

Application Note

島津アプリケーションノート No.23(食品)



Food

照射食品の検知法としての 2-アルキルシクロブタン分析

山田 恭子 永田 淳
K.YAMADA J.NAGATA

1. はじめに

食中毒の発生を極力抑えるためには、微生物による食品の汚染を制御する必要があります。現在、加熱処理や化学薬剤処理、冷蔵保管など様々な技術による食品の衛生管理が行われています。「食品照射」は、食品に X 線や γ 線といった放射線を照射することにより、食品の殺菌、殺虫、発芽防止などを行う技術であり、加熱による品質への影響が少ないこと、食品の形状を問わないことなどその有用性の高さから、現在世界中で広く使用されています。照射

食品と非照射食品を区別するための検知法としては国際的には、ヨーロッパ標準化委員会の標準分析法（10 種類）があり、その多くが食品の国際規格を制定しているコーデックス委員会の標準分析法として採択されています。日本でも、これらのうち 2-アルキルシクロブタン法と熱ルミネッセンス法が検知法として採用されています。

2. 2-アルキルシクロブタノン法

照射食品の検知は、放射線が食品中に残らないため、放射線がどの程度照射されたかを直接測定することができません。従って、照射によって生じる物理的な変化や化学的な変化を検出することにより照射検知を行います。2-アルキルシクロブタノンは、放射線の照射によって食品中の脂質から特異的に生成する放射線特異分解生成物（Unique Radiolytic Product）とされており、そのアルキル基はもととなる脂質（トリアシルグリセロール）の脂肪酸組成により異なります。2-アルキルシクロブタノン法は、飽和脂肪酸であるパルミチン酸由来の2-ドデシルシクロブタノン（以下、2-DCB）とステアリン酸由来の2-テトラデシルシクロブタノン（以下、2-TCB）を照射検知の指標として用いる検知法です。2-DCB と 2-TCB の構造式を図1に示します。欧州標準規格ではEN1785で採用されており、コーデックス委員会の標準分析法にも採用されています。日本においてもこれに準じた方法が検知法として採用されています（厚生労働省、平成22年3月30日、食安発0330第3号、以下、2-アルキルシクロブタノン法）。

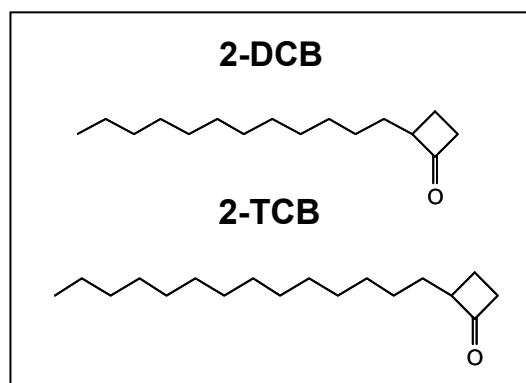


図1 2-DCBと2-TCBの構造式

2-アルキルシクロブタノン法で対象となる食品は、牛肉、豚肉、鶏肉、鮭、カマンベールチーズといった脂肪を抽出可能な食品です。脂肪中に存在する2-アルキルシクロブタノンを脂肪と一緒に抽出し、脱脂・精製した後GC-MSにより2-DCB及び2-TCBを測定します。図2に試料の前処理フローを示します。

