



フラン及びメチルフラン類縁体の分析法開発について

はじめに

フランについては、特性、食品中での存在、毒性評価や適用される分析法を JFRL ニュース No. 81 Nov. 2008¹⁾ にて紹介させていただきました。その後も継続して国内外で含有実態調査、暴露評価が実施されています^{2), 3)}。さらに近年ではフランと同時に生成するメチルフラン類縁体の暴露量がフランに比して無視できないレベルにあることが報告され⁴⁾、特定の食品(コーヒーなど)において喫食量が多い場合には、それに伴い肝毒性に対する懸念を増加させる要因として指摘されました⁵⁾。一方、国内では農林水産省がフラン及びメチルフラン類縁体を食品の製造過程などで生成する危害要因として優先的にリスク管理を行うべき有害化学物質⁶⁾ に選定し、情報収集を実施することを公表しました。なお、現時点では食品衛生上の基準値はなく、食品に含有されるフラン及びメチルフラン類縁体を一斉に調査した報告は限られており、今後国内で流通する食品中の含有実態等を把握し、リスク評価を行った上で必要に応じその安全性を向上させる措置を検討する必要があります。そのため、弊財団では農林水産省の研究委託を受け、実態調査への活用を視野に分析法の開発を行いました。

本稿では、フラン及びメチルフラン類縁体の揮発性に着目し、広く認知されているヘッドスペースガスクロマトグラフ質量分析法(HS-GC/MS)によるフランとメチルフラン類縁体の同時分析法を開発し、国内流通品で比較的高濃度のフランを含むことが確認されている食品5種類(コーヒー浸出液、りんごジュース、しょうゆ、乳幼児用調製粉乳及びベビーフード)について適用性を確認しましたので、ご紹介いたします。

フラン及びメチルフラン類縁体の分析法の概要

本法での測定対象物質の特性を表-1 に示します。フランは沸点約 31℃の揮発性の高い物質のため、通常バイアルに試料を封入することで高感度に測定できる HS-GC/MS が採用されています⁷⁾。また、メチルフラン類縁体の沸点を調査したところ、フランと同様に HS-GC/MS にて高感度に測定が可能であったため、同時分析法として開発しました。

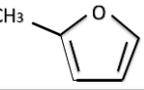
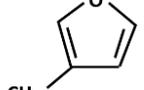
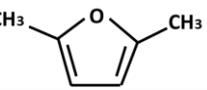
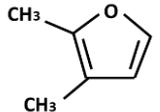
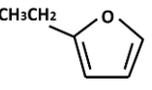
【ヘッドスペース法とは】

ヘッドスペースとは“容器の上部の空間”を意味します。

液体や固体を密閉容器に封入し加温すると、容器の上部の空間に、それらに含まれる成分中の「特に沸点の低い成分」が優先的に揮発します。

ヘッドスペース法は、ヘッドスペースバイアルと呼ばれる(ガラス)容器に試料を封入し、このバイアルを一定時間加温した後、その気相部分(ヘッドスペース)のガスをガスクロマトグラフ(GC)に導入することで、揮発成分をロスなく高感度に測定する手法です。残留溶媒や香気成分、環境水中の有害揮発成分の測定などに活用されています。

表-1 フラン及びメチルフラン類縁体の特性

物質名	構造	沸点(°C)	性状	毒性学的特徴
フラン (FRN)		31	無色透明の液体	・肝毒性，遺伝毒性，発がん性あり。
2-メチルフラン (2MF)		63	無色～わずかに薄い黄色の液体	・フランと同程度の肝毒性を示す。
3-メチルフラン (3MF)		66	無色～わずかに薄い黄色の液体	
2,5-ジメチルフラン (2,5DMF)		92-94	無色透明の液体	・毒性データがほとんどない。 ・これら3種は構造異性体である。
2,3-ジメチルフラン (2,3DMF)		92-94	微黄色～褐色の液体	
2-エチルフラン (2EF)		92	薄い黄色の液体	

分析上の留意点

i) 機器測定条件の設定

フランのみを測定対象とする単一成分分析とは異なり，メチルフラン類縁体を含めた複数の成分を対象とする多成分分析では，各成分の分離が必要不可欠となります。今回対象とする成分(フラン，2-メチルフラン，3-メチルフラン及び2,5-ジメチルフラン)のうち，2,5-ジメチルフランには2,3-ジメチルフラン及び2-エチルフランといった分子式(分子量)が同じで構造が異なる構造異性体が存在し(表-1 参照)，分析条件によってはクロマトグラム上でピークが重なり，ピーク分離が不十分となります(図-1 参照)。そのため，GC 分析用キャピラリーカラムの液相や膜厚，ガスクロマトグラフのオープン温度条件(昇温条件)，キャリアガスの流量などを最適化することで，フラン及び各メチルフラン類縁体の良好な分離が得られるようになりました(図-2 参照)。

