

資料

食品中の異物検査結果について  
(平成15年度・16年度)

大森清美, 土屋久世, 岸 弘子  
山田利治, 平山クニ

Case Studies on Contaminations of  
Foreign Matters in Food

Kiyomi OHMORI, Hisayo TSUCHIYA  
Hiroko KISHI, Toshiharu YAMADA  
and Kuni HIRAYAMA

近年, 食品に関わる様々な事件が発生し報道される中, 食品に対する消費者の不安, 不信感は益々増幅されているように思われる. それを反映しているかのように, 食品に関する苦情とくに異物の検査依頼は後を絶たない. 検査により異物を特定することは, 苦情者の不安や不満

に応えると共に, 食品製造ラインの問題点を明らかにする上でも重要である. 表1は平成15年度及び16年度に検査を行った異物混入事例の概要である. これらの異物検査は大きく二つに分けられる. 一方はメーカーから製造ラインにおいて混入が疑われる物質が対照品として提供され異物と対照品の比較分析が可能で, 事例3, 4, 5, 6及び7のような場合である. もう一方は, 異物が製造ラインからは推測できず対照品がない, 事例1, 2及び8のような場合である. 後者の場合, 異物の形態観察結果や製造ライン, 苦情内容などから混入が疑われる物質を推測し, 検査を進めることになる. いずれの場合においても, 異物を特定する場合には, 実体顕微鏡観察, フーリエ変換赤外分光 (FT-IR) 分析及び蛍光 X 線測定が非破壊的で情報量の多い分析法となる. しかし, それらによっても物質の特定が困難な場合には, さらに種々の分析手法を応用し, 異物の溶解物または抽出物についてのクロマトグラフィー及び質量分析計等による分析を必要とするケースがある. そこで, 表1の事例のうち, 対照品の提供があり, 高速液体クロマトグラフィー・フォトダイオードアレイ (HPLC-PDA) を用いた合成樹脂の添加剤分析法を応用により, 異物の特定を行った事例 No.7について詳細を示す. また, 対照品の提供は無く FT-IR,

表1 異物混入事例の検査方法と結果概要

事例No.	異物混入食品	異物の状況	対照品	結果	使用機器
1	乳酸飲料	褐色の異物	提供なし	鈹物、金属ではない物質	実体顕微鏡観察 蛍光X線
2	寿司	淡赤色の爪状の異物	提供なし 鯛(購入)の鱗	魚の鱗	実体顕微鏡観察 FT-IR(ATR)
3	キムチ	白色の異物	メーカーより提供 包装材(ポリ塩化ビニル)	ポリスチレン	実体顕微鏡観察 FT-IR(ATR)
4	クッキー	青いビニール状の異物	メーカーより提供 製造(生地延ばし)用シート	製造(生地延ばし)用シート	実体顕微鏡観察 FT-IR(ATR)
5	パン	淡褐色の硬い異物	メーカーより提供 パン材料(穀類)	パン材料(穀類)	実体顕微鏡観察 蛍光X線 FT-IR(ATR)
6	かまぼこ	黒色の硬い異物	メーカーより提供 かまぼこ焦げ(デモサンプル)	かまぼこ焦げ	実体顕微鏡観察 蛍光X線 FT-IR(ATR)
7	弁当	透明のフィルム状異物	メーカーより提供 弁当包装材等	弁当包装材	実体顕微鏡観察 FT-IR(ATR) HPLC(PDA)
8	チョコレート	淡赤色の苦い異物	提供なし ビタミン製剤(購入)	シアノコバラミン、ビスベンチアミン 含有製剤	実体顕微鏡観察 FT-IR(ATR) HPLC(PDA) LC/MS/MS

