

200704003B

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17-19年度 総合研究報告書
(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17－19年度 総合研究報告書

(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17-19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
豊福 肇 国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部

協力研究者

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. 総合研究報告書

総合研究報告書概要版	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	15
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	47
五十君 静信、岡田 由美子、朝倉 宏、石和 玲子、影山亜紀子 荻原 博和、豊福 肇	
(1) <i>E. sakazakii</i> 菌の乳製品汚染とその対策に関する研究	53
天野 富美夫、成瀬 友夏里、田村 愛	
3. 乳幼児の食品摂取量調査のための基礎研究	63
～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	
III. 研究成果の刊行物・別刷	67

総合研究報告書概要版（webにて公開）

研究年度：平成 17(2005)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：200734003B

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、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い、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：無機ヒ素とフランの試験法を検討し、乳幼児食品中の実態調査を行った。無機ヒ素は、水素化物変換-コールドトラップ-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-GC/MS法を用い、不均質な固体試料は均質化して定量した。有害微生物：海外で問題となっているエンテロバクター・サカザキを中心に研究した。FDA法に準じたMPN法により、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、製造所における汚染経路の解明、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：無機ヒ素とフランの試験法を確立した。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、問題となるレベルではないと結論した。フランは乳幼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。乳幼児期の食品のリスク評価は、我が国ではこれまでに十分に行われておらず、一つのアプローチを示すことができた。

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	024	食品	
〃	2	014	微生物
〃	3	033	感染症
〃	4	082	有害化学物質

応用研究

平成17～19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

総合研究報告書

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、測定や検出を行った。乳幼児の人工乳・離乳食等の摂取に関するデータ収集と分析を行い、乳幼児における有害物質及び病原微生物の暴露に関する危害分析を試みた。

有害化学物質は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た。フランはヘッドスペース GC/MS 法を確立し、市販の調整粉乳ベビーフード等につき、平成17年度41製品、18年度45製品、19年度60製品について調査した。汚染実態は有害な影響を引き起こす量よりもかなり低い結果であった。無機ヒ素は、水素化物発生-コールドトラップ-原子吸光法を新たに開発し、総ヒ素量ではなく、毒性の高い無機ヒ素量の定量を行った。平成17年度試験法を確立し、18年度ヒジキ含有乳幼児食24検体、19年度米飯食78検体を調査した。一部の製品で無機ヒ素摂取量が $10\mu\text{g}/\text{食}$ 以上が検出され、最高値は $22\mu\text{g}/\text{食}$ であった。無機ヒ素摂取 $22\mu\text{g}/\text{食}$ を毎日継続するとほぼPTWI ($0.015\text{mg}/\text{kg}/\text{week}$)に相当する。

幼児におけるヒジキ摂取量の検討から危害分析を行った。幼児におけるヒジキの摂取量分布から、1日単独の摂取量は成人と比べ高値となるが、摂取者の3日間の調査の結果では、3日の内2日摂取しているものは4%程度で、3日平均の摂取量は95%tileで、 $1.30\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ とそれほど高くない。偏食による極端な多食が

なければ、問題とはならないと思われる。製品の種類を変えたり、バランスの良い食事をするのが重要である。

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。平成 17 年度に検査法検討を行い、市販の乳幼児用調製粉乳およびその関連食品について、18 年度 100 検体、19 年度 100 検体について定量的に汚染実態調査を行った。18 年度 4 検体、19 年度 2 検体から分離され、いずれも MPN 法で 0.36/100g の汚染レベルであった。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、乳幼児用調製粉乳 (PIF) 調乳時に 70℃ 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が、調整粉乳との関連は確認されず、感染経路は不明であった。

乳幼児用調製粉乳中のエンテロバクター・サカザキの危害分析を行った。市販調整粉乳から 2-4% 程度の汚染があり、その汚染レベルは 333g あたり 1 個程度であった。このレベルの汚染であれば、70℃ 以上の高温水による調乳の徹底が有効であると思われる。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。

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

豊福 肇：国立医薬品食品衛生研究所
安全情報部

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

ヒジキや米中のヒ素につき、有機ヒ素が無機ヒ素にまで分解されないような硝酸を用いた酸部分分解法を確立し、水素化物変換-コールドトラップ-原子吸光法により無機ヒ素量を求めた。市販乳幼児用食品は凍結乾燥後に粉碎し、均質化して分析に供した。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。

②フラン

内標準物質としてフラン-d4 を用いた検量線法によるヘッドスペース-GC/MS 法を確立し、市販乳幼児用食品の分析を行った。不均質な固体試料は氷冷下ホモジナイズし、均質化して分析した。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、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。

乳児用調製粉乳に関する国際的な会議に参加し、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、平成 17 年度に検討した FDA 法に準じた方法で定量的な汚染実態調査を行った。市販の乳児用調製粉乳およびその関連食品について、18 年度 100 検体、19 年度 100 検体について定量的に汚染実態調査を行った。18 年度 4 検体、19 年度 2 検体から分離され、いずれも MPN 法で 0.36/100g の汚染レベルであった。