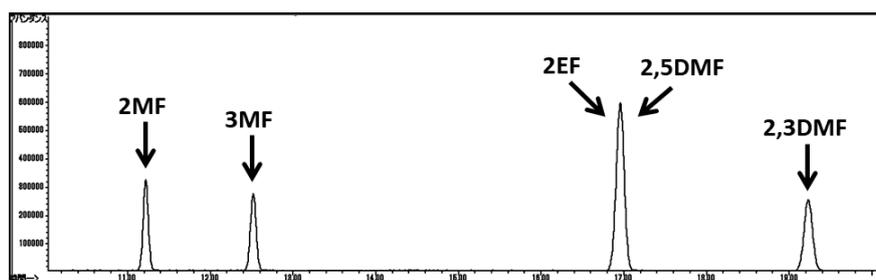


図-1 フラン測定条件での溶出

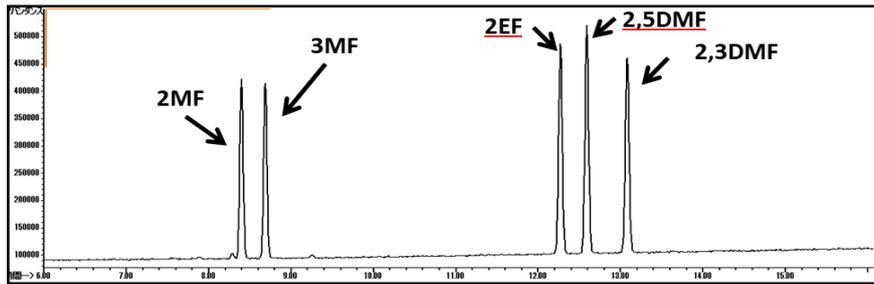


図-2 今回開発した測定条件での溶出

ii) ヘッドスペースバイアルの加温条件の検討

フランは食品を加熱することで非意図的に生成することがある⁸⁾ため、ヘッドスペース法におけるヘッドスペースバイアルを加温する工程においても、二次的に生成する懸念があります。

一方で、ヘッドスペースバイアルの加温工程における温度と時間は測定対象物質の測定感度に影響し、最適条件に設定することでさらなる高感度測定が期待されます。そのため、フラン及びメチルフラン類縁体を測定感度よく、一斉に分析するためには、測定対象物質が二次的に生成しない温度帯のうち、高い温度かつ短時間にてヘッドスペースバイアルを加温し、気液平衡の状態にすることが望まれます。そこで、フラン及びメチルフラン類縁体の検出の報告があるコーヒー浸出液及びベビーフードについて条件検討を行い、いずれの食品でも二次的な生成が確認されない最適加温条件を設定しました。

iii) 試料の保管条件

フラン及びメチルフラン類縁体の揮発性が高いことから、試料保管中における測定対象物質の減衰を調査しました。保管中に測定対象物質の揮散を防ぐため、試料を容器に詰めてヘッドスペースを最小限にした状態で、ガラス容器は冷蔵に、合成樹脂製容器は冷凍で約1か月保管しました。その結果、冷蔵保管では減衰が確認されませんでした。追加検証の結果、減衰は保管温度帯ではなく、合成樹脂製保管容器への吸着と推察されたため、試料保管容器の材質としてはガラス容器が適切であると考えられました。

分析法の適用性確認

開発した分析法について、フラン及びメチルフラン類縁体を含むことが懸念される5種類の食品での適用性確認を実施しました。その結果、フランに加え、分析法確立の優先度が高いとされた2-メチルフラン及び3-メチルフランについては全ての食品で、2,5-ジメチルフランについてはベビーフード以外の食品で、実態調査への使用にあたり要求される性能（定量下限、回収率、室内再現精度など）を満たすことが確認されました。

おわりに

本法の開発は、農林水産省の「安全な農畜水産物安定供給のための包括的レギュラトリーサイエンス研究推進委託事業」⁹⁾により実施し、その詳細は農林水産省のウェブページ¹⁰⁾にて公表される予定です。また、農林水産省は、令和3年3月に公表した「食品の安全性に関する有害化学物質のサーベイランス・モニタリング中期計画(令和3年度から令和7年度)」において、国内で流通する加工食品中のフラン及びメチルフラン類縁体の含有実態調査を実施することを公表しておりますので、関連するお客様は今後の動向を注視する必要があります。

弊財団は基本理念「分析試験を通して社会の進歩・発展に貢献します」の下、お客様からの受託分析を遂行するだけでなく、新規分析法の開発や調査業務にも積極的に取り組み、今後も各分野におけるレギュラトリーサイエンスに属する研究又は活動に参加してまいります。

参考文献(参考資料)

- 1) JFRL ニュース No.81 Nov.2008 フランについて
<https://www.jfrl.or.jp/information/123>
- 2) M. Shen. *et al.*, Simultaneous determination of furan and 2-alkylfurans in heat-processed foods by automated static headspace gas chromatography-mass spectrometry, *Food Science Technology*, 72, 44-54 (2016).
- 3) 農林水産省 食品安全に関するリスクプロファイルシート：フラン及びフラン類縁体
https://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/risk_analysis/priority/attach/pdf/hazard_chem-34.pdf
- 4) EFSA(European Food Safety Authority), Risks for public health related to the presence of furan and methylfurans in food (2017).
<https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/5005>
- 5) Health Canada, Update on the Assessment of Exposure to Furan from the Canadian Retail Food Supply (2016).
- 6) 農林水産省 農林水産省が優先的にリスク管理を行うべき有害化学物質のリスト
https://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/risk_analysis/priority/chemical_r3.html
- 7) Yoshida, I. *et al.*, Rapid and improved determination of furan in baby foods and infant formulas by headspace GC/MS, *Food Hyg. Saf. Sci.*, **48**(4), 83-89 (2007).
- 8) Hasnip S., Crews C., Castle L., Some factors affecting the formation of furan in heated foods, *Food Additive and Contaminants*, **23**(3), 219-227 (2006).
- 9) 農林水産省 レギュラトリーサイエンスに属する研究
https://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/regulatory_science/index.html
- 10) 農林水産省 終了した試験研究課題：フラン及びフラン化合物に関する研究
https://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/regulatory_science/shuryo_chem.html#furan