

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)

日本国内流通食品に検出される新興カビ毒の
安全性確保に関する研究

令和3年度 総括研究報告書

研究代表者 吉成 知也

令和4(2022)年3月

目 次

| | |
|---|-----|
| I. 総括研究報告 | |
| 日本国内流通食品に検出される新興カビ毒の安全性確保に関する研究 | --- |
| 吉成 知也 | 1 |
| II. 分担研究報告 | |
| 1. カビ毒の汚染実態調査 ----- | 13 |
| 吉成 知也 | |
| 2. 毒性試験（エンニアチン B のマウス薬物動態試験） ----- | 53 |
| 渋谷 淳 | |
| 3. ステリグマトシスチンの迅速簡易測定法の改良と実態調査への応用 ----- | 62 |
| 小西 良子 | |
| 4. 国内流通穀物におけるカビ毒複合汚染のリスク因子の解明 ---- | 75 |
| 渡辺 麻衣子 | |
| III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- | 92 |

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)

総括研究報告書

日本国内流通食品に検出される新興カビ毒の安全性確保に関する研究

研究代表者 吉成 知也 (国立医薬品食品衛生研究所)

研究要旨

カビ毒はカビが感染した農作物中に生産され、カビ毒に汚染された食品により、急性的な中毒症状や慢性的な摂取によるガンの発症などが引き起こされている。これまで厚生労働科学研究において、2001年より様々なカビ毒について日本に流通する食品における汚染実態や毒性に関する研究を行い、カビ毒に汚染された食品の摂取の低減を目的とした施策策定の科学的根拠となるデータを取得し、食の安全性確保に貢献してきた。

本研究事業では、3種のタイプAトリコテセン系カビ毒、ステリグマトシスチン (STC)、エンニアチン類 (ENs) 及びビューベリシン (BEA) を研究対象とした。2021年度の汚染実態調査では、タイプAトリコテセン系化合物については、7食品目計181検体の調査を行った結果、きな粉、ハト麦加工品、ライ麦粉及びそば粉において3種の化合物の合算値の平均が高い傾向にあった。BEAとENsについては、9食品目216検体の調査を行った結果、BEAの汚染濃度は、ハト麦加工品、きな粉及び雑穀で、ENsの汚染濃度は、ライ麦粉と小麦粉(国産)でその他の食品目より高い傾向にあった。STCについては、8食品目199検体の調査を行った結果、玄米とそば(乾麺)における平均値がその他の食品目より高い傾向にあった。毒性試験では、マウスにおけるエンニアチンBの薬物動態試験と肝臓の遺伝子発現解析を実施した。その結果、マウスにおける高い経口バイオアベイラビリティ(85.6%)が確認された。また、肝臓の遺伝子発現解析ではシトクロームP450をコードした遺伝子を含む、多くの代謝関連遺伝子の発現がENBの経口投与によって増加することが明らかになった。簡易分析法の開発では、STCのELISA系のさらなる高感度化と標準曲線の安定化を目標とし、系の改良を行った。試料の希釈法の変更と前処理法の導入により、安定した標準曲線と汚染実態に則した50%阻害濃度を得ることができた。複合汚染のリスク解明については、カビ毒汚染レベルの高いライ麦からその原因菌の探索を行った結果、国内産の検体からT-2トキシン、HT-2トキシン及び4,15-DASを同時に産生する*Fusarium sporotrichioides*、DON、3ADON及び15ADONを同時に産生する*Fusarium graminearum*及びENB産生能を有する*Fusarium avenaceum*が検出された。これらカビがライ麦における*Fusarium*トキシンの複合汚染の原因菌であることが示唆された。

A. 研究目的

カビ毒はカビが感染した農作物中に生産され、カビ毒に汚染された食品により、急性的な中毒症状や慢性的な摂取によるガンの発症などが引き起こされている。これまで厚生労働科学研究において、2001年より様々なカビ毒について日本に流通する食品における汚染実態や毒性に関する研究を行い、カビ毒に汚染された食品の摂取の低減を目的とした施策策定の科学的根拠となるデータを取得し、食の安全性確保に貢献してきた。

4,15-ジアセトキシシルペノール(4,15-DAS)については2016~18年の研究により分析法の確立とハト麦における汚染実態を明らかにした。一方、2017年に公表されたJECFAの評価結果においてT-2、HT-2トキシンのグループPMTDIに4,15-DASも組み入れられ、また2018年に公表されたEFSAの評価結果においてはコーヒーや大豆製品といったトリコテセン系カビ毒の汚染がこれまでほとんど報告されていない食品からの検出が報告された。このような背景を受け、T-2、HT-2、4,15-DASの一斉分析法を開発し、より広い範囲の食品を対象に調査を行う必要が考えられた。ステリグマトシスチン(STC)については3年間の研究により分析法の確立と小麦などの主要食品における汚染実態を明らかにした。日本人におけるばく露量推定を行うために、より多くの検体を対象とした汚染調査と分析の効率を向上させるため、かつ陰性検体の多いSTCと4,15-DASの調査を効率良く行うために簡易分析法の開発が必要と考えられた。これらの研究成果により、4,15-DAS、T-2トキシン及びHT-2トキシンの3種のタイプAトリコテセン系カビ毒とSTCについては2016~18年の結果と合わせ、6年間の汚染調査と日本人におけるばく露量の結果が得られ、それらは我が国における基準値策定の根拠として施策決定に直接貢献する。また、4,15-DASとSTCはJECFA

においてリスク評価が行われたものの、ヨーロッパ以外の地域における汚染実態の情報が不足しており、十分な評価がなされたとは言えない状況にある。そのため日本におけるそれらカビ毒の汚染実態の結果は今後JECFAにおいて再評価がなされる際に活用され、国際機関への貢献が可能となる。

本研究においては4,15-DASとSTCに加え、エンニアチン類(ENs)とビューベリシン(BEA)も研究対象に加える。ENsとBEAは新興カビ毒として近年関心が高まっており、欧州を中心に2000~2013年に1万試料を超える大規模な汚染実態調査が行われた。研究代表者が実施した日本に流通する小麦粉を対象とした予備調査(Food Addit Contam Part A,33,1620-26,2016)においては高濃度かつ高頻度でENsが検出されており、毒性や小麦粉以外の食品における汚染実態の情報の取得の必要性が高まっている。

このような背景を踏まえ、2019年度には①多機関共同試験により、タイプAトリコテセン系化合物3種の一斉分析法とENs5種の一斉分析法の妥当性の評価、②ENs、STC及びタイプAトリコテセン系化合物の汚染調査の予備検討、③STCの迅速簡易測定法の開発、④毒性試験に用いるためのエンニアチンBの大量調製、⑤マウスを用いたエンニアチン複合体の毒性試験を実施した。2020年度には、①妥当性を評価した分析法を用いてタイプAトリコテセン化合物、ENs及びSTCの汚染調査、②精製エンニアチンBを用いたマウス28日間反復経口投与毒性試験、③4,15-DASを認識する市販ELISAキットの探索、④ハト麦におけるカビ毒複合汚染のリスク解明を行った。2021年度には、①ばく露量推定のための汚染調査、②ENBの薬物動態試験、③STCのELISA系の改良と性能評価、④ハト麦とライ麦におけるカビ毒の複合汚染のリスク因子の解明を実施した。

B. 研究方法

(1) カビ毒の汚染調査

①タイプ A トリコテセン系化合物の分析法

各試料（ライ麦粉、ハト麦加工品、小麦粉（国産及び輸入）、きな粉、ゴマ及びビール）25 g に抽出溶媒アセトニトリル：水（85：15）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、それぞれの食品の中で汚染がないものを選び、5 µg/kg 又は 50 µg/kg となるようカビ毒を添加し、暗所に 1 時間放置した後抽出を行った。遠心分離（1410g、10 分間）により抽出液を分離した。

精製は多機能カラム（昭和電工社製 Autoprep MF-T 1500）を用いた。抽出液約 10 mL をカラムに入れ、最初の流出液 3 mL は捨て、次いで流出する約 2.4 mL を試験管に採った。その溶出液から 2.0 mL を別の試験管に正確にとり、窒素気流により乾固後、残渣をアセトニトリル：水（1：9）0.5 mL で溶解したものを試験溶液とした。試験溶液中のカビ毒を LC-MS/MS により定量した。

②STC の分析法

抽出は、各試料（玄米、小麦粉（国産及び輸入）、ハト麦加工品、ライ麦粉、インスタントコーヒー、レギュラーコーヒー、ドライフルーツ、きな粉及びゴマ）25 g に抽出溶媒アセトニトリル：水（85：15）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 STC の標準溶液を添加し（終濃度 0.5 又は 5.0 µg/kg）、暗所に 1 時間放置した後抽出を行った。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（IAC、堀場製作所社製 AFLAKING）を用いた。抽出液 5.0 mL をピペッターで 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。インスタントコー

ヒーについては、抽出液 1.0 mL をピペッターで 100 mL のメスフラスコにとり、PBS で 100 mL にメスアップした。希釈液 20 mL を IAC に添加し、PBS 10 mL と蒸留水 10 mL で洗浄後、アセトニトリル 3 mL で溶出した。溶出液を窒素気流により乾固後、残渣をアセトニトリル 0.5 mL で溶解後、さらに蒸留水 0.5 mL を加えてから混合したものを試験溶液とした。試験溶液中のカビ毒を LC-MS/MS により定量した。

③BEA と ENs の汚染実態調査

エンニアチン A（ENA）、エンニアチン A1（ENA1）、エンニアチン B（ENB）、エンニアチン B1（ENB1）及びビューベリシン（BEA）の抽出は、各試料（玄米、小麦粉（国産及び輸入）、そば（乾麺）、ビスケット、スパゲッティ、うどん（乾麺）及びパン粉）20 g に抽出溶媒アセトニトリル：水（85：15）200 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試料中のカビ毒濃度が 25、100 又は 500 µg/kg となるよう標準品を添加し、暗所に 1 時間放置した後抽出を行った。遠心分離（1410g、10 分間）により抽出液を分離した。

抽出液 400 µL に精製水 800 µL を加えて希釈し、遠心分離を行った。メタノール 3 mL と精製水 3 mL で平衡化した C18 カートリッジ（Waters 社製 SepPak Vac C18 200 mg）に希釈液 900 µL を供した後、10%アセトニトリル水溶液 3 mL と 50%アセトニトリル水溶液 3 mL で洗浄後、90%アセトニトリル水溶液 1.5 mL で溶出したものを試験溶液とした。試験溶液中のカビ毒を LC-MS/MS により定量した。

(2) ENB の薬物代謝試験

①動物実験

群構成は溶媒対照群（5 匹）、ENB 30 mg/kg-経口投与群（10 匹）及び ENB 1 mg/kg-静脈内投与群（10 匹）の 3 群構成とした。6 週齢の雄

性マウスに ENB を経口又は尾静脈内投与し、血中 ENB 濃度測定のために各時点において血液を採取した。また、糞中 ENB 濃度測定のために、一定期間に各群 5 匹の糞を採材した。投与から 2 時間後には各群 5 匹を剖検に供し、肝臓 (約 30 mg/サンプル) を採材して遺伝子発現解析に用いた。肝臓サンプルは、直ちに液体窒素で凍結し、total RNA 抽出まで -80°C で保存した。

②血中 ENB 濃度の測定

採血は ENB 投与前及び投与から 5、30 分、2 時間後、もしくは 10 分、1、4、8、24 時間後に各群 5 匹ずつの PARTIAL サンプルングを実施した。各時点で顔面静脈にアニマルランセットを穿刺し、EDTA-2K 抗凝固処理済みの採血管を用いて、約 50-70 μL 採血した。採取した血液はチューブに移して速やかに氷冷し、遠心分離 ($9,000\times\text{g}$ 、2 分、約 4°C) して上清 (血漿) を新しいチューブに約 10-20 μL 採取した。血漿は移管まで -80°C フリーザーにて凍結保存した。

血漿は 85%アセトニトリルによる抽出及び C18 カートリッジによる精製を実施した後、高速液体クロマトグラフ-質量分析計

(LC-MS/MS) によって ENB 濃度を測定した。

③糞中 ENB 濃度測定

溶媒対照群で投与時~2 時間後、他 2 群で投与から 4 時間後~8 時間後及び 8 時間後~24 時間後の間に排泄された全ての糞を対象とした。採取した糞は重量を測定し、チューブに移して -80°C フリーザーにて凍結保存した。

抽出については、チューブに 85%アセトニトリルを添加した後、チューブ内で糞をよく破碎し、遠心後 ($9,000\times\text{g}$ 、2 分、約 4°C)、上清の試験溶液を回収した。次いで、C18 カートリッジを用いて精製し、LC-MS/MS によって ENB 濃度を測定した。

④遺伝子発現解析

ENB による代謝関連遺伝子の転写レベルの発現変化を検出するために、溶媒対照群と経口投与群の肝臓サンプルを用いて遺伝子発現解析を行った。組織試料から total RNA を抽出した後、サンプル調製を行い、配列決定には Illumina NovaSeq 6000 を用いた。溶媒対照群と比較して Fold Change (絶対値) ≥ 2 かつ p-value < 0.05 で発現量が増加または減少している遺伝子を選別し、Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID), version 6.8 により Gene Ontology (GO) に基づくエンリッチメント解析を行った。

(3) STC の簡易測定法の開発

96 穴プレートの各ウェルにリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) で希釈したマウス抗 IgG ヤギ抗体 (4 $\mu\text{g}/\text{mL}$) を 100 μL ずつ加え、 4°C で一晩静置した。抗体を除いた後、PBS に溶解した 0.4%ウシ血清アルブミン (BSA) を各ウェルに 300 μL ずつ加え、 4°C で一晩または室温で 1 時間静置した。0.4% BSA を除いた後、各ウェルに PBS に溶解した 0.2% BSA で希釈したマウス抗 AF 抗体 (100 ng/mL) を 100 μL ずつ加え、室温で 1 時間静置した。静置後 0.02% Tween 20-PBS で 1 回洗浄を行い、45 μL ずつ 0.2% BSA を各ウェルにいれ、STC 標準品を最終濃度で 0.1~30 ng/mL (6 段階) になるように 100%メタノールで 10 倍濃度に溶解したものを 5 μL ずつ加えよく攪拌した。さらに各ウェルに AFB2-HRP (最終濃度 150 ng/mL) を 50 μL ずつ加え一時間静置し競合反応させた。その後 0.02% Tween 20-PBS で 3 回洗浄を行い、TMB Substrate Reagent を 100 μL ずつ加え、10 分間静置した。0.5 N H_2SO_4 を 100 μL ずつ加え反応を止め、マイクロプレートリーダーで 450 nm および 630 nm における吸光度を測定した。

(4) ハト麦におけるカビ毒複合汚染のリスク

解明

①試料からの *Fusarium* 属菌株の分離

Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol 寒天培地 (DRBC 寒天培地、Difco) 平板上に、供試したハト麦及びライ麦を 1 枚のプレートに 5 粒ずつ計 50 粒を置き、25°C で 7 日間培養した。この際、事前に 70%エタノールで 30 秒間洗浄し、食品表面に付着した真菌を除いてから培養に供した。培養後、生育したコロニーを目視によって観察し、*Fusarium* 属様コロニーをポテトデキストロース寒天 (PDA、栄研化学) 平板培地に釣菌して分離した後、25°C で 1~2 週間培養した。

②分離された *Fusarium* 属菌株の同定

PDA 平板上に生育したコロニーの色調等性状を目視で観察した。さらにカーネーションリーフ・アガー培地に接種し 25°C で 7 日間培養後、プレパラートを作製して顕鏡し、孢子形状、孢子形成様式等を観察した。また、分離菌株体を 2 mL マイクロチューブに入れたポテトデキストロース液体培地 (PDB) 1 mL に接種し、25°C で 2 日間培養後、得られた菌体から Maxwell RSC Plant DNA Kit (プロメガ株式会社) で DNA を抽出した。これを用いて β -tubulin および EF-1 α 遺伝子の PCR 及びシーケンスを行った。得られた形態学的特徴及び遺伝子塩基配列の解析結果を参照し、菌種の同定を行った。分離株は PDA 斜面培地に接種して 25°C で 7 日間前培養し、4°C で保存した。

③分離された *Fusarium* 属菌株のトリコテセン系カビ毒産生性の検討

同定した *Fusarium* 属菌株について、トリコテセン系カビ毒の産生能を持つ菌種であった場合、タイプ A 及びタイプ B トリコテセンの産生量を調査した。前培養として角田培地に PDA 斜面培地で生育した菌体を接種して振盪培養で 25°C 1 日間培養した。この培養液を 200 mL 三角フラスコに入れた角田培地 30 mL に 100 μ L

接種し、25°C で 7 日間静置培養した。その培養液 500 μ L の酢酸エチル抽出物を 200 μ L のメタノールで溶解したものを、50%メタノールを用いて 100~10,000 倍に適宜希釈し、LC-MS/MS によって T-2 トキシン、HT-2 トキシン、4,15-DAS、DON、NIV、3ADON、15ADON 及び ENB の測定を行った。

C. 研究結果

(1) カビ毒の汚染調査

①タイプ A トリコテセン系化合物

7 食品目計 181 検体の調査を行った。4,15-DAS は、小麦粉 (国産)、ハト麦加工品、きな粉、そば粉及びゴマから検出され、陽性率については、ハト麦加工品の 35% が最も高く、それ以外の食品ではいずれも 20% 未満であった。平均値については、ハト麦加工品の 3.1 μ g/kg が最も高く、次いできな粉の 0.05 μ g/kg であった。最大濃度は、ハト麦加工品における 16.1 μ g/kg であった。

T-2 トキシンは、小麦粉 (輸入)、小麦粉 (国産)、ライ麦粉、ハト麦加工品、きな粉、そば粉及びあんこから検出された。陽性率については、そば粉の 90% が最も高く、次いできな粉の 73%、ライ麦粉の 57% であり、その他の食品では 30% 以下であった。平均濃度はきな粉の 2.1 μ g/kg が最も高く、次いでハト麦加工品の 1.4 μ g/kg であった。最大濃度はきな粉における 32.0 μ g/kg であった。

HT-2 トキシンは、T-2 トキシンと同じ食品種から検出された。ライ麦粉の陽性率 73% が最も高く、次いでそば粉で 70%、きな粉で 67%、あんこで 33% であり、その他の食品では 30% 以下であった。きな粉の平均濃度 5.2 μ g/kg が最も高く、次いでライ麦粉で 2.7 μ g/kg、ハト麦加工品で 1.9 μ g/kg であった最大濃度はきな粉における 62.4 μ g/kg であった。

3 種のタイプ A トリコテセン系化合物の合算

値について、平均濃度はきな粉の 7.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ が最も高く、次いでハト麦加工品の 6.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、ライ麦粉の 3.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、そば粉の 2.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であり、小麦粉、ゴマやあんこよりも高い傾向にあった。最大濃度はきな粉における 95.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。

②BEA と ENs

9 食品目 216 検体の調査を行った。BEA については、小麦粉（国産）、小麦粉（輸入）、ライ麦粉、ハト麦加工品、米、そば粉、雑穀、きな粉及びゴマから検出された。陽性率が最も高かったのはハト麦加工品の 92.3%で、次いできな粉で 60.0%であり、その他の食品では 40%以下であった。きな粉の平均濃度 9.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ が最も高く、次いでハト麦加工品で 6.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、雑穀で 4.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、ゴマの 3.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。最大濃度は、ハト麦加工品における 62.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。ENs は小麦粉（国産）、小麦粉（輸入）、ライ麦粉、ハト麦加工品、米、そば粉、雑穀、きな粉及びコーヒー豆から検出された。これらの食品においては、4 種の ENs のうち、ENB の汚染レベルが最も高く、次いで ENB1、ENA1、ENA の順であった。ENB の陽性率が最も高かったのは小麦粉（国産）（95%）で、次いでライ麦粉（80%）、小麦粉（輸入）（70%）、きな粉（55%）で、その他の食品目では 15%以下であった。ライ麦粉の平均濃度 254.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ が最も高く、次いで小麦粉（国産）の 58.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であり、その他の食品目より高い傾向にあった。最大濃度は、ライ麦粉における 3,697 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。

③STC

8 食品目 199 検体の調査を行った。米と小麦加工品である小麦粉（国産）、そば（乾麺）、ビスケット、スパゲッティ、うどん（乾麺）、食パン及びインスタントラーメンから STC が検出された。陽性率が最も高かったのは玄米（95%）で、次いでそば（乾麺）（83%）であり、その他の食品目では 50%以下であった。平均濃度については、玄米の 0.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ が最も高く、次いでそ

ば（乾麺）の 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。最大濃度は、玄米における 5.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。

（2）ENB の薬物代謝試験

①ENB の薬物動態

糞中の ENB 濃度については、経口投与群において、ENB 投与量の平均 5.26%の ENB が検出された。尾静脈内投与群ではごく微量の ENB が検出されるのみであった。各時点の平均濃度に基づいて、薬物動態パラメータを算出した。経口投与群において、 C_{max} は 1024 ng/mL 、 t_{max} は投与後 1 時間、AUC は 6008 $\text{ng}\cdot\text{hr}/\text{mL}$ と算出された。尾静脈内投与群における AUC は 234 $\text{ng}\cdot\text{hr}/\text{mL}$ と算出された。投与用量は経口投与群が 30 mg/kg 、尾静脈内投与群が 1 mg/kg であるが、線形動態に従い、AUC が投与量に比例して増加すると仮定した場合、バイオアベイラビリティは 85.6%と推定された。

②RNA-Seq 解析

経口投与群では、溶媒対照群と比較して、553 遺伝子の発現が増加した。発現が増加した遺伝子の GO term に基づいたエンリッチメント解析では、有機物、窒素化合物及び薬物等に対する反応や、代謝プロセスの制御に関連した GO が濃縮された。発現が増加した遺伝子群には、シトクローム P450 をコードする遺伝子が多く含まれていた（*Cyp1b1*、*Cyp2a5*、*Cyp2b10*、*Cyp2a12*、*Cyp7a1*、*Cyp21a1*、*Cyp26a1*）。

