東京健安研セ年報　*Ann. Rep. Tokyo Metr. Inst. Pub. Health*, **67**, 163-170, 2016

食品の苦情事例（平成27年度）

浅 倉　弘 幸[a]，木 村　圭 介[a]，観　公子[a]，笹本　剛生[a]

平成27年度に検査を実施した食品苦情に関わる事例から，原因が明らかになった4例について報告する．(1)弁当容器に付着していた赤色糊状物は，FT-IR分析と蛍光X線分析及び熱分解GC/MS分析を行った結果，店舗内で使用される赤色鉛筆であると推察された．(2)コールスローサラダ中の木片様物は，光学顕微鏡観察とFT-IR分析及びDNAシークエンス解析による植物種の鑑別結果より，コールスローサラダ中のキャベツの芯が木質化したものと推察された．(3)ウィンナーソーセージ中の薄褐色硬質物は，蛍光X線分析及びDNAシークエンス解析並びにPCR-RFLP法による動物種の鑑別結果より，ブタの軟骨であると推察された．(4)サンドイッチから出てきた錠剤は，LC-MS/MS分析により苦情者が服用していた薬であると推察された．

キーワード：食品苦情，異物混入，弁当容器，赤色鉛筆，コールスローサラダ，木化，ウィンナーソーセージ，軟骨，錠剤

は　じ　め　に

平成27年度に食品苦情に関して当研究室に送付された検体は51件であった．苦情内容の内訳は，異物混入に関するものが最も多く35件（69%），異臭・異味に関するものが11件（21%），その他が5件（10%）であった．異物混入では昆虫類などの動物性異物が11件，植物性異物が12件，金属片及びガラス片などの鉱物性異物が12件であった．本報では前報に引き続き，平成27年度に検査した異物混入に関する苦情事例の中から，今後の苦情解明の参考資料となる4例を報告する．

苦　情　事　例

1. 弁当容器に付着していた赤色糊状物

1) 苦情概要

苦情者が飲食店で購入した宅配ミックスグリル弁当を喫食したところ，赤色の絵の具のような糊状物が容器に付着していることに気が付き，保健所に届け出た．

2) 試料

赤色糊状物が付着している弁当容器（図1，図2）

店舗で使用している赤色鉛筆（参考品）（図3）

3) 検査方法及び結果

(1) 外観検査

赤色糊状物は容器内の側面と底面に約16 cmに渡り付着していた．

(2) FT-IR分析

FT-IR分析による赤外吸収スペクトル[1)]は，参考品の赤色鉛筆の赤外吸収スペクトルと酷似した（図4）．

(3) 蛍光X線分析

蛍光X線分析による元素分析では，バリウム，ケイ素，イオウが主な構成元素であった．参考品の赤色鉛筆の主たる元素も同様にバリウム，ケイ素，イオウであった．

(4) 熱分解GC/MS分析

熱分解GC/MS分析によるパイログラム[2)]は参考品の赤色鉛筆のパイログラムとほぼ一致した（図5）．

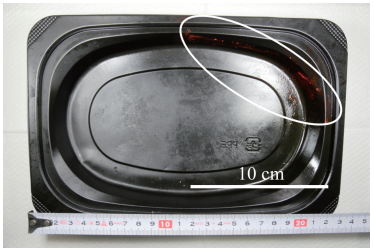


図1. 赤色糊状物が付着している弁当容器

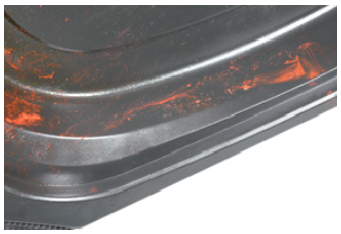


図2.　弁当容器に付着している赤色糊状物

[a] 東京都健康安全研究センター食品化学部食品成分研究科
169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

