

品名	ビール	測定したマイコトキシン	オクラトキシンA
検出限界		0.005 ug/kg	
定量限界		0.01 ug/kg	

		回収率 (%)
濃度(0.02ug/kg)	B-1-1	102.2
濃度(0.02ug/kg)	B-1-2	98.1
濃度(0.02ug/kg)	B-1-3	95.4
平均		98.6
SD		3.4
RSD		3.5

濃度0.5ug/kg)	B-1-1	97.7
濃度0.5ug/kg)	B-1-2	97.8
濃度0.5ug/kg)	B-1-3	96.9
平均		97.5
SD		0.5
RSD		0.5

サンプル番号	原材料	濃度(ug/Kg)	確認の有無
B1	大麦、穀類、ホップ	ND	無
B2	麦芽、ホップ、米	ND	無
B3	麦芽、ホップ	ND	無
B4	麦芽、ホップ	0.022	有
B5	麦芽、ホップ	0.015	有
B6	麦芽、ホップ	ND	確認の結果、ND
B7	麦芽、ホップ	0.016	有
B8	麦芽、ホップ、大麦エキス、スターチ、糖類、海	trace (0.009)	有
B9	有機麦芽、有機ホップ	trace (0.007)	有
B10	麦芽、ホップ	0.016	有
B11	麦芽、ホップ、大麦、大麦エキス、スターチ、糖類	0.022	有
B12	麦芽、ホップ、米、コーン、スターチ	0.012	有
B13	麦芽、ホップ	0.054	有
B14	麦芽、ホップ、米、コーン、スターチ	0.018	有
B15	麦芽、ホップ	0.017	有
B16	麦芽、ホップ	0.010	有

B17	麦芽、ホップ、米、コーン、スターチ	0.014	有
B18	麦芽、ホップ、大麦、米、コーン、スターチ、糖	ND	確認の結果、ND
B19	麦芽、ホップ、大麦、米、コーン、スターチ、糖	ND	確認の結果、ND
B20	麦芽、ホップ、米、コーン、スターチ	0.012	有

品名	生コーヒー豆	測定したマイ コトキシソ	オクラトキシソA
検出限界		0.05 ug/kg	
定量限界		0.1 ug/kg	

		回収率 (%)
濃度(0.1ug/kg)	GC-1	113.8
濃度(0.1ug/kg)	GC-2	114.7
濃度(0.1ug/kg)	GC-3	79.7
平均		102.7
SD		20.0
RSD		19.4

濃度5.0ug/kg)	GC-4	83.8
濃度5.0ug/kg)	GC-5	79.3
濃度5.0ug/kg)	GC-6	78.8
平均		80.6
SD		2.8
RSD		3.4

サンプル番号	原材料	濃度(ug/Kg)	確認の有無
GC1	コーヒー豆	ND	無
GC2	コーヒー豆	ND	無
GC3	コーヒー豆	ND	無
GC4	コーヒー豆	ND	無
GC5	コーヒー豆	ND	無
GC6	コーヒー豆	ND	無
GC7	コーヒー豆	trace (0.053)	無
GC8	コーヒー豆	ND	無
GC9	コーヒー豆	ND	無
GC10	コーヒー豆	0.135	有
GC11	コーヒー豆	0.763	有

品名	焙煎コーヒー	測定したマイ コトキシソ	オクラトキシソA
検出限界		0.05 ug/kg	
定量限界		0.1 ug/kg	

		回収率 (%)
濃度(0.1ug/kg)	RC-1-1	自然汚染濃度が0.1より高いた め失敗
濃度(0.1ug/kg)	RC-1-2	自然汚染濃度が0.1より高いた め失敗
濃度(0.1ug/kg)	RC-1-3	自然汚染濃度が0.1より高いた め失敗

濃度5.0ug/kg)	RC-2-1	57.7
濃度5.0ug/kg)	RC-2-2	63.6
濃度5.0ug/kg)	RC-2-3	59.9
平均		60.4
SD		3.0
RSD		5.0

サンプル番号	原材料	濃度(ug/Kg)	確認の有無
RC1	コーヒー豆	0.328	有
RC2	コーヒー豆	0.224	有
RC3	コーヒー豆	ND	有 (確認の結果NDとした)
RC4	コーヒー豆	ND	有 (確認の結果NDとした)
RC5	コーヒー豆	0.106	有
RC6	コーヒー豆	ND	有 (確認の結果NDとした)
RC7	コーヒー豆	ND	有 (確認の結果NDとした)
RC8	コーヒー豆	ND	有 (確認の結果NDとした)
RC9	そば	ND	有 (確認の結果NDとした)

品名	米		測定したマイコトキシン	オクラトキシンA
検出限界	0.05	μg/kg		
定量限界	0.1	μg/kg		

精米		回収率		玄米		回収率	
0.1(μg/kg)	88.2	%		0.1(μg/kg)	104	%	
5.0(μg/kg)	82.8	%		5.0(μg/kg)	86.3	%	

