強酸性次亜塩素酸水及び微酸性次亜塩素酸水の3種類に分類されている。これまで、次亜塩素酸水については、野菜の殺菌処理によるTHM生成能について調査されているが、その他の消毒副生成物

の生成能については未解明であり調査が必要である。

本研究では、食品の安全確保推進の研究調査の一環として、食品由来の消毒副生成物の経口暴露量を推計するため、生鮮食品の殺菌処理により生成する消毒副生成物の残存量について3カ年計画で調査を行っており、一昨年度はダイナミックヘッドスペースーガスクロマトグラフ質量分析装置(GC/MS)を用いて殺菌処理された食品中のTHM残存量について分析を行い、昨年度は、GC/MSを用いてハロアセトニトリルや抱水クロラールなどの消毒副生成物について調査を行い、殺菌・流水洗浄後の食品にこれら化合物がほとんど残存していないことを報告している。

本年度は、消毒副生成物のハロ酢酸に着目し、電子捕獲検出器付ガスクロマトグラフ(GC/ECD)を用いての食品中の残存量の調査を行い、殺菌処理された食品由来のハロ酢酸の暴露量の推計を行った。さらに、次亜塩素酸水のうち、強酸性次亜塩素酸水及び微酸性次亜塩素酸水でカット野菜を殺菌処理したときのハロ酢酸の生成能についてあわせて調査を行ったので報告する。

B. 研究方法

1) 試料 都内スーパーで購入したキャベツ、レタス、キュウリ、ニンジン、タマネギ、ダイコン、モヤシ、カイワレダイコン、アジ、エビ、カキ、鶏もも肉及び絹ごし豆腐を用いた。鶏もも肉を除く各試料は超純水ですすいだ後、小さく切り分け試料とした。

2) 試薬 ハロ酢酸混合標準原液(クロロ酢酸[MCAA]、ジクロロ酢酸[DCAA]、トリクロロ酢酸[TCAA]、プロモ酢酸[MBAA]、ジプロモ酢酸[DBAA]、トリプロモ酢酸[TBAA]、プロモクロロ酢酸[BCAA]、プロモジクロロ酢酸[BDCAA]、ジプロモクロロ酢酸[DBCAA])及び内部標準原液として関東化学社製の水質試験用ハロ酢酸混合標準原液 II 及び 1、2、3-トリクロロプロバ

ン標準原液を用いた。また、サロゲートとして SUPELCO 社製の 2,3-ジブロモプロピオン酸を用いた。希釈溶媒には関東化学社製の残留農薬・PCB 試験用 *tert*-ブチルメチルエーテル (MTBE) を用いた。メタノールには関東化学社製の残留農薬・PCB 試験用を用い、硫酸ナトリウムには和光純薬工業社製の残留農薬試験用を用いた。次亜塩素酸ナトリウムには和光純薬工業社製の食品添加物用を用い、その他の試薬は特級を用いた。次亜塩素酸ナトリウムは第 8 版食品添加物公定書¹⁹⁾に従いあらかじめヨウ素滴定法で定量した後、有効塩素濃度が 10 または 100 $\mu\text{g/ml}$ となるように適宜希釈し殺菌液を調製した。

3) 器具及び装置 GC/ECD は 6890N (Agilent Technologies) を用いた。全てのガラス器具は 105°C で 3 時間加熱後、放冷して用いた。

4) GC/ECD 測定条件

カラム : DB-1701 (Agilent Technologies) 30m \times 0.25 mm ID、膜厚 0.25 μm 、カラム温度 : 40°C (5min) \rightarrow (5°C/min) \rightarrow 60°C (10min) \rightarrow (10°C/min) \rightarrow 100°C (5min) \rightarrow (20°C/min) \rightarrow 260°C、スプリットレス、注入口温度 : 200°C、検出器温度 : 260°C、線速度 : 25 cm/min

5) 殺菌処理方法

試料 2 g を 50 ml のスクリーキャップバイアルに採り、野菜、魚介類及び鶏肉の場合は有効塩素濃度として 100 $\mu\text{g/ml}$ 、豆腐には 10 $\mu\text{g/ml}$ となるように調製した次亜 Na 溶液 20 ml に浸し、室温で 10 分間殺菌処理を行った。殺菌処理後、アスコルビン酸ナトリウム(4 \rightarrow 10) 200 μl を加えて反応を止め、よく攪拌した後、余剰の殺菌液を取り除いた後、殺菌処理試料とした。

6) GC/ECD 用試験液の調製

試料を 50 ml のスクリーキャップバイアルに採り、サロゲート及び硫酸ナトリウム 8 g を加え、よく振とうした後、硫酸を滴下し pH0.5 以下となるように調整した。1 $\mu\text{g/ml}$ 内部標準液を含む MTBE 5 ml を加え、5 分間激しく振

りませた後、3000 rpm で 5 分間遠心分離後、MTBE 層 3 ml を 10ml のスクリーキャップバイアルに採り、10% 硫酸メタノール溶液 1 ml を加え、ヒートブロック上で 50°C、2 時間加熱し、メチルエステル化処理を行った。反応終了後、放冷し、飽和炭酸水素ナトリウム 5 ml を加え中和を行い、炭酸ガスの発泡が少なくなるまでボルテックスミキサーを用いてよく攪拌した。静置後、MTBE 層を 1.5 ml バイアルに分取し、GC/ECD 用試験液とした。