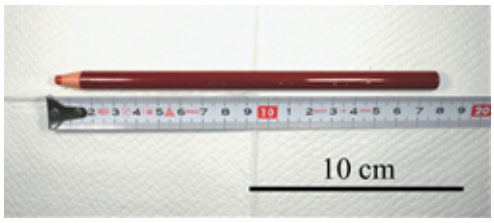


図3. 店舗で使用している赤色鉛筆

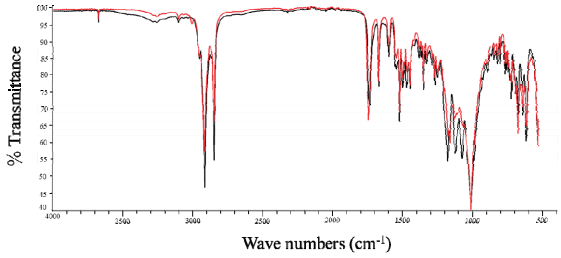


図4. 弁当容器に付着している赤色糊状物（黒）及び赤色鉛筆（赤）の赤外吸収スペクトル

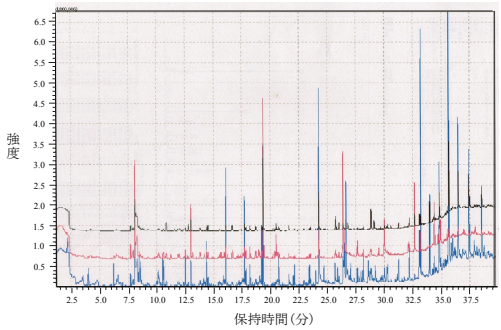


図5. 弁当容器に付着している赤色糊状物（赤）及び赤色鉛筆（黒: 1回目，青: 2回目）のパイログラム

4) 考察

以上の検査結果より，赤色糊状物は店舗内で使用されている赤色鉛筆であると考えられた．赤色鉛筆は，注文伝票をチェックする際に使用されているものである．

後日の調査により，赤色鉛筆の落下防止策はとられておらず，弁当の調理中に先端が折れて混入したことが判明した．

2. コールスローサラダ中の木片様物

1) 苦情概要

苦情者が飲食店でコールスローサラダを喫食していたところ，固いものが入っているのに気がついた．これは割り箸が欠けたものではないかと疑い，保健所に届け出た．

2) 試料

コールスローサラダに混入していた木片様物（図6）

3) 検査方法及び結果

(1) 外観検査

木片様物は，大きさが長軸約24 mm，短軸約2 mmのものと，長軸約17 mm，短軸約1 mmのものの2片からなる淡黄色物であった．

(2) 光学顕微鏡観察

長軸方向に繊維状物が集まった構造であり，導管を認め，フロログルシン染色で赤色を呈した（図7）．

(3) FT-IR分析

本品の赤外吸収スペクトルを測定したところ，セルロースの赤外吸収スペクトルと類似した（図8）．

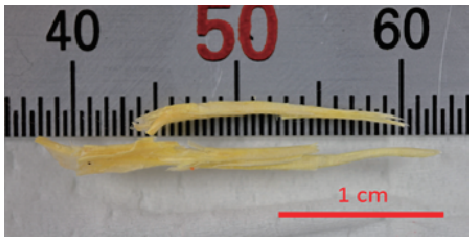


図6. コールスローサラダ中の木片様物

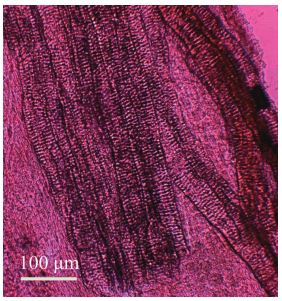


図7. 木片様物中の繊維状物質（フロログルシン染色）

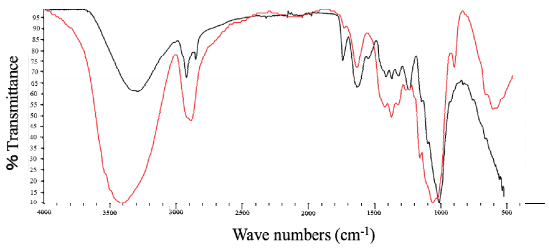


図8. 木片様物（黒）とセルロース（赤）の赤外吸収スペクトル

(4) DNAシークエンス

苦情異物の植物種を同定するため，ダイレクトシークエンス法により塩基配列を決定した後，相同性検索を行った．DNeasy plant mini kit（Qiagen社製）により苦情異物からDNAを抽出した．葉緑体DNAのmatK領域並びにrbcL領域及びリボソームDNAのITS1領域について表1のプライマーを用い，表2の条件でPCR反応を行った．PCR酵素はTaKaRa EX Taq HS（タカラバイオ社製）を用いた．PCR反応後は2.5%アガロースゲル電気泳動により増幅したPCR産物を確認した後，BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit（Applied Biosystems社製）のプロトコールに従い，PCR反応と同一のプライマーを用いてシークエンス反応を行った．反応後はDNAシークエンサー（ABI PRISM 3130xl Genetic Analyzer）で塩基配列を決定し，得られた塩基配列について，NCBIのBLASTにより相同性検索を行った．

その結果，表3に示すとおり，rbcL領域はアブラナ科（*Brassicaceae*）アブラナ属（*Brassica*）に属する植物と，matK領域はアブラナ科アブラナ属に属するヤセイカンラン種（*Brassica oleracea*）及びラパ種（*Brassica rapa*）と高い相同性を示した．ITS1領域ではヤセイカンラン種内の変種であるキャベツ（*Brassica oleracea* var. *capitata*）と最も高い相同性を示した．

