

さとうきび加工品のアフラトキシン類の含有実態調査

○漆山哲生、須永恭之、瀬川雅裕、山田友紀子
(農林水産省 消費・安全局)

1. 背景と目的

- 国内では全食品を対象として総アフラトキシン（総AF：AFB₁、B₂、G₁、G₂の4種の合計）が10 µg/kgを超える食品が流通しないように規制されている。
- Aspergillus flavus*や*A. parasiticus*などのAF産生菌が、国内のサトウキビ（イネ科*Saccharum*属）の生産農場の土壌やサトウキビの茎に存在することが1970年代から報告されてきた¹⁾²⁾³⁾⁴⁾。また、2012年には、代表的なさとうきび加工品である国産の黒糖から総AFが10 µg/kgを超えて検出された事例が報告された⁵⁾。
- 農林水産省は、国産サトウキビ及びその加工品に含まれるAFについて、リスク管理措置の必要性を検討するため、代表的なさとうきび加工品のAF含有実態を調査した。

2. 調査の方法

- 調査試料**：2013年7月-2015年3月に、国産サトウキビを原材料とした、含みつ糖97点（内訳：黒糖87点、和三盆10点）及びさとうきび酢5点を全国の小売店から購入し、調査試料とした。これらの食品は、一般的に大量のサトウキビを搾汁・混合後に加工することからAF濃度の偏在性は無視できると判断し、内容量が100g以上の製品を1包装ずつ採取した。
- 試料調製**：ブロック状の黒糖はフードプロセッサー等で微粉碎したものを、粉末又は液状の製品はそのままのものを、よく混合・均質化した上で分析用試料とした。
- 分析法**：平成23年（2011年）8月16日付け厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知（食安発0816号第2号）「総アフラトキシンの試験法」を、含みつ糖及びさとうきび酢向けにそれぞれ一部を改良（右図参照）し、各品目への適用性を単一試験所内で検証し、採用した。
- 分析法の妥当性の検証及び試料分析は、（一財）日本食品分析センターに委託した。

3. 結果と考察

3-1. 分析法の妥当性の検証結果

- 真度**：ブランク試料に各AF種の濃度が0.1 µg/kg及び2.5 µg/kgに相当するように標準試薬を添加し、5回の添加回収試験から算出した平均回収率は、84-102%の範囲にあった（表1）。
- 精度**：真度と同様に2濃度の標準添加試料を調製し、7回の繰り返し試験を日を替えて3回実施した結果から算出した室内再現精度は、2.9-10%の範囲にあった（表1）。
- 検量線の直線性**：4種AFの混合標準液（和光純薬）から各AF濃度が0.01-10 ng/mlとなる試験溶液を6段階調製し、検量線の直線性を確認した結果、各AF種とも試験溶液濃度とピーク高の相関係数は0.999以上であった。
- 検出限界・定量限界**：ブランク試料に各AF種を0.1 µg/kg相当添加した試料の繰り返し試験（n=21）から得られた標準偏差から、検出限界（LOD）、定量限界（LOQ）を算出した結果、LODは0.01-0.02 µg/kg、LOQは0.03-0.05 µg/kgの範囲にあった（表2）。
- 以上の検証結果から、本分析法は消費・安全局がサーベイランスに用いる分析法の性能規準と照らして十分な真度、精度があり、LOD及びLOQはCodexやJECFAが近年のリスク管理やリスク評価の際に参照した国際的なAF含有実態データのLOQ（0.01-1 µg/kg）と比較して同等又は低い値であり、十分に高い感度を有していると判断した。

3-2. 実態調査の結果と考察

- 本報告では、LOQ未満であったAF種の濃度を0として、総AF濃度及び各統計量を算出した。
- さとうきび酢5点及び含みつ糖の一種である和三盆10点に関しては、全ての調査試料においてLOQ（表2参照）を超える濃度のAFは検出されなかった。
- 一方、黒糖87点からは、約9割と高い頻度でAFが検出され、総AF最大濃度は2.5 µg/kgだった。検出されたAF種はB₁、B₂、G₁であり、B₁の検出率、濃度が他種よりも高かった。（表3）
- サトウキビ搾汁からのAF検出が報告されており⁶⁾、黒糖中のAFは原料サトウキビに由来し、製造工程で糖汁を加熱濃縮することでAFも濃縮された結果、AFが高い頻度で検出されたと考えられる。さとうきび酢は黒糖と同様にサトウキビの搾汁を原料とするが、糖汁の濃縮工程が黒糖より少ないことに加え、アルコール発酵や酸の存在下でAF分解が生じた結果、最終製品からはAFが検出されなかった可能性があると考えられる。
- 黒糖と和三盆は、両者ともサトウキビを原料とする含みつ糖ではある。しかし、製造工程における分みつ工程の有無等の製法並びに原料のサトウキビの品種及び産地が異なるなど複数の相違点（表4参照）があるため、AF濃度に違いが生じていると考えられる。

