

中国, ベトナム, インドネシア, タイ, 日本で市販されていた
インスタントラーメンのオクラトキシンAの汚染調査

方 夏燕・平満菜々子・川村 理

Occurrence of ochratoxin A in instant noodles from China, Vietnam, Indonesia and Thailand

Fang Xia-Yan, Nanako Hiramitsu and Osamu Kawamura

Abstract

For the first time, 128 samples of instant noodles sold in five Asian countries (Japan, China, Thailand, Vietnam and Indonesia) were investigated for contamination with ochratoxins. Of the 128 samples, 102 (79.7%) were OTA-positive, and the average contamination level for all samples was 0.115 $\mu\text{g}/\text{kg}$. OTB was not detected in any instant noodles. In addition, none of the samples exceeded the regulation value of 3.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ for OTA in processed foods set by EU. By country, Vietnam had the lowest positive rate of 63.3%, with a total sample concentration of 0.048 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and Thailand with a positive rate of 63.3%, with a total sample concentration of 0.057 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Next was Japan with a positive rate of 92.3% and a total sample concentration of 0.110 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and China with a positive rate of 83.3% and a total sample concentration of 0.134 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Indonesia was the most contaminated country, with a positive rate of 100% and a contamination concentration of 0.236 $\mu\text{g}/\text{kg}$. An Indonesia instant noodle was contaminated with OTA at a maximum concentration of 0.744 $\mu\text{g}/\text{kg}$, but it was less than 1/4 of the EU regulatory limit. Eating two bags of this instant noodle per a day resulted in less than 20% of tolerable daily intake of OTA, suggesting that the health risk is quite low.

Key words : ochratoxin A, China, Vietnam, Indonesia, Thailand, Japan, immunoaffinity column

緒 言 方 法

オクラトキシンA (ochratoxin A, OTA) は, *Aspergillus ochraceus*, *A. carbonarius* や *Penicillium verrucosum* などのカビが産生するマイコトキシンで, 麦類を中心とした穀物やその加工品, コーヒー, ココア, ビール, ワインなどを汚染する腎毒性や腎発がん性を有する⁽¹⁾. 我々は, 日本国内の市販ラーメンが高頻度にOTAに汚染していることを報告した⁽²⁾. そこで, アジアで市販されていたインスタントラーメンを収集し, イムノアフィニティーカラム (immunoaffinity column, IAC) -HPLC法でOTAの汚染調査を行い, そのリスク評価を行った.

試薬類

オクラトキシンA (OTA) とオクラトキシンB (OTB) 標準液は, シグマ-アルドリッチ ジャパン合同会社から購入した. その他の試薬は富士フイルム和光純薬 (株) の特級を使用した. インスタントラーメンは, 2016年12月に中国の杭州市, 2017年2月に香川県内, 2017年8月にハノイ市, ジョグジャカルタ市, バンコック市内でそれぞれ購入した.

抽出と前処理

光元・川村の方法⁽³⁾で行った. すなわち, 細かく粉状に粉碎したインスタントラーメン15 gにメタノール: 1%炭酸水素ナトリウム水溶液 (7: 3 v/v) を60 mLを加え, ワーリング ボトルブレンダー 7011HBC型 (大阪ケ

ミカル (株)) 14,000 rpmで3分間攪拌抽出を行った. この抽出液をろ紙 (ADVANTEC No.5C) でろ過し, ろ液 10 mLにダルベッコのリン酸緩衝生理食水 (PBS) を30 mLを加え希釈後, 3,000 rpmで20分間遠心した. この上清10 mLをIACに負荷した.

