

## 22. 大阪府内で市販されている乳児液体ミルクの アフラトキシン M1 含有調査

○寺谷 清香 （地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所）

### 【研究目的】

乳児用液体ミルク（調製液状乳）は、平成 30 年 8 月に規格基準が設定され、平成 31 年 3 月に販売が開始された。乳中のアフラトキシン M1（AFM1）は平成 27 年に基準値が制定され、様々な乳製品で含有量調査が行われているが、調製液状乳における AFM1 含有量についての報告はない。そこで本研究では、調製液状乳の AFM1 含有量を調査することを目的としている。

### 【研究の必要性】

育児用の調製液状乳は、常温で一定期間保存でき、湯で溶かして冷ます必要もない。育児負担の軽減や災害時の利便性から製造・販売が望まれており、こうした背景から平成 30 年の 8 月に規格基準が設定され、平成 31 年 3 月に国内での製造・販売が開始された。

一方、日本では平成 27 年 7 月 23 日付け食安発 0723 第 1 号「乳に含まれるアフラトキシン M1 (AFM1) の取扱いについて」によって乳中の AFM1 の基準値が設定され、AFM1 が 0.5 µg/kg を超えて検出する乳は、食品衛生法第 6 条第 2 号に違反するものとして取り扱うことになった。AFM1 は発がん性を有するカビ毒であるアフラトキシン B1 (AFB1) の代謝産物であって、AFB1 に汚染した餌を摂食した家畜の乳に含まれる。牛乳をはじめ様々な乳製品において微量の検出事例が報告されている。しかし、調製液状乳はもとより乳児用粉ミルク（調製粉乳）では基準値が設定されておらず、乳児では体重あたりの乳製品摂取量が多いため、摂取量には留意が必要である。

調製液状乳は平成 31 年 3 月に販売が開始されたことから、AFM1 含有量についての報告はない。そこで本研究では調製液状乳をはじめとし、大阪府内で市販されている乳幼児の摂取量の多い乳製品（調製液状乳、調製粉乳及び発酵乳・乳酸菌飲料）についての AFM1 含有量の実態調査を行った。

## 【研究計画】

### 1. 試料

2019～2020 年に入手した調製液状乳を含めた乳製品 24 検体を用いた。内訳は表 1 の通りである。なお国産調製液状乳は 2 種類しかないため、それぞれロット違いを入手し、4 検体とした。

表 1 試料一覧

	2019	2020	合計
調製液状乳(国産)	2	2	4
調製液状乳(輸入)	3	2	5
調製粉乳	2	4	6
発酵乳・乳酸菌飲料		9	9
合計	7	17	24

### 2. 検量線の作成

標準品は AFM1 標準品（富士フイルム和光純薬製）を用いて、検量線を食安発 0723 第 5 号「乳に含まれる AFM1 の試験法について」に準拠した高濃度領域（1～20 ng/mL）及び汚染実態調査を行うため低濃度領域（0.02～1 ng/mL）とした。またそれぞれの領域における添加回収試験を実施した。

### 3. 試料溶液の調製

#### ① 調製液状乳

試料 20 g を採取し、イムノアフィニティカラム（堀場製作所製 Afllaking）を用いて精製を行った。イムノアフィニティカラムに注入した後、毎秒約 1 ～ 2 滴の流速で流出し、少量の生理的食塩水（PBS）で洗浄した。さらに PBS 及び蒸留水をそれぞれ 3.5 mL で 3 回ずつ洗浄を行った。強く空気を通してカラム内の液を除いた後、アセトニトリルを 3 mL 添加し、自然落下で溶出させた。溶出液を窒素気流下で乾固させた後、アセトニトリル-水（1：4）混液で溶解して試験液とした。

#### ② 調製粉乳

試料 5 g に 50～60 °C に温めた蒸留水 30 mL を加え混合後、超音波処理を 5 分間行った。室温まで放冷し、50 mL メスフラスコに移し蒸留水で定容した。ガラス繊維ろ紙でろ過し、ろ液 20 mL（試料 2 g 相当）を精製に用いた。

