

クロロフェノール類を異臭の原因物質とした
水煮マッシュルームの苦情事例の残留分析

A Case Study on Complaint about Boiled Mushroom Contaminated by Chlorophenol Compounds

肥塚加奈江, 石井 学, 山本 淳, 山辺真一, 今中雅章 (衛生化学科)

Kanae Koeduka, Manabu Ishii, Jun Yamamoto, Shinichi Yamabe and Masaaki Imanaka

【資 料】

クロロフェノール類を異臭の原因物質とした 水煮マッシュルームの苦情事例の残留分析

A Case Study on Complaint about Boiled Mushroom Contaminated by Chlorophenol Compounds

肥塚加奈江, 石井 学, 山本 淳, 山辺真一, 今中雅章 (衛生化学科)

Kanae Koeduka, Manabu Ishii, Jun Yamamoto, Shinichi Yamabe and Masaaki Imanaka

[キーワード：クロロフェノール類, 水煮マッシュルーム, GC/MS法]

[Key words : chlorophenol Compounds, Boiled Mushroom, GC/MS]

1 はじめに

消費者ニーズが多様化し、食品の流通が広域化、長期化、国際化の傾向が進む中、中国産冷凍食品の農薬混入事件、大手菓子製造業者の偽装表示など食の信頼を揺るがす事案が相次いだことから、消費者の食の安全・安心の確保に対する関心は、ますます高まっている。

このような状況下で、学校給食に使用される水煮マッシュルームに異臭があるとの苦情が寄せられる事例が発生したので、その概要を報告する。

2 苦情内容

平成20年2月、岡山県内の事業所で製造され、千葉県および岡山県の学校給食に使用した水煮マッシュルームから異臭（消毒臭のような臭い）がする苦情が寄せられた。当該水煮マッシュルームは、中国産マッシュルーム（塩蔵）を輸入し、これを原料として平成20年1月に製造したものであった。

今回、苦情内容が消毒臭のような異臭とのことであったが、漬物、野菜ジュース、牛乳など¹⁾や甘納豆²⁾の異臭あるいは消毒臭の原因物質としてクロロフェノール類が報告されている。そこで、原因物質がクロロフェノール類であることが予測されたので、その分析を行った。

3 実験方法

3.1 試料

①マッシュルーム水煮（スライス、レトルト）：苦情品と同一賞味期限のもので製造所に保管されていたもの1検体。

②マッシュルーム水煮（スライス、レトルト）：苦情品とは異なる賞味期限のものであるが、製造日が近いもので製造所に保管されていたもの2検体。

③マッシュルーム水煮（ホール、缶詰）：苦情品とは異なるロットであるが、製造日が近いもので製造所に保管されていたもの1検体。

④マッシュルーム（塩蔵）：マッシュルーム水煮を製造する原材料として中国から輸入したもので、苦情品の原材料となったもの1検体。

⑤マッシュルーム（塩蔵）：マッシュルーム水煮を製造する原材料として中国から輸入したもので、苦情品の原材料となったものと同じのロットであるが違う樽のもの3検体。

⑥マッシュルーム（塩蔵）：マッシュルーム水煮を製造する原材料として中国から輸入したもので、苦情品の原材料となったもの異なるロットのもの4検体（塩蔵製造工場は④⑤と同じ）。

⑦岡山県産マッシュルーム：1検体。

⑧マッシュルーム水煮（スライス、レトルト）：岡山県産マッシュルームを原料として製造したもの。

なお、④、⑤および⑥は中国国内で塩蔵加工し、それを輸入したものである。

3.2 試薬等

2,4-ジクロロフェノール標準品, 2,6-ジクロロフェノール標準品, 2,4,6-トリクロロフェノール標準品：Riedel-de-Haën社製, それぞれn-ヘキサンに溶解して1000 μg/mlとしたものを適宜希釈して用いた。

