

食品中の化学物質を”はかる”

石川さと子

慶應義塾大学薬学部

平成21年度日本環境変異原学会公開シンポジウム
『食品に関わる化学物質の安全性とは？』

2009/5/30

素朴な疑問...

野菜中に残留していた農薬〇〇〇は
基準値の 0.x ppm以下でした

健康被害を起こした輸入食品から
x %の化学物質△△△が検出されました



- ▶ どうやってその物質だとわかったの？
- ▶ それってどのくらいの量なの？
- ▶ その数値はどうやって調べたの？

“はかる”と言っても...

▶ 測る・計る・量る

- ある基準をもとにして、はかり、ゲージなどを用いて、物の度合いを調べる。
- **測る**: 高さ・長さ・広さ・深さ・速さなどを調べる。
- **計る**: 数量や時間を調べ数える。
- **量る**: 容積・重さなどを調べる。

▶ 図る

- いろいろと試みる。企てる。

▶ 謀る

- 策略をめぐらす。だます。

▶ 諮る

- ある問題について、専門家などの意見を聞く。

測定する
計測する
計量する
秤量する
実測する

“はかる”ということ

- ▶ 対象物の本質を知ること、わかること
- ▶ はかることで、的確な情報を得なければならない
 - 得られる情報は、必ずしも多ければいいというわけではない

目的、対象を考えて、はかる手段を選択する必要がある

- ヒトの身長
- マウスの体重
- みりん 15cc

- 何を使って？
- どのくらいの確かさで？

はかる目的

≫ なぜはかるのか？

なぜはかるのか

- ▶ どんな種類の物質が含まれているか？
- ▶ どのくらい存在しているか？
- ▶ 生体へどんな影響を及ぼすのか？
- ▶ どのくらいの量で、その影響が現れるのか？
- ▶ 本当にその物質が存在しないのか？ ← 難しい

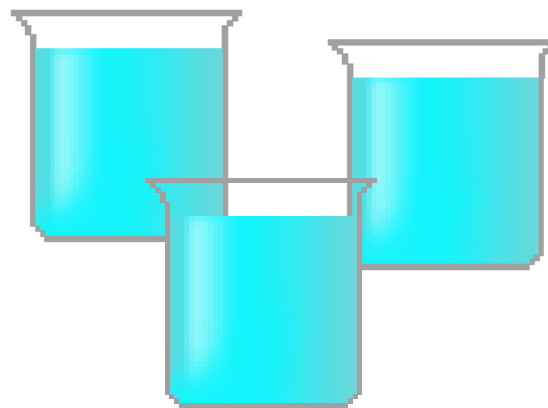
定性分析と定量分析

- ▶ 質 (quality) をはかりたい ➡ 定性分析
 - Qualitative analysis
 - 試料に含まれる元素の種類、化学構造を特定する
 - 試料に含まれている成分を特定する
- ▶ 量 (quantity) をはかりたい ➡ 定量分析
 - Quantitative analysis
 - 試料に含まれている元素の量を調べる
 - 試料に含まれている特定成分の量を調べる

単位(unit)

- ▶ 量を客観的に表現するために必要な基準
- ▶ 物理量
 - 客観的に測定できる量、その量から算出できる量
 - 物理量 = 数値 × 単位

例えば、「ビーカー」という単位を使うのであれば、右の状態は、“3 ビーカー”



国際単位系 (SI単位系)

▶ System International d'unités

(International System of Units)

▶ SI基本単位

▶ 組み立て単位

- 体積 m^3
- 速度 m s^{-1}
- エネルギー (J) $\text{m}^2 \text{kg s}^{-2}$

▶ SI接頭語

- キロ (k, 10^3)
- ミリ (m, 10^{-3})
- マイクロ (μ , 10^{-6})
- ナノ (n, 10^{-9})
- ピコ (p, 10^{-12})

SI基本単位

物理量	単位の名称 (記号)
長さ	メートル (m)
質量	キログラム (kg)
時間	秒 (s)
電流	アンペア (A)
熱力学温度	ケルビン (K)
物質량	モル (mol)
光度	カンデラ (cd)

化学物質の絶対量を表す単位

▶ 質量(重さ) g

- 水 1 mL = 1 g
- エタノール 1 mL = 0.79 g
- 塩化ナトリウム(NaCl) 55粒 = 0.0053 g = 5.3 mg

▶ 物質量 mol

- 原子や分子を 6×10^{23} 個集めた量が「1 mol」
- 水 1 mL = 0.055 mol = 55 mmol
- エタノール 1 mL = 0.017 mol = 17 mmol
- NaCl 55粒 = 0.00009 mol = 90 μ mol

濃度を表す尺度

- ▶ 濃度＝単位あたりに含まれる量
 - g/L、pg/kg
 - mol/L など
- ▶ ある物質が、全体の中でどのくらいの比率を占めるのかを示したもの

%

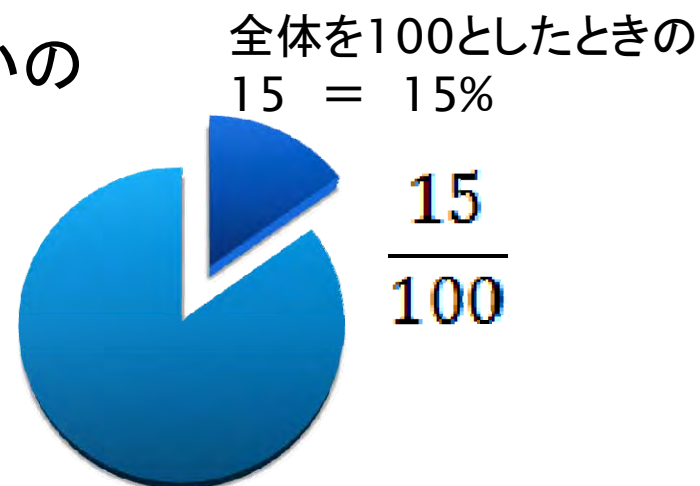
ppm

ppb

% (パーセント)

- ▶ 百分率 percent
- ▶ 由来はラテン語 per(毎に) centum(百)
- ▶ 化学物質の濃度を示すときには...
 - 100 g中に含まれている物質の質量(g)
 - 100 mL中に含まれている物質の質量(g)

