

200734003A

厚生労働科学研究費補助金
食品の安心・安全確保推進研究事業

乳幼児食品中の有害物質及び病原微生物の
暴露調査に関する基礎的研究

平成19年度 総括・分担研究報告書
(課題番号：H17-食品-003)

主任研究者 五十君 静信
国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部

厚生労働科学研究費補助金

食品の安心・安全確保推進研究事業

乳幼児食品中の有害物質及び病原微生物の
暴露調査に関する基礎的研究

平成19年度 総括・分担研究報告書

(課題番号：H17-食品-003)

主任研究者 五十君 静信

国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部

乳幼児食品中の有害物質及び病原微生物の暴露調査に関する基礎的研究研究班

平成19年度 研究組織

主任研究者

五十君静信 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部

分担研究者

米谷 民雄 国立医薬品食品衛生研究所 食品部

吉池 信男 国立健康・栄養研究所 国際産学連携センター

協力研究者

豊福 肇 国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部

長岡 恵 国立医薬品食品衛生研究所 食品部

伊佐川 聡 (財)日本食品分析センター 大阪支所

吉田 泉 (財)日本食品分析センター 大阪支所

岡田由美子 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部

朝倉 宏 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部

石和 玲子 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部

影山亜紀子 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部

天野富美夫 大阪薬科大学 薬学部

成瀬友夏里 大阪薬科大学 薬学部

田村 愛 大阪薬科大学 薬学部

荻原 博和 日本大学 生物資源科学部

露木 朝子 日本大学 生物資源科学部

古川 壮一 日本大学 生物資源科学部

森永 康 日本大学 生物資源科学部

三好 美紀 国立健康・栄養研究所 国際栄養プロジェクト

石脇亜紗子 国立健康・栄養研究所 国際栄養プロジェクト

事務および経理担当者

二瓶 幸一 国立医薬品食品衛生研究所 総務部

吉岡 宏美 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部

目 次

I. 総括研究報告書

総括研究報告書概要版	1
乳幼児食品中の有害物質及び病原微生物の 暴露調査に関する基礎的研究	3
五十君 静信	

II. 分担研究報告書

1. 乳幼児食品中の有害化学物質の分析に関する研究	13
米谷 民雄、長岡 恵、伊佐川 聡、吉田 泉	
2. 乳幼児食品中の病原微生物に関する研究	21
五十君 静信、岡田 由美子、朝倉 宏、石和 玲子、荻原 博和、 天野 富美夫、成瀬 友夏里、田村 愛、豊福 肇	
(1) 乳幼児調整粉乳の調乳および保管方法が <i>Enterobacter sakazakii</i> の生残と 推移に及ぼす影響	25
荻原 博和	
(2) <i>E. sakazakii</i> 菌の乳製品汚染とその対策に関する研究	41
天野 富美夫	
(3) 市販乳児用調整粉乳の <i>E. sakazakii</i> 汚染実態調査	47
五十君 静信、影山 亜紀子	
(4) 海外情報・文献情報	55
豊福 肇	
3. 乳幼児の食品摂取量調査のための基礎研究	57
～NICUにおける乳幼児粉乳の調整・管理の現状分析～ 吉池 信男、三好 美紀、石脇 亜紗子	

総括研究報告書概要版（webにて公開）

研究年度：平成19(2007)年度

研究課題：乳幼児食品中の有害物質及び病原微生物の暴露調査に関する基礎的研究

文献番号：200734003A

研究分野名：健康安全確保総合研究

研究事業名：食品の安心・安全確保推進研究

主任研究者氏名：五十君 静信

所属機関名：国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部

研究目的：

これまで、食品からの有害化学物質等の成人の摂取量調査は実施されてきたが、成人とは著しく異なる食品摂取をする乳幼児に対して系統的な摂取量調査は行われていない。乳幼児は、一般に成人よりも化学物質や有害微生物に対する感受性が高く、成人の調査結果を外挿することは適当でないと思われる。本研究は、調製粉乳、ベビーフードなどの乳幼児用食品について、摂取時期・摂取量の把握を行い、乳幼児における食品からの有害化学物質の摂取量や有害微生物等への暴露の可能性を把握し、乳幼児が摂取する食品の安全対策を進めるための基礎的データの収集を行うと共に、それぞれの暴露リスクの検討を試みることを目的とする。

研究方法：

有害化学物質：市販乳幼児食品中の実態調査を行った。無機化合物の無機ヒ素は、水素化物変換ーコールドトラップー原子吸光法により定量した。有機化合物のフランはヘッドスペースーGC/MS法を用い、不均質な固体試料は氷冷下ホモジナイズし、均質化して定量した。

有害微生物：エンテロバクター・サカザキを中心に研究した。FDA法に準じたMPN法により、市販調製粉乳の汚染実態調査を行った。本菌感染症例の現地調査、分離菌株の細菌学的分析、調製粉乳の調乳および管理における本菌の制御方法の検討を行った。

摂取量調査：乳幼児食品の摂取量は、関連文献及び、国民健康・栄養調査のデータを活用した。乳幼児2,400名を対象とする乳幼児の食生活に関する全国実態調査のデータを用い

て解析を行った。乳児用粉乳の調整・管理はアンケート調査により NICU を持つ病院の実態を調査した。

研究結果と考察：

有害化学物質：無機ヒ素で、やや高い値の乳幼児用食品があったが、摂取量推定から、問題ないレベルの汚染と結論した。フランは乳児用食品の一部で比較的高値を示したが、存在量と毒性から、リスクは低いと推定された。

