

## 課題番号9

# 宮崎県に流通する食品中のカビ毒含有量調査

衛生化学部

○木下和昭 富山裕規 高山清子

松川浩子<sup>1)</sup> 黒木麻衣 落合克紀

<sup>1)</sup>現延岡保健所

## カビ毒とは

- カビの代謝産物のうち、ヒトや動物に対して有害な作用を示す化学物質の総称



カビ毒は熱に安定なものが多く、加工・調理で分解されない

1

2

## カビ毒の種類と毒性

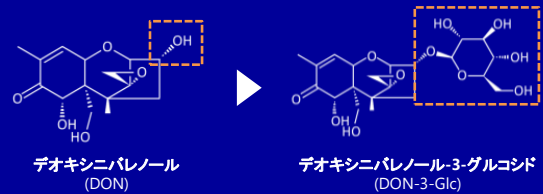
| カビ毒  | 主な汚染食品                  | 毒性                |
|--|-------------------------|-------------------|
| アフラトキシンB1, B2, G1, G2                      | ナッツ類、トウモロコシ、米、麦、香辛料     | 肝がん、肝障害、免疫毒性      |
| アフラトキシンM1                                  | 牛乳、チーズ                  |                   |
| オクラトキシンA                                   | トウモロコシ、麦、ナッツ類、ワイン、コーヒー豆 | 腎障害、腎がん、免疫毒性、催奇形性 |
| トリコテセン系<br>デオキシニパレノール<br>ニパレノール, T-2, HT-2 | 麦、米、トウモロコシ              | 消化器系障害、免疫毒性、IgA腎症 |
| パツリン                                       | リンゴ、リンゴ加工品              | 消化器出血             |

- 2011年 県内の生産米から基準値の7倍のアフラトキシン検出（国産米として初のアフラトキシン汚染事例）

3

## モディファイドマイコトキシン(修飾体)

- カビ毒に糖などが結合したものの総称



性状が異なるため、元のカビ毒を対象とした方法では分析することができない

4

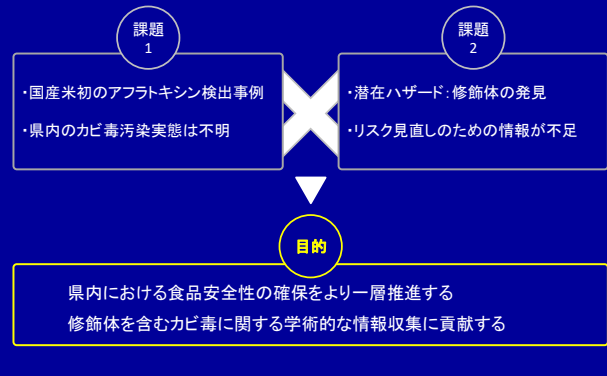
## 修飾体の問題点



修飾体の見逃しは、カビ毒の過小評価になり得る

5

## 現状の課題と研究目的



6

## 方法と実施計画

### 方法

- LC-MS/MS法によるカビ毒一斉分析法の確立(カビ毒30種類)
- 県内流通食品中のカビ毒含有量調査

01

#### 測定条件の最適化

- LC条件の設定
- MS条件の設定
- 移動相の選択

02

#### 分析手法の確立

- 抽出法の検討
- 精製法の検討
- 妥当性評価

03

#### 含有実態の調査

- 買上げ調査
- 暴露リスク評価

中間報告の内容

## 測定対象カビ毒

### 主要カビ毒

アフラトキシン類 (AFB1, B2, G1, G2)  
 オクラトキシンA (OTA)  
 デオキシニバレノール類 (DON, 3-AcDON, 15-AcDON)  
 ニバレノール (NIV)、フザレノンX (FusX)  
 ネオソラニオール (NEO)  
 T-2トキシン、HT-2トキシン  
 ゼアラレノン類 (ZEN,  $\alpha$ -ZEL,  $\beta$ -ZEL)  
 パツリン (PAT)  
 フモニシン類 (FB1, B2, B3)  
 ジアセトキシシルベノール (DAS)

### 新興カビ毒

(情報が不足しているカビ毒)

エンニアチン類 (ENNA, B)  
 ビューベリシン (BEA)  
 ステリグマトシステン (STC)  
 アルテルナリアトキシン (AOH, AME)

### 修飾体

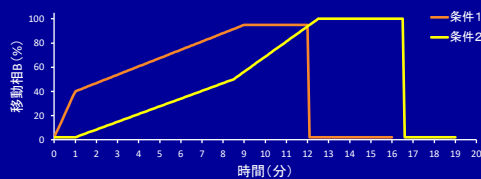
デオキシニバレノール-3-グルコシド (DON-3-Glc)  
 ゼアラレノン-14-グルコシド (ZEN-14-Glc)  
 ゼアラレノン-4-サルフェート (ZEN-4-S)

合計30種類

7

8

## LCグラジエント条件の検討



### 比較条件

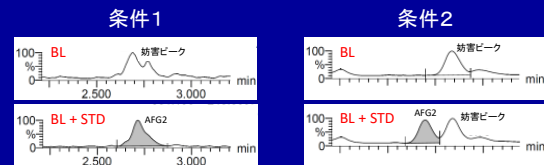
条件1  
 流速: 0.4 mL/min 初期: 急勾配  
 条件2  
 流速: 0.3 mL/min 初期: 緩やか

