

資 料

食品中の異物検査法の構築

丸山友美, 林典子, 遠藤利加, 後藤黄太郎

要 旨

食品中に異物として混入が予想される様々な素材について、フーリエ変換赤外分光光度計 (FTIR) 及びエネルギー分散型 X 線分析装置付き走査型電子顕微鏡 (EDS-SEM) 等による各種分析や観察を行い、分析データを蓄積することで、異物との比較・照合に必要なデータベースを拡充した。また、これらのデータを評価し、素材ごとの最適な異物検査方法を検討したところ、複数の分析法を組み合わせることで詳細な異物同定が可能であった。

キーワード: 異物混入, フーリエ変換赤外分光光度計 (FTIR), エネルギー分散型 X 線分析装置付き走査型電子顕微鏡 (EDS-SEM)

1 はじめに

近年消費者の「食の安全・安心」への関心は一段と高まっており、食品の異物混入についても大きく報道されることがある。特に最近では SNS (ソーシャルネットワークワーキングサービス) を通じて情報が拡散し、時に大きな社会問題となることもあるため、生産者にとっても迅速な対応が求められる優先課題となっている。

当所においては、平成 26 年 8 月から平成 30 年 3 月までの間に県内保健所から 105 検体の異物検査依頼があり、その約半数は学校給食に関するものであった。これら異物の種類ごとの内訳は動物性異物 (虫、骨、毛等) が 33 検体、鉱物性異物 (合成樹脂、繊維、金属等) が 39 検体、植物性異物 (木片、紙等) が 15 検体、その他異物が 10 検体、特定不能の異物が 8 検体となっており、様々なものが食品中に異物として混入していた。

異物混入事案の原因究明や再発防止指導を行ううえで、迅速・正確な異物の同定は大変重要である。しかし、異物検査には標準化された方法がなく、得られた調査情報及び分析データから適切な検査法を選択し、系統的に分析を実施することが求められる。また、食品に異物として混入するものは多種多様であるため、様々な分野に関する幅広い知識や経験が必要である。加えて、異物は微小である場合が多く、効率的に分析を行うことも求められる。

そこで、迅速・正確に異物検査を実施するため、当所における最適な異物検査法の構築を目的とし、食品

中に異物として混入が予想される様々な試料について、フーリエ変換赤外分光光度計 (以下、FTIR) やエネルギー分散型 X 線分析装置付き走査型電子顕微鏡 (以下、EDS-SEM) 等による各種分析や観察を行い、分析データを蓄積することで、異物との比較・照合に必要なデータベースを 500 件拡充した。また、収集したデータベースや実際の異物混入事例の分析結果を評価し、様々な試料について、検査方法を検討したのでその概略及び素材ごとの特徴を報告する。

2 検査対象

当所に検査依頼のあった異物混入事例を参考に、表 1 に示す試料を選定・収集した。植物性異物を想定した試料については、植物の固い部分や皮が合成樹脂と誤認される事例が多いことを念頭に試料を選定した。また、異物には食品が付着していることもあるため、食品の原材料となる試料についても分析した。

3 方 法

3.1 分析方法

収集した試料を目視や実体顕微鏡、デジタルマイクロスコープにより観察し、色、形、大きさ、質感、硬さ等を確認した。その後、FTIR 及び EDS-SEM により分析を行った。植物片や毛等の植物性及び動物性異物については光学顕微鏡や SEM による観察及び定性反応 (ニンヒドリン反応、フロログルシン反応、ヨウ素でんぷん反応) を必要に応じて実施した。骨については遺伝子検査による動物種鑑別について 3.1.1 の方法

で検討した。また黒色ゴムについては、分析にあたり前処理が必要であったため、3.1.2の方法で前処理の効果について検討した。

検査方法の検討にあたっては、各種文献¹⁻⁶⁾を参考にした。

3.1.1 骨の動物種鑑別

QIAamp DNA Investigator Kit (キアゲン社製) を用いて試料から DNA を抽出し、「動物毛の DNA 検査プロトコル」(開発: あいち産業科学技術総合センター) に従い PCR を実施した。動物の識別用プライマーセットについては、牛、豚、鶏を用いた。

DNA 抽出については、キット付属プロトコルの「骨及び歯からのトータル DNA 分離」に従い実施した。また、鑑別可能条件(検体量, 加熱, 合びき肉中の骨)についても検討した。加熱の条件は、一般的な調理法を想定し、煮る(沸騰水 20分), 加圧調理(オートクレーブ 121°C 20分), 焼く(グリル 10分), 揚げる(油 180°C 3分), 電子レンジ(1000W 10分)とした。

