

国産りんご果汁及び国産なし果汁中のパツリン含有実態調査の結果について (平成 28 年度～平成 30 年度)

1. 調査の目的と背景

1.1. パツリンについて

パツリンは、土壤中に生息するペニシリウム属 (*Penicillium*、アオカビ) 又はアスペルギルス属 (*Aspergillus*、コウジカビ) の一部のかびが産生するかび毒で、動物に対し、短期毒性として消化管の充血、出血、潰瘍などの症状を、長期毒性として体重増加抑制などの症状を示すことが分かっています。りんごは長期保存が可能であり、保管中にパツリンに汚染されやすいことが知られています。

生産や収穫の過程、台風や雹害などによりりんごが傷ついたり地上に落果したりすることでパツリン産生菌が侵入し、果実の保管中に増殖してパツリンを産生します。パツリンに汚染された果実が果汁原料として使用された場合、パツリンは高温や酸性条件の下でも安定であるため、果汁の製造工程で分解、除去することは困難です。このため、原料となるりんごがパツリンに汚染されないように、丁寧な収穫、腐敗果の選別、適切な保管条件管理、加工前の果実の洗浄といった対策を行う必要があります。

また、海外では、なし果汁におけるパツリン汚染も報告されています。

1.2. 国内における動向

厚生労働省は平成 15 年に、食品衛生法に基づく規格基準として、りんごの搾汁及び搾汁された果汁のみを原料とするものについてはパツリンの含有量が 0.050 ppm (=50 µg/kg) を超えてはならないと定めました。これを受けて、農林水産省は平成 15 年に、果実生産者や果汁製造業者に対し果汁原料となるりんごの取り扱いについて指導を行いました。

そこで、農林水産省は、国産りんごを原料とする果汁中のパツリンについて、含有実態を把握するため、また、食品衛生法に基づく基準値の遵守状況を把握し汚染防止対策の有効性を検証するため、平成 14 年度から 17 年度に原料用りんご果汁の含有実態調査を行いました。その結果、全試料が規格基準に適合し、さらに約 9 割の試料が 10 µg/kg 未満であり、りんごの生産段階や果汁の製造段階でパツリン汚染防止対策を徹底すれば、パツリン濃度を低く抑えることができ、基準を遵守することが可能であることを確認しました。

1.3. 調査の目的

前回の調査から 10 年以上経過し、栽培品種、気象状況、生産者や事業者の管理体制等が変化している可能性があることから、現行の汚染防止対策の見直しの必要性を検討するため、平成 28 年度から平成 29 年度にかけて、国産の原料用りんご果汁及び市販の国産りんご果汁におけるパツリンの含有実態調査を行いました。

また、海外において、なし果汁のパツリン汚染の報告があったことから、平成 30 年度には市販の国産なしを原料とする果汁について、汚染防止対策の必要性を検証するためにパツリンの含有実態調査を行いました。

2. 調査の概要

2.1. 調査対象

2.1.1. りんご果汁

りんご果汁については、原料用りんご果汁と市販の国産りんご果汁（市販品）について調査を行いました。

原料用りんご果汁は、一般社団法人日本果汁協会（以下「協会」という。）の協力の下、本調査への協力が得られた会員事業者 15 社の果汁搾汁工場から採取したものを調査対象としました。

また、市販品は、高品質・希少性をうたったものや 6 次産業化品として売り出しているものがあることに鑑み、協会会員を除くりんご生産者や加工組合等が製造・販売しているものを調査対象としました。

いずれも、国産のりんごの果実を原料としたストレート果汁、濃縮果汁及び濃縮還元果汁（ピューレを除く。）について、それぞれ透明タイプと混濁タイプの両方を調査対象としました。また、酸化防止剤等の食品添加物を含むものも対象としました。

2.1.2. なし果汁

国産の日本なし又は西洋なしの果実を原料とし、果実ジュース及び果粒入り果実ジュースに該当する市販品（ストレート果汁及び濃縮還元果汁の双方を含む。また、ネクター、ピューレ等の名称で販売されているものであっても、食品表示基準における果実ジュースの定義に該当するものを含む。）を調査対象としました。また、酸化防止剤等の食品添加物を含むものも対象としました。

