

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)

分担研究報告書

食品汚染カビ毒の実態調査

研究分担者 小西 良子 麻布大学

研究要旨

カビ毒は、農業を営んでいる世界中のすべての地域にも存在し、防御や予防が非常に難しいことから、国際的にも農業規範や食品規格の策定が急がれている。また、地球温暖化などのカビ毒汚染への影響が深刻さをましてきている。

我が国は、輸入食品への依存性が高く、輸入食品の安全性を確保するために、JECFA などにおいて評価されるカビ毒及び我が国において問題となるカビ毒を対象に、我が国の汚染実態を把握し、然るべき対策をとる必要がある。

2010年から2012年の3年間に亘って、3種のフザリウムトキシン(T-2 トキシン、HT-2 トキシン及びゼアラレノン)を対象に実態調査を行った結果、様々な市販食品中にそれらカビ毒の汚染が認められることがわかった。そのため、暴露評価に必要なデータを収集するために、さらに3年間対象を広げた調査を実施することとした。本研究に使う分析法は「カビ毒試験法評価委員会」で評価した。

今年度の実態調査は14種298品数を対象に行った。ゼアラレノンは、主に大麦、ゴマ、小豆及び雑穀米で、T-2 トキシンとHT-2 トキシンはライ麦粉、ハト麦加工品、ビール及び小豆から検出された。汚染濃度については、ハト麦粉と小豆のゼアラレノンの下限平均濃度が15 µg/kgを超えていた。T-2 トキシンについては、下限平均濃度が1 µg/kgを超えた食品はなく、HT-2 トキシンについては、ライ麦粉、ハト麦加工品及び小豆において下限平均濃度が1 µg/kgを超えており、小豆における平均濃度が最も高く、7.1 µg/kgであった。

研究協力者

吉成 知也 国立医薬品食品衛生研究所
甲斐 茂美 神奈川県衛生研究所
竹内 浩 三重県保健環境研究所
田中 敏嗣 神戸市環境保健研究所
谷口 賢 名古屋市衛生研究所
田端 節子 東京都健康安全研究センター
—
橋口 成喜 川崎市健康安全研究所
中島 正博 名古屋市衛生研究所
永山 敏廣 (明治薬科大学)

堀江 正一 (大妻女子学家政部)
内藤 成弘 ((独) 農業・食品産技術総合研究機構)
秋山 裕 (一財) 日本冷凍食品協会
伊佐川 聡 (一財) 日本食品分析センター
—
石黒 瑛一 (一財) 日本食品分析センター
—
佐藤 孝史 (一財) 食品分析開発センター
—
SUNATEC

A. 研究目的

食品を汚染するカビ毒は、国際的に JECFA やコーデックス委員会などで毒性評価や規格策定の準備が行われており、我が国においてもその対応が急がれている。JECFA では、2007 年以降総アフラトキシン、オクラトキシン A、デオキシニバレノール、フモニシンなどの摂取量の見直しが行われた。コーデックス委員会では、穀物中の総アフラトキシンやデオキシニバレノールの規格策定への動きも出てきており、我が国に関係する事項も多い。

国際的にもカビ毒に対する対策が整えられていることから、我が国でまだ規制値が決まっていないカビ毒に関して、輸入食品の安全性を確保するために、我が国の汚染実態を把握し、しかるべき対策をとる必要がある。

いままでに我が国では、パツリン(リンゴジュースの成分規格)及び総アフラトキシン(食品衛生法第 6 条 2 項)に規制値が決められている。デオキシニバレノールには今のところ暫定基準値が設定されているが、今後国際動向を見ながら、見直しを検討する必要がある。

