市販ピーナッツおよびナッツ類のアフラトキシン 汚染実態と汚染品の追跡調査について

山 本 勝 彦*

K. YAMAMOTO*: Survey of aflatoxins on commercial peanuts and nut products,
with an example of consideration for administrative regulation

1. は じ め に

昭和46年3月厚生省によるピーナッツ（落花生）とその製品についてのアフラトキシン（以下AFと略す）B₁分析法の設定と、次いで翌年2月財団法人マイコトキシン検査協会が設立され、特に問題とされた輸入ピーナッツのAF検査体制が確立された。その後、昭和56年にはナッツ類、また昭和60年にはナツメグがAF B₁規制の対象に加えられ現在に至っている。名古屋市衛生研究所においては、昭和47年より研究所独自で市販ピーナッツおよびその製品のAF汚染を調査するとともに業界の検査依頼に応じてきた。さらに、昭和49年東京都立衛生研究所のAF調査で市販のピーナッツ製品のAF汚染が明らかにされたのを契機に、行政当局からの検査要請を受けて以後毎年少数であるが汚染調査を実施して来た。ここでは、15年間の調査結果を報告するとともに、その間発生した難問題、すなわち「ピーナッツのAF汚染の粒ごとの不均一性による検査結果の不一致と行政処分のある方に検査研究機関がどのように応えていくか」ということに正面より取り組んできた。その中で、昭和56年に発見された市販ピーナッツ製品のAF汚染の一事例を挙げてその対応を報告するとともに、AF検査の際のサンプリング方法についての改善すべき点などを指摘した。

2. 実 態 調 査

表1にピーナッツとその製品のAF B₁検出状況を示した。昭和47～48年度の調査では、汚染事例の多いスパニッシュ型品種のうち特に不良粒（虫食い、変色、異常な皺のあるもの）の混入しているもの、あるいは下等品が使用され易い「きざみ」などの製品に的を絞って調査したため検出率が高い。行政検査が行われるようになってからは昭和49年と56年度に特に汚染が多くみられた。また、昭和56年度には、シリア産のスパニッシュ型品種の加工品に1,580 ppbという非常に高濃度の汚染品が発見され（推定汚染粒率^{1,2)} 0.60%）、後述する汚染品の追跡調査で問題に取り上げるスーダン産スパニッシュ型品種の加工品（AF B₁ 40 ppb, 推定汚染粒率0.16%）が見付かった。

これら表1に示した汚染品の生産地のすべては把握されていないが、外国からの輸入品に起因するものと思われる。

一方、ナッツ類についての調査は昭和50年より行っているが、アーモンド、カシューナッツ、ピスタチオナッツなど111検体のうちイラン産のピスタチオナッツ2検体（56年と60年）に汚染がみられた（AF B₁ 89 および 262 ppb）。

* 名古屋市衛生研究所（〒467 名古屋市瑞穂区萩山町1-11）
Nagoya City Health Research Institute (1-11, Hagiya-cho, Mizuho-ku, Nagoya 467)