表3. 黒糖試料中のアフラトキシン濃度

分析種	調査点数	LOQ以上の点数 (割合)	最大値 (µg/kg)	平均値 (µg/kg)	中央値 (µg/kg)
AFB ₁	87	77 (89%)	2.1	0.28	0.24
AFB ₂	87	27 (31%)	0.23	0.023	0
AFG ₁	87	1 (1.1%)	0.22	0.0068	0
AFG ₂	87	0 (0%)	0	0	0
総AF	87	77 (89%)	2.5	0.24	0.31

表4. 黒糖と和三盆の主たる相違点

項目	黒糖	和三盆
原料サトウキビの品種	<i>S. officinarum</i>	<i>S. sinense</i>
原料サトウキビの生産地	九州、沖縄	四国
分みつ工程	なし	あり

参考文献

- Manabe et al., (1978). *Japan Agricultural Research Quarterly*, 12(4), 224-227.
- Kumeda et al., (2003). *FEMS microbiology ecology*, 45(3), 229-238.
- Yokoyama et al., (2003). *JSM Mycotoxin*, 2003(Suppl. 3), 123-131.
- Takahashi et al., (2004). *Journal of Food Protection*, 67(11), 90-95.
- 若屋ら, (2012). 鹿児島県環境保健センター 所報第13号, 91-94.
- 若屋ら, (2014). 鹿児島県環境保健センター 所報第15号, 41-44

試験溶液調製法 (★さとうきび酢では省略した工程)

分析試料 50 g
| メタノール：水 (4:1) 200 ml★
| 塩化ナトリウム 5 g★

抽出
| 振とう 30 min★

遠心分離
| 2500 rpm、5 min★

上澄み分取 20 ml★
| PBS*で50 mlに定容（さとうきび酢は100 ml）

ろ過 (ガラス繊維ろ紙) ★

イムノアフィニティカラムクロマトグラフィー

AFLAKING (堀場製作所)
| 予備洗浄：PBS 3 ml
| 負荷：ろ液 40 ml (さとうきび酢では20 ml)
| (試料4 g相当量)
| 洗浄：PBS 10 ml 及び 水 10 ml
| 溶出：アセトニトリル 3 ml

濃縮
| 45℃以下の窒素気流下で約1.5 mlまで★

定容
| 水 0.2 mlを添加（さとうきび酢は0.5 ml）
| アセトニトリルで2 mlに定容（さとうきび酢は5 ml）

試験溶液 (HPLCに注入)
*PBS：生理的リン酸緩衝液 (pH7.4)

HPLC操作条件

機種：LC-20AD (島津製作所)
検出器：UV検出器RF-20AXS (島津製作所)
(フォトケミカルリアクター装着)
カラム：Mightysil RP-18GP (関東化学)
(ID 4.6 mm, L 250 mm, 粒径 5 µm)
カラム温度：40℃
移動相：水及びメタノール混液 (3:2)
流量：0.7 ml/min
蛍光波長：励起波長 365 nm、測定波長 450 nm
注入量：10 µl

表1. 添加回収率及び室内再現精度

品目	添加濃度 (µg/kg)	上段：添加回収率(%) 下段：室内再現精度(%)			
		AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂
含みつ糖	0.1	96	87	89	89
	2.5	3.2	3.9	4.0	5.8
さとうきび酢	0.1	87	87	84	86
	2.5	5.0	5.4	10	9.9
さとうきび酢	0.1	93	101	97	99
	2.5	3.1	2.9	3.6	3.1
さとうきび酢	0.1	97	97	102	100
	2.5	3.5	3.4	3.9	3.2

表2. 検出限界及び定量限界 (単位: µg/kg)

品目	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	
含みつ糖	LOD	0.02	0.02	0.02	0.02
	LOQ	0.04	0.04	0.04	0.05
さとうきび酢	LOD	0.01	0.01	0.02	0.01
	LOQ	0.03	0.03	0.04	0.03

4. 結論

- 本調査から、国産のさとうきび加工品の中では、高い頻度で、黒糖にAF類が含まれる（総AFは最大で2.5 µg/kg）ことが判明した。
- 国産黒糖の生産量から推定した国民一人当たりの消費量は約0.2 g/日と多くはない。しかし、黒糖は、砂糖菓子として直接消費される他に、和菓子類やパン類など幅広い加工品に原料として使用されて間接的に消費され、また、独特の風味やミネラル分の多さなどから砂糖としての愛好者がおり、日常的により多くの黒糖を摂取している消費者がいると考えられる。
- 黒糖では過去に総AF濃度が10 µg/kgを超えた例があり、風水害や干ばつ等が原料サトウキビのAF汚染に影響し、黒糖のAF濃度を高める可能性がある。
- 以上から、黒糖中のAFによる消費者の健康リスクをできるだけ小さくするため、黒糖のAF濃度をできるだけ低くする必要があり、今後、サトウキビ搾汁のAF濃度の実態把握やサトウキビ及び黒糖における汚染経路の解明、汚染の防止・低減対策の検討、実施を、関係者が連携して進めることが必要である。