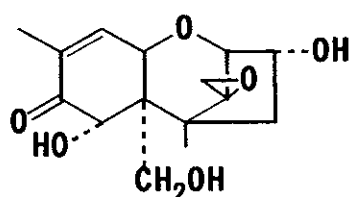
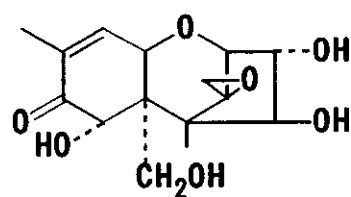


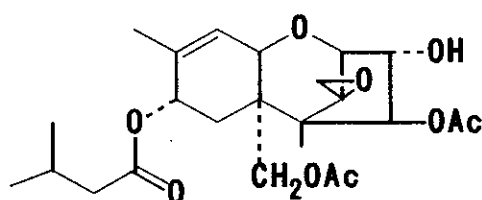
り、立体化学的には母核から張り出した形で配座し、4β位のエステル結合と立体的に近接している。生合成的にはメバロン酸合成経路により farnesyl pyrophosphate から合成される。トリコテセン母核の 3α, 4β, 7α, 8α, および 15 位には水酸基が導入され、これらの水酸基は酢酸, イソ吉草酸, クロトン酸などによってアシル化 (エステル化) され、あるいは satratoxin のように 4β と 15 位で架橋を形成して大環状トリコテセンとなる。8 位水酸基は酸化されて共役カルボニル基となる。トリコテセン母核のこのような微生物的修飾反応はトリコテセン産生菌に特異的であり、これまでに 60 種を超える数多くの関連物質が明らかにされている。



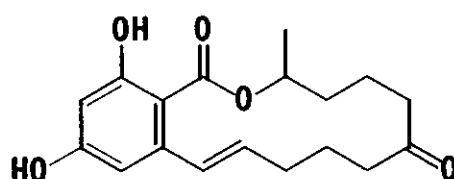
Deoxynivalenol (DON)



Nivalenol (NIV)



T-2 toxin



Zearalenone

これらのトリコテセンを化学構造の面から大別して、8 位カルボニル基を欠くグループを A 型, これをもつ B 型, 12, 13-位の他にもう一つのエポキシ基をもつ C 型, および大環状トリコテセンの D 型に分類される。このような母核修飾の多様性は、トリコテセンの毒性(生物活性)の強さやその選択性に大きく影響を与える。

人工培養によるトリコテセンの生産条件は、それぞれの菌によってかなり差があり、培地や温度など適切な条件下で行う必要がある。固体培養では、米やひき割トウモロコシに水分を 30%程度含ませて行うのが一般的である。液体培地では、ペプトン添加 Czapek - Dox 培地, ブドウ糖-酵母エキス-ペプトン培地などで良好な結果を得ている。また、バーミキュライトに液体培地を含ませて成功した例もある。

トリコテセン産生菌 代表的なトリコテセンの産生菌を第 1 表に示した。A 型および B 型の産生菌の主体は *Fusarium* 属菌であり、両方のタイプ (型) を同時産生する菌は稀である。これらの *Fusarium* 属菌のうち, *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. sporotrichioides* などは、世界各国の農産物のトリコテセン汚染に深く関与しており、特に

重視される。ムギやトウモロコシ等の農産物を侵害する *Fusarium* 属菌は、グローバルな地理的分布に差異があるため、優先種が多少異なると考えられる。これら汚染菌と産生トキシンの関係は、各国で発生しているフザリウムトキシンの農産物汚染を正確に把握する上で極めて重要となる。

第1表 トリコテセン系マイコトキシン(A型及びB型)を生産する代表的なフザリウム属菌

菌種名	生産されるマイコトキシン		
	A型トリコテセン	B型トリコテセン	その他トキシ
<i>F. graminearum</i>		deoxynivalenol, nivalenol	zearalenone
<i>F. culmorum</i>		deoxynivalenol	zearalenone
<i>F. crookwellense</i>		nivalenol	zearalenone
<i>F. sporotrichioides</i>	T-2 toxin		
<i>F. poae</i>	diacetoxyscirpenol	nivalenol	
<i>F. equiseti</i>	diacetoxyscirpenol		

他のタイプのトリコテセンの産生菌についてみると、大環状トリコテセン産生菌として *Myrothecium verrucaria*, *M. roridium* はよく知られており、*Stachybotrys atra* は北歐や東歐の stachybotryotoxicosis の原因菌である。C型を生産する菌の知見は限定されている。

3. トリコテセンの毒性作用

急性毒性 トリコテセン母核の水酸化や保護基の置換の仕方により急性の毒力は大きく影響を受け、LD₅₀値は0.5~810mg/kgと大きな幅がある。一般に性差は認められないが、新生仔は成熟動物に比べ10~20倍感度が高い。投与経路による急性毒性の差は大きくないので、トリコテセンのbioavailabilityは高いと考えられる。第2表にDONの急性経口毒性を示した。

第2表 DONの急性経口毒性 (JECFA, 2001)

動物種、系統 年齢	性	投与経路	化合物*	LD ₅₀ (mg/kg bw)	参考文献
マウス、ddy 6週令	雄	経口 腹腔	DON	46	Yoshizawa & Morooka (1974)
				70	
マウス B6C3F1		経口 腹腔	DON	78	Forsell et al.(1987)
				49	
マウス		腹腔 皮下	DON	43	Thompson & Wannemacher (1986)
				45	
マウス、ddy 6週令	雄	経口 腹腔	3-ADON	34	Yoshizawa & Morooka (1974)
				49	
マウス B6C3F1		経口	15-ADON	34	Forsell et al.(1987)
プロイラー		経口	DON	140	Huff et al.(1981)
アヒル、10日令		皮下	DON	27	Yoshizawa & Morooka (1974)