HPLC-PDA 及び液体クロマトグラフ質量分析計 (LC/MS/MS) を用いた分析により異物含有成分を解明した事例 No.8について詳細を示す。

#### 事例 No.7

苦情品は、合成樹脂片が混入していた弁当（生姜焼肉丼）であった。異物は、合成樹脂（フィルム）片であったため、対照品として苦情品の弁当が包まれていた外包装と弁当製造工場内にあった合成樹脂7品が提供された。それらの対照品①から⑧は、①は苦情品の外包装、②は①の比較品弁当箱が入っていた袋、③は未使用の弁当箱が入っていた袋、④は未使用の弁当箱ふたが入っていた袋、⑤は原材料(肉)の包装、⑥は原材料(玉ねぎ)の包装、⑦は原材料(調味料)の包装、⑧は他の弁当に使用されている未使用ふたの包装であった。まず目視により異物及び対照品を観察した結果、対照品③及び⑥は色調及び樹脂の厚さ等により、異物及び他の対照品とは異なる高密度ポリエチレンと推察された。このことから、対照品③及び⑥以外の対照品と異物について、ユニバーサル ATR 法による FT-IR 分析を行った。その結果 (図1)、異物及び対照品⑦の外側を除く対照品の吸収スペクトルにポリエチレン特有の吸収 ( $720\sim 725\text{cm}^{-1}$ ) が見られ、それらはライブラリー検索によるポリエチレンの吸収スペクトルとほぼ一致した。対照品⑦については内側の面のみがポリエチレンとほぼ一致したが、外側の面はナイロンの吸収スペクトルと一致した。また、異物に見られた  $1700\text{cm}^{-1}$  付近の吸収はポリエチレンには認められないことから、 $1700\text{cm}^{-1}$  付近の吸収の由来を調べるため、異物に付着していた油状物質の吸収スペクトルを測定した。その結果、 $1700\text{cm}^{-1}$  付近の吸収は食品由来の油脂と推察された。しかし、これら目視観察及び FT-IR 測定では対照品の中から苦情品中の異物を特定することができなかった。そこで、ポリエチレンに添加されている酸化防止剤等の分析法を応用し、異物及び対照品に添加されている酸化防止剤の HPLC クロマトグラムのパターンから異物の特定を試みた。抽出方法は既報<sup>1)</sup>に従い、異物と対照品①、②、④、⑤及び⑧は、シクロヘキサン・イソプロピルアルコール混液 (1:1) により酸化防止剤を抽出した。各抽出液について、HPLC-PDA により分析を行った (図2)。その結果、異物抽出液と対照品①抽出液のクロマトグラムはほぼ一致し、他の対照品とは異なることから、異物は苦情品の外包装であると考えられた。

#### 事例 No.8

苦情品はピーナツチョコレートであり、苦情内容は同品を食べたところチョコレートの中にピンク色の粒があり、ピンク色の粒を潰すと苦い味がしたというものであった。苦情品から異物として採取した淡褐色異物、黒

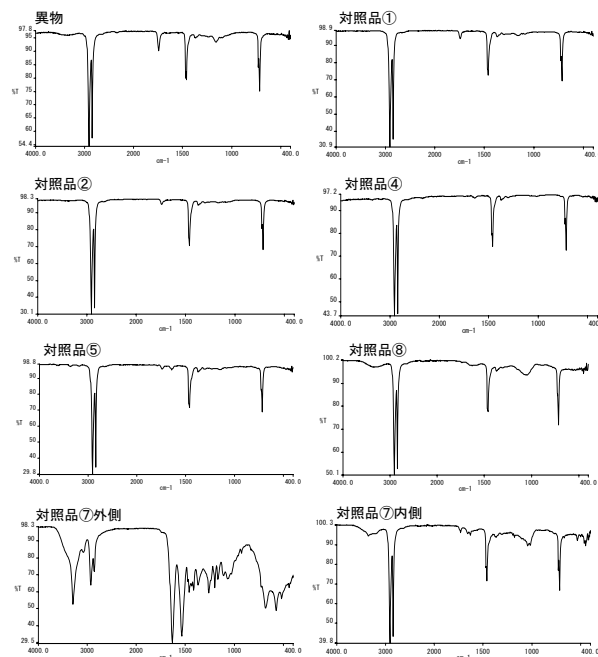


図1 異物及び対照品の FT-IR スペクトル

装置：Spectrum One NTS (パーキンエルマー社)