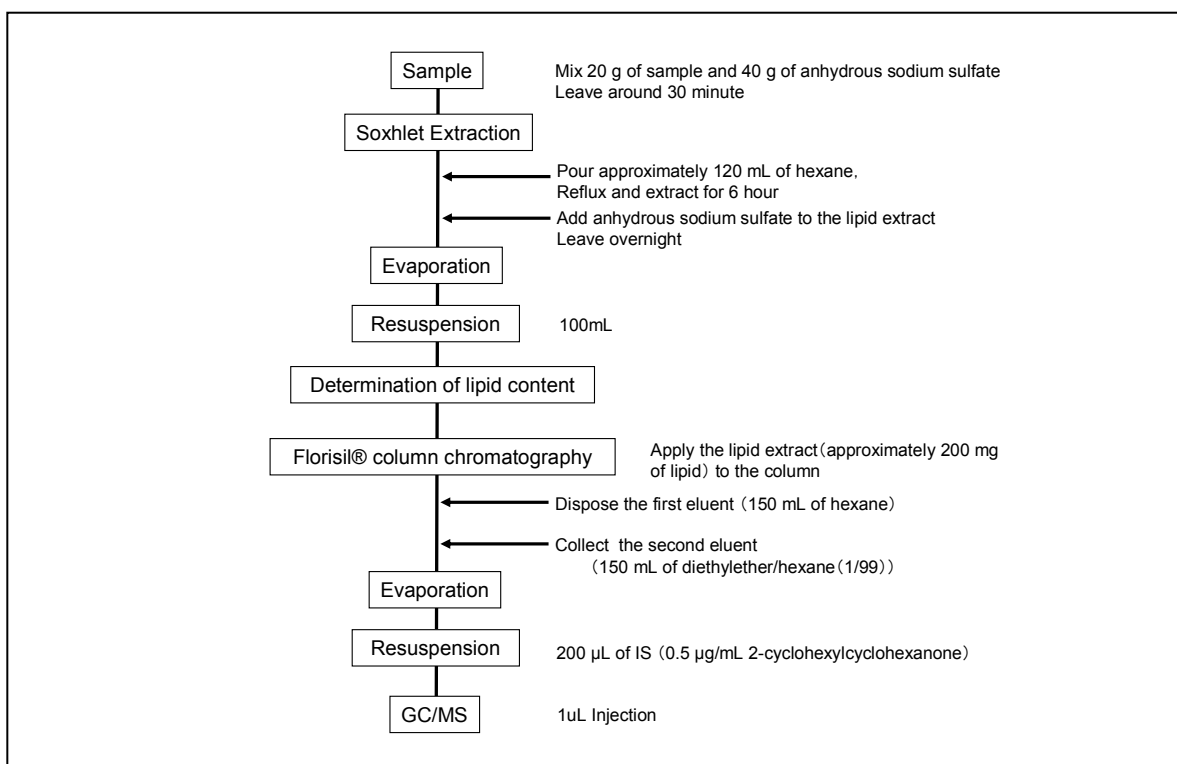


図2 試料の前処理フロー

3. 標準試料の分析例

2-DCB および 2-TCB の混合標準溶液を GC-MS で測定しました。GC-MSには GCMS-QP2010 Ultra を用いました。2-アルキルシクロブタン法では、SIM 測定により定量を行い、SCAN 測定により確認を行うこととされています。ここでは、一度の分析で SCAN と測定が行なえる FASST (Fast Scan/SIM Type) モードで測定しました。分析条件を表 1 に示します。2-DCB には和光純薬工業製を、2-TCB には林純薬工業製を、内部標準物質 (IS) である 2-シクロヘキシルシクロヘキサノンには東京化成工業製を用い、n-ヘキサン (和光純薬工業製特級) にて 0.0125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ~ 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の混合標準溶液を調製しました (IS 濃度 ; 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。

保持時間およびマススペクトルの確認のため、混合標準溶液 (0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$) を m/z 45~500 の走査範囲で SCAN 測定しました。クロマトグラムを図 3 に、マススペクトルを図 4 に示しました。2-DCB と 2-TCB は分子量は異なりますが似たマススペクトルを示し、いずれも m/z 95~115 の範囲で m/z 98 および m/z 112 が主要なイオンであることが分かります。

表1 GC-MS分析条件

Model	GCMS-QP2010 Ultra
GC	
Column	Rxi®-5MS (30 m x 0.25 mm I.D. df=0.25 μm)
Col.Temp.	60 °C(1 min)-10 °C/min-300 °C(10 min)
Carrier Gas	He (46.3 cm/sec, 100 kPa)
Carrier Gas Mode	Constant Liner Velocity
Injection Temp.	250 °C
Injection Method	Splitless Injection (1min)
Injection Volume	1 μL
MS	
Interface Temp.	280 °C
Ion Source Temp.	230 °C
Ionization	EI
Emission	150 μA
Acquisition Mode	FASST (Scan/SIM)
Scan Range	m/z 95-115
Scan Interval	0.3 s
Monitor Ion	m/z 98, 112
SIM Interval	0.2 s
Acquisition Mode	Scan
Scan Range	m/z 45-500
Scan Interval	0.3 s