サンプル番号	品名	製造者	産地	原材料	濃度(μg/kg)	確認の有無
1	玄米		秋田		N.D	
2	玄米		秋田		N.D	
3	精白米		山形		N.D	
4	玄米		秋田		N.D	
5	玄米		宮城		N.D	
6	玄米		山形		N.D	
7	精白米		山形		N.D	
8	精白米		岩手		N.D	
9	精白米		秋田		N.D	
10	精白米		山形		N.D	
11	精白米		新潟		N.D	
12	玄米		新潟		N.D	
13	玄米		新潟		N.D	
14	精白米		新潟魚沼		N.D	
15	精白米		新潟		N.D	
16	精白米		富山		N.D	
17	精白米		富山		N.D	
18	精白米		石川		N.D	
19	精白米		石川		N.D	
20	精白米		石川		N.D	
21	精白米		兵庫		N.D	
22	精白米		兵庫・今田		N.D	
23	玄米		広島県産		N.D	
24	精白米		山口		N.D	
25	精白米		島根		N.D	
26	精白米		鳥取		N.D	
27	精白米		兵庫・丹波		N.D	
28	精白米		兵庫・丹波		N.D	
29	精白米		兵庫・丹波		N.D	
30	精白米		兵庫・丹波		N.D	
31	精白米		大分		N.D	
32	玄米		熊本菊池		N.D	
33	玄米		熊本		N.D	
34	精白米		福岡		N.D	
35	精白米		福岡		N.D	
36	精白米		佐賀		N.D	
37	玄米		香川		N.D	
38	玄米		徳島		N.D	
39	玄米		徳島		N.D	
40	玄米		徳島		N.D	
41	玄米		徳島		N.D	
42	精白米		香川		N.D	

43	精白米		鹿兒島		N.D	
44	精白米		熊本		N.D	
45	精白米		福岡		N.D	
46	精白米		熊本		N.D	
47	精白米		福岡		N.D	
48	精白米		長崎		N.D	
49	精白米		鹿兒島		N.D	
50	精白米		大分		N.D	

N.D : 定量下限値未滿

品名	そば粉	測定したマイ コトキシソ	オクラトキシソA
検出限界		0.05 ug/kg	
定量限界		0.1 ug/kg	

		回収率 (%)
濃度(0.1ug/kg)	SP-2	自然汚染濃度が0.1より高いた め失敗
濃度(0.1ug/kg)	SP-3	79.7
濃度(0.1ug/kg)	SP-4	自然汚染濃度が0.1より高いた め失敗

濃度5.0ug/kg)	SP-5	91.1
濃度5.0ug/kg)	SP-6	90.3
濃度5.0ug/kg)	SP-9	92.4
平均		91.2
SD		1.1
RSD		1.2

サンプル番号	原材料	濃度(ug/Kg)	確認の有無
SP1	そば	0.190	有
SP2	玄そば	0.287	有
SP3	玄そば	trace (0.085)	有
SP4	そば	0.461	有
SP5	そば	trace (0.084)	有
SP6	そば	0.159	有
SP7	そば	0.191	有
SP8	そば	ND	無
SP9	そば	1.791	有
SP10	そば	ND	無

品名	ポップコーン		測定したマイ コトキシシ	フモニシ		
	検出限界	0.6 ug/kg				
	定量限界	2.0 ug/kg				
	回収率	%	FB1	FB2	FB3	
		濃度(10ug/kg)	117	103	101	
		濃度(1000ug/	67.7	70.5	70.3	

サンプル番号	品名		濃度(ug/kg, ppb)			確認の 有無
			FB1	FB2	FB3	
1	ポップコーン		5.0	2.0	2.0	LCMS
2	ポップコーン		58.0	14.0	8.0	LCMS
3	ポップコーン		20.0	6.0	3.0	LCMS
4	ポップコーン		77.0	22.0	17.0	LCMS
5	ポップコーン		22.0	7.0	5.0	LCMS
6	ポップコーン		354.0	94.0	64.0	LCMS
7	ポップコーン		67.0	22.0	7.0	LCMS
8	ポップコーン		14.0	4.0	2.0	LCMS
9	ポップコーン		63.0	18.0	9.0	LCMS
10	ポップコーン		27.0	6.0	3.0	LCMS
11	ポップコーン		6.0	(1)	(1)	LCMS
12	ポップコーン		23.0	7.0	4.0	LCMS
13	ポップコーン		77.0	24.0	11.0	LCMS
14	ポップコーン	(7ライバ)	21.0	4.0	3.0	LCMS
15	ポップコーン		24.0	7.0	3.0	LCMS



	検出限界	0.005mg/Kg			
	定量限界	0.01mg/kg			
	回収率	濃度 (mg/kg)	FB1	FB2	FB3
		10	122.1	103.2	134.3
	缶詰・粒	50	76.9	69.1	71.4
		1000	103.7	83.6	87.9
		10	141.9	95.1	143.8
	缶詰・汁	50	99.3	93.9	93.6
		1000	104.4	87.2	89.7
		10	80.9	83.6	122.5
	冷凍	50	75.7	72.7	70.8
		1000	81.8	73.2	80.5

