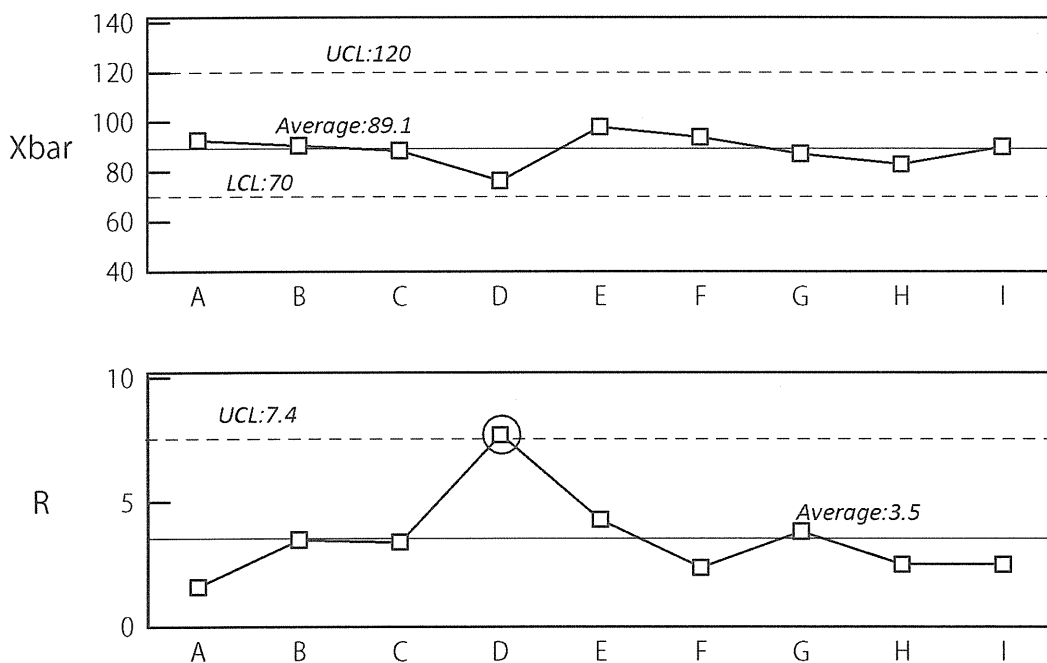


ポリミカーブ



フェノブカルブ

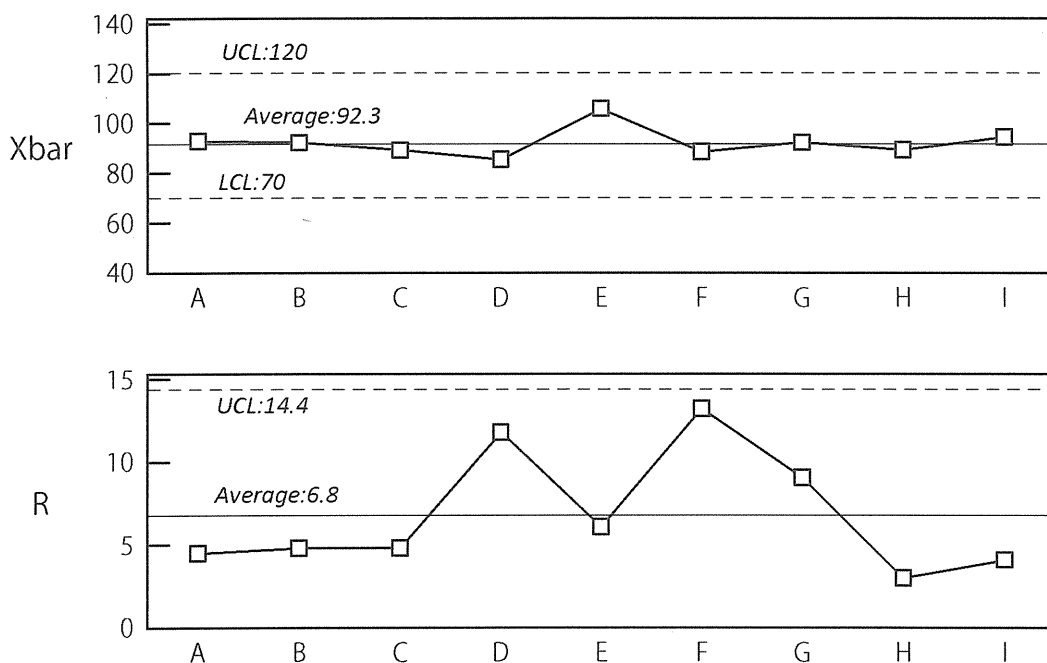
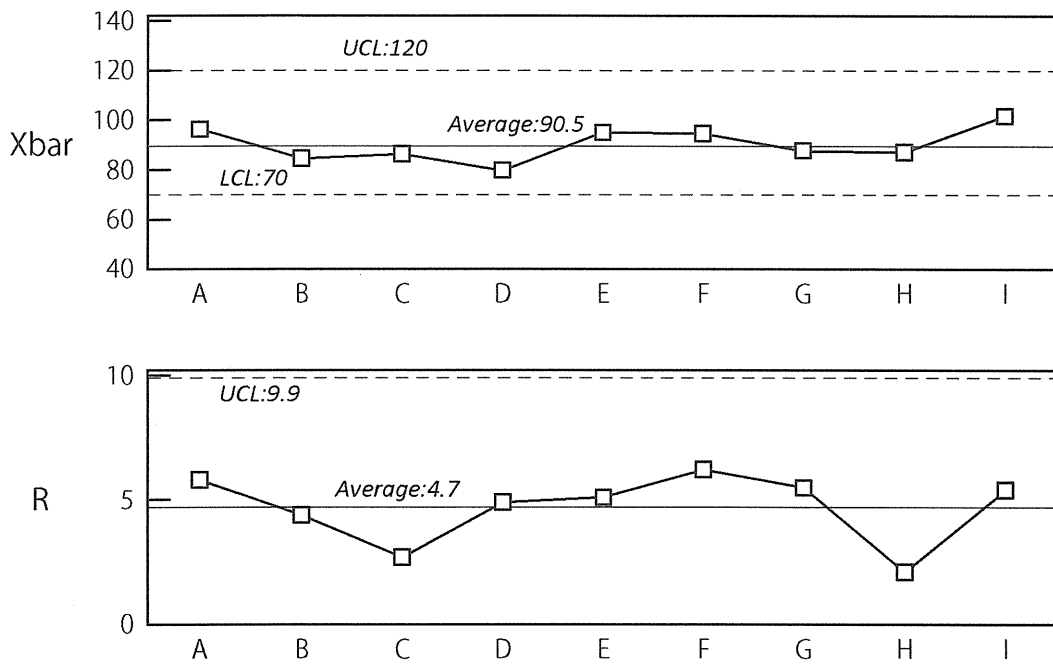


