

フザリウム属カビ毒・デオキシニバレノールとゼアラレノンの製粉による残存程度

農研機構 食品総合研究所 久 城 真 代

はじめに

カビが産生する抗生物質には人類にとって有用なものもある反面、有害な物質も知られている。カビが産生する、人畜に健康被害を及ぼす物質を総称して、カビ毒(Mycotoxin)とよぶ。

近年、カビ毒について国際的なリスク評価が進み、国内でも基準値が設定されつつある。そうした中で、カビ毒の加工調理での残存率(加工調理係数)が、基準値設定の際のパラメータとして取り入れられている。

本稿では、カビ毒の規制、フザリウム属菌(いわゆる赤かび病菌)が産生するカビ毒の一種であるデオキシニバレノールの暫定基準値の設定について解説しつつ、現在筆者らがやっている、ゼアラレノン(同じくフザリウム属菌産生カビ毒)の製粉過程での減衰調査について紹介する。

I 食品中のカビ毒と規制

食品のカビ毒汚染は食品衛生上の重大問題であり、微量でも長期にわたって摂取すれば毒性が現れるため、カビにより穀類が汚染される場合は、特に大きな問題である。2008年秋に発生した事故米の転売事件においては、本来食用にできない輸入米(アスペルギルス属菌が着生しアフラトキシン汚染した米)が、複雑な米流通の過程で食用に偽装されたことが明るみに出て、社会問題化した。

食品を汚染するカビ毒を対象としたリスク評価は、近年国際機関であるFAO/WHO食品添加物合同専門家会議(JECFA)で盛んに行われるようになってきた。それに伴い、コーデックス委員会による国際食品規格(コーデックス規格)の設定も増えてきている(小西・久城, 2011)。また各国において、独自のリスク評価も行われている。

日本国内で食品中の基準値(暫定を含む)が定められているカビ毒を表-1に記した。前述のアフラトキシン

は、自然毒の中で最も毒性が高いとされ、強い発がん性を持つ。II章で詳述するデオキシニバレノールは、2002年に未加工小麦で1.1 ppmという暫定基準値が設定された(厚生労働省通知, 2002)。

表-1に示した実量規制以外に、穀粒の選別における規制も行われている。II章で赤かび病について解説するが、戦後の食糧難の時代には赤かび病菌に汚染した輸入小麦から作られたうどん、すいとんで食中毒が発生した。そうしたことから、1955年に農産物検査規格が改正され、赤かび病菌に罹病した小麦子実(赤かび粒)の混入率は1.0%以下とされた。その後、2003年産小麦より、赤かび粒の許容混入率は0.0%に引き下げられることになった。赤かび粒混入の許容値0.0%とは、約1,000粒入るカルトン(農産物検査の際に使用される黒色皿)に、赤かび粒が1粒でもあれば規格外になるという厳しいものである(榊, 2002)。また近年、上記以外に、醸造において微量に蓄積するコウジ酸が規制されている。コウジ酸は従来、天然食品添加物とされていたが、弱い発がん性が明らかとなったため、2003年以降、食品衛生法により日本酒への添加が禁止されている。

II フザリウム属菌と小麦の赤カビ毒

カビ毒を産生するのは一部のカビであり、注意が必要なカビは、アスペルギルス(*Aspergillus*)属、ペニシリウム(*Penicillium*)属、フザリウム(*Fusarium*)属の3種類に属するカビの一部である。そのうちアスペルギルス属菌とペニシリウム属菌は、主に収穫後や保蔵中の食糧に着生する腐生菌であり、いわゆるポストハーベスト汚染が多い。

表-1 我が国で食品中規制のあるカビ毒

カビ毒	暫定最大耐容 一日摂取量 (PMTDI ; mg/kg 体重/日)	許容 基準 値 (ppm)	食品
アフラトキシン B1, B2, G1, G2 総量	not determined	0.01	全食品
デオキシニバレノール	1	1.1	未加工小麦
パツリン	0.4	0.05	りんご果汁