サンプル番号	品名	形状	濃度 (mg/kg, PPM)		
			FB1	FB2	FB3
1	スイートコーン	缶詰	N.D.	N.D.	N.D.
2	スイートコーン	冷凍	N.D.	N.D.	N.D.
3	スイートコーン	冷凍	N.D.	N.D.	N.D.
4	スイートコーン	缶詰	N.D.	N.D.	N.D.
5	スイートコーン	缶詰	N.D.	N.D.	N.D.
6	スイートコーン		N.D.	N.D.	N.D.
7	スイートコーン	ドライパック	N.D.	N.D.	N.D.
8	スイートコーン	ドライパック	N.D.	N.D.	N.D.
9	スイートコーン	缶詰	N.D.	N.D.	N.D.
10	スイートコーン	缶詰	N.D.	N.D.	N.D.
11	スイートコーン	缶詰	N.D.	N.D.	N.D.
12	スイートコーン	ドライパック	N.D.	N.D.	N.D.
13	スイートコーン	缶詰	N.D.	N.D.	N.D.
14	スイートコーン		N.D.	N.D.	N.D.
15	スイートコーン	缶詰	N.D.	N.D.	N.D.
16	スイートコーン	冷凍	N.D.	N.D.	N.D.
17	スイートコーン	缶詰	N.D.	N.D.	N.D.
18	スイートコーン	冷凍	N.D.	N.D.	N.D.
19	スイートコーン	冷凍	N.D.	N.D.	N.D.
20	スイートコーン	冷凍	N.D.	N.D.	N.D.
21	スイートコーン	冷凍	N.D.	N.D.	N.D.
22	スイートコーン		N.D.	N.D.	N.D.
23	スイートコーン	缶詰	N.D.	N.D.	N.D.
24	スイートコーン	缶詰	N.D.	N.D.	N.D.
25	スイートコーン	缶詰	N.D.	N.D.	N.D.
26	スイートコーン	缶詰	N.D.	N.D.	N.D.
27	スイートコーン	冷凍	N.D.	N.D.	N.D.
28	スイートコーン	冷凍	N.D.	N.D.	N.D.
29	スイートコーン	冷凍	N.D.	N.D.	N.D.
30	スイートコーン	缶詰	N.D.	N.D.	N.D.
31	スイートコーン	缶詰	N.D.	N.D.	N.D.

プロトコルで変更した点

千歳ではなく新産アンモニウムを用いた。

品名	スイートコーン		測定したマイ コトキシシ	フモニシ		
	検出限界	0.6ug/kg				
	定量限界	2ug/kg				
	回収率	%	FB1	FB2	FB3	
		濃度(1000ug/	88	85.6	86.6	
		濃度(10ug/kg)	103.6	98.9	94.5	

サンプル番号	濃度(ug/kg, ppb)			確認の有無
	FB1	FB2	FB3	
1	< 0.6	< 0.6	< 0.6	無
2	< 0.6	< 0.6	< 0.6	無
3	< 0.6	< 0.6	< 0.6	無
4	< 0.6	< 0.6	< 0.6	無
5	< 0.6	< 0.6	< 0.6	無
6	< 0.6	< 0.6	< 0.6	無
7	< 0.6	< 0.6	< 0.6	無
8	< 0.6	< 0.6	< 0.6	無
9	< 0.6	< 0.6	< 0.6	無
10	< 0.6	< 0.6	< 0.6	無
11	< 0.6	< 0.6	< 0.6	無
12	< 0.6	< 0.6	< 0.6	無
13	< 0.6	< 0.6	< 0.6	無
14	5.9	3.7	(0.6)	無
15	4.7	3.3	< 0.6	無
16	< 0.6	< 0.6	< 0.6	無
17	< 0.6	< 0.6	< 0.6	無
18	36.0	14.8	4.0	無
19	< 0.6	< 0.6	< 0.6	無
20	16.8	6.3	2.3	無
参考1	< 0.6	< 0.6	< 0.6	無
参考2	3.6	4.3	< 0.6	無
参考3	9.5	7.1	(1.8)	無

品名	コーンスープ		測定したマイ コトキシシ	フモニシ		
	検出限界	0.005mg/Kg				
	定量限界	0.01mg/Kg				
	回収率	濃度(mg/kg)	FB1	FB2	FB3	
		0.01	92.8	90.4	121.1	
	濃縮	0.05	72.3	85.5	78.1	
		1	76.6	75.7	77.6	
		10	84.6	116.0	101.3	
	粉末 (酵素処理)	50	96.1	105.2	81.8	
		1000	122.3	90.3	96.0	