図 2-2 外部精度管理試験（ポークビーンズ）の Xbar-R 管理図

ジェットフェンカルブ



イソプロチオラン

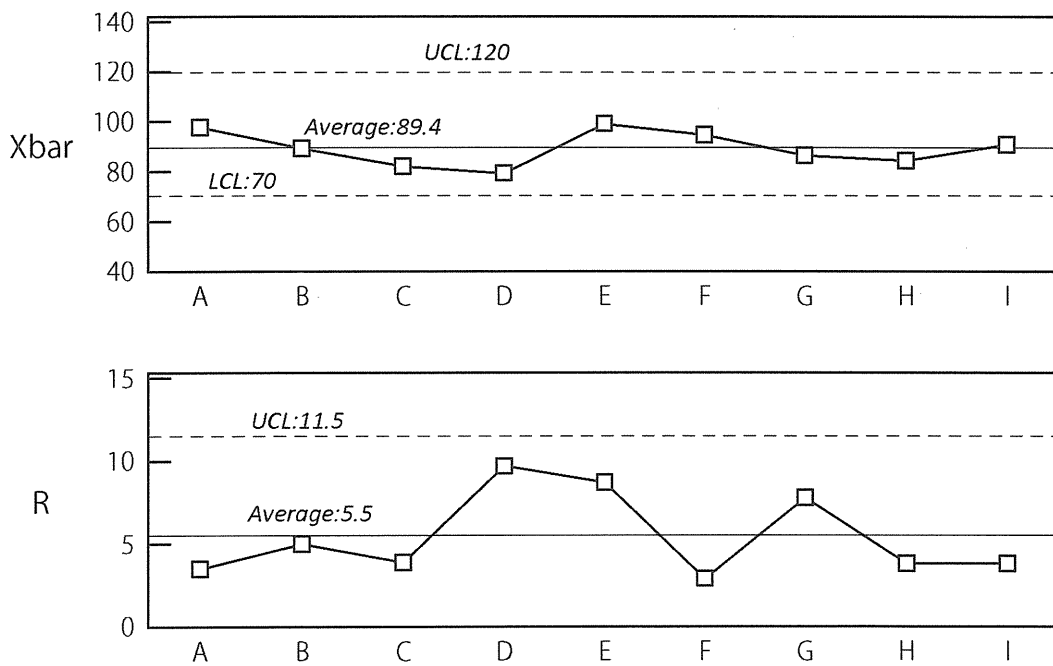
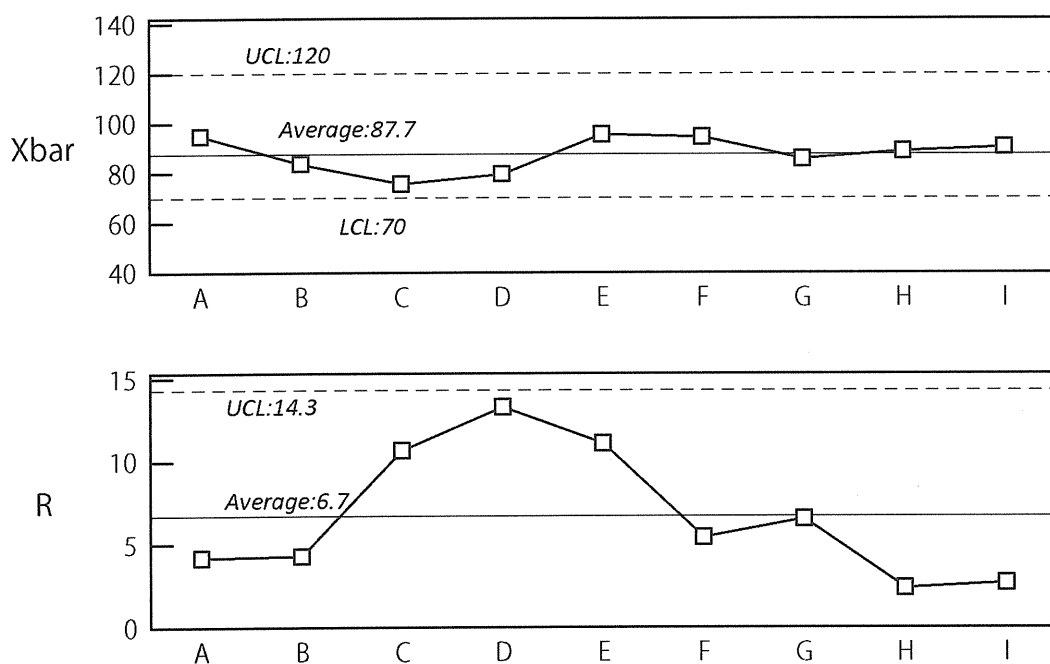