3.1.2 黒色ゴムの前処理

細切りした試料を試験管に入れ、ガスバーナーで加熱し、試験管上部に凝縮した熱分解生成物を KBr プレートに塗布し、FTIR にて測定した。

3.2 装置及び測定条件

- ・光学顕微鏡
オリンパス (株) BX53
- ・実体顕微鏡
ケニス (株) LZ-T-LCD
- ・デジタルマイクロスコープ
キーエンス (株) VHX-2000
- ・フーリエ変換赤外分光光度計 (FTIR)
日本分光 (株) FT/IR-4600
測定方法: ATR 一回反射法
(黒色ゴムの熱分解生成物及び接着剤については KBr プレートによる透過法にて測定)
- ・エネルギー分散型 X 線分析装置付き走査型電子顕微鏡 (EDS-SEM)
日本電子 (株) JCM-6000
加速電圧: 15keV

表1 選定試料

植物性異物 79件

○青果 紫玉ねぎ, 玉ねぎ, ねぎ, パプリカ, きゅうり, にんじん, トマト, 唐辛子, ごぼう, さやいんげん, バナナ, ぶどう, 梅, とうもろこし, レタス, 大根, なす, ピーマン, ししとう, じゃがいも, キャベツ, ふき, 野沢菜 等
○植物の葉 月桂樹の葉, 赤しそ 等 ○海藻類 ひじき, 昆布, 乾燥わかめ, 青のり 等 ○乾燥食品 パスタ, ライスパスタ 等 ○木類 つまようじ, 木片 等 ○紙類 ティッシュペーパー, コーヒーフィルター, オープンペーパー2種, 紙製ウエス2種 等

動物性異物 91件

○骨 豚, 牛, 鶏, 羊, さんま, あなご, 鯛 等 ○軟骨 豚, 牛, 鶏, イカ 等 ○歯 ヒト ○爪 ヒト, 犬 等 ○動物毛 ヒト(毛髪, まつ毛, 眉毛), 犬, 豚, 牛, 猫, 馬, たぬき, ウサギ, 犬のひげ, 羽毛 等

鉱物性異物 330件

○貝殻片 カキ, あさり, しじみ, ほたて, はまぐり 等 ○甲殻類の殻 エビ, カニ 等 ○金属 ステンレス, ステンレススチール, チタン合金, 真鍮, 鉄, 銅, 鉛, ニッケル, アルミホイル, カッターの刃, フィラメント, ホチキスの針, 電熱線 等 ○合成ゴム 天然ゴム, ブタジエンゴム, クロロプレンゴム, エチレンプロピレンジエンゴム, フッ素ゴム, ブチルゴム, ニトリルゴム, シリコンゴム, スチレンブタジエンゴム, ウレタンゴム 等
○合成樹脂 ABS樹脂, エチレン酢酸ビニル樹脂, ポリエチレンテレフタレート, ポリブチレンテレフタレート, ポリテトラフルオロエチレン, ポリエステル, アクリル樹脂, ポリ塩化ビニリデン, ポリ塩化ビニル, セルロース, ポリアミド, 尿素樹脂, フェノール樹脂, フッ素樹脂, ポリアセタール, ポリウレタン, ポリエチレン, ポリカーボネート樹脂, ポリスチレン, ポリプロピレン, メラミン樹脂, エラストマー 等 ○繊維 アイロンテープ, フェルト, 糸, 着物, 毛糸, 衣類, ナイロン紐, ストッキング, カットクロス, 手芸わた, レース, ふきん 等 ○色素 水彩絵の具(12色), クレヨン(8色) 等 ○セラミックス 陶磁器, 陶器の置物, ガラス 等 ○接着剤
○その他 石, レンガ, シリカゲル 等