サンプル番号	品名	産地	形状	濃度(mg/kg,PPM)		
				FB1	FB2	FB3
1	コーンスープ	不明	乾燥	N.D.	N.D.	N.D.
2	コーンスープ	不明	乾燥	N.D.	N.D.	N.D.
3	コーンスープ	不明	乾燥	N.D.	N.D.	N.D.
4	コーンスープ	不明	乾燥	N.D.	N.D.	N.D.
5	コーンスープ	不明	乾燥	N.D.	N.D.	N.D.
6	コーンスープ	不明	乾燥	N.D.	N.D.	N.D.
7	コーンスープ	不明	乾燥	N.D.	N.D.	N.D.
8	コーンスープ	不明	乾燥	N.D.	N.D.	N.D.
9	コーンスープ	不明	濃縮	N.D.	N.D.	N.D.
10	コーンスープ	不明	濃縮	N.D.	N.D.	N.D.
11	コーンスープ	不明	濃縮	N.D.	N.D.	N.D.
12	コーンスープ	不明	濃縮	N.D.	N.D.	N.D.
13	コーンスープ	不明	濃縮	N.D.	N.D.	N.D.
14	コーンスープ	不明	濃縮	N.D.	N.D.	N.D.
15	コーンスープ	不明	濃縮	N.D.	N.D.	N.D.
16	コーンスープ	不明	濃縮	N.D.	N.D.	N.D.
17	コーンスープ	不明	濃縮	N.D.	N.D.	N.D.
18	コーンスープ	不明	濃縮	N.D.	N.D.	N.D.
19	コーンスープ	不明	濃縮	N.D.	N.D.	N.D.

プロトコールで変更した点

ギ酸ではなく酢酸アンモニウムを用いた。

粉末タイプにはアルファアミラーゼおよびベータマンノシダーゼ処理をおこなったのち、前処理をした。

品名	押麦		測定したマイ コトキシ	フモニシ		
	検出限界	6ug/kg				
	定量限界	10ug/kg				
	回収率	%	FB1	FB2	FB3	
		濃度(1000ug/	77.9	72.7	73.9	
		濃度(10ug/kg)	81.5	89.5	90.4	

サンプル番号	産地	原材料	濃度(ug/kg, ppb)			確認
			FB1	FB2	FB3	
1	埼玉県	大麦	< 6	< 6	< 6	無
2	熊本県	はだか麦	< 6	< 6	< 6	無
3	愛媛県	はだか麦	< 6	< 6	< 6	無
4	愛媛県	はだか麦	< 6	< 6	< 6	無
5	北陸	大麦	< 6	< 6	< 6	無
6	茨城県	大麦	< 6	< 6	< 6	無
7	福井県	大麦	< 6	< 6	< 6	無
8	かた	大麦	< 6	< 6	< 6	無
9	愛媛県	はだか麦	< 6	< 6	< 6	無
10	北陸	大麦	< 6	< 6	< 6	無
11	北陸	大麦	< 6	< 6	< 6	無
12	北陸	大麦	< 6	< 6	< 6	無
13	北陸	大麦・ビタ/B1・B2	< 6	< 6	< 6	無
14	北陸	大麦	< 6	< 6	< 6	無
15	福島県	大麦	< 6	< 6	< 6	無
16	富山県・石川県	大麦	< 6	< 6	< 6	無
17	富山県・石川県	大麦・ビタ/B1・B2	< 6	< 6	< 6	無
18	北陸	大麦	< 6	< 6	< 6	無
19	北陸	大麦	< 6	< 6	< 6	無
20	北陸	大麦	< 6	< 6	< 6	無

プロトコールで変更した点

抽出液を直接LC/MSに注入.

イオン交換カートリッジカラムによる濃縮がないため、検出限界及び定量限界が上がっている.  
10ug/kgにおいても良好な回収率が得られたので、定量限界は10ug/kgに設定.

品名	そば		測定したマイ コトキシソ	フモニソ		
	検出限界	0.0006 mg/kg				
	定量限界	0.002 mg/kg				
	回収率	%	FB1	FB2	FB3	
		濃度(1 mg/kg)	82.8	84.1	96.4	
		濃度(0.01 mg)	125	124	120	

サンプル番号	産地	原材料	濃度(mg/kg,PPM)		
			FB1	FB2	FB3
1	日本	小麦粉、そば粉、食塩	< 0.002	< 0.002	< 0.002
2	日本	小麦粉、そば粉	< 0.002	< 0.002	< 0.002
3	日本	そば粉、小麦粉、小麦たんぱく	< 0.002	< 0.002	< 0.002
4	日本	小麦粉、そば粉、山芋粉、海藻、食塩	< 0.002	< 0.002	< 0.002
5	日本	そば粉、食塩	< 0.002	< 0.002	< 0.002
6	オーストラリア	有機そば粉、有機小麦粉、食塩	< 0.002	< 0.002	< 0.002
7	日本	小麦粉、そば粉、食塩、直鎖オリゴ糖	< 0.002	< 0.002	< 0.002
8	日本	小麦粉、そば粉、山芋粉、食塩	< 0.002	< 0.002	< 0.002
9	日本	小麦粉、そば粉、食塩	< 0.002	< 0.002	< 0.002
10	日本	小麦粉、そば粉、山芋粉、食塩	< 0.002	< 0.002	< 0.002
11	日本	小麦粉、そば粉、海藻、食塩	< 0.002	< 0.002	< 0.002
12	日本	小麦粉、そば粉、食塩	< 0.002	< 0.002	< 0.002
13	日本	小麦粉、そば粉、山芋、食塩	< 0.002	< 0.002	< 0.002
14	日本	小麦粉、そば粉、山芋、食塩	< 0.002	< 0.002	< 0.002
15	日本	小麦粉、そば粉、黒豆粉(大豆)、食塩	< 0.002	< 0.002	< 0.002

