

ノート

県内産食品のカビ毒（アフラトキシン）汚染実態調査（第I報）

岩屋あまね 榎元清美 岩下幸二¹
 早田理恵² 早田真也³ 吉村浩三

要 旨

鹿児島県内産でカビに汚染されやすい食品51検体について、カビ毒アフラトキシン（以下「AF」という。）の汚染実態を調査したところ、黒糖17検体から規制値以下のAFが検出された。また、黒糖の製造工程中のAF含有量について調べたところ、AF含有量に変動がなかったことから、黒糖中のAFは原料のサトウキビ由来であると推察された。

キーワード：カビ毒，アフラトキシン，黒糖

1 はじめに

AFはカビ毒の一つであり、強い発ガン性を持つといわれている。AFに対し国際的に厳しい規制が行われている現状に合わせ、日本でも2011年10月より、AFB₁のみの規制から総AF（AFB₁+AFB₂+AFG₁+AFG₂）の規制へと強化された。

AF産生菌は高温多湿の環境を好み、熱帯～亜熱帯地域に多く分布し、日本国内にはほとんど存在しないと思われていた。本県は亜熱帯～温帯地域に属し、AF産生菌も存在するとの報告があったことから、2010～2011年度の調査研究で県内流通食品についてAF含有量調査を行ったところ、規制値以下ではあったが、複数の県内産黒糖からAFが検出された¹⁾。

そこで、2012年度から3か年の計画で、県内産の食品を対象に引き続きAF含有量調査を行うとともに、AFが検出された黒糖について、その汚染の原因についても検討を行うこととなった。

2012年度は県内産食品51検体についてAF含有量調査を実施したので、その結果について報告する。また、黒糖のAF汚染の原因について検討するため、黒糖の製造工程中におけるAF汚染状況について調査したので、併せて報告する。

2 調査方法

2.1 試料

県内産の黒糖32検体、穀類（米、小麦、そば）16検体及びウコン3検体をAF検査に供した。

2.2 試薬等

2.2.1 試薬

AFの混合標準液は、和光純薬工業(株)製のAF混合標準液（各濃度25µg/mL）を用いた。

試料の抽出及びHPLC測定には関東化学(株)製のアセトニトリル（HPLC用）及びメタノール（HPLC用）を、LC/MS/MS測定には関東化学(株)製のメタノール（LC/MS用）及び和光純薬工業(株)製の1mol/L酢酸アンモニウム溶液（HPLC用）を用いた。

塩化ナトリウム（残留農薬試験用）、Tween20及びPBS濃縮液は関東化学(株)製を用いた。

2.2.2 精製ミニカラム

穀類の抽出液の精製には多機能カラム（以下「MFC」という。）のジーエルサイエンス(株)製VRA-3を、黒糖及びウコンの抽出液の精製にはイムノアフィニティーカラム（以下「IAC」という。）の(株)プラクティカル製AFLAKINGを用いた。

鹿児島県環境保健センター

1 鹿児島県大口食肉衛生検査所

2 鹿児島県大島支庁保健福祉環境部

3 鹿児島県大島支庁保健福祉環境部（瀬戸内町駐在）

〒892-0836 鹿児島市錦江町11-40

〒895-2526 鹿児島県伊佐市大口宮人521

〒894-8501 鹿児島県奄美市名瀬永田町17-3

〒894-1506 鹿児島県大島郡瀬戸内町古仁屋船津36

2. 3 装置

試料の粉碎にはWARING社製MX1200XTMを使用した。

ホモジナイザーは、(株)日本精機製作所製ホモジナイザーAM-7を使用した。

試料液の濃縮には、Zymark製Turbo Vapを使用した。

HPLCは、(株)島津製作所製Prominence LCシリーズを使用した。LC-MS/MSは、(株)島津製作所製Prominence LCシリーズの高速液体クロマトグラフと、エービーサイエックス社製4000QTRAP質量分析装置を使用した。

2. 4 測定条件

HPLC及びLC/MS/MSの測定条件を、表1及び表2に示す。

2. 5 試料液の調製

試料液の調製方法は既報¹⁾で検討した方法で行った。すなわち、穀類は通知MFC法、黒糖は通知IAC法、ウコンはIAC法(香辛料等)を用いて実施した。ただし、今回からHPLC測定にフォトケミカルリアクター法を採用したことに伴い、試料液のTFA処理工程は省略した。調製方法のフローを図1-1~3に示す。