有害微生物：エンテロバクター・サカザキは、市販の乳児用調製粉乳からわずかであるが検出された。国内で 1 例本菌による新生児脳炎が確認されたが、感染経路は特定できなかった。調製粉乳は 70℃の高温水で調乳することにより感染の恐れは低減される。

結論：

乳幼児の食品摂取量調査結果を合わせて有害化学物質や有害微生物に関し、それぞれの暴露リスクの検討を試みた。検討した有害物質については高いリスクは認められなかった。有害微生物対策に乳児用調製粉乳は 70℃の高温調乳が有用である。

研究主分野	0706	社会基盤	有害危険・危惧物質等安全対策
研究副分野	0103	ライフサイエンス	食料科学・技術
” 2	0605	製造技術	品質管理・製造現場安全確保
研究キーワード 1	0 2 4	食品	
” 2	0 1 4	微生物	
” 3	0 3 3	感染症	
” 4	0 8 2	有害化学物質	

応用研究

平成19年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）

乳幼児食品中の有害物質及び病原微生物の暴露調査に関する基礎的研究

総括研究報告書

主任研究者 五十君静信 国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部

研究要旨：

一般に乳幼児は化学物質や病原微生物に対する感受性が高く、また、成人とは食品摂取内容が異なることから、乳幼児の化学物質や病原微生物への暴露量評価は、成人とは別途行う必要がある。そこで、乳幼児における暴露量評価手法を検討し、分析が必要と考えられるいくつかの有機化合物、無機化合物および病原微生物に着目し、その分析法や検査法を確立し、さらに暴露量評価手法に基づいて、測定や検出を試みた。無機化合物として無機ヒ素を、有機化合物としてフランを取り上げ検討してきた。乳幼児食には不飽和脂肪酸や鉄などの有用成分を含有させる目的で魚介類やヒジキなどを加えることが多いが、これらは総ヒ素量が非常に高い。そこで今年度は、米・魚介類を多く含む乳幼児食中のヒ素の形態別分析を行い、毒性の高い無機ヒ素量を正確・精密に分析し、摂取量の評価を行った。魚を含む米飯食 36 検体、魚を含まない米飯食 42 検体、魚介類入りおかずもの 13 検体を分析したところ、無機ヒ素摂取量は 1 食あたり 0.1~2 µg/と低い値であることがわかった。一方、フランについては、これまで調整粉乳、特別用途乳児用調整粉乳などにつき分析してきたが、今年度はインスタント食品や飲料を中心に分析を行った。その結果、特に高濃度のフランが含まれるものは見られなかった。有害微生物としては、近年乳幼児用調製粉乳を介するエンテロバクター・サカザキ (*Enterobacter sakazakii*) による健康被害の発生が諸外国で報告されており、わが国における乳幼児への暴露の実態は不明である *E. sakazakii* を中心に研究を進めた。市販の乳児用調製粉乳およびその関連食品 100 検体について汚染実態を調査を行った。これまでの研究により得られた本菌分離菌株の性質を細菌学的、分子遺伝学的手法により解析し、本菌が耐熱性に関し 3 群に分けられることから、そのそれぞれの代表菌株につき、乳児用調製粉乳 (PIF) 調乳時に 70°C 以上の高温水

使用の有用性を評価した。PIFの本菌制御方法として、ラクトフェリンの有用性について検討した。本菌を原因とする乳児における感染事例一例を確認したことから、その症例報告をお願いした。これまで乳幼児が日常的に摂取する調製粉乳やベビーフード、その他の食品の摂取状況を把握することにより、各食品の個別的な暴露量試算を行うための基礎データを提供した。更に、乳幼児における暴露評価にあたって、乳児用調製粉乳摂取の状況に着目することは重要である。そこで、医療機関における調整粉乳の調整・管理の実態を把握するために全国の新生児集中治療室(NICU)を有する施設を対象にアンケート調査を行った。その結果、施設によって調乳に関わる品質管理・衛生環境の推奨基準にかかわる状況にばらつきのあることがわかった。また、2007年にWHOが刊行した「乳児用調製粉乳の安全な調乳、保存及び取扱いに関するガイドライン」の周知・活用状況も十分とはいえない。乳幼児における食品安全の観点からも、調乳の系統的なシステムづくり強化が必要であると考えられた。乳幼児食品における海外および国内の情報収集を行った。

分担研究者：

米谷 民雄：国立医薬品食品衛生研究所
食品部

吉池 信男：国立健康・栄養研究所
国際産学連携センター

A. 研究目的

食品からの有害化学物質等の成人の摂取量調査は実施されてきたが、異なる食品摂取をする乳幼児に対して系統的な摂取量調査は行われていない。乳幼児は、一般に化学物質や有害微生物に対する感受性が高く、成人の調査結果を外挿することは適当でない場合が想定される。本研究では、乳幼児における食品からの有害化学物質や有害微生物等の摂取量を把握し、乳幼児が摂取する食品の安全対策

を進めるための基礎的データの収集を目的とする。

B. 研究方法

有害化学物質の検討

①無機ヒ素

魚を含む米飯食 36 検体、魚を含まない米飯食 42 検体、魚介類入りおかずもの 13 検体を、都内のスーパーにて購入した。これら 91 品目を凍結乾燥したのち粉碎し、均質化後、分析を行った。使用機器、前処理及び分析方法については、分担報告書に示す。