16	日本	小麦粉、そば粉、やまのいも粉、食塩	< 0.002	< 0.002	< 0.002
17	日本	小麦粉、そば粉、調味酢、食塩、澱粉	< 0.002	< 0.002	< 0.002
名市研1	日本	そば粉、小麦粉、食塩	< 0.002	< 0.002	< 0.002
名市研2	日本	そば粉、小麦粉、やまのいも、食塩	< 0.002	< 0.002	< 0.002
名市研3	日本	そば粉、小麦粉、やまのいも、食塩、海藻	< 0.002	< 0.002	< 0.002
名市研4	日本	そば粉、小麦粉、やまのいも、食塩	< 0.002	< 0.002	< 0.002
名市研5	日本	小麦粉、そば粉、食塩	< 0.002	< 0.002	< 0.002
名市研6	日本	そば粉、小麦粉、山芋粉、食塩、若葉粉	< 0.002	< 0.002	< 0.002
名市研7	中国	小麦粉、麩麩そば粉、天然塩	< 0.002	< 0.002	< 0.002
名市研8	日本	そば粉、小麦粉、食塩、山芋粉	< 0.002	< 0.002	< 0.002
名市研9	日本	そば粉、小麦粉、食塩、植物性蛋白	< 0.002	< 0.002	< 0.002
名市研10	日本	そば粉	< 0.002	< 0.002	< 0.002
名市研11	日本	そば粉、小麦粉、食塩、植物性蛋白	< 0.002	< 0.002	< 0.002
名市研12	日本	そば粉、小麦粉、やまのいも、食塩	< 0.002	< 0.002	< 0.002
名市研13	日本	小麦粉、そば粉、山いも、食塩	< 0.002	< 0.002	< 0.002

プロトコールで変更した点

SAXカートリッジにチャージする抽出液を10倍希釈した。

品名	コーングリッツ	測定したマイ コトキシソ	フモニソソ		
	検出限界	0.0006 mg/kg			
	定量限界	0.002 mg/kg			
	回収率	%	FB1	FB2	FB3
		濃度(1 mg/kg)	70.7	71.4	73.3
		濃度(mg/kg)	****	****	****

サンプル番号	原材料	濃度(mg/kg,PPM)		
		FB1	FB2	FB3
1	コーソ	0.0442	0.0199	0.0120
2	コーソ	0.0516	0.0225	0.0123
3	とうもろこし	0.0516	0.0230	0.0126
4	とうもろこし	0.0469	0.0190	0.0128
5	とうもろこし	0.0476	0.0179	0.0118
6	とうもろこし	0.0278	0.0139	0.0089
7	とうもろこし	0.0738	0.0291	0.0180
G1	とうもろこし	0.0625	0.0233	0.0151
G2	とうもろこし	0.0507	0.0209	0.0139
G3	とうもろこし	0.0543	0.0216	0.0140

品名	生トウモロコシ		測定したマイ コトキシ	フモニシ		
	検出限界	0.6ug/kg				
	定量限界	2.0ug/kg				
	回収率	%	FB1	FB2	FB3	
		濃度(10ug/kg)	136	133	136	
		濃度(1000ug/	82.1	81.1	85.7	

サンプル番号	品名	備考	産地	原材料	濃度(ug/kg, ppb)			確認
					FB1	FB2	FB3	
1	生トウモロコシ		長野県		<0.6	<0.6	<0.6	LCMS
2	生トウモロコシ		長野県		<0.6	<0.6	<0.6	LCMS
3	生トウモロコシ		長野県		<0.6	<0.6	<0.6	LCMS
4	生トウモロコシ		長野県		<0.6	<0.6	<0.6	LCMS
5	生トウモロコシ		北海道		<0.6	<0.6	<0.6	LCMS
6	生トウモロコシ		北海道		<0.6	<0.6	<0.6	LCMS
7	生トウモロコシ		北海道		<0.6	<0.6	<0.6	LCMS
8	生トウモロコシ		北海道		<0.6	<0.6	<0.6	LCMS
9	生トウモロコシ		北海道		<0.6	<0.6	<0.6	LCMS
10	生トウモロコシ		長野県		<0.6	<0.6	<0.6	LCMS
11	生トウモロコシ		香川県		<0.6	<0.6	<0.6	LCMS
12	生トウモロコシ		北海道		<0.6	<0.6	<0.6	LCMS
13	トウモロコシ	加工真空パック	台湾		<0.6	<0.6	<0.6	LCMS
14	トウモロコシ	加工真空パック	ニュージーランド		<0.6	<0.6	<0.6	LCMS
15	生トウモロコシ		熊本県		<0.6	<0.6	<0.6	LCMS
16	生トウモロコシ		群馬県		<0.6	<0.6	<0.6	LCMS
17	生トウモロコシ		千葉県		<0.6	<0.6	<0.6	LCMS
18	トウモロコシ	加工真空パック	中国		<0.6	<0.6	<0.6	LCMS