* DON, deoxynivalenol; 3-ADON, 3-acetyldeoxynivalenol;
15-ADON, 15-acetyldeoxynivalenol

血液学的障害 リンパ節、脾臓、骨髄等の造血組織への親和性が高く、増殖性細胞に核崩壊と細胞壊死など放射線障害に類似の作用(radiomimetic effect)が認められる。ラット、マウス、ネコにトリコテセンを投与すると、一過性の白血球増加が見られる。これは貯蔵白血球の急激な放出に由来するが、特にリンパ球の増加が著しく、好中球がこれに続く。一方、亜急性的に暴露すると無白血球症状態となり血小板、赤血球、リンパ球等の減少を伴うが、これは骨髄の造血組織力が破壊されたことに起因する。

神経毒性・皮膚毒性 トリコテセン中毒症によく認められる嘔吐は中枢性であり、延髄背側の化学受容器引金帯への作用によると考えられている。一方、皮膚障害性もトリコテセンに特徴的な作用であり、大環状トリコテセンやT-2toxinは強い炎症作用を示す。

第3表 DON の遺伝毒性試験結果 (JECFA, 2001)

試験系	試験対象	濃度	結果	文献
<i>In vitro</i>				
エイムズ試験	<i>S. typhimurium</i> TA-98; TA-100; TA-1535; TA-1537 ^a	0.4-400 ug/plare	陰性	Wehner et al.(1978) Kuczuk et al.(1978)
エイムズ試験	<i>S. typhimurium</i> TA-98; TA-100 ^a	0.7-500 ug/ml	陰性	Knasmuller et al.(1997)
SOS 染色体試験	<i>E. coli</i> PQ 37 ^a	5-500 ug/assay	陰性	Knasmuller et al.(1997)
遺伝子突然変異	チャイニーズハムスター 肺V-79細胞/HGPRT ^b	1-3 ug/ml ^c	陰性	Rogers & Heroux- Metcalf (1983)
不定期DNA合成	ラット初代肝細胞	0.1-1000 ug/ml	陰性	Bradlaw et al.(1985)
DNA修復	<i>E. coli</i> K12	0.7-500 ug/ml	陰性	Knasmuller et al.(1997)
染色体異常 ^d	チャイニーズハムスター V-79細胞	最高 1 ug/ml	陽性 7倍	Hsia et al.(1988)
染色体異常 ^e	ラット初代肝細胞	0.001-100 ug/ml 最高1 ug/ml	陽性 6倍	Knasmuller et al.(1997)
	チャイニーズハムスター V-79細胞	0.1-0.5 ug/ml	阻害	Jone et al.(1987)
細胞形質転換	Balb/3T3 継代細胞		陽性	Sheu et al.(1988)
<i>In vivo</i>				
染色体異常	マウス骨髓細胞	3 mg/kg bw 週2回 8週間 0.06 mg/kg bw/day 飼料投与	陽性 3倍(?) 陰性	Bilgrami et al.(1993)

^a +/- S-9による活性化、^b +/- 肝細胞による活性化、^c 1ug/mlでコロニーサイズ減少; 10 ug/mlで90%細胞死、^d 主に染色分体切断、^e 小核陰性

突然変異原性・遺伝毒性 Rec-assay (*B. subtilis*), Ames test (*S. typhimurium*)
 では、ほとんどのトリコテセンは陰性である。培養細胞における染色体切断や 8-アザグア
 ニン抵抗性の突然変異誘導も認められない。しかしながら、T-2 toxin がリンパ細胞の DNA
 二重鎖を in vivo, in vitro で破壊すること、diacetoxyscirpenol がタマネギ (*Allium cepa*)
 細胞に染色体異常や細胞質遺伝子の異常を起すこと、さらに croctocin(type C)が Ames test
 で変異原性を示すこと、などが明らかにされている。

第3表に DON の遺伝毒性試験の結果を示した。チャイニーズハムスターV-79細胞、マ
 ウス Balb/3T3 継代細胞、マウス骨髄細胞で染色体異常が認められているが、他の試験系で
 はいずれも陰性である。

第4表 DON の亜急性および慢性毒性試験成績(JECFA, 2001より抜粋)

動物種・ 系統・性別 ・年齢	試験	動物数/ 群	飼料中濃度 mg/kg	投与量 mg/kg bw	投与経路	作用	LOAEL mg/kg bw/day	NOAEL mg/kg bw/day
マウス B6C3F1, 幼若雌	56日間	10	0.5, 2.0, 5.0	0.07, 0.28, 0.7	飼料 15-ADON	摂餌量、体重 減少、腎臓、 脾臓萎縮	0.7 0.7	0.28 0.28
マウス B6C3F1, 幼若雌	56日間	8	0.5, 2, 5, 10, 25	0.07, 0.28, 0.7, 1.4, 3.5	飼料	体重、肝臓・ 腎臓重量低下	0.28 0.7	0.07 0.28
マウス B6C3F1, 雄、雌	2年間	50	1, 5, 10	雄: 0.1, 0.5, 1.1 雌: 0.1, 0.6, 1.4	飼料	体重減少、腫瘍 発生減少	0.5	0.1
ラット、SD, 幼若雄・雌	61日間 68日間	25雄 25雌		0.25, 0.5, 1.0	飼料	摂餌量減少、 成長低下、小腸・ 脾臓チミチン 取込低下	0.25雌	0.50 雄 0.25/0.5雄
ブタ, 25 kg	100日間	7-9	0.5, 1.0, 2.0, 4.0 control: 0.1-0.4	0.02, 0.04, 0.08, 0.16	飼料+ 自然汚染 オーツ	成長低下、 摂餌量減少	0.08 0.16	0.04 0.08
ブタ、21kg、 59日令 雌、去勢雄	95日間	7-11	0.7, 1.7, 3.5	0.04, 0.1, 0.2 (計算値)	飼料 自然汚染 (含ZEN)	成長低下、 摂餌量減少 肝重量減少、血清 アルブミン低下	0.1 0.2	0.04 0.1
ブタ、10 kg 去勢雄	28日間	5	0, 4 0, 4, 6 0, 4, 6	0, 0.16 0, 0.16, 0.024 0, 0.16, 0.024	DON添加 汚染麦 DON添加	体重・摂餌量減少 体重低下 体重低下	0.016 0.016 0.024	0.016 0.016 0.016
ウシ、293kg	84日間	18	0.9, 3.7, 6.4, 9.2	0.001, 0.05, 0.07, 0.10	汚染麦 オオムギ	飼料消費、 体重増加、 血清成分等 に影響なし		>0.1