表 1 ピーナッツおよびその製品のアフラトキシン B₁ 検出状況

	47～48年度			
	検体数	検出数	検出率%	汚染度 ppb 平均±標準偏差 (範囲)
生ピーナッツ	38	10 (4)	26(11)	142±272 (0.5～900)
バターピーナッツ	11	1 (1)	9 (9)	0.7
ペースト類	11	0		
その他の加工品	54	7 (1)	13 (2)	67± 41 (0.5～115)
計	114	18 (6)	16 (5)	104±211 (0.5～900)
	49年度			
	検体数	検出数	検出率%	汚染度 ppb 平均±標準偏差 (範囲)
生ピーナッツ	27	3 (2)	11 (7)	44± 59 (0.5～128)
バターピーナッツ	4	1 (1)	25(25)	0.7
ペースト類	2	0		
その他の加工品	33	7 (1)	21 (3)	67± 38 (0.5～115)
計	66	11 (6)	17 (6)	54± 47 (0.5～128)
	50～51年度			
	検体数	検出数	検出率%	汚染度 ppb 平均±標準偏差 (範囲)
生ピーナッツ	29	0		
バターピーナッツ	12	0		
ペースト類	30	2	7	35± 5 (30～40)
その他の加工品	103	6	6	203±277 (18～750)
計	174	8	5	155±246 (18～750)
	52～55年度			
	検体数	検出数	検出率%	汚染度 ppb 平均±標準偏差 (範囲)
生ピーナッツ	7	0		
バターピーナッツ	12	0		
ペースト類	5	0		
その他の加工品	24	1	4	25
計	48	1	2	25
	56年度			
	検体数	検出数	検出率%	汚染度 ppb 平均±標準偏差 (範囲)
生ピーナッツ	13	7 (1)	54 (8)	155±158 (1～482)
バターピーナッツ	3	0		
ペースト類	9	0		
その他の加工品	38	7 (1)	18 (3)	309±527 (2～1580)
計	63	14 (2)	22 (3)	139±144 (1～1580)
	57年度			
	検体数	検出数	検出率%	汚染度 ppb 平均±標準偏差 (範囲)
生ピーナッツ	10	0		
バターピーナッツ	13	0		
ペースト類	11	1 (1)	9 (9)	3.9
その他の加工品	23	2 (2)	9 (9)	9.3±0.8 (8.5～10)
計	57	3 (3)	5 (5)	7.5±2.6 (3.9～10)
	58～61年度			
	検体数	検出数	検出率%	汚染度 ppb 平均±標準偏差 (範囲)
生ピーナッツ	21	0		
バターピーナッツ	42	0		
ペースト類	41	0		
その他の加工品	43	2 (2)	5 (5)	2.3±0.2 (2.1～2.5)
計	147	2 (2)	1 (1)	2.3±0.2 (2.1～2.5)
	47～61年度			
	検体数	検出数	検出率%	汚染度 ppb 平均±標準偏差 (範囲)
生ピーナッツ	107	11 (3)	10 (3)	122±145 (0.5～482)
バターピーナッツ	79	2 (1)	2 (2)	0.7
ペースト類	105	3 (1)	3 (1)	25±15 (3.9～40)
その他の加工品	264	25 (6)	9 (2)	155±327 (0.5～1580)
計	555	39(11)	7 (2)	133±275 (0.5～1580)

検出数および検出率の欄の () 内は、AFB₁ が 10 ppb 以下検出された場合を示す。

3. 汚染品に対する行政対応および追跡調査事例

昭和56年10月の調査で発見されたピーナッツ AF 汚染品の原料豆は、同年5月に隣接県A港に大手商社によってスーダンより 95.2 t 輸入陸揚げされ、その時点でサンプリングされた検体について厚生省の AF 試験にパスした後他県B社に 6.7 t、市内C社に 26 t および市内D社に（8月）15 t（残りの 47.5 t は、調査不能）が売却された。D社よりE加工業社さらにF菓子卸社に渡り、関連の80の菓子小売店で販売されていた。このうち1店舗にてサンプリングされたものから汚染品が発見された。この事件で最も問題となったのは、この原料豆が厚生省名古屋食品衛生監視員事務所（昭和56年5月の時点の名称）の抜き取り AF 検査にパスしていること、さらにF菓子卸社が自主検査として差し出した検体について名古屋市衛生研究所の AF 検査にもパス（9月）していることであった。したがって、慎重を期するため再度4回加工品のサンプリングを試みた結果、やはり汚染の事実が明確となった（表2）。

行政当局の懸命の食品衛生を守る観点での業者への説得により、10月の行政検査で汚染の判明したロット（加工品としてのロット）については販売停止、回収の措置がとられた。