# 分担研究報告書

実験動物を用いたニバレノールの毒性実験

広瀬 雅雄

厚生労働科学研究費補助金研究事業  
(食品の安全性高度化推進研究事業)  
分担研究報告書(平成16年度)

食品中のカビ毒の毒性および暴露評価に関する研究  
実験動物を用いたニバレノールの毒性実験

分担研究者 広瀬雅雄 国立医薬品食品衛生研究所 病理部長  
(協力研究者 渋谷 淳 国立医薬品食品衛生研究所 病理部室長)

研究要旨：本分担研究では、食品中カビ毒である nivalenol (NIV)によるラット慢性毒性を評価する。今年度は、1年間の慢性毒性試験に先立つ用量設定のため、雄性F344ラットにNIVを25ないし100ppmの割合で14日間混餌投与による予備試験を実施した。無処置対照として、基礎食のみの群も設定した。その結果、NIV投与群において実験期間中の体重、摂餌量、解剖時の体重・臓器重量(脳、胸腺、肺、心臓、脾臓、肝臓、副腎、腎臓、精巣)、血液中の白血球比率に対照群との間に差は認められなかった。肝臓、脾臓、腎臓、小腸、精巣について病理組織学的検索を行った結果、精巣以外では投与に起因すると考えられる病変は見出されず、精巣においては25ppm以上で精細管内のセルトリ細胞の空胞変性、精上皮の脱落を示す例が増加したが(有意差無し)、明らかな用量依存性は認められず、程度もごく軽微であった。以上の結果、雄性ラットに対するNIVの14日間反復投与により、精巣以外に明らかな毒性変化は認められず、予備試験の再検討が必要と考えられた。マウス等で従来報告されているNIVの毒性はかなり軽微であることから、再試験としては、設定濃度を高くして200ないし300ppmで反復投与を行う必要性があると判断された。

#### A. 研究目的

近年、赤カビ病菌 *Fusarium* 属の産生する trichothecene 系マイコトキシン類の内、nivalenol (NIV)や deoxynivalenol が、小麦、大麦およびトウモロコシなどの穀類やそれらの加工品から検出されることが明らかにされ、他の trichothecene と共にヒトや家畜の健康を損なうことが懸念されている。これら trichothecene の毒性については、嘔吐作用(芳沢と諸岡, 1974)、血液の凝固時間の延長(Cosgriff et al., 1986)と血球の形態変化(Sato et al., 1978)、蛋白質及びDNAの合成抑制(Ohtsubo et al., 1968, 1970; Ueno et al., 1973)、放射線障害類似作用(Saito et al., 1969; Ueno et al., 1971)、及び免疫抑制作用(芳沢, 1984)など、多数の報告がある。しかし、NIVの毒性に関してはマウスの試験が多く、ラットに関するものは当研究所毒性部において、単回ないし15日間・30日間反復投与に関する報告があるのみである(川崎ら, 1990)。この報告では、単回急性投与によるLD<sub>50</sub>値が雌雄とも19.5 mg/kg b.w.であったものの、0.4ないし2.0 mg/kg b.w./dayの割合で連日強制経口投与を行った場合では、明らかな毒性変化を検出していない。そこで本研究では、NIVの慢性毒性試験実施のための予備実験として、より高い濃度を設定して、混餌投与による14日間反復投与試験を実施した。

#### B. 研究方法

NIVは当研究所衛生微生物部にて精製されたも

のを使用した。産生菌として *Fusarium kyushuense* (Fn-2B)を用い、角田平板寒天培地(硝酸ナトリウム 2g、リン酸水素二カリウム 1g、塩化カリウム 0.5g、硫酸マグネシウム 0.5g、酵母エキス 2.5g、ポリペプトン 5g、シュクロース 50g、寒天 15g、水道水 1L)に接種し25℃、7日間、前培養した。次いで、本培養として、角田液体培地(硝酸ナトリウム 2g、リン酸水素カリウム 1g、塩化カリウム 0.5g、硫酸マグネシウム 0.5g、酵母エキス 2.5g、ポリペプトン 5g、シュクロース 50g、水道水 1L)に、あらかじめ平板培養したFn-2Bを入れ、25℃、5日間ジャーにより培養を行った。培養後、ガーゼで3回ろ過し菌体を取り除いた培養液に同量のアセトニトリルを加え、よく混和後、硫酸アンモニウムを加え、上層のアセトニトリル層を採取し、濃縮した。濃縮物にメタノールおよびクロロフォルムを加えて溶解後、ハキサンで平衡化したフロリジルカシムに付加し、その溶出液を乾固し、それを再度、アセトニトリル/メタノール/水に溶解後、ODS分取用カラムに付加した。次いで、フザレノンX画分を集め、透析乾燥後0.1Nアンモニウム/メタノール溶液に溶解し、18時間反応させた後に濃縮・乾固し、温メタノールで完全に溶解し、4℃で5日間放置することにより再結晶化させた。