（3）STC の簡易測定法の開発

玄米で添加回収試験を行った回収率の平均と標準偏差は 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ STC 添加では 103.8 \pm 11.1%、6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ STC 添加では 91.7 \pm 17.5%、20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ STC 添加では 117.6 \pm 17.5%といずれも 90%以上という高水準を示した。汚染玄米を用いた測定結果では 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 付近の汚染米でも

LC-MS/MS での測定値とほぼ同等であり、5.67 µg/kg の汚染濃度の玄米ではやや高めに出たものの、スクリーニングとしては充分信頼性のおける結果が得られることがわかった。小麦粉では自然汚染試料がなかったことから、添加回収率のみの測定であったが、6 回の試験の回収率の平均値と標準偏差は 2 µg/kg STC 添加では 85.4±26.4%、6 µg/kg STC 添加では 91.8±16.0%、20 µg/kg STC 添加では 106.7±8.2%であった。

(4) ハト麦とライ麦におけるカビ毒複合汚染のリスク解明

タイプ A トリコテセン系化合物の検出量が多かった又は特徴的であったハトムギ 7 検体及びライムギ 3 検体を用いて *Fusarium* 属菌の分離を試みた。その結果、ハトムギからは計 42 株、ライムギからは計 30 株の *Fusarium* 属菌がそれぞれ分離された。これらの分離株を培養し、培養液中の T-2 トキシン、HT-2 トキシン、4,15-DAS、DON、NIV、3ADON、15ADON 及び ENB を測定し、いずれか 1 種類以上のカビ毒の産生性が認められた分離株については、同定を行った。輸入ハト麦からはタイプ A トリコテセン系化合物の産生菌の *Fusarium incarnatum* のみが 2 株検出され、これらの株は 4,15-DAS の産生性のみを有した。国内産ハト麦からはタイプ A トリコテセン系化合物の産生菌の *Fusarium armeniacum*、*Fusarium sporotrichioides* 及び *F. incarnatum* が検出され、*F. armeniacum* は T-2 トキシン及び 4,15-DAS を、*F. sporotrichioides* は T-2 トキシン、HT-2 トキシン及び 4,15-DAS をそれぞれ同時に産生した。*F. incarnatum* は T-2 トキシン又は 4,15-DAS のどちらかのみを産生する菌株が検出された。タイプ B トリコテセン系化合物及び ENB の産生能を有する菌株は分離されなかった。ライ麦試料では、国内産の 1 検体から

のみ *Fusarium* 属菌を分離することができた。タイプ A トリコテセン系化合物の産生菌の *F. sporotrichioides* が 8 株検出され、これらの株は T-2 トキシン、HT-2 トキシン及び 4,15-DAS を同時に産生した。またタイプ B トリコテセン系化合物の産生菌の *Fusarium graminearum* が 2 株検出され、これらの株は DON、3ADON 及び 15ADON を同時に産生した。さらに ENB 産生能を有する *F. avenaceum* が 9 株検出された。

D. 考察

(1) カビ毒の汚染調査

①タイプ A トリコテセン系化合物

3 年間通じて調査を行った食品目のうち、ライ麦粉とハト麦加工品で 3 種の化合物合算値が高い傾向にあった。2019、2020 及び 2021 年度におけるライ麦粉での合算値の平均は、2.3、1.7 及び 3.3 µg/kg、ハト麦加工品では、10.3、10.4 及び 6.3 µg/kg と 3 年間を通じて汚染が認められた。小麦粉については、3 年間を通じて国産品の方が輸入品よりも汚染レベルが高く、国産品における合算値の平均は、0.3、2.0 及び 0.5 µg/kg、輸入品では 0.04、0.5 及び 0.3 µg/kg と推移した。小麦加工品よりもライ麦粉やハト麦加工品における汚染レベルが高いものの、日本人における摂取量については、小麦加工品の方が圧倒的に多いことから、ばく露量の推定は小麦粉の結果を用いて行うこととした。昨年度から調査を開始したきな粉については、今年度も汚染が認められ、今年度の検体の合算値の平均値は、ライ麦粉やハト麦加工品を上回っていた。きな粉の摂取量も小麦加工品と比較すると極めて少ないが、子供から大人まで幅広い年齢層により直接消費される食品であることから、高濃度汚染検体による突発的な食中毒事故の発生の懸念がある。そのため、今後もタイプ A トリコテセン系化合物汚染の調査を行っていく必要があると考える。一方で、今年度から調査を開始し

たあんこの汚染レベルは、他の食品目よりも低かった。2010～2015 年度に実施されたフザリウムトキシンの汚染調査の結果において、小豆ではハト麦加工品を上回る T-2 トキシンと HT-2 トキシンの汚染が認められていた。小豆の加工品であるあんこでそれらカビ毒の汚染レベルが低かった原因は、加工過程による減衰又は小豆のカビ毒汚染の年次変動と推定される。4,15-DAS については、2021 年度まで 6 年間通して汚染調査を行ったが、ハト麦加工品以外で汚染レベルの高い食品目は認められなかった。2018 年に EFSA が公開した評価書において、ヨーロッパにおける 4,15-DAS の汚染調査結果がとりまとめられているが、汚染レベルが高い食品目は、一部の地方の小麦、ソルガムやオーツ麦と限られていた⁵⁾。幅広い食品目から検出される T-2 トキシン、HT-2 トキシンとは汚染原因菌や汚染が生じる環境が大きく異なると考えらえる。

②BEA と ENs

BEA については、コーヒー豆以外の食品目から検出され、その中でも特にきな粉、ハト麦加工品、雑穀及びゴマの汚染レベルが高かった。雑穀の中では、黒米と赤米で汚染が認められた。ただ、主食である小麦や米における汚染レベルは、ENs よりも非常に低いことから、日本人の健康に対する影響を考える上で ENs の方が重要と考えられた。小麦粉やライ麦粉では ENs の汚染が、ハト麦加工品やきな粉では BEA の汚染レベルの方が高いことから、BEA と ENs の汚染原因菌や汚染が生じる環境は異なると考えられた。ENs についても BEA と同様に様々な食品目からの検出が認められたが、特に小麦粉(国産)とライ麦粉において汚染レベルが高かった。ライ麦粉の方が小麦粉よりも汚染レベルは高いが、日本人における摂取量は小麦加工品の方が圧倒的に多いことから、ばく露量推定は小麦粉の結果を用いることとした。昨年度のライ麦粉

検体において、ENB が約 50,000 µg/kg 検出された検体が 2 件認められた。今年度の検体では約 4,000、1,500 及び 1,000 µg/kg 検出された検体がそれぞれ 1 件認められた。これらは全て北海道産であることから、ENs の高汚染が生じる環境が定常的に存在していると考えられた。

ヨーロッパで実施された汚染調査では、コーヒー豆から BEA や高濃度の ENs が検出されていたため、今年度にコーヒー豆の調査を実施したが、いずれのカビ毒も検出されなかった。コーヒー豆における BEA や ENs の汚染は限られた地域における現象である可能性が考えられた。

③STC

2019 年度及び 2020 年度に続き、玄米と小麦加工品を対象に調査を行った。玄米において、5.7 µg/kg とこれまでの調査の結果と比較して非常に高い値の検体が認められた。小麦加工品の中では、そば(乾麺)の汚染レベルが小麦粉よりも高く、この傾向は 3 年間続いた。スパゲッティにおいて、うどん(乾麺)やインスタントラーメンでは認められなかった高い濃度(0.8 µg/kg)で汚染が生じている検体が認められた。スパゲッティの原料であるデュラム小麦で STC 汚染が生じている可能性が考えられた。STC の汚染調査は 2016 年度より行っており、玄米からは毎年高頻度で STC が検出されたが、精米からは検出限界以上の濃度で検出された検体は認められなかった。玄米の摂取量は、精米と比較すると非常に低いいため、STC の日本人におけるばく露量推定には考慮にいれず、小麦加工品のみで推定することとした。

(2) ENB の薬物代謝試験

薬物代謝試験の結果では、マウスにおける高い経口バイオアベイラビリティ(85.6%)が確認された。経口投与群の糞中には ENB が検出されたが、ENB 投与量の平均 5.3%であった。また、肝臓の遺伝子発現解析ではシトクローム

P450 をコードした遺伝子を含む、多くの代謝関連遺伝子の発現が ENB の経口投与によって増加することが明らかになった。したがって、ENB がマウスの経口投与によって十分に吸収され、肝臓における代謝を受けた可能性が示唆された。全身循環前の代謝 (presystemic metabolism) の存在や ATP Binding Cassette トランスポートの発現が吸収に影響を与えることから、ENB は個体及び動物種ごとに異なる複雑な動態を示す可能性があることが指摘されている。本試験と相反して、ブロイラーにおける ENB の経口投与後の低い吸収性が報告されているが、上記のような種差や生体内変化の違いが影響している可能性が考えられる。

(3) STC の簡易測定法の開発

本研究の初年度に開発した STC 用 ELISA では、測定可能範囲は 0.59~13.34 ng/mL であり、IC₅₀ は 2.3 ng/mL であった。今年度改良した結果、測定可能範囲は 0.1~10.0 ng/mL、IC₅₀ は 1.2 ng/mL となり、より高感度の系を確立することができた。汚染実態調査で検出された試料を使った実態調査への応用においても、1.17 µg/kg の STC 汚染玄米から ELISA で検出されたことは実用化に向けて大きな進歩である。

前処理については先行研究において、QuEChERS 法を用いて前処理法が用いられた。本研究では、QuEChERS より工程数の少ない Autoprep MF-A 多機能カラム法を用いて良好な結果が得られた。STC は 85%アセトニトリルで抽出するが、ウェルに添加するときには 10%メタノール溶液を使用することから玄米、小麦粉の成分が混入する可能性は非常に高い。Autoprep MF-A 多機能カラムは、試料の 85%アセトニトリル抽出液から AF を選択する one step カラムとして開発されたものである。STC の精製にも有効であること、玄米、小麦粉の不純物の除去にも使用できることは、本研究で初

めて実証された。

(4) ハト麦、ライ麦におけるカビ毒複合汚染のリスク解明

タイプ A トリコテセン系化合物である T-2 トキシン、HT-2 トキシン、4,15-DAS の複合汚染の原因菌は、海外産ハト麦においては *F. incarnatum*、国内産ハト麦及びライ麦においては *F. sporotrichioides* 及び *F. armeniacum* である可能性が示された。ハト麦においては 2 年間の調査によって年をまたいで再現性があることも確認された。ハト麦、ライ麦試料中のタイプ A トリコテセン系化合物の汚染プロファイルの差異と、これらの検出された *Fusarium* 属菌の種類は関連していると考えられ、この菌種の違いがそれぞれの穀類の *Fusarium* トキシン汚染のリスク因子の一端となっている可能性が示唆された。

E. 結論

実態調査に関して、タイプ A トリコテセン系化合物については、7 食品目計 181 検体の調査を行った結果、小麦粉 (国産)、ハト麦加工品、ライ麦粉、きな粉及びそば粉における汚染レベルが高い傾向にあった。BEA と ENs については、9 食品目 216 検体の調査を行った結果、BEA はハト麦加工品、ENs は小麦粉とライ麦粉で汚染が主に認められ、検出される食品目が異なっていた。特に北海道産のライ麦粉において mg/kg オーダーで ENB が検出される検体が認められ、ENs の高汚染が起きる環境が日本に存在することが明らかになった。STC については、7 食品目 164 検体の調査を行った結果、玄米とそば粉において、他の食品目より高い汚染が認められた。日本人における各食品目の摂取量を踏まえ、3 年間で得られた小麦粉の汚染調査結果を用いて、日本人におけるタイプ A トリコテセン化合物、ENs 及び STC のばく露量を推定

することとした。

ENsの毒性に関して、2019年度にはENs混合物(B、B1、A1)の、2020年度にはENB単体の28日間反復経口投与試験を実施したが、いずれも明らかな毒性は検出されなかった。本年度の結果から、マウスでは経口投与によりENBが十分に吸収されることが明らかになったことから、ENBの毒性が当初の想定と比較して低い可能性がある。以上より、ENBは経口投与により吸収されるものの、一般毒性は今回用いた用量より高い用量で出現するものと考えられた。

STCの簡易測定法に関して、本年度改良したELISA法は、測定可能範囲は0.1~10.0 ng/mLであり、IC₅₀は1.2 ng/mLであった。玄米、小麦粉とも2.0 µg/kg以上では90%以上(小麦粉85%以上)の回収率を示し、汚染玄米を用いた測定でもLC-MS/MSとの相関性が取れていることが明らかになった。このことから、国産玄米および小麦粉のSTC汚染食品のスクリーニングには充分に対応できる方法であると考えられた。

ライ麦、ハト麦におけるカビ毒の複合汚染のリスク因子については、生産地によって、*Aspergillus*トキシン及び*Fusarium*トキシンの汚染状況、及び汚染原因菌の種類に偏りが存在することが明らかとなった。今後、これらの偏りが生じる原因とメカニズムを解明し、汚染を軽減させるための研究を実施する必要がある。

F. 研究業績

【論文発表】

1) Takashima, K., Nakajima, K., Shimizu, S., Ojiro, R., Tang, Q., Okano, H., Takahashi, Y., Ozawa, S., Jin, M., Yoshinari, T., Yoshida, T., Sugita-Konishi, Y., Shibutani, M.: Disruption of postnatal neurogenesis and adult-stage suppression of synaptic plasticity in the hippocampal dentate gyrus after developmental exposure to sterigmatocystin

in rats. *Toxicol. Lett.* 2021;349:69–83.

2) Okano, H., Okamura, T., Takahashi, Y., Takashima, K., Ojiro, R., Tang, Q., Jin, M., Kikuchi, S., Ogawa, B., Yoshida, T., Yoshinari, T., Shibutani, M.: A 28-day repeated oral dose toxicity study of enniatin complex in mice. *J. Toxicol. Sci.* 2021;46(4):157-165.

3) Hashimoto K, Kawakami Y, Hashimoto R, Kitaoka Y, Onji Y, Oda H, Watanabe M, Takahashi H, Yokoyama K. Distribution of *Aspergillus section Nigri* at shochu fermenting places in Japan. *Journal of the Air & Waste Management Association.* 2021;24:1-8.

【学会発表】

1) 第117回日本食品衛生学会学術講演会、2021年10月26日~11月9日「市販ELISA kitによるタイプAトリコテセン系カビ毒の迅速簡易測定法の検討について」

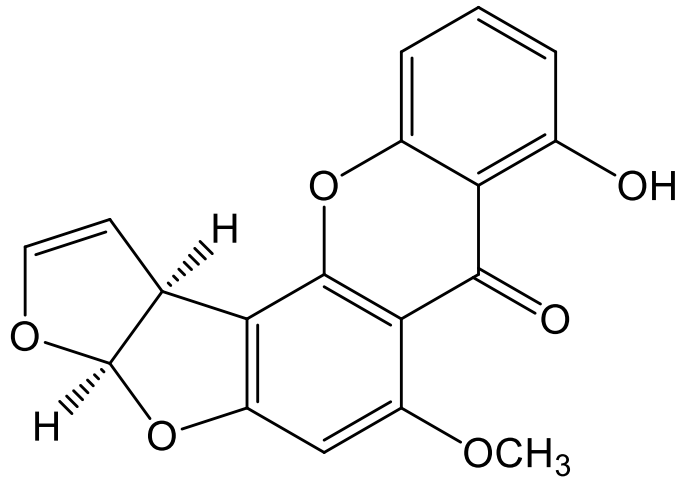
2) 第58回全国衛生化学技術協議会年会、2021年11月25日~26日「食品中のタイプAトリコテセン系カビ毒の同時分析法の妥当性の検証及び汚染実態調査について」

3) 日本マイコトキシン学会第87回学術講演会、2022年1月7日「ライ麦から分離されたフザリウム属菌が生産する新興カビ毒の同定及び分析法の開発について」

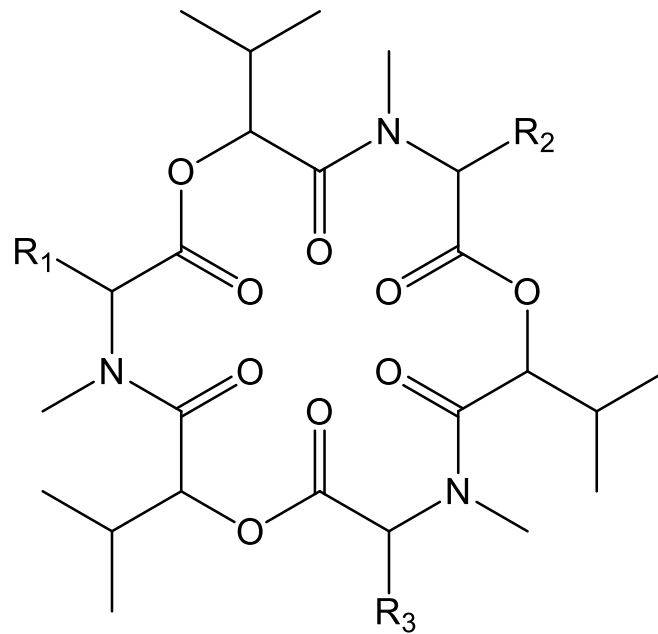
4) 日本マイコトキシン学会第87回学術講演会、2022年1月7日「国内流通ハトムギにおけるカビ毒汚染実態およびトリコテセン系カビ毒産生*Fusarium*属菌の分布調査について」

G. 健康危険情報

なし

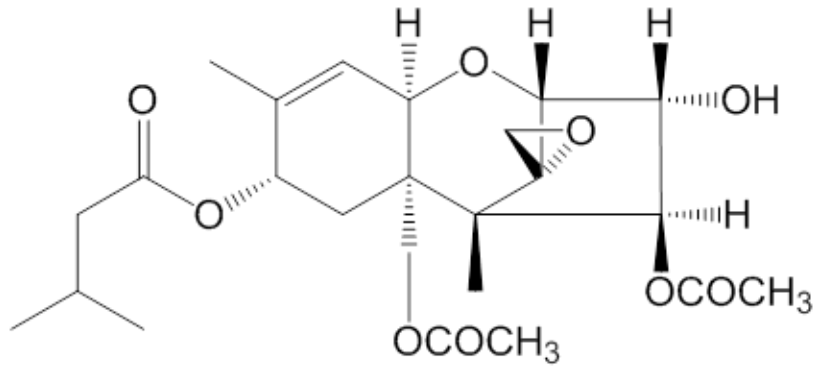


ステリグマトシスチン

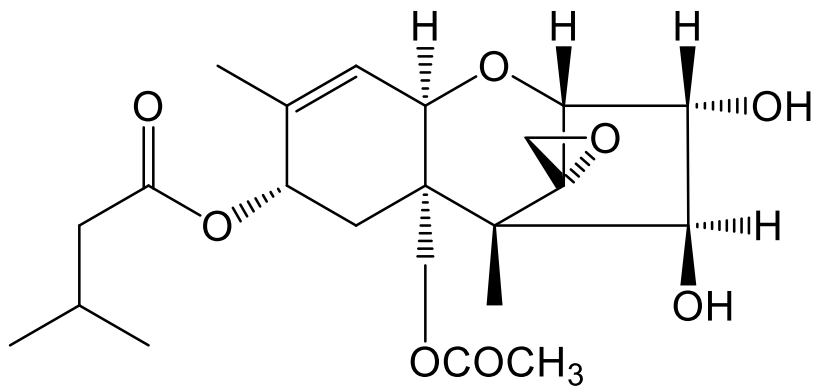


| | R ₁ | R ₂ | R ₃ |
|----------------------|--|--|--|
| ビューベリシン | -CH ₂ C ₆ H ₅ | -CH ₂ C ₆ H ₅ | -CH ₂ C ₆ H ₅ |
| エンニアチンA | -CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃ | -CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃ | -CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃ |
| エンニアチンA ₁ | -CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃ | -CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃ | -CH(CH ₃) ₂ |
| エンニアチンB | -CH(CH ₃) ₂ | -CH(CH ₃) ₂ | -CH(CH ₃) ₂ |
| エンニアチンB ₁ | -CH(CH ₃) ₂ | -CH(CH ₃) ₂ | -CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃ |

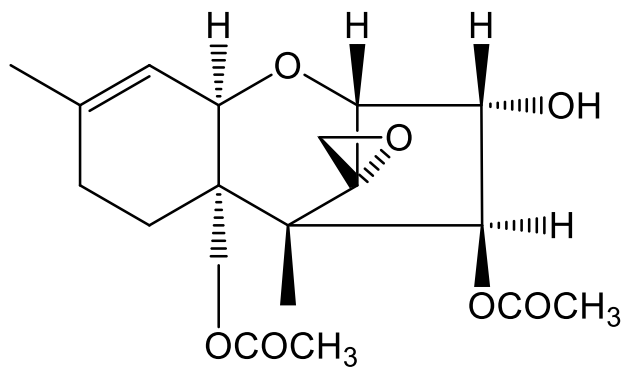
図 1 本研究が対象とするカビ毒の化学構造



T-2 トキシシン



HT-2 トキシシン



4,15-ジアセトキシシルペノール

図1 本研究が対象とするカビ毒の化学構造 (続き)

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

カビ毒の汚染実態調査

研究分担者 吉成 知也 (国立医薬品食品衛生研究所)

研究要旨

2019年度に多機関共同試験によって妥当性を検証した分析法を用いて、2020年度に引き続いて3種のタイプAトリコテセン系化合物、ステリグマトシスチン(STC)、ビューベリシン(BEA)及びエンニアチン類(ENs)の食品における汚染実態を調べた。タイプAトリコテセン系化合物については、7食品目計181検体の調査を行った。4,15-DASは、小麦粉(国産)、ハト麦加工品、きな粉、そば粉及びゴマから、T-2トキシンとHT-2トキシンは、小麦粉(輸入)、小麦粉(国産)、ライ麦粉、ハト麦加工品、きな粉、そば粉及びあんこから検出された。3種のカビ毒の合算値について、きな粉、ハト麦加工品、ライ麦粉及びそば粉の平均値が高い傾向にあった。BEAとENsについては、9食品目216検体の調査を行った。BEAは、小麦粉(国産)、小麦粉(輸入)、ライ麦粉、ハト麦加工品、米、そば粉、雑穀、きな粉及びゴマから、ENsは、BEAが検出された食品に加えてコーヒ豆から検出された。BEAの汚染濃度は、ハト麦加工品、きな粉及び雑穀で、ENsの汚染濃度は、ライ麦粉と小麦粉(国産)でその他の食品目より高い傾向にあった。STCについては、8食品目199検体の調査を行った。玄米と小麦加工品である小麦粉(国産)、そば(乾麺)、ビスケット、スパゲッティ、うどん(乾麺)、食パン及びインスタントラーメンからSTCが検出されたが、特に玄米とそば(乾麺)で高い陽性率であった。平均濃度についても、玄米とそば(乾麺)における値がその他の食品目より高い傾向にあった。