②フラン

昨年度確立した、検量線法によるヘッドスペース-GC/MS 法により分析した。市販のインスタント乳幼児食、インスタント食

品(カップ麺及びスープの素)、調味料、飲料(果汁および野菜飲料、茶類および牛乳)、計 60 製品を購入した。使用機器、前処理及び分析方法については、分担報告書に示す。なお、実際の分析は、(財)日本食品分析センターに委託して行った。

有害微生物の検討

③有害微生物情報収集

有害微生物については、海外文献情報、2007 年の乳児用調製粉乳中の *Salmonella* および *E. sakazakii* 専門家会合のネットワークを活用して、健康被害の発生状況を調べた。また、EC の食品および飼料中のための RAPID ALERT SYSTEM 情報から *E. sakazakii* に関連した食品の回収情報を調査した。カナダで開催された調製粉乳の微生物規格作成に関する CODEX 作業部会に出席し、微生物基準作成に関わるとともに、各国が実施しているリスク管理措置等に関する情報収集を行った。国内の乳児への感染事例に関して、現地調査を行うとともに、確認された症例については担当医師に症例報告を依頼した。

④ *E. sakazakii* 汚染調査

E. sakazakii については、国内の乳児用調製粉乳およびその類似食品を対象とし、前年度同様 FDA 法に準じた方法で定量的な汚染実態調査を行った。

⑤調製粉乳汚染の制御方法検討

E. sakazakii の分離株を用いて、PIF の

調乳条件における *E. sakazakii* の挙動を調べ、調乳方法による *E. sakazakii* の制御方法を検討した。粉乳中の *E. sakazakii* の制御に有効と思われるラクトフェリンの効果について評価を行った。

摂取量調査と危害分析

⑥有害化学物質摂取量推定

国民健康・栄養調査方式の食事調査(秤量記録法)を春・夏・秋・冬の1年4季節で実施した。調査地区は平成16年~18年に調査協力が得られた19都道府県21の市町村であり、各地域で25~30世帯を調査世帯とした。各季節平日2日と休日1日を含む連続しない3日間について調査を行った。対象者は、1~2歳の男女99名(データ数99×3日間=297ds)。解析は、a)3日間調査のうち、摂取した日数および人数を求めた。b)3日間の平均摂取量を算出し、摂取者のみの分布(粗摂取量・体重あたり摂取量)を示した。

⑦アンケートによる新生児集中治療室(NICU)全国調査

新生児医療連絡会に加盟する全国主要NICU 202施設に、乳児用調製粉乳に関するアンケート調査を行った。依頼文書、質問紙および返信用封筒を送付し、郵送により回答を得た(2008年2月実施)。今回の調査では、回答に施設名・回答者名は記入せず、施設を特定しない形で集計を行った。本調査実施に先立って、独立行政法人国立

健康・栄養研究所研究倫理委員会（疫学関係）の承認を得た。また、依頼文書に質問紙への回答と返信をもって調査協力に同意したものとみなす旨を記載した。尚、詳しい研究方法については、分担報告書に記載した。

C. 研究結果

有害化学物質の検討

①無機ヒ素

採用した方法ではヒ素化合物が無機ヒ素にまで分解されないようにするため、110℃以下で試料調製を行うため、必然的に未分解の有機物が多く残り、ヒ素の分析を妨害する可能性が考えられる。特に乳幼児食には栄養成分としてヒジキや魚介類などが添加されることが多いため、まず、昨年と同様ヒジキを含む乳幼児食を用い、ヒ素の抽出率を求め、マトリックスの影響により、抽出率が阻害されるか否かについて検討した。ヒジキを含む26品目中24品目の抽出率は75%以上であり、良好な抽出率が得られた。やや抽出率の低い2品目は、食品中に油分や練製品を含み、マトリックスの影響によりヒ素の抽出が妨げられる可能性が考えられた。

魚を含む米飯食36検体、魚を含まない米飯食42検体で無機ヒ素摂取量は0.1~2 µg/1食と低値であった。大部分の製品では無機ヒ素の濃度および1食による無機ヒ素

の摂取量は低いと考えられた。

②フラン

フラン分析は、インスタント食品の乳幼児食及び、乳幼児が食する可能性がある飲料、計60製品について検討した。インスタント食では、乾燥ベビーフードで最高49ppb（ただし1袋4g）、カップ麺で最高40ppb（めん60g→2.4 µg）であった。飲料では、麦茶で21ppb（350mL→7 µg）、牛乳は全て検出限界以下であった（0.2ppb未満）。フランについては、現在Codexがデータ収集中であるが、今のところ、有害な影響を引き起こす量よりもかなり低いと考えられる（FDA）

有害微生物の検討

③有害微生物情報収集

2007年6月にカナダのオタワで開催された“乳児用調製粉乳の微生物基準作成に関するCodex Committee on Food Hygiene (CCFH)作業部会”に参加し、*E. sakazakii*と*Salmonella*の微生物基準案作成に関わった。2007年10月~11月に、インド・ニューデリーにおいて開催されたコーデックス第39回食品衛生部会（CCFH）において、乳幼児用調製粉乳に関する衛生実施規範等に関する文書に関する議論に参加した。