4) 考察

本品は顕微鏡観察により導管を認め，木化組織を染色するフロログルシン染色により赤色を呈した．また，本品の赤外吸収スペクトルは，セルロースの赤外吸収スペクトルと類似したことから，植物片であると推察した．さらに，形態からでは種の同定は困難であったため，ダイレクトシークエンス法により3つの領域の塩基配列を決定し，相同性検索による種の同定を行った．その結果，キャベツと最も高い相同性を示したことから，本品は苦情者が訴えていた割り箸が欠けたものではなく，コールスローサラダ中のキャベツの芯が木質化したものと推察された．

キャベツの芯部が木質化した苦情事例は過去にも報告しており[5)]，同様の苦情事例の発生は後を絶たない．このような苦情事例の再発防止のために，調理過程で木質化した部位の除去を徹底することが重要である．

表1. PCRに用いた植物増幅用プライマー

領域	プライマー名	配列 (5′→3′)
matK	3F_KIM f [3)]	CGTACAGTACTTTTGTGTTTACGAG
	1R_KIM r [3)]	ACCCAGTCCATCTGGAAATCTTGGTTC
rbcL	rbcLa_F [3)]	ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC
	rbcLa_R [3)]	GTAAAATCAAGTCCACCRCG
ITS1	ITS-A [4)]	GGAAGGAGAAGTCGTAACAAGG
	ITS-C [4)]	GCAATTCACACCAAGTATCGC

表2. PCR反応液組成及び反応条件

PCR反応液組成

	量 (μL)
10 × Ex Taq Buffer (20 mM Mg^{2+}含有)	2.0
dNTP Mixture（各2.5 mM）	1.6
Forward primer（10 μM）	0.6
Reverse primer（10 μM）	0.6
Takara Ex Taq HS（5 U/μL）	0.1
DNA抽出液	1.0
滅菌蒸留水	14.1
合計	20.0

反応条件

95 ℃	2 分	
95 ℃	30 秒	×35
55 ℃	30 秒	×35
72 ℃	1 分	×35
72 ℃	5 分	
4 ℃	∞	

表3. 相同性検索結果（相同性が高い上位5種についてのみ記す）

rbcL		matK		ITS1	
種名	相同性 (%)	種名	相同性 (%)	種名	相同性 (%)
Brassica oleracea	97.0	*Brassica oleracea*	99.9	*Brassica oleracea* var. *capitata*	99.5
Brassica napus	97.0	*Brassica rapa*	99.9	*Brassica oleracea* var. *gongylodes*	99.2
Brassica nigra	97.0	*Brassica insularis*	99.6	*Brassica oleracea* var. *botrytis*	98.9
Brassica juncea	97.0	*Brassica juncea*	99.5	*Brassica oleracea* var. *alboglabra*	97.6
Brassica carinata	97.0	*Brassica napus*	99.5	*Brassica oleracea* var. *acephala*	97.6

