

酒類および清酒粕中のアスベストと一般微生物の分析

後藤 邦康

Analysis of Asbestos and Microbes in Alcohol Beverages and Sake Cake

Kuniyasu GOTO

緒 言

アスベストについては平成17年7月に労働災害として社会的に問題となり、取扱っていた工場周辺住民等への被害拡大に伴い社会不安が広がった。また、酒類製造関係でも、過去にろ過剤としてアスベストが使用された経緯があり(1985年日本酒造組合中央会による自主規制による使用中止)、作業場で使用した酒造工がその害にあっている(平成18年9月)。建材については平成16年10月1日から1%以上含むものの製造等の禁止、平成18年9月1日にはアスベストが0.1%を超えるものは使用禁止となり、建材中の分析法はJIS A 1481¹⁾に定められている。

アスベストは白石綿(温石綿・クリソタイル)・青石綿(クロシドライト)・茶石綿(アモサイト)等があり、各種補強材・保温材・ろ過剤等多方面に使用されていたが、1970年代に作業環境中の浮遊アスベストによる発がん性が問題となった。現在、アスベストは呼吸による吸入について国際がん研究機構(IARC)においてグループ1(人に対して発がん性がある)²⁾に分類されている。健康に対し影響の高い吸引性の発がん性については、アスベスト繊維の幅が $0.25\mu\text{m}$ 付近で長さ $8\mu\text{m}$ 以上のもので腫瘍発生率が高く、肺がんでは幅 $0.15\mu\text{m}$ 以上で長さ $10\mu\text{m}$ 以上、中皮腫では幅 $0.1\mu\text{m}$ 付近で長さ $5\text{--}10\mu\text{m}$ のもので発生しやすいと言われている。なお、飲食による影響に

については消化吸収されない食物繊維と同様に単純に排出されると考えられ、世界保健機構(WHO)の飲料水水質ガイドライン³⁾では、健康影響のガイドライン値を定める必要はないとされ、厚生労働省でも経口摂取に伴う毒性は極めて小さく水質基準の設定を行わない⁴⁾としている。

一般微生物については平成15年改正の水道水水質基準⁵⁾では一般細菌100個/ml以下・大腸菌検出されないこととされている。また、一般的な清涼飲料水についても水道水水質基準と同等の基準⁵⁾が設けられている。

材料と実験方法

供試試料と試験項目

アスベスト含有試験には市販酒類56点(全国的に48点(平成18年春買上)、代表的な酒類で課税移出数量の多い製造場から清酒20点、焼酎10点、果実酒12点、ビール6点および追加試料(平成18年12月買上)として別途買上げ8点(同一製造場で複数のロットを含む))および清酒粕10点を東広島市内もしくはインターネット上の小売店より購入したものをを使用した(表1)。また、酒類56点については一般微生物検出試験、大腸菌群検出試験、さらに清酒28点については火落菌検出試験も行った。

アスベスト用試料の調整

酒類については猪子らの方法⁷⁾に基づき、ポ

表1 供試試料

区分	種類	点数	製造社数	備考
全国	清酒	20	20	パック7・瓶13
全国	焼酎	10	10	パック6・瓶4
全国	果実酒	12	12	瓶12
全国	ビール	6	6	缶5・瓶1
近郊	清酒	8	5	缶1・パック2・瓶5 全国と重なるもの1点
	清酒粕	10	7	当所製造3点含む・ラベル表面の表示による区分

アサイズ0.2 μ m・ ϕ 47mmのセルロースメンブラン (Advantec社製 MixedCellulose Ester Type Membrane Filter A020A047A) に捕集吸引ろ過 (20~1000ml) した。ろ過後、蒸留水50mlで洗浄し、メンブランを坩堝に移し、有機物繊維を焼却するため、電気炉で500 $^{\circ}$ Cで一晩焼却した。残渣を蒸留水1ml (0.5mlを2回に分けて回収) に懸濁し、試料とした。

清酒粕については試料10g (湿重量) を600 $^{\circ}$ Cで2日間焼却し、灰化試料を酒類と同様に試料とした。

顕微鏡観察

「建築物の耐火等吹付け材の石綿含有率の判定方法」⁸⁾ 第3-3の「位相差顕微鏡を使用した分散染色法による分散色の確認」に基づき観察を行った。なお、この判定法は「建材中の石綿含有率の分析法について」⁹⁾ では定性法として位置づけられている。

観察は、試料20~100 μ l (20 μ l以上の場合には20 μ lずつ乾燥させ重層する) をスライドガラス上で蒸発させ、各種屈折率 (Cargille社製Certified Refractive Index Liquids (25 $^{\circ}$ C) : 白石綿用1.550 (分散色: 赤紫~青色), 茶石綿用1.680 (赤紫~青色), 青石綿用1.700 (青色)) の浸液にスライドガラス上で再懸濁した後、カバーガラスをのせて顕鏡に使用した。顕鏡 (室温 (20~25 $^{\circ}$ C)) には位相差分散顕微鏡 (Nikon社製80iTP-DPH)