IAC-HPLC法

川村らの方法⁽³⁾に準拠して行った. すなわち, OTB.2抗体を結合させたゲル0.3 mLを詰めたムロマックミニカラムS (室町ケミカル (株)) に, PBSを10 mL流して平衡化を行った. 次にサンプルを10 mL負荷した. PBS 10 mLでカラムを洗浄後, メタノール3 mLでOTAを溶出し, 通気させて溶出液を完全にカラムから除去し, 試験管に分取した. 溶出液は, 減圧乾固後, 1 mLのアセトニトリル:水 (40:60, v/v) に再溶解し, HPLC分析を行った. HPLCはいずれも (株) 島津製作所のシステムコントローラー (SCL-10A_{vp}), 送液ユニット (LC-20AD), オートインジェクター (SIL-20A_{HT}), カラムオープン (CTO-10A), 蛍光検出器 (RF-20A_{xs}) とカラム (Shim-pack XR-ODS, 3.0 mm i.d.×100 mm) を用い, 移動相には, アセトニトリル:水:酢酸 (40:58:2, v/v/v) を使用し, 注入量は75 µL, 流速は0.5 mL/min, カラム温度は50°C, 波長は335 nm (励起), 465 nm (蛍光) で行った.

結果および考察

OTAの添加回収実験

汚染が認められなかったインスタントラーメンに1と3 µg/kgとなるようにOTAを添加し, 一晩放置し, 上記の方法で分析した. その結果, 1と3 µg/kg添加した場合の回収率±SD (%) はそれぞれ103.9±1.0と93.1±0.2と良好であった.

インスタントラーメンのOTA汚染

128検体中102検体 (79.7%) がOTA陽性であり, 全汚染平均値は0.115 µg/kgであった. 全ての検体からもOTBは検出されなかった. また, EUの定める加工食品中のOTAの規制値3.0 µg/kgを超える検体もなかった.

国別では, 日本国内市販インスタントラーメンの分析結果を表1に示した. 26検体中24検体 (92.3%) からOTAが検出された. 検出限界未満の検体は検出限界の1/2の値 (0.008 µg/kg) として算出した全検体平均汚染濃度は0.110 µg/kgであった. また, フライ麺とノンフライ麺を比較した結果を表2に示した. フライ麺の場合は, 14検体中13検体 (92.9%) からOTAが検出され, 全検体平均値は0.133 µg/kgであった. 一方, ノンフライ麺の場

表1 日本国内市販インスタントラーメンの分析結果

麺の種類	サンプル番号	OTA (µg/kg)
フライ麺	17JIR01	0.094
	17JIR02	0.143
	17JIR03	0.097
	17JIR04	ND*
	17JIR05	0.020
	17JIR06	0.195
	17JIR07	0.093
	17JIR08	0.158
	17JIR09	0.309
	17JIR10	0.061
	17JIR11	0.061
	17JIR12	0.375
	17JIR13	0.112
	17JIR14	0.133
ノンフライ麺	17JIR15	0.079
	17JIR16	ND
	17JIR17	0.026
	17JIR18	0.018
	17JIR19	0.121
	17JIR20	0.159
	17JIR21	0.153
	17JIR22	0.075
	17JIR23	0.092
	17JIR24	0.09
	17JIR25	0.155
	17JIR26	0.029
陽性率		92.3%
陽性検体平均 (µg/kg)		0.119
全検体平均値 (µg/kg)		0.110

ND: 検出限界未満 < 0.016 µg/kg

全検体平均値: NDは検出限界の1/2として計算した.

表2 日本国内市販インスタントラーメンのフライ麺とノンフライ麺の比較

	フライ麺	ノンフライ麺
検体数	14	12
陽性検体数	13	11
陽性率	92.9%	91.7%
陽性平均値 (µg/kg)	0.142	0.090
全検体平均値 (µg/kg)	0.133	0.084

全平均値: NDは検出限界の1/2として計算した.

合は, 12検体中11検体 (91.7%) からOTAが検出され, 全検体平均値は0.084 µg/kgであった. 全検体平均値はフライ麺のほうが高かったが, 統計的有意差はなかった.