3年間で収集した汚染調査の結果と調査対象の食品の日本人における摂取量を勘案すると、いずれのカビ毒についても小麦加工品が主なばく露源であると考えられた。そこで、日本人におけるばく露量の推定は、小麦粉の汚染データを用いて行うこととした。

| | | |
|-------|-----------------|------------------------|
| 研究協力者 | 平末 実束 | (一財) 食品分析開発センター |
| 竹内 浩 | 三重県保健環境研究所 | SUNATEC |
| 谷口 賢 | 名古屋市衛生研究所 | 森田 剛史 (一財) 日本穀物検定協会 |
| 橋口 成喜 | 川崎市健康安全研究所 | 村山 智史 (一財) 日本穀物検定協会 |
| 佐藤 英子 | 川崎市健康安全研究所 | 下山 晃 (一財) 日本食品検査 |
| 福光 徹 | 神奈川県衛生研究所 | 本田 俊一 (一財) 日本食品検査 |
| 藤吉 智治 | (一財) 食品分析開発センター | 猪之鼻 修一 (一財) 日本食品分析センター |
| | SUNATEC | 小杉 正樹 (一財) 日本食品分析センター |
| | | 宮崎 光代 (一財) 日本食品分析センター |

A. 研究目的

世界的に汚染頻度が高く、健康被害が予測されるカビ毒は、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA）で毒性評価が行われ、コーデックス委員会で規格策定が行われている。我が国はコーデックス委員会の加盟国であることから、コーデックス規格を食品の規格基準に採用することが厚生労働省の方針として決められている。

厚生労働省は、リンゴジュース中のパツリン、小麦玄麦中のデオキシニバレノール、全食品中の総アフラトキシン及び乳中のアフラトキシン M₁ に対して規制を行っている。また、コーデックス規格が定められているオクラトキシン A やフモニシンに関しては、本研究事業で実態調査が行われており、それらについては食品安全委員会において我が国におけるリスク評価が実施された。また、JECFA において毒性評価が行われたタイプ A トリコテセン系化合物（T-2 トキシン、HT-2 トキシン及び 4,15-ジアセトキシルペノール（4,15-DAS））、ゼアラレノン及びステリグマトシスチン（STC）についても汚染実態調査を行った。

本事業はタイプ A トリコテセン系化合物、STC 及びエンニアチン類（ENs）を研究対象とする。タイプ A トリコテセン系化合物については、T-2 トキシンと HT-2 トキシンの汚染調査を 2010～2015 年度、4,15-DAS の汚染調査を 2016～18 年度に実施し、麦類や豆類における汚染実態を明らかにした。その一方で、2016 年 11 月に開催された JECFA において、T-2 トキシンと HT-2 トキシンのグループ PMTDI（0.06 µg/kg bw/day）に 4,15-DAS も組み入れられることが提唱され、3 種のタイプ A トリコテセン系化合物を一斉に定量分析し、リスク評価を行う必要性が生じた¹⁾。2019 年度には、3 種のタイプ A トリコテセン系化合物の一斉分析法を開発し、多機関共同試験による妥当性の評価を行った結

果、良好な結果が得られた。開発した分析法を用いて 2019 年度には 5 食品目計 148 検体の調査を、2020 年度には 6 食品目計 146 検体の調査を行った。その結果、4,15-DAS は主にハト麦加工品から、T-2 トキシンと HT-2 トキシンは主にライ麦粉、ハト麦加工品、小麦粉（国産）及びきな粉から検出された。3 種のカビ毒の同時汚染はハト麦加工品、コーンフラワー、きな粉及び小麦粉（国産）で認められた。STC については、2016～18 年度に実施した研究により、分析法の確立と小麦などの食品における汚染実態を明らかにした²⁾。日本人におけるばく露量推定を行うために、小麦加工品など対象とした汚染調査を 2019 年度から開始した。2019 年度には米と小麦加工品を対象に 5 食品目 144 検体、2020 年度には 7 食品目 164 検体の調査を行った結果、米や小麦粉、麺類などから STC が検出された。ENs は、新興カビ毒として近年関心が高まっており、欧州を中心に 2000～2013 年に 1 万試料を超える大規模な汚染実態調査が行われ、穀類加工品、ドライフルーツ、木の実、コーヒーなど幅広い食品で汚染が認められた³⁾。また、研究代表者が実施した日本に流通する小麦粉を対象とした予備調査においては高濃度かつ高頻度で ENs が検出されており、小麦以外の食品における汚染実態の情報の取得の必要性が高まっている⁴⁾。2019 年度には、ビューベリシン（BEA）とエンニアチン A（ENA）、A1（ENA1）、B（ENB）及び B1（ENB1）の一斉分析法の性能を評価するために、多機関共同試験を実施し、良好な結果が得られた。開発した分析法を用いて 2019 年度には 8 食品目 208 検体、2020 年度には 9 食品目 167 検体の調査を行った結果、BEA はハト麦加工品、コーンフラワー、小麦粉（輸入）で主に検出された。4 種の ENs のうち、ENB の汚染レベルがいずれの検体においても最も高く、ライ麦粉と小麦粉（国産）で主に検出された。

今年度は、2020 年度に引き続いて汚染実態調査を継続し、ばく露量推定に必要なデータの取得を行った。

B. 研究方法

(1) タイプ A トリコテセン系化合物の分析法

試料 25 g に抽出溶媒アセトニトリル：水（85：15）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、それぞれの食品の中で汚染がないものを選び、汚染レベルを踏まえた濃度のカビ毒を添加し、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。

精製は多機能カラム（昭和電工社製 Autoprep MF-T 1500）を用いた。抽出液約 10 mL をカラムに入れ、最初の流出液 3 mL は捨て、次いで流出する約 2.4 mL を試験管に採った。その溶出液から 2.0 mL を別の試験管に正確にとり、窒素気流により乾固後、残渣をアセトニトリル：水（1：9）0.5 mL で溶解したものを試験溶液とした。

<LC-MS/MS の測定条件>

HPLC

カラム：Inertsil ODS-3

2.1×150 mm, 3 μm

カラム温度：40 °C

移動相：A 2 mmol/L 酢酸アンモニウム

B メタノール

分離条件：0 分 A：B = 50：50

8 分 A：B = 10：90

11 分まで保持

流速：0.2 mL/分

注入量：2 μL

MS

イオン化：ESI positive

モニタリングイオン：

T-2 トキシン 484 > 305, 215

HT-2 トキシン 442 > 215, 263

4,15-DAS 384 > 307, 247

(2) STC の分析法

抽出は、試料 25 g に抽出溶媒アセトニトリル：水（85：15）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 STC の標準溶液を添加し、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。

小麦加工品からの抽出液の精製にはイムノアフィニティーカラム（IAC、堀場製作所社製 AFLAKING）を用いた。抽出液 5.0 mL をピペッターで 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。インスタントコーヒーについては、抽出液 1.0 mL をピペッターで 100 mL のメスフラスコにとり、PBS で 100 mL にメスアップした。希釈液 20 mL を IAC に添加し、PBS 10 mL と蒸留水 10 mL で洗浄後、アセトニトリル 3 mL で溶出した。溶出液を窒素気流により乾固後、残渣をアセトニトリル：水（85：15）で溶解後、さらに蒸留水 0.5 mL を加えてから混合したものを試験溶液とした。

<LC-MS/MS の測定条件>

HPLC

カラム：InertSustain C18

2.1×150 mm, 3 μm

カラム温度：40 °C

移動相：A 2 mmol/L 酢酸アンモニウム

B メタノール

分離条件：0 分 A：B = 60：40

13 分 A：B = 10：90

流速：0.2 mL/分

注入量：5 μL

MS

イオン化：ESI positive

モニタリングイオン：325 [M+H]⁺>281

ENB1 671 > 196, 654

BEA 801 > 134, 784

(3) BEA と ENs の汚染実態調査

ENA、ENA1、ENB、ENB1 及び BEA の抽出は、試料 20 g に抽出溶媒アセトニトリル：水（85：15）200 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試料中のカビ毒濃度が 25、100 又は 500 µg/kg となるよう標準品を添加し、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。

抽出液 400 µL に精製水 800 µL を加えて希釈し、遠心分離を行った。メタノール 3mL と精製水 3 mL で平衡化した C18 カートリッジ（Waters 社製 SepPak Vac C18 200 mg）に希釈液 900 µL を供した後、10%アセトニトリル水溶液 3 mL と 50%アセトニトリル水溶液 3 mL で洗浄後、90%アセトニトリル水溶液 1.5 mL で溶出したものを試験溶液とした。

<LC-MS/MS の測定条件>

HPLC

カラム：Inertsil ODS-3

2.1×150 mm, 3 µm

カラム温度：40℃

移動相：A 2 mmol/L 酢酸アンモニウム

B アセトニトリル

分離条件：0分 A：B = 30：70

20分 A：B = 20：80

22分まで保持

流速：0.2 mL/分

注入量：5 µL

MS

イオン化：ESI positive

モニタリングイオン：

ENA 699 > 210, 682

ENA1 685 > 210, 668

ENB 657 > 196, 640

平均値については、検出限界値（LOD）未満の値は 0 に、検出限界値以上定量限界値（LOQ）未満の値は検出限界値に置き換えて算出した。中央値については、陽性率が 50%以上であった試料についてのみ算出した。

C. 研究結果

(1) 添加回収試験

①タイプ A トリコテセン系化合物

今年度より調査を開始した 3 食品目（玄米、そば粉及びびあんこ）を用いた 3 種のカビ毒の添加回収試験の結果を表 1 に示した。4,15-DAS、T-2 トキシン及び HT-2 トキシンの回収率の平均値については、それぞれ 102.8～109.9%、96.6～110.9%及び 97.3～106.1%の範囲に収まり、また、標準偏差はそれぞれ 5.7%、4.3%及び 12.6%以下であった。Codex が公表している分析法の指針（CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION: Procedural Manual Twenty-sixth edition）において、1、10 及び 100 µg/kg 添加時の回収率のクライテリアはそれぞれ 40～120%、60～115%及び 80～110%とされている。1、5 及び 50 µg/kg 添加検体の結果をそれぞれ 1、10 及び 100 µg/kg 添加時のクライテリアを照らし合わせた結果、いずれもこれらクライテリアを満たしていた。

②BEA と ENs

きな粉、ごま、そば粉、小麦粉及び玄米を用いた 5 種のカビ毒の添加回収試験の結果を表 2 に示した。BEA の回収率の平均値は 84.8～110.6%の範囲内、標準偏差は 5.4%以下、ENA の回収率の平均値は 75.2～110.8%の範囲内、標準偏差は 5.5%以下、ENA1 の回収率の平均値は 80.2～109.7%の範囲内、標準偏差は 8.8%以下、ENB の回収率の平均値は 76.8～112.2%の範囲

内、標準偏差は 6.8%以下、ENB1 の回収率の平均値は 77.5～110.7%の範囲内、標準偏差は 8.2%以下であった。Codex が公表している分析法の指針において、10 µg/kg 及び 100 µg/kg 添加時の回収率のクライテリアはそれぞれ 60～115%及び 80～110%とされている。きな粉における ENA と ENB の 100 µg/kg 添加検体以外では、これらクライテリアを満たしていた。

③STC

今年度から調査を開始したインスタントラーメンと食パンについては 2 濃度、STC の高頻度汚染が認められている玄米と小麦粉について、3 濃度の添加回収試験を行った。その結果を表 3 に示した。インスタントラーメンと食パンにおいては、両添加群の回収率は 92.8～99.4%の範囲に収まり、標準偏差は 6.4%以下であった。0.5 及び 5 µg/kg 添加検体の結果をそれぞれ前述の 1 µg/kg 添加時と 10 µg/kg 添加時の Codex のクライテリアと照らし合わせた結果、いずれもこれらクライテリアを満たしていた。玄米と小麦粉においては、3 添加群の回収率は 86.1～112.1%の範囲に収まり、標準偏差は 10.4%以下であった。0.5、3 及び 20 µg/kg 添加検体の結果をそれぞれ前述の 1、10 及び 100 µg/kg 添加時の Codex のクライテリアと照らし合わせた結果、いずれもこれらクライテリアを満たしていた。

(2) 汚染実態調査

①タイプ A トリコテセン系化合物

7 食品目計 181 検体の調査を行った。結果を表 4 に示した。4,15-DAS は、小麦粉（国産）、ハト麦加工品、きな粉、そば粉及びゴマから検出され、陽性率については、ハト麦加工品の 35% が最も高く、それ以外の食品ではいずれも 20% 未満であった。平均値については、ハト麦加工品の 3.1 µg/kg が最も高く、次いできな粉の 0.05 µg/kg であった。最大濃度は、ハト麦加工品における 16.1 µg/kg であった。

T-2 トキシンは、小麦粉（輸入）、小麦粉（国

産）、ライ麦粉、ハト麦加工品、きな粉、そば粉及びあんこから検出された。陽性率については、そば粉の 90%が最も高く、次いできな粉の 73%、ライ麦粉の 57%であり、その他の食品では 30%以下であった。平均濃度はきな粉の 2.1 µg/kg が最も高く、次いでハト麦加工品の 1.4 µg/kg であった。最大濃度はきな粉における 32.0 µg/kg であった。

HT-2 トキシンは、T-2 トキシンと同じ食品種から検出された。ライ麦粉の陽性率 73%が最も高く、次いでそば粉で 70%、きな粉で 67%、あんこで 33%であり、その他の食品では 30%以下であった。きな粉の平均濃度 5.2 µg/kg が最も高く、次いでライ麦粉で 2.7 µg/kg、ハト麦加工品で 1.9 µg/kg であった。最大濃度はきな粉における 62.7 µg/kg であった。

3 種のタイプ A トリコテセン系化合物の合算値について、平均濃度はきな粉の 7.3 µg/kg が最も高く、次いでハト麦加工品の 6.3 µg/kg、ライ麦粉の 3.3 µg/kg、そば粉の 2.1 µg/kg であり、小麦粉、ゴマやあんこよりも高い傾向にあった。最大濃度はきな粉における 95.4 µg/kg であった。

②BEA と ENs

9 食品目 216 検体の調査を行った。結果を表 5 に示した。BEA については、小麦粉（国産）、小麦粉（輸入）、ライ麦粉、ハト麦加工品、米、そば粉、雑穀、きな粉及びゴマから検出された。陽性率が最も高かったのはハト麦加工品の 92% で、次いできな粉で 65%であり、その他の食品では 40%以下であった。きな粉の平均濃度 9.3 µg/kg が最も高く、次いでハト麦加工品で 6.3 µg/kg、雑穀で 4.6 µg/kg、ゴマの 3.2 µg/kg であった。最大濃度は、ハト麦加工品における 62.7 µg/kg であった。ENs は小麦粉（国産）、小麦粉（輸入）、ライ麦粉、ハト麦加工品、米、そば粉、雑穀、きな粉及びコーヒー豆から検出された。これらの食品においては、4 種の ENs のうち、ENB の汚染レベルが最も高く、次いで ENB1、

ENA1、ENA の順であった。ENB の陽性率が最も高かったのは小麦粉（国産）（95%）で、次いでライ麦粉（80%）、小麦粉（輸入）（70%）、きな粉（55%）で、その他の食品目では20%以下であった。ライ麦粉の平均濃度 254.7 µg/kg が最も高く、次いで小麦粉（国産）の 58.0 µg/kg であり、その他の食品目より高い傾向にあった。最大濃度は、ライ麦粉における 3,697 µg/kg であった。

③STC

8 食品目 199 検体の調査を行った。結果を表 6 に示した。米と小麦加工品である小麦粉（国産）、そば（乾麺）、ビスケット、スパゲッティ、うどん（乾麺）、食パン及びインスタントラーメンから STC が検出された。陽性率が最も高かったのは玄米（95%）で、次いでそば（乾麺）（83%）であり、その他の食品目では50%以下であった。平均濃度については、玄米の 0.8 µg/kg が最も高く、次いでそば（乾麺）の 0.2 µg/kg であった。最大濃度は、玄米における 5.7 µg/kg であった。

D. 考察

（1）添加回収試験

タイプ A トリコテセン系化合物の添加回収試験の結果においては、Codex が公表するガイドラインを満たしていたことから、多機能カラムを用いた分析法は、玄米、そば粉及びあんこ中の 3 種のカビ毒の定量に適用可能と考えた。STC の添加回収試験の結果においても同様に、Codex が公表するガイドラインを満たしていたことから、イムノアフィニティーカラムを用いた分析法は、玄米と小麦加工品中の STC の定量に適用可能と考えた。BEA 及び ENs の添加回収試験の結果においては、きな粉における結果の一部で Codex が公表するガイドラインを満たしていなかったが、クライテリアから逸脱した差はいずれも 1%未満であったことから、分析値への影響は小さいと考え、他の食品と同様の方

法で調査を行うこととした。

（2）汚染実態調査

①タイプ A トリコテセン系化合物

3 年間通じて調査を行った食品目のうち、ライ麦粉とハト麦加工品で 3 種の化合物合算値が高い傾向にあった。2019、2020 及び 2021 年度におけるライ麦粉での合算値の平均は、2.3、1.7 及び 3.3 µg/kg、ハト麦加工品では、10.3、10.4 及び 6.3 µg/kg と 3 年間を通じて汚染が認められた。小麦粉については、3 年間を通じて国産品の方が輸入品よりも汚染レベルが高く、国産品における合算値の平均は、0.3、2.0 及び 0.5 µg/kg、輸入品では 0.04、0.5 及び 0.3 µg/kg と推移した。小麦加工品よりもライ麦粉やハト麦加工品における汚染レベルが高いものの、日本人における摂取量については、小麦加工品の方が圧倒的に多いことから、ばく露量の推定は小麦粉の結果を用いて行うこととした。昨年度から調査を開始したきな粉については、今年度も汚染が認められ、今年度の検体の合算値の平均値は、ライ麦粉やハト麦加工品を上回っていた。きな粉の摂取量も小麦加工品と比較すると極めて少ないが、子供から大人まで幅広い年齢層により直接消費される食品であることから、高濃度汚染検体による突発的な食中毒事故の発生の懸念がある。そのため、今後もタイプ A トリコテセン化合物汚染の調査を行っていく必要があると考える。一方で、今年度から調査を開始したあんこの汚染レベルは、他の食品目よりも低かった。2010～2015 年度に実施されたフザリウムトキシンの汚染調査の結果において、小豆ではハト麦加工品を上回る T-2 トキシンと HT-2 トキシンの汚染が認められていた。小豆の加工品であるあんこでそれらカビ毒の汚染レベルが低かった原因は、加工過程による減衰又は小豆のカビ毒汚染の年次変動と推定される。4,15-DAS については、2021 年度まで 6 年間通

して汚染調査を行ったが、ハト麦加工品以外で汚染レベルの高い食品目は認められなかった。2018年にEFSAが公開した評価書において、ヨーロッパにおける4,15-DASの汚染調査結果がとりまとめられているが、汚染レベルが高い食品目は、一部の地方の小麦、ソルガムやオーツ麦と限られていた⁵⁾。幅広い食品目から検出されるT-2トキシン、HT-2トキシンとは汚染原因菌や汚染が生じる環境が大きく異なると考えられる。

②BEAとENs

BEAについては、コーヒー豆以外の食品目から検出され、その中でも特にきな粉、ハト麦加工品、雑穀及びゴマの汚染レベルが高かった。雑穀の中では、黒米と赤米で汚染が認められた。ただ、主食である小麦や米における汚染レベルは、ENsよりも非常に低いことから、日本人の健康に対する影響を考える上でENsの方が重要と考えられた。小麦粉やライ麦粉ではENsの汚染が、ハト麦加工品やきな粉ではBEAの汚染レベルの方が高いことから、BEAとENsの汚染原因菌や汚染が生じる環境は異なると考えられた。ENsについてもBEAと同様に様々な食品目からの検出が認められたが、特に小麦粉(国産)とライ麦粉において汚染レベルが高かった。ライ麦粉の方が小麦粉よりも汚染レベルは高いが、日本人における摂取量は小麦加工品の方が圧倒的に多いことから、ばく露量推定は小麦粉の結果を用いることとした。昨年度のライ麦粉検体において、ENBが約50,000 µg/kg検出された検体が2件認められた。今年度の検体では約4,000、1,500及び1,000 µg/kg検出された検体がそれぞれ1件認められた。これらは全て北海道産であることから、ENsの高汚染が生じる環境が定常的に存在していると考えられた。

ヨーロッパで実施された汚染調査では、コーヒー豆からBEAや高濃度のENsが検出されていたため、今年度にコーヒー豆の調査を実施し

たが、いずれのカビ毒も検出されなかった。コーヒー豆におけるBEAやENsの汚染は限られた地域における現象である可能性が考えられた。

③STC

2019年度及び2020年度に続き、玄米と小麦加工品を対象に調査を行った。玄米において、5.7 µg/kgとこれまでの調査の結果と比較して非常に高い値の検体が認められた。小麦加工品の中では、そば(乾麺)の汚染レベルが小麦粉よりも高く、この傾向は3年間続いた。スパゲッティにおいて、うどん(乾麺)やインスタントラーメンでは認められなかった高い濃度(0.8 µg/kg)で汚染が生じている検体が認められた。スパゲッティの原料であるデュラム小麦でSTC汚染が生じている可能性が考えられた。STCの汚染調査は2016年度より行っており、玄米からは毎年高頻度でSTCが検出されたが、精米からは検出限界以上の濃度で検出された検体は認められなかった。玄米の摂取量は、精米と比較すると非常に低いため、STCの日本人におけるばく露量推定には考慮にいれず、小麦加工品のみに推定することとした。

E. 結論

2019年度に妥当性を評価した分析法を用い、ばく露量推定を行うためのデータを得るために、汚染実態調査を行った。タイプAトリコテセン系化合物については、7食品目計181検体の調査を行った結果、小麦粉(国産)、ハト麦加工品、ライ麦粉、きな粉及びそば粉における汚染レベルが高い傾向にあった。BEAとENsについては、9食品目216検体の調査を行った結果、BEAはハト麦加工品、ENsは小麦粉とライ麦粉で汚染が主に認められ、検出される食品目が異なっていた。特に北海道産のライ麦粉においてmg/kgオーダーでENBが検出される検体が認められ、ENsの高汚染が起きる環境が日本に存在することが明らかになった。STCについては、

7 食品目 164 検体の調査を行った結果、玄米とそば粉において、他の食品目より高い汚染が認められた。日本人における各食品目の摂取量を踏まえ、3年間で得られた小麦粉の汚染調査結果を用いて、日本人におけるタイプ A トリコテセン化合物、ENs 及び STC のばく露量を推定することとした。なお、その結果については、総合報告書に記載した。

F. 参考

- 1) World Health Organization. 2017. Evaluation of certain contaminants in food. WHO Technical Report Series, No. 1002:40-54.
- 2) Yoshinari T, et al. Determination of sterigmatocystin in foods in Japan: method validation and occurrence data. Food Addit Contam Part A. 2019, 36(9):1404-1410.
- 3) European Food Safety Authority. 2014. Scientific Opinion on the risks to human and animal health related to the presence of beauvericin and enniatins in food and feed. EFSA Journal. 12(8):3802.
- 4) Yoshinari T., et al. Occurrence of beauvericin and enniatins in wheat flour and corn grits on the Japanese market, and their co-contamination with type B trichothecene mycotoxins. Food Addit Contam Part A. 2016, 33(10):1620-162.
- 5) European Food Safety Authority. 2018. Risk to human and animal health related to the presence of 4,15 - diacetoxyscirpenol in food and feed. EFSA Journal 16(8):5367.