7) 検量線用標準液の調製

ハロ酢酸混合標準原液を段階的にメスフラスコに採り、MTBE で正確にメスアップし、検量線用標準液とした。各検量線用標準液をそれぞれ正確に採り、以下、GC/ECD 用試験液と同様に操作を行った。

C. 研究結果

1) GC/ECD 分析条件の検討

測定対象とした 9 種のハロ酢酸の GC/ECD によるクロマトグラムを Fig. 1 に示した。30 分までに全てのピークが検出され、各化合物は良い分離を示した。各化合物の定量下限値は、DCAA 及び TCAA の定量下限値が 10 ng/g、その他の化合物が 20 ng/g であった。

2) 添加回収試験

ハロ酢酸混合標準液を各種生鮮食品に 50 ng/g 又は 500 ng/g となるように添加し、添加回収試験を実施した (Table 1-9)。

アジや鶏もも肉において DBAA、CBDAA 及び TBAA の回収率が 70% を下回った。また、ダイコンやカイワレダイコンなどのアブラナ科ダイコン属を分析した場合、BCAA 及び TBAA の保持時間近傍に夾雑ピークが存在し、定量が妨害された。また、エビに 50 ng/g 添加したとき、DBAA、CDBAA、TBAA の回収率が 120% 以上になった。このため、これら化合物については、定量性に問題があるため、定性的な解析についてのみ調べた。

DCAA、TCAA 及び BDCAA の添加回収率は

概ね良好であり、各食品からの回収率は DCAA が 85.0~117.5%、TCAA が 84.8~111.4%、BDCAA が 77.0~107.3%であり、相対標準偏差も概ね 10%以内の良好な結果を示した、そこで、本研究では DCAA 及び TCAA を中心に生鮮食品の殺菌及び水洗浄処理後の残存量の推移を調べた。

3) 生鮮野菜の次亜 Na 殺菌処理及び水洗浄処理後の DCAA 及び TCAA 残存量の調査

次亜 Na で殺菌処理が想定される生鮮野菜について、殺菌及び水洗浄処理後の DCAA 及び TCAA 残存量の推移を調べた(Table 10, 11)。各試料は 100 µg/L 次亜 Na により 10 分間殺菌し、さらに、水道水で 1 分間流水洗浄処理を行い、それぞれを殺菌及び水洗浄処理後の試料とした。モデル試料として殺菌処理が想定される葉菜類、根菜類及び豆類等、計 8 種類の野菜を選び検討を行った。次亜 Na 殺菌処理により、全ての野菜より 32.8~295.8 ng/g の DCAA が検出された。DCAA は野菜の種類により生成量に違いがみられ、葉菜類ではキャベツ(249.2 ng/g)、根菜類ではニンジン(295.8 ng/g)が高い残存量を示したのに対し、キュウリ(32.8 ng/g)やタマネギ(42.3 ng/g)は低い残存量であった。また、水道水による流水洗浄後には、キャベツは 151.7 ng/g、ニンジンは 184.5 ng/g まで DCAA の残存量が減少し、キュウリ及びタマネギは定量下限値以下になった。

一方、TCAA は、キャベツ、キュウリ、タマネギ、モヤシ、カイワレダイコンの殺菌処理で、それぞれ 13.1、17.4、130.9、39.1、41.3 ng/g 検出されたが、水洗浄処理後には、タマネギ、モヤシ、カイワレダイコンは、それぞれ 23.1、32.2、35.0 ng/g まで減少し、さらに、キャベツ及びキュウリは定量下限値以下となった。

殺菌処理後の DCAA と TCAA 生成量を比較した場合、総じて DCAA 量が TCAA 量に比べて高い値を示したが、タマネギは例外的に TCAA 生成量が高くなった。

また、MCAA、MBAA、BCAA、DBAA、

BDCAA、CDBAA、TBAA については、次亜 Na 殺菌処理による明確な生成は確認できなかった。

4) 魚介類の次亜 Na 殺菌処理及び水洗浄処理後の DCAA 及び TCAA 残存量の調査

魚介類として魚(アジ)、甲殻類(エビ)及び貝類(カキ)を 100 µg/ml 次亜 Na で 10 分間殺菌処理し、さらに、水道水で 1 分間流水洗浄したときの DCAA 及び TCAA 残存量の推移を調べた(Table 12, 13)。次亜 Na 殺菌処理後にカキより痕跡程度の DCAA が検出されたが、水道水による流水洗浄後には取り除かれ、全ての食品において不検出となった。また、TCAA も、殺菌及び水洗浄処理後のすべての試料において不検出となった。

5) 鶏肉の次亜 Na 殺菌処理及び水洗浄処理後の DCAA 及び TCAA 残存量の調査

鶏肉を 100 µg/ml 次亜 Na で 10 分間殺菌液に浸漬処理したときの DCAA 及び TCAA 生成量の推移を調べた(Table 14)。殺菌処理後の試料より消毒副生成物は検出されなかった。また、鶏肉は、通例加熱調理が行われるため、オープンで 5 分間加熱調理後の DCAA 及び TCAA 残存量を調べたが、同様に不検出であった。