亜急性毒性・慢性毒性 DONの亜急性および慢性毒性に関する試験成績を第4表に示した(JECFA, 2001より抜粋)。それらの成績から求められたLOAELおよびNOAELのうち、B6C3F1マウスでの2年間の慢性毒性試験から得られたNOAEL(0.1 mg/kg bw/day)が、JECFAでのPMTDI算定の根拠となっている。トリコテセンの発癌性は認められていない。

繁殖毒性・催奇形毒性 第5表にDONのマウス、ラット、ウサギ、ブタ、ニワトリなどに対する繁殖毒性および催奇形毒性試験結果をまとめた。妊娠母体への影響、流産、胎児の外表や高頻度の骨格異常(乏指症, 合指症, 外脳症, 四肢の奇形, 肋骨や椎骨の癒合など)が出現する。

第5表 DON の繁殖および催奇形毒性

動物種・系統・性別・年齢	試験	動物数/群	飼料中濃度 ppm	投与量 mg/kg bw	投与経路	作用	LOAEL mg/kg bw/day	NOAEL mg/kg bw/day
マウス SW, 30 g	催奇形性	15-19		0, 5, 10, 15,	胃ゾンデ 飼料	催奇形性	5	2.5
				0, 0.5, 1.0, 2.5		骨格異常	2.5	1.0
マウス SW, weanling	繁殖	10-20; 雌		0, 0.375, 0.75, 1.5, 2.0	飼料		0.75	0.375
ラット SD, 30 日令	繁殖	15雄; 15雌		0, 0.25, 0.5, 1.0	飼料	母体・胎児毒性		1.0
ラット SD, 165 g	繁殖	10雄; 25雌	20	0.2	飼料	受精率低下	>2.0	
ラット F344	催奇形性 d1-21	23雌	0, 0.5, 2.0, 5.0	0, 0.025, 0.1, 0.25	飼料	催奇形・繁殖作用なし dam 体重減少	0.1	>0.25 0.025
ラット	催奇形性 d7-15			0.2, 1, 5, 10	胃ゾンデ	胎児毒性 骨形勢遅延		0.2
ウサギ	催奇形性 d0-30	13-15	0, 7.5, 15, 30, 60, 120, 240	0, 0.3, 0.6, 1.0, 1.6, 2.0, 1.8	飼料	胎児吸収増加 母体重 胎児重		0.6 0.6 0.6
ニワトリ 白色レグホーン 産卵 20-30 週令	70 日間	12	0.12, 2.5, 3.1, 4.9 + 3-ADON (12%)		自然汚染 オーツ	摂餌量、体重、 産卵等への影響なし 骨形勢遅延	2.5 ppm	
ブタ ヨークシャー 178 日令		8-10	0, 0.1, 1.7, 3.5	0, 0.002, 0.04, 0.07	自然汚染 飼料	母体毒性、胎児重減少 no gross malformation		0.04
ブタ ヨークシャー 90kg		6-10	0.2, 3.8, 6.2	0.003, 0.06, 0.09	自然汚染 飼料	transient decr. Kidney wt 以外の毒性 なし		>0.09

SW, Swiss Webster; SD, Spague Dawley.

免疫毒性 第6表にDONの免疫毒性に関する研究結果を示した。

第6表 DONの免疫毒性に関する研究一覧 (JECFA, 2001)

動物種	実験条件	作用	パラメータ ^a	投与量 (mg/kg bw/day)
マウス	5週間、精製DON 胃ゾンデ	抗体応答	LOAEL NOAEL	0.75 ND ^b
マウス	5週間、精製DON 飼料添加	宿主抵抗性 白血球増殖	LOAEL NOAEL	0.5 0.25
マウス	2-4週間、精製DON 飼料添加	宿主抵抗性 DTH, 抗体応答	LOAEL NOAEL	5.0*(25ppm添加飼料) 1.0*(5ppm添加飼料)
マウス	1-2週間、精製DON 飼料添加	抗体応答 白血球増殖	LOAEL NOAEL	1.5*(10ppm添加飼料) 0.75*(5ppm添加飼料)
マウス	4週間、精製DON 飲料水添加	宿主抵抗性	LOAEL NOAEL	0.12 >0.024
マウス	1週間、精製DON 胃ゾンデ	宿主抵抗性	LOAEL NOAEL	6.25 ND
マウス	6週間、精製DON 飼料添加	血清IgA	LOAEL NOAEL	0.4*(2.0ppm添加飼料) 0.1*(0.5ppm添加飼料)
マウス	4-12週間、精製DON 飼料添加	血清IgA	LOAEL NOAEL	2.0*(10ppm添加飼料) 0.4*(2ppm添加飼料)
マウス	12週間、精製DON 飼料添加	腎臓IgA沈着 IgA腎症	LOAEL NOAEL	0.4*(2ppm添加飼料) ND
マウス	2-7日間、精製DON 胃ゾンデ	cytokine発現	LOAEL NOAEL	2 0.5
ブタ	42日間、DON自然 汚染飼料	抗体応答	LOAEL NOAEL	0.12*(1.78ppm添加飼料) 0.08*(0.95ppm添加飼料)

a LOAEL, NOAEL; b ND, Not determined.