表1 HPLC条件<フォトケミカルリアクター (PR) 法>

分析カラム	Inert Sustain C18 (内径4.6mm, 長さ150mm, 粒径5 μ m)
流速	0.7mL/min
注入量	50 μ L
カラム温度	40 $^{\circ}$ C
移動相	メタノール/水 (2:3)
検出器	蛍光検出器 (Ex : 365nm, Em : 450nm)
PRシステム	254nm低圧水銀灯 (15W) 照射システム
反応コイル	内径0.25mm, 長さ20m

表2 LC/MS/MS条件

LC条件				
分析カラム	Inert Sustain C18 (内径2.1mm, 長さ150mm, 粒径3 μ m)			
流速	0.2mL/min			
注入量	5 μ L			
カラム温度	40 $^{\circ}$ C			
移動相	メタノール/10mM酢酸アンモニウム (3:2)			
MS/MS条件				
(測定対象物質)	(AFB ₁)	(AFB ₂)	(AFG ₁)	(AFG ₂)
Q1/Q3	313/241	315/287	329/243	331/245
DP	96V	86V	96V	66V
CE	53V	37V	39V	43V
イオン化モード	ESI・ポジティブモード			
イオンスプレー電圧	5.5kV			
イオンソース温度	500 $^{\circ}$ C			

試料50.0g
 | -アセトニトリル/水 (9:1) 200mL
 ホモジナイズ (5分)
 |
 ろ過 (Whatman No.5)
 | 5mL分取
 MFC精製 (1mL/分)
 | 初流2mL分取
 蒸発乾固 (45 $^{\circ}$ C, N₂パージ)
 | -アセトニトリル/水 (1:9) 1mL
 攪拌
 HPLC, LC/MS/MS測定

図1-1 通知MFC法

試料50.0g
 | -塩化ナトリウム 5g
 | -メタノール/水 (8:2) 200mL
 ホモジナイズ (5分)
 |
 ろ過 (Whatman No.4)
 | 10mL分取
 水で50mLに希釈
 | 10mL分取
 IAC精製 (1滴/秒)
 | -水10mL以上で洗浄
 通気
 | -アセトニトリル1mL, 放置 (5分)
 溶出
 | -アセトニトリル1mL \times 2
 全溶出液を採取
 蒸発乾固 (45 $^{\circ}$ C, N₂パージ)
 | -アセトニトリル/水 (1:9) 1mL
 攪拌
 HPLC測定

図1-2 通知IAC法

試料50.0g
 | -アセトニトリル/メタノール/水 (6:1:4) 200mL
 ホモジナイズ (5分)
 |
 ろ過 (Whatman No.4)
 | 10mL分取
 3%Tween20溶液で100mLに希釈
 | 20mL分取
 IAC精製 (1滴/秒)
 | -0.01%Tween20-PBS 10mL以上で洗浄
 | -水10mL以上で洗浄
 通気
 |
 (以下, 通知IAC法に同じ)

図1-3 IAC法 (香辛料等)

3 結果

3.1 県内産食品の総AF含有量調査

県内産の食品について、穀類（米、小麦、そば）16検体、黒糖32検体、ウコン3検体の総AF含有量調査を実施した。結果を表3に示す。

穀類及びウコンについては、いずれからもAFは検出

されなかった。

黒糖は32検体について調査し、17検体からAFが検出された。総AFの検出値は0.14～2.08ppbで、AFが検出された17検体全てからAFB₁が検出され、6検体からAFB₂及びAFG₁が検出された。

表3 県内産食品の総AF含有量調査結果 (定量下限：0.1ppb)

食品名	検体数	AF検出数	AF検出値 (ppb)				Total AF
			AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	
米	14	0					
小麦	1	0					
そば	1	0					
黒糖	32	17	0.14～1.63	0.10～0.19	0.11～0.38		0.14～2.08
ウコン	3	0					
計	51	17					

3.2 黒糖製造工程中のAF含量の変動

2010～2011年度の調査研究において黒糖から高率にAFが検出されたことから、製造業者の協力を得て、黒糖の製造工程中のAF含量の変動について調査を実施した。黒糖の製造工程の概略を図2に示す。

黒糖の製造工程において、サトウキビ搾汁直後・加熱前キビ汁（サンプル①）、加熱中・石灰添加前のキビ汁（サンプル②）、加熱中・石灰添加後のキビ汁（サンプル③）及び製品黒糖（サンプル④）をサンプリングし、

それぞれのAF含量を測定した。なお、キビ汁が加熱され製品黒糖となる工程で、サンプルの水分量が減少していくことから、乾物重量あたりのAF含量に換算した。その結果（表4、図3）、黒糖の製造工程中ではAF含量の増減はほとんどみられなかった。