3. ウィンナーソーセージ中の薄褐色硬質物

1) 苦情概要

苦情者が自宅でウィンナーソーセージを喫食していたところ，ウィンナーソーセージの中から固い異物がでてきた．この固い異物はヒトの歯が欠けたものではないかと疑い，保健所に届け出た．

2) 試料

ウィンナーソーセージ中の薄褐色硬質物（図9）

3) 検査方法及び結果

(1) 外観検査

苦情品は長軸約7 mm，短軸約5.5 mmの薄褐色透明の硬質物であった．

(2) 蛍光X線分析

蛍光X線分析による元素分析を行ったところ，カリウムと塩素が主たる元素であった．

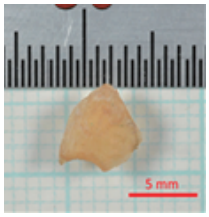


図9. ウィンナーソーセージ中の薄褐色硬質物

(3) DNAシークエンス

動物種の同定のために，ダイレクトシークエンス法により，ミトコンドリアDNAのcytochrome b領域の塩基配列を決定した後，相同性検索を行った．

DNeasy Blood and Tissue Kit（Qiagen社製）を用いて苦情異物からDNAを抽出した．ミトコンドリアDNAのcytochrome b領域の増幅にはL14724及びH15149プライマー（表4）を用いた．PCR酵素はTaKaRa EX Taq HS（タカラバイオ社製）により，表5の条件でPCR反応を行った．PCR反応後は2.5%アガロースゲル電気泳動によりPCR産物を確認した後，BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit（Applied Biosystems社製）のプロトコールに従い，PCR反応と同一のプライマーを用いてシークエンス反応を行った．反応後はDNAシークエンサー（ABI PRISM 3130xl Genetic Analyzer）で塩基配列を決定した．得られた塩基配列について，NCBIのBLASTにより相同性検索を行った．

その結果，ブタ(*Sus scrofa domesticus*)と高い相同性を示した（相同性98.5%）．

表4. cytochrome b領域増幅に用いたプライマー

プライマー名	配列 (5′→3′)	領域
L14724	CGAAGCTTGATATGAAAAACCATCGTTG	cytochrome b
H15149	AAACTGCAGCCCCTCAGAATGATATTTGTCCTCA	
MI1	CAAATCCTCACAGGCCTATTCCTAGC	cytochrome b
MI2	TAGGCGAATAGGAAATATCATTCGGGTTTGAT	

表5. PCR反応液組成及び反応条件

PCR反応液組成

	量 (μL)
10 × Ex Taq Buffer (20 mM Mg^{2+}含有)	2.0
dNTP Mixture（各2.5 mM）	1.6
Forward primer（10 μM）	0.6
Reverse primer（10 μM）	0.6
Takara Ex Taq HS（5 U/μL）	0.1
DNA抽出液	1.0
滅菌蒸留水	14.1
合計	20.0