* 飼料摂取量および体重から算出

5. トリコテセンの分析 (第7表)

トリコテセンの化学分析法は定量性、感度、精度共に優れており、最近、実用的な分析法が報告されている。薄層クロマトプレート(シリカゲル)を用いた簡易検定法としては、20%塩化アルミニウムまたは10%硫酸を噴霧してから加熱発色し、紫外線照射下で蛍光スポットを検出する方法がある。

微量定量法としては、トリコテセンの水酸基にシリル化剤を反応させてトリメチルシリルエーテル化してから、ガスクロマト分析(水素炎イオン化検出器使用)するのが一般的である。Deoxynivalenol (DON) や nivalenol (NIV) のように C-8 位に共役カルボニル基を持つトキシンのシリルエーテル誘導体は、電子捕獲型検出器(ECD)付ガスクロマトで分析すると、ピコグラムレベルの超微量分析が可能であり、食品や生体試料の分析に応用できる。また、ヘプタフルオロ酪酸やトリフルオロ酪酸のようなハロゲン化有機酸のエステル誘導体になると、T-2 toxin や diacetoxyscirpenol のようなトキシンでも ECD で微量分析できる。さらに、GC-MS(EI もしくは CI)によるマスフラグメントグラフィー(SIM)は、種々の検出法の中でも汎用されている手法である。また、LC-MS による分析も有望視されている。

第7表 トリコテセン系マイコトキシンの分析法、検出限界および適用範囲
(Yoshizawa, 2001)

抽出	Cleanup カラム	誘導化	確認法	対象トキシン	検出限界	対象食品など
CH ₃ CN-H ₂ O (84+16)	固相抽出 カラム	なし	HPLC (UV, 220 nm)	DON	0.5 ug/g	コムギ全粒粉 コムギ粉、ふすま
		Zirconyl nitrate+ ethylene- diamine	蛍光検出	DON	0.5 ug/g	コムギ、コムギ粉 ふすま、オオムギ
	活性炭- アルミナ- セライト カラム	なし	TLC AlCl ₃ 噴霧	DON	0.3 ug/g	コムギ
				DON, NIV, T-2, HT-2, DAS ほか	0.3-0.8 ug/g	コムギ、コーン
CH ₃ CN-H ₂ O (3+1)	フロリジル カラム	TMS	GC-ECD GC-MS	DON, NIV, および そのアセチル体	10 ng/g	コムギ、オオムギ コーン及びその製品
MeOH-H ₂ O (7+1)	シリカゲル カラム	TMS HFB	GC-ECD GC-MS	DON, NIV, T-2, HT-2, DAS ほか	20 ng/g 50-200 ng/g	コムギ、コムギ粉、 オオムギ、コーン粉、 コーンミール、 ライムギ粉

5. トリコテセンによる自然汚染

1972年アメリカで、乳牛に中毒症を起したトウモロコシから T-2 toxin が単離された。これとほぼ同時期に著者の研究室で、四国産の赤カビ被害ムギから DON と NIV が発見された。さらに、ミネソタ大学グループは家畜中毒の原因飼料から diacetoxyscirpenol を検出した。これらの先駆的報告に引き続いて、多くの汚染例が報告されているが、自然汚染に関与する主要なトリコテセンは、上記の 4 種のトキシンとみなされている。世界的にみて DON による汚染例が大半を占め、これがムギ類やトウモロコシ類から検出されるトキシンの主体である。わが国では、この他に NIV が関与している。T-2 toxin や diacetoxyscirpenol は外国で散発的に認められているが、わが国での汚染データは乏しい。

JECFA で集約した DON 汚染データ

2001年 JECFA で集約した DON 汚染データについて、汚染が報告された国数および検体数を穀類・食品別にまとめて第8表に示した。コムギとコーンの汚染が国数と検体数ともに多く、オオムギがこれに次ぐ。また、汚染データは第9表に示した国から報告されたものである。

DON 汚染データのうち、データ数の比較的多い国についてまとめたのが、第10表である。

第8表 DON 汚染データが報告されている国の数
(品目別; JECFA, 2001)

品目	国数	全検体数
オオムギ	11	1,778
コーン	16	5,511
ポップコーン	2	50
オーツ	7	834
コメ	4	203
ライムギ	4	295
ソルガム	1	15
ライコムギ	1	10
コムギ	17	14,102
その他	2	58
ビール	4	321

第9表 DON 汚染データを報告している国
(地域別; JECFA, 2001)

極東	アフリカ	ラテンアメリカ	ヨーロッパ
中国	南アフリカ	アルゼンチン	オーストリア
インド		ブラジル	ブルガリア
インドネシア		チリ	カナダ
日本		ウルグアイ	フィンランド
韓国			ドイツ
ニューギニア			イタリア
ベトナム			ニュージーランド
フィリピン			ノルウェイ
タイ			ポーランド
			スウェーデン
			イギリス
			アメリカ

第10表 各国の穀類のデオキシニバレノール汚染状況
(JECFA 2001より抜粋)

国・地域	穀類・食品	年	定量限界 ug/kg	検体数	汚染 検体数	平均汚染 濃度 ug/kg	最大汚染 濃度 ug/kg	>100 ug/kg 汚染数	>1000 ug/kg 汚染数
南アフリカ	黄色コーン	1993	150*	236		82	1092		
	黄色コーン	1994-95	150*	148		169**	1800		
	白色コーン	1994-95	150*	143		157*	2750		
	コーン製品	1994-95	150*	156	64	116	850		
米国	オオムギ	1993	500	118	79	3000	14000		
	硬質春コムギ	1993	500	201	180	3700	18400		
	硬質冬コムギ	1993	500	194	94	800	7600		
カナダ	軟質冬コムギ	1981	10*	101	101	250	3240		
	軟質冬コムギ	1982	25*	129	128	744	5670		
	硬質コムギ	1984	10*	201	87	134	10500		
	硬質コムギ	1985	50-100*	142	33	58	3800		
	硬質コムギ	1986	100*	147	53	267	7120		
	硬質コムギ	1987	100*	121	21	80	2100		
	コムギ食品	1982-83	25*	270	151	140	4060		
		1983-84	10-100*	155	101	143	1150		
		1984-85	10-100*	167	75	81	1150		
	1995-96	20-100*	187	63	108	2750			