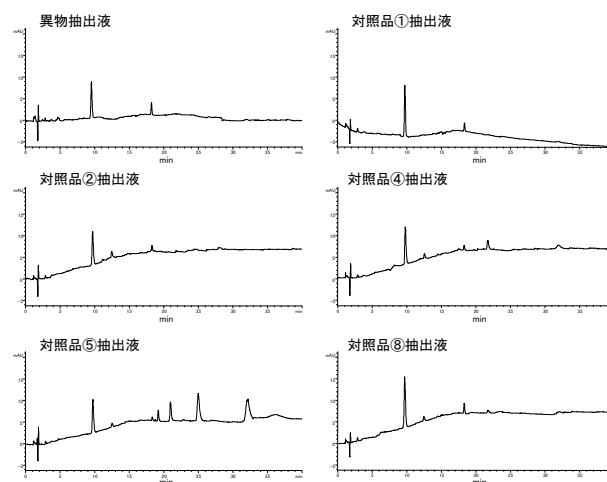


図2 異物及び対照品の HPLC クロマトグラム

装置：HP1100 (ヒューレットパッカート社)、カラム：Inertsil ODS-3 (4x150mm, 3  $\mu\text{m}$ )、カラム温度： $50^{\circ}\text{C}$ 、移動相：開始時にはアセトニトリル-水 (6:4)、リニアグラジエントで13分後にアセトニトリル 100%とし、更に22分間アセトニトリル 100%で溶出、検出器：フォトダイオードアレイ (220~700nm)、抽出波長：225nm、流量：1.0mL/min、注入量：10  $\mu\text{L}$

色異物、淡赤色異物について目視及び実態顕微鏡 (オリンパス SGX9) による形態観察及び化学分析により検討を行った。淡褐色異物及び黒色異物については、形態観

察ではカラメル様もしくは焦げ様の物質であると推定されたが、FT-IR 及び HPLC 等による化学分析では物質を特定することはできなかった。淡赤色異物は、水と混合し静置すると、赤色の上澄液と白色の粉末状沈殿物に別れた。赤色の上澄液については、食品に使用されている色素が混入したものと推測し、赤色系の水溶性合成色素及び天然色素を標準品として、HPLC-PDA を用いてカラム保持時間及び紫外可視吸収スペクトルの比較を行った。その結果、それらの色素標準品と赤色成分は異なる挙動を示したことから、上澄液の赤色成分は食品添加物として使用されている色素とは異なる物質であると考えられた。白色の粉末状沈殿物については、メタノールで洗浄し、乾燥したものを FT-IR のユニバーサル ATR 法により赤外吸収スペクトル測定を行った。その結果 (図 3)、淡赤色異物中の白色粉末の赤外吸収スペクトルはセルロース (シグマ社) の赤外吸収スペクトルと一致した。セルロースは、主に医薬品などの製剤中で賦形剤として用いられることから、淡赤色異物は医薬品またはサプリメント類に由来する可能性が浮かび上がった。淡赤色異物を水に懸濁し、PTFE 膜でろ過した溶液を試料溶液として、HPLC-PDA により分析を行った。その結果 (図 4)、試料溶液の HPLC クロマトグラムにおける保持時間 10.9 分の Peak A の UV 吸収スペクトルは、360nm 及び 550nm 付近に極大吸収波長を有していた。それらの極大吸収波長、水溶性及び赤色を呈するという特徴から、シアノコバラミン (ビタミン B<sub>12</sub>) であることを推察し、HPLC-PDA によるシアノコバラミンの分析を行った。

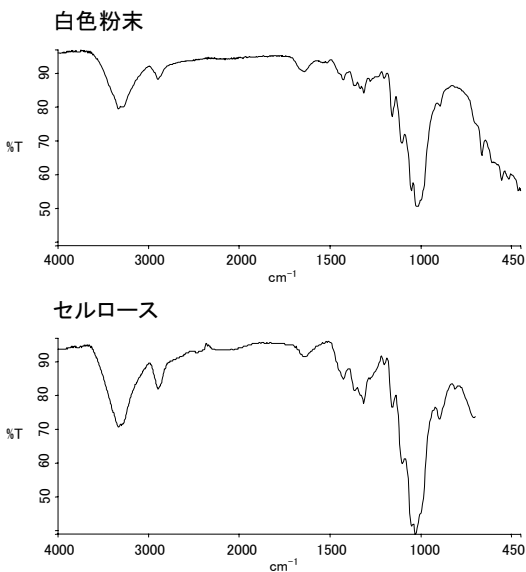


図3 白色粉末及びセルロースの FT-IR スペクトル  
装置：Spectrum One NTS (パーキンエルマー社)