図 2-3 外部精度管理試験（ポークビーンズ）の Xbar-R 管理図

プロピザミド



イソキサチオン

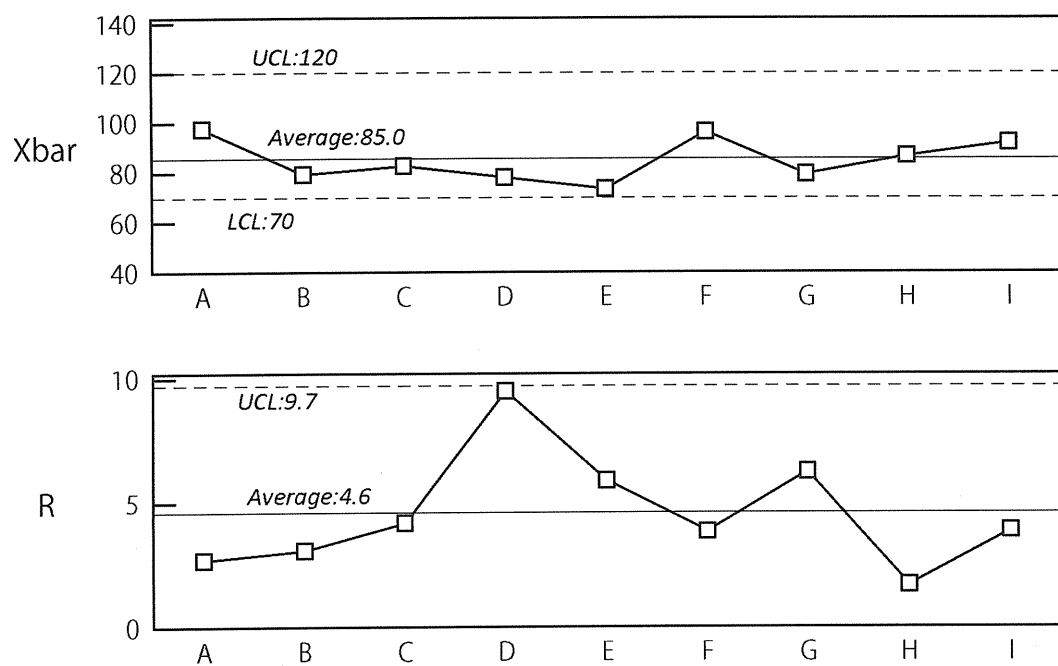


図 2-4 外部精度管理試験（ポークビーンズ）の Xbar-R 管理図

チオベンカルブ

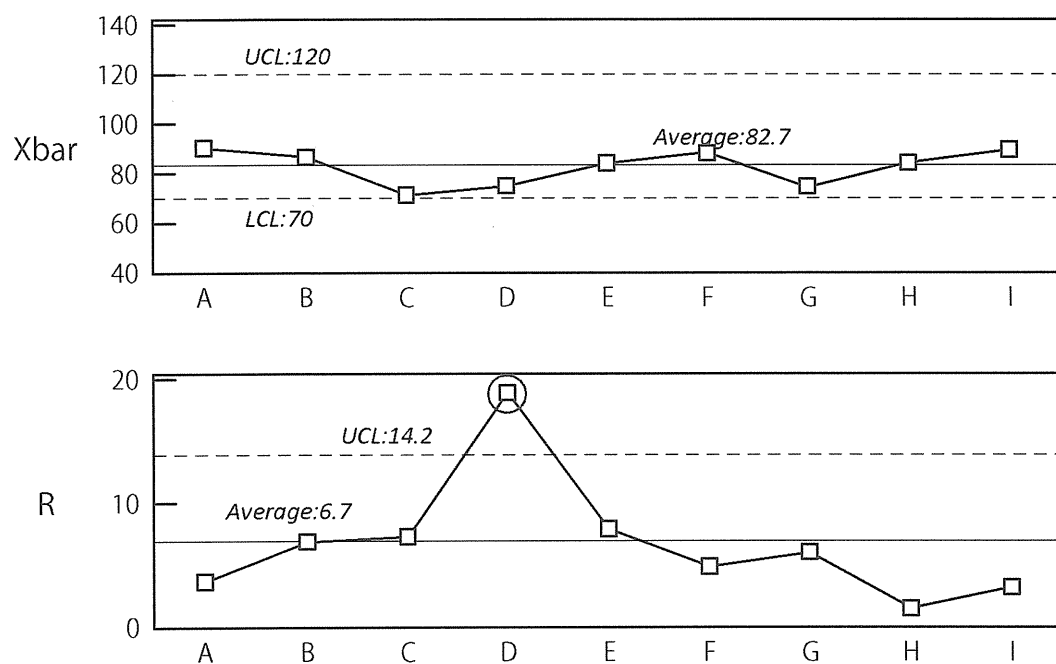
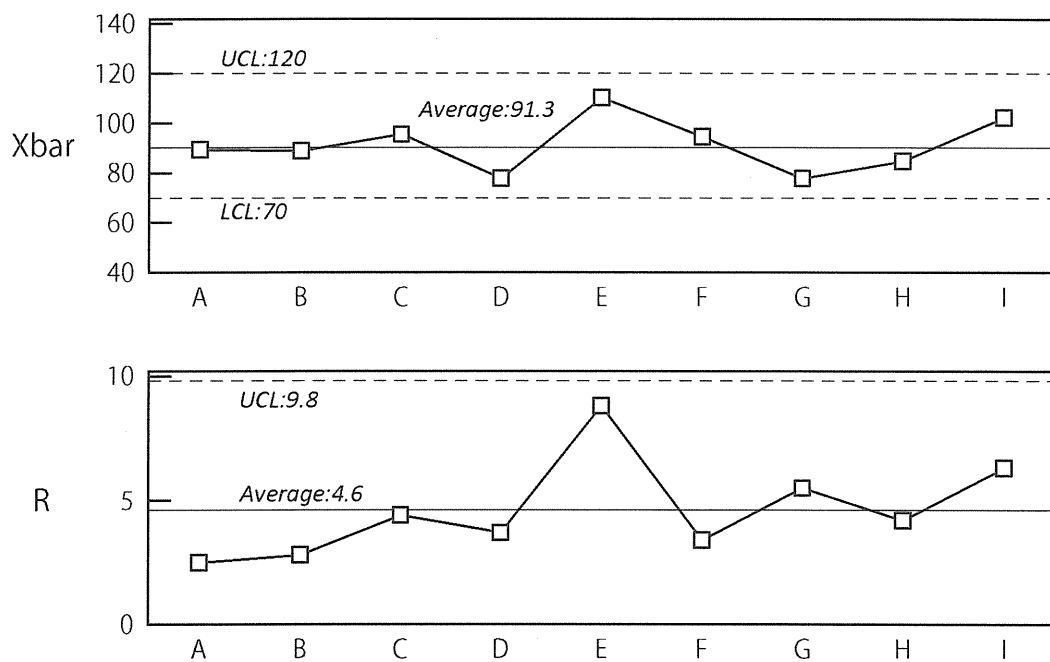


図 2-5 外部精度管理試験（ポークビーンズ）の Xbar-R 管理図

プロポキスル



カルバリル

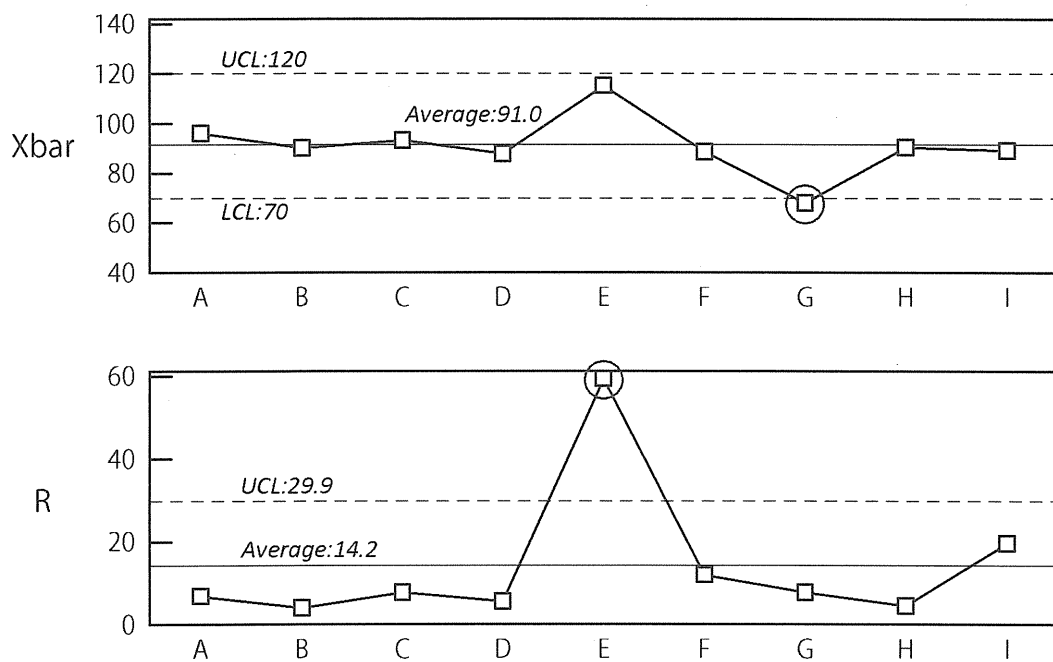
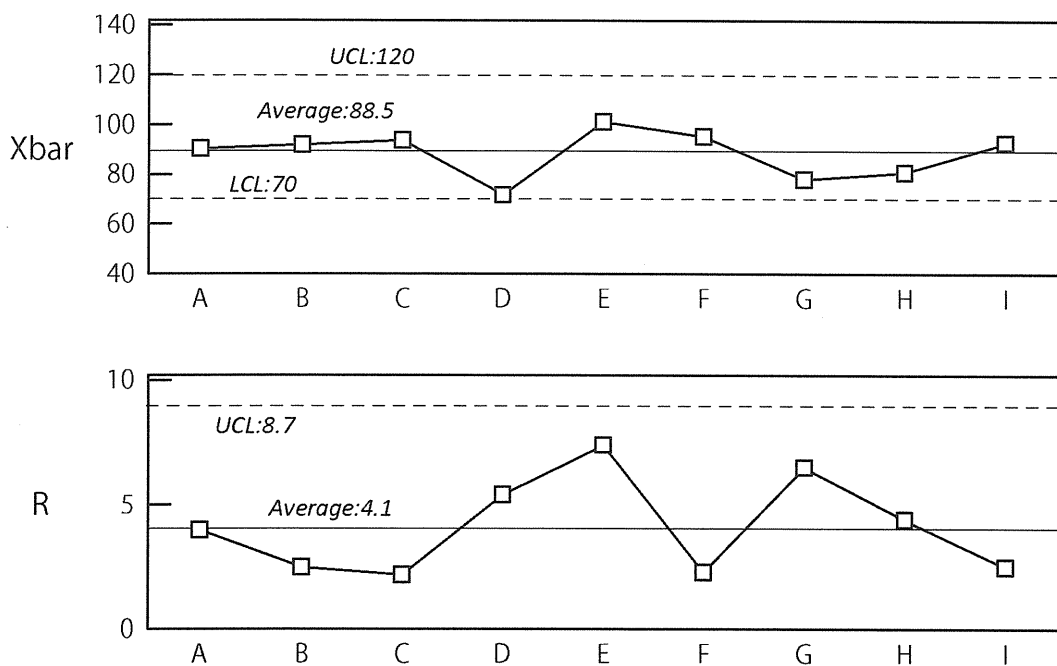