Analysis of the Retention of *Fusarium* Mycotoxins Deoxynivalenol and Zearalenone in Japanese Wheat During Milling. By Masayo KUSHIRO

(キーワード: 国産小麦, デオキシニバレノール, ゼアラレノン, 製粉, 残存率, 規制)

一方、フザリウム属菌の一部は植物病原菌であり、その産生毒素は圃場の栽培段階から食糧を汚染する(宇田川ら, 2002)。すなわち、フザリウム属菌は、農作物の品質・収量低下とカビ毒汚染という二重の危害をもたらすことがある。

麦類赤かび病菌として知られる一群のカビ(*Fusarium graminearum* ならびに近縁種)は、そうした二重の危害をもたらす。小麦が本菌に罹病すると、出穂期の穂に *Fusarium Head blight* とよばれる顕著な症状が現れ、穂が褐変するとともに穎の合わせ目に桃色のカビが生ずる。罹病子実は、白っぽく痩せた不健全粒となる。また、本菌はデオキシニバレノール(DON)などのカビ毒を産生するため、高度に汚染されたものを摂食した場合には健康被害を及ぼす。小麦子実に蓄積が起りやすい主要フザリウム属カビ毒: DON, ニバレノール(NIV), ゼアラレノン(ZEA)の構造式を図-1に示した。以下に各カビ毒の特徴を記す。

1 デオキシニバレノール(DON)

トリコテセン類と総称される特徴的な化学構造を持つ。ボミトキシン(vomitoxin)ともよばれ、消化器系、血管系に毒性を示し、嘔吐(vomit)を誘発する。*F. graminearum* あるいはその完全世代の子の菌 *Gibberella zeae* によって産生され、我が国では古くから麦類赤かび病菌として知られる菌が穀類汚染の主体となっている。国産小麦、外国産小麦のいずれからも検出される。食品、飼料について、基準値(暫定含む)が設定されている。

2 ニバレノール(NIV)

DONと化学構造が類似しており、同様の毒性を示す。欧米産の小麦での汚染は少ないが、アジアの米作地域で栽培される小麦で汚染がよく見られることから、国内での規制が検討されている。ただし、国産小麦の一大産地である北海道では、NIV汚染はほとんど見られない。毒性はDONよりやや強いといわれており、暫定最大耐容一日摂取量(PMTDI; 生涯摂取を続けても健康被害が顕れない一日当たりの最大摂取量)は、欧州食品安全

機関による評価では、 $0.7 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日とされている。

3 ゼアラレノン(ZEA)

トリコテセン類以外のフザリウム属カビ毒の代表格である。家畜の子宮肥大などエストロゲン様の作用を示す。穀類の汚染例が多く、しばしばトリコテセン類との同時汚染が認められる。我が国では食品での基準値は設定されていないが、飼料については基準値が設定されている。

III DONの暫定基準値設定と加工調理係数

2000年代に入るまで、我が国での食品中のカビ毒の実量規制はアフラトキシンに限られていたが、2002年に、DONの暫定基準値、2003年にパツリンの基準値が設定された。

DONの暫定基準値は、<毒性>に<リスク暴露頻度>を掛け合わせることで算定された。具体的には、以下のデータと計算式が用いられている。

<毒性>

JECFAによる暫定最大耐容一日摂取量(PMTDI):

$1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日

日本人の平均体重: 50 kg

<リスク暴露頻度>

日本人の小麦摂取量: 89.8 g

加工調理での残存率(加工調理係数): 0.5

$$\therefore \text{暫定基準値} = (1.0 \times 10^{-6} \times 50) / (89.8 \times 0.5) = 1.1 \times 10^{-6} = 1.1 \text{ ppm}$$

上の計算式のように、未加工小麦のDONの暫定基準値設定の際に、加工調理での残存率(加工調理係数)が用いられているが、この値(0.5)は、外国産小麦の製粉データが用いられている。