その他

上白糖, 片栗粉, カゼイン, サラダ油

4 結 果

4.1 異物検査フロー

検討の結果、観察から各種分析までの当所における基本となる異物検査フローについては、図1のとおりとなった。

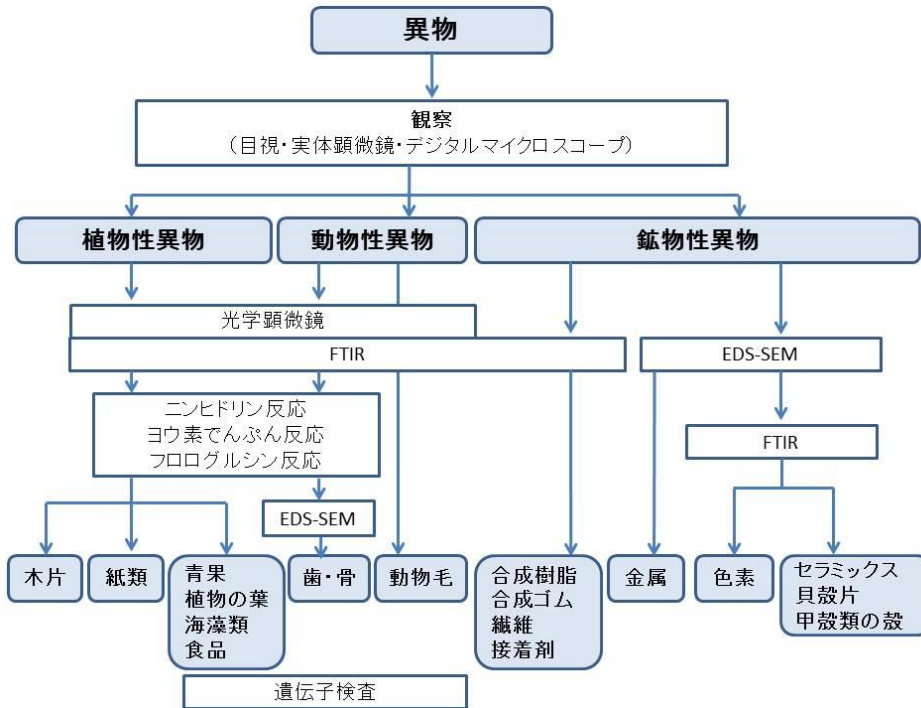


図1 異物検査フロー

4.2 植物性異物

青果、植物の葉、海藻類は、光学顕微鏡による観察で細胞構造が見られた。特に植物の葉や一部の青果については、らせん状の維管束（図2）や気孔（図3）等の植物に特有の構造も観察された。木片については、SEMによる観察で、規則的に配列した繊維が観察され、繊維を横切るように帯状の放射組織が観察された（図4）。また細胞壁に有縁壁孔が観察された（図5）。パスタ及びライスパスタには光学顕微鏡による観察ででんぷん粒が観察された。これらの形態的特徴の確認は異物同定に有用であった。

FTIRによる分析では、植物性異物のほとんどで1200～900 cm⁻¹にセルロース等多糖類由来と考えられる吸収が確認された。オープンペーパーについては、この吸収に加えて、表面加工物質由来と考えられる吸収が確認された。

フロログルシン反応は、木片では試料全体が、青果や植物では木質部が陽性となった。しかし、フロログルシン反応はリグニンにより赤紫色を示すため、試料の色が濃い場合は判定が困難なものも見られた。パスタ及びライスパスタではヨウ素でんぷん反応が陽性であった。

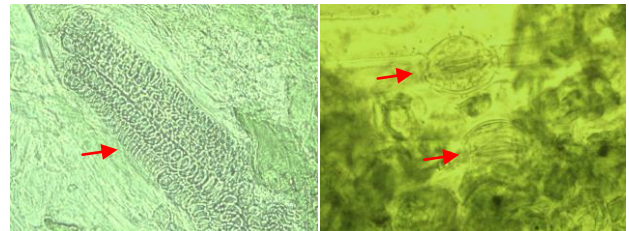


図2 維管束

図3 気孔

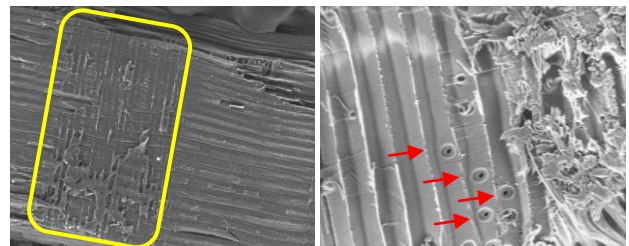


図4 放射組織

図5 有縁壁孔

4.3 動物性異物

骨をFTIRにより分析したところ、ヒドロキシアパタイト由来と考えられる1050, 610, 570 cm⁻¹の吸収や脂質、タンパク質由来の吸収が確認された。EDS分析では、炭素、酸素、窒素の他に骨の主成分であるカルシウムとリンが検出された。またニヒドリン反応は陽性であった。歯についても、FTIRによりヒドロキシ