### 比較内容

- ピーク形状
- 妨害ピークの有無

9

## AFG2と妨害ピークの分離



- BLに妨害ピークあり
- AFG2と妨害ピークを分離
- AFG2のピークに含まれてしまう (定量結果に影響)
- AFG2のみを定量可能

妨害ピークの影響を減らすために条件2を採用

10

## 最適化後の測定条件

|        |  |            |
|--------|--|------------|
| 使用機器   | Waters Xevo TQ-XS  |            |
| 分析カラム  | ACQUITY UPLC BEH C18 (1.7 $\mu$ m, 2.1 mm $\times$ 100 mm) |            |
| 移動相A   | 1 mmol/L酢酸アンモニウム含有0.1%酢酸水溶液                                |            |
| 移動相B   | 0.1%酢酸メタノール  |            |
| グラジエント | 時間(分)  | B液(%)      |
|        | 0.0  | 2          |
|        | 1.0  | 2          |
|        | 8.5  | 50         |
|        | 12.5   | 100        |
|        | 16.5   | 100        |
|        | 19.0   | 2          |
| 流速     | 0.3 mL/min   | カラム温度 40°C |
| 注入量    | 5 $\mu$ L  |            |

11

## 精白米からの抽出法の検討

### 振とう抽出

※ 抽出溶媒: アセトニトリル/水/酢酸 (79/20/1)

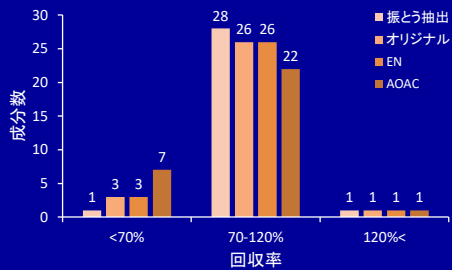


### QuEChERS法(オリジナル法、AOAC法、EN法)



12

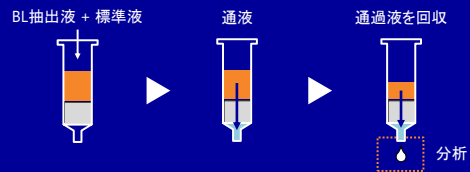
## 各抽出法の回収率分布



多くのカビ毒で回収率が良好な振とう抽出を採用した

13

## 精製カラムの検討



### 精製カラムの種類

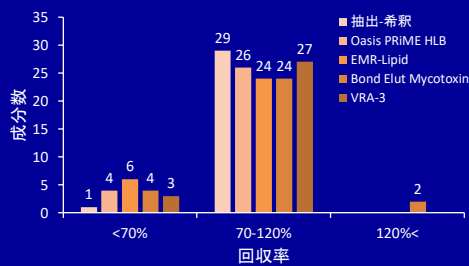
- Oasis PRiME HLB
- EMR-Lipid
- Bond Elut Mycotoxin
- InertSep VRA-3

### 評価方法

- 各カラム5併行で実施
- 回収率により評価
- 評価基準：70%~120%  
(農業等の試験の妥当性評価ガイドラインを参考)

14

## 各精製カラムの回収率分布



精製カラムを使用しない希釈法を採用する

15

## 妥当性評価試験



### 実施方法

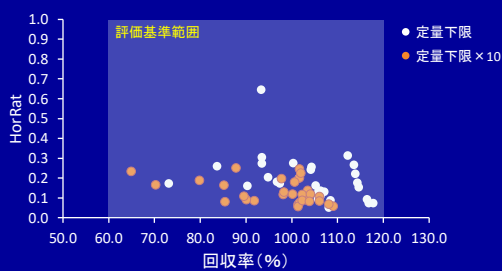
- 3名、2併行の2日間で実施
- 添加濃度
  - 定量下限
  - 定量下限 × 10

### 評価基準

- CODEXガイドライン
- 真度：80-110% (添加濃度 ≤ 100 µg/kg)  
60-115% (≤ 10 µg/kg)  
40-120% (≤ 1 µg/kg)
- 精度：HorRat値 ≤ 2

16

## 妥当性評価試験の結果



すべてのカビ毒で評価基準を満たした

17

## 現時点のまとめ及び課題

### まとめ

- 精白米を対象とした30種カビ毒の一斉分析法を確立
- 抽出-希釈という簡易な分析法 (定量下限：0.25 ppb~20 ppb)

### 課題

- 脂質や色素の多い食品では希釈のみでは分析が困難
- 精製工程により一部のカビ毒は対象外となる可能性あり

18

## 課題への対応方針

### 候補1 ダブルフィルター精製法

抽出液を水で希釈して脂質を分離し、2連結フィルターでろ過  
(参考: 設楽織史ほか, さいたま市健康科学研究センター年報, 2019)

### 候補2 カビ毒一斉分析用カラム

バイオタージ・ジャパン社製の一斉分析用カラムで精製

### 候補3 汎用精製カラムの最適化

所有しているカラムで溶出溶媒組成等を最適化する

## 今後の計画

### 令和4年度 : 分析方法の検討

- LC-MS/MS測定条件の最適化
- 抽出・精製方法の比較検討

### 令和5年度 : 分析方法の確立

- 分析方法の決定 (麦類、ナッツ類、ワイン、ビール、茶など)
- 妥当性評価試験の実施 (精白米は完了)

### 令和6年度 : 調査及び評価

- 県内流通食品中のカビ毒含有量の調査
- 暴露リスクの評価