本研究事業で対象とした T-2 トキシン、HT-2 トキシン及びゼアラレノンは、すでに JECFA において毒性評価がされているカビ毒であるが、コーデックス委員会での規格はまだ作られていない。これらのカビ毒はフザリウム属真菌が産生することから、フザリウム毒素とも言われている。フザリウム属真菌は、温帯地方に生息しており、我が国も生息地の一つである。そのため、2010 年度から 2012 年の 3 年間に亘って、麦類、トウモロコシ及びその加工品、豆類、米類などを中心に実態調査を行った。その結果、小麦、大麦、ハト麦加工品、小豆などの国産の農作物や輸入された小麦に T-2、HT-2 及びゼアラレノン汚染が認められた。そのためフザリウム毒素汚染に対して寄与率

の高い食品を対象に実態調査を続け、より正確な暴露評価が可能となるデータをさらに 3 年間収集することとした。本年度は、これまでに調査を実施した国産小麦、国産大麦、小麦粉、ライ麦粉、ハト麦加工品、グラノーラ、ビール、コーングリッツ、ゴマ、小豆、雑穀米、精米に加え、新たにソバとコーンフレークを対象とした。

B. 研究方法

実態調査に用いた国産小麦(40 点)及び国産大麦(10 点)は農林水産省から提供いただいた。その他の食品は、日本各地の小売店などからランダムに購入したものを用いた。

T-2 トキシン、HT-2 トキシン及びゼアラレノンの分析は、以下の方法で実施した。

抽出は、試料 25 g に抽出溶媒メタノール：水(75：25)100 mL を加え、30 分間振盪することで行った。添加回収試験の場合はそれぞれのカビ毒で定めた用量を添加し、暗所に 1 時間放置した後に抽出を行った。遠心分離(1410g、10 分間)により抽出液を分離した。

精製はイムノアフィニティーカラム(R-Biopharm Rhone 社、DZT MS-PREP)を用いた。抽出液 10 mL を正確にピペッターなどで 50 mL のメスフラスコにとり、PBS で 50 mL にメスアップした後、ガラス繊維ろ紙でろ過した。ろ液 10 mL を IAC に添加し、蒸留水で洗浄後、メタノール 2 mL で溶出した。溶出液を窒素気流により乾固後、残渣を HPLC 移動相 0.5 mL に溶解し、試験溶液とした。

なお、2005 年から 2010 年に EU で実施された T-2 及び HT-2 の汚染実態調査の結果と本実態調査の結果の比較を容易にするために、本年度からは平均濃度の算出を以下の様にした。

下限平均濃度：定量限界値(LOQ)未満の値を全て 0 とし、平均値を算出

する。

上限平均濃度：検出限界値（LOD）未満の値を検出限界値に、検出限界値以上定量限界値未満の値を定量限界値とし、平均値を算出する。

< LC-MS/MS の測定例 >

HPLC

カラム：Inertsil ODS-4
3×50 mm, 2 μm

カラム温度：40

移動相：A 10 mM 酢酸アンモニウム
B メタノール

分離条件：0分 A : B = 95 : 5
8分 A : B = 10 : 90
14分まで保持

流速：0.2 mL/分

注入量：10 μL MS

イオン化：ESI

モニタリングイオン：

T-2 トキシン(positive) 484/305

HT-2 トキシン(positive) 442/263

ゼアラレノン(negative) 317/131

C. 研究結果

(1) ゼアラレノン (表1、図1)

麦類については、国産小麦で検出率が60%、国産大麦では100%で、下限平均濃度はそれぞれ0.8、1.2 μg/kg/kgであり、最大濃度は国産小麦の22 μg/kgであった。

麦類加工品については、ライ麦粉における検出率が55%、ハト麦加工品で70%、国産小麦粉で19.4%、輸入小麦粉で16%、グラノーラで30%、ビールで10%であり、下限平均濃度はそれぞれ1.0、15.3、0.2、0.05、0.5、0.007 μg/kg/kgであり、最大濃度はハト麦加工品の170 μg/kg/kgであった。

トウモロコシ加工品については、コーングリッツで検出率が30%、コーンフレークで53.3%であり、下限平均濃度はいずれも0.5 μg/kg/kgであり、最大濃度はコーングリッツの2.4 μg/kg/kgであった。