2007年にCDCに報告された*E. sakazakii*の患者は、乳児7人、13ヶ月齢の幼児1人の合計8人であった。このうち乳児では4人が、幼児1人が幼児用

調製粉乳 (PIF) を飲用していた。4 事例について、PIF 製品を検査したが、FDA が検査した未開封缶からはすべて *E. sakazakii* は不検出であったが、1 事例において、開封済みの PIF から、患者と同じ *E. sakazakii* が検出された。

ドイツにおいて 2007 年 6 月、ドイツ PIF が *E. sakazakii* 汚染により、回収され、アラートが発せられた。また、2007 年 5 月ウガンダから英国へ輸入された大豆ベースの PIF が *E. sakazakii* 汚染により、販売ルートから撤去された。

2007 年に、インドから 2 人の乳児の *E. sakazakii* 感染が論文として報告された。1 人は 2002 年、早産 (34 週齢) で生まれた未熟児の低体重児 (1.4kg) で、三つ子の 1 人であり、髄膜炎と敗血症を起こし死亡した。もう 1 人は 2006 年、2 ヶ月齢の母乳を飲んでいて乳児が敗血症を起こした。抗菌剤の静脈投与により、回復し退院した。

国内で、*E. sakazakii* による多発性脳膿瘍をきたした極低出生体重児の感染事例を確認した。この事例については、症例を担当した医師および病院関係者と面会し、聞き取りによる PIF の管理・調乳状況に関する調査を行った。PIF からの感染の可能性は低く、感染経路は特定されなかった。担当医師には、この事例を症例報告としてまとめていただいた。

④ *E. sakazakii* 汚染調査

2007 年度も、前年度と同様に市販の PIF 及び類似食品で汚染実態調査を行った。100 検体のうち 2 検体から本菌が検出された。2 検体はいずれも検出限界値であった。

⑤ 調製粉乳汚染の制御方法検討

国内の PIF 製造工場では、それぞれの製造工場により多少異なるが、海外で本菌の混入の原因となると指摘されている、粉と粉を単純に混ぜ合わせ最終製品を作り上げる製造フローは、改善されていた。PIF 各成分を溶解混和後、加熱処理を行った後、乾燥を行っている。製造工場によっては、一部の原材料を粉として加える工程が残っているが、この場合においても、それぞれの原材料に対する製品管理が徹底されていた。

各種食品から分離された *E. sakazakii* の昨年度までの細菌学的な解析により、分離株はその特徴により 3 つのクラスターに分けることが出来た。60℃の加熱に比較的抵抗性のあるグループ、中程度、抵抗性が低い 3 つのグループであるが、それぞれの代表株を選び、PIF を調乳する段階の条件について検討を行った。WHO の示している 70℃以上の温水による調乳が有効であることを確認した。詳しいデータは協力研究報告書に示した。

PIF 中の菌の制御については、LB 培地

中での乾燥時に lactoferrin を添加し、乾燥終了後の菌の生残性を調べた。lactoferrin 自体には ES 菌の乾燥耐性を補助するような栄養因子的な役割はなかったのにもかかわらず、lactoferrin の用量依存的に *E. sakazakii* ESC1#1 株の乾燥耐性が低下した。これと同様の結果が apolactoferrin の添加によっても観察され、本菌の乾燥耐性を低下させることが示された。

摂取量に関する調査と危害分析

⑥有害化学物質摂取量推定

国民健康・栄養調査は1日間の調査であり習慣的な“多食者”の把握が出来ないことから、他の調査データを用いて3日間の摂取頻度及び摂取量を検討した。摂取量解析としては、ひじきを対象食品とした。国民健康・栄養調査(1日)の検討では、1歳児では成人と比較して、体重kg当たりの摂取量分布が高値であった。保育所等では、鉄分の給源としてひじきが多用されることもあり、習慣的に高い摂取量となる可能性も考えられた。しかし、今回の3日間の調査結果では、3日のうち2日摂取している者は4%程度であり、摂取者においても3日平均の摂取量は、95%tileで1.30g/kg/dayとそれほど高くないことがわかった。

⑦アンケートによるNICU全国調査

対象施設の特性：質問紙を送付した202施設のうち、102施設から回答が得られた

(回答率：50.5%)。NICU内病床数は10-29床の施設が半数を占めた。NICUに入院する乳児数はNICUの規模に左右されるが、年間約200-300人の施設が最も多く、また入院児のうち1500g未満の未熟児の割合が15%以上の施設が6割を占めた。

NICUにおけるPIFの使用状況は、「母乳が利用できない場合に限定」する施設と「低出生児体重用ミルクを含めてよく用いる」施設とに大きく分かれ、前者が60.8%、後者が35.3%であった。NICUで使用するPIFの調乳を行う場所(複数回答)は、栄養管理室の調乳専用室が最も多く(n=74)、続いてNICU内または隣接する調乳専用室(n=28)、NICU内(n=8)であった。

調乳用の湯の温度は、約半数の施設が推奨されている70℃以上としていた。いずれの設定温度の場合でも、一度、煮沸して冷ました湯が使われている。冷蔵庫での保管の温度は、4-5℃が過半数であったが、調乳用の湯の温度と同様に施設によってばらつきがみられた。

2007年に出されたWHOガイドライン「乳児用調製粉乳の安全な調乳、保存及び取扱いに関するガイドライン」の周知・使用状況を尋ねた結果、31施設が現在、病院施設管理や患者指導に活用している一方で、56施設が「活用していない」又は「知らない」と回答した。