アパタイト由来と考えられる吸収が確認され、EDS 分析ではカルシウムとリンが検出された。これに対してタンパク質が主成分である軟骨では、FTIR による分析でヒドロキシアパタイト由来の吸収は確認されず、EDS では炭素、酸素、窒素の他に、硫黄等が検出された (図6)。

また、骨の動物種 (牛、豚、鶏) の鑑別については、検体量は 10 mg で分析可能であり、加熱調理による影響は見られなかった。合挽き肉中に混入した骨については洗浄工程を加えたが、肉由来の遺伝子も検出されたため、鑑別できなかった。

爪については、FTIR による分析でタンパク質由来の吸収が確認され、EDS では炭素、酸素、窒素の他に硫黄、ケイ素及びカルシウム等が検出された。

動物毛については、光学顕微鏡による観察で毛髄質や小皮紋理等の毛に特有の構造が観察された。スンプ法を用いることで小皮紋理が明瞭に観察することができた。これらの形態や髄指数 (毛の太さに占める毛髄質の太さの百分率) は動物種により違いが見られ、獣毛は毛髪より髄指数が大きい傾向があった。しかし、豚とヒト等互いに形態が類似しているものも見られた。また、毛先等毛の部位によっては毛髄質を欠いていた。羽毛については、光学顕微鏡による観察で、小羽枝に節様の構造が確認された。

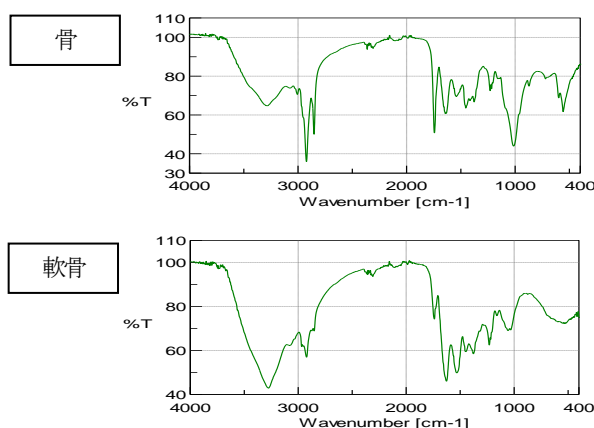


図6 骨及び軟骨の赤外吸収スペクトル

4.4 鉱物性異物

貝殻片については、EDS による分析で、炭素、酸素の他にカルシウムが主として検出された。FTIR による分析では、炭酸カルシウム由来の吸収が $1600\sim 1250$, 875 , 710 cm^{-1} に確認された。甲殻類の殻では EDS による分析で炭素、酸素、窒素の他にカルシウムやリンが検出され、FTIR による分析でキチン由来と考えられる吸収が $1180\sim 890\text{ cm}^{-1}$ に確認された。

金属については、EDS による分析で、カッターの刃からの鉄及びクロム (図7) や、フィラメントからの

タングステン等、試料を構成する元素が検出された。

合成樹脂、合成ゴム及び繊維では、FTIR による分析で材質の種類鑑別が可能であった。合成樹脂については、FTIR による分析で主たる成分の他に物質固有の添加剤等由来のスペクトルも確認される場合があり、異物の更なる鑑別に有用であった。またフィルム状の試料は、多層構造のものも見られ、試料の両面を分析する必要があった。繊維については、複数種により構成される場合、含有量の少ない繊維由来の吸収が FTIR による分析で確認困難なものもあり、注意を要した。

黒色以外の合成ゴムについては、ATR 一回反射法を用いた FTIR による分析でゴムの材質由来のスペクトルが得られるが、黒色ゴムではゴムの材質由来のスペクトルが確認されなかった。これは黒色ゴムに含まれるカーボンブラックの影響と考えられた。そこで、3.1.2 に示す方法で前処理を実施し、カーボンブラックによる影響の低減を試み分析したところ、多くのゴムで材質由来のスペクトルが確認された (図8)。本法で得られるスペクトルは、同一の手法で測定した素材既知のスペクトルと比較する必要がある。

石については、種類によって EDS 分析により検出される元素や FTIR により得られるスペクトルは異なっていた。セラミックス及びレンガについては、SEM による観察で素地に孔が見られた。EDS 分析では、炭素、酸素の他にアルミニウムとケイ素が多く検出され、カリウム、ナトリウム、マグネシウム等も検出された。FTIR による分析では、二酸化ケイ素由来と考えられる吸収が確認された。陶器の置物、レンガでは、これらの元素に加えて鉄が検出されるものも見られた。シリカゲルについては、EDS による分析でケイ素が検出され、FTIR による分析で二酸化ケイ素由来の吸収が確認された。