反応条件

95 °C	2 分	
95 °C	30 秒	×30
55 °C	30 秒	
72 °C	1 分	
72 °C	5 分	
4 °C	∞	

(4) PCR-RFLP法による動物種の鑑別

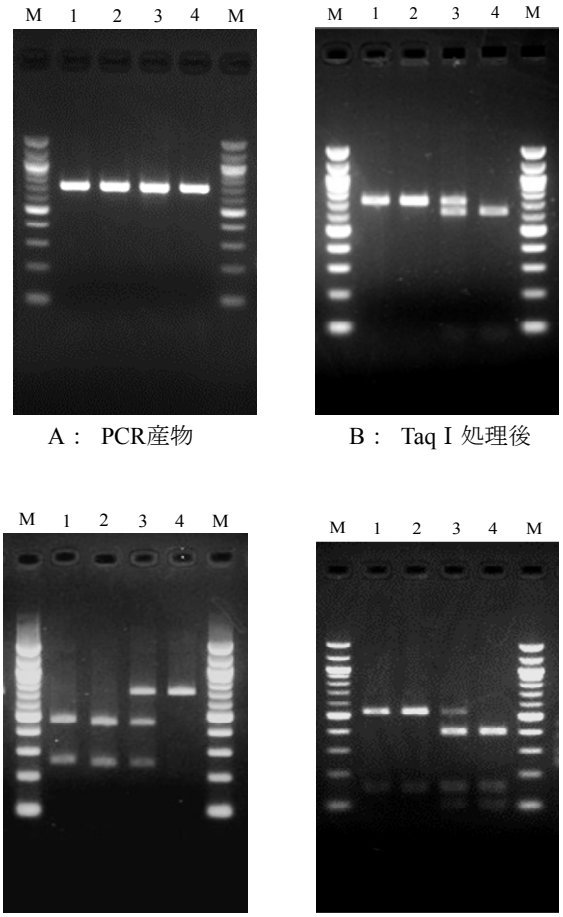
千国ら[6]のPCR-RFLP法による動物種の鑑別を行った．①苦情異物DNA，②参考として用意した豚肉から抽出したブタDNA，③参考として用意したヒトDNA，及び④ブタDNAとヒトDNAを等量合わせたものを鋳型にし，プライマーMI1及びMI2（表4）を用いてPCR反応を行った．PCR反応組成液はDNAシークエンス解析時と同様とし（表5），表6のPCR反応条件でミトコンドリアDNAのcytochrome b領域を増幅した．2.5%アガロースゲル電気泳動により増幅したPCR産物（702 bp）を確認した後（図10A），制限酵素TaqⅠ，AluⅠ及びHaeⅢにより，それぞれ制限酵素処理反応を表7の反応液組成でTaqⅠは65℃，AluⅠ及びHaeⅢは37℃で一晩行った．反応後は2.5%アガロースゲル電気泳動を行い，切断パターンを比較した．その結果，TaqⅠ，AluⅠ，HaeⅢ処理後の切断パターンは参考として用意したブタの切断パターンと一致した（図10B，C，D）．

表6. PCR-RFLP法で使用したPCR反応条件

95 °C	2 分	
95 °C	30 秒	×35
63 °C	30 秒	
72 °C	1 分	
72 °C	5 分	
4 °C	∞	

表7. 制限酵素処理反応液の組成

	量 (μL)
10 ×Buffer	2.0
PCR産物	5.0
制限酵素 (10U/μL)	1.0
滅菌蒸留水	12.0
合計	20.0



A： PCR産物　　B： TaqⅠ処理後

C： AluⅠ処理後　　D： HaeⅢ処理後

図10. PCR-RFLPの電気泳動像
1. 苦情異物DNA　2. ブタDNA
3. ブタDNA＋ヒトDNA　4. ヒトDNA
M: 100 bp DNA Ladder

4) 考察

本品の主たる元素がカリウムと塩素であること及びDNA抽出時にタンパク分解酵素により完全に溶解したことから骨や歯ではなく，軟骨と推察された．さらに，動物種を同定するためにミトコンドリアDNAのcytochrome b領域の塩基配列を決定し，相同性検索を行った結果，ブタと高い相同性を示した．しかし，今回用いたcytochrome b領域のプライマー（L14724及びH15149）は脊椎動物に広く対応しており，ブタ及びヒトのどちらも増幅される．そのため，本品に付着していたウィンナーソーセージ由来のブタDNAの増幅効率が良いために異物DNAではなくブタDNAが検出された可能性が考えられた．PCR-RFLP法は，複数種が混在していてもそれぞれ同時に検出が可能である．千国らの報告中にある各制限酵素の切断パターンは，表8のとおりである．AluⅠ及びHaeⅢのブタの切断パターンは表8に記載通りの切断パターンが見られたが（図10C，Dレーン2），千国らは，ブタはTaqⅠで完全に切断されず，704 bpの断片が残ったと報告している．また，ヤギでは品種間差でTaqⅠの認識部位が異なる可能性があることを示唆しているため，ブタにおいても品種間差によって制限酵素の認識部位が異なる可能性が考えられた．したがって，今回行ったブタの切断パターンが報告と異なったのは，ブタの個体差や品種間差によるものと考えられた．しかし，苦情異物DNAの3種類の制限酵素による切断パターンは参考品として用意したブタの切断パターンと一致し，また，表8よりAluⅠ及びHaeⅢの切断パターンを示すのはブタのみであることから，本品中にはブタDNAのみが含まれていることが強く示唆された．