フェノール標準品：和光純薬工業(株)帥T, 水質試験用, 1000 μg/ml水溶液を適宜希釈して用いた。

精製水：milli-Q水を用いた。

塩化ナトリウム、*n*-ヘキサン：残留農薬分析用を用いた。

りん酸：試薬特級を用いた。

りん酸(1+9)：水90mlにりん酸10mlを加えて用いた。

硫酸銅(Ⅱ)溶液：硫酸銅(Ⅱ)五水和物(試薬特級)10gを水に溶かして100mlとして用いた。

メチルオレンジ溶液：メチルオレンジ(試薬特級)0.1gを熱水100mlに溶かして用いた。

炭酸水素ナトリウム：試薬特級

ペンタフルオロベンゾイルクロリド：東京化成工業(株)製

3.3 クロロフェノール類の分析

3.3.1 試料溶液の調製

飯田ら³⁾及び荻原ら²⁾の精油定量器を用いて蒸留する方法に準じた。すなわち、1Lナスフラスコに細切した試料20gを採取し、精製水200ml~300ml、塩化ナトリウム約100gを加え、りん酸1~2mlを加え酸性とし、シリコン樹脂及び沸騰石を入れ、精油定量装置に装着した。抽出部には5~10mlの精製水を入れ、抽出溶媒として*n*-ヘキサン5mlを積層し、マントルヒーターで1時間加熱還流した。冷後 *n*-ヘキサン層を無水硫酸ナトリウムで脱水し、窒素ガスを吹き付けて1mlに定容して測定用試料液とした。

3.3.2 GC/MSによる分析

GC/MS測定条件

装置：Thermo Quest Polaris

使用カラム：DB5-MS φ0.25mm×30m 膜厚0.25
μm

カラム温度：50℃(1min)-10℃/min-160℃-20℃
/min-280℃

注入法：スプリットレス 注入口温度：250℃

スプリットレス時間：1.5min

注入量：2μL

キャリアーガス流量：1.0ml/min(定流量モード)

インターフェース温度：300℃

イオン化条件：EI法 イオン源温度：230℃

イオン化電圧：70eV 測定法：SCAN法 *m/z* 100-200

ジクロロフェノール 定量*m/z*162 定性*m/z*164

トリクロロフェノール 定量*m/z*196 定性*m/z*198

3.4 フェノールの分析

3.4.1 試料前処理液の調製

JIS K0102 28.1フェノール類の28.1.1 前処理(蒸留法)に準じて試料溶液の調製を行った。すなわち、1Lの蒸留フラスコに細切した試料20gを採取し、精製水200mlを加えて、メチルオレンジ溶液を数滴加え、メチルオレンジが変色するまでりん酸(1+9)を加えてpH約4にした後、硫酸銅(Ⅱ)溶液2.5mlを加えた。この蒸留フラスコを蒸留装置に取り付け、受器に200mlの有栓メスシリンダーをセットし蒸留した。有栓メスシリンダーの流出液が180mlになったとき、いったん加熱を止めて、試料の沸騰がやんだ後、蒸留フラスコに精製水20mlを加え、再び蒸留を続けて更に20mlを留出させ、全流出液量200mlとして試料前処理液とした。

3.4.2 4-アミノアンチピリン吸光光度法での定量

JIS K0102 28.1フェノール類の28.1.2 4-アミノアンチピリン吸光光度法に準じて定量した。

3.4.3 GC/MSでの定量

3.4.3.1 測定用試料液の調製

小田ら⁴⁾のヒドロキノンの分析法に準じてフェノールを誘導体化し、測定用試料液を調製した。すなわち、試料前処理液100mlを200mlの分液ロートにとり、ヘキサン30mlで1回3分間振とう洗浄した後、水層を200mlの分液ロートに移し、5%炭酸水素ナトリウム溶液5ml、ペンタフルオロベンゾイルクロリド0.1mlを加えた。10分間振とう後、ヘキサン30mlを加え5分間振とう抽出を行った。ヘキサン層を無水硫酸ナトリウムで脱水し、ロータリーエバポレーターを用いて減圧下40℃で5ml程度まで濃縮後、内部標準物質のフルオランテンd10(0.05μg/ml)を0.1ml加え、窒素ガスを吹き付けて1mlに定容して測定用試料液とした。