6) 豆腐の次亜 Na 殺菌処理及び水洗浄処理後の DCAA 及び TCAA 残存量の調査

豆腐は、製造時に約 10 µg/ml の次亜 Na を容器内に満たしてパック詰めされる場合があるため、10 µg/ml 次亜 Na 浸漬処理後の DCAA 及び TCAA 残存量の推移を調べた(Table 15)。殺菌処理及び水洗浄処理後の試料からも DCAA 及び TCAA は検出されなかった

7) カット野菜の次亜塩素酸水殺菌処理による DCAA 及び TCAA 生成能の検討。

次亜 Na の代替として、次亜塩素酸水によりカット野菜を殺菌処理したときの DCAA 及び TCAA の生成能について調査した(Fig. 2)。次亜塩素酸水として、強酸性次亜塩素酸水及び微酸性次亜塩素酸水の 2 タイプの次亜塩素酸水を用い、100 µg/ml 次亜 Na 殺菌処理と比較を行っ

た。カットキャベツを次亜 Na で殺菌処理した場合、DCAA 及び TCAA が生成するが、強酸性次亜塩素酸水及び微酸性次亜塩素酸水で殺菌処理した場合には、DCAA 及び TCAA は生成せず食品への残存は見られなかった。

D. 考察

1) 食品中の DCAA 及び TCAA 分析法の検討

生鮮食品に含まれる DCAA 及び TCAA 残存量を明らかとするため、EPA method 552.2 に準じて溶媒抽出-GC/MS 法により分析を行った。本試験法では DCAA 及び TCAA 分析において良好な回収率を示し、相対標準偏差も 10% 以内の良い精度を示しが、DBAA、CDBAA 及び TBAA などは、主にタンパク食品の分析において回収率が低くなった。Raymer ら²⁰⁾も同様の試験法をもとに各種食品及び飲料からの HCN、CH 及びハロ酢酸分析法を開発し、一部の飲料等において DBAA、BDCAA、CDBAA、TBAA の回収率が低くなることを明らかとしており、今回と類似した結果を示している。DBAA、CDBAA 及び TBAA の回収率が低下した理由としてマトリクスへの分解や吸着などが原因として考えられた。ただし、DBAA、CDBAA 及び TBAA などは塩素処理された水道水にもほとんど含まれておらず、また、本研究においても殺菌処理後の試料にこれら化合物は検出されていないことから、本研究において実質的に大きな影響はなかったと考えられる。

2) 生鮮食品類の塩素殺菌処理による DCAA 及び TCAA の残存量の推移

各種生鮮野菜を次亜 Na により殺菌処理したところ DCAA 及び TCAA が生成した。各食品における DCAA 及び TCAA 生成量は野菜の種類により違いがみられ、野菜に含まれる食品成分などにより生成量に変化していると考えられた。また、DCAN はキャベツやニンジンの殺菌処理で比較的生成量が多くなるのに対し、TCAA はタマネギの殺菌処理において生成量が高まるなど、食品成分の違いにより生成する化

合物にも違いがみられた。

キャベツ及びニンジンの殺菌処理後において比較的高い DCAA 残存量を示したが、水洗浄により約 40% 減少し、食品に残存する DCAA の低減にも水洗浄の有効性が確認できた。同様に、食品に残存した TCAA も水洗浄処理により減少することが確かめられた。

鮮魚、鶏もも肉、豆腐を殺菌処理したとき DCAN 及び TCAA の生成はみられなかった。タンパク性食品の場合は、次亜 Na による殺菌処理により、ハロ酢酸がほとんど生成しておらず残存が低く抑えられたと考えられる。このため、殺菌処理された食品由来の DCAA 及び TCAA 暴露影響は主に生鮮野菜に限定されることが明らかとなった。

3) 生鮮食品類の次亜塩素酸水殺菌による DCAA 及び TCAA の生成能の調査

次亜 Na の代替として強酸性次亜塩素酸水及び微酸性次亜塩素酸水で殺菌処理したところ、食品中に DCAA 及び TCAA の残存は確認できなかった。次亜 Na は通常、塩素換算で 100~200 µg/g の殺菌液が用いられるが、次亜塩素酸水は次亜 Na に比べて低い塩素濃度で、次亜 Na と同等の強い殺菌効果を示すことが知られており、今回使用した強酸性次亜塩素酸水及び微酸性次亜塩素酸水の塩素濃度も約 20 µg/ml であり、塩素濃度が低いため、試料との塩素化反応の進行が低く抑えられたと考えられる。このため、消毒副生成物による暴露影響の観点から比較した場合、次亜塩素酸水は次亜 Na に比べて優れていると考えられた。

4) 殺菌処理された食品由来の DCAA 及び TCAA 暴露量の推定

次亜 Na で殺菌処理したときに、殺菌処理洗浄後にカット野菜に残存した DCAA 及び TCAA の暴露量の推計を行った。各食品の喫食量は独立行政法人 国立健康・栄養研究所の平成 22 年度食品摂取頻度・摂取量調査の特別集計業務報告書²¹⁾の農産物・畜水産物の平均摂取量データを参考にした。このデータから殺菌が