その他、ソバで検出率が75%、ゴマで90%、小豆で90%、雑穀米で95%であり、下限平均濃度はそれぞれ0.6、1.7、33.4、6.2 μg/kg/kgであった。小豆で最大103 μg/kg/kg 検出される試料が認められた。精米からは検出されなかった。

(2) T-2 トキシン (表2、図2)

麦類については、国産小麦、国産大麦共に10%で、下限平均濃度はそれぞれ0.04、0.1 μg/kg/kgであり、最大濃度は国産大麦の1.5 μg/kg/kgであった。麦類加工品については、ライ麦粉における検出率が15%、ハト麦加工品で40%、国産小麦粉で8.3%、輸入小麦粉で12%、グラノーラで40%、ビールで95%であり、下限平均濃度はそれぞれ0.2、1.0、0.02、0.02、0.3、0.03 μg/kg/kgであり、最大濃度はハト麦加工品の9.5 μg/kg/kgであった。

トウモロコシ加工品については、コーングリッツで検出率が25%、コーンフレークで6.7%であり、下限平均濃度はそれぞれ0.2、0.01 μg/kg/kgであり、最大濃度はコーングリッツの1.0 μg/kg/kgであった。

その他、ソバで検出率が8.3%、小豆で75%、雑穀米で35%であり、下限平均濃度はそれぞれ0.1、0.8、0.5 μg/kg/kgであった。雑穀米で最大4.4 μg/kg/kg 検出される試料が認められた。ゴマと精米からは検出されなかった。

(3) HT-2 トキシン (表3、図3)

麦類については、国産小麦で検出率が17.5%、国産大麦では10%であり、下限平均濃度はそれぞれ0.5、0.8 μg/kg/kgであり、最大濃度は国産大麦の7.9 μg/kg/kgであった。

麦類加工品については、ライ麦粉における検出率が60%であり、ハト麦加工品で50%、国産小麦粉で8.3%、輸入小麦粉で20%、グラノーラで40%、ビールで85%であり、下限平均濃度はそれぞれ1.7、1.4、0.1、0.3、1.0、0.2 μg/kg/kgであり、最大濃度はハト麦加工品の

10.3 µg/kg /kg であった。

トウモロコシ加工品については、コーングリッツで検出率が 15%、下限平均濃度は 0.2 µg/kg /kg、最大濃度は 1.4 µg/kg /kg であった。コーンフレークからは検出されなかった。

その他、ソバで検出率が 41.7%、小豆で 85%、雑穀米で 40%であり、下限平均濃度はそれぞれ 0.9、7.1、0.7 µg/kg /kg であった。小豆で最大 103 µg/kg /kg 検出される試料が認められた。ゴマと精米からは検出されなかった。

(4) T-2 トキシン及び HT-2 トキシン (表 4、図 4)

2001 年に行われた JECFA における毒性評価は、T-2 トキシン及び HT-2 トキシンの合計として一日耐容摂取量を規定している。そのため、本実態調査においても同様に合計汚染量を計算した。その結果、最も下限平均濃度が高かったのは小豆の 7.9 µg/kg /kg であり、その次がハト麦加工品の 2.3 µg/kg /kg であった。最大値は小豆の 104 µg/kg /kg であった。

D. 考察

本年度の実態調査において、ゼアラレノンについてはハト麦加工品、小豆及び雑穀米における汚染が他の試料よりも高かった。ハト麦加工品では 2010 年度から今年度まで毎年平均 8 ~ 18 µg/kg /kg の汚染が認められている。小豆では 2010 年度にはほとんど汚染が見られなかったが、2011 年度から今年度まで毎年平均 32 ~ 46 µg/kg /kg の汚染が認められている。雑穀米はハト麦加工品や小豆よりは汚染レベルは低いものの、2011 年度以降は毎年平均数 µg/kg /kg の汚染が認められている。

T-2 トキシンについてはゼアラレノンと同様にハト麦加工品、小豆及び雑穀米で他の試料よりも汚染が高かった。しかし 2012 年度にはハト麦加工品で平均 3.4 µg/kg /kg、小豆で平均 15.4 µg/kg /kg の汚染が認められており、今