表 1 タイプ A トリコテセン系化合物の添加回収試験の結果

| 食品目 | 添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | 回収率 (%、平均値 \pm 標準偏差、n = 3) | | |
|-----|-------------------------------------|------------------------------|-----------------|-----------------|
| | | 4,15-DAS | T-2 toxin | HT-2 toxin |
| 玄米 | 1 | 107.4 \pm 1.8 | 110.7 \pm 3.2 | 98.0 \pm 12.6 |
| | 5 | 102.8 \pm 0.3 | 104.8 \pm 2.8 | 99.9 \pm 9.8 |
| | 50 | 103.7 \pm 0.9 | 104.7 \pm 0.7 | 106.1 \pm 5.0 |
| そば粉 | 1 | 104.2 \pm 5.7 | 96.6 \pm 4.3 | 105.6 \pm 9.8 |
| | 5 | 104.7 \pm 0.8 | 99.1 \pm 1.7 | 97.3 \pm 5.1 |
| | 50 | 104.8 \pm 0.9 | 97.4 \pm 0.8 | 99.5 \pm 2.0 |
| あんこ | 1 | 109.9 \pm 2.8 | 110.9 \pm 1.6 | 104.5 \pm 3.8 |
| | 5 | 109.6 \pm 2.3 | 104.6 \pm 3.1 | 103.0 \pm 8.2 |
| | 50 | 107.9 \pm 1.2 | 101.5 \pm 2.0 | 98.8 \pm 1.6 |

表2 BEA と ENs の添加回収試験の結果

| 食品目 | 添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | 回収率 (%、平均値 \pm 標準偏差、n=3) | | | | |
|-----|-------------------------------------|----------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | | BEA | ENA | ENA1 | ENB | ENB1 |
| きな粉 | 10 | 110.6 \pm 2.0 | 109.8 \pm 1.6 | 109.5 \pm 1.5 | 112.2 \pm 1.4 | 110.7 \pm 0.8 |
| | 100 | 109.5 \pm 3.8 | 110.8 \pm 3.7 | 109.7 \pm 3.2 | 110.8 \pm 3.7 | 109.9 \pm 3.4 |
| ゴマ | 10 | 88.0 \pm 5.0 | 75.2 \pm 3.1 | 80.2 \pm 1.0 | 76.8 \pm 3.6 | 77.5 \pm 3.6 |
| | 100 | 86.0 \pm 3.0 | 83.7 \pm 4.6 | 86.8 \pm 4.2 | 85.9 \pm 4.0 | 86.9 \pm 4.9 |
| そば粉 | 10 | 89.8 \pm 0.7 | 99.6 \pm 1.0 | 100.6 \pm 6.2 | 98.0 \pm 4.2 | 99.4 \pm 7.1 |
| | 100 | 92.4 \pm 2.7 | 101.5 \pm 0.2 | 98.3 \pm 3.0 | 100.0 \pm 3.6 | 104.4 \pm 1.6 |
| 小麦粉 | 10 | 84.8 \pm 3.4 | 87.8 \pm 4.8 | 88.7 \pm 3.5 | 100.2 \pm 6.8 | 94.4 \pm 8.2 |
| | 100 | 89.9 \pm 1.2 | 92.9 \pm 1.2 | 92.5 \pm 8.8 | 99.3 \pm 5.1 | 91.1 \pm 2.5 |
| 玄米 | 10 | 97.4 \pm 5.4 | 98.6 \pm 5.5 | 98.9 \pm 8.2 | 108.4 \pm 4.3 | 95.8 \pm 7.2 |
| | 100 | 101.8 \pm 2.6 | 102.7 \pm 1.9 | 104.9 \pm 1.7 | 105.6 \pm 0.8 | 99.7 \pm 1.6 |

表 3 STC の添加回収試験の結果

| 検体 | 添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | 回収率 (%、平均値 \pm 標準偏差) |
|------------|-------------------------------------|------------------------------|
| インスタントラーメン | 0.5 | 97.0 \pm 6.4 |
| | 5 | 99.4 \pm 5.1 |
| 食パン | 0.5 | 98.1 \pm 2.1 |
| | 5 | 92.8 \pm 3.3 |
| 小麦粉 | 0.5 | 102.5 \pm 5.4 |
| | 3 | 100.0 \pm 2.8 |
| | 20 | 99.4 \pm 4.5 |
| 玄米 | 0.5 | 112.1 \pm 10.4 |
| | 3 | 91.1 \pm 5.5 |
| | 20 | 86.1 \pm 7.7 |

表4 タイプA トリコテセン系化合物の汚染調査の結果 (2021年度)

| 食品目 | 調査数 | 4,15-DAS | | | T-2 toxin | | | HT-2 toxin | | | 合算値 | |
|----------|-----|----------|-------------|-------------|-----------|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | | 陽性率 (%) | 平均値 (µg/kg) | 最大値 (µg/kg) | 陽性率 (%) | 平均値 (µg/kg) | 最大値 (µg/kg) | 陽性率 (%) | 平均値 (µg/kg) | 最大値 (µg/kg) | 平均値 (µg/kg) | 最大値 (µg/kg) |
| 小麦粉 (輸入) | 20 | 0 | - | - | 20 | 0.02 | 0.1 | 25 | 0.2 | 1.6 | 0.3 | 1.7 |
| 小麦粉 (国産) | 20 | 10 | 0.01 | 0.1 | 30 | 0.07 | 0.4 | 30 | 0.4 | 3.4 | 0.5 | 3.8 |
| ライ麦粉 | 30 | 0 | - | - | 57 | 0.6 | 5.6 | 73 | 2.7 | 29.3 | 3.3 | 34.9 |
| ハト麦加工品 | 26 | 35 | 3.1 | 16.1 | 22 | 1.4 | 18.8 | 17 | 1.9 | 12.4 | 6.3 | 31.5 |
| きな粉 | 30 | 17 | 0.05 | 0.6 | 73 | 2.1 | 32.0 | 67 | 5.2 | 62.7 | 7.3 | 95.4 |
| そば粉 | 20 | 5 | 0.004 | 0.07 | 90 | 0.6 | 2.4 | 70 | 1.5 | 6.7 | 2.1 | 9.1 |
| ゴマ | 20 | 10 | 0.007 | 0.08 | 0 | - | - | 0 | - | - | 0.007 | 0.08 |
| あんこ | 15 | 0 | - | - | 13 | 0.01 | 0.1 | 33 | 0.2 | 1.2 | 0.2 | 1.3 |

検出限界値 : 4,15-DAS 0.02 µg/kg, T-2 toxin 0.007 µg/kg, HT-2 toxin 0.09 µg/kg

定量限界値 : 4,15-DAS 0.06 µg/kg, T-2 toxin 0.02 µg/kg, HT-2 toxin 0.3 µg/kg

表5 BEA と ENs の汚染実態 (2021 年度)

| 食品目 | 調査数 | BEA | | | ENA | | | ENA1 | | |
|----------|-----|---------|-------------|-------------|---------|-------------|-------------|---------|-------------|-------------|
| | | 陽性率 (%) | 平均値 (µg/kg) | 最大値 (µg/kg) | 陽性率 (%) | 平均値 (µg/kg) | 最大値 (µg/kg) | 陽性率 (%) | 平均値 (µg/kg) | 最大値 (µg/kg) |
| 小麦粉 (国産) | 20 | 25 | 0.4 | 3.3 | 20 | 0.5 | 7.3 | 25 | 2.4 | 21.0 |
| 小麦粉 (輸入) | 20 | 10 | 0.04 | 0.7 | 0 | - | - | 5 | 0.1 | 1.0 |
| ライ麦粉 | 30 | 33 | 1.1 | 21.1 | 20 | 0.8 | 14.7 | 50 | 7.6 | 112.8 |
| ハト麦加工品 | 26 | 92 | 6.3 | 62.7 | 0 | - | - | 0 | - | - |
| 玄米 | 20 | 15 | 0.5 | 8.5 | 0 | - | - | 0 | - | - |
| そば粉 | 20 | 35 | 0.2 | 0.9 | 0 | - | - | 0 | - | - |
| 雑穀 | 20 | 40 | 4.6 | 43.0 | 0 | - | - | 0 | - | - |
| きな粉 | 20 | 65 | 9.3 | 53.1 | 5 | 0.0 | 0.8 | 0 | - | - |
| ゴマ | 20 | 35 | 3.2 | 19.1 | 0 | - | - | 0 | - | - |
| コーヒー豆 | 20 | 0 | - | - | 0 | - | - | 0 | - | - |

| 食品目 | 調査数 | ENB | | | ENB1 | | |
|----------|-----|---------|-------------|-------------|---------|-------------|-------------|
| | | 陽性率 (%) | 平均値 (µg/kg) | 最大値 (µg/kg) | 陽性率 (%) | 平均値 (µg/kg) | 最大値 (µg/kg) |
| 小麦粉 (国産) | 20 | 95 | 58.0 | 447.7 | 75 | 18.0 | 127.9 |
| 小麦粉 (輸入) | 20 | 70 | 5.1 | 35.6 | 40 | 1.4 | 10.5 |
| ライ麦粉 | 30 | 80 | 254.7 | 3697 | 77 | 71.3 | 1079 |
| ハト麦加工品 | 26 | 8 | 0.4 | 8.1 | 4 | 0.1 | 1.9 |
| 玄米 | 20 | 5 | 0.2 | 3.6 | 5 | 0.1 | 2.5 |
| そば粉 | 20 | 10 | 0.1 | 1.1 | 0 | - | - |
| 雑穀 | 20 | 20 | 3.0 | 43.0 | 15 | 0.6 | 8.1 |
| きな粉 | 20 | 55 | 1.7 | 7.4 | 30 | 0.7 | 3.3 |
| ゴマ | 20 | 0 | - | - | 0 | - | - |
| コーヒー豆 | 20 | 15 | 0.4 | 3.3 | 0 | - | - |

検出限界値：
 BEA 0.1 µg/kg, ENA 0.1 µg/kg,
 ENA1 0.4 µg/kg, ENB 0.2 µg/kg,
 ENB1 0.3 µg/kg

定量限界値：
 BEA 0.4 µg/kg, ENA 0.4 µg/kg,
 ENA1 1 µg/kg, ENB 0.6 µg/kg,
 ENB1 1 µg/kg

表 6 STC の汚染実態 (2021 年度)

| 食品 | 調査数 | 陽性率 (%) | 平均値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | 最大値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|------------|-----|------------|------------------------------------|------------------------------------|
| 米 | 20 | 95.0 | 0.8 | 5.7 |
| 小麦粉 (国産) | 20 | 15.0 | 0.03 | 0.4 |
| 小麦粉 (輸入) | 20 | 0 | - | - |
| そば (乾麺) | 30 | 83.3 | 0.2 | 1.0 |
| ビスケット | 20 | 5.0 | 0.009 | 0.2 |
| スパゲッティ | 23 | 4.3 | 0.04 | 0.8 |
| うどん (乾麺) | 31 | 29.0 | 0.02 | 0.1 |
| 食パン | 20 | 50.0 | 0.06 | 0.2 |
| インスタントラーメン | 15 | 26.7 | 0.02 | 0.1 |

検出限界値 : 0.02 $\mu\text{g}/\text{kg}$

定量限界値 : 0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$

別添-1 各試料におけるタイプ A トリコテセン系化合物の汚染濃度
(ND は検出限界値未満、下線は検出限界値以上、定量限界値未満の値である。)

2021 年度 小麦粉 (輸入)

| サンプルID | 原産地 | 4,15-DAS ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | T-2 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | HT-2 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | 合算値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|----------|-------------|---|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| R3-FWF01 | 北米他 | ND | ND | <u>0.1</u> | 0.1 |
| R3-FWF02 | 北米他 | ND | ND | <u>0.2</u> | 0.2 |
| R3-FWF03 | フランス | ND | <u>0.03</u> | <u>0.2</u> | 0.2 |
| R3-FWF04 | アメリカ他 | ND | ND | ND | — |
| R3-FWF05 | 北米他 | ND | ND | <u>0.2</u> | 0.2 |
| R3-FWF06 | フランス | ND | 0.05 | 0.4 | 0.4 |
| R3-FWF07 | カナダ、アメリカ主体 | ND | ND | ND | — |
| R3-FWF08 | 北米、オーストラリア他 | ND | ND | <u>0.2</u> | 0.2 |
| R3-FWF09 | カナダ | ND | ND | <u>0.2</u> | 0.2 |
| R3-FWF10 | カナダ、アメリカ | ND | 0.1 | 1.6 | 1.7 |
| R3-FWF11 | 北米 | ND | 0.1 | 0.7 | 0.8 |
| R3-FWF12 | 海外 | ND | ND | ND | — |
| R3-FWF13 | フランス | ND | ND | <u>0.1</u> | 0.1 |
| R3-FWF14 | 海外 | ND | ND | ND | — |
| R3-FWF15 | フランス | ND | ND | <u>0.2</u> | 0.2 |
| R3-FWF16 | 海外 | ND | 0.06 | <u>0.3</u> | 0.3 |
| R3-FWF17 | 海外 | ND | ND | ND | — |
| R3-FWF18 | イタリア | ND | <u>0.04</u> | 0.5 | 0.5 |
| R3-FWF19 | カナダ | ND | ND | ND | — |
| R3-FWF20 | カナダ又はアメリカ | ND | <u>0.04</u> | 0.5 | 0.5 |

2021年度 小麦粉（国産）

| サンプルID | 原産地 | 4,15-DAS ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | T-2 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | HT-2 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | 合算値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|----------|-----|---|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| R3-JWF01 | 北海道 | ND | ND | ND | — |
| R3-JWF02 | 北海道 | ND | ND | ND | — |
| R3-JWF03 | 北海道 | ND | 0.1 | 0.7 | 0.8 |
| R3-JWF04 | 北海道 | ND | ND | ND | — |
| R3-JWF05 | 北海道 | ND | ND | <u>0.3</u> | 0.3 |
| R3-JWF06 | 北海道 | ND | 0.06 | 0.5 | 0.5 |
| R3-JWF07 | 日本 | ND | ND | ND | — |
| R3-JWF08 | 北海道 | ND | ND | ND | — |
| R3-JWF09 | 北海道 | ND | ND | ND | — |
| R3-JWF10 | 日本 | ND | ND | ND | — |
| R3-JWF11 | 日本 | ND | 0.2 | 0.5 | 0.7 |
| R3-JWF12 | 日本 | ND | 0.4 | 1.0 | 1.4 |
| R3-JWF13 | 岩手県 | ND | ND | ND | — |
| R3-JWF14 | 日本 | ND | ND | ND | — |
| R3-JWF15 | 北海道 | 0.1 | 0.3 | 2.9 | 3.4 |
| R3-JWF16 | 滋賀県 | ND | ND | ND | — |
| R3-JWF17 | 九州 | ND | ND | ND | — |
| R3-JWF18 | 北海道 | ND | ND | ND | — |
| R3-JWF19 | 北海道 | 0.09 | 0.3 | 3.4 | 3.8 |
| R3-JWF20 | 北海道 | ND | ND | <u>0.2</u> | 0.2 |

2021 年度 ライ麦粉

| サンプルID | 原産地 | 4,15-DAS ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | T-2 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | HT-2 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | 合算値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|---------|---------|---|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| R3-RY01 | ドイツ | ND | ND | 0.3 | 0.3 |
| R3-RY02 | アメリカ | ND | ND | ND | — |
| R3-RY03 | ドイツ | ND | 0.1 | 0.8 | 0.9 |
| R3-RY04 | ドイツ | ND | ND | 0.3 | 0.3 |
| R3-RY05 | 記載無し | ND | 0.2 | 1.2 | 1.4 |
| R3-RY06 | 北海道 | ND | 0.2 | 0.8 | 1.1 |
| R3-RY07 | 兵庫県 | ND | ND | ND | — |
| R3-RY08 | ドイツ主体 | ND | ND | ND | — |
| R3-RY09 | 日本 | ND | 2.0 | 8.7 | 10.8 |
| R3-RY10 | ドイツ | ND | 1.2 | 5.3 | 6.5 |
| R3-RY11 | 記載無し | ND | 0.4 | 1.4 | 1.8 |
| R3-RY12 | ドイツ・カナダ | ND | ND | ND | — |
| R3-RY13 | ドイツ | ND | 0.2 | 0.7 | 0.9 |
| R3-RY14 | 北海道 | ND | 0.2 | 0.7 | 0.9 |
| R3-RY15 | ドイツ | ND | 0.4 | 1.6 | 2.0 |
| R3-RY16 | アメリカ | ND | 0.6 | 2.3 | 2.8 |
| R3-RY17 | 北海道 | ND | 0.3 | 1.4 | 1.7 |
| R3-RY18 | アメリカ | ND | 4.3 | 16.2 | 20.5 |
| R3-RY19 | アメリカ | ND | 0.1 | 0.4 | 0.5 |
| R3-RY20 | オーストラリア | ND | ND | ND | — |
| R3-RY21 | フランス | ND | ND | 0.5 | 0.5 |
| R3-RY22 | ドイツ | ND | 0.1 | 0.6 | 0.7 |
| R3-RY23 | ドイツ | ND | ND | 0.3 | 0.35 |
| R3-RY24 | 長野県 | ND | ND | ND | — |
| R3-RY25 | 北海道 | ND | 5.6 | 29.3 | 34.9 |
| R3-RY26 | ロシア | ND | 0.7 | 4.4 | 5.2 |
| R3-RY27 | オーストラリア | ND | ND | ND | — |
| R3-RY28 | ドイツ | ND | ND | ND | — |
| R3-RY29 | 日本 | ND | ND | 0.4 | 0.4 |
| R3-RY30 | 北海道 | ND | 0.9 | 3.7 | 4.6 |

2021 年度 ハト麦加工品

| サンプルID | 原産地 | 4,15-DAS ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | T-2 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | HT-2 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | 合算値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|---------|-----|---|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| R3-HT01 | 岩手県 | 0.3 | 18.8 | 12.4 | 31.5 |
| R3-HT02 | 富山県 | 5.3 | 0.3 | 0.8 | 6.4 |
| R3-HT03 | 栃木県 | 0.3 | 0.4 | ND | 0.6 |
| R3-HT04 | タイ | 16.1 | ND | ND | 16.1 |
| R3-HT05 | タイ | 10.6 | ND | ND | 10.6 |
| R3-HT06 | 福岡県 | 0.2 | 0.1 | ND | 0.3 |
| R3-HT07 | 栃木県 | 0.1 | 0.4 | ND | 0.5 |
| R3-HT08 | 島根県 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.7 |
| R3-HT09 | 中国 | 0.8 | ND | ND | 0.8 |
| R3-HT10 | タイ | 14.5 | ND | ND | 14.5 |
| R3-HT11 | 中国産 | 0.4 | ND | ND | 0.4 |
| R3-HT12 | 岩手県 | ND | 2.0 | 5.1 | 7.1 |
| R3-HT13 | 島根県 | 0.2 | 1.8 | 7.4 | 9.3 |
| R3-HT14 | 青森県 | 0.1 | 1.1 | 1.0 | 2.3 |
| R3-HT15 | 岩手県 | ND | 1.6 | 4.8 | 6.4 |
| R3-HT16 | 岡山県 | 0.2 | 0.8 | 3.2 | 4.3 |
| R3-HT17 | 青森県 | ND | 0.6 | 2.0 | 2.6 |
| R3-HT18 | 中国 | 8.4 | ND | ND | 8.4 |
| R3-HT19 | タイ | 1.7 | ND | ND | 1.7 |
| R3-HT20 | 宮崎県 | 0.1 | ND | ND | 0.1 |
| R3-HT21 | タイ | 10.0 | ND | ND | 10.0 |
| R3-HT22 | 岩手県 | ND | 5.2 | 8.4 | 13.6 |
| R3-HT23 | 大分県 | 0.3 | 2.1 | 3.4 | 5.7 |
| R3-HT24 | 中国 | 3.8 | ND | ND | 3.8 |
| R3-HT25 | ラオス | 3.5 | ND | ND | 3.5 |
| R3-HT26 | タイ | 2.7 | ND | ND | 2.7 |