➡ 全体を「100」としたときに、どのくらいの割合を占めるのか、を示したもの



ppmとppb

▶ ppm（百万分率）

- parts per million
- 全体を100万としたときの割合
- 1 ppm = 0.0001%
- 1 mg / 1 kg

$$\frac{1}{1,000,000}$$

塩1粒(0.1 mg)をコップ半分(約100 mL)の水に溶かしたら、約1 ppm

▶ ppb（十億分率）

- parts per billion
- 全体を10億としたときの割合
- 1 ppb = 0.001 ppm

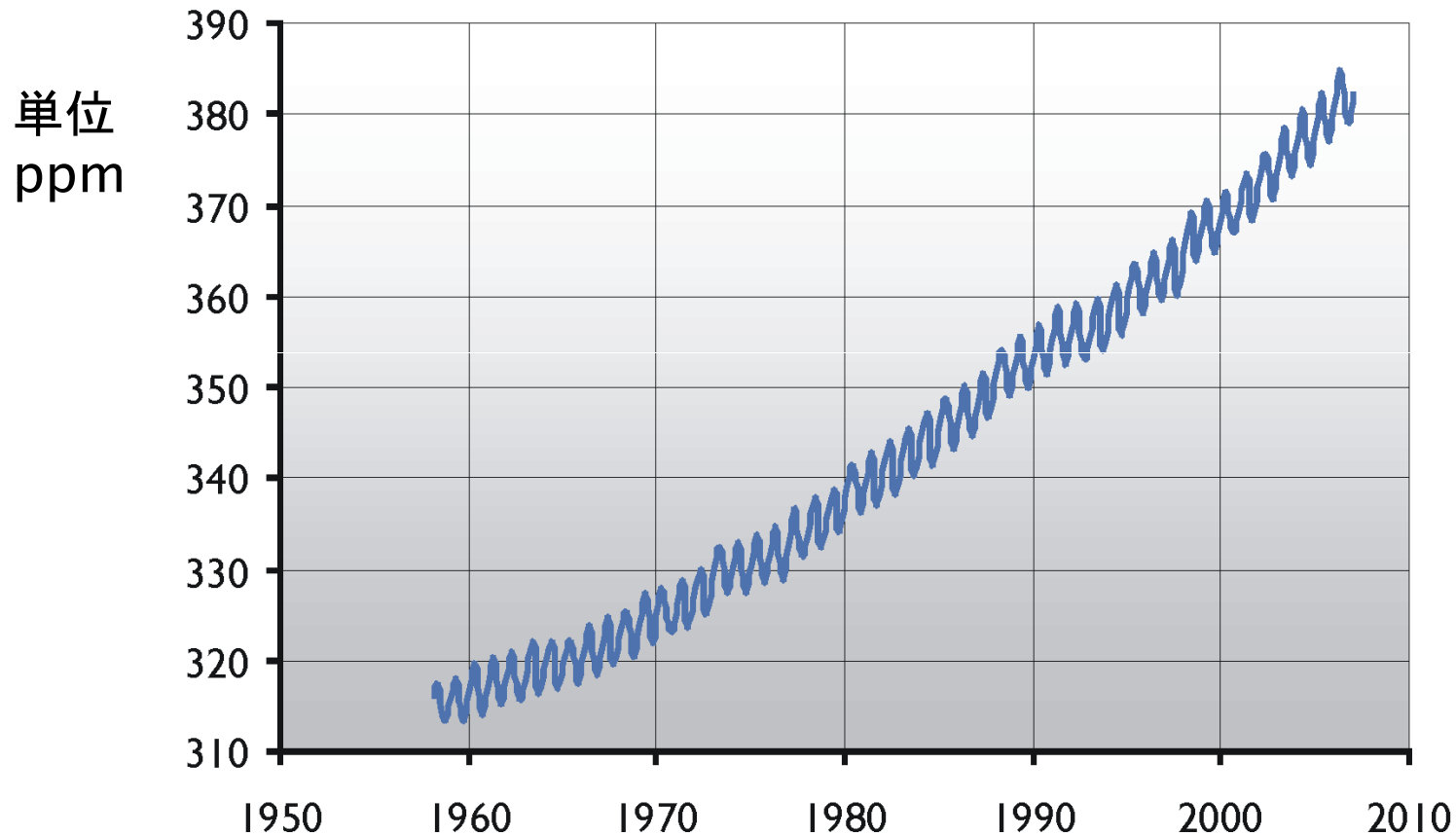
$$\frac{1}{1,000,000,000}$$

塩1粒(0.1 mg)を灯油タンク 5本分(約100 L)の水に溶かしたら、約1 ppb

濃度で示した例

生理食塩水中の塩化ナトリウム (NaCl)	0.9%
空気中の O_2	約20 %
空気中の CO_2	0.038 % (381 ppm)
魚介類中の総水銀の規制値	0.4 ppm (0.00004 %)

ハワイ島マウナロア火山で観測された 二酸化炭素濃度の変化



出典: フリー百科事典『ウィキペディア (Wikipedia)』

はかる対象

≫ 何をはかるか

化学物質とは

- ▶ あらゆる物質の構成成分
- ▶ 物質という一般用語の中で、とくに化学的な立場で物質を取り扱う場合の用語（理化学事典より）
- ▶ 世界全体では数千万種類を超える物質が発見、研究、開発されている。
（製品評価技術基盤機構ホームページより）



A division of the American Chemical Society

 go
Advanced Search »

[Home](#) | [About CAS](#) | [Our Expertise](#) | [Solutions](#) | [Products & Services](#) | [Support](#) | [News & Events](#)

Registry Number and Substance Counts

CAS is the leading provider of organic, inorganic, and sequence substance information.

The Latest CAS Registry Number® and Substance Count

Date 05/27/2009 23:01:23 EST

Count 47,100,559 organic and inorganic substances

60,969,018 sequences

CAS RN 1149431-33-3 is the most recent CAS Registry Number

化学物質を識別するための
一意の番号

CAS also provides specialized databases of chemical reactions, regulated chemicals, commercially available chemicals and Markush substance information.

Specialized Substance Collections Count

CASREACT® 17,652,219 Single and multi-step reactions

CHEMLIST® 247,960 Inventoried/regulated substances

CHEMCATS® 34,849,353 Commercially available chemicals

MARPAT® 808,397 Searchable Markush structures

アメリカ化学会
CASへの登録
化学物質数

[Home](#) | [About CAS](#) | [Our Expertise](#) | [Solutions](#) | [Products & Services](#) | [Support](#) | [News & Events](#)

食品中の化学物質

▶ 食品成分

- 水
- タンパク質
- 脂質
- 糖質
- ビタミン類
- ミネラル
- アレルギー成分

▶ 食品添加物

- 保存料
- 酸化防止剤 など

▶ 農薬

- 残留農薬

▶ カビ毒

- ピーナッツ: アフラトキシンB₁

▶ 調理によって生成する物質

- ヘテロサイクリックアミン
- アクリルアミド

▶ 人工的混入物

- 健康食品: N-ニトロソ化合物
- 粉ミルク: メラミン
- 中国産冷凍餃子: メタミドホス

化学物質の「何を」はかるか

▶ 定性分析

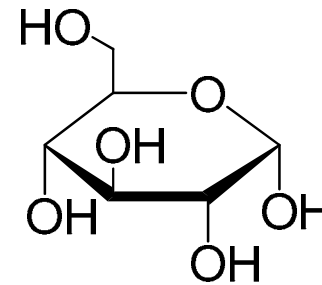
- どのような化学物質が含まれているのかの推定
- 対象物質が、特定の化合物であることの確認 (Identification)
- 未知物質の構造決定 (Structural Analysis)

▶ 定量分析

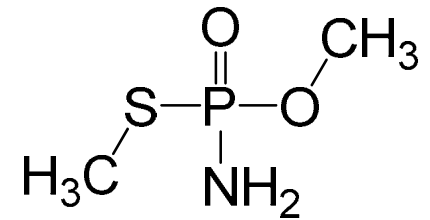
- 対象物質の含有量、濃度決定
 - ・ あらかじめ、試料から対象物質を抽出し、夾雑物質を取り除く操作、濃縮操作、などの前処理が行われるのが一般的。

化学物質の構造

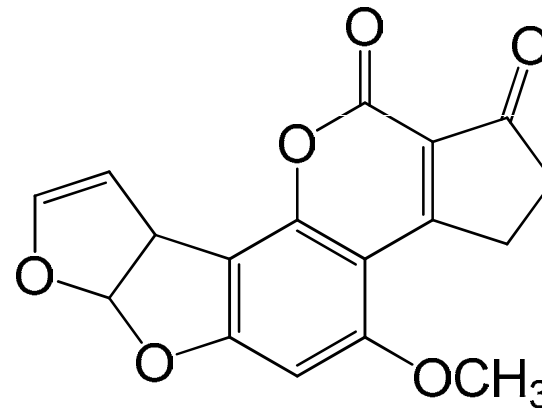
- ▶ 水に溶けやすい、溶けにくい
- ▶ 他の化学物質と反応して、新たな化学物質を生成する
- ▶ 分解して、他の構造に変わってしまう
- ▶ 体の中で変化して、反応しやすくなる