アルゼンチン	コムギ	1985	30*	123	88	571	1730			
		1986	30*	261	179	329	2400			
		1989	30*	102	23	47	400	23	0	
		1990	30*	159	104	146	672.5	89	0	
		1991	30*	189	47	55	515	37	0	
		1992	30*	222	83	75	505	72	0	
		コーン	1987-89	100*	100	33	129	1200		2
	1995		48	197	7	26.3	225	6	2	
	1997		48	268	0					
	1998		48	116	3	4.6	250	2	0	
	1999		48	363	8	9.4	1000	8	1	
		2000	48	1025	58	35.5	2700	49	10	
ブラジル	コムギ	2000	100	108	94	198	8500	14	6	
ウルグアイ	コムギ・製品 オオムギ・製品	1994-95	40*	168	87	297	4000	58	13	
		1997-98	40*	241	183	1823	34462	77	60	
		1998-99	20*	136	74	63	862	18		
		1999-00	20*	153	20	4	98			
ノルウェー	コムギ	1990	30*	138	110	101	890	50	0	
		1991	30*	107	87	81	310	31	0	
		1992	30*	112	96	189	900	71	0	
		1993	30*	102	65	89	560	36	0	
		1994	30*	112	26	29	370	11	0	
フィンランド	コムギ	1998	10	31	26	29.6	190	2	0	
	ライムギ	1998	10	49	40	24.5	144	2	0	
スウェーデン	オーツ	1997	10	84	79	86	406	30	0	
	コムギ	1999	10	75	59	53	346	15	0	
ブルガリア	コムギ	1995	50*	140	94	120.6	1800			
ロシア	コムギ(収穫期)	1988	50*	120	112	1130	13900		62	
		1989	50*	251	251	680	5800			
		1990	50*	214	124	570	3520			
		1991	50*	159	120	520	3800			
		1992	50*	311	308	880	8600			
		1993	50*	543	539	710	4000			
		1994	50*	154	36	80	950			
		コムギ(食品用)	1992	50*	190	72	330	5630		
	1993		50*	169	30	200	3950			
	1994		50*	267	18	30	1130			
ドイツ	パン(精白粉)	1999	23	55	53	176	584			
	パン(全粒粉)	1999	23	52	29	103	690			
	ヌードル(精白粉)	1999	23	27	26	220	1000			
	ヌードル(全粒粉)	1999	23	12	9	791	4840			
	コムギ	1987	1*	84	81	1574	20538	49	21	
		1989	1-5*	78	54	105	1187	24	8	

		1990	1-5*	80	77	573	8969	59	13
		1991	1-5*	80	77	346	4627	37	7
		1992	1-5*	78	74	318	5412	43	2
		1993	1-5*	45	43	374	6165	22	3
イタリア	軟質コムギ	1999	50*	112	68	133	956	37	0
	チュラムコムギ	1999	50*	111	89	202	1206	78	1
英国	コムギ	1999	20*	201	198	86	600	52	0
	オオムギ	1999	20*	106	75	38	370	3	0
ポーランド	コムギ	1993	10*	78	39	10.5	102	1	0
中国	コムギ	1986	50*	182	82	312			13
		1986	100	214	166	211.3	1200		
		1996	100	100	40	272.7	2322.1		
	コーン	1988	100	101	80	287.3	2500		
		1989	100	100	32	241.3	4000		
		1989	100	140	29	35.2	800		
日本	コムギ	1989-94	5*	151	82	87	1620		
	オオムギ	1989-94	5*	94	71	205	3780		
ニュージーランド	コーン	1992	10*	178	178	920	8500	145	45
		1993	10*	162	150	310	3370	90	11
		1994	10*	276	245	350	4790	162	16

* 検出限界、**陽性検体の平均値

6、DON のリスク評価 (JECFA,2001)

全世界から集計した穀類別の DON 汚染濃度 (加重平均値) を第 1 1 表に示した。これらの汚染値および世界の 5 地域別 (中東、極東、アフリカ、ラテンアメリカ、ヨーロッパ) 穀物消費量 (第 1 2 表) から算定した DON 一日当たり摂取量を、地域別に第 1 3 表に示した。

また、極東地域の DON 摂取量 (推定) を第 1 4 表に示した。算定値は 1.588ug/kg 体重/日であり、その 47% がコムギ、44% がコメから暴露となるが、コメの汚染データについては、ヨーロッパと南米で報告されている 203 検体のデータ (第 1 1 表参照) を極東に外挿して推定した結果である。現時点ではアジア地域のコメ汚染データをないため、この評価結果には問題が多い。

また、JECFA での DON のリスク評価結果を、他のマイコトキシンの結果とともに第 1 5 表に示した。DON のマウスでの NOEL (100 ug/kg bw/day、第 4 表参照) をもとに、安全係数 100 とすると PMTDI (暫定最大一日耐容量) は 1 ug/kg bw/day と評価された。表に示したように、世界各地域別の DON 摂取量は 0.776 - 2.441 ug/kg bw/day であり、アフリカをのぞく他地域はすべて PMTDI を越えていることになる。しかし、前述のように、推

定の基礎となる穀物汚染データの報告されている国・地域がまだ限定されており、データ数も不十分であることなどを考慮したうえで、評価結果を取り扱う必要がある。

第11表 穀類等のDON汚染状況
(JECFA, 2001)