2.2. 調査点数

国産りんご果汁 241 点（うち原料用果汁 181 点、市販品 60 点）、国産なし果汁 60 点（すべて市販品）について調査を行いました。

2.3. 調査試料の採取

りんご果汁及びなし果汁について、下記の方法により、それぞれ試料を採取しました。

(1) 原料用りんご果汁

本調査への協力が得られた協会会員事業者 15 社について、事業者の搾汁実績に応じて調査点数を配分し、各社の果汁搾汁工場から、平成 28 年 9 月から平成 29 年 2 月までの間に 90 点及び平成 29 年 9 月から平成 30 年 2 月までの間に 91 点を採取しました。

調査試料 1 点当たりの容量は 400 mL とし、採取後は速やかに冷凍 (-18℃) 保存し、その後、分析機関に冷凍便で速やかに送付しました。

(2) りんご果汁及びなし果汁の市販品

国産りんご果汁は、平成 28 年 11 月から平成 29 年 2 月の間に 30 点及び平成 29 年 11 月から平成 30 年 2 月までの間に 30 点を、国産なし果汁は、平成 30 年 10 月から

平成 31 年 1 月までの間に 60 点を、道の駅、農産物直売所、専門店等（通信販売を含む。）で購入しました。

調査試料 1 点当たりの容量は 400 mL 以上（1 調査試料につき 2 本、うち 1 本は予備試料）とし、販売されている製品 1 点の容量が 400 mL に満たない場合は合計容量が 400 mL 以上となるよう同一ロットの製品を複数点購入しました。試料は、購入後、調査試料の食品表示欄に記載された保存方法に従い適切に保存し、その後、分析機関に調査試料の食品表示欄に記載された保存方法の温度帯の宅配便で速やかに送付しました。

2.4. 分析法

りんごの搾汁及び搾汁された果汁のみを原料とするものについては、食品衛生法に基づくパツリンの基準値が定められており、その分析法は「パツリンの試験法について（平成 15 年 12 月 15 日付け食安基発第 1215001 号）及び清涼飲料水等の規格基準の一部改正に係る試験法について（平成 26 年 12 月 22 日食安発 1222 第 4 号）」により定められています。この分析法は基準値への適合性を判断するためのものであり、低濃度のパツリンを含む試料の含有実態を正確に把握するためのものではありません。

そこで、独立行政法人農林水産消費安全技術センター有害物質等分析調査統括チーム（以下「FAMIC」という。）が開発した、りんご果汁及びなし果汁に含まれるパツリンをより高感度で定量するための分析法を採用し、分析は、FAMIC が実施しました。

2.4.1. 分析法の概要

濃縮りんご果汁以外の果汁は、そのまま分析用試料としました。濃縮りんご果汁は、濃縮倍率が 1 になるように、又はブリックス度（°Bx）の値が 10 になるように超純水で希釈し、振とう機を用いて均一化したものを分析用試料としました。

分析用試料から分析試料 2.5 g を量りとり、内標準物質（ $^{13}\text{C}_3$ パツリン）を加えて多孔質けい藻土カラムを用いて酢酸エチル：ヘキサン（4:1）溶液で抽出し、フロリジルカラムで精製後、誘導体化したものを試料溶液としました。

なお、西洋なし果汁が多孔質けい藻土カラムに浸透しない場合は、分析試料 5.0 g を量り取り、内標準物質を加えて遠心分離（8000×g、5 分間）した後の上清 2.5 g を多孔質けい藻土カラムに負荷しました。