を用い、10倍の対物レンズでカバーガラス全面中の粒子物質を観察した。異常な粒子としては、長さ5 μ m以上、幅3 μ m未満でアスペクト比 (長さ: 幅) が3以上のもので、特有の分散色を有するものとして、異常と認められたものについては40倍の対物レンズでの観測をアスベスト用回転アナライザ (偏向板) を用い、発色の変化を観察し、確認を行った。

この1回の観察で、酒類100mlのフィルター濃縮を行い (顕鏡試料1mlに濃縮), この顕鏡試料として100 μ lを用いた (顕鏡試料全体の1/10を使用) 場合、原液10ml中のアスベスト繊維の観察を行ったことになる。なお、捕集吸引ろ過の工程で100ml以下の試料については原液で10ml以上になるまで、観察を繰り返し、測定結果とした。清酒粕の場合は100 μ lでの顕鏡で清酒粕1g中の観察に相当する。

アスベスト添加試験には白石綿 (和光純薬) を0.1g/100ml蒸留水に懸濁し、懸濁液を、カバーガラス上に展開した各種試料に重ねて20 μ l加え、乾燥後屈折率1.550の白石綿用浸液を加え、観察を行った。

清酒のアスベストろ過試験

予備試験の結果、アスベストを含まないことを確認した清酒を、ポアサイズ0.2 μ m・ ϕ 47mmのセルロースメンブランフィルターろ過した清酒に100ml当たり0.1gの白石綿を添加し、1時間 (15分に1回程度攪拌) した後、ろ紙 (東洋濾紙社製No.2) でろ過し、ろ液100mlを前述の方法で処理し、観察を行った。

微生物検査

一般微生物の検出にはSCD寒天培地 (ペプトン17g, 大豆ペプトン3g, NaCl5g, リン酸水素二ナトリウム2.5g, 寒天15gを1L蒸留水に混合し、120 $^{\circ}$ C・15分間オートクレーブ) を使用した。試料1mlを1mlの溶解した1%アガロース (殺菌後、50 $^{\circ}$ C以下に冷却) に混合し、SCD寒

天培地に重層し、35℃・24~48時間後の生育コロニーを観察した。大腸菌の検出には大腸菌群検出試験用デスオキシコレート酸塩培地（ペプトン 10 g, NaCl 5 g, リン酸水素二ナトリウム 2 g, 寒天 15 g を約950ml蒸留水に加温溶解し、乳糖 10 g, クエン酸鉄（Ⅲ）アンモニウム 2 g を少量の水に溶解したものを混合し1 Lとした後、デスオキシコール酸ナトリウム 1 g, ニュートラルレッド 0.033 g を添加した後、100℃で30分殺菌した）を用いた。前述の方法で試料 1 ml を重層し、35℃・24~48時間後の生育させ、赤色のコロニーを観察することにより、判定を行った。火落菌の検出には S I 培地（アンプル・日本醸造協会）を使用し、試料 1 ml を添加し、30℃で7日間培養を行い、アンプル内の濁りの生成を観察した。

結果と考察

アスベストの分析：白石綿添加および清酒ろ過試験

「位相差顕微鏡を使用した分散染色法による分散色の確認」については観察温度等に影響を受けるため、観察時に白石綿懸濁液の添加試料を調整し、確認試験を行った。また、アスベストは過去にろ過剤として酒類の製造時に使用されていたことがあり、その際に良く使用された白石綿を用い、清酒ろ過試験を行った。

白石綿添加試験では長さ50 μm 以上のものが多く観察されが、長さ5 μm 以下のものも存在した。しかし、白石綿懸濁液が均一でなく（攪拌してもすぐに白石綿と思われる沈殿物が生じる）、白石綿懸濁液添加時の条件により、白石綿の繊維が現れる頻度は大きく変動し、定量性を求めることはできなかった（図1左）。

清酒に白石綿を添加し、ろ紙濾過したろ液は若干濁りを呈していた。また、吸着させたセルロースメンブレンを焼却した坩堝内には綿状の灰分が存在しが、蒸留水に容易に溶解した。この試料を100 μl 用い屈折率1.550の浸液で顕鏡したところ、添加試験よりも長さも幅も短いものが多く、その頻度も低く、2~5本程度（清酒10ml当たり）