2021年度 きな粉

| サンプルID | 原産地 | 4,15-DAS ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | T-2 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | HT-2 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | 合算値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|---------|-------|---|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| R3-KN01 | カナダ | ND | 0.1 | 0.5 | 0.7 |
| R3-KN02 | 北海道 | ND | 2.0 | 5.3 | 7.3 |
| R3-KN03 | 日本 | ND | 0.09 | 0.3 | 0.4 |
| R3-KN04 | 十勝 | ND | 0.2 | 0.9 | 1.1 |
| R3-KN05 | 北海道 | ND | 0.6 | 2.9 | 3.4 |
| R3-KN06 | 日本 | 0.2 | 2.2 | 4.4 | 6.8 |
| R3-KN07 | 日本 | 0.1 | 2.8 | 4.9 | 7.9 |
| R3-KN08 | 不明 | ND | 0.06 | 0.5 | 0.5 |
| R3-KN09 | 滋賀県 | 0.07 | 0.8 | 5.3 | 6.2 |
| R3-KN10 | 日本 | ND | 0.2 | 0.4 | 0.6 |
| R3-KN11 | 日本 | ND | 0.06 | <u>0.1</u> | 0.2 |
| R3-KN12 | 日本 | ND | 0.06 | <u>0.2</u> | 0.2 |
| R3-KN13 | 日本 | ND | ND | ND | — |
| R3-KN14 | 丹波篠山市 | ND | 0.2 | 0.5 | 0.6 |
| R3-KN15 | 秋田県 | ND | <u>0.04</u> | 0.8 | 0.9 |
| R3-KN16 | 日本 | ND | 7.6 | 28.9 | 36.4 |
| R3-KN17 | 北海道 | ND | 0.4 | 1.1 | 1.5 |
| R3-KN18 | 北海道 | ND | <u>0.04</u> | <u>0.1</u> | 0.2 |
| R3-KN19 | 不明 | ND | <u>0.04</u> | <u>0.1</u> | 0.2 |
| R3-KN20 | アメリカ | ND | 0.09 | <u>0.2</u> | 0.3 |
| R3-KN21 | 兵庫県 | 0.6 | 32.0 | 62.7 | 95.4 |
| R3-KN22 | 新潟県 | ND | ND | ND | — |
| R3-KN23 | 北海道 | ND | ND | ND | — |
| R3-KN24 | 兵庫県 | 0.4 | 11.2 | 29.5 | 41.2 |
| R3-KN25 | アメリカ | ND | ND | ND | — |
| R3-KN26 | 日本 | ND | 0.1 | 0.4 | 0.5 |
| R3-KN27 | 北海道 | ND | 0.1 | 0.8 | 0.9 |
| R3-KN28 | 日本 | ND | 1.0 | 3.9 | 4.9 |
| R3-KN29 | 日本 | ND | ND | ND | — |
| R3-KN30 | 北海道 | ND | 0.3 | 0.7 | 1.0 |

2021年度 そば粉

| サンプルID | 原産地 | 4,15-DAS ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | T-2 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | HT-2 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | 合算値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|----------|--------|---|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| R3-SBF01 | 北海道新得町 | ND | 0.5 | 1.3 | 1.8 |
| R3-SBF02 | 長野県 | ND | 0.06 | ND | 0.06 |
| R3-SBF03 | 日本 | ND | 1.6 | 5.2 | 6.8 |
| R3-SBF04 | 北海道 | ND | 0.3 | 0.7 | 1.0 |
| R3-SBF05 | 日本 | ND | 1.4 | 3.8 | 5.1 |
| R3-SBF06 | 日本 | ND | 1.4 | 0.5 | 1.9 |
| R3-SBF07 | 北海道 | <u>0.05</u> | 2.4 | 6.7 | 9.2 |
| R3-SBF08 | 秋田県 | ND | 0.5 | 1.1 | 1.5 |
| R3-SBF09 | 北海道 | ND | 0.2 | 0.6 | 0.7 |
| R3-SBF10 | 日本 | ND | ND | ND | — |
| R3-SBF11 | 熊本県 | ND | ND | ND | — |
| R3-SBF12 | 北海道 | ND | 1.2 | 1.7 | 2.9 |
| R3-SBF13 | 北海道 | ND | 0.2 | ND | 0.2 |
| R3-SBF14 | 北海道 | ND | 0.3 | 1.1 | 1.4 |
| R3-SBF15 | 北海道 | ND | 0.2 | <u>0.3</u> | 0.5 |
| R3-SBF16 | 北海道 | ND | 0.7 | 2.5 | 3.1 |
| R3-SBF17 | 長野県 | ND | 0.2 | 0.6 | 0.8 |
| R3-SBF18 | 日本 | ND | 0.6 | 2.0 | 2.6 |
| R3-SBF19 | 日本 | ND | 0.07 | ND | 0.07 |
| R3-SBF20 | 海外 | 0.07 | 0.6 | 1.7 | 2.3 |

2021 年度 ごま

| サンプルID | 原産地 | 4,15-DAS ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | T-2 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | HT-2 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | 合算値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|---------|----------|---|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| R3-GM01 | 不明 | ND | ND | ND | — |
| R3-GM02 | 不明 | 0.07 | ND | ND | 0.07 |
| R3-GM03 | 不明 | ND | ND | ND | — |
| R3-GM04 | トルコ | ND | ND | ND | — |
| R3-GM05 | トルコ | ND | ND | ND | — |
| R3-GM06 | トルコ | ND | ND | ND | — |
| R3-GM07 | 不明 | ND | ND | ND | — |
| R3-GM08 | 不明 | ND | ND | ND | — |
| R3-GM09 | 海外 | ND | ND | ND | — |
| R3-GM10 | 不明 | ND | ND | ND | — |
| R3-GM11 | 不明 | ND | ND | ND | — |
| R3-GM12 | 不明 | ND | ND | ND | — |
| R3-GM13 | 日本 | ND | ND | ND | — |
| R3-GM14 | 日本 | 0.08 | ND | ND | 0.08 |
| R3-GM15 | 日本 | ND | ND | ND | — |
| R3-GM16 | トルコ、エジプト | ND | ND | ND | — |
| R3-GM17 | 日本 | ND | ND | ND | — |
| R3-GM18 | パラグアイ | ND | ND | ND | — |
| R3-GM19 | パラグアイ | ND | ND | ND | — |
| R3-GM20 | パラグアイ | <u>0.04</u> | ND | ND | <u>0.04</u> |

2021 年度 あんこ

| サンプルID | 4,15-DAS ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | T-2 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | HT-2 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | 合算値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|---------|---|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| R3-AN01 | ND | 0.1 | <u>0.1</u> | 0.2 |
| R3-AN02 | ND | <u>0.05</u> | 0.6 | 0.6 |
| R3-AN03 | ND | 0.07 | 1.2 | 1.3 |
| R3-AN04 | ND | <u>0.05</u> | 0.6 | 0.6 |
| R3-AN05 | ND | ND | ND | — |
| R3-AN06 | ND | ND | ND | — |
| R3-AN07 | ND | ND | ND | — |
| R3-AN08 | ND | ND | ND | — |
| R3-AN09 | ND | ND | ND | — |
| R3-AN10 | ND | ND | ND | — |
| R3-AN11 | ND | <u>0.03</u> | 0.3 | 0.4 |
| R3-AN12 | ND | ND | ND | — |
| R3-AN13 | ND | ND | ND | — |
| R3-AN14 | ND | ND | ND | — |
| R3-AN15 | ND | <u>0.04</u> | 0.4 | 0.5 |

別添-2 各試料における BEA と ENs の汚染濃度

2020 年度 小麦粉（国産）

| サンプルID | 原産地 | BEA ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENA ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENA1 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENB ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENB1 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|----------|-----|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|
| R3-JWF01 | 北海道 | ND | ND | <u>0.5</u> | 27.9 | 7.2 |
| R3-JWF02 | 北海道 | ND | ND | ND | 5.1 | 1.0 |
| R3-JWF03 | 北海道 | 0.7 | ND | ND | 7.9 | 1.9 |
| R3-JWF04 | 北海道 | <u>0.3</u> | ND | <u>0.7</u> | 39.0 | 9.6 |
| R3-JWF05 | 北海道 | ND | ND | 3.0 | 101.1 | 28.7 |
| R3-JWF06 | 北海道 | 0.6 | ND | 2.1 | 76.6 | 20.8 |
| R3-JWF07 | 日本 | ND | ND | ND | 1.1 | 1.1 |
| R3-JWF08 | 北海道 | <u>0.3</u> | ND | ND | 2.8 | <u>0.5</u> |
| R3-JWF09 | 北海道 | ND | ND | <u>0.8</u> | 30.7 | 8.9 |
| R3-JWF10 | 日本 | <u>0.3</u> | ND | <u>0.6</u> | 18.9 | 5.3 |
| R3-JWF11 | 日本 | <u>0.2</u> | 1.0 | <u>0.9</u> | 13.0 | 4.3 |
| R3-JWF12 | 日本 | 3.3 | 7.3 | 21.0 | 139.4 | 65.1 |
| R3-JWF13 | 岩手県 | ND | ND | ND | 0.6 | ND |
| R3-JWF14 | 日本 | ND | ND | ND | 23.5 | 5.7 |
| R3-JWF15 | 北海道 | 1.7 | 0.8 | 8.4 | 213.5 | 71.3 |
| R3-JWF16 | 滋賀県 | ND | ND | ND | 1.5 | <u>0.4</u> |
| R3-JWF17 | 九州 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-JWF18 | 北海道 | ND | ND | ND | 7.4 | 1.5 |
| R3-JWF19 | 北海道 | 1.5 | 0.7 | 13.4 | 447.7 | 127.9 |
| R3-JWF20 | 北海道 | ND | ND | ND | 1.6 | ND |

2021 年度 小麦粉（輸入）

| サンプルID | 原産地 | BEA ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENA ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENA1 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENB ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENB1 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|----------|-------------|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|
| R3-FWF01 | 北米他 | ND | ND | ND | 13.1 | 3.6 |
| R3-FWF02 | 北米他 | ND | ND | ND | 3.8 | 1.5 |
| R3-FWF03 | フランス | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-FWF04 | アメリカ他 | ND | ND | ND | <u>0.5</u> | ND |
| R3-FWF05 | 北米他 | ND | ND | ND | 2.8 | 1.1 |
| R3-FWF06 | フランス | ND | ND | ND | 0.8 | ND |
| R3-FWF07 | カナダ、アメリカ主体 | ND | ND | ND | 9.2 | 2.8 |
| R3-FWF08 | 北米、オーストラリア他 | ND | ND | ND | 4.6 | 1.4 |
| R3-FWF09 | カナダ | ND | ND | ND | 10.8 | 3.4 |
| R3-FWF10 | カナダ、アメリカ | 0.7 | ND | <u>0.9</u> | 35.6 | 10.5 |
| R3-FWF11 | 北米 | ND | ND | ND | 1.5 | ND |
| R3-FWF12 | 海外 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-FWF13 | フランス | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-FWF14 | 海外 | ND | ND | ND | <u>0.3</u> | ND |
| R3-FWF15 | フランス | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-FWF16 | 海外 | ND | ND | ND | 1.7 | ND |
| R3-FWF17 | 海外 | ND | ND | ND | 0.6 | ND |
| R3-FWF18 | イタリア | <u>0.4</u> | ND | 1.0 | 11.7 | 4.5 |
| R3-FWF19 | カナダ | ND | ND | ND | 1.9 | ND |
| R3-FWF20 | カナダ又はアメリカ | ND | ND | ND | 3.7 | <u>0.6</u> |

2021 年度 ライ麦粉

| サンプルID | 原産地 | BEA ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENA ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENA1 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENB ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENB1 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|---------|---------|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|
| R3-RY01 | ドイツ | ND | ND | 1.5 | 7.4 | 6.0 |
| R3-RY02 | アメリカ | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-RY03 | ドイツ | ND | ND | ND | 35.4 | 9.5 |
| R3-RY04 | ドイツ | ND | ND | 1.4 | 7.6 | 5.7 |
| R3-RY05 | 記載無し | ND | 0.4 | 2.1 | 42.1 | 14.5 |
| R3-RY06 | 北海道 | 2.1 | <u>0.3</u> | 4.9 | 261.3 | 63.8 |
| R3-RY07 | 兵庫県 | 1.5 | 1.3 | 3.3 | 39.4 | 14.4 |
| R3-RY08 | ドイツ主体 | ND | ND | ND | ND | 6.1 |
| R3-RY09 | 日本 | 1.1 | 2.1 | 5.4 | 29.6 | 17.6 |
| R3-RY10 | ドイツ | ND | ND | 3.0 | 24.7 | 11.7 |
| R3-RY11 | 記載無し | ND | ND | ND | 18.0 | 4.6 |
| R3-RY12 | ドイツ・カナダ | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-RY13 | ドイツ | ND | ND | <u>1.0</u> | 9.3 | 4.7 |
| R3-RY14 | 北海道 | 2.3 | ND | 8.2 | 426.0 | 102.8 |
| R3-RY15 | ドイツ | ND | ND | 1.2 | 26.2 | 8.1 |
| R3-RY16 | アメリカ | ND | ND | ND | 7.1 | 3.1 |
| R3-RY17 | 北海道 | 2.1 | ND | 8.9 | 367.4 | 97.9 |
| R3-RY18 | アメリカ | 1.0 | ND | 11.3 | 43.5 | 33.4 |
| R3-RY19 | アメリカ | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-RY20 | オーストラリア | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-RY21 | フランス | ND | ND | <u>0.7</u> | 8.6 | 3.6 |
| R3-RY22 | ドイツ | ND | ND | ND | 6.8 | 2.0 |
| R3-RY23 | ドイツ | ND | ND | ND | 2.6 | ND |
| R3-RY24 | 長野県 | 0.8 | 3.0 | 28.6 | 1042 | 260.2 |
| R3-RY25 | 北海道 | 21.1 | 14.7 | 112.8 | 3697 | 1079 |
| R3-RY26 | ロシア | 0.6 | ND | 1.9 | 38.4 | 11.4 |
| R3-RY27 | オーストラリア | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-RY28 | ドイツ | ND | ND | ND | 1.8 | ND |
| R3-RY29 | 日本 | ND | ND | ND | 14.3 | 3.3 |
| R3-RY30 | 北海道 | 1.3 | 1.7 | 32.1 | 1484 | 374.5 |

2021 年度 玄米

| サンプルID | 原産地 | BEA ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENA ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENA1 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENB ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENB1 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|---------|-------|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|
| R3-RC01 | 千葉県 | 0.5 | ND | ND | ND | ND |
| R3-RC02 | 千葉県 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-RC03 | 山形県 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-RC04 | 山形県 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-RC05 | 福島県 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-RC06 | 新潟県 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-RC07 | 新潟県 | ND | ND | ND | 3.6 | 2.5 |
| R3-RC08 | 北海道 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-RC09 | 新潟県 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-RC10 | 山形県 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-RC11 | 千葉県 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-RC12 | 福井県 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-RC13 | 山形県 | 1.9 | ND | ND | ND | ND |
| R3-RC14 | 鳥取県 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-RC15 | 島根県 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-RC16 | 長野県 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-RC17 | 宮城県 | <u>0.2</u> | ND | ND | ND | ND |
| R3-RC18 | 千葉県旭市 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-RC19 | 石川県 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-RC20 | 千葉県旭市 | 8.5 | ND | ND | ND | ND |

2021年度 そば粉

| サンプルID | 原産地 | BEA ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENA ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENA1 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENB ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENB1 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|----------|--------|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|
| R3-SBF01 | 北海道新得町 | <u>0.2</u> | ND | ND | ND | ND |
| R3-SBF02 | 長野県 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-SBF03 | 日本 | 0.6 | ND | ND | <u>0.4</u> | ND |
| R3-SBF04 | 北海道 | <u>0.2</u> | ND | ND | ND | ND |
| R3-SBF05 | 日本 | <u>0.4</u> | ND | ND | 1.1 | <u>0.7</u> |
| R3-SBF06 | 日本 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-SBF07 | 北海道 | <u>0.3</u> | ND | ND | ND | ND |
| R3-SBF08 | 秋田県 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-SBF09 | 北海道 | <u>0.4</u> | ND | ND | ND | ND |
| R3-SBF10 | 日本 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-SBF11 | 熊本県 | <u>0.4</u> | ND | ND | ND | ND |
| R3-SBF12 | 北海道 | 0.9 | ND | ND | <u>0.5</u> | ND |
| R3-SBF13 | 北海道 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-SBF14 | 北海道 | 0.5 | ND | ND | ND | ND |
| R3-SBF15 | 北海道 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-SBF16 | 北海道 | 0.4 | ND | ND | ND | ND |
| R3-SBF17 | 長野県 | <u>0.3</u> | ND | ND | ND | ND |
| R3-SBF18 | 日本 | 0.6 | ND | ND | <u>0.2</u> | <u>0.4</u> |
| R3-SBF19 | 日本 | 0.6 | ND | ND | ND | ND |
| R3-SBF20 | 海外 | 0.5 | ND | ND | 0.6 | ND |

2021 年度 雑穀

| サンプルID | 原産地 | BEA ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENA ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENA1 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENB ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENB1 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|---------|-----|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|
| R3-ZK01 | 日本 | 25.1 | ND | ND | ND | ND |
| R3-ZK02 | 岩手県 | 43.0 | ND | ND | ND | ND |
| R3-ZK03 | 岩手県 | 10.5 | ND | ND | ND | ND |
| R3-ZK04 | 岩手県 | 2.2 | ND | ND | 7.8 | 1.8 |
| R3-ZK05 | 岩手県 | 3.4 | ND | ND | 43.0 | 8.1 |
| R3-ZK06 | 日本 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-ZK07 | 日本 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-ZK08 | 日本 | 2.4 | ND | ND | ND | ND |
| R3-ZK09 | ペルー | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-ZK10 | ペルー | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-ZK11 | ペルー | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-ZK12 | ペルー | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-ZK13 | ペルー | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-ZK14 | 北海道 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-ZK15 | ペルー | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-ZK16 | 岩手県 | 1.5 | ND | ND | ND | ND |
| R3-ZK17 | 岩手県 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-ZK18 | 岩手県 | 3.5 | ND | ND | ND | ND |
| R3-ZK19 | 北海道 | ND | ND | ND | 3.7 | ND |
| R3-ZK20 | 岩手県 | ND | ND | ND | 4.6 | 1.9 |

2021年度 きな粉

| サンプルID | 原産地 | BEA ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENA ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENA1 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENB ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENB1 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|---------|-------|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|
| R3-KN01 | カナダ | ND | ND | ND | 0.9 | <u>0.4</u> |
| R3-KN02 | 北海道 | <u>0.3</u> | ND | ND | 3.5 | 1.0 |
| R3-KN03 | 日本 | 1.9 | ND | ND | <u>0.5</u> | ND |
| R3-KN04 | 十勝 | ND | ND | ND | 3.1 | <u>0.6</u> |
| R3-KN05 | 北海道 | 0.7 | ND | ND | 7.4 | 1.5 |
| R3-KN06 | 日本 | 31.0 | <u>0.3</u> | <u>0.5</u> | 3.3 | 2.2 |
| R3-KN07 | 日本 | 30.6 | <u>0.2</u> | <u>0.6</u> | 3.5 | 2.4 |
| R3-KN08 | 不明 | 2.5 | ND | ND | ND | ND |
| R3-KN09 | 滋賀県 | 53.1 | ND | <u>0.8</u> | 4.3 | 3.3 |
| R3-KN10 | 日本 | 40.9 | ND | <u>0.7</u> | 3.0 | 2.8 |
| R3-KN11 | 日本 | 0.5 | <u>0.2</u> | ND | 0.9 | <u>0.5</u> |
| R3-KN12 | 日本 | 3.5 | ND | ND | ND | ND |
| R3-KN13 | 日本 | 1.1 | ND | ND | ND | ND |
| R3-KN14 | 丹波篠山市 | 2.0 | ND | ND | ND | ND |
| R3-KN15 | 秋田県 | 3.1 | <u>0.2</u> | ND | ND | ND |
| R3-KN16 | 日本 | 15.8 | 0.8 | <u>0.5</u> | 2.3 | <u>1.0</u> |
| R3-KN17 | 北海道 | <u>0.3</u> | <u>0.1</u> | ND | 2.0 | <u>0.7</u> |
| R3-KN18 | 北海道 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-KN19 | 不明 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-KN20 | アメリカ | ND | ND | ND | ND | ND |

2021 年度 ゴマ

| サンプルID | 原産国 | BEA ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENA ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENA1 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENB ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENB1 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|---------|----------|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|
| R3-GM01 | 不明 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-GM02 | 不明 | 11.3 | ND | ND | ND | ND |
| R3-GM03 | 不明 | 1.7 | ND | ND | ND | ND |
| R3-GM04 | トルコ | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-GM05 | トルコ | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-GM06 | トルコ | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-GM07 | 不明 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-GM08 | 不明 | <u>0.4</u> | ND | ND | ND | ND |
| R3-GM09 | 海外 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-GM10 | 不明 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-GM11 | 不明 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-GM12 | 不明 | 9.3 | ND | ND | ND | ND |
| R3-GM13 | 日本 | 1.0 | ND | ND | ND | ND |
| R3-GM14 | 日本 | 19.1 | ND | ND | ND | ND |
| R3-GM15 | 日本 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-GM16 | トルコ、エジプト | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-GM17 | 日本 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-GM18 | パラグアイ | 9.8 | ND | ND | ND | ND |
| R3-GM19 | パラグアイ | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-GM20 | パラグアイ | 12.4 | ND | ND | ND | ND |