IV 国産小麦の製粉とカビ毒の残存率の解析

食用小麦のほとんどは製粉に供されるため、製粉での小麦に含まれるカビ毒の製粉での残存率については、欧米で多くの研究がなされている。しかしながら、国産小麦についてはデータが少なく、前述のように、DONの

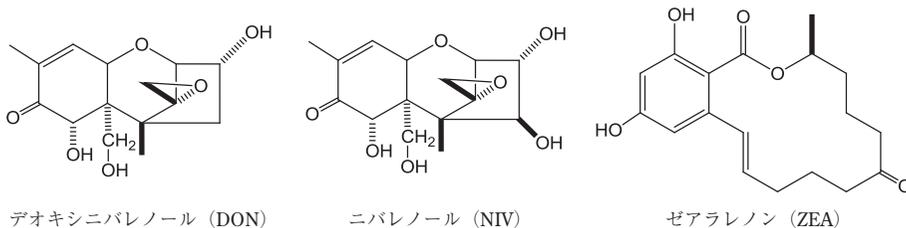


図-1 デオキシニバレノール、ニバレノール、ゼアラレノンの化学構造

暫定基準値設定の際には外国産小麦のデータが用いられている。また、ZEAについては、食品中の基準値そのものが設定されていない。そこで筆者らは、国産小麦に意図せず含まれるDONならびにZEAの製粉後の残存率を調査することとした。本稿では、実験圃場にて人工的に*F. graminearum*を接種して発病させた小麦子実を用い、製粉前後のDONならびにZEAの濃度を解析したのでその結果を紹介する。

1 製粉前後のカビ毒分析法の添加回収試験による確認

国産小麦には、国産めん用で作付けされている‘チクゴイズミ’、‘農林61号’、‘ホクシン’の3品種を用いた。研究開始当時、‘チクゴイズミ’は九州、‘農林61号’は本州、‘ホクシン’は北海道の代表的品種であった。

製粉には、試験製粉の世界標準となっているビューラー式試験製粉機を用いた。本製粉機では、製粉分画として、2種類の外皮分画（大ふすま(Bran)、小ふすま(Shorts)）と、6種類の粉分画（1B、2B、3Bならびに1M、2M、3M）が得られる。粉については、番号が若い粉ほど胚乳の中心に近い上質の粉とされる。ヒトの可食部となる上質粉は、1B、1M、2Bと2Mから調製した。

DONについては厚生労働省通知法に準じた多機能カートリッジとHPLC-UV検出を用いた分析法を用い、また、ZEAについてはSCHOLLENBERGER et al.の方法(2006)に準じた多機能カートリッジとHPLC-蛍光検出による分析法を用いた。本分析法が、製粉前後の実際の試料に適用できるかどうかを確認するため、以下の条件で添加回収試験を行った。

DONについては暫定基準値の約半分の0.5 ppm、ZEAについてはDONより低めの0.4 ppm添加レベルで、チクゴイズミを用いた添加回収試験の結果を表-2に示す。いずれも回収率は、単一試験室での妥当性確認での許容範囲（70～120%）内であった。また、相対標準偏差についても許容範囲（10%）内であった(AOAC International, 2005)。以上より、本研究で用いる食品マトリクス（製粉前の原粒、製粉後の上質粉）での添加回収試験において、良好な結果が得られたことにより、上の分析法は、実際の試料に適用可能と考えられた。

2 国産小麦の製粉とカビ毒の残存率

IV章1節で確認された分析法を用いて測定したDONとZEAの残存率のデータを表-3に示す。DONの上質粉での残存率は、0.59～0.96となっており、製粉による減毒効果がほとんど見られない場合があった。一方、ZEAの上質粉での残存率は、0.10～0.36となり、いずれも製粉により半分以上の毒素が除去されていた(ZHENG

表-2 チクゴイズミでのDONとZEAの添加回収試験 (n = 3)