年度の汚染レベルは低下していた。

HT-2 トキシンについては、小豆における汚染が他の試料よりも高かった。

T-2 と HT-2 の合算値については、小豆が最も高く、平均 7.9 µg/kg /kg、次いでハト麦加工品の平均 2.3 µg/kg /kg、ライ麦粉の平均 1.9 µg/kg /kg であった。小豆とハト麦加工品について年次変化はあるものの、他の試料よりも T-2、HT-2 汚染レベルが高いことがこれまでの実態調査結果からもわかっており、今後も調査を続ける必要がある。ライ麦粉については昨年度から調査を開始しており、昨年度は T-2 と HT-2 の合計が 150 µg/kg /kg 検出された試料があったため、今年度は調査数を増やした。今年度の結果では合計値が最も高いもので 10.1 µg/kg /kg と、昨年度ほど高い試料はなかったものの、平均汚染濃度は他の試料と比較した高いため、今度も調査を続ける必要がある。小麦粉については国産品を原料としたものと輸入品を原料としたものを区別して調査を行った。両者とも合計値の下限平均濃度は 0.5 µg/kg /kg 以下と低く、また最大値についても大きな差は認められなかった。ライ麦粉とハト麦加工品以外の麦類加工品では、グラノーラの汚染が平均 1.3 µg/kg /kg でライ麦粉に次いで高い傾向にあった。グラノーラは 2011 年度にも調査を行っており、合計値の平均が 2.3 µg/kg /kg であり、毎年一定レベルの汚染は認められている。今年度初めて調査を行ったソバについては、合計値の平均が 1.0 µg/kg /kg、最大値が 9.5 µg/kg /kg であり、国産の小麦や大麦の値を上回っていた。今年度は 12 検体のみの調査であったが、来年度以降は調査数を増やす必要がある。

海外における汚染実態については、2005 ~ 2010 年にかけてヨーロッパにおいて大規模な調査が実施され、その結果が公表されている。その調査では、22 ヶ国が参加し、麦類、トウモロコシ

類、コメやそれらの加工品、計 20519 サンプルが対象とされた。例えば小麦においては、計 4738 サンプルが調査され、検出率が 27%、T-2 と HT-2 の合算値の平均値が 4.9 (下限平均濃度) ~ 15 (上限平均濃度) $\mu\text{g}/\text{kg}$ / kg 、最大値が 1165 $\mu\text{g}/\text{kg}$ / kg という結果が報告されている。調査数が大きく異なるため比較は困難ではあるが、日本の食品における T-2、HT-2 汚染はヨーロッパよりも低い傾向が認められた。

E. 結論

今年度は、6 年間通年で 3 種のフザリウムトキシン (T-2 トキシン、HT-2 トキシン及びゼアラレノン) を測定する 4 年目となる。

毒性の高い T-2 トキシン及び HT-2 トキシンが今年度も小麦、大麦、麦類加工品で検出された。その他、ソバ、小豆、雑穀米からも検出されたが、全体的に昨年度よりも汚染レベルが低い傾向にあった。カビ毒の汚染には年次変化があることを踏まえ、汚染が認められる試料を重点的に調査していく必要性が示唆された。

F. 研究業績

【学会発表】

- 1) 吉成知也 : 日本の市販品におけるデオキシニバレノール、T-2 トキシン、HT-2 トキシン及びゼアラレノンの汚染実態。日本マイコトキシン学会第 73 回学術講演会 (2013.9)
- 2) 竹内浩、吉成知也、青山幸二、中島正博、谷口賢、橋口成喜、甲斐茂美、田端節子、田中敏嗣、佐藤孝史、松井好之、小木曾基樹、石黒瑛一、小西良子: 日本に流通する食品中の T-2 トキシン、HT-2 トキシンおよびゼアラレノンを対象とした 3 年間サーベイランス。第 106 回日本食品衛生学会学術講演会(2013.11)

G. 参考文献

- 1) European Food Safety Authority. (2011). T-2 and HT-2 toxins in food and feed. EFSA Journal, 9, 2481.