以上のミトコンドリアDNAのcytochrome b領域のシークエンス解析に加え，PCR-RFLP法の結果，本品はブタの軟骨であると推察された．

保健所の聞き取り調査によると、原料肉10 kgにつき，原料由来の異物は通常約10個発見されるとのことであった．また，同一製品で豚の骨や軟骨の混入に関する苦情事例は年2～3件発生しているということであった．製造現場では，製造工程での異物混入対策に加え，原材料由来の異物混入対策も徹底することが望まれる．

表8. 各動物種の制限酵素処理後の断片長（bp）

	ウシ	ブタ	ウマ	ヤギ	ヒツジ	ニワトリ	ヒト
TaqⅠ	353 351	324 299 81	353 351	272 220 131 81	353 351	380 324	622 82
AluⅠ	453 130 121	379 243 55 27	402 244 68	704	388 316		704
HaeⅢ	565 139	531 173	426 173 105	531 173	531 173		426 173 105

4. サンドイッチから出てきた錠剤

1) 苦情概要

苦情者がコンビニエンスストアで購入したサンドイッチを喫食していたところ，苦みを感じて吐き出したら錠剤様異物が出てきたと保健所に届け出た．

2) 試料

サンドイッチから出てきた錠剤様異物（図11）

苦情者が服用していた錠剤薬

ブロプレス（8 mg）（図12 ①）
ネシーナ（2.5 mg）（図12 ②）
ウルソ（50 mg）（図12 ③）
ベザフィブラートSR（100 mg）（図12 ④）
アムロジピンOD（5 mg）（図12 ⑤）
グリコラン（50 mg）（図12 ⑥）
クレストール（2.5 mg）（図12 ⑦）

3) 検査方法及び結果

(1) 外観検査

本品は直径7.1 mm，厚さ3.6 mm，重量112 mgの周囲が溶け落ちた白色錠剤様物であった．

(2) バイルシュタイン反応

本品10 mgをメタノール10 mLに溶解した液を用いてバイルシュタイン反応を行ったところ，フッ素以外のハロゲン元素を含むことを示す緑色の炎色反応を示した（図13）．

(3) LC-MS/MS分析

バイルシュタイン反応で使用するために溶解した液をメタノールで20倍に希釈したものを試験溶液とした．また，ベザフィブラートをメタノールで希釈したものを標準溶液とし，以下の条件でLC-MS/MS分析をMRMモードで行った．その結果，苦情品の試験溶液と標準溶液の4種類の測定イオンは，全て同じ保持時間でピークを示した（図14）．

移動相： 0.1%ギ酸：0.1%ギ酸含有アセトニトリル (65：35)
カラム： HSS-T3 (内径2.1 mm×100 mm 粒子径1.8 μm)
流速： 0.4mL/min
カラム温度： 40℃
試料注入量： 2 μL
イオン化モード： ESI (＋)
測定イオン(m/z)：362.4→316. 4，276.2，139.0，121.2
コーン電圧： 30 V
コリジョンエネルギー： 20 V (316.4のみ15 V)

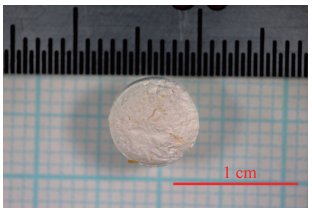


図11. サンドイッチから出てきた錠剤様異物

図13. バイルシュタイン反応

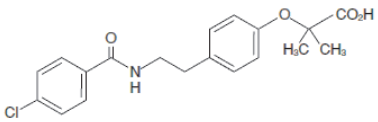


図15. ベザフィブラート構造式

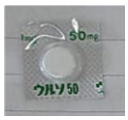
	錠剤名	
①		ブロプレス (8 mg)
②		ネシーナ (2.5 mg)
③		ウルソ (50 mg)
④		ベザフィブラートSR (100 mg)
⑤		アムロジピンOD (5 mg)
⑥		グリコラン (50 mg)
⑦		クレストール (2.5 mg)