⑤調製粉乳汚染の制御方法検討

研究により得られた *E. sakazakii* 分離菌株や標準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℃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。

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。質問内容は、

- a) NICUで使用するPIFの調乳場所
- b) PIFの調乳を行う際の衛生管理やモニタリング状況
- c) PIFの調乳後の保管及び使用状況
- d) 温度管理等の状況
- e) 「乳児用調整粉乳の安全な調乳、保存及び取扱いに関するガイドライン」(2007年WHO/FAO)の認知と活用状況

の5項目である。

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

水素化物発生—コールドトラップ—原子吸光法用の試料調製法の検討を行い、混酸(硝酸+過塩素酸)による部分分解法を採用し、有機ヒ素が無機ヒ素まで分解せず、無機ヒ素はほぼ100%抽出できる条件を確立した。この方法を用いて、ヒジキ含有乳幼児食の調査を行った。無機ヒ素は、水素化物発生—コールドトラップ—原子吸光法を新たに開発し、総ヒ素量ではなく、毒性の高い無機ヒ素量の定量を行った。18年度ヒジキ含有乳幼児食24検体、19年度米飯食78検体を調査した。一部の製品で無機ヒ素摂取量が $10\mu\text{g}/\text{食}$ 以上が検出され、最高値は $22\mu\text{g}/\text{食}$ であった。24検体中3検体では無機摂取量が $10\mu\text{g}/1\text{食}$ 以上で最高 $22\mu\text{g}/1\text{食}$ であったが、他の製品では低値であった。

②フラン

フランは、ヘッドスペース GC/MS 法で分析した。市販の調整粉乳 20 製品及びベビーフード 21 製品を分析した。調整粉乳では、牛乳アレルギー疾患用製品で 36ppb、無乳糖品で 5ppb、他は 2ppb 以下であった。ベビーフードからは、全製品から検出され、いわし団子のあんかけ(90ppb) などが、高値であった。食材と加工方法の組み合わせで生成量に大きな差があることが示された。タイプ別の調整粉乳や、高齢者・病者用食品を追加分析した(計 45 製品)。調整粉乳では、ミルクアレルギー除去・無乳糖食品が他より高値であった。病者用食品では 290ppb が最高(90g→26 μg) であった。インスタント食品の乳幼児食、乳幼児が食する可能性がある飲料については、60 製品について調べた。インスタント食品では、乾燥ベビーフードで最高 49ppb(ただし 1 袋 4g) を検出した。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)、牛乳は全て検出されなかった(0.2ppb 未満)。乳児用調製粉乳のうち、ミルクアレルギー除去食品においてはフランが 6~22 ng/g と、比較的高値を示す傾向があった。また、特定メーカーの製品で高い傾向が認められた。一方、他の乳児用調製粉乳や妊産婦・授乳婦用粉乳では最高値は 3 ng/g であった。フランは第二のアクリルアミドかと懸念されたが、存在量と毒性から、リスクははるか

に低いとされている。

有害微生物の検討

③有害微生物情報収集

文献調査から、*E. sakazakii* の関連する症例のデータを蓄積した。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。

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

平成 18 年度の市販調整粉乳の汚染実態調査では 100 検体中 4 検体、19 年度は 100 検体中 2 検体から *E. sakazakii* が分離され、いずれも汚染菌数は MPN 法で 0.36/100g 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

当該食品の毒性を正しく評価するために、無機ヒ素量を正確に把握することができた。最も高い値である無機ヒ素摂取 22 µg/1 食

を毎日継続するとほぼ PTWI (0.015 mg/kg /week) に相当するため、製品の種類を変えたり、バランスのよい食事をするのが大切であると思われる。

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。フランは Codex がデータ収集。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）。

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、ほとんどの期間は母乳を用いていた)、当該病院では PIF は 80℃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 を対象とした汚染実態調査では、平成 18 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。19 年度は 2 検体から *E. sakazakii* が検出された。2 検体とも、缶入りの PIF であった。全体の検出率は半減した。検出レベルはいずれの場合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℃以上の高温水で調製することが、*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には、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

有害化学物質は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

検討した。フランはヘッドスペース GC/MS 法を確立し、市販の調整粉乳ベビーフード等につき、平成 17 年度 41 製品、18 年度 45 製品、19 年度 60 製品について調査した。汚染実態は有害な影響を引き起こす量よりもかなり低い結果であった。無機ヒ素は、水素化物発生ーコールドトラップー原子吸光法を新たに開発し、総ヒ素量ではなく、毒性の高い無機ヒ素量の定量を行った。平成 17 年度試験法を確立し、18 年度ヒジキ含有乳幼児食 24 検体、19 年度米飯食 78 検体を調査した。一部の製品で無機ヒ素摂取量が $10 \mu\text{g}/\text{食}$ 以上が検出され、最高値は $22 \mu\text{g}/\text{食}$ であった。無機ヒ素摂取 $22 \mu\text{g}/\text{食}$ を毎日継続するとほぼ PTWI ($0.015\text{mg}/\text{kg}/\text{week}$) に相当する。