表 1 ゼアラレノンの汚染実態

試料名	調査数	検出率 (%)	LOD ($\mu\text{g/kg}$)	LOQ ($\mu\text{g/kg}$)	下限平均濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	上限平均濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	最大濃度 ($\mu\text{g/kg}$)
国産小麦	40	60.0	0.02	0.05	0.8	0.8	22.0
国産大麦	10	100	0.02	0.05	1.2	1.2	6.0
ライ麦粉	20	55.0	0.07	0.2	1.0	1.1	10.3
ハト麦加工品	20	70.0	0.05	0.2	15.3	15.3	170
小麦粉(国産小麦)	36	19.4	0.02	0.06	0.2	0.2	2.5
小麦粉(輸入小麦)	25	16.0	0.02	0.06	0.05	0.1	0.9
グラノーラ	10	30.0	0.1	0.3	0.5	0.6	1.6
ビール	20	10.0	0.01	0.02	0.007	0.02	0.1
コーングリッツ	20	30.0	0.1	0.3	0.5	0.6	2.4
コーンフレーク	15	53.3	0.02	0.05	0.5	0.5	2.3
ソバ	12	75.0	0.05	0.2	0.6	0.7	2.4
ゴマ	20	90.0	0.01	0.03	1.7	1.7	11.8
小豆	20	90.0	0.2	0.6	33.4	33.5	103
雑穀米	20	95.0	0.2	0.6	6.2	6.2	59.5
精米	10	0	0.6	2	0	0.6	-

表 2 T-2 トキシンの汚染実態

試料名	調査数	検出率 (%)	LOD ($\mu\text{g/kg}$)	LOQ ($\mu\text{g/kg}$)	下限平均濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	上限平均濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	最大濃度 ($\mu\text{g/kg}$)
国産小麦	40	10.0	0.02	0.07	0.04	0.06	0.7
国産大麦	10	10.0	0.02	0.07	0.1	0.2	1.5
ライ麦粉	20	15.0	0.07	0.2	0.2	0.3	1.7
ハト麦加工品	20	40.0	0.07	0.2	1.0	1.0	9.5
小麦粉(国産小麦)	36	8.3	0.03	0.1	0.02	0.05	0.4
小麦粉(輸入小麦)	25	12.0	0.03	0.1	0.02	0.05	0.3
グラノーラ	10	40.0	0.1	0.3	0.3	0.3	1.5
ビール	20	95.0	0.003	0.01	0.03	0.03	0.1
コーングリッツ	20	25.0	0.1	0.3	0.2	0.3	1.0
コーンフレーク	15	6.7	0.02	0.07	0.01	0.03	0.1
ソバ	12	8.3	0.07	0.2	0.1	0.2	1.2
ゴマ	20	0	0.02	0.05	0	0.02	-
小豆	20	75.0	0.04	0.1	0.8	0.9	4.2
雑穀米	20	35.0	0.04	0.1	0.5	0.5	4.4
精米	10	0	0.1	0.3	0	0.1	-

表3 HT-2 トキシンの汚染実態

試料名	調査数	検出率 (%)	LOD ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	LOQ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	下限平均濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	上限平均濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	最大濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
国産小麦	40	17.5	0.1	0.4	0.5	0.7	6.4
国産大麦	10	10.0	0.1	0.4	0.8	0.9	7.9
ライ麦粉	20	60.0	0.3	1	1.7	2.1	8.4
ハト麦加工品	20	50.0	0.1	0.3	1.4	1.5	10.3
小麦粉(国産小麦)	36	8.3	0.1	0.3	0.1	0.3	2.3
小麦粉(輸入小麦)	25	20.0	0.1	0.3	0.3	0.4	3.5
グラノーラ	10	40.0	0.4	1	1.0	1.2	5.2
ビール	20	85.0	0.02	0.05	0.2	0.2	0.6
コーングリッツ	20	15.0	0.4	1	0.2	0.5	1.4
コーンフレーク	15	0	0.1	0.4	0	0.1	-
ソバ	12	41.7	0.1	0.3	0.9	1.0	8.3
ゴマ	20	0	0.08	0.3	0	0.1	-
小豆	20	85.0	0.05	0.2	7.1	7.1	103
雑穀米	20	40.0	0.05	0.2	0.7	0.8	3.0
精米	10	0	1	4	0	1.0	-