D. 考察

有害化学物質の検討

①ヒ素

今回検討した、米飯もの魚介類入り 36 検体、米飯もの魚介類なし 42 検体、魚介類入りおかずもの 13 検体の乳幼児食について調べたところ、無機ヒ素摂取量の最高値は 2.1 $\mu\text{g}/1$ 食であった。

無機ヒ素の PTWI は 0.015 mg/kg 体重/week (2.14 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/day に相当) である。平成 12 年度乳幼児身体発育値によると、1 歳児の体重は男児で 7.6~11.2 kg、女児で 7.2~10.5 kg である。JECFA の PTWI をそのまま 1 歳児にも適用すると、16.3~24.0 $\mu\text{g}/1$ 歳男児/day、15.4~22.5 $\mu\text{g}/1$ 歳女児/day と算出される。昨年度最も高い値を示した乳幼児食 (1 食あたりの無機ヒ素摂取量 22.1 μg) を毎日継続摂取した場合にはほぼ PTWI に相当するため、バランスのよい食事を与えることが必要と考えられたが、今回検討した中で、1 食あたりの無機ヒ素摂取量は 2.1 $\mu\text{g}/1$ 食であり、PTWI に相当することはないと判断された。

②フラン

分析の結果、乳幼児食(インスタント食品)では乾燥ベビーフードで 49, 25ppb のフランが検出された。一方、インスタント食品(カップ麺及びスープの素)においても 40, 34ppb という濃度が検出された。調味料においては最高値は 33ppb であった。

一方、飲料(果汁及び野菜飲料、茶類および牛乳)については、果実ミックスジュース(濃縮還元)で 35ppb、麦茶で 21ppb の高値が認められたが、牛乳(紙パック)では全て検出下限 (0.2ppb) 以下であった。

このように、いくつかの品目で若干高いフラン濃度が観測されたが、フランの値が高くなる要因については明確にならず、フラン生成の機序については、今後の検討課題として残った。

なお、フランのリスク評価については、食品安全委員会において現在、「食品に含まれるフランに関する安全性評価に資する情報収集調査」が実施されている。

有害微生物の検討

③有害微生物情報収集

国内の症例においては、PIF の利用が非常にわずかな期間であったこと (PIF 利用は 2 日程度で、母乳を用いていた)、当該病院では PIF は 80°C 以上の温水にて調乳を行いその後の管理が徹底されていたことなどから、PIF からの感染の可能性は低く、感染経路は特定できなかった。

④*E. sakazakii* 汚染調査

国内の市販 PIF の 100 検体を対象とした汚染実態調査では、2 検体から *E. sakazakii* が検出された。2 検体とも、缶入りの PIF で、MPN 法の検出限界値 0.36/100g であった。前年度は 100 検体中 4 検体検出 (缶入り PIF1、小袋 PIF1、関連食品 2) さ

れていたことから、全体の検出率は半減した。検出レベルは前年度も検出限界値であったことから、検出された場合の汚染レベルは変わっていない。

⑤調製粉乳汚染の制御方法検討

調乳に使用する湯温は WHO の推奨する 70℃以上を保ち調製することが、*E. sakazakii* の死滅に有効であった。耐熱性の高い菌株で非常に高い菌数の汚染を受けている場合では、70℃調乳で菌を完全に死滅させることは難しいが、汚染実態調査により国内の PIF の汚染レベルは、非常に低いこと（100g 中に 1 個未満）および、高温水を扱うことのやけどによるリスクを考えると 70℃調乳は有効なリスク管理オプションであると考えられる。さらに調乳後の保管を行う場合は 5℃以下で保存し、長時間の保管は避けることが重要である。

摂取量に関する調査

⑥有害化学物質摂取量推定

ひじきに関する国民健康・栄養調査（1 日）の検討では、1 歳児では成人と比較して、体重 kg 当たりの摂取量分布が高値であった。保育所等では、鉄分の給源としてひじきが多用されることもあり、習慣的に高い摂取量となる可能性も考えられた。しかし、今回の 3 日間の調査結果では、3 日のうち 2 日摂取している者は 4%程度であり、摂取者においても 3 日平均の摂取量は、95%tile で 1.30g/kg/day とそれほど高く

ないことがわかった。従って、偏食による極端な多食がなければ、大きな問題とはならないと思われる。

⑦アンケートによる NICU 全国調査

アンケート結果から、専門施設の医師においても、WHO ガイドライン（及び厚生労働省からの通知文書）の周知は必ずしも十分ではなく、PIF の管理状況（例：調乳の湯の温度）も施設間のバラツキが多そうである。従って、今後、*E. sakazakii* に関する情報提供やその危害に関する啓蒙及び 70℃以上の高温水による PIF 調乳法の周知徹底が必要と思われる。

E. 結論

有害化学物質の分析では、今年度は米・魚介類を多く含む乳幼児食中のヒ素の形態別分析を行い、毒性の高い無機ヒ素量を正確・精密に分析し、摂取量の評価を行った。魚を含む米飯食、魚を含まない米飯食、魚介類を含むおかずものでは 0.1~2.1 µg/1 食と、無機ヒ素摂取量は低いことが明らかとなった。