また、黒糖の製造に用いる機具類（圧搾機、圧搾液貯留槽等）についても調査を行ったが、ほとんどAF汚染は見られなかった。

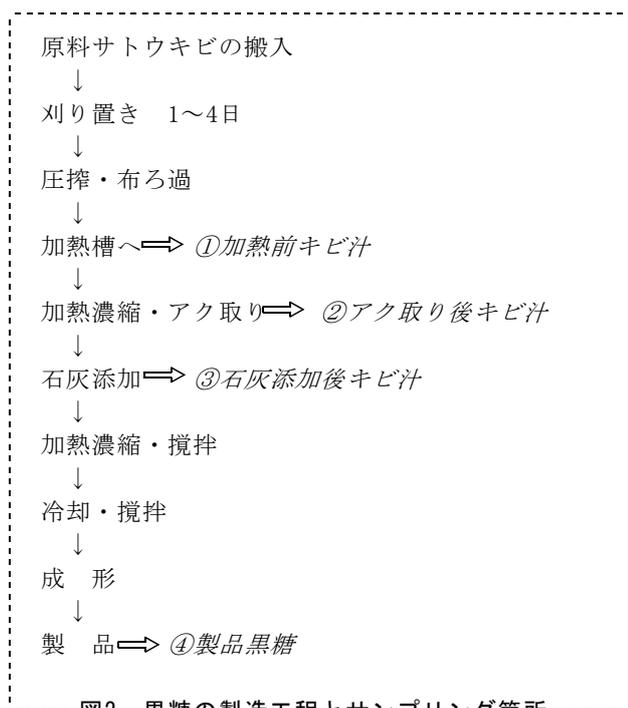


図2 黒糖の製造工程とサンプリング箇所

表4 黒糖の製造工程中のAF含量

検体採取 か所	AF検出量 (ppb)	水分 (%)	AF含量 (ppb) (乾物重量換算)
①加熱前	0.476	81.0	2.51
②アク取り後	0.548	79.9	2.73
③石灰添加後	0.508	79.4	2.47
④製品	2.69	8.7	2.95

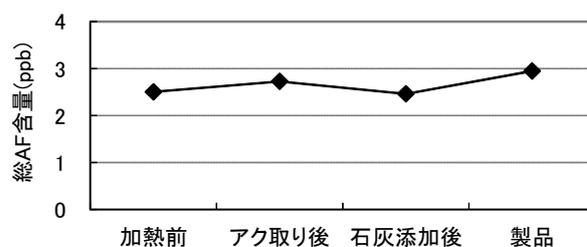


図3 黒糖の製造工程中のAF含量（乾物重量換算）

4 考察

県内産食品のAF含有量調査を実施した結果、2010～2011年度の調査研究と同様に、黒糖から高率でAFが検出されたが、全て規制値（10ppb）以下であった。また、県内産のウコンについて今回の調査結果ではAFは検出されなかったが、2010～2011年度の調査研究で県外産のウコンからAFが検出されていることから、引き続き、黒糖とともに調査を行う必要があると考える。

また、黒糖の製造工程調査の結果、製造工程ではAFは増加せず、製造機具類のAF汚染もなかったことから、黒糖中のAFは製造工程中で生成されるのではなく、原料サトウキビに由来するものであると推察された。今後は、原料サトウキビがAFに汚染される原因について、調査を実施する予定である。

5 まとめ

- 1) 県内産食品51検体について総AF含有量調査を実施した結果、黒糖17検体からAFが検出されたが、全て規制値（10ppb）以下であった。
- 2) 黒糖の製造工程中のAF含量について調査を行った結果、製造工程ではAF含量の変動はみられなかったことから、黒糖のAF汚染は原料サトウキビに由来するものと推察された。

参考文献

- 1) 岩屋あまね, 下堂菌栄子, 他; 食品中のアフラトキシン含有量調査, 本誌, 13, 91～94 (2012)

Studies on Aflatoxin Contamination in Foods Made in Kagoshima (I)

Amane IWAYA, Kiyomi ENOMOTO, Koji IWASHITA

Rie HAYATA, Shinya HAYATA, Kozo YOSHIMURA

Kagoshima Prefectural Institute for Environmental Research and Public Health, 11-40,
Kinko-cho, Kagoshima-shi, 892-0836, JAPAN

Abstract

51 foods made in Kagoshima, likely to be contaminated with mold, were investigated about aflatoxin(AF) contamination. As a result, AF was detected in 17 specimens of brown sugar. Researching about AF content in the manufacturing process of brown sugar, there was no change in the AF content from beginning to end. Therefore, it was considered that AF in brown sugar was derived from sugar cane.

Key Words : mycotoxin, aflatoxin, brown sugar