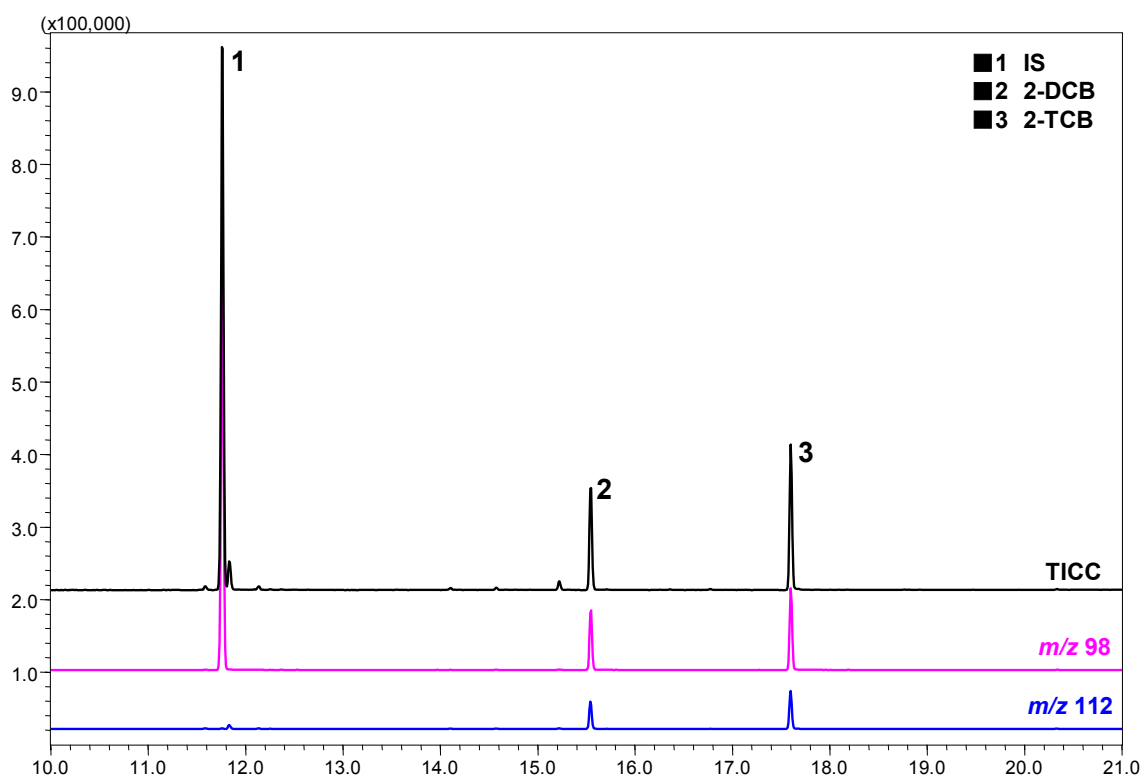


図3 混合標準溶液のクロマトグラム

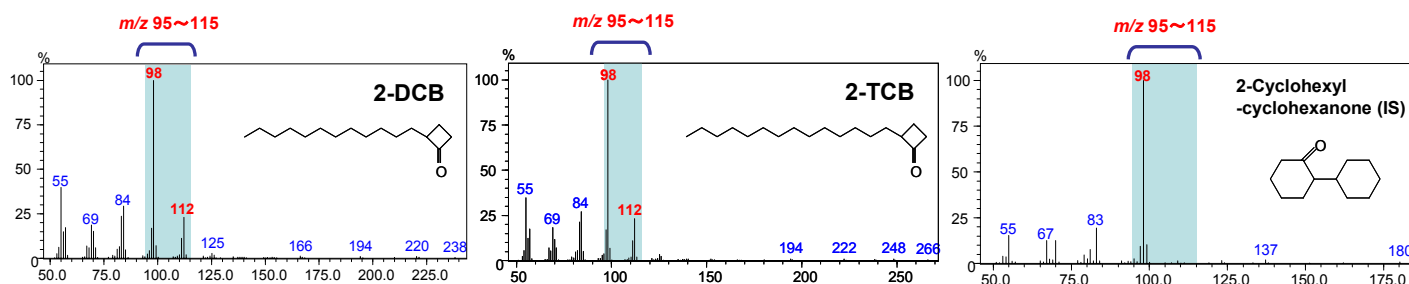


図4 2-DCB, 2-TCB, 2-Cyclohexylcyclohexanoneのマススペクトル

混合標準溶液 0.0125, 0.025, 0.05, 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を FASST (Fast Scan/SIM Type) モードで測定しました。混合標準溶液 0.0125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の SIM クロマトグラムを図5に、内部標準法による検量線を図6に示しました。混合標準溶液 0.0125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ における $S/N(m/z\ 98)$ は、2-DCB で 197, 2-TCB で 250 であり、本分析における検出下限 ($S/N = 3$) は、いずれの成分も 0.001 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 未満でした。検量線の相関係数は、2-DCB で

$R = 1.0000$, 2-TCB で $R = 0.9999$ であり、良好な直線性が得られました。

混合標準溶液 0.0125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 5 回繰り返し再現性 (面積値および面積比) を表2と表3に示しました。面積比は IS の面積値に対する 2-DCB および 2-TCB の面積値の割合で示しました。いずれの成分においても、面積値、面積比の再現性は相対標準偏差で 2% 未満であり、良好な再現性が得られました。