さらに、その時点でD社には、なお 8.8 t の未加工の原料豆が保管されていたので、再度検査を実施した。そのうち 6.56 t が汚染していることが明らかとなった。そこで AF 汚染不良粒を選別除去する際の情報を提供するために、D社保蔵の 6.56 t より一部を取り寄せ、後述する A～C グループに該当する粒を選別し、各群に属する粒が AF によって汚染されていることを確かめた後、これらに属する不良粒を選別するように保健所を通じてD社に対し指示した。

このロットについて徹底した機械と肉眼による不良粒の選別除去作業が行われ、選別品の AF 検査に合格したものにつき販売が許可された（不良粒 200 kg が分別された）。なお、B社については管轄外であるので所轄の行政当局に連絡し、C社の持ち分はすべて菓子に加工されていたので、菓子を検査したところ検出されず販売が許可された。

〔不良粒の外観上の特徴およびグループ分け〕

- A. カビによる損傷が外側から肉眼で認められるもの、子葉（可食部）が著しく汚れたり、また茶色～黒褐色に変色したもの
- B. 虫食いの跡のあるもの
- C. 2枚の子葉の内面にカビ繁殖がみられるもの（注意して薄皮を観察するとわずかに正常粒より白っぽい退色部分が認められ、これらの粒を2つに割るとカビが観察された）。
- D. 機械および肉眼による選別で除外された粒のうち、A～Cグループを除いたものすべてを含み、薄皮の皺とわずかな変色、粒の極端な大小不揃い、薄皮の剥がれたものおよび子葉の割れたものなどが含まれる。

表2 追跡調査を実施したアフラトキシン汚染ピーナッツ製品の汚染度の変動と汚染粒率（56年度）

検 体	サブサンプル No.	重量 g	AF 汚染度 ppb B ₁ B ₂		サブサンプルの平均 汚染度±標準偏差	推定汚染 粒率 %
スパニッシュ コーティング 加工品	1	500	41.9	11.3	AF B ₁	0.16
	2	500	131	35.3	40.7±47.7	
	3	510	nd*	nd	AF B ₂	
	4	500	26.8	1.5	9.8±13.4	
	5	512	3.9	0.9		

* 非検出。

表 3 選別不良ピーナッツのグループ別汚染度と汚染粒率の推定

グループ 粒の状態 (重量 g)	検出粒数 検査粒数	グループ内 汚染粒率% (AF B ₁ 汚染度 ppm)	サンプル内 汚染粒率%	母集団内 汚染粒率%
A カビ, 子葉の汚れと変色 (226.2)	42 130	32.3 (122±224)	12.1	0.369
B 虫食い (219.3)	11 130	8.64 (112±136)	3.07	0.094
C 子葉内面のカビ (19.3)	22 70	31.4 (160±212)	1.00	0.031
D 種皮の皺, わずかな変色 (139)	2組* 48組*	0.425 (61.3±43.8)	0.098	0.0003
計 (603.8 g)			16.3	0.494

* 10粒を1組として AF の分析を行った。

表 3 には, 6.56 t より選別によって除外された 200 kg の不良粒から任意に 603.8 g を入手し, 上記 A ~ C のグ 3 ループとそのどれにも属さない D グループ (粒についての説明は前記の通りであるが, 粒の不揃いなどは, 主に機械による選別で取り出されたものと思われる) の計 4 グループに分け, 粒ごとに AF B₁ の汚染度を調べ, 粒ごとの検出率, グループ内, サンプル内 (603.8 g) および母集団内 (6.56 t) 汚染粒率を推定し示した。

なお, 各汚染粒率は, 次のように求めた。

[A グループ]

グループ内 $42粒/130粒 \times 100\% = 32.3\%$

サンプル内 $226.2g/603.8g \times 32.3\% = 12.1\%$

母集団内 $200kg/6.56t \times 12.1\% = 0.369\%$

(ここでは, 603.8 g の不良粒サンプルと 200 kg とは同じ汚染率と考える)

[B と C グループ] は A グループと全く同じ計算方法による。

[D グループ]