の白石綿が存在した（図1右）。なお、ろ紙No.2の保留粒子径は5 μm とされている。

アスベストの分析：酒類および清酒粕の分析

酒類についてはろ過性の違いにより、供試するろ過量を一定に調整できなかったが、清酒・焼酎のろ過性は良く1000ml、ビールは350~500ml、果実酒は20~50mlで試験を行った。また、ろ過性の悪い試料では蒸留水での洗浄を行わなかった場合、一部製品（果実酒およびビールの一部）について、繊維状の結晶構造（果実酒）または板状（周辺部分が繊維状に見える場合がある・ビール）が生じた。その結晶構造の周辺部がアスベストと類似の分散色を有するものが存在した（図2）。これらの結晶構造が生じたものについてはデータは示さないが無機成分（カリウム等）が多く、スライドガラス上での操作中に再結晶したものと考えられた。そこで、蒸留水による洗浄を行うことにより結晶成分の影響を軽減できるものと考え、蒸留水処理を分析過程に加えたところ、これらの構造の出現は抑制された。清酒粕については結晶状の構造は視野中に生じるが、繊維上に見えるものもなく、分散色を発せず、試料を直接観察することができた。

齋藤ら⁹⁾はアスベストセメント管を使用している2地区の水道水中の汚染状況を調査し、試料の調査23地点中21地点で2.7~7.0 $\times 10^4\text{f/l}$ (fibers/l) 含まれていることを報告している。酒類については1982年に猪子ら⁷⁾が清酒およびある種の外国産ワインに白石綿繊維を見出し、清酒（2点）中には3.8~7.6 $\times 10^2\text{f/l}$ 存在していたことを報告している。今回購入した市販酒類中の試料には長さ5 μm 以上の繊維状の物質が少なく（一試料中に10個/10ml以下）、分散染色の結果も各種石綿は全供試試料中から見出されなかった。なお、猪子ら⁷⁾の観察と同等のアスベストを含む酒類を試料とし、試料100mlをフィルター濃縮し、100 μl で観察した場合（原液10ml相当）、3.8~7.6 f 程度観察されることになる。なお、清酒および焼酎の場

合は試料1000mlを1mlの顕鏡試料とし、その20 μ l (原液として20ml) を観察している。

清酒粕10点中には1点に白石綿に類似する繊維状のもの1個を見出したが、この繊維状の物質は

分散色も黄色で、アスベスト用回転アナライザ (偏向板) を用いた発色の変化も白石綿添加調整した試料とは異なり、白石綿とは判断しなかった (図3)。また、同一調整試料の再観察および試料