3.4.3.2 検量線作成用標準液の調製

1000μg/mlのフェノール標準液を精製水で希釈し1.0μg/mlの標準溶液を調製した。この標準溶液の0.01~1.0mlを段階的に取り、精製水で100mlに定容し、200mlの分液ロートに移し、測定用試料液の調製と同様の操作を行い、検量線作成用標準液とした。

3.4.3.3 GC/MSによる分析

GC/MS測定条件

装置：Thermo Quest Polaris

使用カラム：DB5-MS φ0.25mm×30m 膜厚0.25

μm

カラム温度：50℃(1min)-20℃/min-300℃

注入法：スプリットレス 注入口温度：250℃

スプリットレス時間：1.5min

注入量：2μL

キャリアーガス流量：1.0ml/min(定流量モード)

インターフェース温度：300℃

イオン化条件：EI法 イオン源温度：230℃

イオン化電圧：70eV 測定法：SCAN法 m/z 100-

550

定量m/z288 定性m/z195

4 結果及び考察

4.1 分析結果

フェノール及びクロロフェノール類の調査結果を表1に示す。

漬物、野菜ジュース、牛乳など¹⁾や甘納豆²⁾の異臭あるいは消毒臭の原因物質としてクロロフェノール類が報告されている。今回、苦情内容が消毒臭のような異臭とのことから、クロロフェノール類が原因物質であると予測された。そこで数種のクロロフェノール類について分析した。表1に示すとおり苦情品と製造日の近いマッシュルーム水煮（(スライス, レトルト) ②-1）から微量の2, 4-ジクロロフェノール, 2, 6-ジクロロフェノール及び2, 4, 6-トリクロロ

表1. フェノール及びクロロフェノール類の調査結果

番号	検体名	備考 (賞味期限等)	フェノール類 (4-アミノアンチピ リン吸光度法) (ppm)	フェノール (GC/MS法) (ppm)	2,4-ジクロロ フェノール (ppm)	2,6-ジクロロ フェノール (ppm)	2,4,6-トリクロ ロフェノール (ppm)
①	マッシュルーム水煮（スライス, レトルト）	苦情品と賞味期限が同じ製品	1.7	1.0	ND	ND	ND
②-1	マッシュルーム水煮（スライス, レトルト）	苦情品と賞味期限が近い製品	3.6	2.0	0.014	0.023	0.006
②-2	マッシュルーム水煮（スライス, レトルト）	苦情品と賞味期限が近い製品	4.6	4.6	ND	ND	ND
③	マッシュルーム 缶詰	苦情品と賞味期限が近い製品	1.4	1.6	ND	ND	ND
④	塩蔵マッシュルーム	苦情品の原材料	蒸留液の濁りのため測定不能	4.6	0.11	0.32	0.029
⑤-1	塩蔵マッシュルーム	④と同一ロット別樽	4.5	1.8	ND	ND	ND
⑤-2	塩蔵マッシュルーム	④と同一ロット別樽	4.9	2.4	ND	0.003	ND
⑤-3	塩蔵マッシュルーム	④と同一ロット別樽	5.5	1.9	ND	ND	ND
⑥-1	塩蔵マッシュルーム	④と別ロット	4.6	2.0	ND	ND	ND
⑥-2	塩蔵マッシュルーム	④と別ロット	7.6	3.5	ND	ND	ND
⑥-3	塩蔵マッシュルーム	④と別ロット	6.1	2.7	ND	ND	ND
⑥-4	塩蔵マッシュルーム	④と別ロット	4.5	.1	ND	ND	ND
⑦	生マッシュルーム	岡山県内産	2.4	4.4	ND	ND	ND
⑧	マッシュルーム水煮（スライス, レトルト）	原材料:岡山産の生マッシュルーム	2.1	1.0	ND	ND	ND