想定される生野菜や浅漬け原材料野菜、魚介類、肉類など計 46 品目を抽出し、食品群毎の喫食量を求めた。また、食品中の DCAA 及び TCAA 残存量は、食品群において水洗浄後に最も残存量が高かった食品をその食品群の代表値として選んだ。具体的には、DCAA では、葉菜類としてキャベツ、その他の野菜としてニンジンを選んだ。代表的には、魚介類及び肉類は定量下限値以下であったため残存量をゼロとして計算した。また、TCAA は、その他の野菜としてニンジンを代表値に選んだ、葉菜類、魚介類及び肉類は定量下限値以下であったため残存量をゼロとして計算した。以上の結果をもとに、体重 55.1 kg のヒトの生鮮食品由来の一日当たりの経口暴露量は、DCAA は 0.74 µg/kg 体重/日、TCAA は 0.11 µg/kg 体重/日となった。

食品安全委員会の化学物質・汚染物質専門調査会清涼飲料水部会では、DCAA の評価結果を、非発がん毒性を指標とした場合の TDI を 12.5 µg/kg 体重/日、発がん毒性を指標とした場合の TDI を 12.9 µg/kg 体重/日、発がんユニットリスク(VSD)を 7.8×10^{-3} mg/kg 体重/日としている。最も評価値が厳しい VSD と比較した場合、VSD に対する生鮮食品由来の暴露量の割合は 9.5%であった。一方、TCAA は TDI を 6 µg/kg 体重/日に設定しており、TCAA の TDI に対する生鮮食品由来の経口暴露量の割合は 1.9%であった。いずれも安全性の評価値の 10%以下であった。なお、算定された生鮮食品由来の推定暴露量は、各食品群における最大残存量を代表値として計算した結果であり、また、野菜及び魚介類の多くは加熱調理されるため、調理過程で DCAA 及び TCAA は分解していると考えられ、実際の経口暴露量はもっと低い数値になると予想される。このため、生鮮食品の次亜 Na 殺菌処理により生成される DCAA 及び TCAA の経口暴露量は、評価値に比べて低い値であり、健康に影響を及ぼす可能性はほとんどないと考えられる。

E. 結論

各種生鮮食品を次亜 Na により殺菌処理したとき、DCAA 又は TCAA が生成し、野菜の種類によって、これら化合物生成能に違いがみられたが、殺菌処理後の流水洗浄処理で減少することが確かめられた。

また、次亜 Na の代替として、次亜塩素酸水で殺菌処理したところ、何れの消毒副生成物も検出されず、次亜 Na とは異なる挙動を示すことが明らかとなった。

さらに、今回の調査結果により得られた水洗浄後の残存量をもとに、生鮮食品由来の DCAA 及び TCAA の暴露量を推計したところ、DCAA 及び TCAA の VSD 又は TDI に対する割合は、それぞれ 9.5%及び 1.9%であり、次亜 Na 殺菌処理された食品由来の経口暴露量は評価値に比べ低いことが確かめられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Kubota, H., Sato, K., Sasaki, N., Kawamura, Y., Ozeki, Y., Akiyama, H., "Formation of volatile halogenated compounds in fresh-cut cabbage treated with sodium hypochlorite" Jpn. J. Food Chem. Safety, 19, 94-103 (2012)

2. 学会発表 なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

H. 参考論文

- 1) Rook, J.J.: Water Treatment and Examination, 21(3), p259 (1972)
- 2) Rook, J.J.: Water Treatment and Examination, 23(2), p234-243 (1974)
- 3) WHO: Guidelines for Drinking-water Quality 4th Ed. (2011)
- 4) Susan D. Richardson: Trends in Analytical Chemistry, 22(10), p666-684

- (2003)
- 5) Official Journal of the European Communities Council Directive 98/83/EC (1998)
 - 6) 厚生労働省令第百一号:水質基準に関する省令 (2003)
 - 7) Heikes et al.: J. Agric. Food Chem., 43(11), p2869-2875 (1995)
 - 8) Toyoda, M., Ishizaka, T., Saito, Y.: 食品衛生学雑誌, 27(3), p245-241 (1986)
 - 9) Tamakawa, K. et al.: 食品衛生学雑誌, 29(2), p156-160 (1988)
 - 10) Miyahara, M. et al.: J. Agric. Food Chem., 43(2), p320-326 (1995)
 - 11) René Imhof et al.: Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg., 85, p681-703 (1994)
 - 12) Vizzier-Thaxton, V. et al.: J. Poultry Sci. Soc., 19, p169-173 (2010)
 - 13) Hidaka, T. et al.: 食品衛生学雑誌, 32(4), p308-314 (1991)
 - 14) Hidaka, T. et al.: 食品衛生学雑誌, 33(3), p267-273 (1992)
 - 15) Hidaka, T. et al.: 食品衛生学雑誌, 35(4), p357-364 (1994)
 - 16) Tiefel, P., Guthy, K.: Milchwissenschaft, 52(12), p686-691 (1997)
 - 17) Resch, P., Guthy, K.: Deutsche Lebensmittel-Rundschau, 95, p418-523 (1999)
 - 18) Resch, P., Guthy, K.: Deutsche Lebensmittel-Rundschau, 96, p9-16 (2000)
 - 19) 厚生省:食品添加物公定書第8版, p269 (1999)
 - 20) Raymer J. H. et al. : Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology, 10, p808-815 (2000)西 信雄: 独立行政法人 国立健康・栄養研究摂取頻度・摂取量調査の特別集計業務報告書 (2012.1)