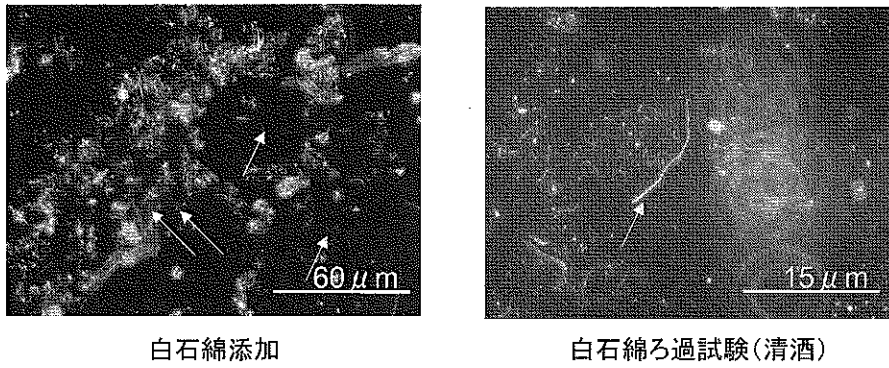


図1 白石綿添加および清酒ろ過試験
↑：白石綿繊維を示す。左図：対物×10 右図：対物×40

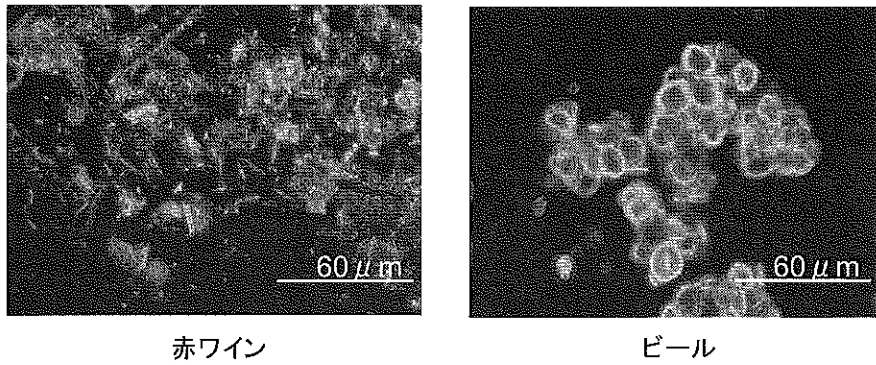


図2 蒸留水洗浄を行なわなかった場合現れた結晶構造
対物×10

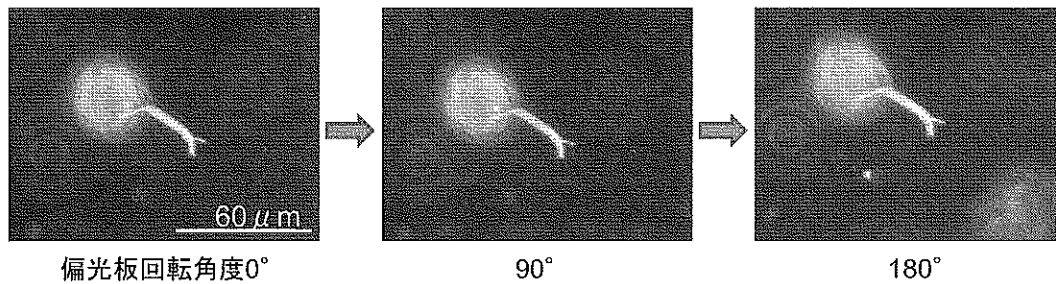


図3 清酒粕から見つかったアスベスト様物質
白石綿用浸液で染色($d=1.550$)。対物×10。
白石綿繊維であれば偏向板を回転させることにより、赤紫～青色に発色が変化する。

調整からの再試験（各3回）および別途買上の同一清酒粕の試料（表1には含めず）からも類似のものは見出せず、白石綿類似物質の混入は極めて低いものと考えられた。

アスベストの経口摂取に伴う毒性が小さいことが報告されている⁴⁾ことと、今回の調査結果から、酒類および清酒粕の摂取による危険性は極めて低いものと考えられた。

微生物の分析

全国的に購入した酒類48点中には1点（清酒）に一般微生物が平均1 cfu/ml（コロニー形成個数/ml・同一試料3回繰り返し）見出された。別途買上げの8点（5製造場・1製造場は全国に含まれる）では5点に1～8 cfu/ml（3製造場）が見出された。8 cfu/ml測定された試料のコロニーの形状は複数あり、顕微鏡観察の結果からも2種以上の菌種からなるものであった。この中には同一製造場で4ロットを調べたものがあり、この4ロットでは0～3 cfu/ml（平均1.25cfu/ml）で検出された。しかし、大腸菌群検出試験では全て陰性であった。また、清酒には同時に火落菌検査も行っているが、調査試料28点全て陰性であった。

今回の結果からは生菌体濃度は水道水水質基準の一般細菌の基準値（100cfu/ml）より十分低いが、一般微生物が混入する製品が存在することを示している。ミネラルウォーターについては小沼¹¹⁾の詳細な検討があり、今回の検出濃度から容器内付着菌による影響も考えられるが、製造工程全般の衛生管理について注意を払う必要があると考えられた。

ま と め

市販酒類および清酒粕中のアスベストの混入を位相差顕微鏡を用いた分散染色法により定性試験を行った。市販酒類56点（清酒28点、焼酎10点、果実酒12点、ビール6点）および清酒粕10点（当研究所製造3点含む）を調べた結果、アスベストが混入する製品はなかった。また、市販酒類につ

いて微生物の混入状況も調べたところ、一般微生物として4製造場5点に1～8 cfu/mlの混入が見出された。大腸菌群および清酒（28点）のみ実施した火落菌検査については全て陰性であった。

文 献

- 1) 建材中の石綿含有率の分析方法について：基安化発第0821002号（平成18年8月21日）
- 2) “Silica, Some Silicates”, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Volume 42, IARC, Lyon
- 3) 「水道管に使用されている石綿セメント管について」：厚生労働省健康局水道課水道計画指導室事務連絡（平成17年7月13日）
- 4) “Guidelines for Drinking-water Quality”：World Health Organization 3rd ed. p308（2004）
- 5) 「水質基準に関する省令」：厚生労働省令第101号（平成15年5月30日）
- 6) 「食品、添加物等の規格基準」：厚生省告示第370号（昭和34年12月28日）
- 7) 猪子正憲，有磯協子，松野武雄：アルコール飲料及び水道水中の石綿繊維の定量，食衛誌，23，422（1982）
- 8) 「建築物の耐火等吹付け材の石綿含有率の判定方法」：労働省基発第188号（平成8年3月29日）
- 9) 「建材中の石綿含有率の分析法について」：厚生労働省基発第0821002号（平成18年8月21日）
- 10) 斎藤勝美，滝澤行雄，武藤 一，平野耕一郎：アスベストセメント管に由来する水道水中のアスベスト繊維濃度とその形態，日本衛生学会誌，47，851（1992）
- 11) 小沼博隆：ミネラルウォーターの衛生管理 I 微生物由来異物について，食品工業，39，39（1996）