水彩絵の具及びクレヨンについては、EDS 分析により炭素、酸素の他にカルシウムが多く検出され、その他に検出された元素は色により異なっていた。FTIR による分析では炭酸カルシウムと考えられる吸収が確認された。水彩絵の具ではその他に多糖類由来の吸収が見られた。接着剤2品目については、FTIR による分析でシアノアクリレートや酢酸ビニル樹脂由来の吸収が確認され、それぞれ主たる成分と考えられた。

4.5 その他

FTIR による分析で上白糖及び片栗粉からは多糖類、カゼインからはタンパク質、サラダ油からは脂質由来のスペクトルが確認された。

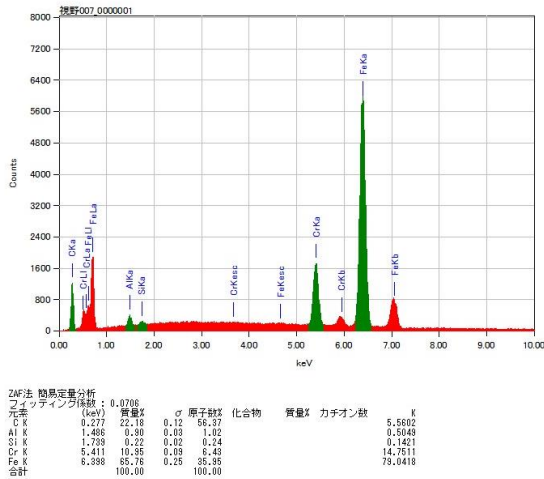


図7 カッターの刃のEDS スペクトル

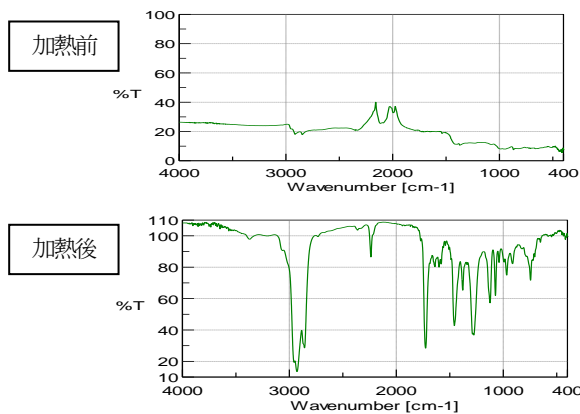


図8 黒色ニトリルゴムの赤外吸収スペクトル

5 考 察

食品中に混入が予想される様々な素材について、観察やFTIR、EDS-SEM等による各種分析を行った。植物性異物及び毛については、観察とFTIRによる分析が、動物性異物についてはFTIRによる分析が、鉱物性異物については、有機物はFTIR、無機物はEDS-SEM

による分析が中心となった。更に、動物性異物については遺伝子検査等、分析法を組み合わせることで詳細・正確な異物同定が可能であった。それぞれの素材の特徴を把握し、調査情報や得られた分析データから総合的に判断することが重要である。

また異物を同定していく際には、素材があらかじめ判明している試料との分析データの比較が欠かせない。異物として食品に混入する素材には際限がないため、今後も異物混入事例の蓄積・評価やデータベースの拡充を継続して行い、当所における異物検査を更に充実させていきたいと考える。

文 献

- 1) 食品衛生検査指針 理化学編 2015,989-1033,公益財団法人日本食品衛生協会,2015
- 2) 戸高宗一郎：IR 分析 テクニック事例集,5-25 502-535,654-661, (株) 情報技術協会,2014
- 3) (社) 日本分析化学会高分子分析研究懇談会：高分子分析ハンドブック,105-107 146-156, 859-866 1068-1100,朝倉書店,2013
- 4) 一般財団法人日本規格協会：JIS ハンドブック ゴム・エラストマー,1,643-685,日本規格協会,2016
- 5) 佐藤元：混入毛髪鑑別法, (株) サイエンスフォーラム,2000
- 6) 榊富賢二郎, 真鍋純一, 松永兼充, 穴井元昭, 江川洋：異物検査事例集—食品中の異物を中心として—, (株) サイエティスト社,2013

Construction of method for inspecting foreign matter in food

Tomomi MARUYAMA, Noriko HAYASHI, Rika ENDO, Kotaro GOTO

Gifu Prefectural Research Institute for Health and Environmental Sciences:
1-1, Naka-fudogaoka, Kakamigahara, Gifu 504-0838, Japan