穀類・食品	サンプル数	加重平均 (ug/kg)
オオムギ	1778	718
コーン	5511	175
ポップコーン	50	312
オーツ	834	89
コメ	203	150
ライムギ	295	65
ソルガム	15	0
ライコムギ	10	92
コムギ	14102	391
その他穀類	58	200
ビール	321	57

第12表 世界各国における穀物消費量(グラム/人/日)
(GEMS/Food Regional Dietに基づく算定値)

品目	中東	極東	アフリカ	ラテン アメリカ	ヨーロッパ
オオムギ	1.0	3.5	1.8	6.5	19.8
コーン	48.3	31.2	106.2	41.8	8.8
ポップコーン	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
オーツ	0	0	0.2	0.8	2.0
コメ	48.8	279.3	103.4	86.5	11.8
ライムギ	0	1.0	0	0	1.5
ソルガム	2.0	9.7	26.6	0	0
ライコムギ	0	1.0	0	0	0
コムギ	327.3	114.8	28.3	116.8	178.0
その他穀類	0.8	1.3	0	0	4.3

第13表 世界各地域におけるDONの一日当たり摂取量
(GEMS/Food Regional Diet に基づく推定値)

品目	中東		極東		アフリカ		ラテンアメリカ		ヨーロッパ	
	ug/kg bw	%	ug/kg bw	%	ug/kg bw	%	ug/kg bw	%	ug/kg bw	%
オオムギ	0.012	1	0.042	3	0.022	3	0.078	7	0.237	16
コーン	0.141	5.9	0.091	6	0.310	40	0.122	10	0.026	2
ポプコーン	0.001	0	0.001	<1	0.001	<1	0.001	<1	0.001	<1
オーツ	0	0	0	0	<0.001	<1	0.001	<1	0.003	<1
コメ	0.122	5	0.699	44	0.259	33	0.216	18	0.030	2
ライムギ	0	0	0.001	<1	0	0	0	0	0.002	<1
ソルガム	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ライコムギ	0	0	0.002	<1	0	0	0	0	0	0
コムギ	2.132	88	0.748	47	0.184	24	0.761	64	1.159	79
その他穀類	0.003	<1	0.004	<1	0	0	0	0	0.014	1
総摂取量	2.411	100	1.588	100	0.776	100	1.179	100	1.472	100

第14表 極東地域におけるDONの摂取量
(GEMS/Food Regional Diet に基づく推定値)

品目	濃度	消費量		摂取量		全摂取量 (%)
		(g/p/day)	ng/p/day	ug/p/day	ug/kg bw/day	
オオムギ	718	3.5	2514	2.5	0.042	3
コーン	175	31.2	5470	5.5	0.091	6
ポプコーン	312	0.2	62	0.1	0.001	<1
オーツ	89	0	0	0	0	0
コメ	150	279.3	41938	41.9	0.699	44
ライムギ	65	1.0	65	0.1	0.001	<1
ソルガム	0	9.7	0	0	0	0
ライコムギ	92	1.0	92	0.1	0.002	<1
コムギ	391	114.8	44865	44.9	0.748	47
その他穀類	200	1.3	260	0.3	0.004	<1
総摂取量			95267	95.3	1.588	100

第15表 JECFA(2001)で行われたDONおよびその他マイコトキシンのリスク評価

Parameter	Fumonisin B1	Ochratoxin A	Deoxynivalenol	T-2/HT-2 toxin	(Zearalenone)
NOEL ($\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$)	200	21	100	30	40
Safety factor	100	1500	100	500	100
PMTDI ($\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$)	2	0.1 (PTWI)	1	0.06	0.5
Mean intake assessment	0.2-2.4 ($\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$)	0.045 ($\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{week}$)	0.77-2.4 ($\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$)	0.0076 (T-2) 0.0087 (HT-2) ($\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$)	

NOEL: no-observed-effect level

PMTDI: provisional maximum tolerable daily intake

PTWI: provisional tolerable weekly intake

厚生科学特別研究（食品中のカビ毒に関する調査研究）

小麦におけるフザリウム毒素汚染とフザリウム汚染粒試験

砂川紘之，長南隆夫（北海道立衛生研究所）

研究要旨

乳・乳製品のアフラトキシン M1 汚染および小麦のフザリウム毒素汚染事態を調べるため、牛乳試料 45 件を収集し、また小麦原麦 26 件からフザリウム毒素の抽出処理を行い、研究班の検出作業担当者へ送付した。その成績は各担当者の報告書に見られるとおりである。また、小麦玄麦についてフザリウム汚染粒試験を行った。その結果、春蒔き小麦 16 件では、フザリウム汚染粒率は 3～81%，平均汚染粒率は 40%であり、秋蒔き小麦 10 件では、フザリウム汚染粒率は 2～9%で、平均汚染粒率は 2.4%であった。その汚染菌種については現在検討中である。

研究目的

食品中のかび毒汚染は全地球規模の問題であり、CODEX (FAO/WHO 合同食品規格計画) 委員会においては、乳・乳製品中のアフラトキシン M1 の基準値の採択が行われる見通しであり、また、わが国においても小麦のデオキシニバレノール汚染が問題となってきた。

小麦の *Fusarium* spp. による赤カビ病被害は、北海道においては古くて新しい問題である。第二次世界大戦後の食糧難の時代、北海道内では赤カビ被害を受けた小麦を原料としたうどん・すいとんを原因食品とする食中毒事件が多発した。その後も、天候が不順な年には、必ずといってよいほど小麦の被害が発生し、北海道農業に大きな経済的打撃を与えてきた。この問題は、科学技術の進んだ現在も解決の出来ない問題として残されている。近年、北海道産の小麦を使用した麺類の生産が好調で、そのための春蒔き小麦の作付けが多くなっているが、この春蒔き小麦が特に赤カビ病被害を受けやすく、被害の増大している理由の一つともなっている。