図 3-1 外部精度管理試験 (大豆) の Xbar-R 管理図

ピリミカーブ



フェノブカルブ

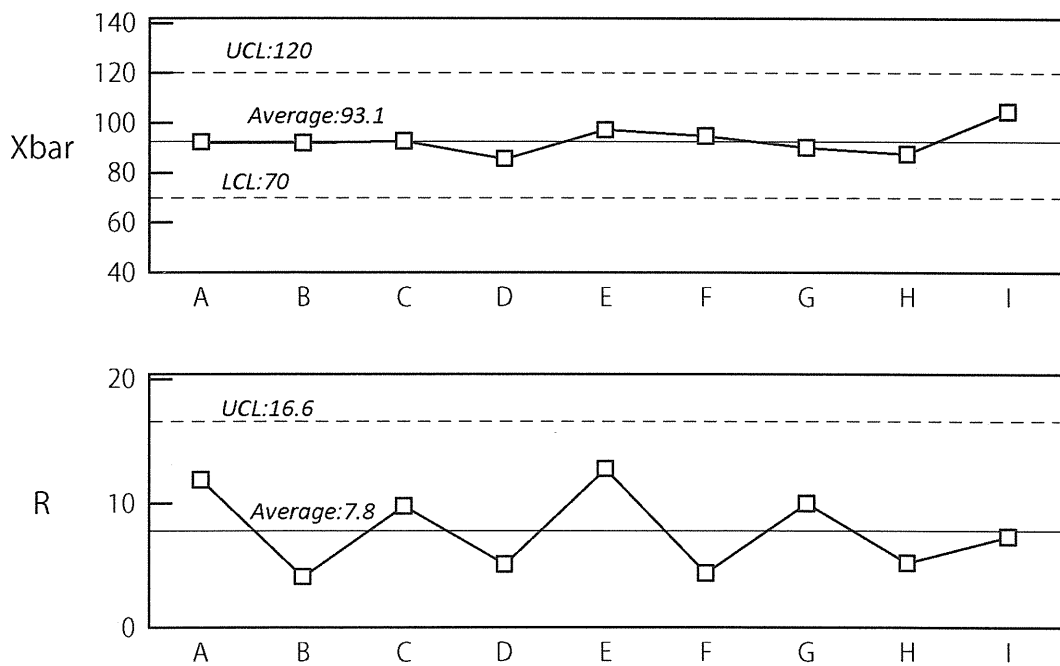
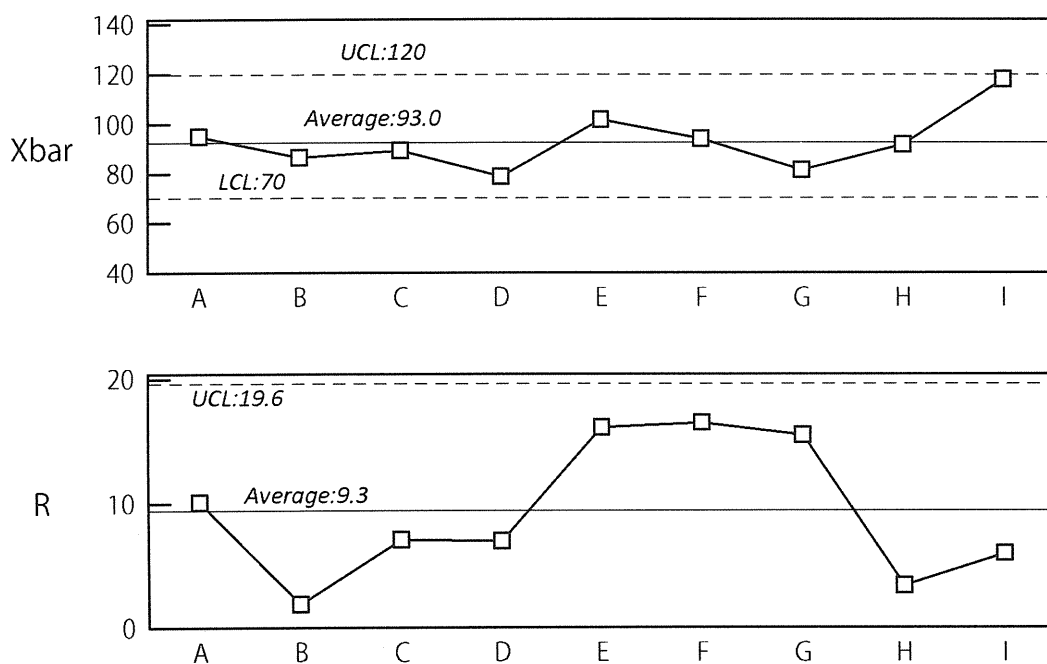


図 3-2 外部精度管理試験（大豆）の Xbar-R 管理図

ジェットフェンカルブ



イソプロチオラン

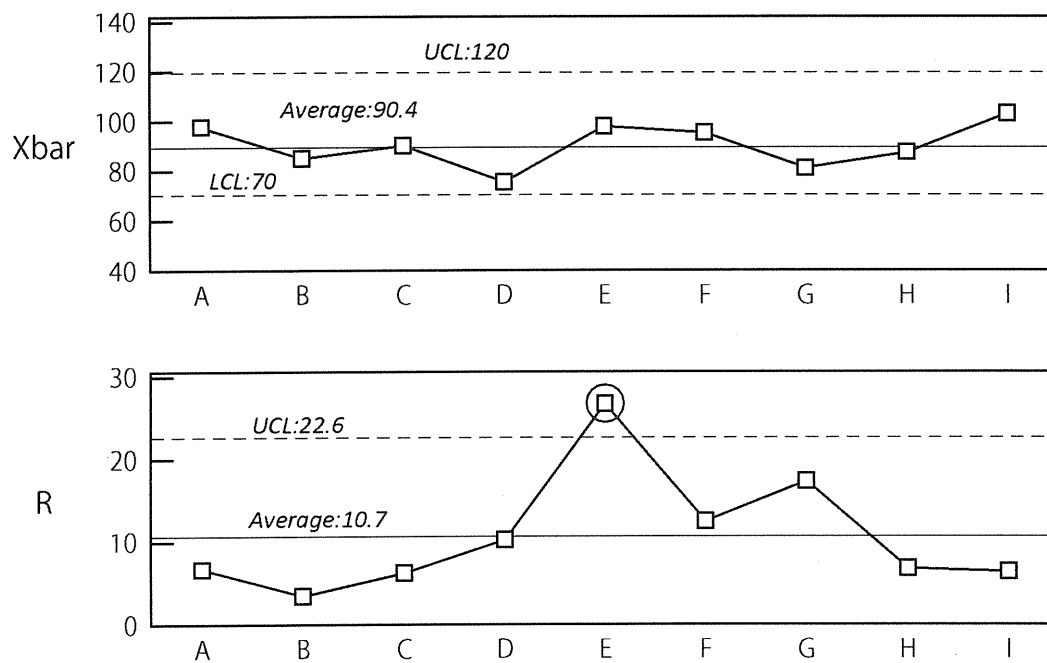
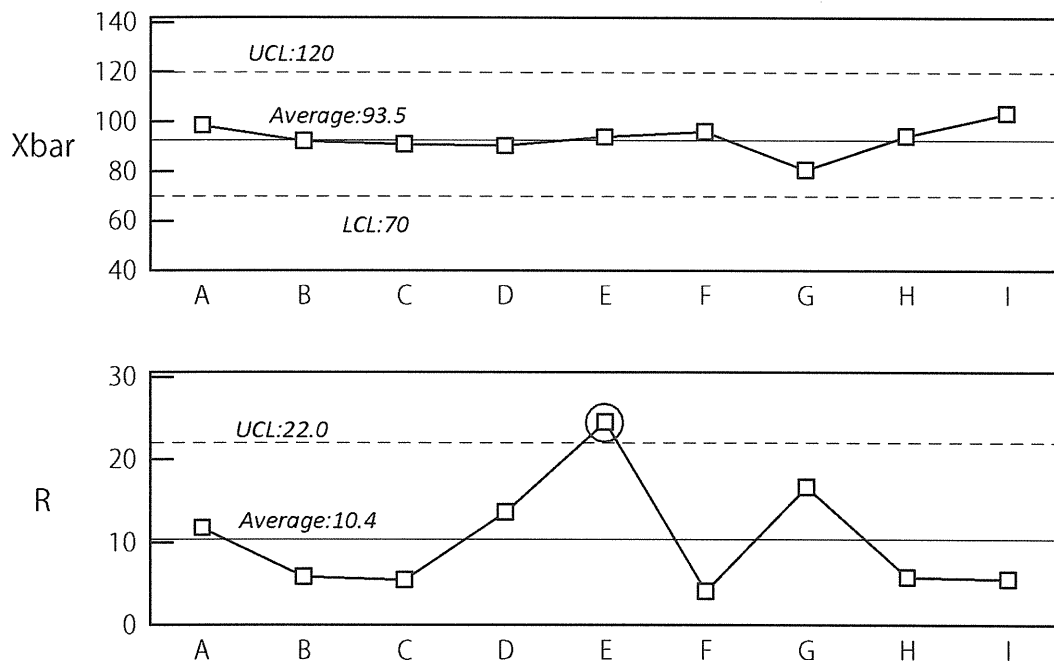