ガスクロマトグラフ質量分析計（GC-MS）を用いて、調製した試料溶液中のパツリンを分離・測定し、内標準法により定量しました。

試料溶液調製までの手順を図 1 に、GC-MS の条件を表 1 に、それぞれ示しました。

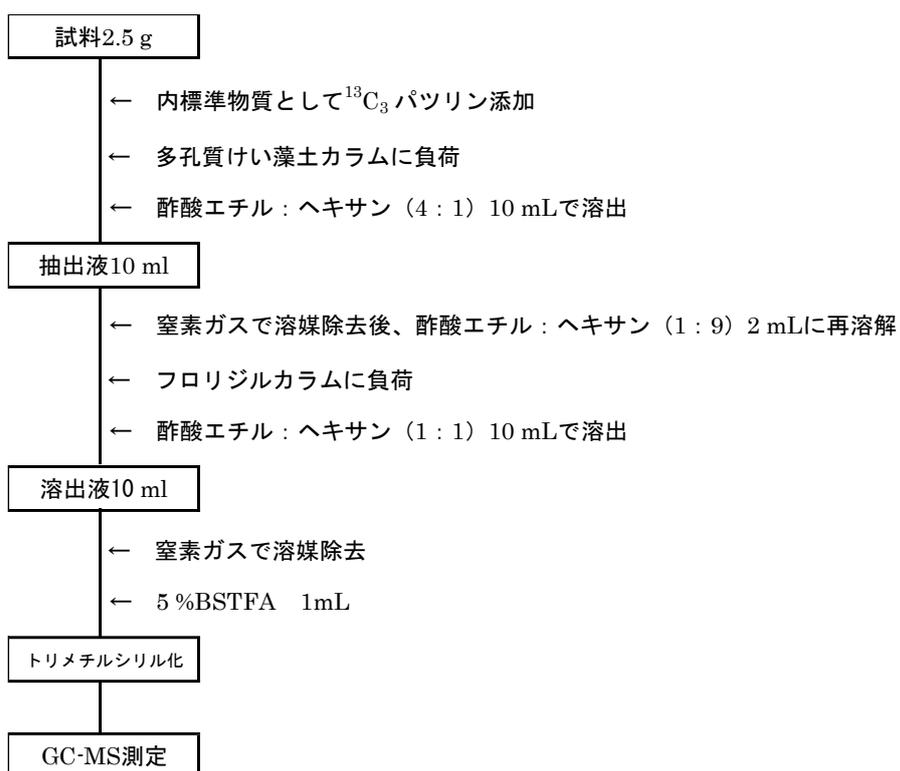


図 1 試料溶液の調製手順

表 1 GC-MS の条件

機種	アジレント・テクノロジー 7980GC/5975MSD (りんご果汁) 島津製作所 GCMS-QP2010 Ultra (なし果汁)
カラム	アジレント・テクノロジー DB-5MS (内径 0.25 mm×長さ 30 m×粒径 0.25 μm)
注入口温度	250°C
注入方式	スプリットレス
カラム昇温条件	60°C (2 min) - 15°C/min - 150°C - 5°C/min - 200°C - 20°C/min - 300°C (5 min)
キャリアガス	ヘリウム 1.0 mL/min
注入量	2 μL
MS 条件	インターフェース温度：280°C イオン源温度：230°C イオン化法：EI イオン化電圧：70 eV
設定質量数 (m/z)	パツリン：226 (定量イオン) パツリン：183 (定性イオン) ※ 内標準 (¹³ C ₃ パツリン)：229 (定量イオン) ※なし果汁において m/z=183 でピークが確認できない場合には、m/z=198 を使用する。

2.4.2. 検出下限及び定量下限

濃度が 1 µg/kg になるようにパツリンを添加したりんご果汁及びなし果汁をそれぞれ 21 回繰り返し測定し、その測定値の標準偏差に 3.29 を乗じたものを LOD¹、10 を乗じたものを定量下限 (LOQ)² としました。

各検体の分析種ごとの LOD 及び LOQ は、表 2 に示すとおりです。

表 2 各分析種の LOD 及び LOQ

試料	試料の種類	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)
りんご果汁	透明タイプ	0.2	0.6
	混濁タイプ	0.3-0.4	0.8-0.9
なし果汁	日本なし	0.5	1.0
	西洋なし	0.3	1.0

2.4.3. 添加回収率³

パツリンを 1 µg/kg 及び 50 µg/kg の添加濃度で、それぞれ 5 回 (平成 28 年度) 又は 3 回 (平成 29 年度及び平成 30 年度) 添加し、回収率及び併行精度 (RSD_r)⁴ を求めました。各検体の分析種ごとの平均添加回収率、RSD_r は表 3 に示すとおりです。各分析種の平均添加回収率は、りんご果汁が 91.3%~102.4%、なし果汁が 96.5%~105.0% であり、いずれも許容できる範囲でした。