動物は、5週齢の雄性F344ラット(日本チャールズリバー)を用い、1週間の馴化期間の後、一群8匹ずつとして計3群に群分けし、それぞれの群についてNIVを0、25、100ppmの割合で基礎飼料

(CRF-1:オリエンタル酵母)に混じ、14日間投与を行った。投与期間中、一般状態を観察し、週に一度の割合で、体重と摂餌量を測定した。

投与終了時にエーテル麻酔下で採血を行い、脱血後、動物を屠殺し、脳、胸腺、肺、心臓、脾臓、肝臓、副腎、腎臓、精巣、小腸を採取し、小腸以外の臓器については重量を測定した。次いで、胸腺、脾臓、肝臓、腎臓、副腎は10%緩衝ホルマリンに浸漬固定し、小腸はホルマリン注入後、同様に浸漬固定した。精巣に関しては、ブアン液にて固定を行った。ホルマリン固定組織は3日後に、ブアン固定組織は翌日に切り出しを行い、定法に従いヘマトキシリン・エオジン染色切片を作製し、病理組織学的に検索を行った。また、採取した全血を用いて塗抹標本作製し、白血球百分率を求めた。

統計学的解析は、体重、臓器重量については各群の分散を Bartlett の方法で検定し、等分散の場合は一元配置の分散分析を行い、不当分散の場合は Kruskal-Wallis の方法により検定を行った。群間に有意差が認められた場合、その多重比較は Dunnett の方法で無処置群と NIV 各群の間で有意差検定を行った。病変の発生頻度は、無処置対照群との間で Fisher の直接確率法により検定を行い、病変の強度については、同様の比較を Mann-Whitney's U-test により行った。

(倫理面への配慮)

投与実験は混餌による経口投与が主体であり、動物の苦痛を最小限に留めた。また、動物はすべてエーテル深麻酔下で大動脈からの脱血により屠殺し、動物に与える苦痛は最小限に留めた。また、動物飼育、管理に当たっては、研究所の利用規程に従った。

### C. 研究結果

実験期間中の体重及び摂餌量は、投与により明らかに変動を示さなかった (Fig. 1)。末梢血中の白血球分画にも明らかな変動は認められなかった (Table 1)。解剖時の脳、胸腺、肺、心臓、脾臓、肝臓、副腎、腎臓、精巣の重量を測定した結果、25 ppm 群で肝臓の相対重量が若干の低値を示した以外は、絶対・相対とも明らかな変動を示さなかった (Table 2)。胸腺、脾臓、肝臓、腎臓、小腸、精巣の病理組織学的検索の結果、肝臓で微小肉芽腫、腎臓で限局性再生尿細管などのごく軽度の自然発生性病変が対照群を含む少数例に認められたが、投与に起因する発生頻度や病変の増強は認められなかった (Table 3)。精巣においては、精細管腔へのごく軽度の細胞残屑の出現が対照群を含む殆どの例に認められたが、セルトリ細胞の空胞変性や、精細管中の精上皮細胞の部分的な脱落病変も認められ、その出現例が有意差はないものの NIV 投与により増加傾向を示した。

### D. 考察

NIV に関する現在までの報告されている毒性試験においては、マウスを用いた急性毒性、4週ないし12週の亜慢性毒性、1年間の慢性毒性、2年間の発がん性試験、及びラットを用いた15日ないし30日間反復投与試験がある。即ち、雄の ddY マウスを用いた場合の LD50 値は 38.9 mg/kg (p.o.), 7.4 mg/kg (i.p.), 7.2 mg/kg (s.c.), 7.3 mg/kg (i.v.) であった (Ryu et al., 1988)。また、雌雄の C57BL/6CrSlc マウスに最高 30 ppm の混餌用量で4週ないし12週間投与した結果、雄において体重増加率の減少用量依存的に認められ、肝臓、腎臓、脾臓、胸腺重量の変動を認めたものの、これらの臓器に病理組織学的変化は認めていない (Yamamura et al., 1989)。一方、同実験で血中 ALP の上昇が用量依存的に認められ、GOT の上昇が 12 ppm 以上で認められたが、いずれも正常値の範囲内であり、肝臓毒性は無いものと判断された。同様に、雌の C57BL/6CrSlc マウスに最高 30 ppm の混餌用量で6か月ないし1年間、NIV を投与した結果、体重、摂餌量ともに用量依存的に低下を示し、6か月目で肝臓、腎臓、脾臓、胸腺の絶対・相対重量が増加し、1年目では肝臓、脾臓、腎臓重量が増加を示したが、病理組織学的にこれらの臓器に変化を認めなかった (Ryu et al., 1988)。また、6か月目で 30 ppm 群に、1年目では投与全群に白血球減少を認めた。同じ系統の雌マウスでの癌原性試験において、最高 30 ppm の NIV を2年間投与した場合、体重増加率の減少を全ての群で認め、摂餌量の減少が最高用量群で認められた (Ohtsubo et al., 1989)。また、有意差はないものの投与群 (特に 30 ppm) で白血球減少が認められ、血中 ALP と非エステル化脂肪酸が用量依存的に増加した。同実験で更に、明らかな発がん性は認められないものの、自然発生性のアミロイドーシスは投与により減少を示した。マウスを用いた別の実験では長期投与により IgA 腎症を誘発することが知られており、遺伝学的背景の異なる3系統のマウスで 12 ppm の NIV 投与により、8週目において既に血清 IgA レベルの上昇とメサングウムへの IgA の沈着を認めている (日ノ下, 2003)。一方、ラットを用いた15日ないし30日間の NIV 反復投与試験では、経口による LD50 値は 19.5 mg/kg であったものの、0.4 ないし 2.0 mg/kg の経口投与では、後者で肝臓と脾臓重量の極く軽度の増加を認めたものの、血液学的ないし血液生化学的検査、病理組織学的検索では明らかな毒性を認めていない (川崎ら, 1990)。以上より、NIV 投与による毒性は 30 ppm 程度を最高用量とした場合、極めて軽度な場合が多く、川崎らのラットを用いた実験結果を考慮すると、毒性発現を期待するに