グループ内汚染粒率

汚染粒率 Cp % の母集団より n 粒取り出してその中に 1 粒も汚染粒を取り出さない確率

Pr % は,

$$Pr \% = (1 - Cp/100)^n \times 100\% \quad \text{①式}$$

(二項分布則^{1,2)}を適用)

ここでは, 10粒 (n) ずつ取り出し, 48回の検査で46回 1 粒も汚染粒を取り出さなかったから, 不良粒 (選別除外品) から 1 粒も取り出さない確率を

$$Pr \% = 46/48 \times 100\% = 95.8\%$$

と置くことができる。

したがって, ①式は

$$95.8\% = (1 - Cp/100)^{10} \times 100\%$$

Cp = 0.425 となる。

サンプル内および母集団内汚染粒率は, A グループの場合と同じように求めた。

母集団の汚染粒率を比較すると, A グループが 0.369% と, 母集団全体の汚染粒率 0.494% の 75% を占め, B グループは 0.094% であって母集団全体の汚染粒率の 19% を占めた。

また、Cグループは2枚の子葉の間への菌糸の侵入が顕著に観察され、比較的汚染時期が若いと考えられたのでAF産生菌の検索を行った。検査した50粒中、AFの検出した22粒のうち17粒(77%)にAF産生性の *Aspergillus flavus* 着生が認められ、分離菌株57株中44株(77%)にAF産生性(米培地による)が認められた。またAF不検出であった28粒のうち20粒(71%)にAF産生性の *Aspergillus flavus* が検出され、分離した69株中52株(75%)にAF産生性が認められた。また、AとCグループは、AFの汚染度およびグループ内汚染粒率ともに非常によく似ていること、およびAグループが肉眼的にはCグループよりひどくカビによって損傷を受けていることから(子葉内部にまで菌糸が侵入し組織が脆くなっている)、まずCグループの状態が発生しそれからAグループの状態に進行したものと考えられる。これらのことは、本試料でのAF汚染が生産地でのAF産生菌侵入によるものであることを推測させた。

4. 考 察

今回のAF検出の主要原因は、各グループの不良粒の混在率からみると、AおよびBグループの混在によるものであって、これら両グループの汚染状態が輸入陸揚げ後に生じたとは考えられないほど損傷がひどい。また、再汚染があったとすれば、もっと高い汚染粒率を示すはずであり、6.56t全体に汚染粒が約0.5%と低く散らばっていること、各グループの汚染状況などから見て、この原料豆が輸入陸揚げ後に二次的に汚染したのではなく、すでに生産地で汚染していたものが汚染の不均一性のためにサンプリングに漏れたものと思われる。

汚染品が一度流通段階に回ってしまうと、それらの機構が非常に複雑なため100%の捕捉は困難であり、入港時の厳格な検査が最も重要と思われる。

特に、検疫所におけるサンプリングについて気づいた点について述べる。

厚生省から指示されたサンプリング方法(環食第132号、昭和46年3月18日)は、積み荷の上面および両側面から1個所に偏らないように30袋ずつ合計90袋えらび、それより1kgのサンプリングを実施するように示されている。このことは、積み荷を立体図形で示すと、縦6袋、横6袋および高さ6袋の数に積んだ場合、最低216袋(6³袋、1袋20kgとすると4.32tに相当する)につき1kgのサンプルを採取することを示すが、袋数の上限は1サンプルについて500袋(10t)までとされている。すなわち、袋ごとの検査実施率は、18%(90袋/500袋)~41.7%(90袋/216袋)となる。

このサンプリング規模では、スパニッシュ型などの汚染事例の多い品種に適用した場合AF汚染の捕捉率は、これまで実施してきた市販製品のAF汚染調査で汚染品発見率の高いことから不十分と考えられる。したがって、特にAF汚染地域諸国、すなわち東南アジア諸国、ブラジルおよび一部のアフリカ諸国などからの輸入に際しては、1つのAF検査用サンプルを取り出すための母集団の袋数を最高125袋(例えば、さきほどの90袋抜き取り法と同様に考えると、縦5袋、横5袋および高さ5袋の積み数で、2.5tに相当する)とし、その中より上面および両面より20袋ずつ60袋を選んで均等に抜き取って1kgの分析用サンプルとする。この場合の袋ごとの検査実施率は48%(60袋/125袋)となる。袋数が125未満の場合は、積み荷の袋数の約半数を上面および両側面より極端な偏りのない比率でサンプリングして1kgを得る。