図 3-3 外部精度管理試験 (大豆) の Xbar-R 管理図

プロピザミド



イソキサチオン

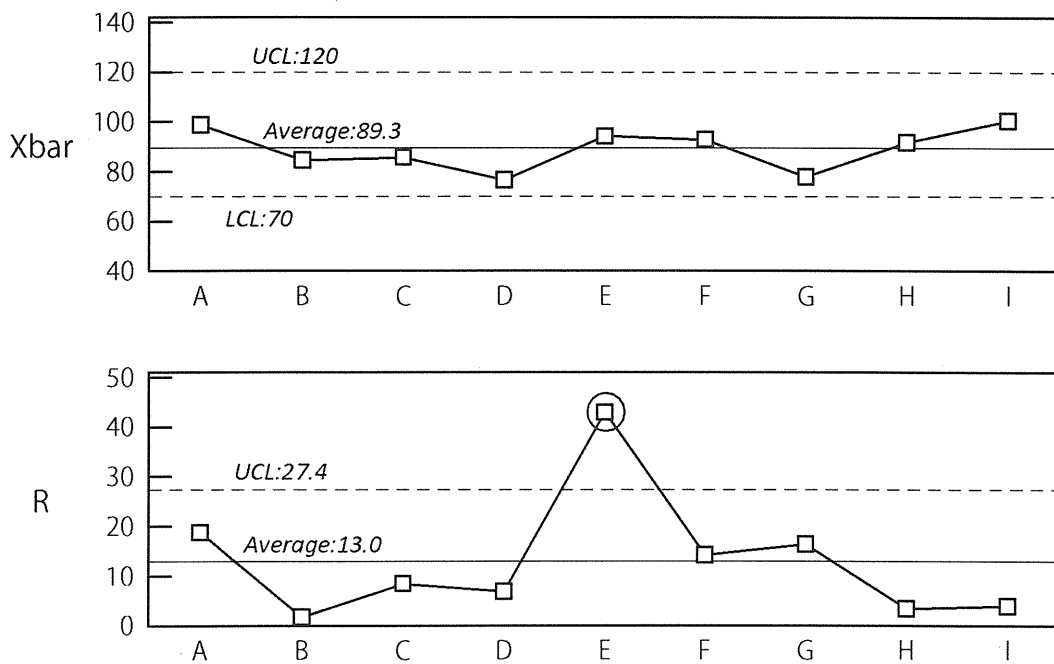


図 3-4 外部精度管理試験 (大豆) の Xbar-R 管理図

チオベンカルブ

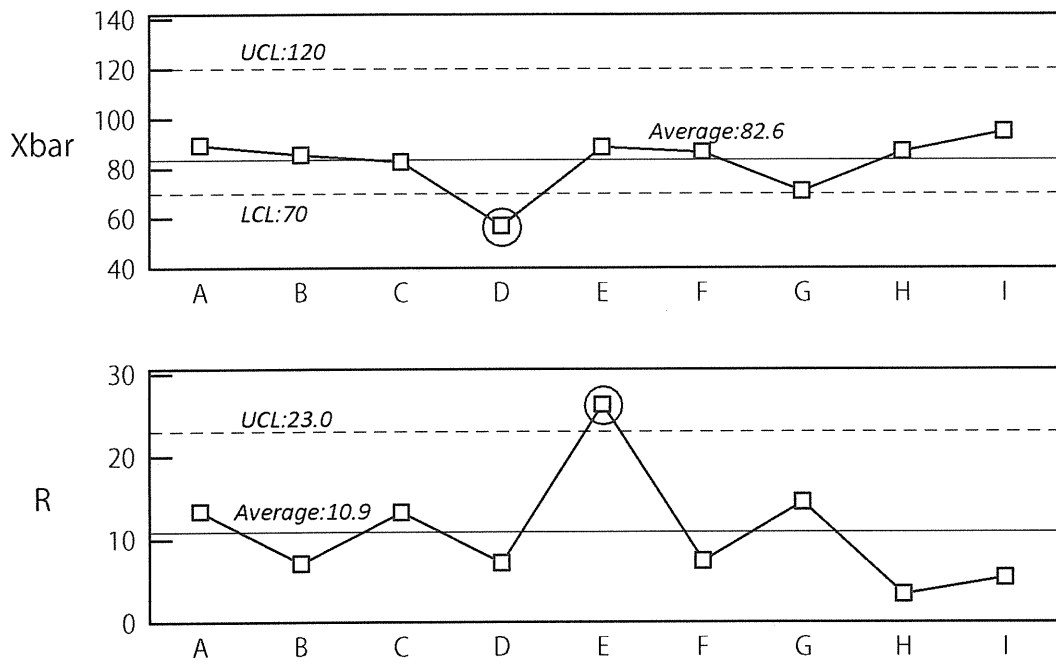


図 3-5 外部精度管理試験（大豆）の Xbar-R 管理図

厚生労働科学研究費補助金(食品の安全推進研究事業)

検査機関の信頼性確保に関する研究

平成 23 年度 分担研究報告書

食品中に残留するマイコトキシンに関する精度管理体制の

構築に関する研究

分担研究者 中澤 裕之

平成 23 年度 厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)

検査機関の信頼性確保に関する研究

分担研究報告書

食品中に残留するマイコトキシン分析に関する精度管理体制の構築に関する研究:デオキシニバレノールに関する過去の汚染調査報告の考察とスクリーニングとしての ELISA 分析法の妥当性評価

主任研究者	小島 幸一	(財)食品薬品安全センター
分担研究者	中澤 裕之	星薬科大学 薬品分析化学教室
協力研究者	斉藤 貢一	星薬科大学 薬品分析化学教室
協力研究者	岩崎 雄介	星薬科大学 薬品分析化学教室
協力研究者	伊藤 里恵	星薬科大学 薬品分析化学教室

研究要旨

食品汚染カビ毒(マイコトキシン)の一種であるデオキシニバレノール(DON)について、麦類への汚染実態調査報告(平成 14~20 年度)を基にして、データを再考察したところ、小麦中 DON の汚染状況(汚染濃度および汚染率)については、あまり大きな経年変動は無かったが、大麦に関して汚染率は増加傾向にあることが伺われた。麦類加工品についても調査報告を精査した結果、ビールへの汚染が耐容1日摂取量に対して大きく影響を及ぼすことが分かった。

DON スクリーニングとして ELISA に着目し、市販のキットを用いてその有用性を評価するために、分析法バリデーションを行ったところ、検出感度(検出限界)、検量線の直線性および IC_{50} 値は食品分析法として十分な性能を有していた。実試料としてビールを選択し、前処理法について検討したところ、本 ELISA におけるビールの簡便な前処理法として原液の希釈法が採用できることが確認された。更に、ELISA キットの妥当性を評価するため、添加回収試験により真度や精度の評価を試みた結果、ビール中 DON は定量的に分析可能であり、併行精度と室内再現精度も良好であった。また定量値は IC_{50} 付近が最も精度が高いことが確認された。

このことから本研究で用いた ELISA キットは、フィールドでの DON スクリーニングに有用であることが示唆された。

A. 研究目的

デオキシニバレノール(DON)は、赤かび病菌として知られるフザリウム属真菌が産生するかび毒(マイコトキシン)であり、主に穀類(麦類、米、トウモロコシ等)を汚染することが知られている。

物性として、DON を含むトリコセセン類のマイコトキシンは熱安定性が高く、120°C で安定、180°C でやや安定、210°C では 30~

40 分で分解する。製粉により、通常、ふすまに高く、小麦粉には低く含有される。調理過程として麺類およびスパゲッティの調理中にゆで汁に相当量移行する。また、パンの発酵・焼成過程で概ね半分減衰するが、酵母による分解はないとされている。従って、通常の調理過程ではあまり減毒されないと考えられる。ヒトが DON を摂取した場合、悪心、嘔吐、下痢等の消化器症状が、またマウス