	DON		ZEA	
	回収率 (%)	相対標準偏差 (%)	回収率 (%)	相対標準偏差 (%)
未加工小麦	96.0	3.7	112.1	2.8
上質粉	106.5	1.7	103.8	3.1

表-3 製粉後のDONとZEAの残存率

	チクゴイズミ		農林61号		ホクシン	
	DON (ppm)	ZEA (ppm)	DON (ppm)	ZEA (ppm)	DON (ppm)	ZEA (ppm)
未加工小麦	0.90	0.12	1.89	0.76	3.35	0.25
上質粉	0.86	< 0.039	1.12	0.27	2.29	0.025
残存率	0.96	< 0.33	0.59	0.36	0.68	0.10

et al., 2014; KUSHIRO et al., 2014)。

これらの結果が示すDONよりもZEAのほうが上質粉での残存率が低いという点は、外国産小麦でのデータ(Trigo-Stockli et al., 1996; Edwards et al., 2011)と一致している。

このようなDONとZEAの製粉での動態の違いの原因は現時点では不明であるが、図-1に示す化学構造の違いに由来する可能性が高い。すなわち、DONは水溶性が高いため、登熟初期に外皮に侵入したカビが産生したDONが、胚乳内部まで浸透している可能性があるのに対してZEAは水溶性が低いためZEAが外皮にとどまるのかもしれない。また、DONはカビの感染直後から産生されるという報告(Chrpová et al., 2006; Cowger et al., 2013)を考慮すれば各毒素の蓄積時期に由来する可能性も考えられる。カビ毒の蓄積メカニズムについても興味をもたれるところである。

おわりに

本研究により、以下2点の成果が得られた。すなわち
(1) 国産小麦に含まれるDONについては、必ずしも製粉でふすまを除去することが効果的でなく、上質粉でのDONが半減しない場合もある。

(2) 国産小麦に含まれるZEAの製粉での動態は、DONとは異なっており、調査した3種の試料においては、いずれも上質粉でのZEAの残存率は半分未満となっていた。

本研究で得られた成果は、我が国における食品中のカ

び毒の基準値策定に向けて、科学的に重要な基礎データとなる。今後は引き続き、より高いZEA汚染の小麦子実や、作付けが増加している国産パン用小麦についても調査を行っていききたい。

引用文献

- 1) AOAC International (2005): Official method for analysis, appendix E: Laboratory quality assurance, AOAC International, MD, p. 2.
- 2) CHRPOVA, J. et al. (2006): Czech J. Genet. Plant Breed. **42**: 137 ~ 141.
- 3) COWGER, C. et al. (2013): Phytopathology **103**: 460 ~ 471.
- 4) EDWARDS, S. G. et al. (2011): Food Additives and Contaminants

- Part A **28**: 1694 ~ 1704.
- 5) 小西良子・久城真代 (2011): 微生物孢子, 渡部一仁ら 編, 株式会社サイエンスフォーラム, 我孫子, p. 155 ~ 161.
 - 6) 厚生労働省通知 (2002): 小麦のデオキシニバレンールに係る暫定的な基準値の設定について, 厚生労働省, 東京.
 - 7) KUSHIRO, M. et al. (2014): Japanese Journal of Food Chemistry and Safety: (in press).
 - 8) 榊 浩行 (2002): 冬作物研究 **2**: 1 ~ 5.
 - 9) SCHOLLENBERGER, M. et al. (2006): Mycopathologia **161**: 43 ~ 52.
 - 10) TRIGO-STOCKLI, D. M. et al. (1996): Cereal Chemistry **73**: 388 ~ 391.
 - 11) 宇田川俊一ら (2002): 食品安全性セミナー5 マイコトキシン, 中央法規出版, 東京, p. 139.
 - 12) ZHENG, Y. et al. (2014): Food control **40**: 193 ~ 197.