D-Glucose



methamidophos



Aflatoxin B₁

化学構造から、ある程度性質を推定し、はかる手段を考える

はかる手段

≫ どうやってはかるか

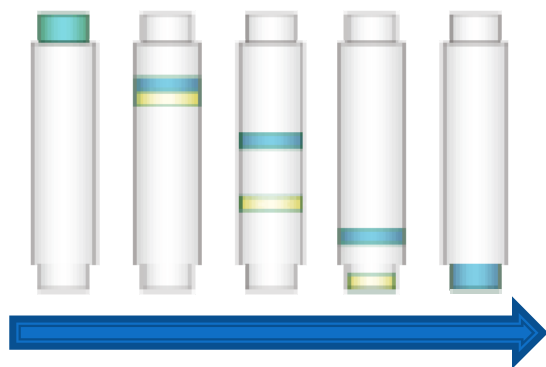
はかる手段の選択

- ▶ 対象によって適切な道具が必要
 - 体重はものさしでは測れない
 - 身長は天秤では測れない
- ▶ 決まった尺度で測るための手段→客観的な測定
- ▶ 見えないものもはかる→微量分析

化学物質の分離手段(1)

- ▶ 高速液体クロマトグラフィー
 - 不揮発性の試料
- ▶ ガスクロマトグラフィー
 - 揮発性試料、気体試料
 - ・ 簡易型のものは、化学消防車にも搭載されている

クロマトグラフィーの原理



移動度の違いを利用して
分離する

化学物質の分離法(2)

▶ 電気泳動法

- タンパク質、核酸など、荷電を持つ物質が、電場の中で移動する現象を利用したもの
- 分子の大きさや、電荷により移動度が変わる
- キャピラリー電気泳動法を用いれば、ごく微量の化学物質の解析も可能

- 食品・食材中の遺伝子やタンパク質の分析
- 食品の品種判別、遺伝子組み換え混入検査

HPLCでの化学物質の検出方法

▶ 紫外・可視部吸収検出器(UV-Vis)

- 多くの化学物質がもつ、紫外領域、可視部領域の光を吸収する性質を利用

▶ フォトダイオードアレイ検出器(PDA)

- 連続した多波長の吸収を測定可能

▶ 蛍光検出器(FL)

- 蛍光を発する化学物質を高感度に検出できる。
- 蛍光を発しなくても、蛍光を発する構造へ誘導して、その後、蛍光検出する方法が用いられることもある。

▶ 示差屈折率検出器(RIA)

- 光吸収や蛍光性をもたない物質(糖類など)に利用

GCでの化学物質の検出方法

▶ 水素炎イオン化検出器(FID)

- 有機化合物の検出にもっとも繁用される

▶ 電子捕獲検出器(ECD)

- 有機ハロゲン化合物(残留農薬、ダイオキシン類)の微量分析に用いられる

▶ 炎光光度検出器(FPD)

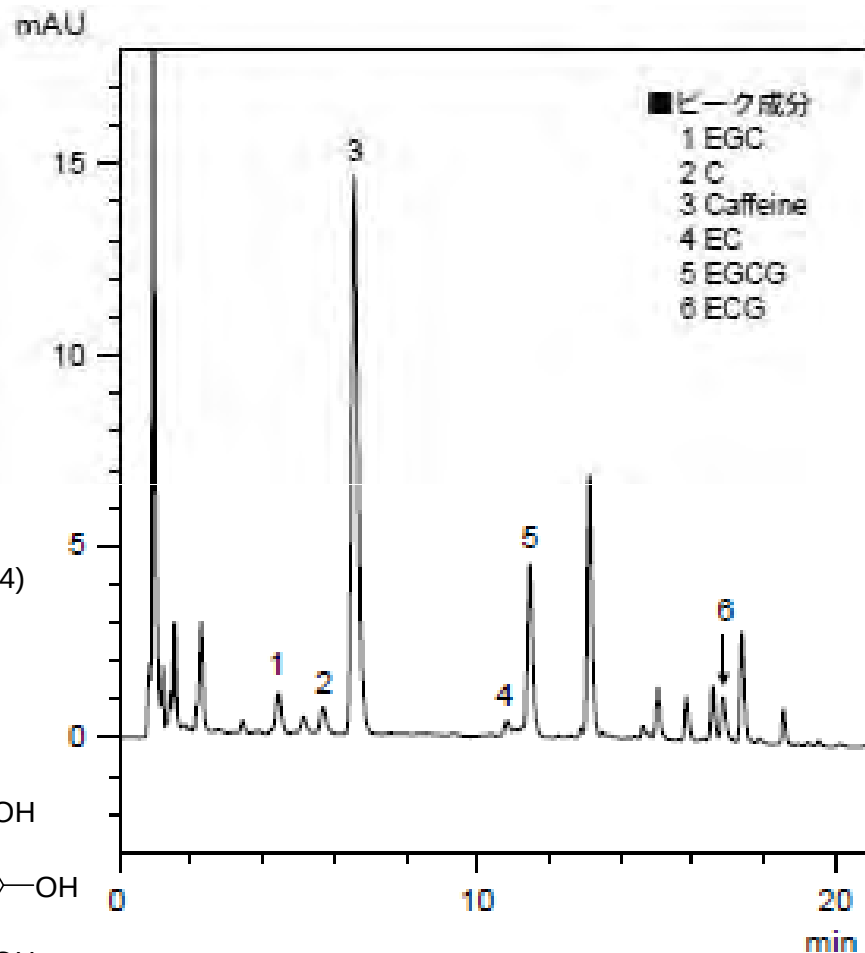
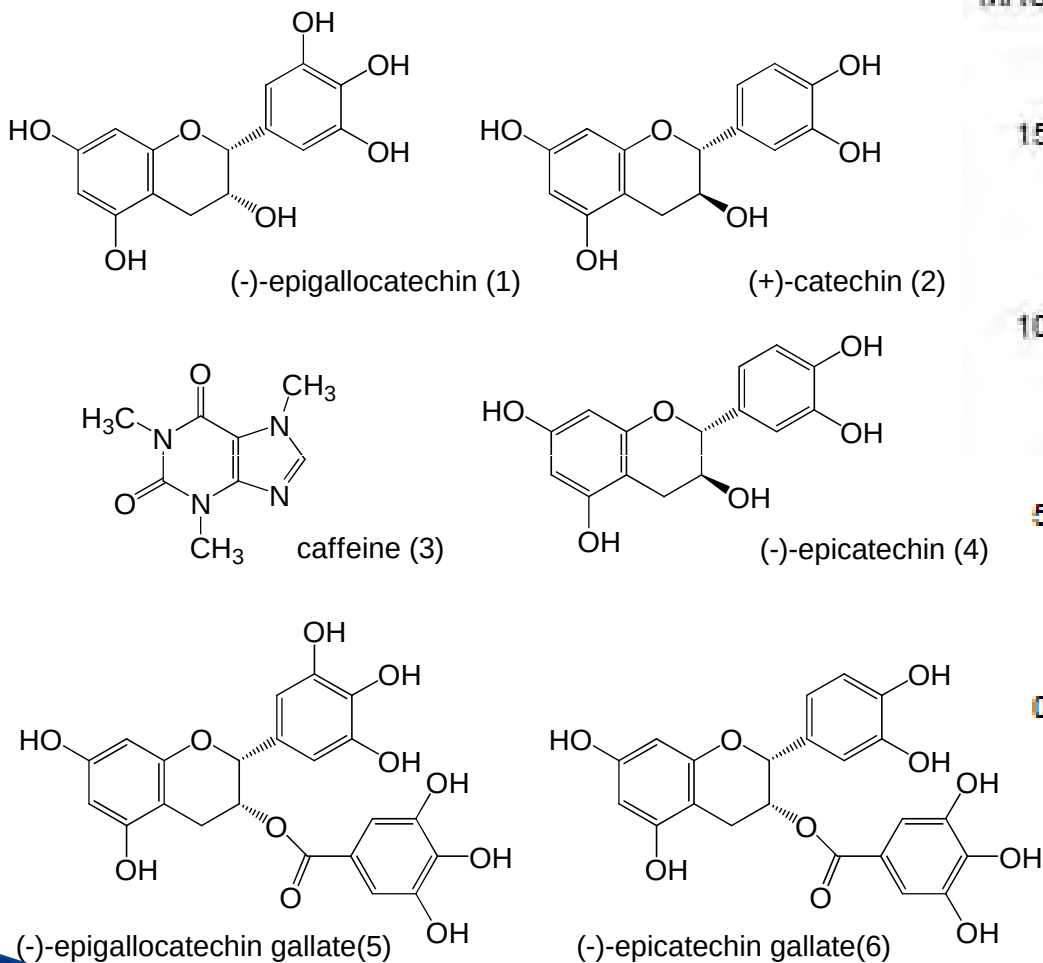
- イオウ(S)やリン(P)を含む物質の選択的検出