幼児におけるヒジキ摂取量の検討から危害分析を行った。幼児におけるヒジキの摂取量分布から、1 日単独の摂取量は成人と比べ高値となるが、摂取者の 3 日間の調査の結果では、3 日の内 2 日摂取しているものは 4% 程度で、3 日平均の摂取量は 95% tile で、 $1.30\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ とそれほど高くない。偏食による極端な多食がなければ、問題とはならないと思われる。製品の種類を変えたり、バランスの良い食事をすることが重要である。

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。平成 17 年度に検査法検討を行い、市販の乳児用調製粉乳およびその関連食品について、18 年度 100 検体、19 年度 100 検体について定量的に汚染実態調査を行った。18 年度 4 検体、19 年度 2 検体から分離され、いずれも MPN 法で $0.36/100\text{g}$ の汚染レベルであった。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。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。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が、調整粉乳との関連は確認されず、感染経路は不明であった。

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。

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。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) M. H. Nagaoka, and T. Maitani : Analysis of inorganic arsenic in foods by hydride generation-cold trap-atomic absorption spectrophotometry. *Metal Ions in Biology and Medicine*, 9, 75-77 (2006)
- (2) 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)
- (3) 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)

(4) 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)

(5) 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.

(6) 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) Igimi S., Asakura, H., Ishiwa, A., Morita-Ishihara, T., Okada, Y., Yamamoto, S. Isolation and Genetical Characterization of *Enterobacter sakazakii* in Japan. *FoodMicro2006, The 20th International ICFMH Symposium food safety and food biotechnology. 29 Aug - 02 Sept 2006, Bologna, Italy*

(2) 五十君静信。乳製品の微生物コントロールについて。 *日本国際酪農連盟微生物・衛生専門部会*。2006.12.14。東京

(3) 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)
- (4) 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)
- (5) 五十君静信。乳児用調製粉乳における *Enterobacter sakazakii*。ILSI Japan 微生物部会セミナー。2007. 7. 30。東京千代田区
- (6) Igimi S, Kageyama A, Morita-Ishihara T, and Asakura H. Isolation and Genetic Characterization of *Enterobacter sakazakii* in Japan. UJNR meeting. 2007. 11. 06. Tokyo.
- (7) 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（3年分）

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、分析法の検討や市販食品の分析を行った。無機ヒ素については、ヒジキを含む乳幼児食、乳幼児用の魚を含む米飯食、魚を含まない米飯食、魚介類入りおかずものについて、無機ヒ素量を正確・精密に分析し、摂取量の評価を行った。その結果、一部で高い濃度のものがみられたが、大部分の乳幼児食では低い値であった。フランについては、米国 FDA が公表しているヘッドスペース-ガスクロマトグラフ-質量分析計による方法を改良し、市販の粉ミルク、ベビーフード、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(低ナトリウム食品、糖尿病食調製用組み合わせ食品)、インスタント食品や飲料につき分析を行った。その結果、粉ミルクでは特殊な 1 製品を除きすべて低いレベルであったが、ベビーフードではすべての製品からフランが検出され、食材と加工方法の組み合わせにより、フランの生成量に大きな差が出るものと考えられた。ミルクアレルギー除去食品・無乳糖食品においては、他より高い濃度が検出された。また、高齢者用食品と病者用食品では広い範囲の濃度でフランが検出された。一方インスタント食品や飲料では、特に高い濃度のフランが含まれてい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が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。

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、ヒジキを含む乳幼児用食品、魚介類を含む米飯もの、魚介類を含まない米飯もの、魚介類を含むおかずものなど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・精密に把握し、無機ヒ素の摂取量を評価することを目的とした。一方、フランについては、市販の粉ミルク製品、ベビーフード製品、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、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

ヒジキ含有食 24 検体、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。また、ヒジキ含有食 2 検体を作製した。これら食品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

検量線法によるヘッドスペース-GC/MS法を開発し、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

GC/MS分析計: 6890N/5973N(Agilent)

ヘッドスペースサンプラー: 7694

(Agilent)

2) 試料

市販の粉ミルク20製品、ベビーフード21製品、市販の特別用途食品の乳児用調整粉乳、妊産婦・授乳婦用粉乳14製品、高齢者用食品10製品、病者用食品21製品、インスタント乳幼児食10製品、インスタント食品(カップ麺及びスープの素)20製品、調味料5製品、飲料(果汁および野菜飲料、茶類および牛乳)25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。得られたフランとフラン-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