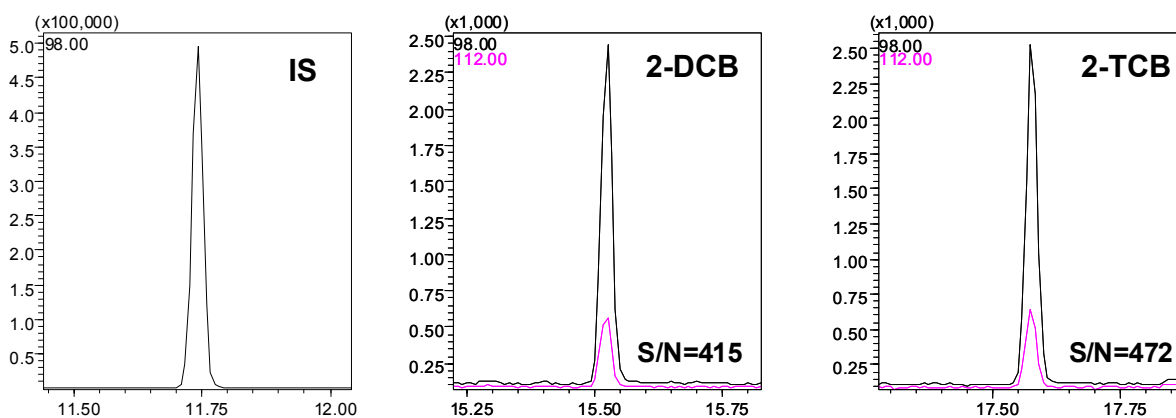


図5 2-DCB, 2-TCB, 2-CyclohexylcyclohexanoneのSIMクロマトグラム

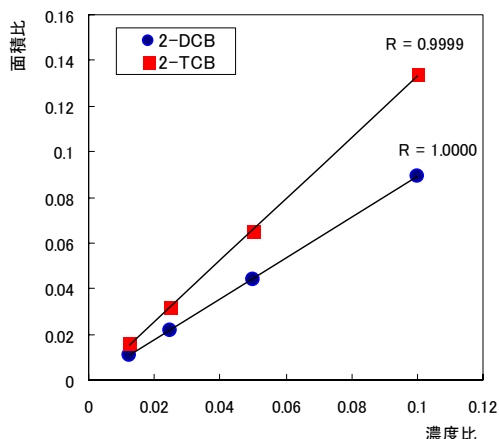


図6 2-DCB, 2-TCBの検量線 ($m/z\ 98$)

表2 面積値再現性 ($m/z\ 98$)

#	化合物名	面積値再現性結果					平均面積値	%RSD
		1	2	3	4	5		
1	2-シクロヘキシルシクロヘキサノン (IS)	1372623	1360215	1375243	1405014	1394399	1381498.8	1.3
2	2-DCB	12913	13055	13261	13344	13011	13116.8	1.4
3	2-TCB	17599	17409	17696	17307	17461	17494.4	0.88

表3 面積比再現性 ($m/z\ 98$)

#	化合物名	面積比再現性結果					平均面積比	%RSD
		1	2	3	4	5		
1	2-シクロヘキシルシクロヘキサノン (IS)	—	—	—	—	—	—	—
2	2-DCB	0.00941	0.00960	0.00964	0.00950	0.00933	0.00950	1.4
3	2-TCB	0.01282	0.01280	0.01287	0.01232	0.01252	0.01267	1.9

4. 実試料の分析例

日本国内で流通している国産の牛、豚、鶏のミンチ肉を実試料として用い、室温下にて ^{60}Co を線源とする γ 線を1 kGyおよび5 kGy照射したものと非照射のものについて、2-アルキルシクロブタン法を参考に処理し、GC-MSにて測定しました。豚のミンチ肉の非照射試料のSIMクロマトグラム(m/z 98, 112)を図7に、1 kGy照射試料および5 kGy照射試料のSIMクロマトグラムを図8と図9に示しました。照射試料では、2-DCBと2-TCBが検出されており、照射した線量に比例してピークが大きくなっていることが分かります。脂肪中含量(2-DCBと2-TCBの合計)は、

1 kGyで0.49 $\mu\text{g/g}$ 、5 kGyで1.93 $\mu\text{g/g}$ でした。

FASSTモードのSCANにより得られた1 kGy照射試料および5 kGy照射試料における2-DCBと2-TCBのマススペクトルを図10に示します。いずれも m/z 98~112の走査範囲において、 m/z 98及び m/z 112が主要イオンとなっていることが分かります。