への投与実験では胸腺、脾臓、心臓、肝臓への影響が報告されている。

過去の調査として、平成 13 年度厚生科学研究において、一部の小麦が比較的高濃度で DON に汚染されていることが報告され、平成 14 年には、小麦に含有する DON の暫定的な基準値として 1.1 mg/kg が定められた。この基準値は、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会合で定められた暫定的最大 1 日耐容摂取量および国民栄養調査による小麦類の 1 人当たり 1 日摂取量に基づき、小麦から小麦粉への DON の減衰を考慮した科学的知見に基づいて定められたものである。

代表的なマイコトキシンであるアフラトキシン類(B₁、B₂、G₁、G₂)については総量規制(10 mg/kg)が施行(2011 年 10 月 1 日)されたことから、消費者の「食の安全性」に対する関心が高まっているが、これに対して DON に対する消費者の関心は低い。しかし、主に輸入食品汚染が問題となっているアフラトキシン類に比べ、DON においては国産麦類への汚染が未だに進行している。

そこで本年度の研究においては、これまでに公表されてきた過去 7 年間分の農林水産省による DON 汚染実態調査データ(平成 14~20 年度)を基にして、DON による食品汚染やヒトへの曝露、また、今後の DON 調査の方向性について考察すると共に、スクリーニングのための市販 ELISA キットの妥当性評価を試みた。

B. 研究方法

1. 既報 DON 調査報告の解析

平成 14 年~20 年度にかけて農林水産省が行った「国産穀類中のかび毒含有実態調査」を基にして、これらの中から特に小麦(玄麦)と大麦(玄麦)中の DON に関する調査結果を抜粋・統合して一覧表を作成した(表 1)。その際、「定量限界以上の点数/調査点数」については、原本には示されていなかったため、改めて算出した。

飼料原料については、同省が平成 15 年~18 年度に行った、「飼料原料(麦類中)の DON 濃度実態調査結果」について同様に抜粋して一覧表を作成した(表 2)。

また、「麦類加工品中のかび毒含有実態調査結果(平成 19、20 年度)」についても同様に処理し(表 3)、更に、麦類加工品からの DON 摂取量については、検出された最高値を用いて再計算し、耐容摂取量に対する割合など、リスク評価を改めて行った(表 4)。

2. DON 測定用 ELISA

ELISA には、抗 DON モノクローナル抗体を用いた市販キット『DON』(株)フロンティア研究所製)を用いた。本 ELISA キットの測定原理は、直接競合反応法である。概略は以下の通りである。「抗マウス IgG 捕捉抗体が固定化された 96 穴ウエルプレートに、DON 標準品(または検体)、次に HRP 標識 DON を加え、最後に抗 DON 抗体を順次加えて競合反応させる。得られた HRP-DON-抗体複合体の酵素(HRP)活性を測定することにより、検体中の DON 濃度を求める。」

なお、実際の使用方法はキット付属の取扱説明書に準じて行った。

3. 分析法バリデーション

真度、併行精度および室内再現精度など分析法バリデーションのために添加回収試験を行った。測定対象の食品試料には、市販のビールを選択した。液状試料であることから、抽出やクリーンアップ等を行わず、前処理はリン酸緩衝生理食塩水(PBS)による希釈のみとした。DON 添加濃度は 100 ng/mL とし、一日に 2 回測定を併行して繰り返し、これを 5 日間行って得られたデータを一元配置分散分析法で統計解析した。

C. D. 研究結果および考察

1. DON 調査報告の一考察

農林水産省は、DON による国産麦類汚染が明らかとなった平成 13 年の翌年(平成 14 年度)から毎年度、マイコトキシンによる穀類

の汚染実態を把握するための調査を実施している。本研究では、これらの調査結果の中から平成 20 年度までの 7 年間分のデータを抜粋し、改めて DON による穀類の汚染を一覧表として作成した(表 1)。

調査試料点数は年度によって大きく異なっていたが、汚染濃度について年度別の平均値を見ると、小麦では 0.013~0.067 mg/kg、大麦では 0.032~0.56 mg/kg であった。いずれも基準値(1.1 mg/kg)未満であり、一見すると汚染レベルも大きな変動がないように見られる。しかし、ここで示された平均値のデータは、平成 14~17 年度までが定量限界未満の濃度を「0」として算出しているのに対し、平成 18~20 年度においては定量限界未満の濃度を定量限界の 1/2 として算出しているなど、データとしての整合性が取られていない。そのため、これらの平均値を一覧しても一括して比較することはできず、ここから有意義な考察を行うことは困難であると考えられる。

そこで今回、「リスク評価」というスタンスから、検出された最高値について着目してみた。すると、小麦については、平成 14 年度に基準値を超える 2.1 mg/kg が検出されていたが、その後、平成 15~20 年にかけては基準値を超えるものはなかった。

他方、大麦については、平成 14~16 年度および平成 18 年度に基準値を超えていた。DON はフザリウム属真菌が産生するものであることから、温度や湿度など気候条件によってその発育に変動があったためと推察された。

「定量限界以上の点数/調査点数」は、本研究で改めてデータを作成して考察を行った。原本では「定量限界未満の点数/調査点数」が示されていたが、調査点数に対する“汚染の割合”を知ることの方が、汚染実態調査の理にかなっていると考えたためである。その結果、小麦での汚染率は 36~84%、大麦では 37~100%となり、小麦よりも

大麦での汚染率が高く、また経年変化を見ると減少よりむしろ増加傾向にあることが伺われた。もちろん、近年の分析法の進歩に伴って若干定量限界が下がったことも関係していると思われる。従来、DON による穀物汚染は主に小麦に対して向けられてきたが、国産麦類の DON 汚染に関して言えば、大麦にも大いに注目する必要があると示唆された。

次に、飼料原料(麦類)中の DON 濃度実態調査結果(平成 15~18 年度の統合)についても同様にデータの再考察を行った(表 2)。この原料は概ね輸入したものとされているが、表 1 で示した、“食品”としての国産小麦・大麦の結果と同様に、平均値では基準値を下回っていたが、最高値はどちらも基準を超えていた。また定量限界以上の点数割合は、いずれもほぼ 3 割であった。このような飼料用の麦類などは、本来ヒトの食用には使われないはずのものであるが、アフラトキシンで汚染されたいわゆる事故米穀が食用に転売されていたことなどもあり、工業用や飼料用としていた麦類が食用に転売される恐れが全く無いとは言い切れないことから、国産、輸入品を問わず、DON 汚染穀類を監視していく必要があると思われる。

また、これまでの研究では、優先度が高いと考えられた麦類(玄麦)について調査が行われており、加工製品についての知見は未だ少ない。近年(平成 19 および 20 年度)、農林水産省により、「食品の安全性に関する有害化学物質のサーベイランス・モニタリング中期計画」(平成 18 年 4 月 20 日公表)に基づき、「麦類加工品のかび毒含有実態調査」が行われた。麦類加工品としては、小麦粉、みそ、しょうゆ、ビールおよび麦茶が選択され、DON、ニバレノール(NIV)、ゼアラレノンおよびオクラトキシン A について、全国的に含有実態が調査された。そこで、その調査データの中で特に DON に着目してみたところ、検出割合は極めて低く、0~6%程度であった

(表 3)。さらに、検出されたものについても、ほとんどが定量限界値レベルであった。農林水産省の報告では、これらのデータを、大人1人、1日当たりの平均的な食品の摂取量(「平成 18 年国民健康・栄養調査報告」(厚生労働省))の平均値等を用いて、大人 1 人、1 日当たりの平均的な摂取量を試算した結果、合計で 0.08 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日であり、耐容摂取量(1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日)に対する割合としては、8.0%となり、国民の健康に悪影響を及ぼすことはない結論されている。