中国市販インスタントラーメンの結果を表3に示した. 12検体中10検体 (83.3%) からOTAが検出され, 全検体平均汚染濃度は0.134 µg/kgであった. タイ市販インスタントラーメンの結果を表4に示した. 30検体中19検体 (63.3%) からOTAが検出され, 全検体平均汚染濃度は0.057 µg/kgであった. ベトナム市販インスタントラーメ

表3 中国市販インスタントラーメンの分析結果

サンプル番号	OTA (μg/kg)
17CIR01	0.154
17CIR02	0.179
17CIR03	ND
17CIR04	0.188
17CIR05	0.162
17CIR06	0.171
17CIR07	0.206
17CIR08	ND
17CIR09	0.069
17CIR10	0.067
17CIR11	0.052
17CIR12	0.347
陽性率	83.3%
陽性検体平均 (μg/kg)	0.159
全検体平均値 (μg/kg)	0.134

ND：検出限界未満 < 0.016 μg/kg

全検体平均値：NDは検出限界の1/2として計算した。

表4 タイ市販インスタントラーメンの分析結果

サンプル番号	OTA (μg/kg)
17TIR01	0.058
17TIR02	0.025
17TIR03	0.060
17TIR04	ND
17TIR05	ND
17TIR06	ND
17TIR07	ND
17TIR08	0.046
17TIR09	ND
17TIR10	0.058
17TIR11	0.070
17TIR12	0.073
17TIR13	0.012
17TIR14	ND
17TIR15	ND
17TIR16	ND
17TIR17	0.066
17TIR18	0.068
17TIR19	ND
17TIR20	ND
17TIR21	0.322
17TIR22	0.171
17TIR23	ND
17TIR24	0.111
17TIR25	0.046
17TIR26	0.022
17TIR27	0.068
17TIR28	0.141
17TIR29	0.033
17TIR30	0.166
陽性率	63.3%
陽性検体平均 (μg/kg)	0.169
全検体平均値 (μg/kg)	0.057

ND：検出限界未満 < 0.016 μg/kg

全検体平均値：NDは検出限界の1/2として計算した。

ンの結果を表5に示した。30検体中19検体（63.3%）からOTAが検出され、全検体平均汚染濃度は0.048 μg/kgであった。インドネシア市販インスタントラーメンの分析結果を表6示した。30検体中30全検体からOTAが検出され、全検体平均汚染濃度は0.236 μg/kgであった。

これら5カ国の市販インスタントラーメンの分析結果を表7にまとめ比較した。全検体平均値で検定を行ったところ、インドネシアは他の4カ国より有意に高いOTA汚染が認められた。日本と中国、タイとベトナムにはそれぞれ有意差がなく、タイとベトナムはその他の国より有意に低い結果であった。5カ国のインスタントラーメンOTA汚染の違いは、原料の小麦のOTA汚染の違いと考えられるが、中国以外では、小麦の自給率が低いので、小麦の輸入先とその品質や小麦の保管状況の違いなどを今後調査する必要があると考えられた。

表5 ベトナム市販インスタントラーメンの分析結果

サンプル番号	OTA (μg/kg)
17VIR01	0.05
17VIR02	0.04
17VIR03	0.07
17VIR04	0.04
17VIR05	0.04
17VIR06	0.07
17VIR07	0.07
17VIR08	0.06
17VIR09	0.06
17VIR10	0.04
17VIR11	0.04
17VIR12	0.04
17VIR13	0.04
17VIR14	0.03
17VIR15	ND
17VIR16	0.04
17VIR17	0.05
17VIR18	ND
17VIR19	ND
17VIR20	ND
17VIR21	ND
17VIR22	ND
17VIR23	ND
17VIR24	0.44
17VIR25	ND
17VIR26	ND
17VIR27	0.10
17VIR28	ND
17VIR29	0.03
17VIR30	ND
陽性率	63.3%
陽性検体平均 (μg/kg)	0.071
全検体平均値 (μg/kg)	0.048