2021年度 コーヒー豆

| サンプルID | 原産地 | BEA ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENA ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENA1 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENB ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | ENB1 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|---------|---------------------|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|
| R3-CB01 | コロンビア、ブラジル他 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-CB02 | ブラジル、コロンビア他 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-CB03 | ブラジル、コロンビア他 | ND | ND | ND | 1.6 | ND |
| R3-CB04 | タンザニア | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-CB05 | コロンビア、ブラジル | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-CB06 | コロンビア、エチオピア他 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-CB07 | コロンビア、エルサルバドル、グアテマラ | ND | ND | ND | 3.2 | ND |
| R3-CB08 | コロンビア、ブラジル他 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-CB09 | ブラジル、コロンビア他 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-CB10 | ブラジル、インドネシア他 | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-CB11 | コロンビア、ブラジル | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-CB12 | インドネシア | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-CB13 | グアテマラ | ND | ND | ND | 3.3 | ND |
| R3-CB14 | コロンビア | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-CB15 | ブラジル | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-CB16 | ブラジル | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-CB17 | インドネシア | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-CB18 | エチオピア | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-CB19 | ブラジル | ND | ND | ND | ND | ND |
| R3-CB20 | ブラジル、コロンビア | ND | ND | ND | ND | ND |

別添-3 各試料における STC の汚染濃度

2021 年度 玄米

| サンプルID | 原産地 | STC ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|---------|-------|------------------------------------|
| R3-RC01 | 千葉県 | 0.6 |
| R3-RC02 | 千葉県 | 0.07 |
| R3-RC03 | 山形県 | 0.3 |
| R3-RC04 | 山形県 | 1.3 |
| R3-RC05 | 福島県 | 1.3 |
| R3-RC06 | 新潟県 | 0.3 |
| R3-RC07 | 新潟県 | 0.9 |
| R3-RC08 | 北海道 | ND |
| R3-RC09 | 新潟県 | 0.2 |
| R3-RC10 | 山形県 | 0.3 |
| R3-RC11 | 千葉県 | 0.4 |
| R3-RC12 | 福井県 | 0.07 |
| R3-RC13 | 山形県 | 0.7 |
| R3-RC14 | 鳥取県 | 0.7 |
| R3-RC15 | 島根県 | 0.2 |
| R3-RC16 | 長野県 | 0.5 |
| R3-RC17 | 宮城県 | 5.7 |
| R3-RC18 | 千葉県旭市 | 0.3 |
| R3-RC19 | 石川県 | 1.2 |
| R3-RC20 | 千葉県旭市 | 0.2 |

2021 年度 小麦粉（国産）

| サンプルID | 原産地 | STC ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|----------|-----|------------------------------------|
| R3-JWF01 | 北海道 | ND |
| R3-JWF02 | 北海道 | ND |
| R3-JWF03 | 北海道 | ND |
| R3-JWF04 | 北海道 | <u>0.03</u> |
| R3-JWF05 | 北海道 | ND |
| R3-JWF06 | 北海道 | ND |
| R3-JWF07 | 日本 | ND |
| R3-JWF08 | 北海道 | ND |
| R3-JWF09 | 北海道 | ND |
| R3-JWF10 | 日本 | 0.07 |
| R3-JWF11 | 日本 | ND |
| R3-JWF12 | 日本 | 0.2 |
| R3-JWF13 | 岩手県 | ND |
| R3-JWF14 | 日本 | ND |
| R3-JWF15 | 北海道 | 0.4 |
| R3-JWF16 | 滋賀県 | ND |
| R3-JWF17 | 九州 | ND |
| R3-JWF18 | 北海道 | ND |
| R3-JWF19 | 北海道 | ND |
| R3-JWF20 | 北海道 | ND |

2021 年度 小麦粉 (海外)

| サンプルID | 産地 | STC ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|----------|-------------|------------------------------------|
| R3-FWF01 | 北米他 | ND |
| R3-FWF02 | 北米他 | ND |
| R3-FWF03 | フランス | ND |
| R3-FWF04 | アメリカ他 | ND |
| R3-FWF05 | 北米他 | <u>0.02</u> |
| R3-FWF06 | フランス | ND |
| R3-FWF07 | カナダ、アメリカ主体 | ND |
| R3-FWF08 | 北米、オーストラリア他 | ND |
| R3-FWF09 | カナダ | ND |
| R3-FWF10 | カナダ、アメリカ | ND |
| R3-FWF11 | 北米 | ND |
| R3-FWF12 | 海外 | ND |
| R3-FWF13 | フランス | ND |
| R3-FWF14 | 海外 | ND |
| R3-FWF15 | フランス | ND |
| R3-FWF16 | 海外 | ND |
| R3-FWF17 | 海外 | ND |
| R3-FWF18 | イタリア | ND |
| R3-FWF19 | カナダ | ND |
| R3-FWF20 | カナダ又はアメリカ | ND |

2021 年度 そば (乾麺)

| サンプルID | STC ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|---------|------------------------------------|
| R3-SB01 | ND |
| R3-SB02 | 0.06 |
| R3-SB03 | ND |
| R3-SB04 | 1.0 |
| R3-SB05 | 0.3 |
| R3-SB06 | 0.08 |
| R3-SB07 | 0.06 |
| R3-SB08 | ND |
| R3-SB09 | 0.1 |
| R3-SB10 | 0.7 |
| R3-SB11 | 0.6 |
| R3-SB12 | ND |
| R3-SB13 | 0.1 |
| R3-SB14 | 0.2 |
| R3-SB15 | 0.7 |
| R3-SB16 | 0.3 |
| R3-SB17 | 0.2 |
| R3-SB18 | 0.09 |
| R3-SB19 | 0.05 |
| R3-SB20 | <u>0.05</u> |
| R3-SB21 | 0.3 |
| R3-SB22 | 0.3 |
| R3-SB23 | 0.9 |
| R3-SB24 | 0.2 |
| R3-SB25 | 0.1 |
| R3-SB26 | 0.1 |
| R3-SB27 | 0.06 |
| R3-SB28 | 0.2 |
| R3-SB29 | 0.06 |
| R3-SB30 | 0.2 |

2021 年度 ビスケット

| サンプルID | STC ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|---------|------------------------------------|
| R3-BS01 | ND |
| R3-BS02 | ND |
| R3-BS03 | ND |
| R3-BS04 | ND |
| R3-BS05 | ND |
| R3-BS06 | ND |
| R3-BS07 | ND |
| R3-BS08 | <u>0.05</u> |
| R3-BS09 | ND |
| R3-BS10 | 0.2 |
| R3-BS11 | ND |
| R3-BS12 | ND |
| R3-BS13 | ND |
| R3-BS14 | ND |
| R3-BS15 | ND |
| R3-BS16 | <u>0.04</u> |
| R3-BS17 | <u>0.05</u> |
| R3-BS18 | ND |
| R3-BS19 | ND |
| R3-BS20 | ND |

2021年度 スパゲッティ

| サンプルID | 原産地 | STC ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|---------|------|------------------------------------|
| R3-SP01 | イタリア | ND |
| R3-SP02 | 日本 | ND |
| R3-SP03 | イタリア | <u>0.05</u> |
| R3-SP04 | イタリア | ND |
| R3-SP05 | 日本 | ND |
| R3-SP06 | 不明 | ND |
| R3-SP07 | 日本 | ND |
| R3-SP08 | トルコ | 0.8 |
| R3-SP09 | イタリア | ND |
| R3-SP10 | イタリア | ND |
| R3-SP11 | 日本 | ND |
| R3-SP12 | 日本 | ND |
| R3-SP13 | 日本 | ND |
| R3-SP14 | 北海道 | ND |
| R3-SP15 | 不明 | ND |
| R3-SP16 | イタリア | ND |
| R3-SP17 | 日本 | ND |
| R3-SP18 | 日本 | ND |
| R3-SP19 | イタリア | ND |
| R3-SP20 | 日本 | ND |
| R3-SP21 | イタリア | ND |
| R3-SP22 | イタリア | ND |
| R3-SP23 | イタリア | ND |

2021 年度 うどん（乾麺）

| サンプルID | STC ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|---------|------------------------------------|
| R3-UD01 | ND |
| R3-UD02 | ND |
| R3-UD03 | ND |
| R3-UD04 | ND |
| R3-UD05 | ND |
| R3-UD06 | 0.08 |
| R3-UD07 | ND |
| R3-UD08 | ND |
| R3-UD09 | ND |
| R3-UD10 | 0.05 |
| R3-UD11 | ND |
| R3-UD12 | ND |
| R3-UD13 | ND |
| R3-UD14 | ND |
| R3-UD15 | ND |
| R3-UD16 | 0.06 |
| R3-UD17 | ND |
| R3-UD18 | ND |
| R3-UD19 | ND |
| R3-UD20 | 0.08 |
| R3-UD21 | 0.05 |
| R3-UD22 | ND |
| R3-UD23 | 0.05 |
| R3-UD24 | ND |
| R3-UD25 | 0.07 |
| R3-UD26 | 0.15 |
| R3-UD27 | 0.07 |
| R3-UD28 | ND |
| R3-UD29 | ND |
| R3-UD30 | ND |
| R3-UD31 | ND |

2021 年度 食パン

| サンプルID | STC ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|---------|------------------------------------|
| R3-BR01 | 0.12 |
| R3-BR02 | 0.09 |
| R3-BR03 | 0.07 |
| R3-BR04 | 0.07 |
| R3-BR05 | 0.07 |
| R3-BR06 | ND |
| R3-BR07 | 0.06 |
| R3-BR08 | ND |
| R3-BR09 | <u>0.04</u> |
| R3-BR10 | ND |
| R3-BR11 | 0.19 |
| R3-BR12 | 0.20 |
| R3-BR13 | ND |
| R3-BR14 | ND |
| R3-BR15 | 0.08 |
| R3-BR16 | ND |
| R3-BR17 | ND |
| R3-BR18 | ND |
| R3-BR19 | 0.16 |
| R3-BR20 | ND |

2021 年度 インスタントラーメン

| サンプルID | STC ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|---------|------------------------------------|
| R3-RM01 | 0.05 |
| R3-RM02 | 0.1 |
| R3-RM03 | ND |
| R3-RM04 | ND |
| R3-RM05 | ND |
| R3-RM06 | ND |
| R3-RM07 | <u>0.04</u> |
| R3-RM08 | <u>0.04</u> |
| R3-RM09 | <u>0.03</u> |
| R3-RM10 | 0.07 |
| R3-RM11 | <u>0.03</u> |
| R3-RM12 | ND |
| R3-RM13 | <u>0.04</u> |
| R3-RM14 | <u>0.03</u> |
| R3-RM15 | 0.05 |

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

毒性試験 (エンニアチン B のマウス薬物動態試験)

研究分担者 渋谷 淳 (東京農工大学大学院)

研究要旨

エンニアチン (ENs) 類についての毒性情報を得る目的で、2019 年度には ENs 混合物 (B、B1、A1) の、2020 年度にはエンニアチン B (ENB) 単体の 28 日間反復経口投与試験を実施したが、いずれも設定した用量で明らかな毒性は検出されなかった。その理由として、ENB の吸収性が低い可能性が考えられたため、本年度はマウスにおける ENB の薬物動態試験と肝臓の遺伝子発現解析を実施した。本試験では、マウスにおける高い経口バイオアベイラビリティ (85.6%) が確認された。また、肝臓の遺伝子発現解析ではシトクローム P450 をコードした遺伝子を含む、多くの代謝関連遺伝子の発現が ENB の経口投与によって増加することが明らかになった。これらの結果から、ENB がマウスの経口投与によって十分に吸収され、肝臓における代謝を受けた可能性が示唆された。以上より、ENB は経口投与により吸収されるものの、一般毒性は今回用いた用量より高い用量で出現するものと考えられた。

A. 研究目的

カビ毒はカビが感染した農作物中に生産され、カビ毒に汚染された食品により、急性的な中毒症状や慢性的な摂取によるがんの発症などが引き起こされている。これまで厚生労働科学研究において、2001 年より様々なカビ毒について日本に流通する食品における汚染実態や毒性に関する研究を行い、カビ毒に汚染された食品の摂取の低減を目的とした施策策定の科学的根拠となるデータを取得し、食の安全性確保に貢献してきた。

エンニアチン (ENs) 類は新興カビ毒として近年関心が高まっており、欧州を中心に 2000~2013 年に 1 万試料を超える大規模な汚染実態調査が行われた。日本に流通する小麦粉を対象とした予備調査 (Food Addit Contam

Part A, 33, 1620-26, 2016) においては高濃度かつ高頻度で ENs が検出されており、毒性や小麦以外の食品における汚染実態の情報の取得の必要性が高まっている。

EFSA が公表した、マウスを用いた ENB の 42 日間の反復投与試験 (Maranghi et al., EFSA, 2018) では、公比 10 を設定し 0.18, 1.8, 18 mg/kg/日の用量で強制経口投与試験を実施し、最低毒性量、無毒性量が求められている。しかし、公比が大きかつ用量依存性の乏しいデータが多く、より正確な最低毒性量、無毒性量を求めるためにはガイドラインに沿った一般毒性試験の実施が必要であると考えられた。

2019 年度にマウスの ENs 混合物 (ENB :

ENB1 : ENA1= 4 : 4 : 1) の 28 日間反復経口投与毒性試験を、2020 年度に ENB 単体を用いた 28 日間反復経口投与毒性試験を実施したが、ENs 混合物、ENB、何れも 28 日間毒性試験では最低毒性量を求めるに至る結果は得られなかった。ENB はブローラーでの経口投与後の吸収性が低いことが文献的に示唆されており、マウス 28 日間毒性試験での明らかな毒性が検出されない理由として、マウスにおいても吸収性が低く、糞中に排泄されている可能性が考えられた。そこで本年度は、マウスにおける ENB の経口投与後の吸収性を把握することを目的に、マウスにおける ENB の薬物動態試験を実施した。また、ENs は肝臓のシトクローム P450 を介して代謝されることから、肝臓の遺伝子発現解析を実施した。

B. 研究方法

(1) 動物実験

5 週齢の雌雄マウス (ICR [CrI:CD1 (ICR)]) を日本チャールス・リバー株式会社、厚木飼育センターより購入し、1 週間の馴化後実験に用いた。動物は空調設備の整った動物飼育室のプラスチックケージにて、12 時間の明暗サイクル、室温 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $50\pm 15\%$ の制御環境下で飼育した。飼育期間中は 1 ケージあたり 4~5 匹の動物を収容し、固形飼料 CRF-1 (γ線滅菌：オリエンタル酵母工業株式会社) と水道水を自由摂取させた。群構成は溶媒対照群 (5 匹)、ENB 30 mg/kg-経口投与群 (10 匹) 及び ENB 1 mg/kg-静脈内投与群 (10 匹) の 3 群構成とした (Table 1)。溶媒は、dimethyl sulfoxide の終濃度が 6% となるように、1 群では corn oil、2 群では生理食塩水に混じて調製した。6 週齢の雄性マウスに ENB を経口又は尾静脈内投与し、血中 ENB 濃度測定のために各時点において血液を採取した。また、糞中 ENB 濃度測定のために、一定期間に各群 5 匹

の糞を採材した。投与から 2 時間後には各群 5 匹を剖検に供し、肝臓 (約 30 mg/サンプル) を採材して遺伝子発現解析に用いた。肝臓サンプルは、直ちに液体窒素で凍結し、total RNA 抽出まで -80°C で保存した。解剖時及び実験終了時には当該動物を CO_2/O_2 ガスによる深麻酔下で腹大動脈から放血死させた。

一般状態の観察

馴化期間中、投与前、投与直後及び 24 時間後の間に実施した。全動物について、体外表、栄養状態、姿勢、行動及び排泄物の異常などの一般状態を観察した。また、投与日の 6 及び 5 日前、群分け日、投与日に体重測定を実施した。

血中エンニアチン B 濃度測定

採血は ENB 投与前及び投与から 5、30 分、2 時間後、もしくは 10 分、1、4、8、24 時間後に各群 5 匹ずつの PARTIAL サンプルングを実施した。各時点で顔面静脈にアニマルランセットを穿刺し、EDTA-2K 抗凝固処理済みの採血管を用いて、約 50-70 μL 採血した。採取した血液はチューブに移して速やかに氷冷し、遠心分離 ($9,000\times g$ 、2 分、約 4°C) して上清 (血漿) を新しいチューブに約 10-20 μL 採取した。血漿は移管まで -80°C フリーザーにて凍結保存した。

血漿は 85%アセトニトリルによる抽出及び C18 カートリッジによる精製を実施した後、高速液体クロマトグラフ-質量分析計

(LC-MS/MS) によって ENB 濃度を測定した。糞中 ENB 濃度測定

溶媒対照群で投与時~2 時間後、他 2 群で投与から 4 時間後~8 時間後及び 8 時間後~24 時間後の間に排泄された全ての糞を対象とした。採取した糞は重量を測定し、チューブに移して -80°C フリーザーにて凍結保存した。

抽出については、チューブに 85%アセトニトリルを添加した後、チューブ内で糞をよく

破碎し、遠心後 (9,000×g、2分、約4°C)、上清の試験溶液を回収した。次いで、C18カートリッジを用いて精製し、LC-MS/MSによってENB濃度を測定した。

薬物動態パラメータの算出

各時点の平均濃度に基づき、最高血中濃度 (C_{max})、最高血中濃度到達時間 (t_{max})、血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC) を求めた。最終測定時点以降の AUC については、無限大時間までの外挿により算出した。また、静脈内投与後データでは時間 0 への外挿を行った。経口投与群及び尾静脈内投与群における AUC から、バイオアベイラビリティを推定した。

遺伝子発現解析

ENB による代謝関連遺伝子の転写レベルの発現変化を検出するために、溶媒対照群と経口投与群の肝臓サンプルを用いて遺伝子発現解析を行った。RNeasy Mini キット (Qiagen, Hilden, Germany) を用いて組織試料から total RNA を抽出した。抽出した total RNA は、RNA-Seq 解析 (n=5/グループ、1 サンプルとしてプール) に使用した。TruSeq stranded mRNA LT Sample Prep Kit (イルミナ株式会社) を用いて、メーカーのプロトコルに従ってサンプル調製を行い、配列決定には Illumina NovaSeq 6000 を用いた。溶媒対照群と比較して Fold Change (絶対値) ≥ 2 かつ p-value < 0.05 で発現量が増加または減少している遺伝子を選別し、Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID), version 6.8 により Gene Ontology (GO) に基づくエンリッチメント解析を行った。

(倫理面への配慮)

動物実験は動物の愛護及び管理に関する法律 (動愛法) を遵守し、実験動物の飼育及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準 (環境省告示第 88 号)、研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針 (文部科学省告示第

71 号)、厚生労働省の所管する動物実験等の実施に関する基本指針 (厚生労働省通知 科発 0601002 号)、動物実験の適正な実施に向けたガイドライン (日本学術会議) の指針およびガイドラインに即して設けられた東京農工大学実験動物取り扱い倫理規程に則り、東京農工大学動物実験小委員会の了承を得て適切に動物実験を実施した。

C. 研究結果

一般状態及び体重

いずれの群においても変化は認められなかった。

血中 ENB 濃度

経口投与群において、サンプル処理の誤りのため 1 サンプルを解析から除外した。また、尾静脈投与群では血中から被験物質が検出されなかった 3 サンプルを解析から除外した。したがって、サンプル数は溶媒対照群、経口投与群、尾静脈投与群でそれぞれ 5、9、7 であった。サンプリングデータを Table 2 及び Table 3 に示した。

糞中 ENB 濃度

上記のサンプル除外により、サンプル数は溶媒対照群、経口投与群、尾静脈内投与群でそれぞれ 5、4、4 であった。経口投与群において、ENB 投与量の平均 5.26% の ENB が検出された。尾静脈内投与群ではごく微量の ENB が検出されるのみであった (Table 4)。

ENB の薬物動態

各時点の平均濃度に基づいて、薬物動態パラメータを算出した。経口投与群において、 C_{max} は 1024 ng/mL、 t_{max} は投与後 1 時間、AUC は 6008 ng·hr/mL と算出された。尾静脈内投与群における AUC は 234 ng·hr/mL と算出された。投与用量は経口投与群が 30 mg/kg、尾静脈内投与群が 1 mg/kg であるが、線形動態に従い、AUC が投与量に比例して増加すると仮定した

場合、バイオアベイラビリティは 85.6%と推定された。

RNA-Seq 解析

経口投与群では、溶媒対照群と比較して、553 遺伝子の発現が増加した。発現が増加した遺伝子の GO term に基づいたエンリッチメント解析では、有機物、窒素化合物及び薬物等に対する反応や、代謝プロセスの制御に関連した GO が濃縮された (Table 5)。発現が増加した遺伝子群には、シトクローム P450 をコードする遺伝子が多く含まれていた (*Cyp1b1*、*Cyp2a5*、*Cyp2b10*、*Cyp2a12*、*Cyp7a1*、*Cyp21a1*、*Cyp26a1*)。

D. 考察

本試験では、マウスにおける高い経口バイオアベイラビリティ (85.6%) が確認された。経口投与群の糞中には ENB が検出されたが、ENB 投与量の平均 5.3%であった。また、肝臓の遺伝子発現解析ではシトクローム P450 をコードした遺伝子を含む、多くの代謝関連遺伝子の発現が ENB の経口投与によって増加することが明らかになった。したがって、ENB がマウスの経口投与によって十分に吸収され、肝臓における代謝を受けた可能性が示唆された。全身循環前の代謝 (presystemic metabolism) の存在や ATP Binding Cassette トランスポーターの発現が吸収に影響を与えることから、ENB は個体及び動物種ごとに異なる複雑な動態を示す可能性があることが指摘されている (Fraeyman et al., 2017)。本試験と相反して、ブロイラーにおける ENB の経口投与後の低い吸収性が報告されているが、上記のような種差や生体内変化の違いが影響している可能性が考えられる。

2019 年度には ENs 混合物 (B、B1、A1) の、2020 年度には ENB 単体の 28 日間反復経口投与試験を実施したが、いずれも明らかな毒性は検出されなかった。マウスでは経口投与により ENB が十分に吸収されることを勘案すると、ENB の毒性が当初の想定と比較して低い可能性がある。以上より、ENB は経口投与により吸収されるものの、一般毒性は今回用いた用量より高い用量で出現するものと考えられた。

E. 健康危機情報

特になし

F. 研究発表

1. 論文発表

Okano, H., Okamura, T., Takahashi, Y., Takashima, K., Ojiro, R., Tang, Q., Jin, M., Kikuchi, S., Ogawa, B., Yoshida, T., Yoshinari, T., Shibutani, M.: A 28-day repeated oral dose toxicity study of enniatin complex in mice. *J. Toxicol. Sci.* 46(4), 157–165, 2021.

2. 学会発表

該当なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

Table 1. 群構成表

| 試験群 | 投与量 (mg/kg) | 濃度 (mg/mL) | 投与容量 (mL/kg) | 性 | 動物数 |
|-------------|----------------|---------------|-----------------|---|-----|
| 溶媒 対照群 | 0 | 0 | 5 | 雄 | 5 |
| 経口 投与群 | 30 | 6 | 5 | 雄 | 10 |
| 尾静脈内 投与群 | 1 | 0.2 | 5 | 雄 | 10 |

Table 2. 経口投与群における血中 ENB 濃度

| ID | 血中 ENB 濃度 (ng/mL) | | | | | | | | |
|------|-------------------|-------|--------|--------|------|------|------|------|-------|
| | 投与前 | 投与後 | | | | | | | |
| | | 5 min | 10 min | 30 min | 1 hr | 2 hr | 4 hr | 8 hr | 24 hr |
| 1 | BLQ | 221 | – | 790 | – | 1357 | – | – | – |
| 2 | BLQ | 58 | – | 432 | – | 434 | – | – | – |
| 3 | BLQ | 85 | – | 569 | – | 258 | – | – | – |
| 4 | BLQ | 189 | – | 667 | – | 1068 | – | – | – |
| 5 | BLQ | 163 | – | 313 | – | 513 | – | – | – |
| 6 | | – | 273 | – | 918 | – | 480 | 237 | 22 |
| 7 | | – | 209 | – | 1608 | – | 553 | 66 | BLQ |
| 8 | | – | 214 | – | 551 | – | 961 | 181 | 138 |
| 9 | | – | 194 | – | 1023 | – | 648 | 141 | BLQ |
| MEAN | | 143 | 222 | 554 | 1025 | 726 | 660 | 156 | 40 |
| SD | | 69 | 35 | 188 | 438 | 465 | 212 | 72 | 66 |

Abbreviation: BLQ, below lower limits of quantitation; ENB, enniatin B.

Table 3. 尾静脈内投与群における血中 ENB 濃度

| ID | 血中 ENB 濃度 (ng/mL) | | | | | | | | |
|------|-------------------|-------|--------|--------|------|------|------|------|-------|
| | 投与前 | 投与後 | | | | | | | |
| | | 5 min | 10 min | 30 min | 1 hr | 2 hr | 4 hr | 8 hr | 24 hr |
| 1 | BLQ | 245 | – | 71 | – | 28 | – | – | – |
| 2 | BLQ | 211 | – | 61 | – | 27 | – | – | – |
| 3 | BLQ | 231 | – | 103 | – | 29 | – | – | – |
| 4 | | – | 94 | – | 41 | – | BLQ | BLQ | BLQ |
| 5 | | – | 81 | – | BLQ | – | BLQ | BLQ | BLQ |
| 6 | | – | 96 | – | BLQ | – | BLQ | BLQ | BLQ |
| 7 | | – | 48 | – | 18 | – | BLQ | BLQ | BLQ |
| MEAN | | 229 | 80 | 78 | 15 | 28 | – | – | – |
| SD | | 17 | 22 | 22 | 19 | 1 | – | – | – |

Abbreviation: BLQ, below lower limits of quantitation; ENB, enniatin B.

Table 4. 糞中 ENB 濃度

| | 溶媒対照 群 | 経口投与群 (ENB 30 mg/kg) | | | 尾静脈内投与群 (ENB 1mg/kg) | |
|----------------------|-------------|-------------------------|---------------|--------------|-------------------------|--|
| | | 投与後 | | | | |
| | 0-2 hr | 4-8 hr | 8-24 hr | 4-8 hr | 8-24 hr | |
| 動物数 | 5 | 4 | 4 | 4 | 4 | |
| 糞量 (mg) | 95.5 ± 24.2 | 89.0 ± 71.2 | 225.0 ± 159.8 | 198.3 ± 94.7 | 552.0 ± 246.4 | |
| 糞中 ENB 濃度 (ng/mg) | BLQ | 228.3 ± 140.3 | 218.6 ± 373.0 | 0.02 ± 0.01 | BLQ | |
| 糞中 ENB 量 (ng) | – | 19110 ± 15000 | 28211 ± 42935 | 4.7 ± 5.1 | – | |
| 糞中総 ENB 量/投与量 (%) | – | 5.26 ± 6.44 | | 0.02 ± 0.02 | | |

Abbreviation: BLQ, below lower limits of quantitation; ENB, enniatin B.

Table 5. 発現増加した遺伝子群の代謝機能に関連する GO term

| GO Accession | GO term | No. of genes | P value |
|--------------|--|--------------|----------|
| GO:1901700 | response to oxygen-containing compound | 89 | 2.67E-14 |
| GO:0010033 | response to organic substance | 129 | 3.87E-14 |
| GO:0014070 | response to organic cyclic compound | 65 | 4.35E-14 |
| GO:0009628 | response to abiotic stimulus | 70 | 6.36E-14 |
| GO:0070887 | cellular response to chemical stimulus | 114 | 1.60E-12 |
| GO:0033993 | response to lipid | 61 | 2.60E-12 |
| GO:0009893 | positive regulation of metabolic process | 122 | 2.78E-11 |
| GO:0071310 | cellular response to organic substance | 94 | 1.02E-10 |
| GO:0031325 | positive regulation of cellular metabolic process | 113 | 1.69E-10 |
| GO:0010604 | positive regulation of macromolecule metabolic process | 112 | 6.19E-10 |
| GO:0019220 | regulation of phosphate metabolic process | 76 | 1.95E-09 |
| GO:1901698 | response to nitrogen compound | 55 | 2.75E-09 |
| GO:0006796 | phosphate-containing compound metabolic process | 112 | 2.95E-09 |
| GO:0006793 | phosphorus metabolic process | 112 | 3.17E-09 |
| GO:0051246 | regulation of protein metabolic process | 98 | 2.61E-08 |
| GO:0042493 | response to drug | 32 | 3.54E-08 |
| GO:0032268 | regulation of cellular protein metabolic process | 90 | 1.78E-07 |
| GO:0071417 | cellular response to organonitrogen compound | 31 | 3.33E-06 |
| GO:0051173 | positive regulation of nitrogen compound metabolic process | 69 | 5.27E-06 |
| GO:1901699 | cellular response to nitrogen compound | 33 | 8.58E-06 |

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

ステリグマトシスチンの迅速簡易測定法の改良と実態調査への応用

研究分担者 小西 良子 (東京農業大学)

研究要旨

本研究事業で初年度に開発したステリグマトシスチン (STC) の迅速簡易測定法である ELISA 法をさらに高感度かつ安定的に改良し、実態調査に適応できる方法として確立した。

STC の分析は精度の高い方法として LC-MS/MS 等の機器分析によって行われているが、食品や飼料等のスクリーニング等多検体を扱う検査には、高コストであり実用的ではない。初年度に開発した ELISA は、感度的には良好であるが、標準曲線の安定性においてやや問題があった。そのため、今年度は、さらなる高感度と標準曲線の安定化を目標として ELISA 法を確立した。さらに本研究で確立した ELISA を用い、回収率による妥当性評価と実態調査への応用のための前処理方法を検討した。その結果、標準品および試料を 100%メタノールで溶解し保存しておくことで ELISA にアプライ前の析出を防止することができ、安定した標準曲線と汚染実態に則した 50% 阻害濃度を得ることができた。また、実態調査の試料は多機能カラムによる前処理を行うことで LC/MS-MS の測定値と相関性の高い値を得ることができた。

A. 研究目的

ステリグマトシスチン (STC) はアフラトキシシン (AF) とともに遺伝毒性のあるマイコトキシシンに分類されている。FAO/WHO 食品添加物専門家会議 (JECFA) では、2016 年にリスク評価が行われ、ベンチマークドーズレベル $BMDL_{10}$ は $160 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ とされた¹⁾。アフラトキシシン B_1 (AFB_1) と比較すると約 1/1000 程度の発がん性と評価されている。構造的には AF と類似しているが、AF 産生菌とは異なる菌種、*Aspergillus* 属の *A.versicolor*、*A.nidulans* などにより産生される²⁾³⁾。

JECFA での評価が行われたことから、今後国内外での規格基準が定められる可能性があるため、STC の汚染実態データの蓄積が喫緊に求められている。そのため実態調査を円滑にスピーディに行うには信頼性の高い分析法、スクリーニング法が求められており、本研究では初年度得られた知見を基に、さらに高感度、安定化を目指し、実態調査に対応できる STC の ELISA を確立することとした。マイコトキシシンは分子量が小さいため、ELISA 法では、間接競合法および直接競合法が用られることが多い。間接競合法では、プレートに STC-キャリアたんぱく質のコンジュゲートを固相化して、対象物質に対する抗特異抗体サブクラス抗体を測定サンプルとコーティングした STC-キャリアたんぱく質とで競合させる手法である。一方直接競合法は、特異抗体を固相化し、測定サンプルと STC-酵素コンジュゲートを競合させる方

法である。

我々は STC と AF が構造的に似ていることに注目し両方を認識できる抗体を特異抗体として用いて、玄米および小麦粉を対象とした直接競合法 ELISA の確立を試みた。初年度は、10%メタノールにあらかじめ溶解させた標準品および試料を用いて測定法を確立したが、測定者によって標準曲線と 50% inhibitory concentration (IC_{50}) のばらつきが大きいという結果が出るようになった。そこで、安定した標準曲線が得られ、実態汚染量に則した高感度 ELISA を目指し、最終年度は、酵素-マイコトキシシンコンジュゲートの検討および実態試料の前処理方法の検討を行った。本年度確立した方法を用いて、実態調査を行い、LC-MS/MS での測定結果との比較検討も行った。

B. 研究方法

1. 材料

1-1. 玄米

2021 年度の実態調査で使用した国産玄米 (神奈川県で購入した市販品) の中で LC-MS/MS で測定した結果、STC が検出されなかったものを非汚染米として添加回収試験に用いた。玄米は、500g を粉砕機で 5~10 秒×2 回粉砕を行った後、4°C で保存した。自然汚染玄米として、2021 年度実態調査に用いた神奈川県で購入した市販品を用いた。

1-2. 小麦粉

2021 年度の実態調査で使用した小麦粉 (神奈川県で購入した市販品) の中で LC-MS/MS

で測定した結果 STC が検出されなかったものを非汚染小麦粉として添加回収試験に用いた。

1-3. STC-biotin の作成

STC とグリコール酸を強酸性溶液中で反応させ、グリコール酸誘導体 (STC-GA) を調製した。STC-GA と N'-ヒドロキシスクシニド (Thermo Scientific 社製) をジメチルホルムアミド中で反応させ、中間体を作成後、Ezlink Pentylamine Biotin (Thermo Scientific 社製) を加えた。生成物を HPLC で分取し、STC-biotin を得た。

2. 直接競合 ELISA

2-1. Aflatoxin_{B2}-Horse Radish Peroxidase conjugate (AFB₂-HRP) を用いた直接競合 ELISA

初年度に開発した方法で行った。96 穴プレート (Nunc-Immuno™Plate II、サーモフィッシャーサイエンティフィック株) の各ウェルにリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) で希釈したマウス抗 IgG ヤギ抗体 (Scientif 社製、4 μg/mL) を 100 μL ずつ加え、4°C で一晩静置した。抗体を除いた後、PBS に溶解した 0.4% ウシ血清アルブミン (BSA、和光純薬工業株式会社) を各ウェルに 300 μL ずつ加え、4°C で一晩または室温で 1 時間静置した。0.4% BSA を除いた後、各ウェルに PBS に溶解した 0.2% BSA で希釈したマウス抗 AF 抗体 (MoAb2-3、HORIBA 社から提供) (100 ng/mL) を 100 μL ずつ加え、室温で 1 時間静置した。静置後 0.02% tween 20-PBS で 1 回洗浄を行い、45 μL ずつ 0.2% BSA を各ウェル

にいれ、STC 標準品 (MAKOR CHEMICALS LTD) を最終濃度で 0.1~30 ng/mL (6 段階) になるように 100%メタノールで 10 倍濃度に溶解したものを 5 μL ずつ加えよく攪拌した。さらに各ウェルに AFB₂-HRP、(HORIBA 社から提供、最終濃度 150 ng/mL) を 50 μL ずつ加え一時間静置し競合反応させた。その後 0.02% Tween 20-PBS で 3 回洗浄を行い、TMB Substrate Reagent (BD 社) を 100 μL ずつ加え、10 分間静置した。0.5 N H₂SO₄ を 100 μL ずつ加え反応を止め、マイクロプレートリーダー (Powerscan-HT, DS Phama Biomedical 社、USA) で 450 nm および 630 nm における吸光度を測定した。

2-2. STC-biotin を用いた直接競合 ELISA

2-1.の方法でマウス抗 AF 抗体までの反応は同様に行い、AFB₂-HRP の代わりに STC-biotin を用い 1 時間反応させた後、HRP conjugated Streptavidin (proteintech Inc., USA) を 1 時間反応させ、酵素反応を行った。2-1.と同様に吸光度の測定を行った。

2-3. STC-HRP を用いた直接競合 ELISA

2-1.の方法でマウス抗 AF 抗体までの反応は同様に行い、AFB₂-HRP の代わりに STC-HRP (Creative Diagnostics, NY., USA) を用い、1 時間反応させた後、酵素反応および吸光度の測定は、2-1.と同様である。

3. 玄米および小麦粉の前処理の検討

添加回収および実態調査の対象となる玄米および小麦粉検体の前処理を、以下の 3 つの方法で検討した。

3-1. Autoprep MF-A による検討

2.5 g の玄米又は小麦粉にアセトニトリル：水（85:15）10 mL を加え 30 分間振とうし、遠心分離（3,000rpm 5 分）したものを抽出液とした。Autoprep MF-A（昭和電工（株））をメモリのついた試験管に入れ、抽出液 3 mL を加え、自然落下させた。メモリを見て 1mL まで流出液が到達したら、別の試験管にカラムを移し 1.2-1.4 mL の流出液を得た。流出液 1.0 mL をガラス製の試験管に移し、窒素気流で乾固し、100 μ L のメタノールで溶解し、ELISA に供した。

3-2. HLB Oasis の検討

HLB Oasis（6 cc/200mg, Waters, MA, USA）のコンディショニングは、メタノール及び水で行った。抽出液を窒素乾固したのち 20% アセトニトリルで再溶解し、HLB Oasis に供した。その後 70% メタノールで洗浄し、100%アセトニトリルで流出させ、窒素気流で乾固し、100 μ L のメタノールで溶解し、ELISA に供した。

3-3. 限外ろ過

90%メタノールで抽出した試料抽出液を Nanosep®centrifugal Devices with Omega 10K（Pall life science MI,USA）に入れ、12,000 rpm 10 分遠心したろ液を窒素乾固し、試料 1 g/mL 相当になるようにメタノールで溶解し ELISA に供した。

4. 玄米および小麦粉を用いた添加回収実験

4-1. 玄米を用いた添加回収試験

添加回収試験は STC 原液（50 mg/L in アセトニトリル）をメタノールで希釈し、0.25

mg/L（添加液 1）、0.075 mg/L（添加液 2）及び 0.025 mg/L（添加液 3）の溶液を 1 mL ずつ調製した。STC 非汚染玄米を 2.5g 量りとり、添加液 1,2,3 をそれぞれ 200 μ L ずつ添加し、一時間静置したのち、それぞれの前処理試料とした。STC の最終添加濃度は、それぞれ 20、6、2 μ g/kg となる。添加回収液および自然汚染米の測定も Autoprep MF-A を前処理に用いた。

4-2. 小麦粉を用いた添加回収実験

4-1.の玄米と同様の方法で添加回収試験を行った。

5.統計処理

ELISA による濃度計算は、統計処理のソフト GEN 5 (Version 2.0, Biotek, Vermont, USA) を用いた。

C. 研究結果

1. 直接競合 ELISA の改良

初年度検討した直接競合 ELISA の問題点として 1) 標準曲線が測定者によりばらつきがでる、2) 玄米の添加回収および自然汚染の測定値が玄米の種類による影響をうける、3) 自然汚染玄米の汚染濃度に適応できていない、の 3 つが挙げられた。そのため、今年度はこれらの問題を解決するため、それぞれの検討を行った。

1.1 標準品および試料のメタノール濃度の検討

初年度のプロトコールでは 10%メタノールに標準品および試料をあらかじめ溶解して、ELISA のウェルに入れる方法であったが、10%メタノールでは、STC が十分に溶けない可能性が指摘された。そのため、標準品および試料を

溶解するメタノールの濃度を上げることによる ELISA の感度への影響を検討した。図 1 で示されるように最も感度が良かったのは 10% メタノールであり、メタノール濃度を上げるにつれて感度が低下した。このことから 10% メタノールにあらかじめ溶解することをせず、10 倍濃度で 100% メタノールに溶解したものをウェル内で 0.2% BSA-PBS と混合し、最終濃度 10% メタノールにする方法を行った。その結果、測定者の違いによる標準曲線および IC₅₀ の値のばらつきが少なくなり、安定して 1.2-1.5 ng/mL の IC₅₀ が得られるようになった (図 2、表 1)。

1.2 試料の前処理の検討

玄米や小麦粉はタンパク質や脂質を含むため、ELISA において非特異的発色または発色阻害を引き起こすことがある。実態調査では、多種の玄米や小麦粉を使用することから、その品種の違いによらず、安定した測定結果を得るために、前処理の効果を検討した。検討方法としては 3 通り用いた。

Autoprep MF-A 多機能カラムを用いた場合は、回収率が良好であったが、HLB Oasis SPE カラムおよび限外ろ過法では、発色が阻害され、回収率の計算ができなかった。この結果から、汚染試料は Autoprep MF-A 多機能カラムによる前処理を行って測定することとした。

1.3 酵素—マイコトキシンコンジュゲートの検討と高感度化

高感度化を目的に 2 種類の酵素—マイコトキシンコンジュゲートを使ったプロトコールを検討した。STC-HRP と STC-biotin + Streptavidin-HRP の組み合わせである。しかし、

2 種類とも特異抗体への結合が見られず、用量依存性のある結果は得られなかった。この原因として、STC に他のタンパク質またはビオチンを結合させることにより、STC が、抗 AF 抗体に結合しにくくなるのではないかと考えられた。もし、これらのコンジュゲートを使うなら、STC に対する抗体を、2 次抗体として用いている抗 AF 抗体の代わりに独自の抗 STC 抗体を作成する必要があるだろう。

2. 回収率と汚染試料の測定結果

表 2 に、今年度確立した ELISA を用いての添加回収と汚染試料の測定結果を示した。玄米では 6 回行った回収率の平均と標準偏差は 2 μg/kg STC 添加では 114.5 ± 25.8%、6 μg/kg STC 添加では 94.6 ± 17.3%、20 μg/kg STC 添加では 121.2 ± 11.6% と 2 μg/kg STC 添加においてはややばらつきが大きい結果であったが、いずれも 90% 以上という高水準を示した。汚染玄米を用いた測定結果では 1 μg/kg 付近の汚染米でも LC-MS/MS での測定値とほぼ同等であり、5.67 μg/kg の汚染濃度の玄米ではやや高めに出たものの、スクリーニングとしては充分信頼性における結果が得られることがわかった (図 3)。

小麦粉では自然汚染試料がなかったことから、添加回収率のみの測定であったが、6 回行った平均と標準偏差は 2 μg/kg STC 添加では 117.9 ± 11.1%、6 μg/kg STC 添加では 96.0 ± 7.5%、20 μg/kg STC 添加では 91.5 ± 3.9% であり、良好な回収率であると言える (表 3)。

D. 考察

本研究の初年度に開発した STC 用 ELISA では、測定可能範囲は 0.59~13.34 ng/mL であり、IC₅₀ は 2.3 ng/mL であった。今年度改良した結

果、測定可能範囲は 0.1~10.0 ng/mL、IC₅₀ は 1.2 ng/mL となり、より高感度の系を確立することができた。汚染実態調査で検出された試料を使った実態調査への応用においても、1.17 µg/kg の STC 汚染玄米から ELISA で検出されたことは実用化に向けて大きな進歩である。

STC の ELISA は、論文上、モノクローナル抗体を用いた間接競合 ELISA⁴⁾や直接競合 ELISA⁵⁾、ポリクローナル抗体を用いた直接競合 ELISA⁶⁾ など報告例があるが、市販されている種類は少なく、また品質に問題がある。本研究では、AF と交差性を持つモノクローナル抗体を用いた ELISA ではあるが、国産の米や小麦粉では AF の汚染例は報告されていないので⁷⁾、この研究で確立した ELISA 法は国産玄米と小麦粉のスクリーニングに適用できると考えられた。

前処理については Oplatowska-Stachowiak らが米、トウモロコシ、及び小麦を対象とした ELISA を報告した時に QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged and safe) 法を用いて前処理法を行っている⁵⁾。本研究では、QuEChERS より工程数の少ない Autoprep MF-A 多機能カラム法を用いて良好な結果が得られた。STC は 85%アセトニトリルで抽出するが、ウェルに添加するときに 10%メタノール溶液を使用することから玄米、小麦粉の成分が混入する可能性は非常に高い。Autoprep MF-A 多機能カラムは、試料の 85% アセトニトリル抽出液から AF を選択する one step カラムとして開発されたものである⁸⁾。STC の精製にも有効であること、玄米、小麦粉の不純物の除去にも使用できることは、本研究で初めて実証された。

E. 結論

本研究で改良した ELISA 法は、測定可能範囲は 0.1~10.0 ng/mL であり、IC₅₀ は 1.2 ng/mL であった。玄米、小麦粉とも 2.0 µg/kg 以上では 90%以上の回収率を示し、汚染玄米を用いた測定でも LC-MS/MS との相関性が取れていることが明らかになった。このことから、国産玄米および小麦粉の STC 汚染食品のスクリーニングには充分に対応できる方法であると考えられた。

F. 参考文献

- 1) JECFA : JECFA/83/SC- 1 - JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES Eighty-third meeting. (SUMMARY AND CONCLUSIONS).2016
- 2) European Food Safety Authority (EFSA) : Scientific Opinion on the risk for public and animal health related to the presence of sterigmatocystin in food and feed. EFSA Journal. 11(6), 81, 2013, doi: 10.2903/j.efsa.2013.3254
- 3) Díaz, Nietoa, CH., Granerob, AM., Zonb, M. A., Fernández, H.: Sterigmatocystin: A mycotoxin to be seriously considered. Food and Chemical Toxicology. 118, 2018. doi:10.1016/j.fct.2018.05.057
- 4) Kong, D., Xie, Z., Liu, L., Song, S., Kuang, H., Cui, G., Xu, C.: Development of indirect competitive ELISA and lateral-flow immunochromatographic assay strip for the detection of sterigmatocystin in cereal products. Food and Agricultural Immunology. 28, 260-273, 2017, doi:

10.1080/09540105.2016.1263985

- 5) Oplatowska-Stachowiak, M., Reiring, C., Sajic, N., Haasnoot, W., Brabet, C., Campbell, K., Elliott, C. T., Salden, M. : Development and in-house validation of a rapid and simple to use ELISA for the detection and measurement of the mycotoxin sterigmatocystin . *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 410, 3017–3023, 2018. doi:10.1007/s00216-018-0988-8
- 6) Singh, G., Ligia Velasquez, L., Huet, A., Delahaut, P., Gillard, N., Koerner, T., Development of a polyclonal antibody-based indirect competitive ELISA for determination of sterigmatocystin in wheat and corn flours, *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 36(2):327-335. 2019
- 7) Yoshinari, T., Takeuchi, H., Kosugi, M., Taniguchi, M., Waki, M., Hashiguchi, S., Fujiyoshi, T., Shichinohe, Y., Nakajima, M., Ohnishi, T., Hara-Kudo, Y., Sugita-Konishi, Y. : Determination of sterigmatocystin in foods in Japan: method validation and occurrence data. *Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment*. 36(9), 1404-1410, 2019, doi: 10.1080/19440049.2019.1628359
- 8) Tanaka, K., Sapou, Y., Naito, S., Kushiro,

M., Nakagawa, H., Preparation of a reference material containing sterigmatocystin. *Food Additives & Contaminants: Part A* Volume 25, 2008

F. 健康危機情報
特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Takashima, K., Nakajima, K., Saori Shimizu, S., Ojima, R., Tang, Q., Okano, H., Takahashi, Y., Ozawa, S., Jin, M., Yoshinari, T., Yoshida, T., Sugita-Konishi, Y., Shibutani, M., Disruption of postnatal neurogenesis and adult-stage suppression of synaptic plasticity in the hippocampal dentate gyrus after developmental exposure to sterigmatocystin in rats. *Toxicol Lett*, 349, 69-83. doi: 10.1016/j.toxlet.2021.06.006.