※ND：定量下限値未達

※フェノール類（4-アミノアンチピリン吸光度法）の定量下限値：0.5ppm

※フェノール(GC/MS法)の定量下限値：0.01ppm

※2,4-ジクロロフェノール及び2,6-ジクロロフェノールの定量下限値：0.001ppm

※2,4,6-トリクロロフェノールの定量下限値：0.005ppm

フェノールを検出した。その他の製品からはクロロフェノール類は検出されなかったが、苦情品の製造原料である塩蔵マッシュルーム (④) からは、②-1の10倍以上の2,6-ジクロロフェノールが検出された。製造原料である塩蔵マッシュルームについては、④と同一ロットで違う樽のもの (⑤-1~⑤-3), ④とロットの違うもの (⑥-1~⑥-4) についてもクロロフェノール類の分析を行った。その結果④と同一ロットで違う1樽から、微量のクロロフェノールが検出された。これらのことより、今回の異臭の原因は、原材料の塩蔵マッシュルームに何らかの原因でクロロフェノール類が混入したか、原材料中のフェノールが塩素と反応してクロロフェノール類が発生した5)ものと考えられた。そこで、検体中のフェノール量についても測定を行った。対照として岡山県内産の生マッシュルームについても測定を行ったが、表1に示すとおり、フェノール量は検体による特別な差異はみられなかった。

フェノール類が混入したか、原材料中のフェノールが塩素と反応してクロロフェノール類が発生した5)ものと考えられた。そこで、検体中のフェノール量についても測定を行った。対照として岡山県内産の生マッシュルームについても測定を行ったが、表1に示すとおり、フェノール量は検体による特別な差異はみられなかった。