#### ③ 発酵乳・乳酸菌飲料

試料を遠心処理（8000 ×g、10 分）した上清をガラス繊維ろ紙でろ過し、ろ液 20 g を精製に用いた。

### 4. 装置及び測定条件

装置及び測定条件は表 2 の通り行った。

表 2 装置及び測定条件

<b>装置</b>
LC: Agilent 1290 蛍光検出器: G7121B
<b>測定条件</b>
カラム: L-column2 ODS( 2.1 mm × 100 mm、3 μm)
移動相: A: 水 / B: アセトニトリル 流速: 0.2mL/min カラム温度: 40°C 注入量: 50 μL
A/B: 90/10 (0 min)→50/50 (10min)→50/50 (20min)
励起波長: 365 nm, 蛍光波長: 435nm

### 【実施内容・結果】

#### ① 妥当性評価

妥当性確認のため2つの濃度領域について添加回収試験を実施し、結果を表3に示した。真度及び精度ともに良好であり、総アフラトキシンの試験法で示されている妥当性評価基準を満たしており、本調査で行った試験法は妥当であると考えられた。

表 3 妥当性評価

	添加濃度( μg/kg)	試行数( n × 回数)	回収率平均( %)	併行再現精度( %)	室内再現精度( %)
調製液状乳( 低濃度)	0.0025	5 × 4	84.4	6.6	11.6
調製液状乳( 高濃度)	0.1	5 × 4	94.5	1.7	8.8
調製粉乳( 低濃度)	0.05	5 × 3	109.4	6.1	12.2
調製粉乳( 高濃度)	2	5 × 3	95.5	6.0	9.1
発酵乳・乳酸菌飲料( 低濃度)	0.0025	5 × 1	93.8	5.2	-
発酵乳・乳酸菌飲料( 高濃度)	0.1	5 × 1	84.5	2.0	-

#### ② 調製液状乳

調製液状乳を含めた乳製品 24 検体のうち定量下限を超えた試料について結果を図 1 に示した。汚染実態調査は低濃度領域の検量線を用いて定量した。また定量下限は検量線の最低濃度より、0.001 μg/kg とした。調製液状乳 9 試料中 AFM1 が検出された試料は 3 試料( 国産 1 試料、輸入 2 試料) であり、0.002 ~ 0.005 μg/kg であった。

#### ③ 調製粉乳

6 試料のうち 1 試料から AFM1 が検出され、その含有量は粉末として 0.01 μg/kg であった( 定量下限 0.01 μg/kg)。また当該試料を表示に従い調乳した場合、その液状乳中の濃度は 0.001 μg/mL となった。

#### ④ 発酵乳・乳酸菌飲料

9 試料中 2 試料から AFM1 が検出され、その含有量は 0.001 μg/kg であった( 定量下限 0.001 μg/kg)。

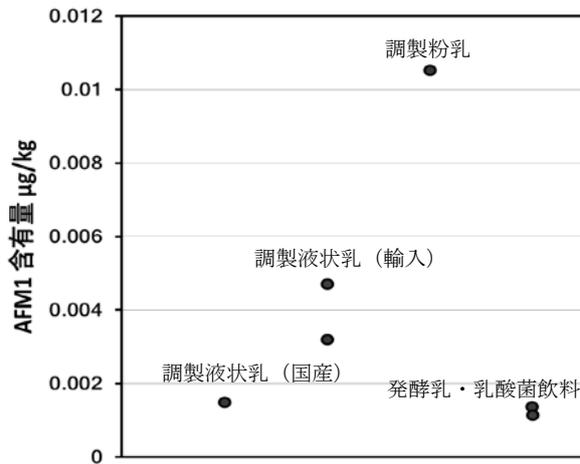


図 1 乳製品の AFM1 濃度

定量下限 調製液状乳及び発酵乳・乳酸菌飲料：  
0.001 μg/kg  
調製粉乳：0.01 μg/kg

### 【考察と今後の課題】

市場に流通する調製液状乳を含む乳製品について AFM1 の汚染実態調査を行った。検出された AFM1 は調製液状乳及び発酵乳・乳酸菌飲料において、0.001 ~ 0.005 μg/kg であった。これは、2016~2017 年に行われた生乳・牛乳及び加工乳の実態調査<sup>1)</sup> において報告された 0.001~0.006 μg/kg と同程度の結果である。調製粉乳において粉末での AFM1 含有量は 0.01 μg/kg であるが、調乳とした場合の濃度に換算すると 0.001 μg/mL であった。これは平成 25 年に報告された「乳中のアフラトキシン M1 及び飼料中のアフラトキシン」と比較すると極微量であった<sup>2)</sup>。これは、調製液状乳及び調製粉乳に原材料として含まれる乳成分の割合が乳そのものと比較して低いため、その AFM1 含有量は極微量となり、その結果汚染濃度は低くなったと考えられた。