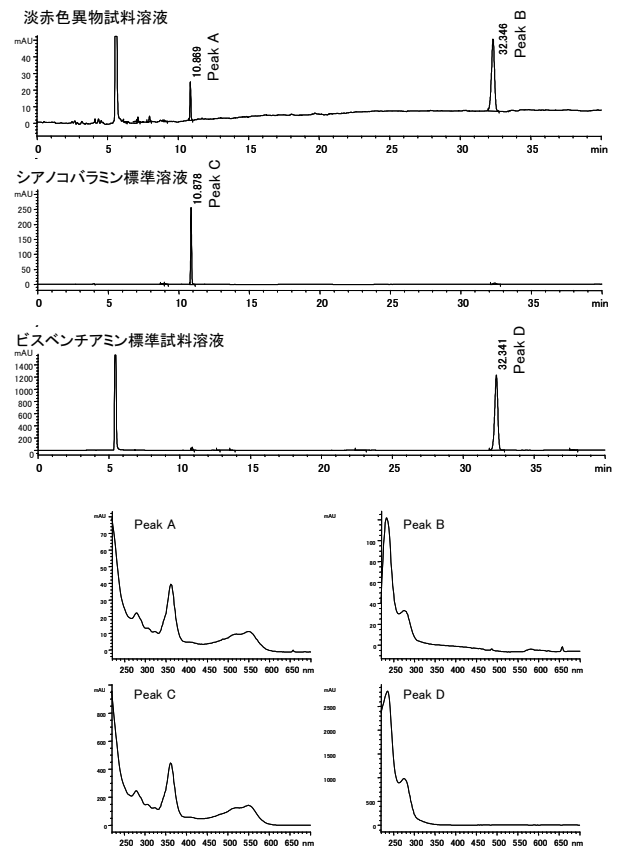


図4 淡赤色異物試料溶液、シアノコバラミン標準溶液、ビスベンチアミン標準試料溶液の HPLC-PDA クロマトグラム及びピーク A, B, C 及び D の UV 吸収スペクトル

装置：HP 1100 series (ヒューレットパッカード社), カラム：Inertsil ODS-3 (4x150mm, 3mm), カラム温度：40℃, 移動相：開始時には 0.01M 酢酸アンモニウム・アセトニトリル (95：5), リニアグラジエントで 40 分後に 0.01M 酢酸アンモニウム・アセトニトリル (30：70), 検出器：フォトダイオードアレイ (220~700nm), 流量：1.0mL/min, 注入量：20  $\mu$ L

その結果 (図 4)、淡赤色異物試料溶液の Peak A の UV スペクトルは、シアノコバラミン標準溶液の HPLC クロマトグラムにおける保持時間 10.9 分の Peak C の UV 吸収スペクトルと一致した。さらに、LC/MS/MS により淡赤色異物試料溶液とシアノコバラミン標準溶液について分析を行った結果 (図 5)、淡赤色異物試料溶液のトータルイオンクロマトグラム (TIC) において、14.6 分と 35.6 分にピークを検出した。また、14.6 分のピークについてのマススペクトルは、 $m/z$  1355.5 及び 678.4 に特徴的なイオンピークを有し、 $m/z$  1355.5 のマスキングクロマトグラム及び  $m/z$  679 のマスキングクロマトグラムでは、UV550nm 検