この方法では、検査実施率から見ると現行の216~500袋につき90袋の場合と大差ないように見えるが、実際に全くサンプリングされない袋の実数が、126~410袋から65袋(125袋の場合)以下となって袋ごとの検査漏れを少なくすることができる。母集団が全く均一な汚染粒率を保持していれば、母集団の規模に関係なく均一なサンプリングができるが、実際には数tごとに汚染度と汚染粒率が変化していることを実態調査の中で経験した。したがって、同じ1kgのサンプリングでも汚

染の予測されるものほど母集団を小さくする必要がある。とくに、環食第128号の分析法は AFB_1 が 10 ppb を超えた場合検出すると判定するように指示されているが、技術的には生のピーナッツであれば 1 ppb 位まで検出できるので、より低い汚染の存在を確かめることができる。そして、別にもっと高濃度に汚染した区分の存在が予想されるから、もし、最初の検査で 10 ppb 以下検出した時は、前に述べた小規模母集団に分けて詳しく再検査する必要があると考えられる。

次に、分析レベルでのサンプリングの改良点について述べる。厚生省の指定した 1 kg サンプリング法は、サンプル全体を粉砕してその 50 g を検査すれば、小粒なスパニッシュ型品種のもので、0.1%の汚染粒率で検出確率は69.3%、0.5%のもので99.7%の検出確率が得られるように設定されている。しかし、もし、粒のままで 50 g を抜き取って分析を済ませると、0.1%汚染粒率で検出確率は11.8%、0.5%のもので46.6%と0.1~0.5%の汚染粒を含む品の半数以上は消費者が食することになり²⁾、危険にさらされる機会が倍増する。

この観点から、厚生省から各検査機関に出されたピーナッツおよびその製品の AF 分析法（環食第128号の分析法）には、たんに 50 g を分取して検査を実施するように指示されているので、もしも被検試料が粒状のときは 1 kg 全部を粉砕してその 50 g を分析するという趣旨に改める必要がある。

5. ま と め

市販のピーナッツおよびナッツ類とそれらの製品について AF 汚染調査を実施し、汚染品の見つかった理由として、生産地ですでに汚染されていたものが、輸入時の AF 検査の際にサンプリングから漏れて検出するに至った可能性の大きいことを指摘した。

特に、ピーナッツの AF 汚染については、輸入時の検査における積み荷からの AF 検査のためのサンプリング方法の改良点、および分析の際の検査試料のサンプリングについての改良点について私案を述べた。

食糧資源の保護という観点に立てば、わずかに存在する汚染粒のために、9割以上の非汚染粒を廃棄してしまうことは経済的に大きな損失であり、今回のような徹底的な汚染粒の選別除去は有効な手段の一つである。そして、我が国に運ばれてから選別を実施するよりも、生産地において実施する方が原産国の人々を AF の危険から守るという点も含めてより合理的であり、我が国の安全のみを考えるのではなく、世界的規模で AF 汚染防御、除毒など積極的に参画して行く必要があると思われる。

また、ピーナッツのような不均一な汚染を有する粒状の農産物の AF 汚染規制には、摂取量、すなわち、ある一定の汚染度のものを何回摂食したら発癌の危機があるかという観点に立って、汚染度と汚染粒率の両面を加味した規制を設けること、およびそのための許容限度を評価できるような毒性学的実験が必要と著者は考えている。

引 用 文 献

- 1) 山本勝彦, 坪内春夫, 久田和夫, 坂部美雄: 食衛誌, 24, 396 (1983).
- 2) 山本勝彦: 環境管理技術, 3, 576 (1985).