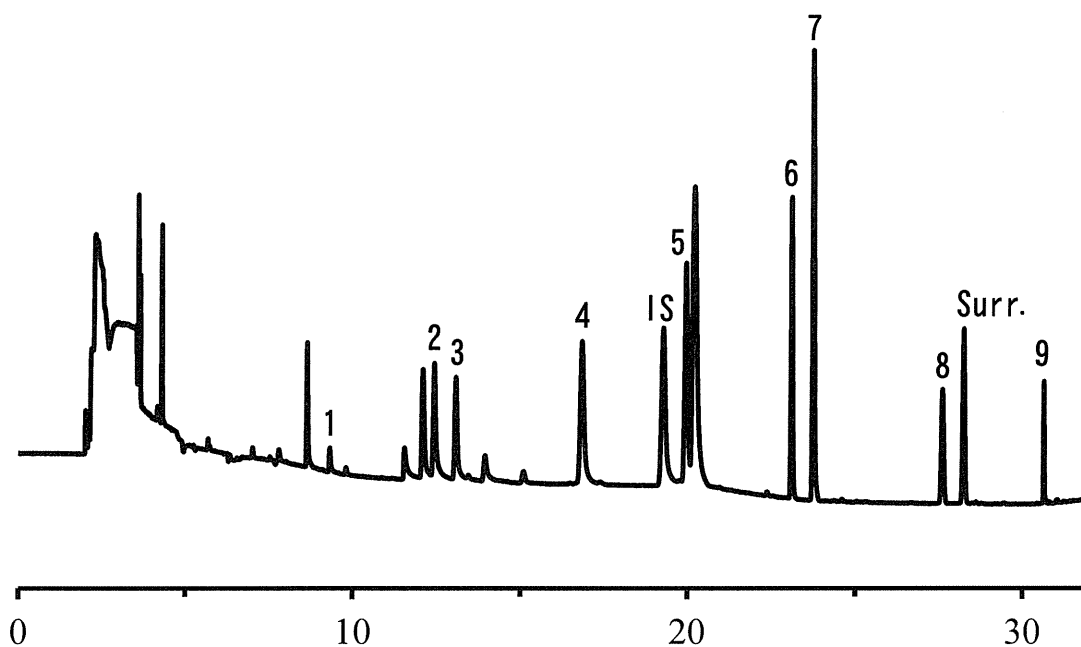


Fig. 1. ハロ酢酸標準液の GC/ECD クロマトグラム

1: chloroacetic acid (MCAA), 2: bromoacetic acid (MBAA), 3: Dichloroacetic acid (DCAA), 4: Trichloroacetic acid (TCAA), 5: bromochloroacetic acid (BCAA), 6: dibromoacetic acid (DBAA), 7: bromodichloroacetic acid (BDCAA), 8: chlorodibromoacetic acid (CDBAA), 9: tribromoacetic acid (TBAA), IS: 1,2,3-trichloropropane, Surr.: 2,3-dibromopropionic acid