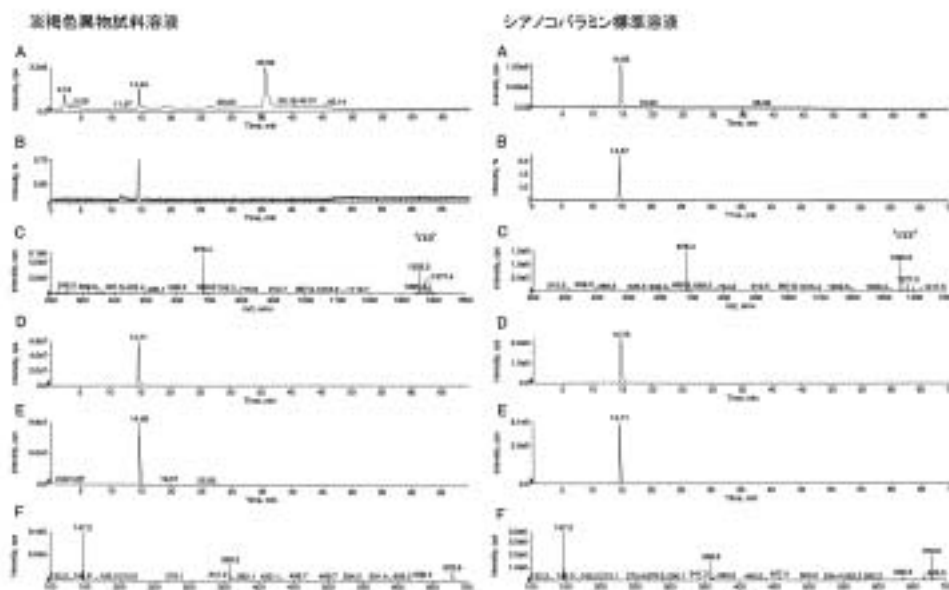


図5 淡赤色異物試料溶液及びシアノコバラミン標準溶液のLC/MS/MSデータ

MS/MS条件

装置：QTRAP™ LC/MS/MS System (アプライドバイオシステムズ社)，イオン化モード；ESI (エレクトロスプレーイオン化法)，ポジティブモード，コリジョンエネルギー；20V，キャピラリー電圧；5500V，乾燥ガス温度；450℃，スキャンタイプ；EMS (エンハンストマススペクトル) モード及びEPI (エンハンストプロダクトイオン) モード

HPLC条件

装置：Agilent 1100 series (アジレントテクノロジー社)，カラム；Inertsil ODS-3 (2x150mm, 3 μm)，カラム温度；40℃，検出波長；UV550nm，流量；0.2mL/min，注入量；10 μL

A；トータルイオンクロマトグラム (TIC)，B；550nm 検出クロマトグラム，C；TIC14.6 分のマススペクトル，D；EPIモードにおける TIC (Q1； $m/z$  1355.5, Q3； $m/z$  200-1500)，E；EPIモードにおける TIC (Q1； $m/z$  679.0, Q3； $m/z$  100-700)，F；Eにおける14.7分ピークのマスペクトル

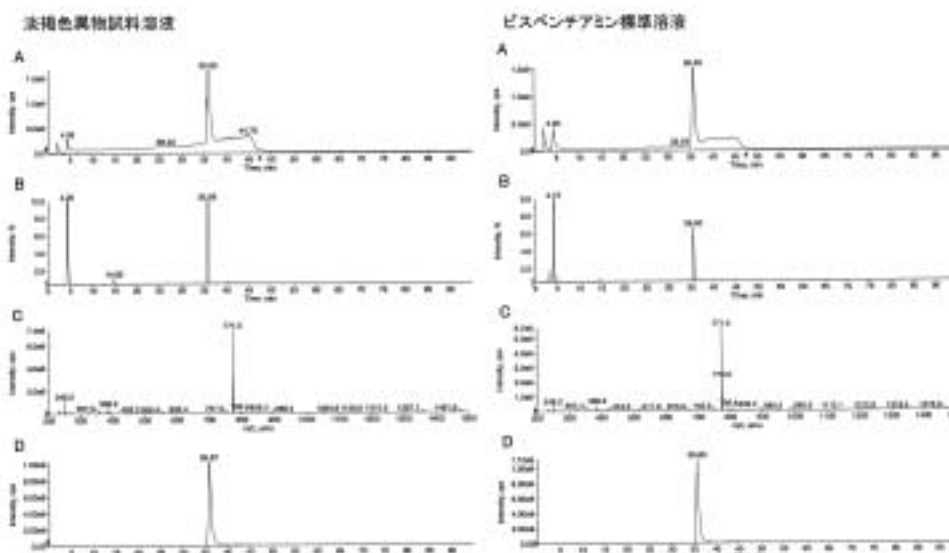


図6 淡赤色異物試料溶液及びビスベンチアミン標準試料溶液のLC/MS/MSデータ

MS/MS条件

装置：QTRAP™ LC/MS/MS System (アプライドバイオシステムズ社)，イオン化モード；エレクトロスプレーイオン化法，ポジティブモード，コリジョンエネルギー；20V，キャピラリー電圧；5500V，乾燥ガス温度；450℃，スキャンタイプ；EMS モード及びEPIモード