さらに調査対象である乳製品を摂取した場合の乳幼児における一日あたりの AFM1 摂取量について推定を行った。生後 0 ~ 5 か月の乳児の栄養はすべて乳汁に依存しており、「日本人の食事摂取基準 (2020 年版)」<sup>3)</sup> によると、この時期の哺乳量は 0.78 L/日 (780 g/日) である。また平成 30 年の国民栄養調査<sup>4)</sup> では、幼児 (1 ~ 6 歳) は牛乳及び発酵乳・乳酸菌飲料以外に、チーズ等の乳製品を摂取しているが、その 90% を牛乳及び発酵乳・乳酸菌飲料が占める。このことから、幼児 (1 ~ 6 歳) における一日あたりの AFM1 摂取量は、2016~2017 年に行われた実態調査<sup>1)</sup> 及び本調査で得られた各乳製品の AFM1 含有量の最大値から推定した (表 4)。さらに生後 0 ~ 5 か月の乳児の平均体重 6.1 kg とし、幼児の平均体重 16.5 kg とし、それぞれ体重 1 kg あたりの AFM1 摂取量を算出した。これは 20 歳以上の体重 1 kg あたりの乳製品における最大 AFM1 摂取量 0.04 (ng/kgBW/day) と比べ、乳児の AFM1 摂取量は多くなっているが<sup>2)</sup>、乳児の栄養は全て乳汁に依存しているため摂取量が高く見積もられたと考えた。しかし、AFM1 は AFB1 と比べ、その発がん作用は 10 分の 1 と推定されており、AFM1 の暴露における発がんリスクは十分に低いと考えた。

調製液状乳及び調製粉乳については基準値が設定されておらず、また乳幼児の乳製品に対する栄養摂取源としての依存度を考慮すると、今後も継続して調査が必要であると考えている。

表 4 乳製品における AFM1 摂取量

乳製品	AFM1含有量 (ng/g)		一日摂取量(g)		摂取量あたりの AFM1含有量 (ng/day)		体重1kgあたりの AFM1摂取量 (ng/kgBW/day)	
			0~5か月	1~6歳	0~5か月	1~6歳	0~5か月	1~6歳
調整液状乳(国産)	0.002 <sup>※1</sup>	—	780 <sup>※3</sup>	—	1.2	—	0.2	—
調整液状乳(輸入)	0.005 <sup>※1</sup>	—	780 <sup>※3</sup>	—	3.7	—	0.6	—
調製粉乳	0.001 <sup>※1</sup>	—	780 <sup>※3</sup>	—	1.2	—	0.2	—
牛乳	—	0.006 <sup>※2</sup>	—	122.6 <sup>※4</sup>	—	0.7	—	0.04
チーズ	—	—	—	3.4 <sup>※4</sup>	—	—	—	—
発酵乳・乳酸菌飲料	—	0.001 <sup>※1</sup>	—	42.1 <sup>※4</sup>	—	0.06	—	0.003
その他の乳製品	—	—	—	19.8 <sup>※4</sup>	—	—	—	—

※1 本調査結果で得られた各乳製品の最大 AFM1 含有量

※2 2016~2017 年に行われた生乳・牛乳及び加工乳の実態調査結果より牛乳の最大 AFM1 含有量

※3 「日本人の食事摂取基準(2020年版)」の報告書より乳児の乳汁摂取量

※4 平成30年 国民栄養調査より各乳製品摂取量

#### 【参考文献】

- 1) 紀 雅美、工藤鮎子、村上太郎、昌山 敦、山口之彦、山野哲夫、第 55 回全国衛生化学技術協議会年会講演集、102-103、(2018)
- 2) 食品安全委員会、かび毒・自然毒等専門調査会、乳中のアフラトキシン M1 及び飼料中のアフラトキシン B1、47-52、(2013)
- 3) 厚生労働省、「日本人の食事摂取基準(2020年版)」策定検討会報告書、389-392
- 4) 厚生労働省、平成30年「国民健康・栄養調査」、72

#### 【経費使途明細】

使 途	金 額
調製液状乳等試料購入	27,349 円
HPLC 用カラム	49,390 円
アフラトキシン用イムノアフィニティカラム	168,300 円
アフラトキシン M1 標準品	41,338 円
試薬(有機溶媒)	13,662 円
合 計	300,039 円
大同生命厚生事業団助成金	300,000 円