4.2 クロロフェノール類のマスキロマトグラム及びマススペクトル

今回検出されたクロロフェノール類のマスキロマトグラム及びマススペクトルを図1~図4に示す。

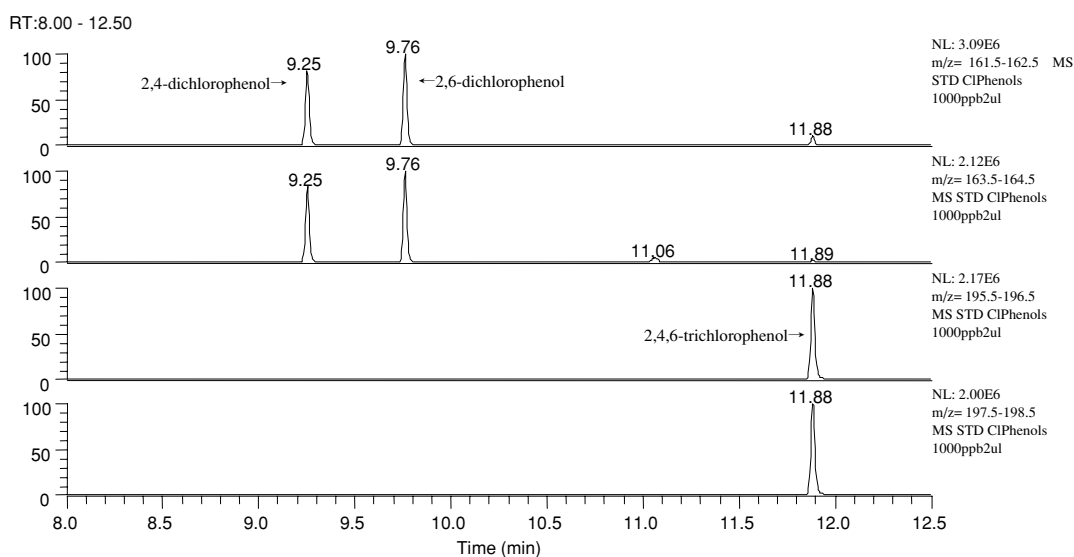


図1 クロロフェノール類のマスキロマトグラム

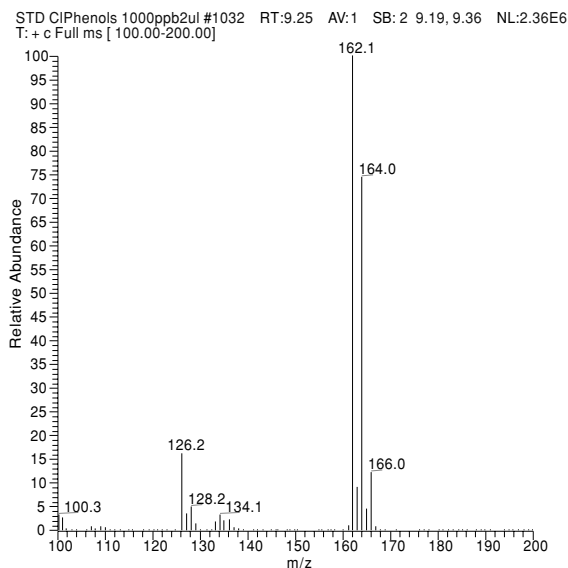


図2 2,4-ジクロロフェノールのマススペクトル

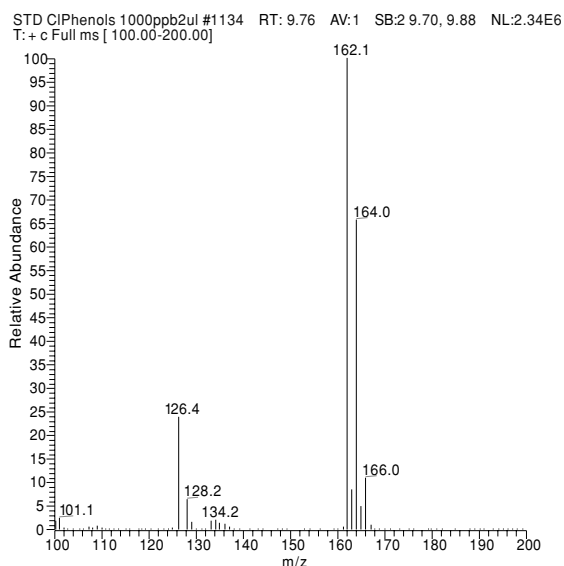


図3 2,6-ジクロロフェノールのマススペクトル

STD ClPhenols 1000ppb2ul #1540 RT:11.87 AV:1 SB:2 11.83,11.98 NL:4.56E5
T: + c Full ms [100.00-220.00]

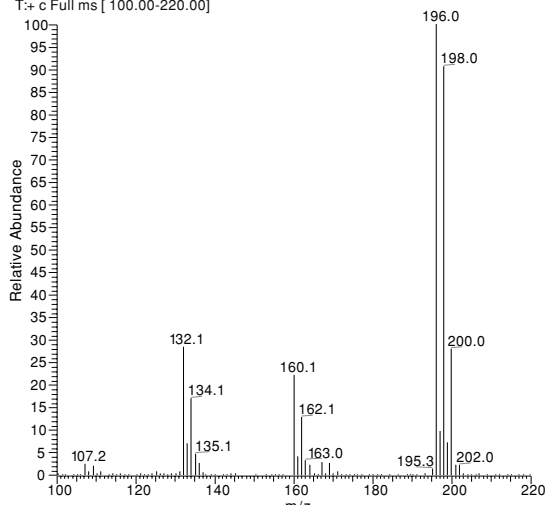


図4 2,4,6-トリクロロフェノールのマススペクトル

4.3 ペンタフルオロベンゾイル誘導体化されたフェノールのマスクロマトグラム及びマススペクトル
ペンタフルオロベンゾイル誘導体化されたフェノールのマスクロマトグラム及びマススペクトルを図5～6に示す。

5 まとめ

- 1) 県内で製造されているマッシュルーム（水煮）について、異臭（消毒臭）がするなどの苦情が寄せられたため、原因物質の解明を目的に調査した。
- 2) 苦情のマッシュルーム（水煮）と製造日が近い検体を調査したうち1検体から微量のクロロフェノール類が検出された。また、製造原料の塩蔵マッシュ