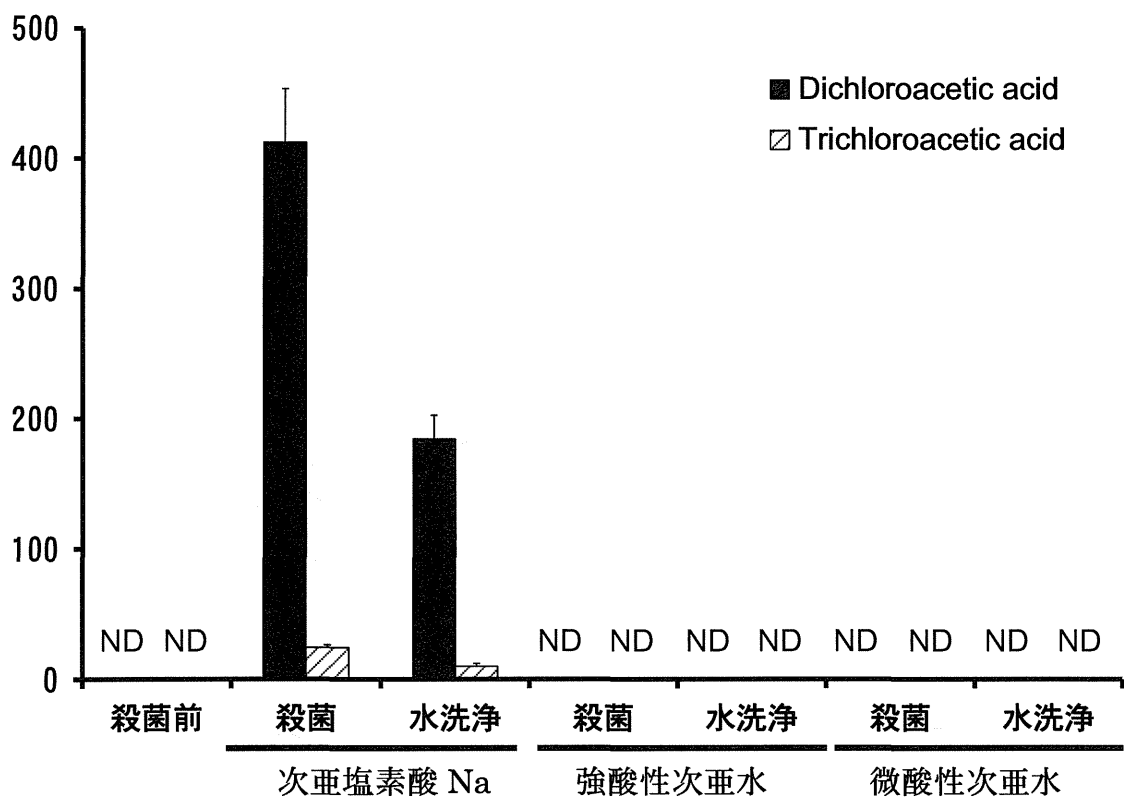


Fig. 2. 塩素系殺菌料の種類によるカット野菜の殺菌及び流水洗浄処理後のジクロロ酢酸及びトリクロロ酢酸残存量の比較

Table 1. クロロ酢酸の生鮮食品中からの添加回収試験

No.	Samples	Amount of added monochloroacetic acid*			
		50 ng/g		500 ng/g	
		Mean recovery (%)	RSD (%)	Mean recovery (%)	RSD (%)
1	Cabbage	92.9	6.8	101.3	1.9
2	Lettuce	97.8	4.6	90.4	1.9
3	Cucumber	81.1	7.2	93.5	3.2
4	Carrot	102.8	2.7	97.0	0.9
5	Onion	65.6	12.7	84.8	0.9
6	radish	106.1	7.4	103.8	1.2
7	Bean sprout	74.3	5.7	98.3	3.2
8	Radish sprout	57.1	13.3	88.7	2.3
9	Horse mackerel	98.7	8.3	119.1	2.4
10	Shrimp	84.0	5.1	103.9	0.5
11	Oyster	79.1	5.5	96.9	2.8
12	Chicken meat	48.9	29.3	104.7	5.0
13	Bean curd	98.3	7.0	97.4	1.9

* n=5

Table 2. ブロモ酢酸の生鮮食品中からの添加回収試験

No.	Samples	Amount of added monochloroacetic acid*			
		50 ng/g		500 ng/g	
		Mean recovery (%)	RSD (%)	Mean recovery (%)	RSD (%)
1	Cabbage	121.5	4.8	108.0	3.5
2	Lettuce	102.6	14.4	92.9	1.4
3	Cucumber	106.1	1.8	95.6	2.4
4	Carrot	96.7	6.5	115.7	0.9
5	Onion	105.7	2.2	92.1	2.4
6	radish	134.8	1.0	106.8	1.5
7	Bean sprout	111.6	2.2	101.7	2.8
8	Radish sprout	105.2	4.2	95.1	1.5
9	Horse mackerel	9.9	108.3	91.3	1.1
10	Shrimp	93.4	2.9	96.2	0.7
11	Oyster	76.1	19.4	91.4	4.9
12	Chicken meat	33.5	53.7	96.2	7.7
13	Bean curd	101.7	2.2	94.1	1.2

* n=5

Table 3. ジクロロ酢酸の生鮮食品中からの添加回収試験

No.	Samples	Amount of added monochloroacetic acid*			
		50 ng/g		500 ng/g	
		Mean recovery (%)	RSD (%)	Mean recovery (%)	RSD (%)
1	Cabbage	100.7	6.5	101.9	2.1
2	Lettuce	99.9	8.9	95.6	0.8
3	Cucumber	93.9	4.4	95.5	1.0
4	Carrot	95.4	7.9	97.8	1.5
5	Onion	89.0	5.1	93.8	0.4
6	radish	96.0	2.0	96.0	2.5
7	Bean sprout	117.5	3.5	104.2	3.2
8	Radish sprout	103.6	4.0	103.8	1.4
9	Horse mackerel	97.9	2.8	119.2	0.6
10	Shrimp	104.0	8.8	99.9	4.3
11	Oyster	102.5	8.1	103.3	1.4
12	Chicken meat	98.7	8.9	114.0	2.7
13	Bean curd	85.0	6.4	90.9	1.1

* n=5

Table 4. トリクロロ酢酸の生鮮食品中からの添加回収試験

No.	Samples	Amount of added monochloroacetic acid*			
		50 ng/g		500 ng/g	
		Mean recovery (%)	RSD (%)	Mean recovery (%)	RSD (%)
1	Cabbage	107.7	4.1	105.4	1.4
2	Lettuce	104.8	9.9	95.0	2.3
3	Cucumber	102.9	3.5	95.3	1.2
4	Carrot	94.2	3.3	102.4	4.6
5	Onion	89.6	4.1	98.5	3.3
6	radish	101.9	3.0	98.5	5.4
7	Bean sprout	111.4	7.3	108.1	5.8
8	Radish sprout	105.5	3.4	101.5	3.2
9	Horse mackerel	84.0	5.6	94.2	3.2
10	Shrimp	103.4	3.0	92.6	9.1
11	Oyster	104.3	4.1	99.3	1.3
12	Chicken meat	86.2	9.7	92.6	5.4
13	Bean curd	84.8	1.7	86.6	2.9