フランに関しては、食材と加工方法によりフランの生成量に大きな差があるが、原因については今後の課題として残された。3 年前に研究を着手した当時はフランが第二のアクリルアミドになる可能性があり、注目されたが、最近では毒性および摂取量がアクリルアミドほどではないと考えられて

いる。しかし、最終的な結論は未だでておらず、国内外で研究データを収集中である。

乳幼児食品中の有害微生物として *E. sakazakii* の症例に関する情報収集を続け、国内における 1 事例の多発性脳膿瘍をきたした極低出生体重児の一例を確認した。この事例では PIF による感染の可能性は低く感染経路の特定は出来なかった。本年度も市販の乳児用調製粉乳の汚染実態調査では、わずかではあるが本菌が検出された。

分離株を用いた PIF の調乳条件の検討により、WHO ガイドラインで推奨されている 70°C 以上の高温水による調乳は *E. sakazakii* 制御に有効であることが確認された。

有害化学物質の摂取量に関する調査では、離乳食に関する全国実態調査および国民健康・栄養調査のデータを用いた二次解析の結果、各食品の摂取時期および摂取量の分布の特徴が明らかになった。

全国の新生児集中治療室 (NICU) を有する施設を対象にアンケート調査を行った結果、医療機関における調整粉乳の調整・管理の実態および「乳児用調製粉乳の安全な調乳、保存及び取扱いに関するガイドライン」の周知・使用状況を把握することができた。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Yoshida, S. Isagawa, N. Kibune, Hamano-Nagaoka M and T. Maitani: Rapid and improved determination of furan in baby foods and infant formulas by headspace GC/MS. J. Food Hyg. Soc. Japan 48, 83-89 (2007)
- (2) Nagaoka M.H., Hanaoka K., Usui M., Nishimura T., Maitani T.: Nitric Acid-based Partial-digestion Method for Selective Determination of Inorganic Arsenic in Hijiki and Application to Soaked Hijiki, J. Food Hyg. Soc. Japan, 49, in press (2008)
- (3) Nagaoka M.H., Nishimura T., Matsuda R., Maitani T.: Evaluation of a Nitric Acid-based Partial-digestion Method for Selective Determination of Inorganic Arsenic in Rice, J. Food Hyg. Soc. Japan, 49, in press (2008)
- (4) Asakura H., Morita-Ishihara T., Yamamoto S., and Igimi S. (2007) Genetic characterization of thermal tolerance in *Enterobacter sakazakii*. Microbiol. Immunol. 51(7): 671-677.
- (5) 五十君静信、朝倉宏. (2007) 乳児用調製粉乳中の *Enterobacter sakazakii* による感染。食品衛生学雑誌。48(3):J-229-233。

2. 学会発表

- (1) Megumi Hamano Nagaoka and Tamio Maitani: Efficient extraction and determination of inorganic arsenic in baby foods containing seaweed and fish, 3rd. International FESTEM (Federation of European Societies on Trace Elements and Minerals) Symposium on Trace Elements and Minerals in Medicine and Biology (Santiago, Spain) (2007. 5)
- (2) 長岡(浜野)恵 米谷民雄: ヒジキを含有する乳幼児食中のヒ素の無機ヒ素の定量 . (Efficient extraction and determination of inorganic arsenic in baby foods containing seaweed

“hijiki”) . 第 18 回 日本微量元素学会学術集会 (福井) (2007. 7)

- (3) Megumi Hamano Nagaoka and Tamio Maitani: Efficient extraction and selective determination of inorganic arsenic in rice. Tenth International Symposium on Hyphenated Techniques in Chromatography and Hyphenated Chromatographic Analyzers (HTC-10) & Tenth International Symposium on Advances in Extraction Techniques (ExTech (R) 2008)) (Bruges, Belgium)

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）
分担研究報告書

乳幼児食品中の有害化学物質の分析に関する研究

分担研究者 米谷民雄 国立医薬品食品衛生研究所 食品部長

研究要旨：乳幼児は化学物質への感受性が高く、また、成人とは食品摂取の内容も大きく異なることから、乳幼児に対しては成人とは別に暴露量を把握しておくことが望ましい。そこで、無機化合物として無機ヒ素を、有機化合物としてフランを取り上げ検討してきた。乳幼児食には不飽和脂肪酸や鉄などの有用成分を含有させる目的で魚介類やヒジキなどを加えることが多いが、これらは総ヒ素量が非常に高い。そこで今年度は、米・魚介類を多く含む乳幼児食中のヒ素の形態別分析を行い、毒性の高い無機ヒ素量を正確・精密に分析し、摂取量の評価を行った。魚を含む米飯食 36 検体、魚を含まない米飯食 42 検体、魚介類入りおかずもの 13 検体を分析したところ、無機ヒ素摂取量は 1 食あたり 0.1～2 µg/と低い値であることがわかった。一方、フランについては、これまで調整粉乳、特別用途乳児用調整粉乳などにつき分析してきたが、今年度はインスタント食品や飲料を中心に分析を行った。その結果、特に高濃度のフランが含まれるものは見られなかった。

研究協力者

長岡 恵 国立医薬品食品衛生研究所
主任研究官

伊佐川聡 (財) 日本食品分析センター
大阪支所

吉田 泉 (財) 日本食品分析センター
大阪支所

A. 研究目的

乳幼児は化学物質への感受性が高いことが知られている。従来から有害化学物質の暴露量については国民平均の値としては調査されてきているが、乳幼児は成人とは食品摂取の内容も大きく異なることから、乳幼児に対しては別途、暴露量（摂取量）を把握しておく必要がある。そこで、乳幼児における食品からの有害

