

## 要約

【序論】近年、食品中の有害な汚染物質は、食品の安全性の観点から人々に対する脅威として認識されている。その中でも人為的に制御が難しいカビ毒は、汚染の許容範囲である基準値を設定する場合、リスク評価を適切に行う必要がある。リスク評価の一つ手段である暴露評価については、妥当性を検証した分析法を用いて汚染物質の実態を把握することが、国際的な食品規格を設定する機関であるコーデックス委員会で推奨されている。そこで本研究では、乳や乳製品に含まれるアフラトキシン  $M_1$  (AFM<sub>1</sub>) を対象とした妥当性のある分析法を確立し、この方法を用いてわが国に流通する乳および乳製品の AFM<sub>1</sub> 汚染実態の把握、および乳製品の製造過程における AFM<sub>1</sub> の挙動を実験的に検証することを目的とした。

【第1章：乳に含まれるアフラトキシン  $M_1$  分析法の確立】乳と粉乳に含まれる AFM<sub>1</sub> の分析法の確立を目的とし、国際的に認められている室間共同試験の手法に従って、その妥当性を評価した。乳および粉乳の試料としては、人工汚染乳、自然汚染乳、および自然汚染粉乳を用いた。試料中の AFM<sub>1</sub> をイムノアフィニティカラムで精製し、蛍光検出器を用いた高速液体クロマトグラフィーで分析した。この妥当性試験は、液状乳および粉乳を同時に測定に供した初めての室間共同試験であった。

【第2章：乳児用調製粉乳およびフォローアップミルクのアフラトキシン  $M_1$  汚染の把握】乳児用調製粉乳は、新生児にとっては唯一の栄養源であることから、汚染実態を正確に把握することが重要である。そこで、第1章で確立した方法を用いて、乳児用調製粉乳、フォローアップミルク、低出生体重児用粉乳、およびアレルギー疾患児用粉乳に含まれる AFM<sub>1</sub> を測定した。わが国で流通している乳業メーカー6社から入手した108試料を測定した結果、コーデックス委員会の最大基準値の濃度 (0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) と比較して、その汚染実態は極めて低いレベルであることが明らかとなった。

【第3章：チーズおよびバターのアフラトキシン  $M_1$  分析法の確立】健康リスクが疑われるクロロホルムを使用する従来法の問題を解決するために、アセトニトリルおよびメタノールによる抽出溶媒を使用して、乳製品（チーズおよびバター）の AFM<sub>1</sub> 測定に適する分析法を開発した。単一試験室による妥当性評価の国際的なガイドラインに従って、従来法と分析精度や検出感度を比較検討した。その結果、本研究で開発した分析法は、健康リスクが疑われる溶媒を用いる従来法よりも良好な結果を示し、その有用性が明らかとなった。

【第4章：輸入乳製品（チーズ、バター、ホエイ粉）のアフラトキシン  $M_1$  汚染の把握】第1章および第3章で妥当性が評価された分析法を用いて、わが国

に流通する輸入乳製品の AFM<sub>1</sub> 濃度を測定し、その汚染実態を把握した。特にチーズには、製造過程で AFM<sub>1</sub> が原料乳より濃縮されることが一般に知られている。そこで、わが国への輸入量の多い乳製品の AFM<sub>1</sub> 濃度を測定した。チーズ 60 試料、バター 30 試料、およびホエイ粉 30 試料を測定した結果、すべての試料で AFM<sub>1</sub> は検出限界以下であった。わが国の輸入乳製品の AFM<sub>1</sub> の汚染実態を、妥当性評価を行った分析法で測定した報告は、本研究が初めてであった。

【第 5 章：原料乳からチーズおよびバターへのアフラトキシン M<sub>1</sub> の移行】製造過程における AFM<sub>1</sub> の挙動を把握するために、AFM<sub>1</sub> 汚染乳を用いてチーズおよびバターを製造して検証した。カビ毒汚染飼料を食べた乳牛から採取した自然汚染乳、および非汚染乳に AFM<sub>1</sub> を添加した人工汚染乳を用いてゴードチーズを製造し、AFM<sub>1</sub> の濃縮価を比較した。その結果、自然汚染乳由来のチーズの濃縮価の方が高値であったことから、自然汚染乳中の AFM<sub>1</sub> は、チーズを構成するタンパク質により強く結合していることが示唆された。また、人工汚染乳からバターを製造した結果、AFM<sub>1</sub> はバターに移行するものの、その濃縮価は低値であることが明らかとなった。

【第 6 章：乳に含まれるアフラトキシン M<sub>1</sub> の簡易分析法の確立】乳の AFM<sub>1</sub> 汚染は、気候変動の影響を受けやすい家畜飼料のアフラトキシン B<sub>1</sub> 汚染と関連しており、定期的なモニタリングと自主検査が必要である。したがって、単一試験室による妥当性評価に関する国際的なガイドラインに従って、搾乳現場や製造工場でも簡単に分析できる酵素免疫測定法（ELISA 法）による乳中 AFM<sub>1</sub> の分析法の妥当性について調べた。その結果、高価な装置を必要としない ELISA 法は、モニタリングおよび自主検査の方法として有用であると考えられた。

【総括】分析法としての妥当性が、国際的な基準により確認された AFM<sub>1</sub> 定量法が確立し、わが国における乳および乳製品の AFM<sub>1</sub> 汚染実態が厳密に把握できた。今回の分析に供した乳幼児用粉乳や輸入乳製品の AFM<sub>1</sub> 汚染量は極めて低かったが、こうした汚染実態の評価は定期的かつ継続的に実施することが重要である。本研究の分析法は、厚生労働省の公定法として採用されたことから、今後もわが国における食の安全確保に大きく貢献できるものと考えている。