* n=5

Table 5. ブロモクロ酢酸の生鮮食品中からの添加回収試験

No.	Samples	Amount of added monochloroacetic acid*			
		50 ng/g		500 ng/g	
		Mean recovery (%)	RSD (%)	Mean recovery (%)	RSD (%)
1	Cabbage	92.7	2.4	100.3	0.9
2	Lettuce	105.3	5.2	94.9	0.6
3	Cucumber	103.4	2.5	96.1	0.5
4	Carrot	89.0	6.3	97.9	2.1
5	Onion	118.9	4.3	97.7	0.9
6	radish	—	—	—	—
7	Bean sprout	104.5	2.0	104.7	3.6
8	Radish sprout	—	—	—	—
9	Horse mackerel	91.9	7.9	103.2	2.4
10	Shrimp	100.0	1.4	97.7	5.0
11	Oyster	104.1	1.7	101.9	1.1
12	Chicken meat	81.1	8.6	96.7	3.8
13	Bean curd	99.2	2.1	91.8	1.6

* n=5

Table 6. ジブromo酢酸の生鮮食品中からの添加回収試験

No.	Samples	Amount of added monochloroacetic acid*			
		50 ng/g		500 ng/g	
		Mean recovery (%)	RSD (%)	Mean recovery (%)	RSD (%)
1	Cabbage	104.9	4.0	103.5	1.2
2	Lettuce	100.9	8.1	90.5	4.4
3	Cucumber	102.9	3.7	89.7	1.0
4	Carrot	112.0	10.1	103.3	5.9
5	Onion	99.9	6.4	90.3	4.9
6	radish	76.5	6.5	82.7	6.8
7	Bean sprout	105.4	6.8	107.5	7.4
8	Radish sprout	78.0	8.8	68.6	5.6
9	Horse mackerel	35.8	14.6	27.9	24.1
10	Shrimp	121.7	3.4	102.4	10.8
11	Oyster	75.0	6.8	73.7	4.5
12	Chicken meat	44.6	12.8	44.6	36.5
13	Bean curd	158.2	3.5	164.3	4.3

* n=5

Table 7. ブロモジクロ酢酸の生鮮食品中からの添加回収試験

No.	Samples	Amount of added monochloroacetic acid*			
		50 ng/g		500 ng/g	
		Mean recovery (%)	RSD (%)	Mean recovery (%)	RSD (%)
1	Cabbage	106.1	1.9	102.6	1.1
2	Lettuce	107.3	5.6	95.8	1.3
3	Cucumber	100.0	2.6	97.5	1.0
4	Carrot	100.9	1.4	99.5	3.1
5	Onion	96.6	1.2	98.9	2.2
6	radish	99.1	2.0	95.7	4.7
7	Bean sprout	101.7	3.4	106.8	4.6
8	Radish sprout	104.1	2.5	102.8	3.1
9	Horse mackerel	81.1	4.2	95.7	3.0
10	Shrimp	103.6	2.8	98.7	6.4
11	Oyster	99.5	3.6	100.7	1.8
12	Chicken meat	77.0	10.2	88.3	6.1
13	Bean curd	99.8	1.7	94.1	2.5

* n=5

Table 8. クロロジブロモ酢酸の生鮮食品中からの添加回収試験

No.	Samples	Amount of added monochloroacetic acid*			
		50 ng/g		500 ng/g	
		Mean recovery (%)	RSD (%)	Mean recovery (%)	RSD (%)
1	Cabbage	87.6	5.0	102.1	0.9
2	Lettuce	96.0	8.3	85.4	6.0
3	Cucumber	107.6	5.5	84.7	0.5
4	Carrot	86.5	11.0	103.4	6.3
5	Onion	95.7	4.9	86.1	6.2
6	radish	53.6	10.1	77.2	7.3
7	Bean sprout	137.9	20.9	106.0	6.9
8	Radish sprout	65.7	8.1	51.8	5.4
9	Horse mackerel	34.9	12.9	22.4	18.5
10	Shrimp	128.7	3.4	110.0	12.2
11	Oyster	64.7	9.3	61.4	4.0
12	Chicken meat	54.1	37.6	51.5	37.0
13	Bean curd	-		-	