化学物質暴露量の評価法を検討し、さらに、最近問題となっている化学物質のいくつかについて、実際に暴露量の評価を行うことにした。

対象としては、無機化合物としては JECFA が PTWI を設定しており、最近ヒジキで問題となった無機ヒ素、有機化合物としては米国 FDA が健康影響を調査すると発表¹⁾したフランを取り上げた。昨年度は初年度に確立した分析法を若干改良し、実試料として、無機ヒ素の場合はヒジキを含む乳幼児用食品について、フランの場合は、特別用途の乳児用調整粉乳、妊産婦・授乳婦用粉乳、高齢者用食品、病者用食品について、分析を行った。

乳幼児食には、不飽和脂肪酸や鉄などの有用成分を含有させる目的で魚介類やヒジ

キなどを加えることが多いが、これらは総ヒ素量が非常に高い。そこで、今年度は、米・魚介類を多く含む種々の乳幼児食製品について、ヒ素の形態別分析を行い、毒性の高い無機ヒ素量を正確・精密に把握することを目的とした。一方、フランについては、今年度はインスタント乳幼児食品や飲料を中心に分析を行った。

B. 研究方法

①無機ヒ素

1) 装置

形態別ヒ素分離システム：島津 ASA-2sp、原子吸光分光光度計：サーモエレメンタル SOLAAR M5

HR-ICP-MS：二重収束型高分解能誘導結合プラズマ質量分析装置 (HR-ICP-MS): ELEMENT (Finnigan MAT, Germany),

<測定条件> RF power: 1.2 kW, coolant gas: 15 L/min, auxiliary gas: 0.89 L/min, sample gas: 1.1 mL/min, mass resolution ($m/\Delta m$): 10,000, scan type: E-scan, counting time on each isotope per scan: 0.05 s, total counting time on each isotope: 30 s, detection mode: counting, measured mass: As ($m/z=74.9216$).

2) 試料

魚を含む米飯食 36 検体、魚を含まない米飯食 42 検体、魚介類入りおかずもの 13 検体を、都内のスーパーにて購入した。これら 91 品目を凍結乾燥したのち粉碎し、均質化後、分析を行った。

3) 分析方法

乳幼児食からの無機ヒ素抽出の際、食

品中の有機ヒ素が無機ヒ素にまで分解されないよう、以下の通りに前処理を行った。

乳幼児食試料 0.2 g を 100 ml トールビーカーに採り、高純度濃硝酸 (TAMAPURE AA-100、68%) 5 ml を添加し、時計皿で覆い、2 時間加熱した。溶液の色が透明あるいは薄黄色であることを確認し、液量が約 1 ml になるまで時計皿を外して加熱を続けた (目安として約 10 分)。ついで過塩素酸を 1 ml 添加して加熱を続け、液量が 1 ml になるまで加熱し (目安として約 30 分)、十分に過塩素酸の白煙を確認した後、再び過塩素酸を 1 ml 添加して、硝酸が完全に残存しなくなるよう液量が約 1 ml になるまで加熱した。冷後、milliQ 水で 10 ml に定容として分析用溶液とした。なお、硝酸のみで加熱する際の加熱装置の温度は 150°C に設定した (実際のビーカー中の溶液の温度は 110–120°C であった (硝酸の沸点は 122°C))。過塩素酸 (沸点は 203°C) 添加時の加熱装置の温度は 130°C (実際のビーカー中温度は約 110°C) に設定し、加熱中の溶液の温度が 110°C を超えないように注意した。

ヒ素の分別定量には水素化物変換-コールドトラップ-原子吸光法 (HG-CT-AAS 法) を用い、総ヒ素 (Total As) の値は、無機ヒ素 (iAs)、モノメチルアルソン酸、ジメチルアルシン酸 (DMAA)、トリメチルアルシンオキシドの各ピーク面積の総和とした。

②フラン

昨年度と同様に、検量線法によるヘッドスペース-GC/MS 法により分析した。なお、実際の分析は、(財) 日本食品分析センターに委託して行った。

1) 装置及び器具

ヘッドスペースサンプラー：

7694(Agilent)、GC/MS 分析計：

6890N/5973N(Agilent)

2) 試料

市販のインスタント乳幼児食、インスタント食品(カップ麺及びスープの素)、調味料、飲料(果汁および野菜飲料、茶類および牛乳)、計60製品を購入した。

3) 分析方法

3-1) 試薬

フラン標準品(ALDRICH)、フラン-d₄ (C/D/N ISOTOPES)、メタノール(残留農薬・PCB試験用)(和光純薬(株))

3-2) 標準溶液の調製

ヘッドスペース用バイアルにメタノールを20.0 ml採取してセプタムで密栓した後、秤量した。次いで、マイクロシリンジを用いてセプタムからフラン標準品を50 µl注入し秤量した。これらの秤量値の差を全液量20.05 mlで除した値を求め、得られた濃度を2.5 mg/ml標準原液の正確なフラン濃度とした。ヘッドスペース用バイアルに精製水20.0 mlを採取して密栓した後、フラン標準原液をセプタムから40 µl注入し、5 µg/mlのフラン標準溶液を調製した。標準溶液の正確な濃度は標準原液からのフラン採取量(µg)を全液量20.04 mlで除した値より求めた。5 µg/mlのフラン標準溶液をヘッドスペース用バイアル内で精製水を用いて希釈し、密栓して0.5 µg/mlのフラン標準溶液を調製した。