▶ アルカリ熱イオン化検出器(FTD)

- リン(P)、窒素(N)を含む物質の選択的検出

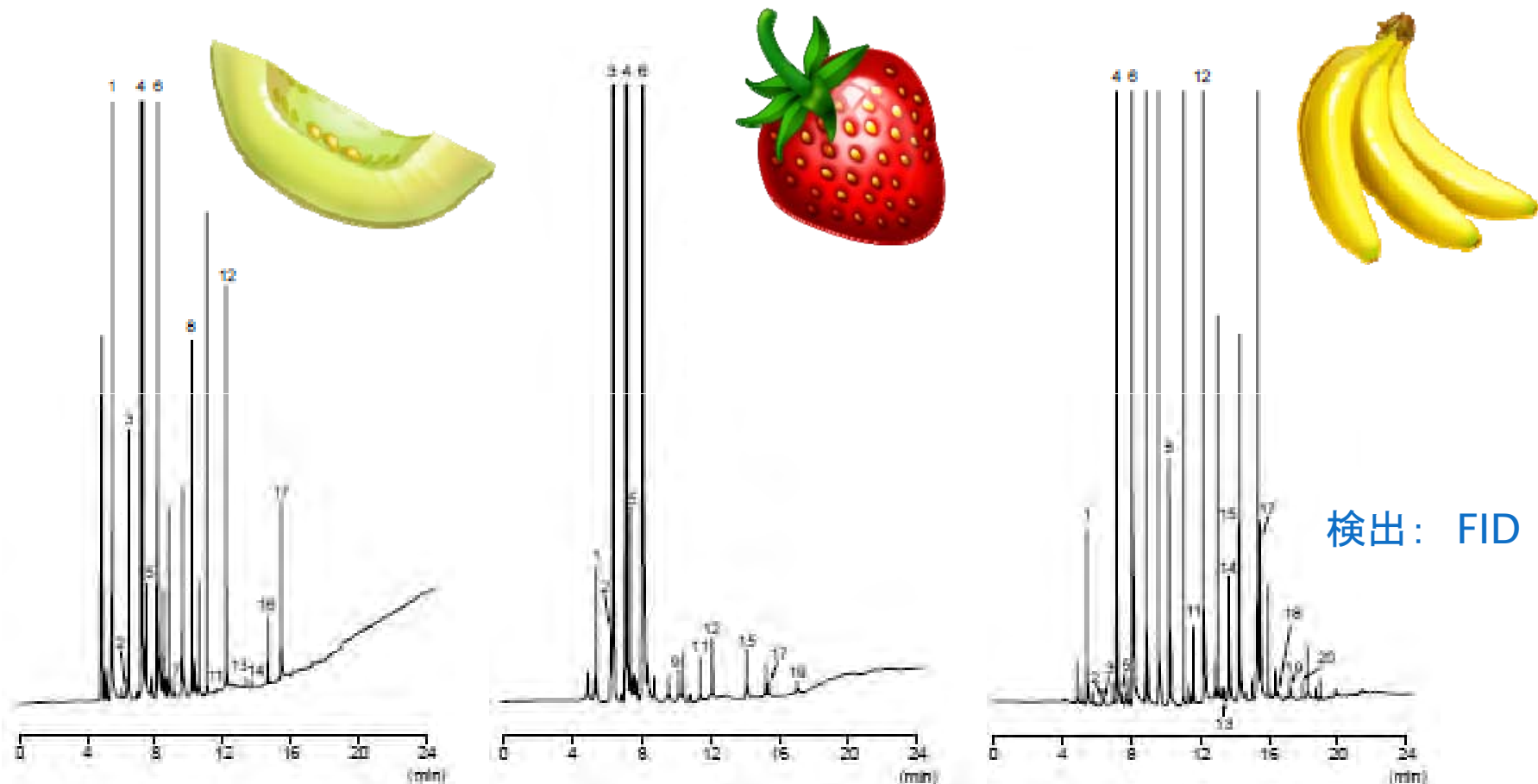
これらを用いた結果から、化合物の量的な情報も得られる

HPLCによる茶カテキン類の分析



縦軸: UV(270 nm)の吸収
横軸: 成分の溶出時間

GCによる果物の香りの分析



様々な低級アルコールやエステル類が果物
独特の香りを形成していることがわかる

化学物質の構造情報の取得



▶ 質量分析 (MS)

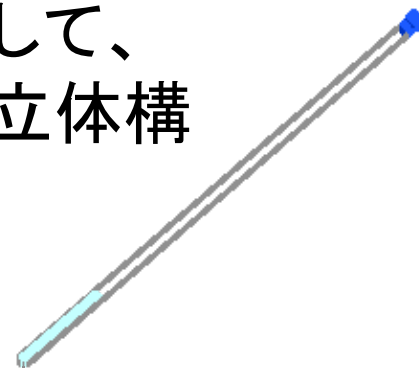
- 化学物質の分子量の情報が得られる

▶ タンデムMS (MS/MS)

- 一度分離した分子量イオンをさらに分解させ、化学物質の構造情報を得ることができる。

▶ 核磁気共鳴 (NMR)

- 磁場の中に置かれた試料にラジオ波を照射し、吸収したエネルギーの種類と量を解析して、化学物質中の特定の核の結合状態や立体構造の情報を得ることができる。



LC-MS/MS

- ▶ 液体クロマトグラフ(LC)で分離された試料中の微量成分を質量分析計(MS)で検出し、質量スペクトルを得て、試料成分を同定・定量する装置



API 3200™ LC/MS/MS システム



MALDI-TOF-MS

- ▶ マトリックス支援レーザーイオン化(MALDI)と、飛行時間型(TOF)質量分析部を組み合わせた質量分析装置



GC-MS

- ▶ ガスクロマトグラフィー(GC)で分離した物質の分子量情報を得る



JEOL AUTOMASS SUN200 システム

SHIMADZU AXIMA-CFR Plus システム

抗原抗体反応を利用した検出法

- ▶ 酵素免疫測定法 (ELISA)
- ▶ イムノクロマト法
 - 対象化学物質に対して、特異性が高く、結合力が強い抗体を用いる
 - 定量性は低いが、試料の前処理が不要
 - 操作が簡便で、スクリーニング法として用いられる

はかるための準備

≫ 試料の前処理

前処理の目的(1)

- ▶ 食品試料中には、様々な化学物質が含まれている。
- ▶ はかる対象となる化学物質の性質から、溶解可能な溶媒を選択し、あらかじめ食品試料から抽出しておく、効率良く調べることができる。

対象物質の抽出

前処理の目的(2)

- ▶ 微量成分をはかりたいときには、大量に存在する他の物質が邪魔となる。
- ▶ ある物質をはかるのを妨害するものもある。
 - 例：動物性食品中の脂肪
- ▶ つまり、特定の物質を調べるためには、多くの夾雑物質をあらかじめ取り除いておかないと、効率が悪く、見つからないときもある。