HPLC条件

装置：Agilent 1100 series (アジレントテクノロジー社)，カラム；Inertsil ODS-3 (2x150mm, 3 μm)，カラム温度；40℃，検出波長；UV254nm，流量；0.2mL/min，注入量；10 μL

A；トータルイオンクロマトグラム (TIC)，B；254nm 検出クロマトグラム，C；TIC35.6 分ピークのマスペクトル，D；EPIモードにおける TIC (Q1； $m/z$  771.0, Q3； $m/z$  200-1500)

出によるクロマトグラムと同一の保持時間にピークを検出した。さらに  $m/z$  679 のマスクロマトグラムにおける 14.7 分ピークのマスペクトルには、 $m/z$  359.2 及び 147.2 に特徴的なイオンピークを検出した。シアノコバラミン標準溶液の TIC においても 14.7 分にピークを検出し、そのマスペクトルは、淡赤色異物試料溶液の TIC における 14.6 分のピークと同様に  $m/z$  1355.5 及び 678.4 に特徴的なイオンピークを検出した。シアノコバラミンの平均分子量は 1355.4 であることから  $m/z$  1355.5 のイオンピークはシアノコバラミンのプリカーサーイオンであると考えられた。 $m/z$  1355.5 のマスクロマトグラム及び  $m/z$  679 のマスクロマトグラムでは、UV550nm 検出によるクロマトグラムと同一の保持時間にピークを検出し、さらに  $m/z$  679 のマスクロマトグラムにおける 14.7 分ピークのマスペクトルには、 $m/z$  359.3 及び 147.2 に特徴的なイオンピークを検出した。したがって、試料溶液の TIC における 14.6 分のピークはシアノコバラミンであることが確認された。その他、淡赤色異物試料溶液の TIC には 35.6 分のピークを検出し、そのマスペクトルは、 $m/z$  771.5 に強いイオンピークを有していた。そこで、分子量 772 付近の成分について、Merck Index の分子量検索を行ったところ、ビスベンチアミン（平均分子量 770.9）がリストアップされた。一般薬日本医薬品集<sup>2)</sup>では、シアノコバラミン及びビスベンチアミンを含む製剤は 4 製剤が該当した。ビスベンチアミン標準品の入手が困難であったことから、4 製剤中の 1 製剤をビスベンチアミンの標準試料として、LC/MS/MS 及び HPLC-PDA による確認を行った。その結果、ビスベンチアミン標準試

料溶液の TIC においても淡赤色試料溶液と同一保持時間である 35.5 分にピークを検出し、そのピークのマスペクトルには、ビスベンチアミンの平均分子量 771.4 に強いイオンピークを検出した（図 6）。 $m/z$  771 のマスクロマトグラムでは UV254nm 検出によるクロマトグラムと同一の保持時間にピークを検出した。また、ビスベンチアミン標準試料溶液の HPLC-PDA による分析結果（図 4）では、ピーク保持時間 32.3 分に Peak D を検出し、その UV スペクトルは淡赤色試料溶液の HPLC クロマトグラムにおける保持時間 32.3 分の Peak B の UV 吸収スペクトルと同様の 240nm 及び 280nm 付近に極大吸収波長を有していた。それらの結果により、 $m/z$  771.5 の成分はビスベンチアミンであることが強く示唆された。そして、ビスベンチアミン標準試料の内容物を水で湿らせた対照品は、形態的にも淡赤色異物と酷似しており、標準試料を砕いた淡赤色の内容物は苦く、苦情者からの聞き取り内容と一致していた。以上の化学分析結果、形態及び味等の特徴から、チョコレートに混入していた異物は、シアノコバラミン及びビスベンチアミンを含有する製剤であると考えられた。

（平成 17 年 7 月 22 日 受理）

#### 参考文献

- 1) 河村葉子ほか：HPLC によるポリエチレン中の酸化防止剤及び紫外線吸収剤の一斉分析法，食品衛生学雑誌，37，272-280（1996）
- 2) 一般薬日本医薬品集 2000-01，（財）日本医薬品情報センター編