図12. 苦情者が服用していた錠剤

4) 考察

保健所の聞き取り調査によると，苦情者は7種類の薬（いずれも錠剤）を処方されていた．サンドイッチを喫食したのは昼であり，当日の朝食後も自宅で服用していたとのことであった．サンドイッチに混入していたと思われる錠剤がそのうちのどれかと一致するかどうかは表面が溶けてしまっていたため，外見からの判断は困難な状態であった．しかし，直径及び厚さからウルソまたはベザフィブラートSR錠が疑われた．バイルシュタイン反応で緑色を示したことから，ベザフィブラート中の塩素を検出したと考えられた（図15）．さらに，LC-MS/MS分析により，ベザフィブラートSR錠に含まれる成分と同等の成分を検出した．以上の検査結果より，錠剤様異物は苦情者が服用しているベザフィブラートSR錠であると推察された．

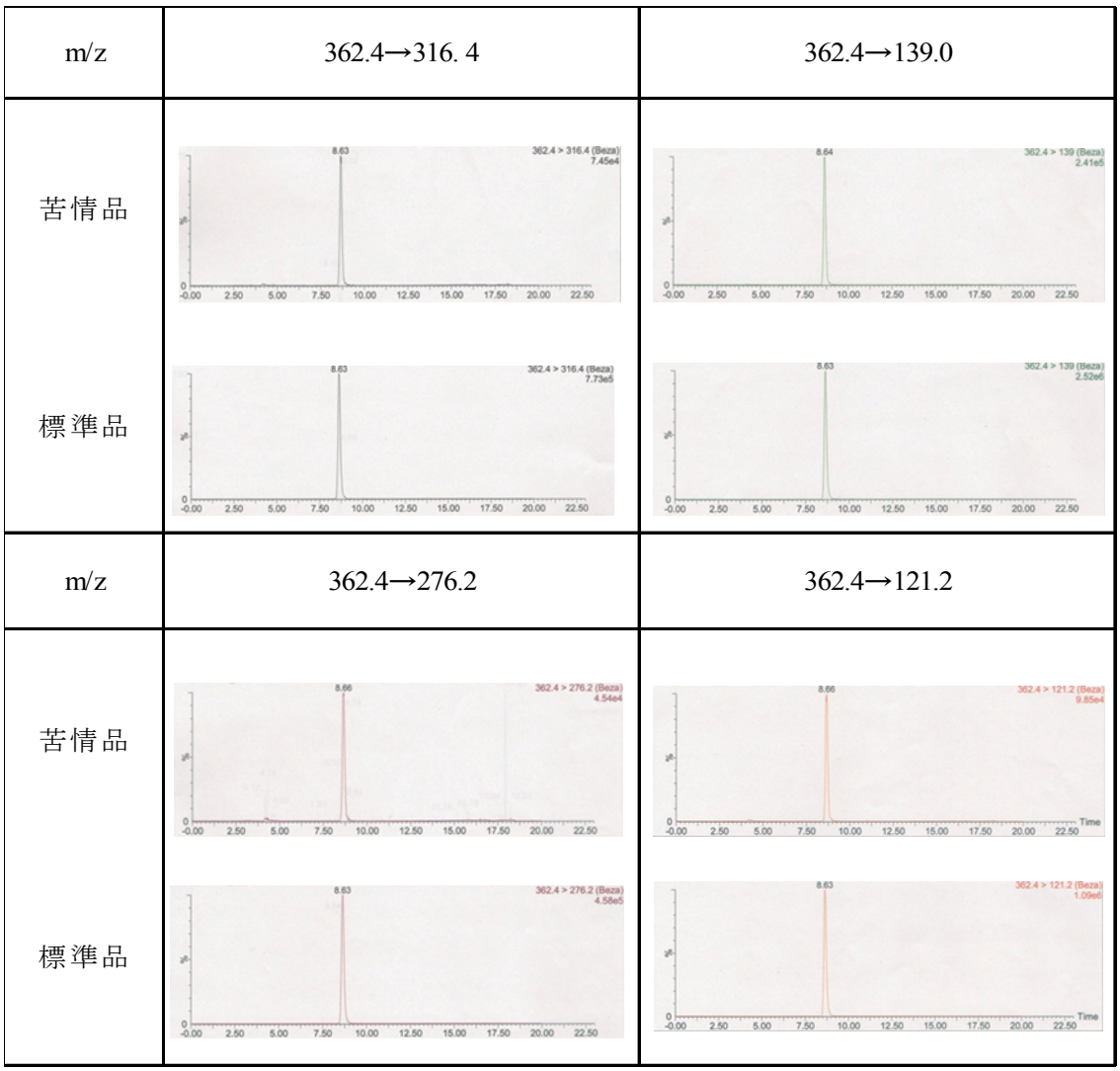


図14. 苦情品及び標準品（ベザフィブラート）のMRMクロマトグラム

ま と め

平成27年度に実施した食品苦情に関わる事例から，弁当容器に付着していた赤色糊状物，コールスローサラダ中の木片様物，ウィンナーソーセージ中の薄褐色硬質物，サンドイッチから出てきた錠剤の4例について報告した．食品中に混入した異物を同定することにより混入原因を推察することができる．この情報を製造現場にフィードバックすることで，より安全・安心な食品の製造が行えると考えられる．なおこれらの調査は東京都福祉保健局健康安全部食品監視課，当センター広域監視部食品監視第一・第二課及び各関連の保健所と協力して実施したものである．

文 献

1) 堀口 博：赤外吸光図説総覧, 縮刷版第8刷, 2001, 三共出版, 東京.
2) 拓植 新：高分子の熱分解ガスクロマトグラフィー基礎およびパイログラム集, 2006, テクノシステム, 東京.
3) Blattner, F. R: *Biotechniques*, **27**, 1180-1185, 1999.
4) CBOL Plant Working Group: *Proc Natl Acad Sci USA*, **106**, 12794-12797, 2009.
5) 田口信夫, 下井俊子, 観 公子, 他：東京健安研セ年報, **64**, 87-93, 2013.
6) 千国幸一, 田畑利幸, 斎藤昌義, 他: 日本畜産学会報, **65**(6), 571-579, 1994.

Case studies of Food Complaints in Tokyo from April 2015 to March 2016

Hiroyuki ASAKURA[a], Keisuke KIMURA[a], Kimiko KAN[a], and Takeo SASAMOTO[a]