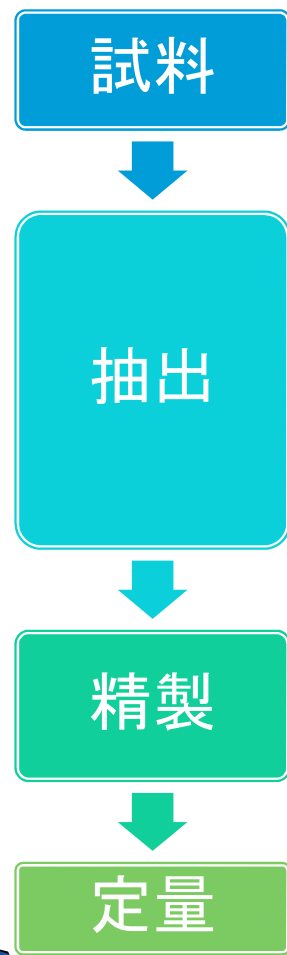
クリーンアップ

前処理の目的(3)

- ▶ 対象物質によっては、適した分析手段がなかったり、検出感度が足りなかったりする。
 - GCは、不揮発性だったり、熱で分解する化学物質には不適
- ▶ 化学構造の一部を定量的に変化させることで、対象物質の性質を変化させ、効率よい測定を可能とすることができる。
 - 脂肪酸のメチル化→揮発性 →GCによる分析
 - 蛍光を発する発色団の結合
→ 蛍光検出器での高感度な測定

誘導体化

例(1) 残留有機リン系農薬の分析



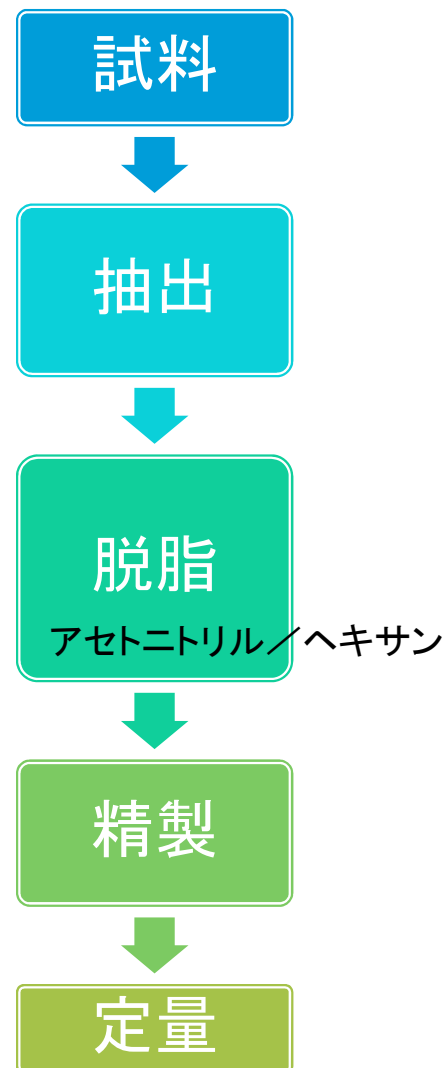
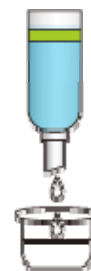
均一化、秤量



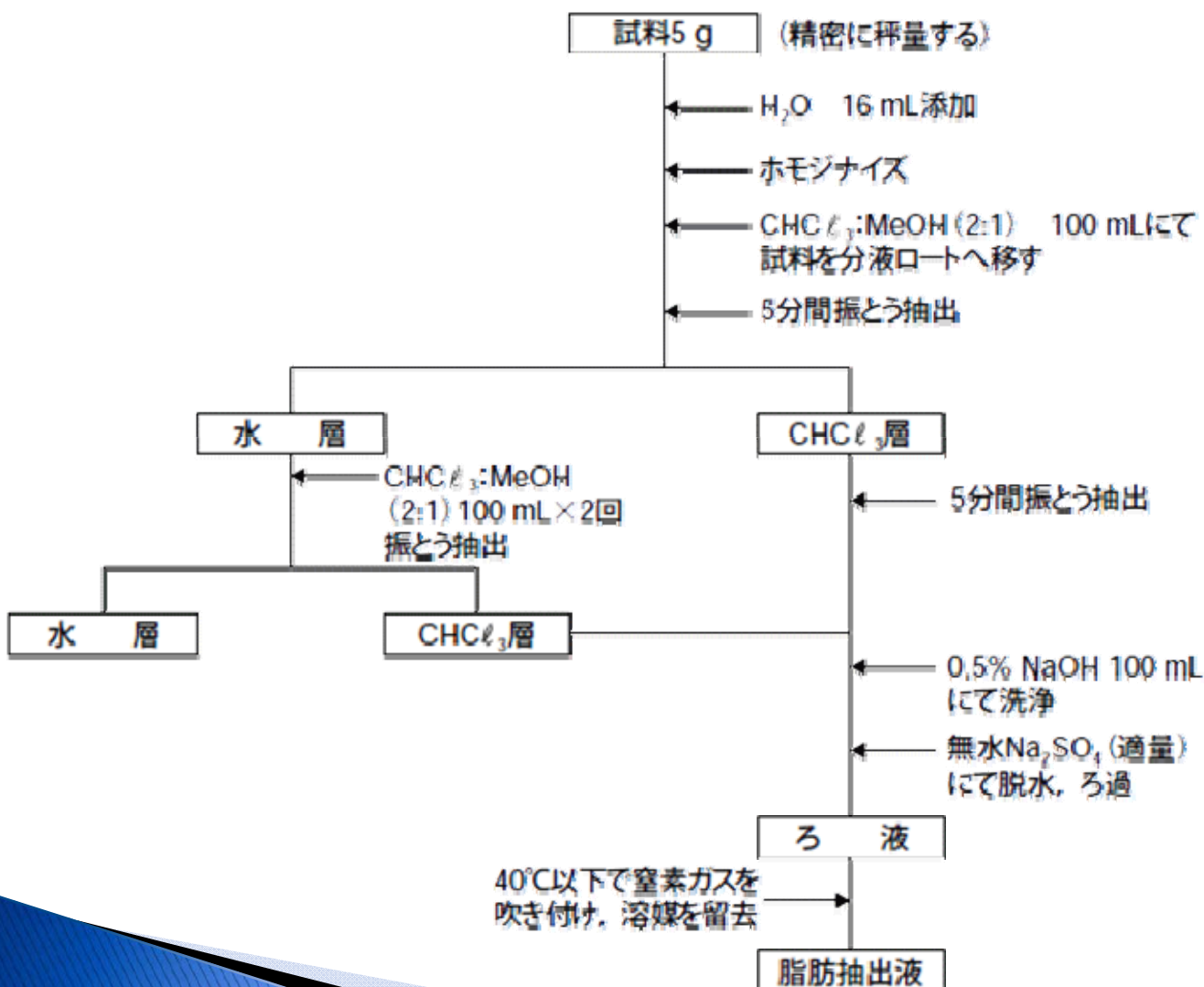
1. アセトンを加えてホモジナイズ
2. アセトン溶液を濃縮
3. 濃縮物に飽和食塩水を加え、酢酸エチル／ヘキサン混液で抽出
4. 有機溶媒層を濃縮し、残留物をアセトン／ヘキサンに溶解