新しく登録された農薬 (26.11.1 ~ 11.30)

掲載は、**種類名**、登録番号：**商品名**（製造者又は輸入者）登録年月日、有効成分：含有量、**対象作物**：対象病害虫：使用時期等。ただし、除草剤・植物成長調整剤については、**適用作物**、**適用雑草**等を記載。

〔殺虫殺菌剤〕

- **イミダクロプリド・スピノサド・チアジニル粒剤**
23580: **ブイゲットアドマイヤースピノ箱粒剤** (日本農業) 14/11/5
イミダクロプリド: 2.0%
スピノサド: 0.75%
チアジニル: 12.0%
稲 (箱育苗): いもち病, イネミズゾウムシ, イネドロロイムシ, ツマゲロヨコバイ, ウンカ類, ニカメイチュウ, コブノメイガ, イネヒメハモグリバエ, フタオビコヤガ: 移植2日前~移植当日
稲 (箱育苗): 白葉枯病: 移植当日
- **キノキサリン系水和剤**
23587: **パルミノ** (アグロ カネショウ) 14/11/19
キノキサリン系: 25.0%
きゅうり: うどんこ病, コナジラミ類: 収穫前日まで
なす: うどんこ病, コナジラミ類, チャノホコリダニ: 収穫前日まで

〔除草剤〕

- **シメトリン・モリネート・MCPB 粒剤**
23581: **マメット SM ジャンボ** (協友アグリ) 14/11/5
シメトリン: 4.5%
モリネート: 24.0%
MCPB: 2.4%
移植水稲: 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ヘラオモダカ (東北), ミズガヤツリ (北陸を除く), ウリカワ (北陸を除く), アオミドロ・藻類による表層はく離 (北陸を除く)
- **イマゾスルフロン・ダイムロン・ペントキサゾン粒剤**
23582: **テマエース 1 キロ粒剤** (科研製薬) 14/11/5
イマゾスルフロン: 0.90%
ダイムロン: 15.0%
ペントキサゾン: 3.9%
移植水稲: 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ウリカワ, ミズガヤツリ, ヘラオモダカ (北海道, 東北, 北陸), ヒルムシロ, セリ, アオミドロ・藻類による表層はく離

- **イマゾスルフロン・ダイムロン・ペントキサゾン水和剤**
23583: **テマエースフロアブル** (科研製薬) 14/11/5
イマゾスルフロン: 1.7%
ダイムロン: 28.0%
ペントキサゾン: 7.3%
移植水稲: 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ウリカワ, ミズガヤツリ, ヘラオモダカ (北海道, 東北, 北陸), ヒルムシロ, クログワイ (東北, 関東・東山・東海), オモダカ (東北, 関東・東山・東海), シズイ (東北), セリ, アオミドロ・藻類による表層はく離
- **ジフルフェニカン・フルフェナセット水和剤**
23584: **リベレーターフロアブル** (バイエルクロップサイエンス) 14/11/17
ジフルフェニカン: 8.4%
フルフェナセット: 33.6%
小麦 (秋播栽培), **大麦 (秋播栽培)**: 一年生雑草
- **ジフルフェニカン・フルフェナセット粒剤**
23585: **リベレーター G** (バイエルクロップサイエンス) 14/11/17
ジフルフェニカン: 0.20%
フルフェナセット: 0.60%
小麦 (秋播栽培), **大麦 (秋播栽培)**: 一年生雑草
- **DCBN 粒剤**
23586: **クサピース粒剤** (保土谷アグロテック) 14/11/19
DCBN: 2.0%
センチピードグラス: 一年生イネ科雑草, 一年生広葉雑草
- **シクロスルフアムロン・プレチラクロール粒剤**
23588: **かねつぐーラジカルジャンボ** (BASF ジャパン) 14/11/19
シクロスルフアムロン: 1.67%
プレチラクロール: 20.0%
移植水稲: 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ウリカワ, ミズガヤツリ (北海道を除く), ヘラオモダカ (東北), ヒルムシロ, セリ (北海道, 関東・東山・東海), オモダカ (北海道, 関東・東山・東海), クログワイ (東北, 近畿・中国・四国)