

精白米におけるカビ毒一斉分析法の検討

衛生化学部 ○木下 和昭、高山 清子、富山 裕規
黒木 麻衣、落合 克紀

1 はじめに

食物を汚染するカビの一部は、ヒトや動物に有害な物質であるカビ毒を産生する。カビ毒は急性毒性のほか、少量を長期間摂取することによる発がんなどの慢性毒性も示すため、食品衛生上重要な課題となっている。2011年には県内で生産された米から、強力な発がん性を持つカビ毒であるアフラトキシンが基準値の7倍を超える高濃度で検出された。国産米としては初の事例であり、国内でも条件によっては高濃度のカビ毒に汚染されることを示唆する事例となった。このことから、当所では令和4年度からアフラトキシンの収去検査を実施している。

また、カビの中には複数種のカビ毒を産生するものも存在するため、一つの食品への複数カビ毒の汚染もよく見られる^{1,2)}。カビの生育には気象条件が大きく関与しており、温暖で湿度の高い当県においてはカビ毒の調査の必要性は高いと考えられるが、県内のカビ毒汚染実態は明らかになっていない。

そこで、カビ毒の汚染実態に関する調査を実施するため、精白米を対象とした30種のカビ毒一斉分析法を検討し、収去品を用いてカビ毒含有量調査を実施したので報告する。

2 対象及び方法

1) 対象

県内で生産された精白米：12検体

2) 方法

ア) 抽出・精製方法の検討

- ・QuEChERS法（オリジナル法、EN法、AOAC法）または振とう抽出による回収率を比較した。
- ・精製方法を決定するため、4種類の精製カラムを用いて回収率を比較した。

イ) 一斉分析法の妥当性評価試験

- ・カビ毒の汚染がないことを確認した精白米試料に、①定量下限、②定量下限の10倍濃度となるように添加した試料を用いて、真度および精度を確認することで分析法の性能を評価した。分析者3名で2日間添加回収試験を実施し、回収率により真度を、HorRat値で精度を評価した。評価基準はCodexガイドラインに基づき評価した。

ウ) 収去検体を用いたカビ毒含有量調査

- ・収去検体12試料を用いて、カビ毒一斉分析法によるカビ毒含有量調査を行った。

3 結果および考察

1) 抽出・精製法の検討および妥当性評価試験

QuEChERS法による抽出よりも、振とう抽出で回収率が良好であり、QuEChERS法による抽出では極性の高いカビ毒の回収率が低くなる傾向が見られた（図1）。QuEChERS法では塩析により水とアセトニトリルを分離するため、極性の高い化合物が水相へ移動することで回収率が低下したと考えられる。

精製カラムの比較ではVRA-3カラムが最も回収率が良好であったが、脂質に似た構造を持つカビ毒で回収率が低下した（図2）。多種のカビ毒を対象とした一斉分析として、抽出-希釈操作のみの分析法の有効性が報告されている³⁾。本調査研究でも同様の結果となり、すべてのカビ毒でCodexガイドラインの評価基準を満たした（図3）。

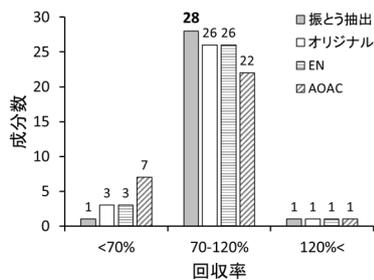


図1 各抽出法の回収率

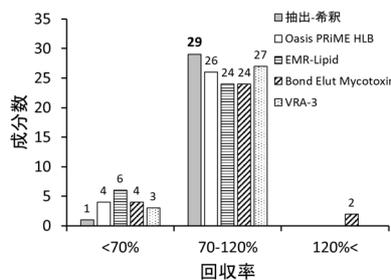


図2 各精製カラムおよび希釈法の回収率

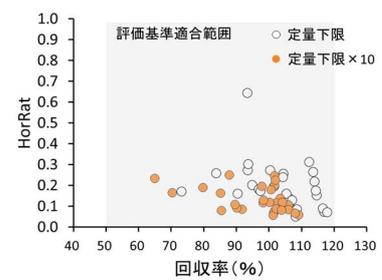


図3 妥当性評価試験の結果

2) 収去検体 12 試料を用いたカビ毒含有量調査

収去検体の分析結果で検出されたカビ毒を表 1 に示した。アフラトキシンはすべての試料で検出されなかったが、低濃度のカビ毒が検出され、同一検体において複数種のカビ毒汚染が見られた。フザリウム属のカビはニバレノールなどのトリコテセン類カビ毒のほか、ゼアラレノンも産生することが知られているため、フザリウム属のカビにより複数種のカビ毒汚染が起きた可能性がある。また、ゼアラレノン-4-サルフェート、 β -ゼアラレノールも検出されたが、これらのカビ毒は生物の代謝により生じるカビ毒であることから^{4,5)}、ゼアラレノンに汚染された稲で異物代謝を受けたことで産生されたと考えられる。

表 1 収去検体の分析結果 (単位: $\mu\text{g}/\text{kg}$)

	試料 1	試料 2	試料 3	試料 4	試料 5	試料 6
ビューベリシン	0.57	0.56	0.53	0.65	0.57	0.54
ステリグマトシスチン	0.5 >	0.5 >		0.5 >	0.5 >	
	試料 7	試料 8	試料 9	試料 10	試料 11	試料 12
アルテルナリオールメチルエーテル	0.5 >	0.5 >	0.5 >	0.5 >	0.5 >	0.5 >
β -ゼアラレノール				2 >		
ビューベリシン			0.5 >	0.5 >	0.5 >	
ニバレノール				10 >		
ゼアラレノン				10 >		
ゼアラレノン-4-サルフェート				1 >		

※ 定量下限値未満の測定値については各カビ毒の『定量下限値 >』、不検出は空欄で示した。

4 まとめ

収去検体を用いたカビ毒含有量調査では、低濃度ではあるが複数種のカビ毒が検出されたことから、カビ毒汚染を完全にゼロにすることは困難であることが示唆された。今後はさらに検体数を増やして汚染実態の調査を行い、その他の食品についても対象を拡大する予定である。

参考文献

- 1) Jyoti S., Alka M., Rapid and sensitive detection of mycotoxins by advanced and emerging analytical methods: A review. Food Science & Nutrition 2020; 8: 2183–2204.
- 2) Octavian A. M., Marthe D. B., Luca D., et al. The Occurrence of Non-Regulated Mycotoxins in Foods: A Systematic Review. Toxins 2023; 15(9): 583.
- 3) Michael S., David S., David S., et al. Validation of an LC-MS/MS-based dilute-and-shoot approach for the quantification of > 500 mycotoxins and other secondary metabolites in food crops: challenges and solutions. Analytical and Bioanalytical Chemistry 2020; 412: 2607–2620.
- 4) Franz B., Marc L., Ulrike W., et al. Short review: Metabolism of the Fusarium mycotoxins deoxynivalenol and zearalenone in plants. Mycotoxin Research 2007; 32(2): 68-72.
- 5) Franz B., Colin C., Chiara D., et al., Masked mycotoxins: A review. Molecular Nutrition & Food Research 2013; 57: 165-186.