We investigated four food complaints received between April 2015 and March 2016. (1) A red paste was found inside a lunch container. We analyzed the red paste by infrared spectrophotometry, X-ray fluorescence, and pyrolysis gas chromatography, the results of which suggested it was from a red pencil that was used when a restaurant worker took the order. (2) Foreign bodies that looked like wood-chips were found in coleslaw salad. An optical microscopy and infrared spectrophotometry analysis suggested that these were plant pieces, and further DNA sequencing suggested that they were from the core of a cabbage. (3) A hard foreign body was found in a wiener sausage. The elemental composition as deduced from an X-ray fluorescence analysis suggested that this was not bone or tooth. Furher DNA sequencing showed that it had high homology to swine, and polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) results supported that this indicating the extracted DNA from the foreign body only included swine DNA.Thus, it appeared that the foreign body was swine cartilage in the wiener sausage. (4) A white round substance was found when eating a sandwich.The ingredients of the substance were analyzed by liquid chromatography-tandem-mass spectrometry (LC-MS/MS) , results of which suggested that it was one of the tablets that the man who found the substance takes every day.

Keywords: food complaints, foreign matter , lunch container, red pencil, coleslaw salad, core of cabbage, wiener sausage, swine cartilage, tablet

[a] Tokyo Metropolitan Institute of Public Health
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan