

論文番号	S-38
タイトル	A rapid screening method to test apoptotic synergisms of ochratoxin A with other nephrotoxic substances
雑誌名	Toxicology in vitro
巻	19
最初のページ~最後のページ	135-143
発行年	2005
著者名(姓.名)	Weber F, Freudinger R, Schwerdt G, Gekle M.

要約

人間の体は、同時に複数の腎毒性物質に暴露される可能性があり、従来の方法を用いて複合的な腎毒性の多くの影響を測定することは、急がれるべき大きな課題である。従って我々は、腎上皮細胞系におけるオクラトキシンA(OTA)、シスプラチン、カドミウム、H₂O₂そしてアンホテリシンBのような細胞毒性あるいは腎毒性物質として知られているこれらの物質が同時に存在した際のアポトーシスの可能性を調査するため、迅速で経済的な方法を開発した。細胞は96穴プレートにまき、腎毒性物質の異なった組み合わせによるアポトーシスや壊死の可能性を測定した。我々は、様々な毒性物質が拮抗あるいは付加する濃度により結果が異なるということを見出し、OTAと組み合わせた場合、カスパーゼ-3活性が増強することがわかった。我々は、腎臓細胞へのOTAと他の化合物との同時暴露での影響を化合物の濃度や細胞系別に調査した結果、アポトーシスの増強や減弱は同時に暴露した化合物に依存することを結論づけた。“無害”な化合物は、OTAあるいはそれ以外の有毒物質が同時に存在するとき、強力な細胞毒性物質に変化するだろう。相乗効果のメカニズムはわかっていない。

論文番号	S-39
タイトル	Array biosensor for detection of ochratoxin A in cereals and beverages
雑誌名	Analytical chemistry
巻	77
最初のページ~最後のページ	148-154
発行年	2005
著者名(姓.名)	Ngundi MM, Shriver-Lake LC, Moore MH, Lassman ME, Ligler FS, Taitt CH

要約

マイコトキシンによる食品汚染は、微量で発生するので、これらのトキシンを検出し定量できる高い感度と選択性のある装置が必要である。我々は、オクラトキシンA(OTA)の検出、定量のための迅速で高感度なアレイバイオセンサーの開発を行ったので報告する。このアレイバイオセンサーは、競合的免疫測定方式である。固定したOTA誘導体は、試料中に添加した蛍光抗OTA抗体と結合させるため、溶液中でトキシンと競合させた。この競合は、導波管表面での蛍光免疫複合体を測定することにより定量できる。蛍光シグナルは飼料中のOTA濃度と反比例している。緩衝液中でのOTA測定は、様々な食品や飲料で行った。試料は、測定前の試料精製や濃縮工程を行わず、メタノールで抽出した。穀類でのOTAの検出限界は3.8から100ng/gで、コーヒーとワインの検出限界はそれぞれ7ng/gと38ng/gであった。

論文番号	S-40
タイトル	Determination of ochratoxin A in wine by liquid chromatography tandem mass spectrometry after combined anion-exchange/reversed-phase clean-up
雑誌名	Analytical and bioanalytical chemistry
巻	381
最初のページ~最後のページ	1592-1595
発行年	2005
著者名(姓.名)	Reinsch M, Topfer A, Lehmann A, Nehls I.

要約

オクラトキシンA(OTA)は、Aspergillus ochraceusやPenicillium verrucosumに産生されるマイコトキシンである。多くの食品や飼料が分析され、検出されている。その毒性や食品、飼料汚染のため、European Communityは管理を指導し、いくつかの国では食品や飼料、飲料に対し独自にOTA化合物の規制値を設けている。本研究では、温めて甘味や香料を加えるワインや赤ワインのOTA検出法を述べる。陰イオン樹脂と逆相樹脂を組み合わせ精製し、高速液体クロマトグラフ質量分析計(MRMモード)で測定した。方法は、OTA濃度が1.34から3.48 μ g/kgの自然汚染ワイン試料と添加ワイン試料で確認した。この方法は、正確で再現性、繰り返し精度が高く簡便であるので、高速液体クロマトグラフ蛍光検出に代わる方法である。

論文番号	S-41
タイトル	Ochratoxin A: an improvement clean-up and HPLC method used to investigate wine and grape juice on the Polish market
雑誌名	Food additives and contaminants
巻	22
最初のページ~最後のページ	158-162
発行年	2005
著者名(姓.名)	Czerwiecki L, Wilczynska G, Kwiecien A.

要約

オクラトキシンA(OTA)測定のために適したワイン、グレープジュース、グレープジュース飲料でのルーチン測定法を示し、ポーランドの市場での人気のある赤ワイン、グレープジュース、グレープジュース飲料中のマイコトキシン汚染を調査した。イムノアフィニティカラムで精製した後、蛍光波長330nmと460nmの蛍光検出器を用いた逆相HPLCにより測定した。非汚染ワイン試料に添加したOTA回収率は、60から82%、RSDは5から14%であった。グレープジュース、グレープジュース飲料に添加した時のOTA回収率は、80から100%、RSDは7から10%であった。全ての試料での検出限界と定量限界はそれぞれ0.5ng/lと2.0ng/lであった。赤ワインの53試料とグレープジュース、グレープジュース飲料の7試料は、この測定法で分析した。OTAは、ワイン試料で最も多く検出され(92%)、その濃度範囲は2.2から6710ng/lであった。全てのグレープジュースとグレープジュース飲料でのOTA濃度範囲は、1.6から64.7 ng/lであった。

論文番号	S-42
タイトル	Analysis of duplicate 24-hour diet samples for aflatoxin B1, aflatoxin M1 and ochratoxin A
雑誌名	Food additives and contaminants, 22(2), (2005)
巻	22
最初のページ~最後のページ	163-172
発行年	2005
著者名(姓.名)	Sizoo EA, van Egmond HP.

要約

1994年の春と秋に、24時間に繰り返しあるいは重複して摂取したのべ123種の食品でのトータルダイエツトスタディを行った。この研究は、経口一日摂取量を設定するためこれらの摂取した食品中のリスクに関連する値を決定することが目的である。農薬、PCB、元素、ステロール、硝酸塩、亜硝酸塩そして脂肪酸の測定の後、繰り返し摂取した食品におけるアフラトキシンM1、アフラトキシンB1そしてオクラトキシンAを測定した。この目的のために、低濃度でこれらのマイコトキシンの同時測定ができる分析方法を開発した。この方法は、クロロホルム抽出、液-液抽出、イムノアフィニティ精製そして液体クロマトグラフにより行った。この方法は、アフラトキシンM1、アフラトキシンB1そしてオクラトキシンAに相当するクロマトグラムのピークを確認する手法で行った。方法は研究室内バリデーションを行った。回収率の範囲はそれぞれ、アフラトキシンM1で68-74% (添加濃度は30-120 ng/kg, c.v. 7.6%)、アフラトキシンB1で95-97% (添加濃度は50-200 ng/kg, c.v. 2.8%)、そしてオクラトキシンAで75-84% (添加濃度は150-600 ng/kg, c.v. 4.3%)であった。定量限界(S/N比を10と定義した場合)は、凍結乾燥物質においてアフラトキシンM1、アフラトキシンB1そしてオクラトキシンAそれぞれで4ng/kg, 5ng/kgそして16ng/kgであった。24時間に摂取した123試料は、新しく開発した方法で分析した。アフラトキシンM1は試料の48%で検出され、トキシン濃度は全ての試料で定量限界以下であった。アフラトキシンB1は、試料の42%で検出され、定量限界以上は試料の25%であった。オクラトキシンAは全ての試料で検出された。測定結果は、トキシン摂取レベルを概算するためにさらに計算された。アフラトキシンの摂取レベルは非常に低く、値を概算することができなかった。オクラトキシンA摂取量の平均は、1.2 ng/kg bw/dayであった。これは、JECFAが設定した耐用一日摂取量の14 ng/kg bw/dayよりかなり低い。オランダでのオクラトキシンAの現在の食品摂取量は、はっきりとした健康リスクは引き起こさないということが結論づけられた。

論文番号	S-43
タイトル	Determination of ochratoxin A in Portuguese rice samples by high performance liquid chromatography with fluorescence detection
雑誌名	Analytical and bioanalytical chemistry
巻	382
最初のページ~最後のページ	1288-1293
発行年	2005
著者名(姓.名)	Pena A, Cerejo F, Lino C, Silveira I.

要約

米中のオクラトキシンA(OTA)測定のための、リン酸塩緩衝液とメタノールで抽出、精製はイムノアフィニティカラム(IAC)、蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフ(HPLC-FD)に基づいた高感度で正確な分析法を示す。示した方法の定量限界は、0.05 μ g/kgであった。0.05 μ g/kgを添加した米試料からのOTA回収率は、92%、日内RSDは5.4%であった。示した方法は、ポルトガル産の42米試料に適用し、OTA検出は6試料であり、濃度範囲は0.09 - 3.52 μ g/kgであった。OTAの確認は、メチルエステル誘導体化し、その後HPLC測定により確認した。ポルトガル国民のOTA一日摂取量もまた概算した。

論文番号	S-44
タイトル	Automated on-line solid-phase extraction-liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry method for the determination of ochratoxin A in wine and beer
雑誌名	Journal of agricultural and food chemistry
巻	53
最初のページ~最後のページ	5518-5525
発行年	2005
著者名(姓.名)	Bacaloni A, Cavaliere C, Faberi A, Pastorini E, Samperi R, Lagana A.

要約

アルコール飲料中のオクラトキシンA(OTA)の測定のために、固相抽出-液体クロマトグラフ-エレクトロスプレータンデム質量分析(SPE-LC-ESI-MS/MS)を自動オンライン化した方法を開発した。ビールとワインの平均回収率はそれぞれ75%、82%であった。測定は、マルチリアクションモニタリング(MRM)モードあるいはエンハンスドプロダクトイオン(EPI)モードにより、3番目の四重極にリニアイオントラップのあるQ TRAP質量分析計でネガティブイオン化により測定した。MRMモードはより高感度であることがわかり、外挿計算で0.01-25 ng/mLの範囲でOTAの正確な測定ができる。日内と日間のそれぞれの変動係数は、6.2%以下、9.1%以下であった。EPIモードでは、フラグメンテーションしたスペクトルの定量限界は、0.03ng/mLで、高い直線性が得られた。地元店で購入したワインとビール試料分析のために適用した方法(MRMモード)において、OTA濃度範囲は、ワインでは0.03-1.44 ng/mL、ビールでは0.02-0.14 ng/mLであった。

論文番号	S-45
タイトル	Determination of selected mycotoxins in mould cheeses with liquid chromatography coupled to tandem with mass spectrometry
雑誌名	Food additives and contaminants
巻	22
最初のページ~最後のページ	449-456
発行年	2005
著者名(姓.名)	Kokkonen M, Jesto M, Rizzo A.

要約

チーズ中の9種のマイコトキシンを測定するため、簡便に行う方法を示した。方法は、溶媒抽出を行い、次に高速液体クロマトグラフで分離し、質量分析計で測定した。そしてアフラトキシンB1、B2、G1、G2、M1、オクラトキシンA、マイコフェノリック酸、ペニシリウム酸そしてroquefortine Cの同時測定を行った。5-200 μ g/kgの範囲の濃度を添加した試料のマイコトキシン平均回収率は、96-143%であった。これらの濃度での日内変動は、2.3-12.1%であった。アフラトキシンM1の定量限界は、0.6 μ g/kgでありその他のマイコトキシンは、5 μ g/kgであった。フィンランドの店舗で購入した青チーズと白チーズ中のこれらのマイコトキシン測定を開発した方法で行った。roquefortine Cは、全てのブルーチーズ試料から検出され、濃度は0.8-12 mg/kgであった。1つのブルーチーズから、0.3 mg/kgのマイコフェノリック酸が検出された。他の検査したマイコトキシンは、試料から検出されなかった。

論文番号	S-46
タイトル	Development of a sensitive enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of ochratoxin A
雑誌名	Journal of agricultural and food chemistry, 53(17),
巻	53
最初のページ~最後のページ	6947-6953
発行年	2005
著者名(姓.名)	Yu FY, Chi TF, Liu BH, Su CC.

要約

オクラトキシンA(OTA)のポリクローナル抗体を、OTA- γ -グロブリンかOTA-キーホールリンペットヘモシアニン(KLH; keyhole limpet hemocyanin)のどちらかを免疫したウサギから生成させた。競合的direct enzyme-linked immunosorbent assay (cdELISA)と競合的間接ELISA (ciELISA)が、抗体の特性を確認し、様々な農産物中のOTA測定を行うため用いられた。OTA- γ -グロブリンで免役したウサギ血清中の抗体価は、OTA-KLHで免役したそれよりも非常に高かった。OTA- γ -グロブリンで免役したウサギの抗体は、さらなる特徴がわかった。OTA及びオクラトキシンB(OTB)、オクラトキシンC(OTC)抗体に対するOTA-hoseradishペルオキシダーゼの結合50%阻害濃度(IC(50))は、それぞれ90、110、0.54 ng/mLであった。10から250 ng/gの濃度のOTA標準溶液を大豆に添加し、その後50%含水メタノールで抽出した際のOTAの回収率は、cdELISAにおいて85.9%であった。様々な農産物のOTA測定の結果、20試料中12試料でOTAが検出され、16から160 ng/gの濃度であった。cdELISAの有効性は、高速液体クロマトグラフ法により確認された。

論文番号	S-47
タイトル	Determination of ochratoxin A at part-per-trillion level in Italian salami by immunoaffinity clean-up and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection
雑誌名	Journal of chromatography. A
巻	1090
最初のページ~最後のページ	184-187
発行年	2005
著者名(姓.名)	Monaci L, Palmisano F, Matrella R, Tantillo G.

要約

低濃度のpptレベルでのイタリア産サラミ中のオクラトキシンA(OTA)の測定をするため迅速な高速液体クロマトグラフ法を示した。試料は酢酸エチルで抽出し、イムノアフィニティカラム(IAC)で精製した。IAC精製溶液は、直接あるいは10倍濃縮し注入した。0.5 ng/gと1 ng/gの濃度での回収率は、77+/-4%であった。1 ng/gを添加した試料において5日以上測定した際の日間変動係数は、8%であった。開発した方法は、ハロゲン元素を含んでいない有機溶媒を比較的少量しか使用せず、全体の操作は、既存の方法と比較し簡便、迅速である。検出限界は、濃縮することにより低くなり、0.06 ng/gであった。この方法により全部で30種のサラミ試料を分析し、最大汚染試料は、0.4 ng/gのOTA濃度であった。

論文番号	S-48
タイトル	Ochratoxin A in sultanas from Turkey I: Survey of unprocessed sultanas from vineyards and packing-houses
雑誌名	Food additives and contaminants
巻	22
最初のページ~最後のページ	1138-1143
発行年	2005
著者名(姓.名)	Meyvaci KB, Altindisli A, Aksoy U, Eltem R, Turgut H, Arasiler Z, Kartal N.

要約

重炭酸ナトリウム溶液(2% NaHCO₃)を抽出に用い、イムノアフィニティ精製、蛍光検出器による液体クロマトグラフによるオクラトキシンA(OTA)の検出法は、トルコ産の種なし干しぶどう中のOTAの発生頻度とその汚染レベルを検査するために用いられた。研究室内バリデーションを行い、0.15、1.5、5.0、10 μg/kgの添加試料において回収率はそれぞれ91、93、87そして89%であった。トルコ産の種なし干しぶどうでの検出限界及び定量限界は、それぞれ0.026及び0.09 μg/kgであった。OTA汚染調査は、1998年から2000年に生産され、ぶどう園や缶詰工場から毎年集められた加工していない種なし干しぶどう264試料で行った。加工していない種なし干しぶどうの測定の結果、試料全体の32.2%がOTA不検出であったが、9.8%は10 μg/kg以上であり、残りの58%は0.026-10 μg/kgの範囲内であった。中央濃度(median)において年により大きな違いがあった。生産年別に見ると、1998年と2000年に生産された種なし干しぶどうは、OTA汚染濃度は低かった(中央濃度0.02 μg/kg以下)が、2002年は高い値であった(中央濃度4.3 μg/kg)。全体のOTA平均汚染濃度は、3.4 μg/kgで、中央濃度は、0.9 μg/kgであった。測定試料においてOTA最大検出濃度は、54 μg/kgであった。

論文番号	S-49
タイトル	Ochratoxin A and citrinin loads in stored wheat grains: impact of grain dust and possible prediction using ergosterol measurement
雑誌名	Food additives and contaminants
巻	23
最初のページ~最後のページ	181-189
発行年	2006
著者名(姓.名)	Tangni EK, Pussemier L.

要約

穀類の貯蔵は、安全な製品を確保するため、衛生的な条件の下で行うべきであるが、時々前回貯蔵した穀類の粉末が堆積し、次に貯蔵した穀類に混入する可能性がある。この論文は、貯蔵小麦中の穀類粉末混入の影響と汚染の直接の影響だけでなく汚染源としての影響を検査するため、研究室モデルを作成し得られた結果を示した。ベルギーの穀類貯蔵庫から得られた堆積穀類粉末(4検体)を集め、エルゴステロール、オクラトキシンA(OTA)、シトリニン(CIT)の含有量をHPLCで測定した。OTA、エルゴステロールは、粉末から幅広い範囲で高濃度の汚染があり(それぞれ17.3-318ng/g、39-823 μg/g)、CITは濃度範囲は小さかった(137-344ng/g)。貯蔵小麦中の穀類粉末の混入は、貯蔵穀類のマイコトキシン濃度の増加に影響を及ぼす。粉末は、汚染物質そして汚染接種源として働く。これら二つによるマイコトキシン生成のパターンは、マイコトキシンの性質と小麦中の粉末及び水分活性による潜在的なマイコトキシン産生能により異なる。OTAとCITは、ある実験的条件下でのトキシン産生量を考える場合、非常に不安定な印象がある。粉末中のマイコトキシン産生能を予測するための手段の開発は、菌量の一般的な指標としたエルゴステロール含有量の測定に基づいている。現時点での結果は、この予測手段は、適度な湿度(14-20%)でのCITとOTAの汚染レベルの予測にのみ有効であるだろうことを示唆している。貯蔵を繰り返すことにより高レベル汚染の潜在的な危険性が現れるかもしれないので、この論文では、湿潤あるいは乾燥貯蔵条件下でのOTAとCIT汚染を発生させる可能性のある経路について議論した。したがって我々は、原料の保存に適したレベルの湿度の制御と維持だけでなく、新しく収穫した穀類を貯蔵する前に、貯蔵庫の掃除に注意を払った予防処置をとることを推奨する。

論文番号	S-50
タイトル	Occurrence and daily intake of ochratoxin A of organic and non-organic rice and rice products
雑誌名	International journal of food microbiology
巻	107
最初のページ～最後のページ	223-227
発行年	2006
著者名(姓,名)	Gonzalez L, Juan C, Soriano JM, Molto JC, Manes J.

要約

オクラトキシンA(OTA)は、84種の米と米加工試料から迅速な溶媒抽出(ASE)により抽出され、蛍光検出器による液体クロマトグラフ法により測定された。試料は、米栽培農家、地方の市場、スーパーマーケットから集められ、64種は非有機栽培、20種は有機栽培の製品であった。非有機栽培試料の7.8%は、OTA汚染が4.3から27.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ で、有機栽培試料の30%は、1.0から7.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の汚染が検出された。OTAの確認は、メチルエステル誘導化により確認された。生産元の種類が示された米や米製品は、適正農業基準(good agricultural practices; GAPs)、適正安全基準(good manufacturing practices; GMPs)、そしてハザップ(the hazard analysis and critical control point; HACCP)のような食品安全基準に基づいた製品であるため、OTAは検出されなかった。OTAの推定一日摂取量は、0.17 ng/kg b.w./dayである。この値は、測定された試料の毒性リスクに対する最小の影響を示している。

分担研究報告書

食品のカビ毒汚染実態に関する研究

熊谷 進

厚生労働科学研究費補助金
(食品の安心・安全確保推進研究事業)

食品のカビ毒汚染実態に関する研究

分担研究報告書

分担研究者	熊谷 進	東京大学大学院 農学生命科学研究科
協力研究者	石黒瑛一	(独)肥飼料検査所本部
	伊藤嘉典	国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部
	甲斐茂美	神奈川県衛生研究所
	小西良子	国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部
	田端節子	東京都健康安全研究センター
	田中敏嗣	神戸市環境保健研究所
	中島正博	名古屋市衛生研究所
	法月廣子	(財)日本穀物検定協会
	藤田和弘	(財)日本食品分析センター
	高橋正紀	(社)全日本検数協会

要旨

市販食品235試料についてアフラトキシンB1、B2、G1、G2を、また、市販食品367試料についてオクラトキシンAを、それぞれHPLCを用いて分析した。さらに、市販食品204試料について、フモニシンB1、B2、B3をLC/MSを用いて分析した。その結果、アフラトキシンは、市販の殻付きピーナッツ、ピーナッツ、コーングリッツ、ポップコーン、スイートコーン、コーンフレーク、ゴマ油、米、豆菓子からは検出されなかったが、ピーナッツバターの一部より0.7 µg/kg未満の濃度のAFB1が検出された。オクラトキシンAは、コーンフレーク等のとうもろこし製品、グレープジュース、米からは検出されなかったが、レーズン、ワイン、ビール、生コーヒー豆、煤煎コーヒー、そば粉、そば麺、ライ麦、小麦粉、オートミールの一部から検出され、その濃度は大部分が1 µg/kg未満であった。フモニシンは、押麦、そば粉、そば麺、精白米からは検出されなかったが、ポップコーン、コーングリッツの多くより、数十 µg/kg以下、一試料から185 µg/kgのフモニシンB1が検出された。

A. 研究目的

2001年にJECFAにより健康評価が行われたアフラトキシンM1、フモニシン、オクラトキシンA、デオキシニバレノール、T-2トキシン、HT-2トキシン、フモニシン、オクラトキシンA、デオキシニバレノール、T-2トキシン、HT-2トキシン(1)

のうち、アフラトキシンM1とデオキシニバレノールについては、乳と小麦を対象として我が国の汚染実態を究明し、その結果に基づいて必要な対策を講じた。しかし、その他のものについては食品の汚染実態は、暴露評価に耐え得るデータは得られていない。これらのうち、各国での規制状況及びコーデックスでの検討状況から、フモニシンとオクラトキシンAによる食品の汚染実

態の究明がとくに優先度が高いと考え、本研究の調査対象とした。

アフラトキシンについては、我が国においては現在に至るまで約40年間、B1のみに対して10 μ g/kgの基準で規制が行われてきた。我が国の規制についても見直しが必要かどうかを判断するために、アフラトキシンについても汚染実態調査を行なうこととした。

前年度、我が国の市販食品におけるアフラトキシンB1、B2、G1、G2、フモニシンB1、B2、B3、オクラトキシンAの汚染実態を明らかにするために、過去の知見に照らして各カビ毒に汚染されやすいと考えられる食品を収集し、それら食品についてクリーンアップ方法を含め予め検討した分析法を用いて、各カビ毒の分析を行なった。平成17年度は、前年度と同じカビ毒を対象とし、同じ分析法を用いて市販食品の汚染実態調査を行なった。

前年度対象とした食品に加え、平成17年度は、アフラトキシンに関しては豆菓子、オクラトキシンAに関してはチョコレート、インスタントコーヒー、グレープジュース、パスタを、フモニシンに関してはコーンフレーク、米、大豆、コーンスープ、コーンスターチを調査対象食品とした。

B. 研究方法

試料

小麦粉は農林水産省から提供されたものを、その他の食品はスーパー等で購入したものを、それぞれ分析試料とした。

アフラトキシンの分析

試料をミキサーまたは遠心粉碎器で粉碎し混合してから、塩化ナトリウムとメタノール水(8+2)を加え、ホモジナイズ抽出した。ろ紙(Whatman No.4)でろ過し、得られたろ液をPBSで希釈し、イムノアフィニティーカラム(EASI-EXTRACTアフラトキシン(R-Biopharm Rhone社))でクリーンアップを行なった後、アフラトキシンをア

セトニトリルで溶出した。溶出液をトリフルオロ酢酸で処理してから、または処理せずに、HPLC(ODSカラム:4.6mm i.d.×250mm、5 μ m、移動相:アセトニトリル-メタノール-水(1+3+6)、流速:1ml、蛍光検出器:励起波長360nm、蛍光波長450nm)による分析に供した。

なお、ごま油、ピーナッツ、ピーナッツバターについては、メタノール-水ではなくクロロホルムで抽出し、フロリジルカラム(クロロホルム・メタノール(9:1)で洗浄、アセトン・水(99:1)で溶出)でクリーンアップを行ない、溶出液をトリフルオロ酢酸で処理しHPLCで分析するとともに、処理せずにシリカゲルHPTLC(クロロホルム・アセトン(9:1)、エーテル・メタノール・水(94:4.5:1.5))で分析した。

オクラトキシンAの分析

固体試料はミキサーあるいは遠心粉碎器等で粉碎し、均一になるように良く混合してから、コーン製品やパスタを含めた穀類およびチョコレートについてはアセトニトリル-水(6+4)で、レーズンについてはメタノール-1%炭酸水素ナトリウム水溶液(7+3)で、コーヒー豆およびコーヒー製品については1%炭酸水素ナトリウム水溶液を用いてそれぞれホモジナイズ抽出した。ワイン、ビールについては1%ポリエチレングリコール8000-5%炭酸水素ナトリウム水溶液を加え混合した。抽出物または混合物をろ紙でろ過し、抽出物のろ液についてはPBSで希釈し、イムノアフィニティーカラム(オクラプレップ(R-Biopharm Rhone社))でクリーンアップを行なった。オクラトキシンAをメタノール-酢酸(98+2)で溶出し、HPLC(ODSカラム:4.6mm i.d.×250mm、5 μ m、移動相:アセトニトリル-水-酢酸(55+43+2)、流速:1ml/min、蛍光検出器:励起波長333nm、蛍光波長460nm)による分析に供した。

フモニシンの分析

試料をミキサーまたは遠心粉碎器で粉碎し混合してから、メタノール-水 (3+1) を加え、振とう抽出した。ろ紙 (Whatman No. 4) でろ過し、得られたろ液をイオン交換カートリッジカラム (Bond Elut LRC (VARIAN)) でクリーンアップを行なった。メタノール-酢酸 (99+1) 溶出液を LC/MS (カラム: ZORBAX Eclipse XDB-C18) による分析に供した。

C. 研究結果

アフラトキシンは、235 試料のうち、市販の殻付きピーナッツ、ピーナッツ、コーングリッツ、ポップコーン、スイートコーン、コーンフレーク、ゴマ油、米、豆菓子からは検出されなかったが、ピーナッツバター 20 試料のうち 5 試料から 0.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満の濃度が検出された (表 1、参考資料 (個票))。日本産のピーナッツバターの AFB1 からも検出されたが、この原料ピーナッツの由来は不明である。そば粉については 10 試料中 4 試料から検出され、そば麺については 20 試料中 2 試料から検出された。いずれも、原材料の由来は不明であった。

オクラトキシン A は、コーンフレーク等のとうもろこし製品、グレープジュース、米からは検出されなかったが、レーズン、ワイン、ビール、生コーヒー豆、煤煎コーヒー、そば粉、そば麺、ライ麦、小麦粉、オートミール、パスタ、チョコレートの一部から検出され、その濃度は大部分が 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満であった (表 2、参考資料 (個票))。しかし、インスタントコーヒーについては 10 検体すべてに定量限界以上の汚染が認められ、最高 4.23 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の汚染が認められた。

フモニシンは、押麦、そば粉、そば麺、精白米からは検出されなかったが、ポップコーン、コーングリッツの多くより、数十 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以下、一試料から 185 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上のフモニシン B1 が検出された (表 3、参

考資料 (個票))。また、その他とうもろこし製品にも汚染は認められた。今年度新たに調査した大豆については国産品に 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満のフモニシン B1 汚染が認められた。

今年度新たに追加した食品については、回収率を調べたが、その結果、70%を超える回収率が得られたことから、方法が妥当であることが判明した (表 4)。

D. 考察

JECFA により推定されたアフラトキシン B1 の発がんリスク、フモニシンとオクラトキシン A の PMTDI の値から、市販食品において前年度から今年度に認められたこれらカビ毒の汚染濃度によって健康障害が直ちに引き起こされることは考え難いことから、現時点で緊急的な対応をとる必要はないと考えられる。しかし、カビ毒による汚染は、気候の影響を受けやすく年次変化が大きいことが知られていることから、次年度も汚染実態調査を継続し、3年間の調査結果と合わせて暴露評価を行なうことによって、基準値の設定を含めた我が国におけるカビ毒の規制に活用する。また、コーデックス等にもデータを提供することによってカビ毒に関する国際的取り組みに貢献する。

アフラトキシンの汚染は、従来より世界的に、トーマロコシ、香辛料、ナッツ類にとくに高頻度で認められてきたが、大豆、小麦、米などの穀類にも低頻度ながらその汚染が報告されている (1-5)。我が国においてもこれまでに、市販食品の汚染実態調査によって、米製品、トーマロコシ、ゴマ製品、ナッツ類、香辛料のアフラトキシン汚染が報告されている (6)。本研究では、これら既報の汚染実態と前年の成績を踏まえ、汚染の可能性が考えられる 12 種類の食品を優先的に取り上げて調査を行なった結果、ピーナッツバターのみで定量下限値以上の濃度の汚染が認められた。ただし、

前年度に比し、汚染頻度と汚染濃度ともに低かった。しかし、スーダンのアフラトキシン汚染地帯において、ピーナッツバターが肝臓癌のリスク因子であることが報告されている(7)ことから、製造原料としてのピーナッツの情報を収集するとともに、さらに多数のピーナッツバターについて汚染実態調査を行い、また、我が国におけるピーナッツバターの消費形態の調査も並行して行なう必要がある。前年度は汚染が認められなかったそば粉とそば麺に低頻度ながらAFB1が検出されたことは、今後これら食品もアフラトキシン汚染のリスク食品として注視しなければならず、今後、原材料の由来を含め精査する必要がある。

オクラトキシンAについては従来より、小麦、大麦、燕麥、ライ麦、干しぶどう、ワイン、コーヒーに高濃度の汚染が比較的高頻度に認められてきた(1)。その他に、米、香辛料、オリーブ、豆類、ココア、チョコレート、ひまわり種子、ゴマ種子、肉類、乳、ビール、ソバに汚染が認められており、最近ではグレープジュースや冷凍ぶどうにも汚染が認められている(8-12)。前年度同様に今回の調査では、米ととうもろこし製品には汚染が認められなかった。またグレープジュースの汚染は懸念されていたが、認められなかった。しかし、それ以外の食品のいずれからも、一部または全部に汚染が認められた。干しぶどうの汚染の濃度は前年同様に高く、最高値8.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を示した。そば粉の汚染濃度は比較的的低く、検出例平均値は0.57 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であったが、検出例が半数に及んだことに加え、摂取量が比較的多い食品であることから、さらに汚染実態調査を継続するとともに、そばの製造工程中の減衰を究明することが必要と考えられる。今年度新たに加えたインスタントコーヒーは、全例0.12 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上で汚染されており、平均汚染源も生コーヒーや焙煎コーヒーよりも高いことから製造工程での濃縮や原料コーヒー豆の高濃度汚染の関与を究明する必要がある。

フモニシンはこれまでに、トーマロコシとその製品、米に汚染が認められてきた(1, 13)。本研究では前年度、ポップコーンとコーングリッツの全試料に、スイートコーンの一部にそれぞれ汚染が認められた。ポップコーンについては、B1汚染濃度の平均値として73.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ が、最高値として185 $\mu\text{g}/\text{kg}$ がそれぞれ認められ、またコーングリッツにも最高86.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、コーンスターチに最高62.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の汚染がそれぞれ認められた。米については前年同様に今年度も汚染が認められなかったが、今年度新たに加えた大豆には、国産にも拘らず3.3-6.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の汚染がみられたことから、今回も十分に注視していく必要がある。

カナダにおけるビールのAFB1汚染の実態が報告されているが、それによると1998-2002年産のビールについては、カナダ産 <0.7-1.4 ng/L、米国産 <0.7-1.5 ng/L、メキシコ産 <0.7-18 ng/L、カリブ産 <0.7-2.4 ng/L、インド産 <1.2-230 ng/L、アジア産(中国、香港、日本、シンガポール、台湾、タイ) <0.7-1.2 ng/Lの汚染が見出されている。本研究では、ビールをアフラトキシン調査の対象としてこなかったが、この報告を勘案し、次年度は東南アジア由来のビールを中心に調査を行なう必要があるであろう。

米のカビ汚染については、世界的にはこれまで、アフラトキシンやオクラトキシンの汚染が報告され、最近もフィリピンの国産米に最高8.33 $\mu\text{g}/\text{kg}$ のAFB1汚染が、またタイやベトナムからフィリピンに輸入された米に1.97 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の汚染が認められている。しかし、本研究では前年度と同様に今年度も米にはアフラトキシンとオクラトキシンAの汚染が認められなかったことから、こうした汚染はわが国の米には起きがたいものと考えられる。

E. 結論

アフラトキシンは、市販の殻付きピーナッツ、ピーナッツ、コーングリッツ、ポップコーン、スイートコーン、コーンフレーク、ゴマ油、米、豆菓子からは検出されなかったが、ピーナッツバターの一部より0.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満の濃度のAFB1が検出された。オクラトキシンAは、コーンフレーク等のとうもろこし製品、グレープジュース、米からは検出されなかったが、レーズン、ワイン、ビール、生コーヒー豆、煤煎コーヒー、そば粉、そば麺、ライ麦、小麦粉、オートミールの一部から検出され、その濃度は大部分が1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満であった。フモニシンは、押麦、そば粉、そば麺、精白米からは検出されなかったが、ポップコーン、コーングリッツの多くより、数十 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以下、一試料から185 $\mu\text{g}/\text{kg}$ のフモニシンB1が検出された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Y. Sugita-Konsihi, et al., Occurrence of Aflatoxins, Ochratoxin A and Fumonisin in Retailed Foods in Japan, *J. Food Prot.*, in press (2006)

2. 口頭発表

Y. Sugita-Konishi, S. Kumagai "Occurrence of Aflatoxins, Ochratoxin A and Fumonisin in Retailed Foods in Japan," 40th Toxic Microorganisms Joint Panel Meeting, Matsushima, Japan, Nov. (2005)

G. 引用文献

- (1) JECFA (2001) Safety evaluation of certain mycotoxins and food. WHO Food Additives Series 47.
- (2) Scudamore KA, Nawaz S, Hetmanski MT, Rainbird SC (1998) Mycotoxins in ingredients of animal feeding stuffs:III. Determination of mycotoxins in rice bran. *Food Addit. Contam.*, 15, 185-94.
- (3) Escobar A, Regueiro OS (2002)

Determination of aflatoxin B1 in food and feedstuffs in Cuba (1990 through 1996) using an immunoenzymatic reagent kit (Aflacen). *J. Food Prote.*, 65, 219-21.

- (4) Williams JH, Phillips TD, Jolly PE, Stiles JK, Jolly CM, Aggarwal D (2004) Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. *Am. J. Clin. Nutr.*, 80, 1106-22.
- (5) Park JW, Kim EK, Kim YB (2004) Estimation of the daily exposure of Koreans to aflatoxin B1 through food consumption. *Food Add. Cont.*, 21, 70-5
- (6) Tabata S, Kamimura H, Ibe A, Hashimoto H, Iida M, Tamura Y, Nishima T (1993) Aflatoxin contamination in foods and feedstuffs in Tokyo: 1986-1990. *J. AOAC Int.*, 76, 32-5.
- (7) Omer RE, Verhoef L, Van't Veer P, Idris MO, Kampman E, Bunschoten A, Kok FJ (2001) Peanut butter intake, GSTM1 genotype and hepatocellular carcinoma: a case-control study in Sudan. *Cancer Causes Control*, 12, 23-32.
- (8) Pietri A, Bertuzzi T, Pallaroni L, Piva G (2004) Occurrence of mycotoxins and ergosterol in maize harvested over 5 years in Northern Italy. *Food Add. Cont.*, 21, 479-487.
- (9) Lombaert GA, Pellaers P, Neumann G, Kitchen D, Huzel V, Trelka R, Kotello S, Scott PM (2004) Ochratoxin A in dried vine fruits on the Canadian retail market.

- Food Add. Cont., 21, 578-585.
- (10) Biffi R, Munari M, Dioguardi L, Ballabio C, Cattaneo A, Galli CL, Restani P (2004) Ochratoxin A in conventional and organic cereal derivatives: a survey of the Italian market, 2001-02. Food Add. Cont., 21, 586-591.
- (11) Rosa CAR, Magnoli CE, Fraga ME, Dalcerro AM, Santana DMN (2004) Occurrence of ochratoxin A in wine and grape juice marketed in Rio de Janeiro, Brazil. Food Add. Cont., 21, 358-364.
- (12) Bonvehi JS (2004) Occurrence of ochratoxin A in cocoa products and chocolate. Agr. Food Chem., 52, 6347-52.
- (13) DeCastro MFPM, Shephard GS, Sewram V, Vicente E, Mendoca TA, Jordan AC (2004) Fumonisin in Brazilian corn-based foods for infant consumption. Food Add. Cont., 21, 693-99.
- (14) M.Mably, M.Mankotia, P. Cavlovic, J. Tam, L. Wong, P. Pantazopoulos, P. Calway, & P. M. Scott. (2005) Survey of aflatoxins in beer sold in Canada. Food Additives and Contaminants. 22(12), 1252-1257.
- (15) A. C. Sales and T. Yoshizawa. (2005) Updated profile of aflatoxin and *Aspergillus* section *Flavi* contamination in rice and its byproducts from the Philippines. Food Additives and Contaminants. 22(5), 429-436.

参考資料

個票

(検出例を含む食品については産地を示さず)

表3. 平成17年度品目別フモニシン汚染実態まとめ

品名	試料数	定量限界	定置未採		国産	輸入	検出例平均値 (範囲)		検出例平均値 (範囲)	
			不明	B1 (µg/kg)			B2 (µg/kg)	B3 (µg/kg)		
精白米	11	114.0ng/g	11	0	11	0				
押し麦	20	6.0ng/g	20	1	19	0				
そば麵	20	2.0ng/g	20	4	15	1				
そば粉	10	10.0ng/g	10	1	2	2	(国産混合1)			
大豆	20	2.0ng/g	13	3	17	8	0	4.70(3.3-6.1, n=7) ****		
ホップ	13	2.0ng/g	5	13	0	13	0	73.1(2.8-185, n=8) tr(n=1)	11.1(2.0-17.5, n=6)	
コーンフレーク	15	5.0ng/g	14	0	0	15	12.4(n=1) tr(n=3)	19.6(17.9-29.1, n=7) tr(n=1)	tr(n=1)	
コーンスターチ	10	2.0ng/g	7	0	0	10	0	27.4(6.6-62.7, n=3) ** tr(n=1)	7.1(n=1) tr(n=2)	
コーングリッツ	10	2.0ng/g	0	0	0	7	3	39.2(3.2-86.3, n=10)	12.3(n=7) tr(n=3)	
スイートコーン汁	32	3.0ng/g	26	3	3	26	4.4(4.3-4.6, n=6) * tr(n=4)	tr(n=2)	7.0(n=7) tr(n=2)	
コーンスーブ	13	3.0ng/g	12	2	1	11	0	tr(n=1)		
コーンスーブ粉末	11	3.0ng/g	10	1	0	8	4.3(n=1) ***	8.3(n=1) ***		
生とうもろこし	9	5.0ng/g	8	0	0	8	5.9(n=1) tr(n=1)	tr(n=4)	tr(n=2)	
	10	2.0ng/g	10	0	10	0	0	tr(n=2)		

*米国6

**米国3

***不明

****国産7

表2. 平成17年度品目別オクラトキシンA汚染実態まとめ

品名	試料数	定量限界	定量未満	国産	輸入	不明	検出例平均値 (範囲) (µg/kg)
コーンフレーク	15	0.10ng/g	15	0	0	15	
ポップコーン	5	0.10ng/g	5	1	4	0	
スイートコーン	20	0.10ng/g	20	3	17	0	
コーングリッツ	5	0.10ng/g	5	0	4	1	
オートミール	14	0.10ng/g	13	2	8	4	0.4 (n=1)
レーズン	10	0.10ng/g	4	3	5	2	1.6 (0.1-8.8, n=6) ****
ワイン	23	0.050ng/g	18	12	11	0	0.33 (0.05-1.29, n=5) ***
小麦粉	50	0.10ng/g	5	0	0	50	0.23 (0.13-0.69, n=28) * tr (n=1)
ライ麦	10	0.10ng/g	5	0	10	0	0.39 (0.13-0.91, n=4) tr (n=1)
ビール	20	0.010ng/g	7	10	10	0	0.027 (0.010-0.057, n=13) ## tr (n=4)
生コーヒー	10	0.10ng/g	7	0	10	0	0.36 (0.11-0.59, n=3) tr (n=2)
煤煎コーヒー	10	0.10ng/g	7	0	7	0	0.58 (0.29-0.92, n=3)
チヨコレート	41	0.10ng/g	14	13	37	0	0.36 (0.10-0.93, n=26) *****
グレープジュース	14	0.050ng/g	14	3	3	8	
米	30	0.10ng/g	30	30	0	0	
インスタントコーヒ	10	0.10ng/g	10	0	10	0	1.23 (0.12-4.23, n=10) **
そば麺	40	0.10ng/g	30	11	1	28	0.26 (0.13-0.65, n=10) # tr (n=8)
パスタ	20	0.10ng/g	7	0	7	13	0.38 (0.16-0.69, n=13) ### tr (n=5)
そば粉	20	0.10ng/g	11	4	2 (1、国産混合)	15	0.57 (0.13-1.30, n=7) #### tr (n=2)

*パン用20、家庭用1、麵用6

**ドイツ産

***国産1、オーストラリア1、南アフリカ1、

スペイン1、ギリシャ1

****国産2、輸入2、不明2

*****国産4、輸入22

#不明9、中国1

##日本6、アイルランド2、オランダ1、ベルギー3、中国1

###イタリヤ2、不明11

####輸入1、国産・輸入混合1、不明5

表1. 平成17年度品目別アフラトキシン汚染実態まとめ

品名	試料数	定量限界	定量限界未満	国産	輸入	不明	B1 (µg/kg)	B2 (µg/kg)	G1 (µg/kg)	G2 (µg/kg)
コーンフレーク	15	0.10ng/g	15	5	10	0	0			
そば粉	10	0.10ng/g	9	1	2 (1、国産混合)	8	0.24 (n=1)	tr (n=1)		
豆菓子	20	0.10ng/g	20	0	0	20				
精白米	30	0.10ng/g	30	30	0	0				
コーンダリッツ	10	0.10ng/g	10	0	8	2				
ポップコーン	10	0.10ng/g	10	0	10	0				
殻付きピーナッツ	30	0.10ng/g	30	9	21	0				
ピーナッツバター	20	0.20ng/g	15	3	5	12	0.40 (n=5, 0.10-0.70)*	0.10 (n=2)	0.10 (n=1)	
ごま油	10	0.20ng/g	10	0	0	10				
ピーナッツ	30	0.20ng/g	30	0	30	0				
そば麵	20	0.10ng/g	10	4	1	15	tr (n=2)***	tr (n=1)		
スイートコーン	30	0.10ng/g	30	2	27	1				

*米国：2、不明：3

**産地不明

***不明：1、国産：1

個表

トータルアフラトキシン

コーンフレーク:アブラ

サンプル番号	品名	原材料	内容量	国産/輸入/不明	ロット(賞味期限)	分析値(ng/g)
C-1	コーンフレーク	コーン	210	国産	2005.6	ND
C-2	コーンフレーク	コーン	200	国産	2006.3	ND
C-3	コーンフレーク	コーン	215	輸入	2006.8	ND
C-4	コーンフレーク	コーン	180	輸入	2006.7	ND
C-5	コーンフレーク	コーン	210	輸入	2006.9.13	ND
C-6	コーンフレーク	コーン	190	輸入	2006.7	ND
C-7	コーンフレーク	コーン	270	輸入	2006.9	ND
C-8	コーンフレーク	コーン	395	輸入	2006.8	ND
C-9	コーンフレーク	コーン	190	輸入	2006.1028c1	ND
C-10	コーンフレーク	コーン	180	輸入	2006.11.3 c1	ND
C-11	コーンフレーク	コーン	180	国産	2006.10 BA4	ND
C-12	コーンフレーク	コーン	205	輸入	2006.9 JCBFY	ND
C-13	コーンフレーク	コーン	115	国産	2006.03.07	ND
C-14	コーンフレーク	コーン	190	輸入	2006.10 KBIEZ	ND
C-15	コーンフレーク	コーン	190	国産	06.09.07 B2	ND

アフラトキシン

サンプル番号	品名	内容量	原材料	ロット(賞味期限)	分析値(ng/g)
SP-1	そば粉	500g	蕎麦	2006.05.10	ND
SP-2	そば粉	200g	そば	2005.11.08	ND (B1 0.006)
SP-3	そば粉	200g	そば	2006.05.02	ND (B1 0.015)
SP-4	そば粉	300g	そば粉	2005.12.12	ND
SP-5	そば粉	500g	そば粉、小麦粉	2006.05.11	ND
SP-6	そば粉	500g	そば粉	2006.01.25	ND
SP-7	そば粉	400g	そば粉	2005.08.31	B1 0.238, B2 ND (0.036)
SP-8	そば粉	300g	そば粉	2006.04.20	B1 tr (0.093), B2 ND (0.006)
SP-9	そば粉	600g	そば粉	2005.08.33	ND
SP-10	そば粉	250g	そば粉	2005.08.34	ND