しかし、この計算の基にしたデータは平均値(検出限界未満の濃度を検出限界とし、検出限界以上かつ定量限界未満の濃度を定量限界として算出)を用いている。表 1 で示された 2 種類の平均値算出方法とも異なっており、これら農林水産省の報告データには統一性が見られず、統合的にデータを比較して論ずることは極めて難しい。リスク評価の観点からは、表 1、2 の考察と同様に最高値のデータを用いて曝露評価を行うことも必要と思われた。実際に検出された各品目の最高値を用いて DON 摂取量を再計算したところ、耐容摂取量に対する割合は 2.7%となり、平均値で算出した場合に比べて約 1.6 倍となった(表 4)。また、合計摂取量に対するそれぞれの品目の摂取量割合を新たに算出したところ、ビール単独で 43.2%に達することが分かった。

そこで本研究では、DON 曝露の影響が大きい食品としてビールに着目した。なお、表 3 で DON が検出されたビールは 20 検体中でわずか 1 検体であり、かつ定量限界レベルであった。しかし、食品としてのビールの 1 日当たりの摂取量は「国民栄養調査報告」から 58.6 g/日とされているが、これは、性別や年齢に関係なく平均化されてはじき出された数値であり、ビール趣向のある成人男性の場合、ビールの 1 日当たりの摂取量は 58.6 g/日よりもはるかに大きく、それに伴って DON 摂取量も増大することが推測される。ま

た、ビールの原料は大麦であるが、表 1 で示したように、大麦での DON 汚染率が近年、上昇傾向にあることから、ビールに対する着目は妥当なものと思われた。

これまでに食品中の DON 濃度の実態調査については、農林水産省をはじめ、国内外で様々な調査・研究が行われてきた。最近では、分析機器の進歩と相まって GC/MS を用いる方法が主流となっている。この方法では、DON の検出のみならず、同じトリコセン系マイコトキシンである NIV、および DON と NIV のそれぞれアセチル化体などの類縁体も含めた測定が可能である。実際、WHO/FAO 合同食品添加物専門家会議(JECFA)においては、DON の安全性評価のために上記のアセチル体を含めた検討が進められている。しかし、平成 20 年度に農林水産省が行った実態調査では、表 4 で示した調査品目から NIV は全く検出されていなかった。また、DON および NIV のアセチル化体の含有濃度は、試料の 8 割以上が定量限界未満であり、その最高値は DON または NIV 含有濃度の最高値の約 10 分の 1 と、報告されている。

そこで本研究では、DON のみをターゲット物質として選択し、実態調査において迅速に多検体処理が容易で、かつコストパフォーマンスに優れる ELISA による DON 測定の精度管理を行うため、市販キットを用いた分析法バリデーションを行った。

2. 市販 ELISA キットの基本性能評価

ELISA キットには、国産のもので比較的入手がし易いフロンティア研究所製の「DON」を用いた。この ELISA キットでは、直接競合反応を利用しているため、操作を迅速に行えることも特徴である。キット付属の DON 標準品 8.23 ng/mL~6000 ng/mL の範囲で、縦軸に B/B₀を、横軸を濃度の対数とした片対数グラフで検量線をプロットしたところ、逆シグモイド曲線が得られ、更に 10 ng/mL~100 ng/mL の範囲で良好な直線性が得られ

た(図 1)。

なお、ELISA の検出限界を、逆シグモイド曲線と接線を作図する方法(薬学雑誌(2005), 125(3), 323-325)から求めたところ、平均(n=6)で 14.4 ng/mL、標準偏差は 6.8 ng/mL となり、バラツキの大きい値となった。これは、測定によって低濃度付近でのシグモイド曲線カーブの形状が大きく異なることがあり、上記のように実際に作図する方法では検出限界を求めることができず、検量線での標準品最低濃度を検出限界としたためである。

他方、50%阻害濃度(IC₅₀)値については1日2回、5日間繰り返し実験を行い、一元配置分散分析法でIC₅₀値の精度評価を行った。その結果、平均で 46.3 ng/mL、併行精度は 10.1%、室内再現精度は 14.3%であり(表 5)、IC₅₀ 値付近の測定値は安定していることが示唆された。

3. 実試料分析におけるマトリックス効果の影響検討

実試料を ELISA で分析した場合のマトリックス効果の影響について検討するため、試料にビールを選び、その前処理法について検討した。その結果、試料原液の希釈だけでも、それぞれ作成したマトリックス検量線は、マトリックスが存在しない DON 標準品の検量線と良好に一致した。このことから、ビールを試料とした ELISA では、煩雑な抽出・クリーンアップを行わずに PBS による希釈という簡便な前処理法が採用できると考えられた。

4. 分析法のバリデーション

本研究で用いた市販 ELISA キットの妥当性を検証するため、添加回収試験を行って、真度、併行精度および室内再現精度など分析法バリデーションを行った。その際、添加濃度は 100 ng/mL と低濃度での評価を試みた。これは、従来の ELISA による小麦中 DON 調査などにおいては、基準値(1.1 mg/kg)を勘案して行われてきたのに対し、より低濃度汚染を検出することを想定したためである。

検量線測定範囲の 11.11、33.33 および 100 ng/mL の 3 点について平均回収率から真度の差を検証したところ、表 6 に示すように 81.6~116.3%であり、この範囲での測定値に信頼性があることが確認された。

また、一元配置分散分析法により、上記測定ポイントにおける併行精度と室内再現精度を求めたところ、併行精度および室内再現精度は最低濃度(11.11 ng/mL)の際には若干高めであったが、33.33 および 100 ng/mL では、併行精度と室内再現精度の数値はいずれも 15%未満であり、「食品中に残留する農薬などに関する試験法の妥当性評価ガイドライン」(平成 19 年;厚生労働省)に沿った値であった。なお、上記の IC₅₀ 値(46.3 ng/mL)とその再現性結果(表 5)と照らし合わせると、ELISA における定量値は IC₅₀ 付近が最も精度が高いことが確認された。

以上の結果から、本試験法が一般に測定結果のバラツキが大きいとされる ELISA であることを考慮すると、DON 汚染が危惧される食品(ビール)の実態調査においてスクリーニングとして適用可能であり、本研究を遂行することによって、国産・輸入食品など市場に流通する食品の安心・安全性評価に大いに寄与することが期待される。

今後の研究計画としては、さらに、他の市販キットとの相互比較を行うと共に、耐容1日摂取量への寄与が大きいビールを対象とした標準マテリアルを作製して、外部精度管理により室間再現精度を検討する予定である。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表(論文発表および学会発表)

なし

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

表1 国産麦類中のDON濃度実態調査結果（平成14～20年度の経年変動）

調査品目	年度	定量限界以上の点数 /調査点数（割合）	最高値	平均値
	(平成)		(mg/kg)	(mg/kg)
小麦(玄麦)	14	81 / 199 (41%)	2.1	0.16*
	15	77 / 213 (36%)	0.58	0.067*
	16	81 / 226 (36%)	0.93	0.044*
	17	72 / 200 (36%)	0.23	0.15*
	18	84 / 100 (84%)	0.88	0.013**
	19	57 / 100 (57%)	0.29	0.023**
	20	81 / 120 (68%)	0.46	0.033**
大麦(玄麦)	14	22 / 50 (44%)	4.8	0.26*
	15	20 / 54 (37%)	3.70	0.29*
	16	33 / 56 (59%)	1.8	0.24*
	17	27 / 50 (54%)	0.46	0.06*
	18	10 / 10 (100%)	2.5	0.56**
	19	7 / 10 (70%)	0.32	0.064**
	20	78 / 100 (78%)	0.56	0.032**

*: 定量限界未満の濃度を「0」として算出

*: 定量限界未満の濃度を定量限界の1/2として算出

表2 飼料原料(麦類中)のDON濃度実態調査結果（平成15～18年度の統合）

調査品目	定量限界以上の点数 /調査点数（割合）	最高値	平均値*
		(mg/kg)	(mg/kg)
小麦	13 / 39 (33%)	1.3	0.094
大麦	48 / 150 (32%)	2.0	0.049