赤カビ病被害を受けた小麦中にはデオキシニバレノールやニバレノールをはじめとする多種類のマイコトキシンが生産されており、これらの小麦を食品あるいは飼料とした場合、ヒトや家畜に中毒症を起こすことが知られている。そのため穀類中のフザリウム毒素量の規制値を設けようという機運が国際的に高まってきており、わが国でもその動きにあわせて厚生労働省によって小麦のフザリウム毒素汚染および牛乳中のアフラトキシン M1 の実態調査が開始されることとなった。本厚生科学研究はその一環であり、我々もその一員として、以下の調査を実施した。

研究方法

1. 小麦玄麦のフザリウム毒素汚染調査

試料：玄麦を超高速粉碎機を用いて粉碎（粒度 $40\mu\text{m}$ 以下）後試験に供した。

フザリウム毒素の抽出：飼料検定法に示された方法に準じて、図 1 の方法で抽出操作を

行った後、毒素検出担当機関である神戸市環境保健研究所（担当者：田中敏嗣主幹）へ送付した。

2. 小麦のフザリウム汚染粒試験

小麦の粒試験は食品衛生検査指針、微生物編に示された方法に従った。すなわち、小麦玄麦各 10 g を 100 ml 標線ふた付き 300 ml 三角フラスコに計り取り、まず 400 ppm 次亜塩素酸ソーダ水溶液約 100 ml を加えて 30 秒ごとに 10 秒間振とうし、2 分間滅菌する。次に滅菌水 100ml で 3 回洗浄し、滅菌濾紙を敷いたシャーレに入れ余分な水分を取り、PDA 平板培地表面に各シャーレ当たり 10 粒、各試料当たり 10 枚のシャーレに小麦粒子を並べ、25 °C で 4 日間培養を行った。培養は 10 日間まで行い、発育してきたカビの観察、研修および分離を行った。分離したカビは PDA 斜面培地に接種し、純粋培養であることが確認されたら、PSA および PCA 寒天平板に接種し、発育および孢子形成により菌種の同定を行った。

3. 牛乳中のアフラトキシン M1 試験

札幌市およびその周辺地域で市販されている牛乳各 1 L ~ 200ml, 合計 45 件を購入し、検査担当機関である国立医薬品食品衛生研究所（担当者：穉山室長）へ送付した。その内訳は表 1 に示したとおりである。

結果および考察

玄麦のフザリウム汚染粒試験は、26 試料について行った。菌種の同定作業は現在進行中であり、最終的な成績を提示することは出来ないが、春蒔き小麦 16 件では、フザリウム汚染粒率は 3 ~ 81 %、平均汚染粒率は 40 % であり、秋蒔き小麦 10 検では、フザリウム汚染粒率は 2 ~ 9 % で、平均汚染粒率は 2.4 % であった（表 2）。また、春蒔き小麦では検出菌種の大半が *Fusarium graminearum* であったが、秋蒔き小麦から検出された菌種は *F. poae*, *F. solani* などが多く認められた。一戸らの調査では同一の菌種でも毒素検出株と不検出株の存在が報告されており、今回分離された菌株についても毒素産生性を調べる必要がある。

小麦のフザリウム毒素検出および牛乳中のアフラトキシン M1 検出試験の成績は各試験担当者の報告書に示されたとおりである。これらの成績では牛乳中のアフラトキシン M1 については極微量検出されるものの、予定されている規制値をかなり下回るものであった。しかし、小麦のフザリウム毒素については、全く検出されないものからかなり高濃度に検出されるものまで様々であった。フザリウム毒素が高濃度に検出されたものについては、製粉からパンあるいは麺類に加工される過程でのフザリウム毒素の減衰率を明らかにするなど、基礎的なデータの積み重ねが必要である。今後は、これらについての調査を行い、玄麦の状態でのどのぐらいの汚染量までが許容されるかを明らかにすることが必要である。また、玄麦のロットごとに汚染量を検査する体制を整え、玄麦の安全性を確保することが、生産者側および消費者側の両方にとって重要なことである。