1. シリカゲルカラムクロマトグラフィー
(溶離液: アセトン／ヘキサン)
2. 溶出液を濃縮、アセトンに溶解

GC-FTD, FPD



例(2) 脂肪の抽出



脂肪の抽出



加水分解



メチル化



GC, GC-MS

使用する溶媒の特徴を知る

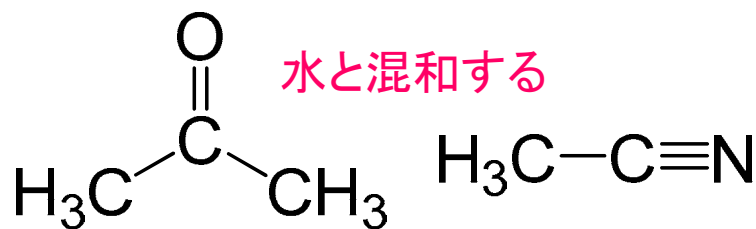
▶ 極性溶媒

- 極性プロトン性溶媒
 - メタノール、エタノール
- 極性非プロトン性溶媒
 - アセトン、アセトニトリル
 - 酢酸エチル

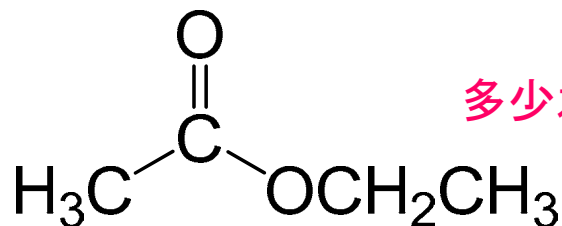
水と自由に混ざる



水と混和する

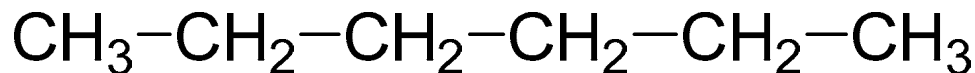


多少水と混ざる



▶ 非極性溶媒

- ヘキサン

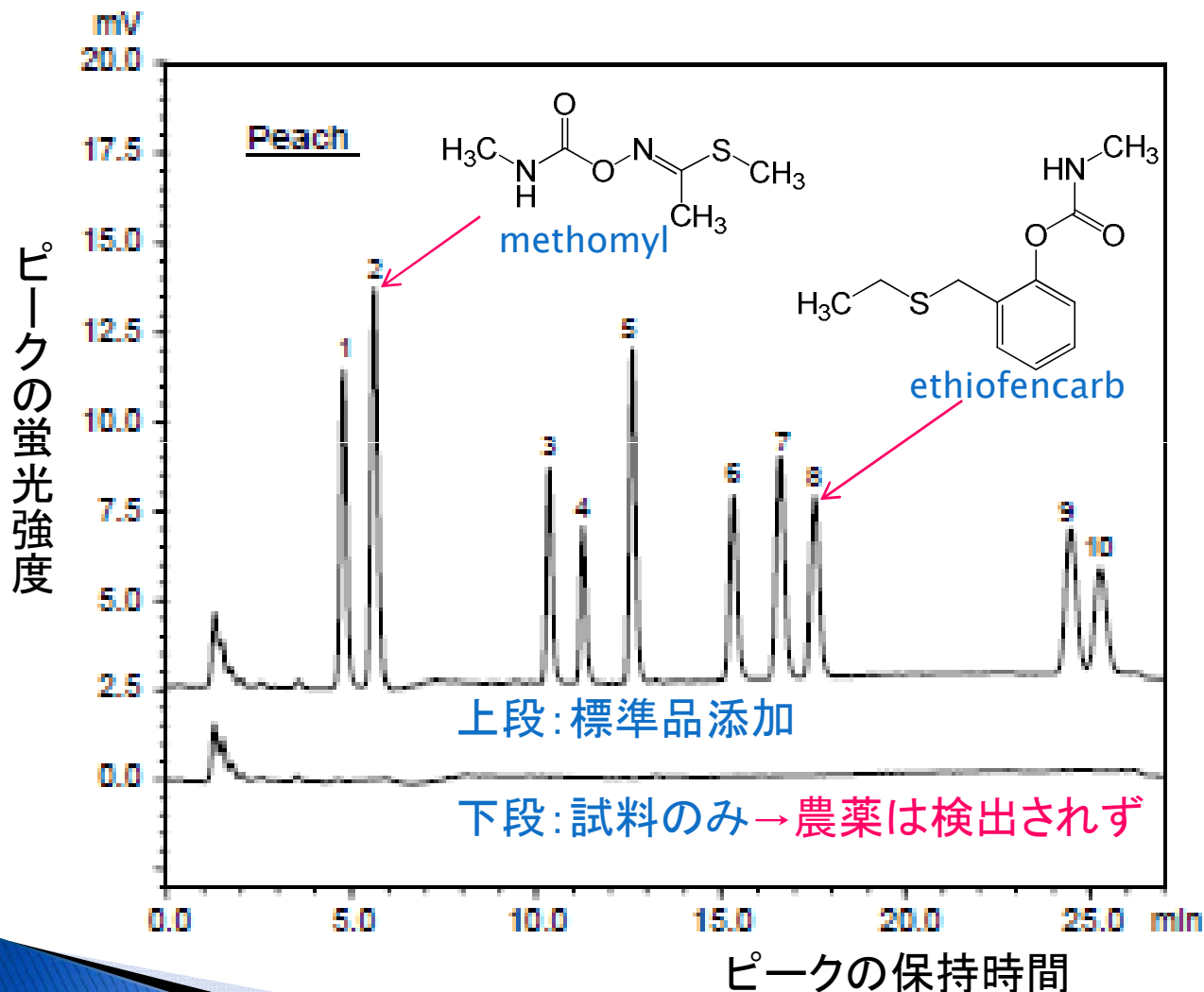


水とは全く混ざらない

実際の分析例



モモ試料中の*N*-メチルカルバメート農薬



- ① アセトン抽出
- ② ジクロロメタン抽出
- ③ ヘキサン可溶成分を除去



ポストカラム
蛍光誘導体化



HPLC分析

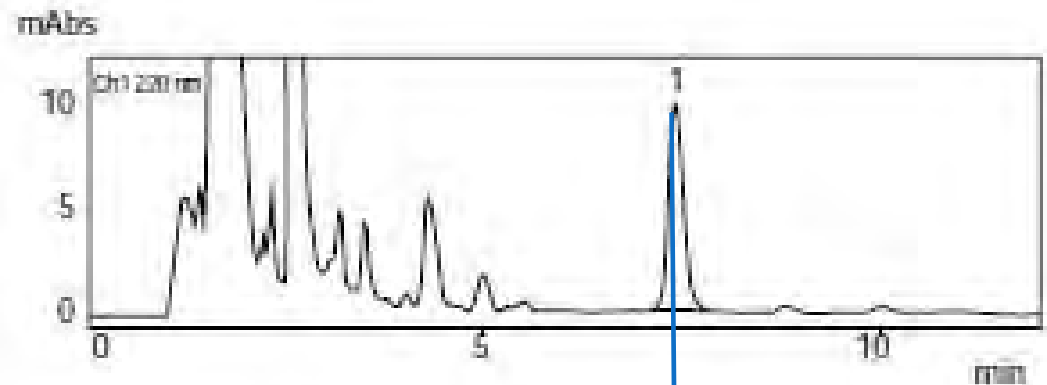
オレンジ皮の防かび剤の分析



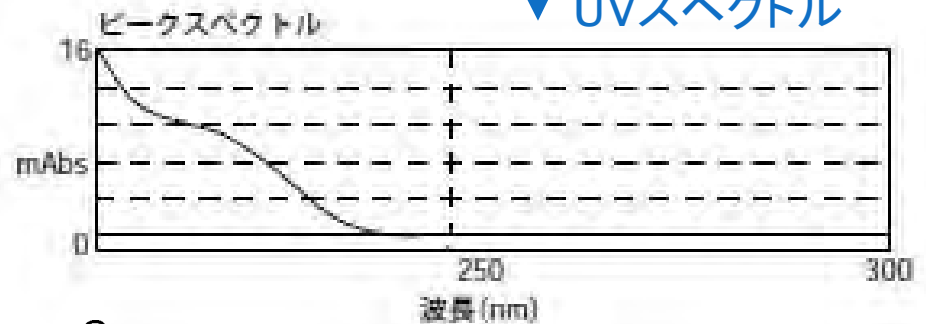
- ① 皮のみをアルカリ性条件下、酢酸エチルで抽出
- ② 抽出液をメンブランフィルターでろ過