鶏ミンチ肉および牛ミンチ肉の照射試料を同様に処理し、GC-MSにて測定した結果(SIMクロマトグラム)を図11, 12に示しました。

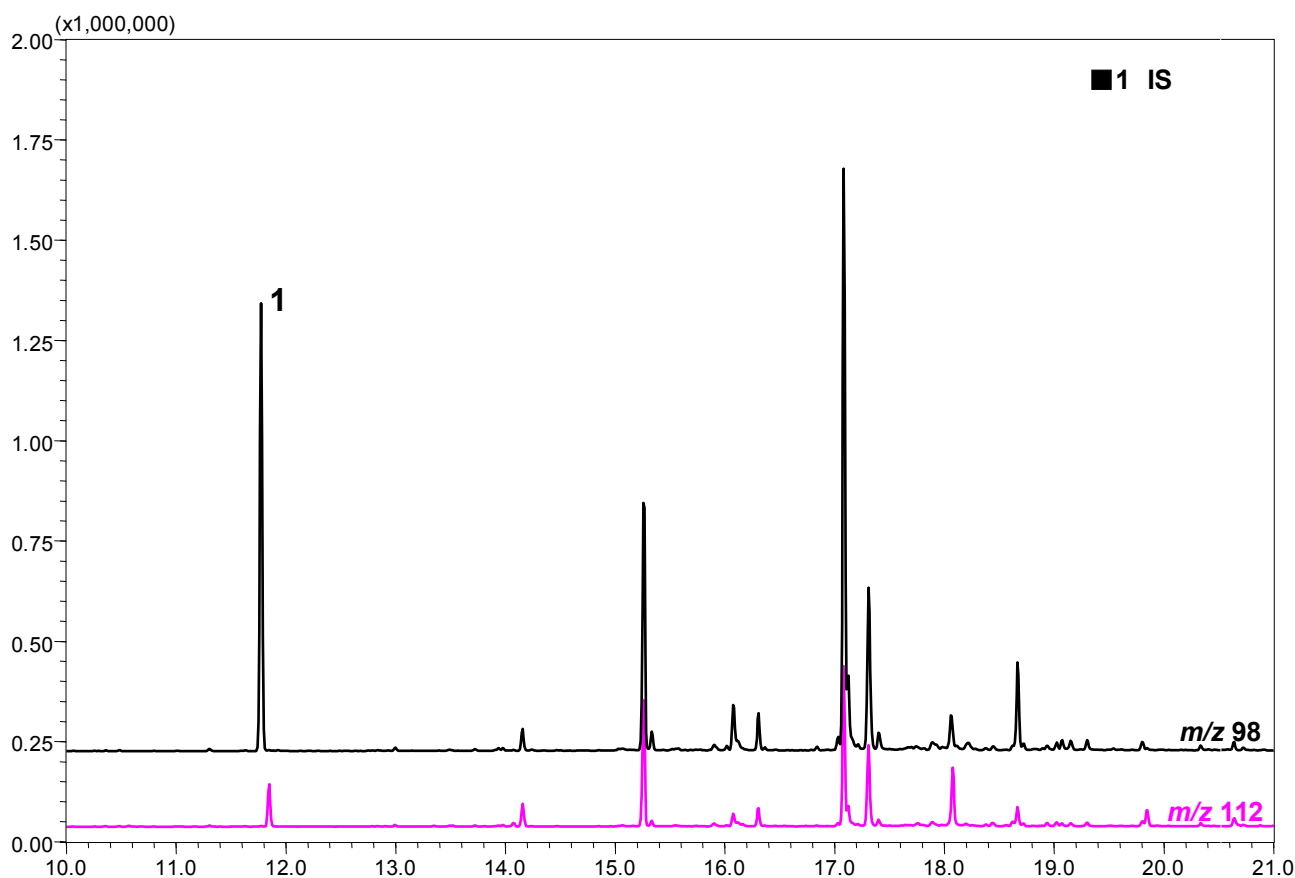


図7 豚ミンチ肉(非照射)のSIMクロマトグラム

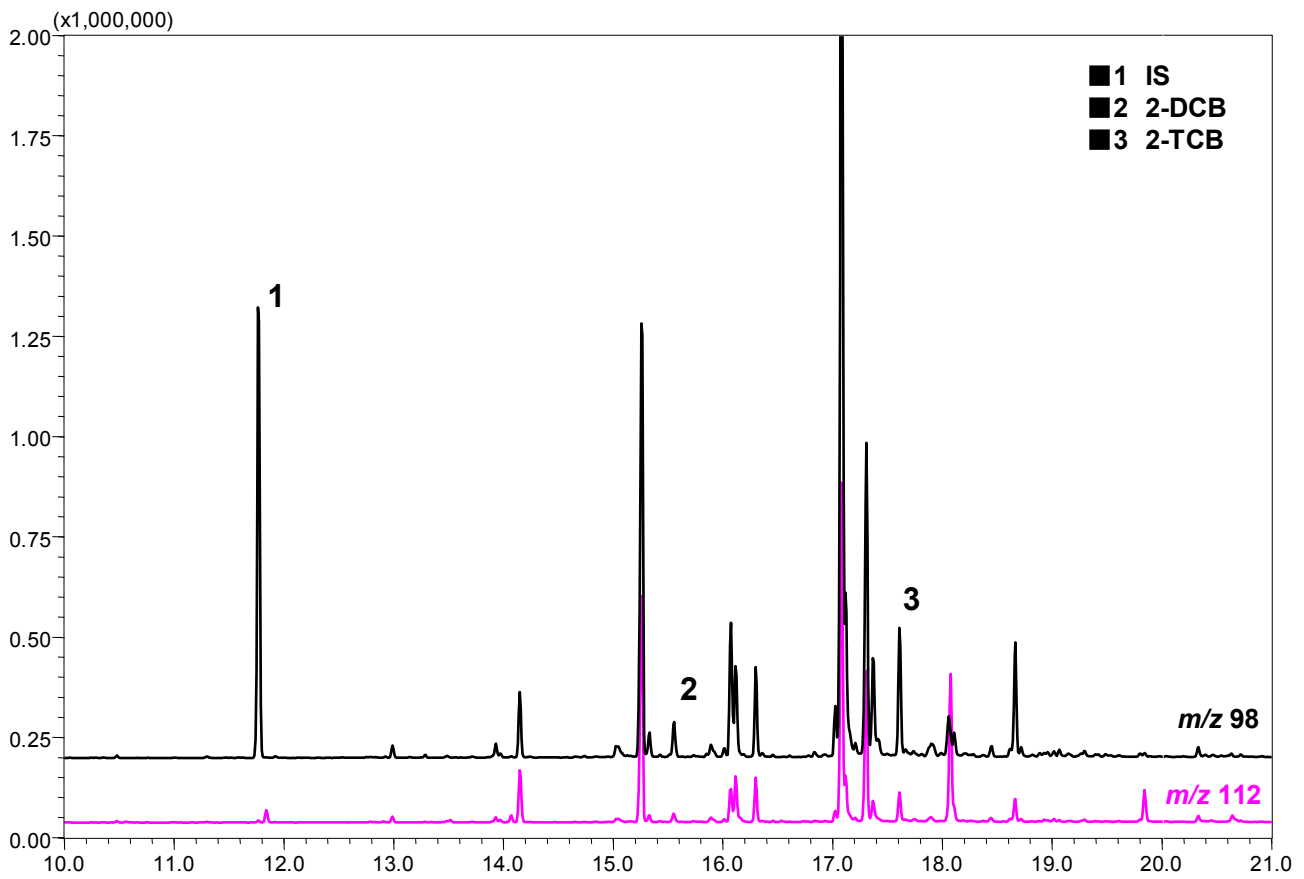


図8 豚ミンチ肉(1 kGy照射)のSIMクロマトグラム

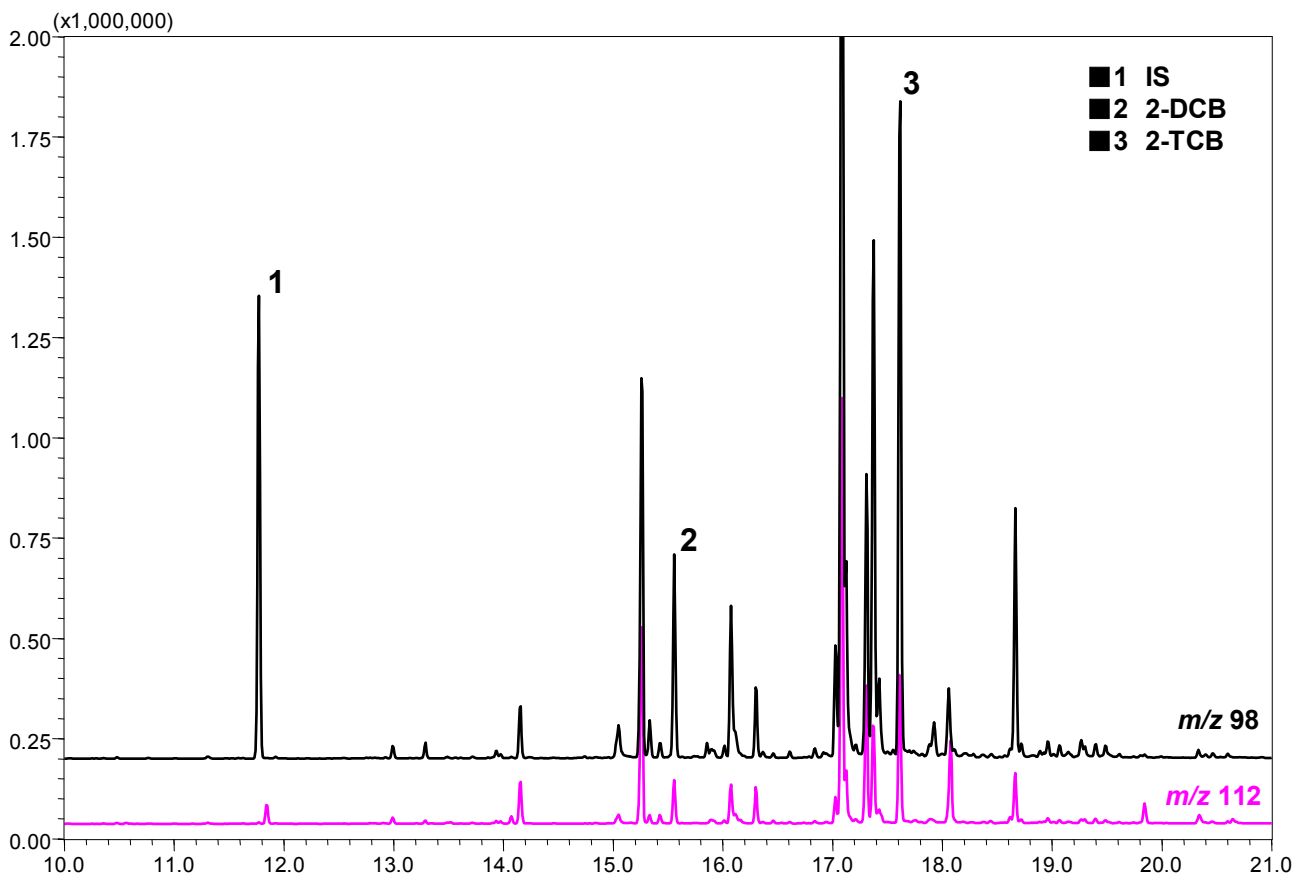


図9 豚ミンチ肉(5 kGy照射)のSIMクロマトグラム

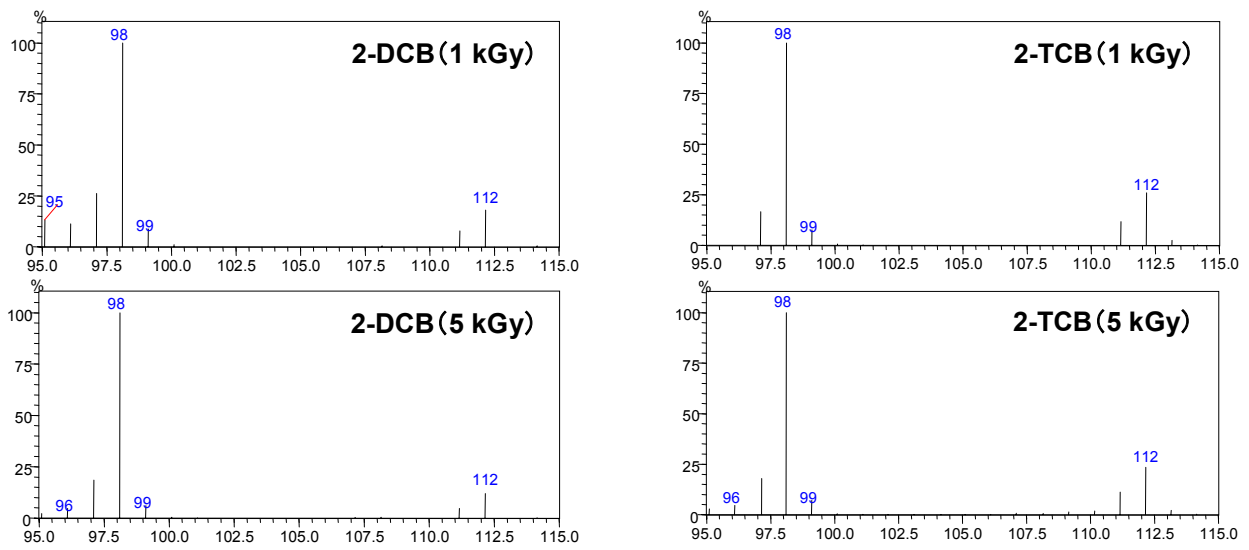


図10 豚ミンチ肉(1 kGyおよび5 kGy照射)のマススペクトル