図 1. フザリウム毒素抽出操作手順

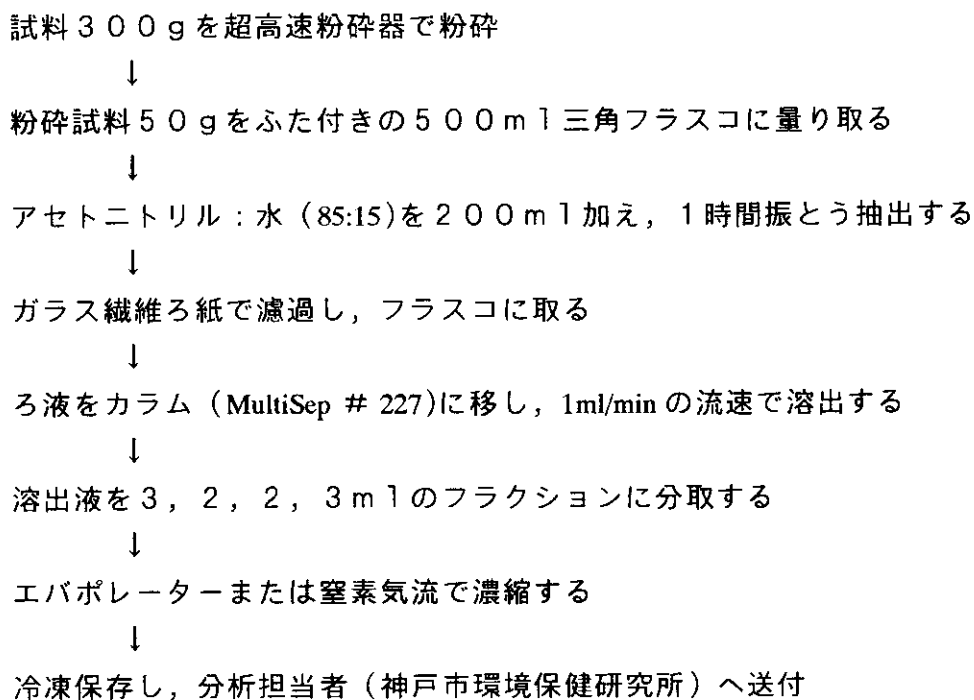


表 1. 牛乳の生産工場所在地と採取件数

試料購入日	製造所市町村数	製造所数	試料数
13 年 12 月 17 日	10	14	21
14 年 1 月 7 日	10	14	24

表 2. 小麦玄麦のフザリウム汚染粒率

種類	試料数	フザリウム汚染粒率 (%)				
		0~10	10~30	30~60	60~80	>80
春蒔き小麦	16	1	5	7	3	0
秋蒔き小麦	10	10	0	0	0	0

平成13年度厚生研究費補助金（厚生科学特別研究事業）

分担研究報告書

食品中のかび毒のリスクアセスメントに関する調査研究

分担研究者 田中敏嗣 神戸市環境保健研究所 食品化学部主幹

研究要旨

食品中のかび毒のリスクアセスメントを検討する目的で、麦類中のデオキシニバレノール及びニバレノールの汚染実態を把握するため、その調査を実施した。

麦類81試料について、アセトニトリル・水の混液で抽出し、マルチファンクショナルカラムで精製後、液体クロマトグラフ質量分析計で検出、定量を行った。結果は68試料（84％）にデオキシニバレノールが、67試料（83％）にニバレノールの汚染が認められた。検出された濃度はデオキシニバレノールが1-2248ng/g、平均238ng/gであり、ニバレノールが1-110ng/g、平均10ng/gであった。

A. 研究目的

*Fusarium*菌が産生するトリコテセン系マイコトキシンは Tetracyclic 12、13-epoxy-trichothec-9-ene を基本骨格にもつ一群の化合物である。構造の違いにより4タイプに分類されている。基本形のType A、8位にカルボニル基をもつType B、エポキシ環を2つもつType C、マクロサイクリックトリコテセンのType Dがある（文献1-3）。

トリコテセン系マイコトキシンによる中毒症状として皮膚炎症、下痢、嘔吐、白血球減少、造血機能臓器障害などが認められる。第二次世界大戦後のソ連邦で起きた越冬燕麦による食中毒性無白血球症（ATA症）はトリコテセ

ンマイコトキシンに起因するとされている。また、動物等に対し、強い細胞毒性を示し、動物組織中の細胞分裂の著しい骨髄、胸腺、腸管上皮細胞などに核崩壊を含む細胞障害を引き起こし、動物細胞内でのタンパク合成を阻害する（文献1-3）。

食品汚染（麦類、トウモロコシ等の穀類が中心）については、Type Bのデオキシニバレノール（deoxynivalenol）、ニバレノール（nivalenol）とそのアセチル体の報告例が多い（文献4-6）。本研究において、麦類中のデオキシニバレノール及びニバレノールの汚染実態を把握するためその調査を実施した。

B. 研究方法

1. 供試試料

輸入及び国産麦類81試料

2. 機器、器具

粉碎器：サーモミックス (Vorwerk社製)

振盪器：Iwaki KM shaker V-S (Iwaki社製)

ロータリーエバポレーター：Buchi Rotavapor R-144 (Buchi社製)

共栓付き三角フラスコ：500ml容

テフロンパッキン付きバイアル：5ml容

液体クロマトグラフ質量分析計

3. 試薬

有機溶剤：高速液体クロマトグラフ用を用いた。

マルチファンクショナルカートリッジカラム：Mutisep #227 (Romer社製)

フザリウムマイコトキシン標準品：デオキシニバレノールおよびニバレノール標準品 (シグマ社製、St. Louis, MO, USA)

4. 標準溶液の調製

(1) 標準原液

デオキシニバレノール、ニバレノールの標準品をそれぞれ10.0mg精秤し、メタノールを加えて100mlとする。これを標準原液とする。本液1mlは各フザリウムマイコトキシン100 μ gを含有する。

(2) 液体クロマトグラフ質量分析計用混合標準溶液

デオキシニバレノール、ニバレノール、標準原液各1mlをメスフラスコに

分取し、メタノールを加え100mlとする。その1mlをメスフラスコに分取し、メタノールを加え100mlとする。

5. 抽出

麦類1kgをよく混和後、その300gを710 μ mの標準ふるいを通して粉碎し、試料とする。試料50gを500ml三角フラスコに採り、アセトニトリル・水 (85:15) 200mlを加え、1時間振とうする。混合物をろ過し、抽出溶液とする。

6. 精製

マルチファンクショナルカートリッジカラムに先の抽出液10mlを注入し、毎分1mlの速さで流す。最初の3mlは捨てる。次に溶出する2mlを5mlバイアルビンに採り、45 $^{\circ}$ Cに加熱したアルミブロックヒーター上で窒素気流により濃縮する。メタノール-水 (1:1) 1mlに溶解し、試験溶液とする。

7. 試験操作

液体クロマトグラフ質量分析計によるデオキシニバレノール及びニバレノールの定量

試験溶液をバイアルに採り、10 μ lを液体クロマトグラフ質量分析計に注入する。別に液体クロマトグラフ質量分析計用混合標準溶液を0.2~10.0mlの数段階の容量をバイアルに採り、窒素気流で溶媒を除去したのち、メタノール-水 (1:1) 1mlに溶解し、検量線用標準溶液とする。

試験溶液から得られたクロマトグラムを標準品のピークと比較して定性する。また、ピーク面積法により作成した検量線を用いて定量する。