¹ 分析対象とする化学物質について、合理的な確かさをもって検出することが可能な最低の濃度。

² 分析対象とする化学物質について、適切な精確さをもって定量することが可能な (具体的な濃度が決められる) 最低の濃度。

³ 分析法の性能特性の一つである「真度 (測定値が真の値にどれだけ近い)」を確認するために、添加回収試験によって計算される値。

⁴ 同じ分析担当者が同じ試薬を用いて短時間に繰り返し測定を行った場合の分析値のばらつき。

表3 各分析種の添加回収率

試料	試料の種類	添加濃度($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均添加回収率(%)	RSD _r (%)
りんご果汁 (平成 28 年度)	透明タイプ	1	96.8	3.8
		50	100.0	3.0
	混濁タイプ	1	97.7	6.0
		50	101.3	5.0
りんご果汁 (平成 29 年度)	透明タイプ	1	102.1	3.5
		50	102.4	2.5
	混濁タイプ	1	91.3	6.4
		50	98.8	5.9
なし果汁	日本なし	1	98.6	3.8
		50	99.4	1.8
	西洋なし	1	96.5	7.2
		50	105.0	1.0

2.4.4. 室内再現精度

パツリン濃度が、1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 及び 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ になるよう調製した試料について、7 回の併行試験を 3 日間繰り返し実施し、中間精度 (RSD_i)⁵ を算出しました。各検体の分析種ごとの室内再現精度は表 4 に示すとおりです。各分析種の RSD_i は、いずれの場合も 15%以下であり、許容できる値でした。

表4 各分析種の RSD_i

試料	試料の種類	添加濃度($\mu\text{g}/\text{kg}$)	RSD _i (%)
りんご果汁	透明タイプ	1	4.9, 9.4
		50	4.4, 9.4
	混濁タイプ	1	5.2, 10
		50	5.5, 9.6
なし果汁	日本なし	1	8.7
		50	4.3
	西洋なし	1	14
		50	8.4

3. 含有実態調査の結果

りんご果汁及びなし果汁中のパツリン濃度の平均値は、以下の方法により、下限値 (Lower bound : LB) と上限値 (Upper bound : UB) の 2 種類の濃度を求めました。

⁵ 同じ試験室内で分析を行う日や分析担当者などを変えて測定したときの分析値のばらつき。

下限値 (LB) : LOQ 未満のパツリン濃度を 0 として計算

上限値 (UB) : LOD 未満のパツリン濃度を LOD と同値、LOD 以上 LOQ 未満のパツリン濃度を LOQ と同値として計算

3.1. りんご果汁中のパツリン濃度

調査結果を表 5 に示しました。また、度数分布を図 2 及び図 3 に示しました。原料用りんご果汁と市販品のそれぞれにおいて、平成 28 年産試料と平成 29 年産試料の間で、パツリン濃度に統計学的な違いがあるかどうかを確認するため、Mann-Whitney U test (有意水準 5%) を行ったところ、試料の産年による違いはありませんでした。また、同検定により、試料の種類 (透明タイプか混濁タイプか) による統計学的な違いがないことも確認しました。(詳細は 4.1.参照。) このため、2 年分の調査結果を合わせて一つのデータとしました。なお、りんご果汁の調査では、試料によって LOQ 及び LOD の値が異なっていたことから、平均値の計算に当たっては LOD の値を 0.4 µg/kg、LOQ の値を 0.9 µg/kg として LB 及び UB を算出しており、最小値については透明タイプで LOQ (0.6 µg/kg) 未満の試料があったので「<0.6」と記載しています。また、検定に当たっては 0.4 µg/kg 未満の値を 0 として計算しています。

原料用りんご果汁については 62%が 0.9 µg/kg 未満、市販品については 87%が 0.9 µg/kg 未満でした。また、前回調査の LOQ である 10 µg/kg 未満の点数の割合は、原料用りんご果汁で 98%、市販品で 95%となっていました。原料用りんご果汁と市販品のどちらも食品衛生法に基づく基準値 (50 µg/kg) を超えるパツリンが検出されたものはなく、最大でも 26 µg/kg であり、基準値よりも十分低い濃度でした。

表 5 りんご果汁のパツリン濃度

試料の種類	調査 点数	0.9 µg/kg	10 µg/kg	濃度 (µg/kg)			平均値 (LB-UB)
		未満の 点数 (割合)	未満の 点数 (割合)	最小値	中央値 ⁶	最大値	
原料用 りんご果汁	181	112 (62%)	177 (98%)	<0.6	-	26	1.1-1.4
市販品	60	52 (87%)	57 (95%)	<0.6	-	16	0.7-1.1