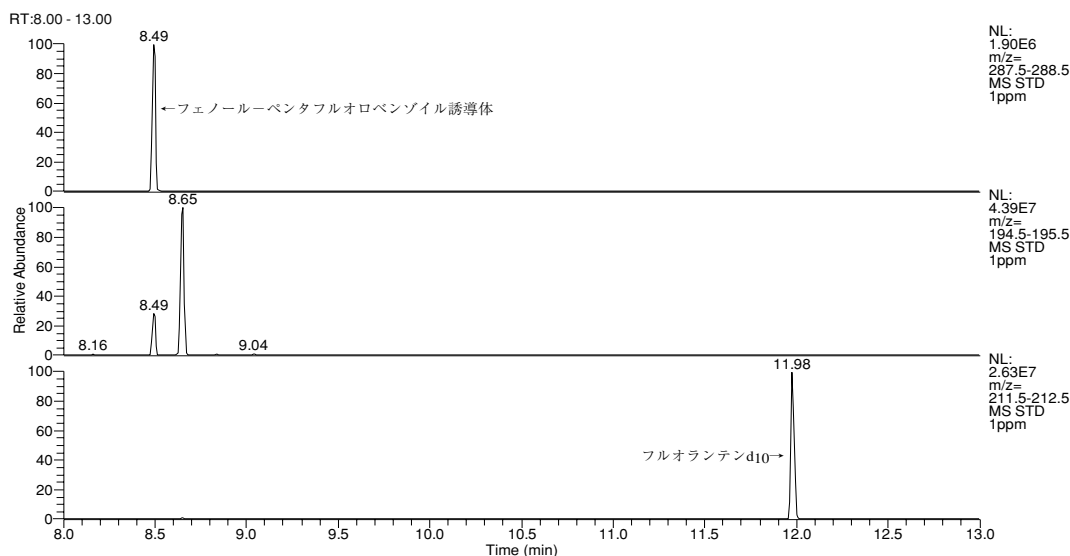


図5 フェノールーペンタフルオロベンゾイル誘導体のマスクロマトグラム

STD 1ppm #522 RT: 8.48 AV: 1 SB: 2 8.46, 8.56 NL: 3.76E6
T: + c Full ms [100.00-550.00]

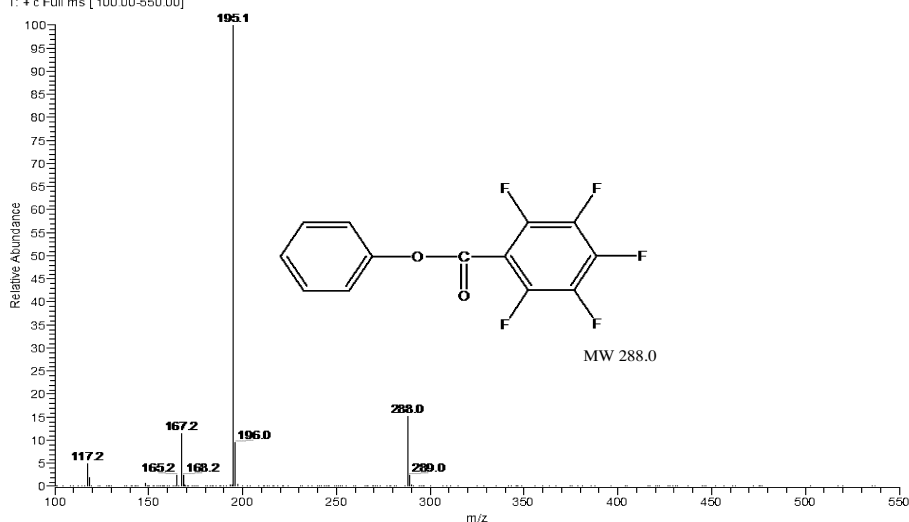


図6 フェノールーペンタフルオロベンゾイル誘導体のマススペクトル

ルームからもクロロフェノール類が検出された。

文 献

- 1) 月岡 忠：SPME-GC/MSを用いた苦情，事故などの原因物質究明事例について，食品衛生学雑誌，44，NO.1，J9-J11，2003
- 2) 萩原勉，近藤治美，都田路子，山田洋子，青柳洋子ら：クロロフェノール類を異臭の原因物質とした甘納豆の苦情事例の残留分析，東京都健康安全研究センター年報，54，227-230，2003
- 3) 飯田勝彦，渡辺重信，池田陽男：野菜中のクロロフェノール類の残留分析，食品衛生学雑誌，19，NO.4，372-377，1978
- 4) 小田達也，西野茂幸：ヒドロキノン，平成7年度化学物質分析法開発調査報告書，78-89，1995
- 5) 厚生労働省ホームページ“水道水質基準について”水質基準の見直しにおける検討概要II. 性状に関する項目2有機物質22005フェノール類
<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/suido/kijun/dl/k42.pdf>