また、内標準物質のフラン-d₄を用いて同様に操作し、2.5 mg/mlの内標準原液及び5 µg/mlの内標準溶液を調製した。

3-3) 検量線の作成

ヘッドスペース用バイアルに塩化ナトリウム4 gを入れ、80°Cで30分以上加熱後、汚染のない場所で冷却した。このバイアルに精製水10 mlを加え、セプタムで密栓した後、5 µg/mlの内標準溶液を10 µlずつセプタムからマイクロシリンジで注入した。次いで、0.5及び5 µg/mlのフラン標準溶液の2~50 µlを注入し、1~200 ngの標準溶液を調製した。

各標準溶液についてその気相部分をヘッドスペース-GC/MS(以下[HS-GC/MS]と略す。)に注入した。得られたフラン及びフラン-d₄のピーク高比と標準溶液中のフラン重量の関係から検量線を作成した。

3-4) 分析操作

試料はあらかじめ4時間以上冷蔵庫で冷却したものを使用した。

不均質な試料については未開封のまま木づちで叩いて粉碎し均質化した。ただし、カップ麺については開封後ポリ袋に移して木づちで叩いて均質化した。

ヘッドスペース用バイアルに塩化ナトリウム4 gを入れ、80°Cで30分以上加熱後、氷中で冷却した。このバイアルに冷却した試料0.5~4 gを秤量し、精製水を加えて10 mlとして、素早くセプタムで密栓した。試料秤量後から密栓するまでは、バイアルを氷中に置いて操作した。次いで、5 µg/mlの内標準溶液を10 µlずつセプタムからマイクロシリンジで注入し試験溶液とした。

各試験溶液についてその気相部分をHS-GC/MSに注入した。得られたフランおよびフラン-d₄のピーク高比と3-4)で得られた検量線から試料中のフランを定量した。

3-5) HS-GC/MS操作条件

ヘッドスペースサンプラー操作条件

オープン温度：60℃、バイアル加熱時間：30 min、ループ温度：100℃、トランスファーライン温度：130℃、加圧時間：0.3 min

GC/MS操作条件

カラム：DB-WAX(Agilent、φ 0.25 mm × 60 m、膜厚 0.25 μm)、導入系：スプリット(1:40)、温度：試料注入口 200℃、カラム 40℃、ガス流量：ヘリウム(キャリアガス) 1 ml/min、イオン源温度：230℃、イオン化電圧：70 eV、イオン化法：EI、設定質量数：*m/z* 68、39、*m/z* 72(内標準物質)

C. 研究結果

①無機ヒ素

採用した方法ではヒ素化合物が無機ヒ素にまで分解されないようにするため、110℃以下で試料調製を行うため、必然的に未分解の有機物が多く残り、ヒ素の分析を妨害する可能性が考えられる。特に乳幼児食には栄養成分としてヒジキや魚介類などが添加されることが多いため、まず、昨年と同様ヒジキを含む乳幼児食を用い、ヒ素の抽出率を求め、マトリックスの影響により、抽出率が阻害されるか否かについて検討した。すなわち試料前処理溶液(抽出溶液)中の総ヒ素量を

通常の方法にて定量し、総ヒ素量に対する割合(%)を抽出率とした。抽出溶液は過塩素酸を高濃度に含むことから、抽出溶液中のヒ素を測定する目的で、抽出溶液を通常のICP-MSに導入する場合には、⁷⁵Asと⁴⁰Ar³⁵Cl⁻とが区別して定量できないため、ヒ素の値が高く見積もられてしまう。そこでHR-ICP-MSに抽出溶液を導入し、⁷⁵Asを選択的に定量した。

表①-1にヒジキ入り乳幼児食品抽出液中の無機ヒ素と総ヒ素濃度、抽出率、1食あたりの無機ヒ素と総ヒ素の摂取量を示した。ヒジキを含む26品目中24品目の抽出率は75%以上であり、良好な抽出率が得られた。No.13の抽出率は74.3%、No.21の抽出率は70.8%と、他の検体の抽出率よりも低かった。No.13は“えび団子入り”、No.21は“油揚げ”と“つくね”を含んでいることから、油分や練製品を含む場合、マトリックスの影響によりヒ素の抽出が妨げられる可能性が考えられた。

表①-2に、米飯もの魚介類入り乳幼児食品試料の無機ヒ素と総ヒ素濃度、および1食あたりの無機ヒ素と総ヒ素の摂取量を示した。無機ヒ素濃度はNo.35で0.1 μg/gを越えた以外はすべて0.1 μg/g以下であった。総ヒ素濃度はNo.5, 15, 31で1.2~1.3 μg/gであった他は、すべて1 μg/g以下であった。なお無機ヒ素摂取量で1食あたり1 μgを超えるものはNo.29, 34, 36の3検体であり、No.29と36で約1.8 μg/1食であったが他は低い値であり、大部分の製品では無機ヒ素の濃度および1食による無機ヒ素の摂取量は低いと考えられた。

表①-3に、米飯もので魚介類が入っていない乳幼児食品について、無機ヒ素と総ヒ