⁶ 複数のデータを、数値が小さい方から順番に並べたときにちょうど中央にくる値。

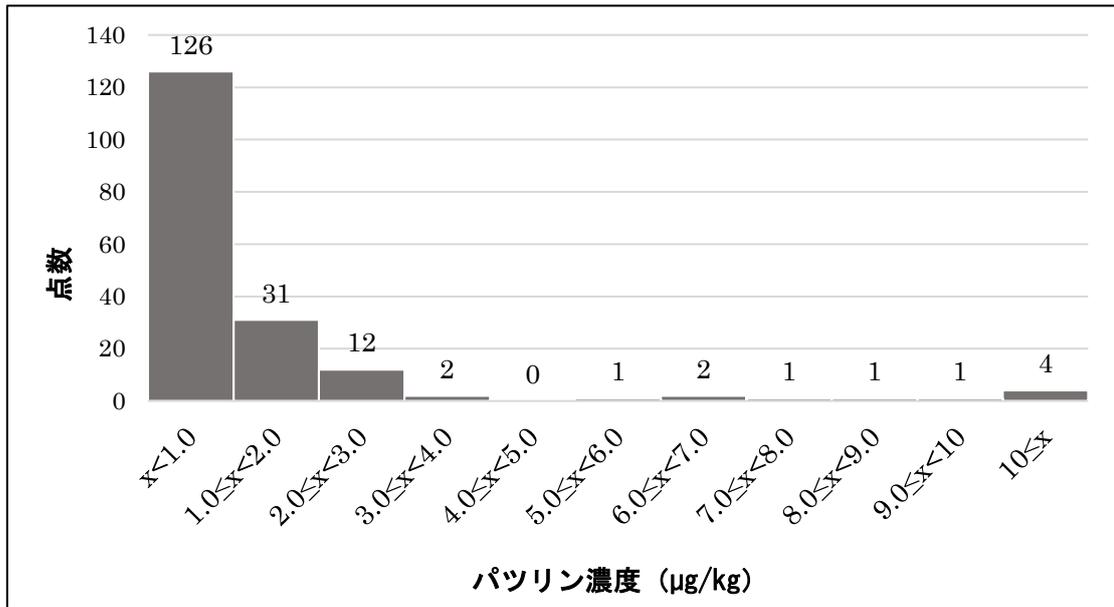


図2 原料りんご果汁のパツリン濃度分布 (n=181)

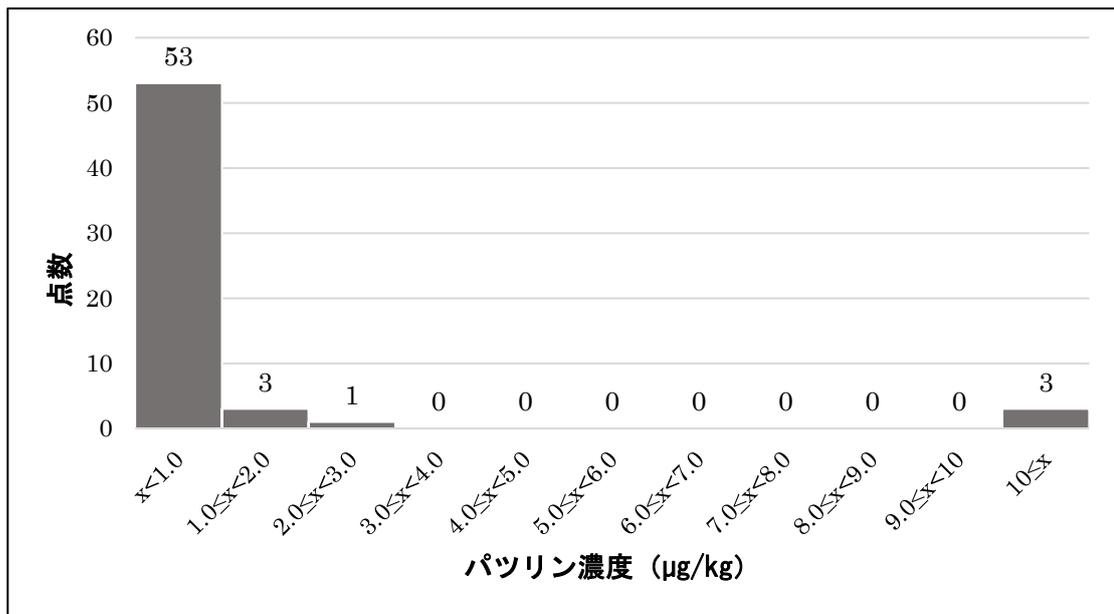


図3 市販品のりんご果汁のパツリン濃度分布 (n=60)

3.2. なし果汁中のパツリン濃度

調査結果を表6に示しました。市販品のなし果汁60点について、パツリンの濃度を分析したところ、1点を除いて全てLOQ未満でした。また、なし果汁には食品衛生法に基づく基準値は定められておりませんが、パツリンが検出されたなし果汁のパツリン濃度は2.0 µg/kgであり、りんご果汁における基準値(50 µg/kg)よりも十分低い濃度でした。

表6 市販品のなし果汁のパツリン濃度

調査 点数	LOQ未満の 点数(割合)	濃度 (µg/kg)			平均値 (LB-UB [※])
		最小値	中央値	最大値	
60	59 (98%)	<1.0	-	2.0	0.03-0.5

※日本なしと西洋なしで LOD の値が異なっていたことから、平均値の計算に当たっては高い方の値である 0.5 µg/kg として UB を算出しています。

4. 考察

4.1. 果汁タイプによるパツリン濃度の比較

りんご果汁には透明タイプと混濁タイプの 2 種類があります。一般に、透明タイプの果汁はペクチン処理と膜ろ過が、混濁タイプの果汁は酸化防止剤の添加が行われており、製造工程が異なります。

果汁タイプ別の調査結果は表 7 に示すとおりです。透明タイプ試料と混濁タイプ試料の間に統計学的な違いがあるかどうか確認するため、原料用りんご果汁試料について、Mann-Whitney U test (有意水準 5%) を行ったところ、試料の清濁による違いはありませんでした。なお、りんご果汁の混濁タイプの調査では、試料によって LOD の値が異なっていたことから、検定に当たっては LOD の値を 0.4 µg/kg とし、それ未満の値を 0 として計算しています。

今回調査を行った原料用りんご果汁では、両タイプのパツリン濃度に統計学的に有意な差はなかったことから、製造工程の違いは、りんご果汁中のパツリン濃度に大きな影響を与えないと考えられます。

表7 りんご果汁の果汁タイプ別パツリン濃度

試料の種類	調査 点数	LOQ [※] 未満の 点数(割合)	濃度 (µg/kg)		
			最小値	中央値	最大値
原料用 りんご果汁	181	112 (62%)	<0.6	-	26
透明	38	17 (45%)	<0.6	0.6	7.4
混濁	143	95 (66%)	<0.9	-	26

※透明タイプの LOQ は 0.6 µg/kg。混濁タイプは試料によって LOQ の値が異なっていたことから LOQ を 0.9 µg/kg として計算しています。

4.2. 前回実施した国産の原料りんご果汁の調査との比較

農林水産省は、平成 14 年度から 17 年度にも、国産の原料りんご果汁のパツリン濃度を調査しました。今回調査と同様に、調査点数は搾汁実績に基づいて配分しています。

前回調査と今回調査で、国産の原料りんご果汁中のパツリン濃度に統計学的な違いがあるかどうかを調べるため、パツリン濃度が 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の試料の比率について Wald 法による 95% 区間推定を行いました。年度別の調査結果は表 8 に示すとおりです。前回調査ではパツリン濃度が 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の試料は全体の 7.4% (95% 信頼区間: 5.3-9.4%) であったのに対し、今回調査では 2.2% (95% 信頼区間: 0.1-4.4%) であり、今回調査は前回調査と比べて、パツリン濃度が高い試料の割合が低くなっていました。

また、今回調査では、前回調査よりも高感度の分析法を使用したことにより、より低濃度 (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満) のパツリンを検出、定量することができました。一部の試料に低濃度のパツリンが含まれていたものの、すべての試料が基準値を満たしていました。

表 8 前回実施した調査との比較

調査年度	調査 点数	10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満の 点数 (割合)	濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
			最小値	中央値	最大値
平成 14-17 年度	639	592 (92.6%)	<1.0	-	37
平成 28-29 年度	181	177 (97.8%)	<0.6	-	26

4.3. パツリンの経口摂取量の点推定

今回の調査結果をもとに、国産りんご果汁を摂取した場合に健康への影響があるかどうかを検討するため、パツリン濃度が中央値の果汁を摂取した場合を想定した経口摂取量の点推定を行いました。