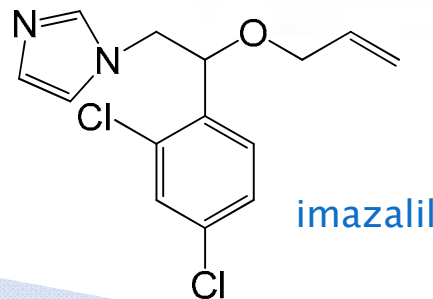
HPLC分析



ピーク1の
UVスペクトル

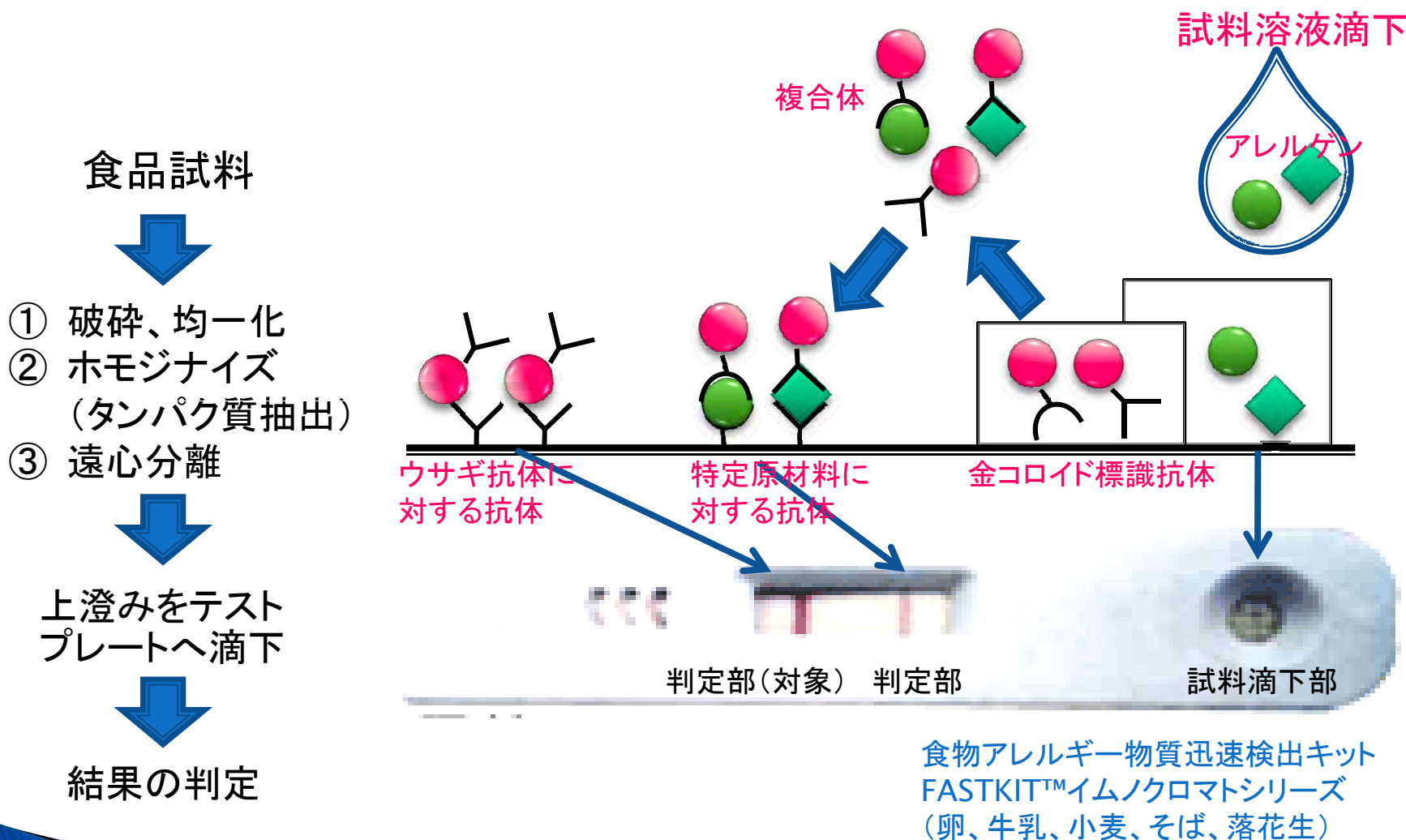


標準品と一致

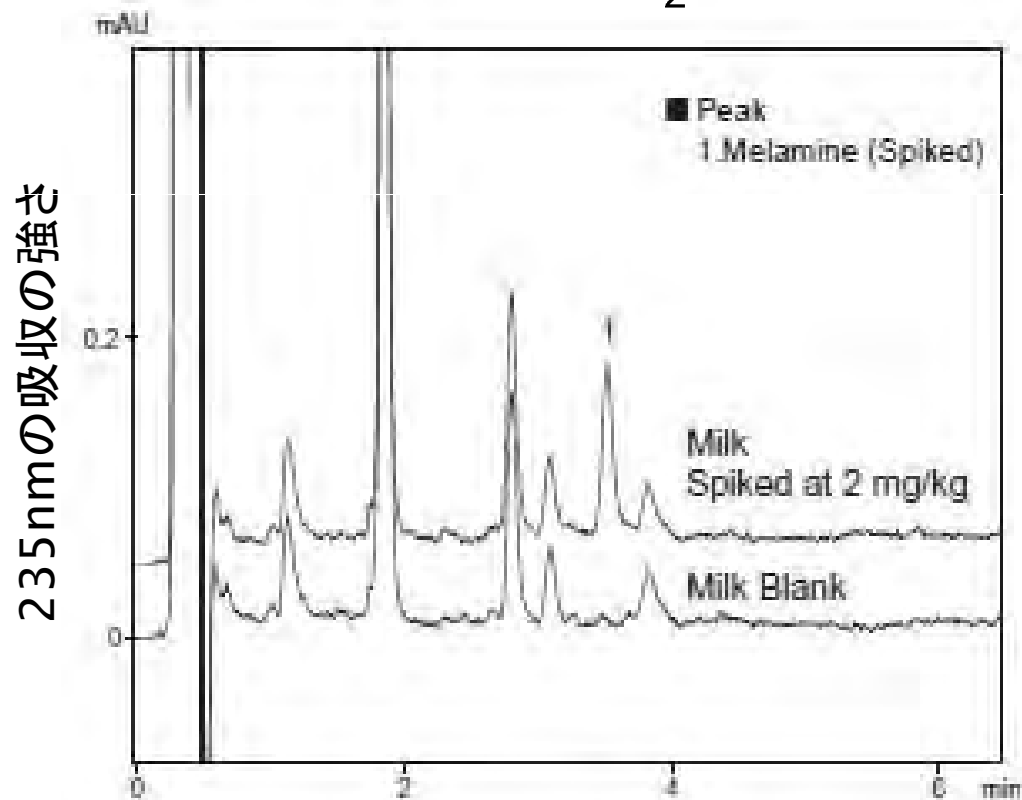
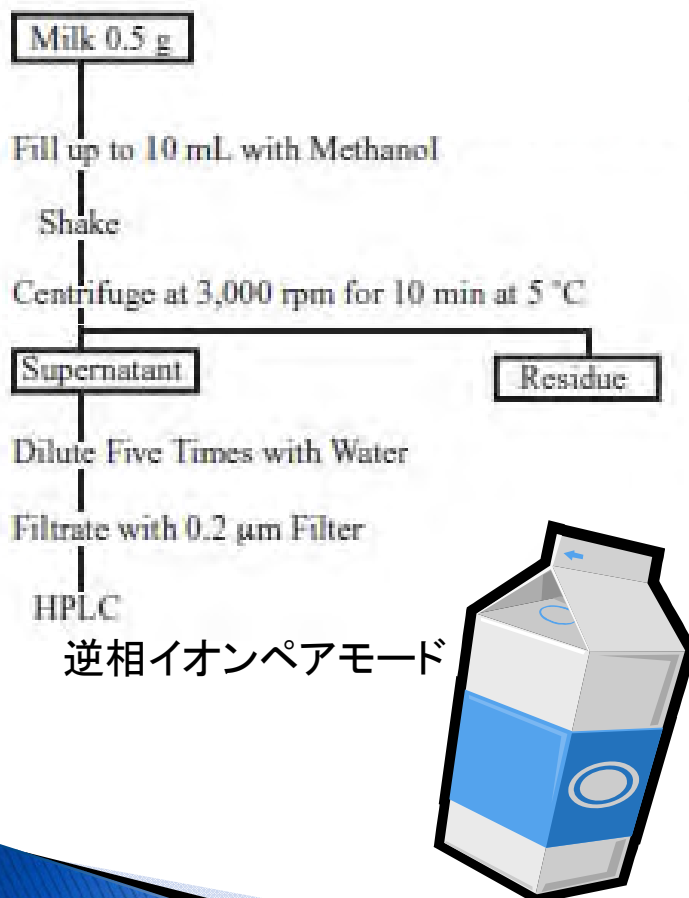
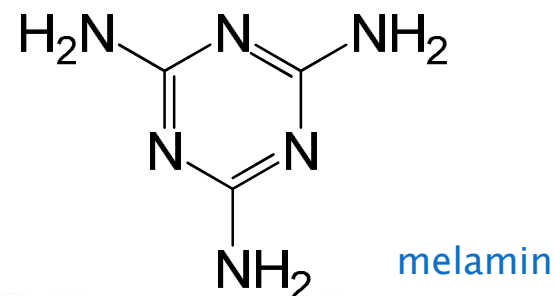


imazalil

食物アレルギーの検出



食品中メラミンの分析



N-ニトロソフェンフルラミンの分析

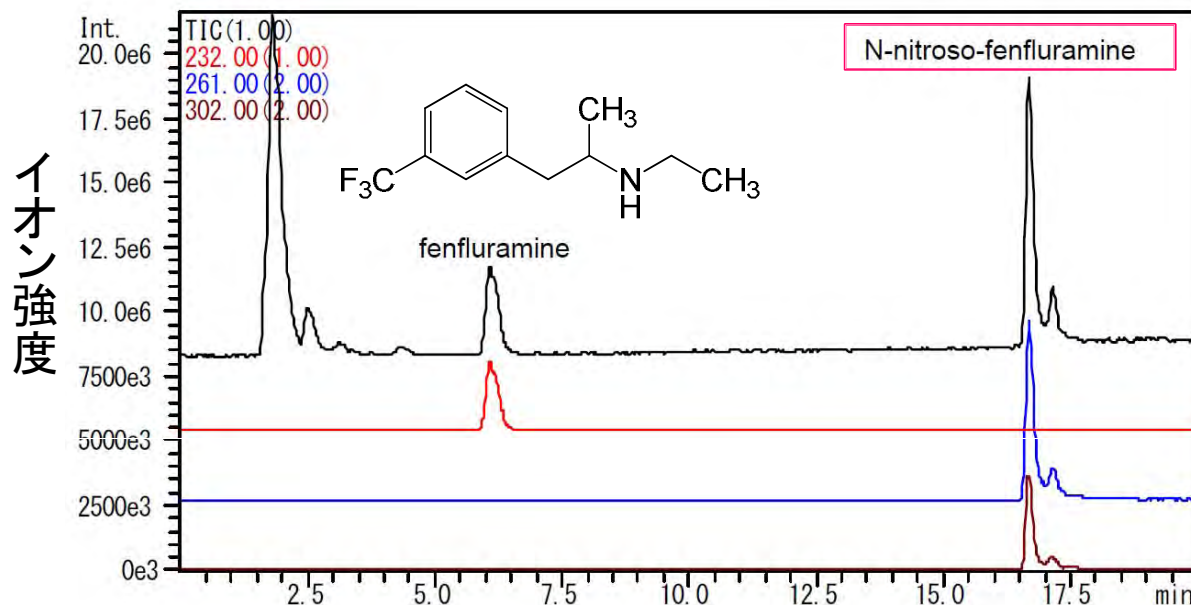
中国産ダイエット食品の
カプセル内容物



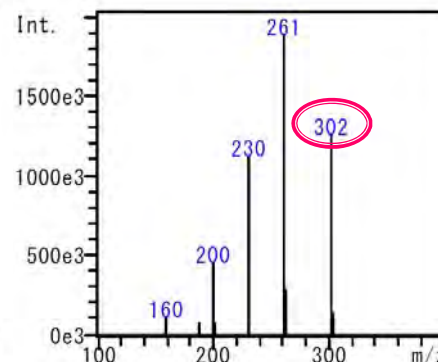
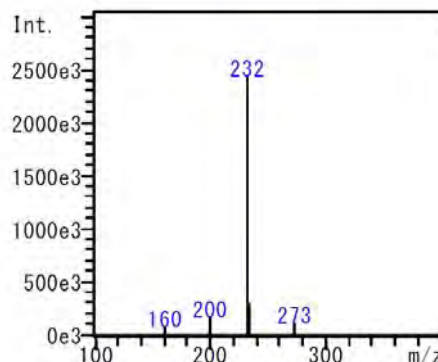
メタノール抽出



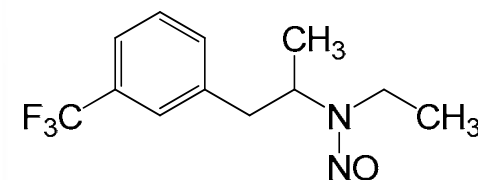
LC-MS分析



fenfluramine



N-nitrosofenfluramine



化学物質を”はかる”

- ▶ 目的、対象物質を明らかとして、適切な手段を選択する
 - 万能な測定方法はない
 - 感度が必要なのか、特異性をとるか、迅速性が必要なのか
- ▶ 多くの化学物質が混合している食品中から、対象物質を、効率よく検出、定量するためには、試料調製が重要
 - 夾雑物の中に、目的物が隠れてしまっていないか、見極める目を養わなければならない

何かを調べなければならないとき...

- ▶ 対象物質が何かを明らかとする
 - 中毒が発生したときには、その症状から推測
 - できるだけ夾雑物を取り除き、構造情報を得る
- ▶ 化学構造が推定できた時点で、適切な試料調製を行い、既知物質と比較しながら、同定作業を進める
- ▶ 最終的には、純度の高い基準物質を利用して、定量する
 - ほとんどの場合は、すでに報告されている化学物質
 - 新規物質の場合は、標準物質を合成する必要もある

巨大なパズルを解く！

参考図書・文献・Webサイト

- ▶ 「はかる」と「わかる」 暮らしを変える分析の話
 - 堀場製作所コーポレート・コミュニケーション室＋工作社編, 工作社, 2004.
- ▶ はかってなんぼー分析化学入門
 - 河合潤, 樋上照男編, 丸善, 2000.
- ▶ 特集「食品の安全・安心と分析化学」
 - 日本分析化学会機関誌「ぶんせき」, 2009年3月号
- ▶ 物理系薬学 II. 化学物質の分析
 - 日本薬学会編 スタンダード薬学シリーズ, 東京化学同人, 2005.
- ▶ 身のまわりの食品化学実験
 - 安藤達彦, 吉田宗弘編著, 三共出版, 2001.
- ▶ 島津製作所 Solutions Navigator
 - <https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>
- ▶ 科学技術振興機構 日本化学物質辞書Web
 - http://nikkajiweb.jst.go.jp/nikkaji_web/pages/top.html