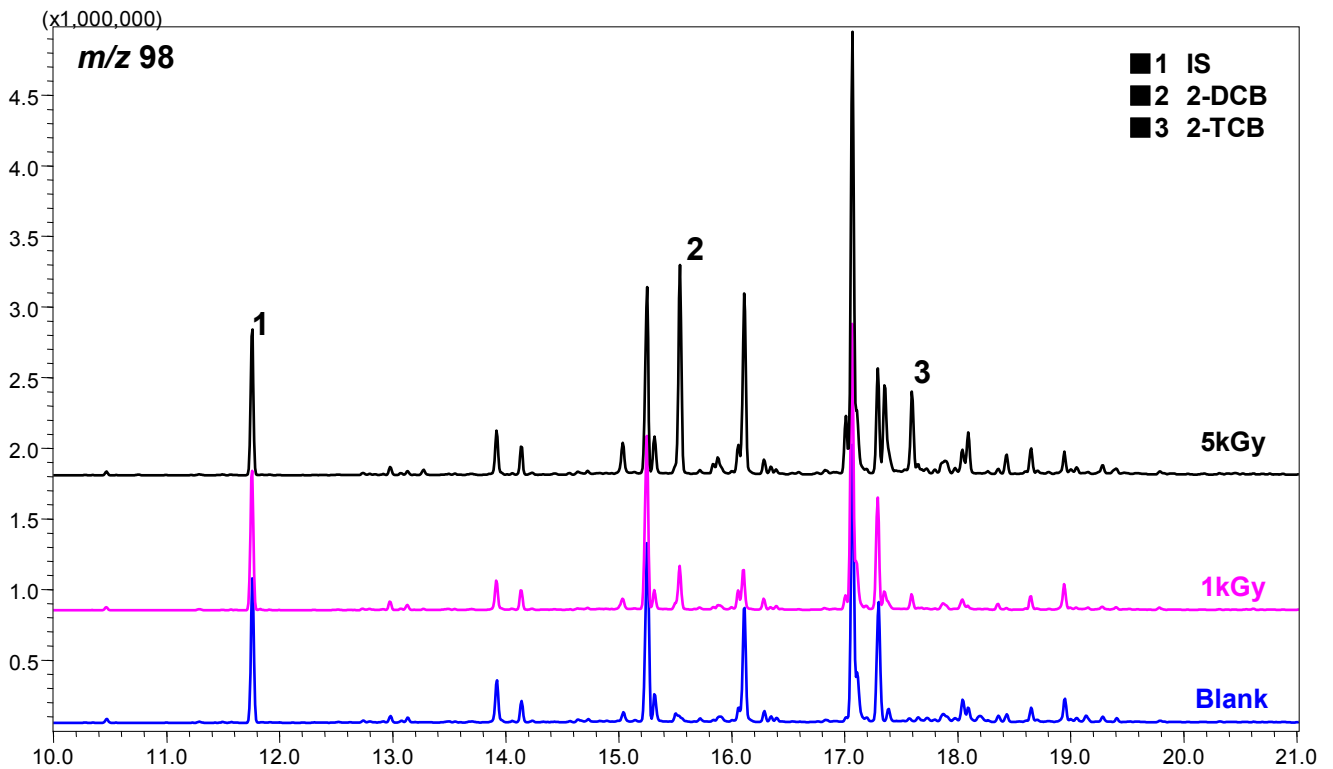
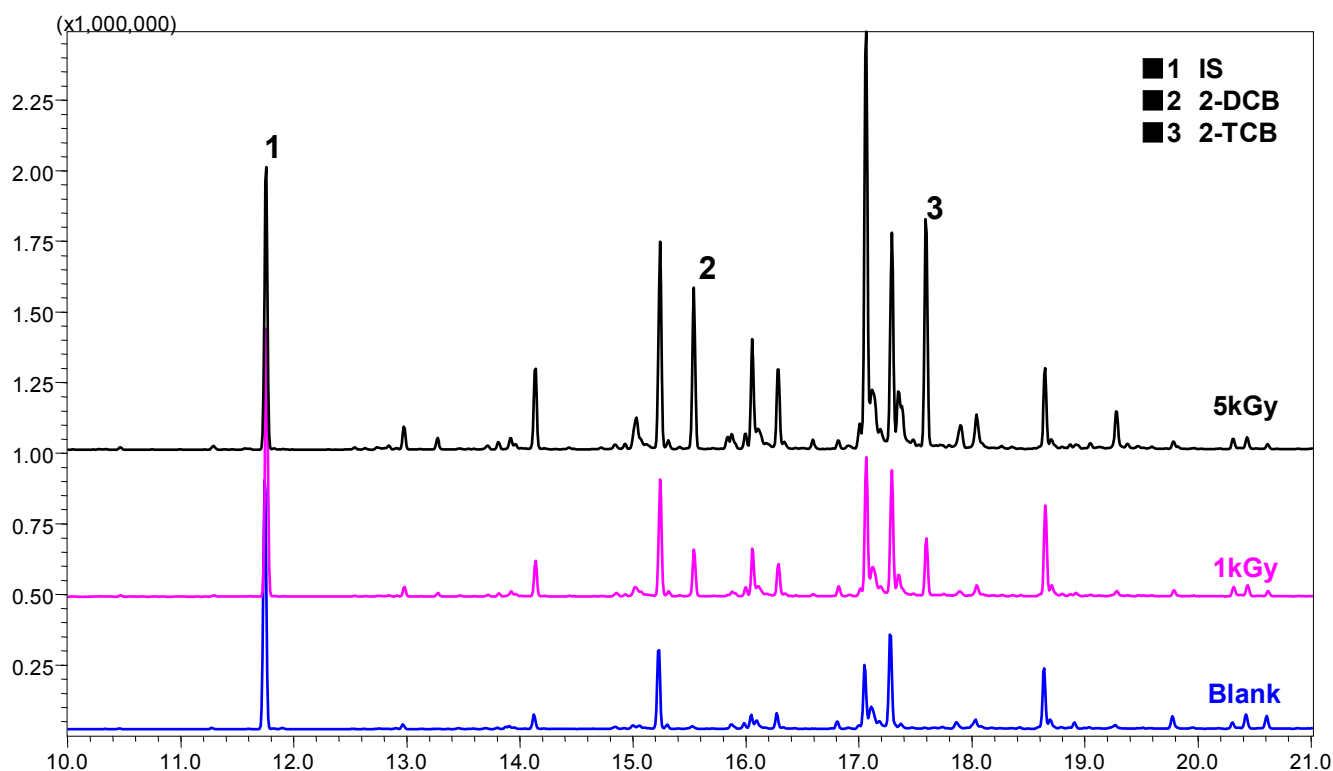


図11 鶏ミンチ肉のSIMクロマトグラム (m/z 98)

図12 牛ミンチ肉のSIMクロマトグラム (m/z 98)

5.まとめ

放射線照射した豚、牛、鶏肉について、2-アルキルシクロブタノン法に従い、2-DCBと2-TCBの測定を行いました。1 kGy および 5 kGy 照射した試料で、全ての試料から2-DCBと2-TCBの検出が確認できました。2-アルキルシクロブタノン法では、検知判定のため、

SIMによる定量に加え、主要なフラグメントイオンである m/z 98 と m/z 112 の強度をSCANで確認する必要がありますが、GCMS-QP2010UltraのFASSTモードを用いることで、効率良い測定を行うことができました。

参考文献

1. 原子力委員会 食品照射専門部会, 「食品への放射線照射について」, 平成 18 年 9 月 26 日
2. European Committee for Standardization, *Foodstuffs—Detection of irradiated food containing fat—Gas chromatographic / mass spectrometric analysis of 2-alkylcyclobutanones*, EN1785 (1996)
3. 等々力節子, 照射食品中における 2-アルキルシクロブタノンの生成とその毒性評価について(総説), 食品照射 38 巻, 57-71, 2003 年
4. PETER HORVATOVICH, et al, *Determination of 2-Alkylcyclobutanones with Electronic Impact and Chemical Ionization. Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS) in Irradiated Foods*, J. Agric. Food Chem, 2006, 54, 1990-1996
5. 医薬食品局食品安全部長, 放射線照射された食品の検知法について, 食安発 0330 第 3 号, 平成 22 年 3 月 30 日

初版発行 2011.3