ND：検出限界未満 < 0.016 μg/kg

全検体平均値：NDは検出限界の1/2として計算した。

表6 インドネシア市販インスタントラーメンの分析結果

サンプル番号	OTA ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
17IIR01	0.261
17IIR02	0.559
17IIR03	0.374
17IIR04	0.240
17IIR05	0.314
17IIR06	0.074
17IIR07	0.210
17IIR08	0.335
17IIR09	0.526
17IIR10	0.209
17IIR11	0.080
17IIR12	0.744
17IIR13	0.626
17IIR14	0.145
17IIR15	0.124
17IIR16	0.084
17IIR17	0.119
17IIR18	0.107
17IIR19	0.156
17IIR20	0.162
17IIR21	0.091
17IIR22	0.490
17IIR23	0.098
17IIR24	0.056
17IIR25	0.197
17IIR26	0.120
17IIR27	0.050
17IIR28	0.114
17IIR29	0.195
17IIR30	0.236
陽性率	100.0%
陽性検体平均 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	0.236
全検体平均値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	0.236

ND：検出限界未満 $< 0.016 \mu\text{g}/\text{kg}$

全検体平均値：NDは検出限界の1/2として計算した。

128検体中最大汚染であったインドネシアの検体 ($0.744 \mu\text{g}/\text{kg}$) のリスク評価を行った。最大汚染の即席麺を1日2袋 (200 g) 毎日食べた場合を想定した。OTAの摂取量は148.8 ng/人となる。これは、体重50 kgの場合のTDI (耐容一日摂取量) 750 ng/人/日の19.8%に過

表7 市販インスタントラーメン5ヵ国128検体の分析結果の比較

	ベトナム	タイ	日本	中国	インドネシア
検体数	30	30	26	12	30
陽性数	19	19	24	10	30
陽性率 (%)	63.3	63.3	92.3	83.3	100
全検体平均値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	0.048	0.057	0.110	0.134	0.236
標準偏差 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	0.078	0.069	0.086	0.098	0.183
最大値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	0.438	0.322	0.375	0.347	0.744

ぎない値である。TDIを超えるためには、最大汚染のインスタントラーメンを毎日10袋 (約1 kg) 以上摂取する必要がある。インスタントラーメンを毎日10袋以上食べることは可能であるが、現実的には、ほぼありえないので、健康上ほとんど問題はないと考えられた。

摘 要

日本、中国、タイ、ベトナムとインドネシアのアジア5ヵ国で市販されていたインスタントラーメン128検体のオクラトキシン類の汚染調査を初めて行った。128検体中102検体 (79.7%) がOTA陽性であり、全検体汚染平均値は $0.115 \mu\text{g}/\text{kg}$ であった。全ての検体からもOTBは検出されなかった。また、EUの定める加工食品中のOTAの規制値 $3.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ を超える検体もなかった。国別では、ベトナムが陽性率63.3%、全検体汚染濃度 $0.048 \mu\text{g}/\text{kg}$ とタイが陽性率63.3%、全検体汚染濃度 $0.057 \mu\text{g}/\text{kg}$ で最も低かった。次が、日本が陽性率92.3%、全検体汚染濃度 $0.110 \mu\text{g}/\text{kg}$ と中国が陽性率83.3%、全検体汚染濃度 $0.134 \mu\text{g}/\text{kg}$ であった。最も汚染していたのがインドネシアで陽性率100%、全検体汚染濃度 $0.236 \mu\text{g}/\text{kg}$ であった。最高濃度 $0.744 \mu\text{g}/\text{kg}$ のOTAに汚染されていたインスタントラーメンもあったが、EUの規制値の1/4以下であった。このインスタントラーメンを毎日2袋食べてもTDIの20%以下であり、健康リスクは充分低いと考えられた。

引 用 文 献

- (1) 本山聖子, 小山典子: オクラトキシンAのリスク評価, *JSM Mycotoxins* 66, 31-35 (2016).
- (2) 長澤 舞, 川村 理: オクラトキシンAの市販ラーメン汚染調査とそのリスク評価, 香川大学農学部学術報告 73, 19-22, (2021).
- (3) 光元結花, 川村 理: 讃岐うどん調理中のオクラトキシンAの挙動と市販讃岐うどん・そうめん中のオクラトキシンAの汚染調査, 香川大学農学部学術報告 69, 27-30 (2017).