はより高用量ないし長期の投与が必要であると考えられた。

本研究で用いた混餌投与による最高用量 (100 ppm)は、体重を 200 g, 1 日当たりの摂餌量を 15 g として換算した場合, 7.5 mg/kg/日の投与量で, 用量としては既報告例より 3 倍以上高い濃度であったものの, 14 日間の投与で標的と考えられる臓器・組織に明らかな毒性影響を認めていない。以上, NIV による毒性発現を捉えるためには, 投与濃度を高く設定して 14 日間投与試験を再度実施する必要がある, その結果, 高用量のみで毒性が発現する場合, 1 年間の慢性毒性試験実施の意義は再考する必要がある, むしろ, 13 週間亜慢性毒性試験の実施 (可能であれば血中 IgA のレベルの検討を加える) を考慮すべきであると考えられた。また, 今回 NIV 投与に関連して新たに見出された, セルトリ細胞の空胞変性や, 精細管中の精上皮細胞の部分的な脱落などの精巣変化は, かなり微弱であり, 同様に, 追試による確認が必要であると考えられた。

#### E. 結論

ラットを用いた NIV の慢性毒性試験実施のための用量設定試験として, 100 ppm を最高用量とした 14 日間混餌投与の結果, 精巣以外に NIV による毒性を示唆する変化は認められず, より高用量の反復投与による再試験が必要であると考えられた。

#### 参考文献

Cosgriff TM, Bunner DL, Wannemacher RW Jr, Hodgson LA, Dinterman RE.: *Toxicol Appl Pharmacol.* 82: 532-539 (1986)

日ノ下文彦 : *Mycotoxins.* 53: 123-127 (2003)

川崎 靖, 内田雄幸, 関田清司, 松本清司, 落合敏秋, 白井章夫, 中路幸男, 降矢 強, 黒川雄二, 戸部満寿夫 : *食衛誌.* 31: 144-154 (1990)

Ohtsubo K, Yamada M, Saitou M.: *Japan J Med Sci Biol.* 21: 185-194 (1968)

Ohtsubo K, Ryu JC, Nakamura K, Izumiyama N, Tanaka T, Yamamura H, Kobayashi T, Ueno Y.: *Food Chem Toxicol.* 27: 591-598 (1989)

Ohtsubo K, Saitou M.: *Japan J Med Sci Biol.* 23: 217-225 (1970)

Ryu JC, Ohtsubo K, Izumiyama N, Nakamura K, Tanaka T, Yamamura H, Ueno Y.: *Fundam Appl Toxicol.* 11: 38-47 (1988)

Saitou M, Enomoto M, Tatsuno T: *Gann* 60: 599-603

(1969)

Sato M, Ito T, Kumada H, Ueno Y, Asano K, Saito M, Ohtsubo K, Ueno I, Hatanaka Y.: *J Toxicol Sci.* 3, 335-356 (1978)

上野芳夫 : *食衛誌.* 14: 403-414 (1973)

Ueno Y, Nakajima M, Sakai K, Ishii K, Sato N, Shimada N.: *J Biochem.* 74: 285-296 (1973)

Ueno Y, Ueno I, Iitoi Y, Tsunoda H, Enomoto M, Ohtsubo K.: *Japan J Exp Med.* 41: 521-539 (1971)

Yamamura H, Kobayashi T, Ryu JC, Ueno Y, Nakamura K, Izumiyama N, Ohtsubo K.: *Food Chem Toxicol.* 27: 585-590 (1989)

芳沢宅美, 諸岡信一 : *食衛誌.* 15, 261-269 (1974)

芳沢宅美 : *防菌防黴.* 12: 241-250 (1984)

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究業績

論文『英文』  
なし

学会発表  
なし

#### II. 知的所有権の取得状況

1. 特許所得  
なし

2. 実用新案登録  
なし

3. その他  
なし