*: 定量限界未満の濃度を「0」として算出

表3 麦類加工品中のかび毒含有実態調査結果（平成19, 20年度）

調査年度 (平成)	調査品目	定量限界以上の点数 /調査点数 (割合)	最高値 (mg/kg)	平均値 (mg/kg)
19	パン類	1 / 50 (2%)	0.04	0.022*
	うどん類	1 / 60 (2%)	0.04	0.021*
	中華めん類	0 / 30 (0%)	<0.04	0.021*
	即席中華めん	1 / 20 (5%)	0.04	0.024*
	パスタ類	3 / 20 (6%)	0.10	0.026*
	ビスケット類	0 / 10 (0%)	<0.04	0.020*
20	小麦粉	2 / 50 (4%)	0.04	0.022*
	みそ	0 / 20 (0%)	<0.06	0.030*
	しょうゆ	0 / 20 (0%)	<0.05	0.026*
	ビール	1 / 20 (5%)	0.05	0.022*
	麦茶	0 / 20 (0%)	<0.05	0.020*

*: 検出限界未満の濃度を検出限界とし、検出限界以上かつ定量限界未満の濃度を定量限界として算出

表4 麦類加工品からのDON摂取量算出結果

調査品目	最高値 (mg/kg)	食品の摂取量 (g/日)	DON摂取量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重 / 日)	耐容摂取量 に対する割合 (%)	合計量に対する 割合 (%)
パン類	0.04	30.0	0.023	2.3	18.1
うどん, 中華めん類	0.04	38.4	0.028	2.8	22.0
即席中華めん	0.04	4.3	0.0032	0.32	2.5
パスタ類	0.10	8.0	0.015	1.5	11.8
小麦粉	0.04	4.2	0.0032	0.32	2.5
ビール	0.05	58.6	0.055	5.5	43.2
合計			0.127	12.7	100

平均体重: 53.3 kg (平成10~12年の「国民栄養調査報告」(厚生労働省)の結果から厚生労働省が試算した値を使用)

耐容摂取量: 1mg/kg体重 / 日 (2001年にFAO/WHO合同食品添加物専門家会議(JECFA)が評価した暫定耐容一日摂取量)

表5 分析法バリデーション(IC₅₀)

IC ₅₀	平均 (ng/mL)	併行精度 (RSD, %)	室内再現精度 (RSD, %)
	46.3	10.1	14.3

(n=10)

表6 分析法バリデーション(定量精度)

検量線濃度 (ng/mL)	回収率 (Mean, %)	併行精度 (RSD, %)	室内再現精度 (RSD, %)
11.11	116.3	23.9	27.2
33.33	86.1	13.8	12.6
100	81.4	14.9	13.2

(n=10)

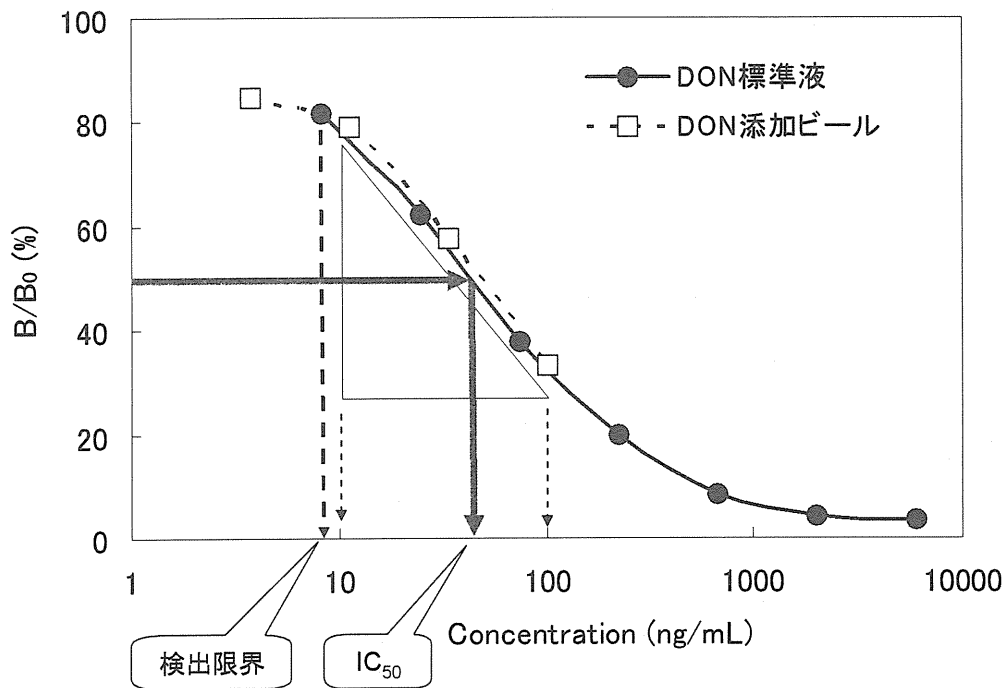


図1 検出範囲、検出限界、IC₅₀ および添加回収試料の相同性の検討

厚生労働科学研究費補助金(食品の安全推進研究事業)

検査機関の信頼性確保に関する研究

平成 23 年度 分担研究報告書

食品中に含まれる残留有害物質のうち低い安全性基準値の検査方法と

精度管理体制の構築に関する研究

分担研究者 齊藤 貢一

検査機関の信頼性確保に関する研究

分担研究報告書

食品中に残留するマイコトキシン分析に関する精度管理体制の構築に関する研究:シクロピ
アズン酸の ELISA の開発と分析法バリデーション」

主任研究者	小島 幸一	(財)食品薬品安全センター
分担研究者	斉藤 貢一	星薬科大学 薬品分析化学教室
協力研究者	加藤美穂子	(株)フロンティア研究所
協力研究者	岩崎 雄介	星薬科大学 薬品分析化学教室
協力研究者	伊藤 里恵	星薬科大学 薬品分析化学教室
協力研究者	中澤 裕之	星薬科大学 薬品分析化学教室

研究要旨

食品汚染カビ毒(マイコトキシン)の一種であるシクロピアズン酸(CPA)について、簡便、迅速かつフィールドで使える ELISA の検討を行った。ELISA としては汎用されている間接競合法を採用し、固相化用 conjugate や第一抗体、第二抗体など、測定条件の最適化を行った。その結果、CPA 標準品において 1~100 ng/mL の範囲で良好な検量線を得ることができた。その際、検出限界は 0.4 ng/mL、IC₅₀ 値は 16.7 ng/mL であった。

また、試料に液状調味料(めんつゆ)を選び、その前処理法について検討した。昨年度までの研究で構築した液液抽出と固相抽出法を併用した場合はもちろん、液液抽出または試料原液の希釈(10 倍希釈)だけでも、それぞれ作成したマトリックス検量線は、マトリックスが存在しない CPA 標準品の検量線と良好に一致した。このことから、ELISA におけるめんつゆの簡便な前処理法として原液の希釈法が採用できると考えられた。さらに、構築した ELISA の妥当性を評価するため、添加回収試験により真度や精度の評価を試みた結果、めんつゆ中 CPA は定量的に分析可能であり、併行精度と室内再現精度も良好であった。また定量値は IC₅₀ 付近(10-50 ng/mL)が最も精度が高いことが確認された。

A. 研究目的

現在、日本の食料自給率はカロリーベースで 40%程度であり、これは半世紀前に比べてほぼ半減となっている。そのため必然的に輸入食品が増加しているが、衛生管理が不十分な場合、カビの発生やカビ毒(マイコトキシン)汚染など食品衛生上の問題が危惧されている。マイコトキシンによる食品汚染問題は輸入食品だけでなく、国内でも発癌性のあるアフラトキシン B₁ を含んだ米、いわゆる事故米穀を、工業用(非食用)として仕入れておきながら、酒造会社や菓子メーカーに

転売した事件などは比較的記憶に新しい最近の出来事である。また、2011 年にはアフラトキシン類(B₁、B₂、G₁、G₂)の総量規制(10 µg/kg)が施行(2011 年 10 月 1 日)され、食品中に残留するマイコトキシンなど微量有害化学物質に対する社会的な関心は高まっている。

マイコトキシンの一種であるシクロピアズン酸(CPA)は、*Aspergillus* 属や *Penicillium* 属の菌が産生し、肉、ピーナッツ、卵または飼料中などから検出されている。CPA は動物実験において体重減少、下痢および痙攣な