表4 T-2 トキシンと HT-2 トキシンの合算値

試料名	調査数	下限平均濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	最大濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
国産小麦	40	0.6	7.1
国産大麦	10	0.9	9.3
ライ麦粉	20	1.9	10.1
ハト麦加工品	20	2.3	19.9
小麦粉(国産小麦)	36	0.2	2.4
小麦粉(輸入小麦)	25	0.4	3.7
グラノーラ	10	1.3	6.8
ビール	20	0.2	0.7
コーングリッツ	20	0.4	2.4
コーンフレーク	15	0.01	0.1
ソバ	12	1.0	9.5
ゴマ	20	0	0
小豆	20	7.9	104
雑穀米	20	1.2	7.3
精米	10	0	0

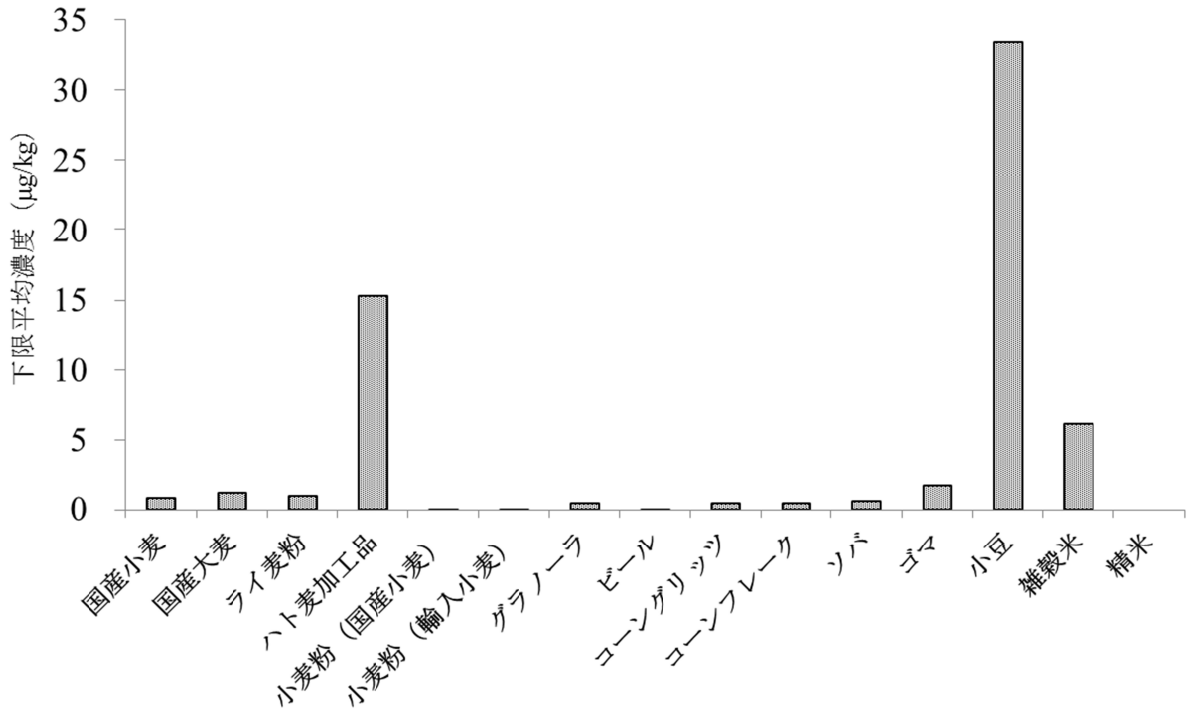