りんご果汁の平均摂取量を過小評価しないよう、厚生労働省の平成 29 年国民健康・栄養調査の報告における年齢、性別ごとの果汁・果汁飲料の平均摂取量をりんご果汁の平均摂取量と仮定しました。体重は同調査の年齢、性別ごとの平均体重データを使用しました。

原料りんご果汁のデータから、LOD 未満のパツリン濃度を LOD と同値、LOD 以上 LOQ 未満のパツリン濃度を LOQ と同値とした場合の中央値 (0.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$) を算出しました。推定される経口摂取量の値を表 9 に示しました。点推定の結果、年齢及び性別ごとの日本人の一日当たりのパツリン経口摂取量は 0.000071~0.0011 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重であると推定されました。

FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA) は 1995 年にリスク評価を行い、

パツリンの暫定最大耐容一日摂取量⁷ (PMTDI) を 0.4 µg/kg 体重/日と決めました。また、厚生労働省も 2002 (平成 14) 年に、同様に暫定耐容一日摂取量⁷ (PTDI) を 0.4 µg/kg 体重/日と決めました。

今回の調査結果から求めたパツリンの経口摂取量を PTDI と比較したところ、いずれの年齢集団及び性別においても PTDI よりも十分に低いことが分かりました。一般に、大人よりも子供の方が体重当たりの化学物質等の経口摂取量が多くなります。特に、果汁飲料については、乳幼児や子供は体重当たりの摂取量が多く、乳幼児や子供の体重当たりのパツリン経口摂取量は大人の 4.1~15 倍となりますが、最も多い 1-6 歳の男性で、PTDI の約 400 分の 1 でした。このことから、国産りんご果汁中のパツリンが日本人の健康に悪影響を与えることはないと考えられます。

表 9 パツリンの中央値から推定される経口摂取量

年齢集団	果汁・果汁飲料摂取量 (g/人/日)		体重 (kg)		パツリン経口摂取量 (µg/kg 体重/日)	
	男性	女性	男性	女性	男性	女性
1-6 歳	24.3	17.2	15.5	15.1	0.0011	0.00080
7-14 歳	30.7	24.7	36.7	35.7	0.00058	0.00048
15-19 歳	33.5	31.4	61.4	51.3	0.00038	0.00043
20 歳以上	6.8	8.0	67.0	53.6	0.000071	0.00010

なお、市販品のりんご果汁及び市販品のなし果汁の中央値は、原料用りんご果汁の中央値よりも低かったことから、国産なし果汁中のパツリンについても、日本人の健康に悪影響を与えることはないと考えられます。

5. 結論

今回調査を行った国産の原料用りんご果汁と市販品のいずれも、一部の試料には低濃度のパツリンが含まれているものの、パツリン濃度は食品衛生法に基づく基準値よりも十分に低く、健康への悪影響はないと考えられます。この結果から、果実生産者や果汁製造事業者が行っている対策は現在でもりんご果汁のパツリン汚染防止に有効であることを確認しました。

また、国産なし果汁については、パツリンはほとんど含まれておらず、健康に悪影響を与える可能性は無視できる程度であることが分かりました。

6. 今後の予定

JECFA は、1995 年に、「子供及び成人の推定最大ばく露量は PMTDI を十分下回ってはいるものの、りんご果汁は時折高濃度でパツリンに汚染されうることから、腐った又

⁷ 意図的に使用されていないにもかかわらず食品中に存在する物質について、ヒトが一生涯にわたって毎日摂取し続けても、健康への悪影響がないと考えられる 1 日当たりの摂取量

はかびた果実の使用を避け、パツリン暴露を最小限にする継続的な努力が必要である」と勧告しました。

りんご果汁のパツリンについては、食品衛生法に基づいて定められている基準値が遵守されるよう、引き続き、りんご果実の丁寧な取扱い、腐敗果の除去、適切な温度及び湿度での果実の保管、自主検査の実施等、原料のりんご果実及びりんご果汁におけるパツリン汚染防止に向けた取組を促す情報発信を行います。

また、必要に応じて、現行の低減対策の有効性を確認するため、りんご果汁に含まれるパツリンの含有実態調査を行います。

りんご以外の果汁についても、国内外でパツリンによる汚染が報告されるものがあれば、国産果実を原料とする果汁を対象として、リスク管理措置の必要性を検討するための含有実態を調査します。