* n=5

Table 9. トリブロモ酢酸の生鮮食品中からの添加回収試験

No.	Samples	Amount of added monochloroacetic acid*			
		50 ng/g		500 ng/g	
		Mean recovery (%)	RSD (%)	Mean recovery (%)	RSD (%)
1	Cabbage	96.8	5.6	99.4	1.0
2	Lettuce	70.6	14.5	73.3	8.5
3	Cucumber	74.4	6.2	70.8	1.4
4	Carrot	87.2	7.8	103.9	7.5
5	Onion	94.1	9.2	75.6	7.9
6	radish	-	-	-	-
7	Bean sprout	74.3	10.6	89.9	7.3
8	Radish sprout	-	-	-	-
9	Horse mackerel	36.7	56.1	18.0	10.4
10	Shrimp	112.4	8.1	114.1	12.8
11	Oyster	31.4	27.4	49.6	7.8
12	Chicken meat	42.2	73.4	42.6	62.4
13	Bean curd	57.8	24.5	218.7	5.4

* n=5

Table 10. 各種生鮮食品の次亜塩素酸ナトリウム殺菌及び水洗浄後のジクロロ酢酸残存量の推移

No.	Samples	未処理		次亜Na処理		水洗浄 ^{*3}	
		Mean ^{*1} ± SD (ng/g)	-	Mean ± SD (ng/g)	-	Mean ± SD (ng/g)	-
1	Cabbage	ND ^{*2}	-	249.2 ± 34.8	-	151.7 ± 15.1	-
2	Lettuce	ND	-	51.2 ± 9.9	-	21.1 ± 4.7	-
3	Cucumber	ND	-	32.8 ± 4.9	-	ND	-
4	Carrot	ND	-	295.8 ± 27.0	-	184.5 ± 16.1	-
5	Onion	ND	-	42.3 ± 0.8	-	ND	-
6	Radish	ND	-	44.7 ± 4.9	-	19.4 ± 3.0	-
7	Bean sprout	ND	-	120.5 ± 11.1	-	102.0 ± 23.3	-
8	Radish sprout	ND	-	55.6 ± 1.1	-	54.1 ± 5.9	-

*1 n=3

*2 ND < 10 ng/g

*3 Wash in running tap water for 1min.

Table 11. 各種生鮮食品の次亜塩素酸ナトリウム殺菌及び水洗浄後のトリクロロ酢酸残存量の推移

No.	Samples	未処理		次亜Na処理		水洗浄*3	
		Mean*1 ± SD (ng/g)		Mean ± SD (ng/g)		Mean ± SD (ng/g)	
1	Cabbage	ND*2	-	13.1 ± 3.7		ND	-
2	Lettuce	ND	-	ND	-	ND	-
3	Cucumber	ND	-	17.4 ± 3.9		ND	-
4	Carrot	ND	-	ND	-	ND	-
5	Onion	ND	-	130.9 ± 21.7		23.1 ± 2.1	
6	Radish	ND	-	ND	-	ND	-
7	Bean sprout	ND	-	39.1 ± 2.1		32.2 ± 6.5	
8	Radish sprout	24.6 ± 3.7		41.3 ± 2.6		35.0 ± 3.4	

*1 n=3

*2 ND < 10 ng/g

*3 Wash in running tap water for 1min.

Table 12. 魚介類の次亜塩素酸ナトリウム殺菌及び水洗浄後のジクロロ酢酸残存量の推移

No.	Samples	未処理		次亜Na処理		水洗浄*3	
		Mean*1 ± SD (ng/g)		Mean ± SD (ng/g)		Mean ± SD (ng/g)	
1	Horse mackerel	ND	-	ND	-	ND	-
2	Shrimp	ND	-	ND	-	ND	-
3	Oyster	ND	-	ND	-	ND	-

*1 n=3

*2 ND < 10 ng/g

*3 Wash in running tap water for 1min.

Table 13. 魚介類の次亜塩素酸ナトリウム殺菌及び水洗浄後のトリクロロ酢酸残存量の推移

No.	Samples	未処理		次亜Na処理		水洗浄*3	
		Mean*1 ± SD (ng/g)		Mean ± SD (ng/g)		Mean ± SD (ng/g)	
1	Horse mackerel	ND	-	ND	-	ND	-
2	Shrimp	ND	-	ND	-	ND	-
3	Oyster	ND	-	ND	-	ND	-

*1 n=3

*2 ND < 10 ng/g

*3 Wash in running tap water for 1min.

Table 14. 鶏もも肉の次亜塩素酸ナトリウム殺菌及び加熱調理後のジクロロ酢酸及びトリクロロ酢酸残存量の推移

No.	Compounds	未処理		次亜Na処理		加熱調理*3	
		Mean*1 ± SD (ng/g)		Mean ± SD (ng/g)		Mean ± SD (ng/g)	
1	Dichloroacetic acid	ND	-	ND	-	ND	-
2	Trichloroacetic acid	ND	-	ND	-	ND	-

*1 n=3

*2 ND < 10 ng/g

*3 Roasted in oven for 5min

Table 15. 豆腐の次亜塩素酸ナトリウム殺菌及び水洗浄処理後のジクロロ酢酸及びトリクロロ酢酸残存量の推移

No.	Compounds	未処理		次亜Na処理		水洗浄 ^{*3}	
		Mean*1 ± SD (ng/g)	-	Mean ± SD (ng/g)	-	Mean ± SD (ng/g)	-
1	Dichloroacetic acid	ND	-	ND	-	ND	-
2	Trichloroacetic acid	ND	-	ND	-	ND	-

*1 n=3

*2 ND < 10 ng/g

*3 Wash in running tap water for 1min.