図1 ゼアラレノンの汚染実態

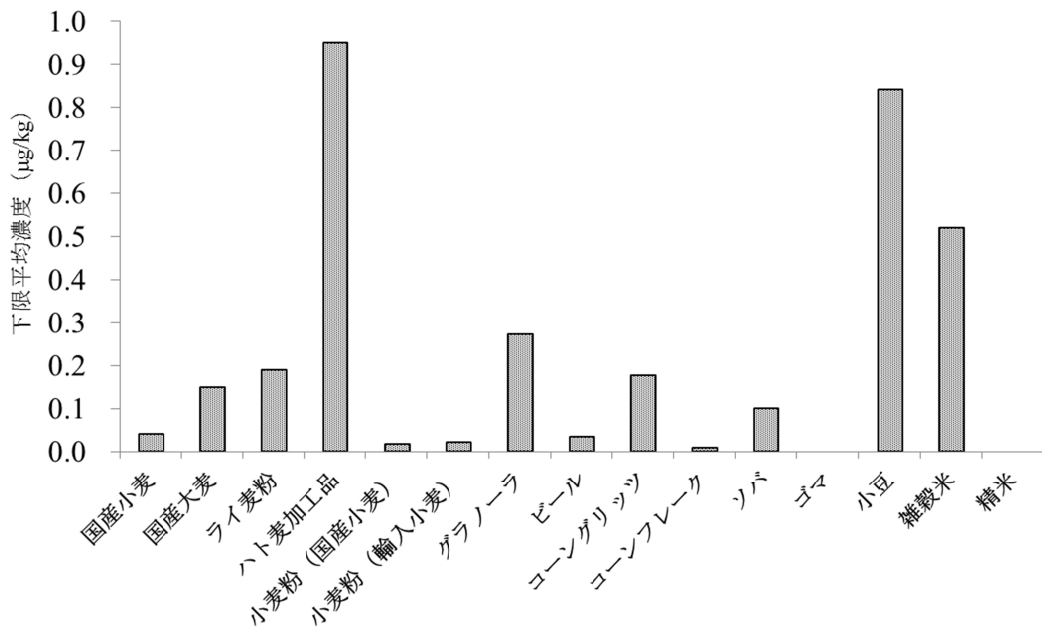


図2 T-2 トキシンの汚染実態

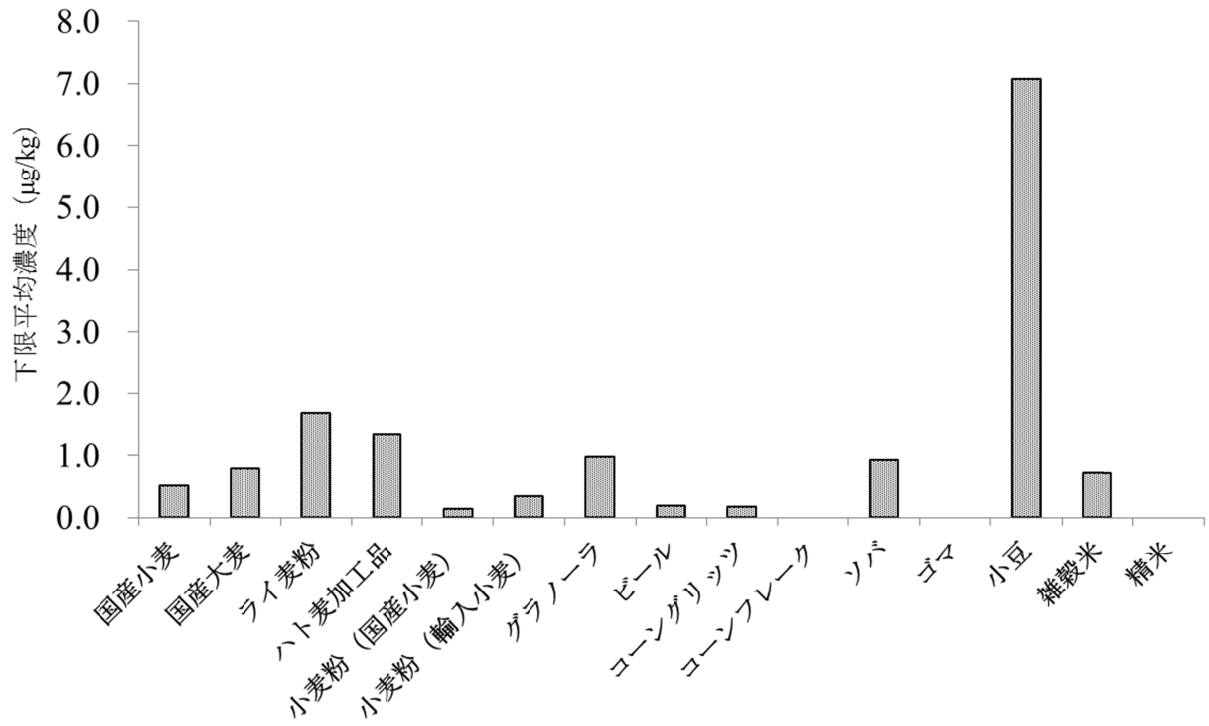


図3 HT-2 トキシンの汚染実態

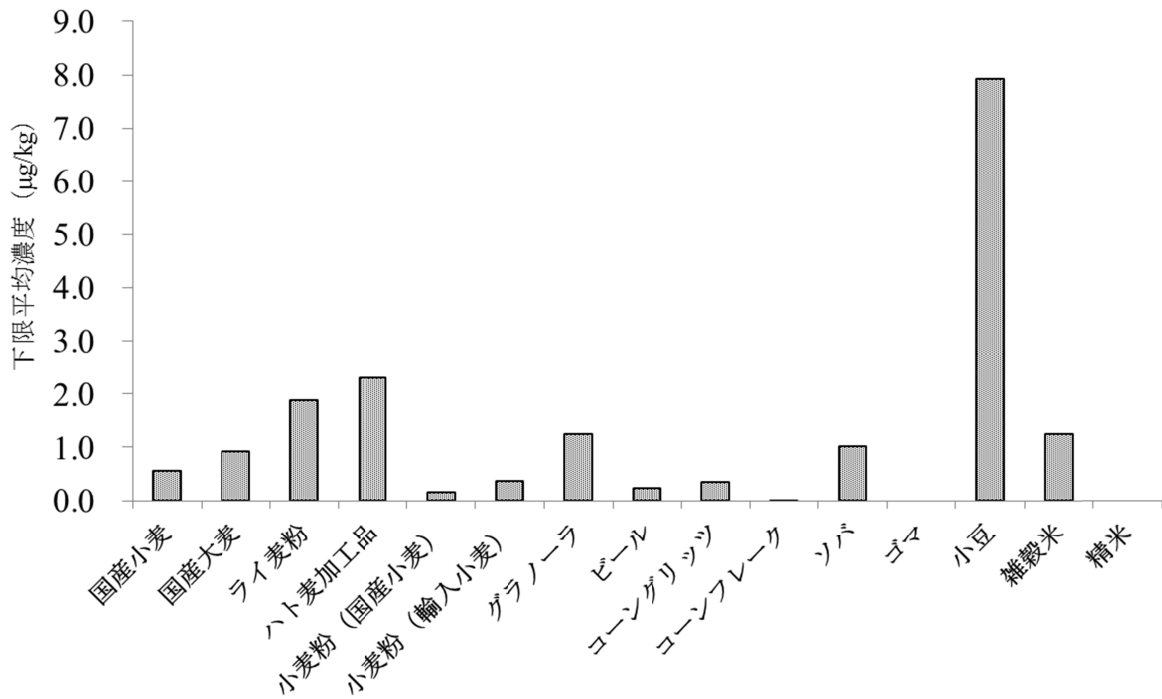


図4 T-2 トキシンとHT-2 トキシンの合算値