2. 学会発表

1) 吉成知也、小西良子、他 市販 ELISA kit によるタイプトリコテセン系カビ毒の迅速簡易測定法の検討 第 117 回日本食品衛生学会 学術講演会, 2021.11 月

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし

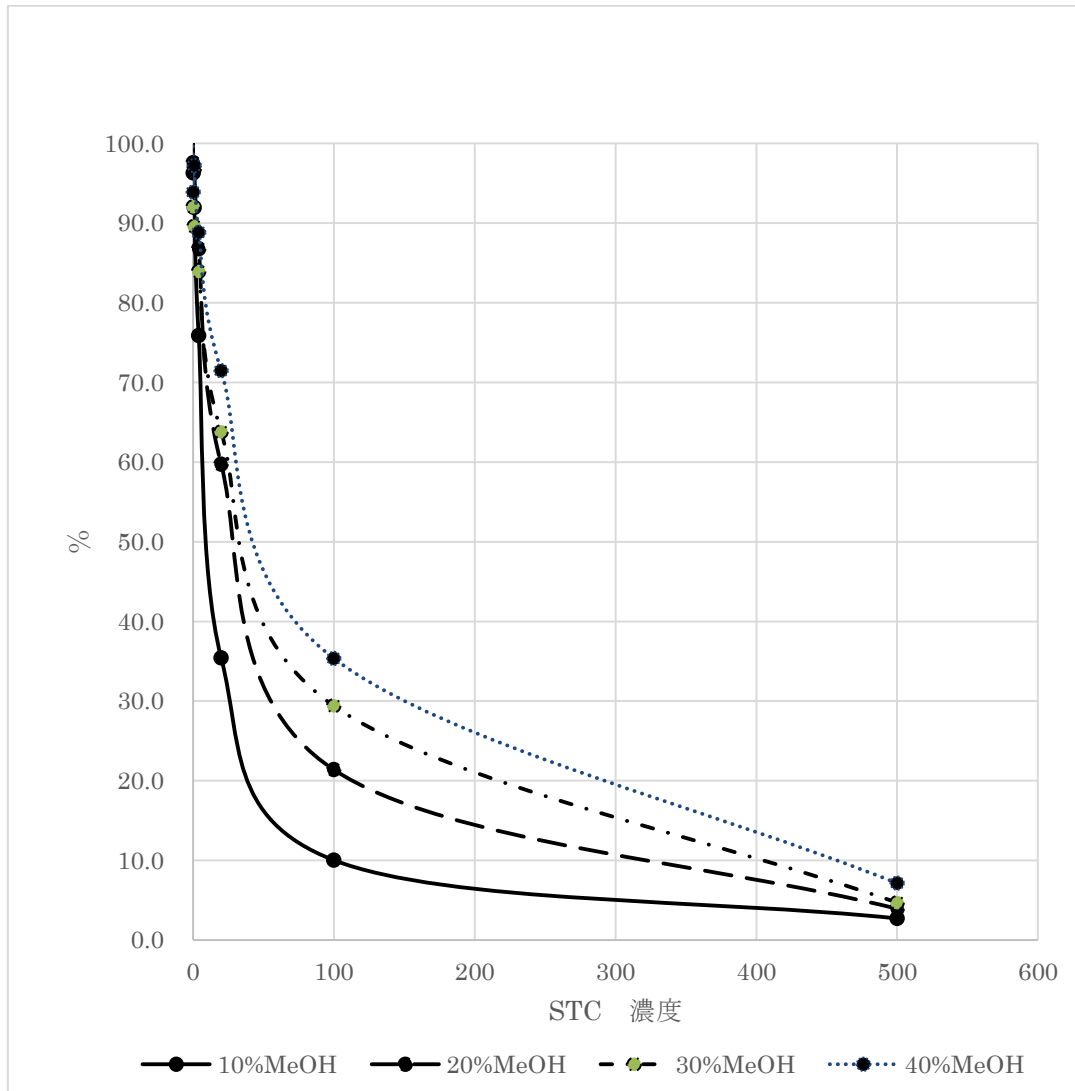


図 1. ELISA に供する試料および標準品のメタノール溶液濃度の検討

STC: ステリグマトシスチン

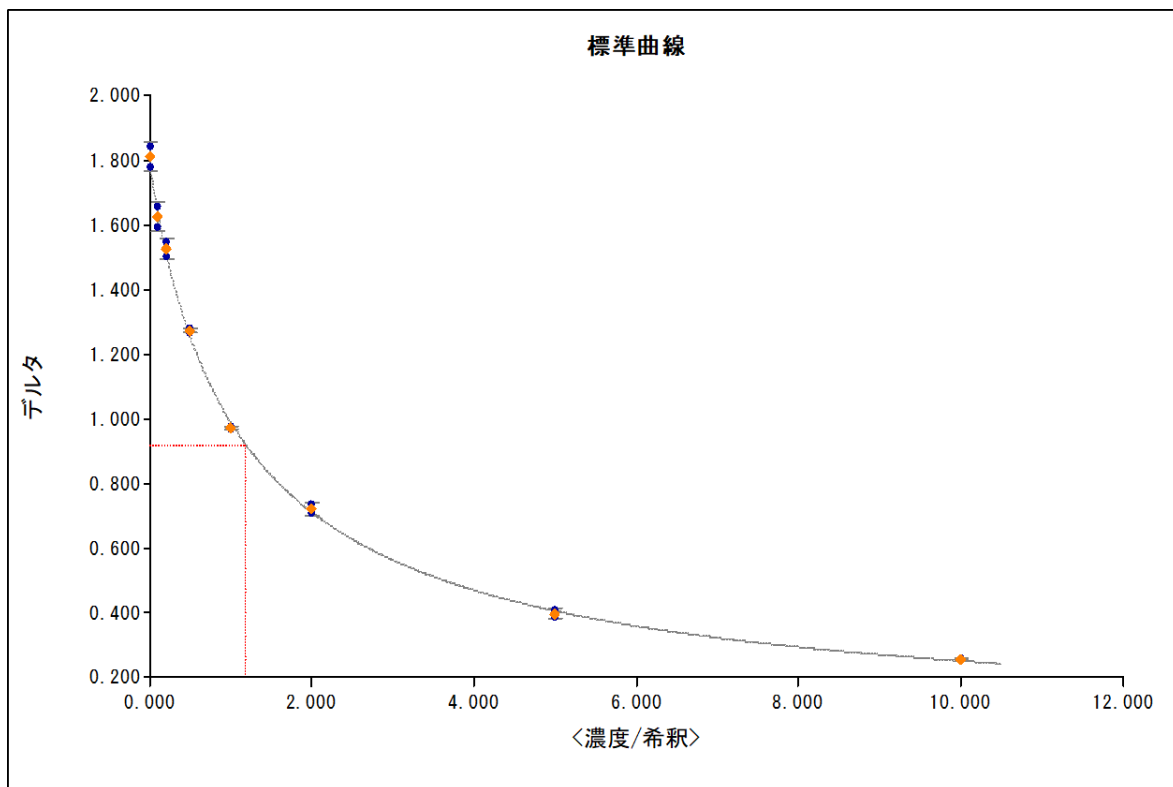


図 2. 改良した ELISA による標準曲線
50 % Inhibitory Concentration=1.19 ng/mL

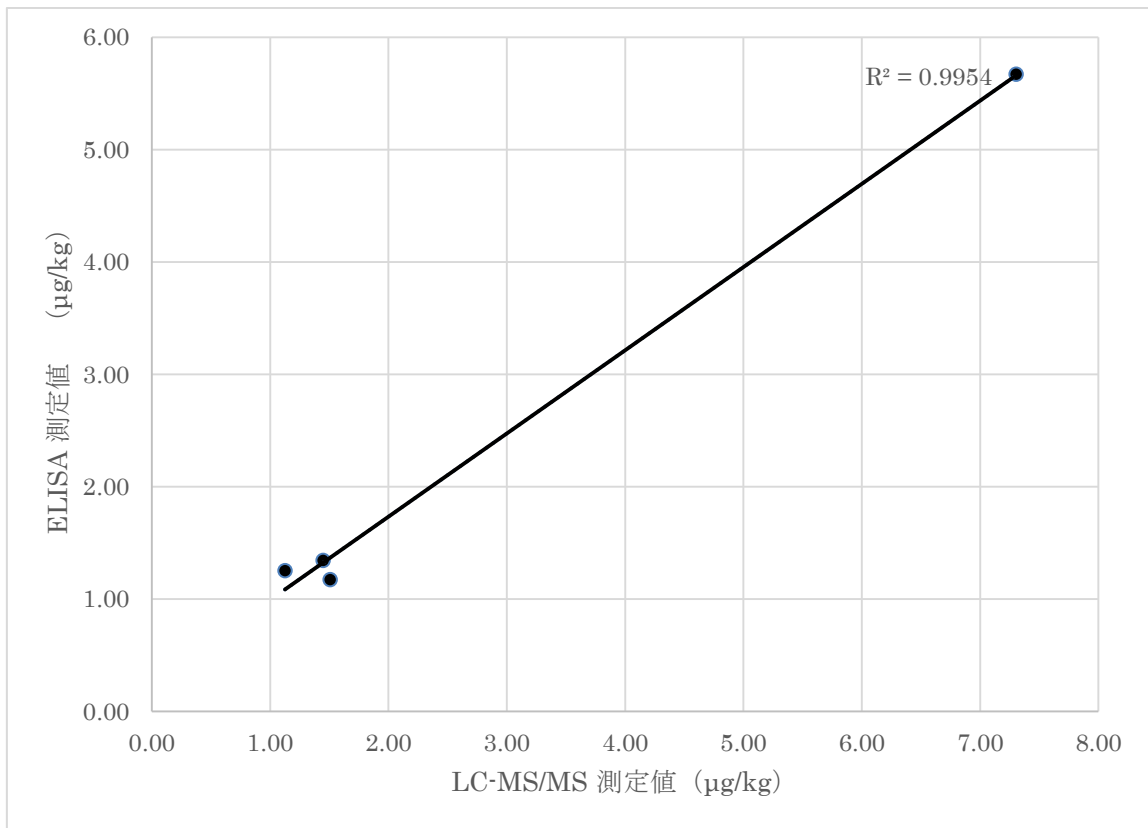


図 3. 汚染玄米における ELISA と LC-MS/MS の相関性

表 1. 改良した STC ELISA のプロトコール

| |
|--|
| 1. 96 well ELISA 用 plate に Goat anti-mouse IgG (H+L) Secondary antibody を 5-10 μ g/mL in PBS に調製し、100 μ L/ウェルでまく。 |
| 2. 4 $^{\circ}$ C 下一晩インキュベート後、ウェル内の液を捨てる。 |
| 3. 0.4 % BSA を 300 μ L/ウェル入れ、1 時間室温で放置後、ウェル内の液を捨てる。 |
| 4. Mouse anti- AFs antibody (50 ng/mL) in 0.2% BSA in PBS を 100 μ L/ウェル入れ、1 時間室温で放置する。 |
| 7. 0.02% Tween 20 in PBS 350 μ L/well 洗浄 1 回 |
| 8. well に 0.2% BSA in PBS を 45 μ L / well 入れ、STC standard または試料 in 100 % methanol を各 well に 5 μ L/well 入れて、よく攪拌する。 |
| 9. すぐ AFB ₂ -HRP in 0.2% BSA in PBS(最終濃度 150 ng/mL)を、50 μ L/well 入れる。 |
| 10. 1hr. RT |
| 11. 0.05% Tween 20 in PBS 350 μ L/well 洗浄 3 回 |
| 12. TMB 基質溶液 (BD 製、A+B を等量混合) を作成して 100 μ L/well 入れる。 |
| 13. 0.5N H ₂ SO ₄ を 100 μ L/well 入れる。 |
| 14. ELISA reader 450 nm (バックグラウンド 630 nm) で測定 |

表 2. 玄米における回収率と汚染試料の測定値

A) 添加回収試験

| 添加量 | 測定値 (ng/g) | 回収率 (%) | 平均±標準偏差 (%) |
|----------|------------|---------|-------------|
| 2 µg/kg | 2.63 | 131.6 | 114.5±25.8 |
| | 2.83 | 141.5 | |
| | 2.79 | 139.3 | |
| | 1.99 | 99.3 | |
| | 1.70 | 84.9 | |
| | 1.81 | 90.5 | |
| 6 µg/kg | 6.09 | 101.4 | 94.6±17.3 |
| | 5.71 | 95.2 | |
| | 6.98 | 116.3 | |
| | 5.40 | 90.1 | |
| | 3.86 | 64.3 | |
| | 6.03 | 100.5 | |
| 20 µg/kg | 21.14 | 105.7 | 121.2±11.6 |
| | 21.58 | 107.9 | |
| | 25.28 | 126.4 | |
| | 26.79 | 133.9 | |
| | 25.02 | 125.1 | |
| | 25.64 | 128.2 | |

B) 自然汚染検体

| 玄米検体 | ELISA 測定値 (ng/g) | LC-MS/MS 測定値 (ng/g) |
|-------|------------------|---------------------|
| 自然汚染① | 1.40 | 1.34 |
| 自然汚染② | 1.08 | 1.25 |
| 自然汚染③ | 6.92 | 5.67 |
| 自然汚染④ | 1.46 | 1.17 |

表 3. 小麦粉における回収率

| 添加量 | 測定値 (ng/mg) | 回収率 (%) | 平均±標準偏差 (%) |
|----------|----------------|---------|-------------|
| 2 µg/kg | 2.10 | 105.1 | 117.9±11.1 |
| | 2.19 | 109.7 | |
| | 2.48 | 124.0 | |
| | 2.44 | 121.9 | |
| | 2.70 | 135.1 | |
| | 2.23 | 111.5 | |
| 6 µg/kg | 6.19 | 103.2 | 96.0±7.5 |
| | 5.73 | 95.6 | |
| | 5.50 | 91.6 | |
| | 5.66 | 94.4 | |
| | 5.14 | 85.6 | |
| | 6.35 | 105.9 | |
| 20 µg/kg | 17.56 | 87.8 | 91.5±3.9 |
| | 18.01 | 90.1 | |
| | 18.09 | 90.5 | |
| | 17.77 | 88.8 | |
| | 18.73 | 93.6 | |
| | 19.69 | 98.4 | |

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

国内流通穀物におけるカビ毒複合汚染のリスク因子の解明

研究分担者 渡辺 麻衣子 (国立医薬品食品衛生研究所)

研究要旨

国内で流通するハトムギおよびライムギにおけるカビ毒の複合汚染の程度、汚染カビ毒の種類傾向およびカビ毒の中でも特にタイプ A トリコテセン系化合物の汚染原因菌を把握することを目的として、市場から購入収集したハトムギおよびライムギにおいて各種カビ毒汚染量を調査し、それらの汚染程度が高かった検体からの *Fusarium* 属菌の分離・同定を行った。さらに、分離株の培養液中のトリコテセン系化合物の分析を行った。国内流通ハトムギのカビ毒汚染量調査の結果、輸入品では 4,15-ジアセトキシシルペノール (4,15-DAS)、ニバレノール (NIV)、ステリグマトシチン (STC)、アフラトキシン B1 (AFB1) およびビューベリシン (BEA) の複合汚染リスクが、国産品では T-2 トキシン、HT-2 トキシン、デオキシニバレノール (DON)、NIV および BEA の複合汚染リスクが、それぞれ高いことが示唆された。国内流通ライムギにおいては、4,15-DAS を除く今回調査した全ての *Fusarium* トキシンにおいて、海外産よりも国内産で汚染濃度が高い傾向にあることが示され、特に DON およびエンニアチン類 (ENs) でその傾向が強かった。続いてこれらの試料からの分離株のタイプ A トリコテセン系化合物の産生性調査の結果、海外産ハトムギからは 4,15-DAS のみを産生する *F. incarnatum* 菌株が、国内産ハトムギからはタイプ A トリコテセン系化合物のうち T-2 トキシン、HT-2 トキシン、4,15-DAS を同時に産生する *F. armeniacum* および *F. sporotrichioides* 菌株、および T-2 トキシンまたは 4,15-DAS のどちらかのみを産生する *F. incarnatum* 菌株が分離された。ライムギ試料では、海外産からは *Fusarium* 属菌を分離することができず、国内産のからのみ T-2 トキシン、HT-2 トキシンおよび 4,15-DAS を同時に産生する *F. sporotrichioides* が分離された。このことは、2 年間連続で調査を実施したハトムギにおいて、年をまたいでの再現性があることも確認された。これらがそれぞれの穀類を汚染するフザリウムトキシン汚染のリスク因子となっている可能性が示唆された。

研究協力者

吉成 知也 国立医薬品食品衛生研究所
高橋 治男 国立医薬品食品衛生研究所
平山 美咲 千葉大学真菌医学研究センター
矢口 貴志 千葉大学真菌医学研究センター
伴 さやか 千葉大学真菌医学研究センター

A. 研究目的

タイプ A トリコテセン系化合物は新興カビ毒として近年関心が高まっており、2016 年 FAO/WHO 合同食品規格委員会では、T-2/HT-2 トキシンのグループ PMTDI 0.06 µg/kg 体重/日に 4,15-ジアセトキシシルペノール (4,15-DAS) も含めるとされたり。これら 3 種のカビ毒汚染レベルを複合的に評価する必要がある。また、国内流通穀類においてはデオキシニバレノール (DON) やニバレノール (NIV) といったタイプ B トリコテセン系化合物の汚染があることが広く知られている。トリコテセン系化合物の主な産生菌は *Fusarium* 属菌であるが、このカビは一部の菌種が複数種類の *Fusarium* トキシンを産生することが知られており²⁾、また同一の農作物から複数の *Fusarium* 属菌が同時に検出されることも多い。このことから、穀類など *Fusarium* 属菌汚染が多い農作物は、複数種類のカビ毒の複合汚染のリスクがあることを念頭に置く必要がある。汚染実態の詳細が明らかになっていないタイプ A トリコテセン類を中心に、*Fusarium* トキシンの複合汚染のリスク因子の解明が急務である。

農作物を汚染するカビ毒産生菌は、菌種によってそれぞれ、寄生する植物種や分布する地域の気候や地理的条件、産生するカビ毒の種類などが異なる。これらのカビ毒の汚染を受けた食品から汚染の原因となった産生菌を分離して、分離株の同定を行い、産生するタイプ A トリコテセンの種類、および産生性の強度を調査することによって、どういった食品で複合汚染や高濃度汚染が起こりやすいのかを把握し、詳細な複合汚染のリスク因子を解明することが可能となる。タイプ A トリコテセン系化合物は *Fusarium* 属菌の複数菌種において産生性が知られるが、T-2 トキシ、HT-2 トキシ、および 4,15-DAS の全てを産生する菌種もあれば (*Fusarium sporotrichioides*、*Fusarium poae*、*Fusarium armeniacum* 等)、

いずれかのみを産生する菌種もある (*Fusarium incarnatum*、*Fusarium sambucinum* 等)。昨年度の本課題の研究結果から、国内流通ハトムギのうち、海外産ハトムギではタイプ A トリコテセン系化合物の中では 4,15-DAS のみの汚染リスクが高く、国内産ハトムギでは T-2 トキシ、および HT-2 トキシンの汚染リスクが高かった。加えて、海外産ハトムギではアフラトキシ (AF) およびステリグマトシスチン (STC) といった *Aspergillus* 属カビ毒の汚染レベルも高い傾向があった。海外産ハトムギからは 4,15-DAS のみを産生する *F. incarnatum* が、国内産ハトムギからは、T-2 トキシ、および HT-2 トキシを産生する *F. sporotrichioides* および *F. armeniacum* が分離された。ハトムギにおいては、海外産と国内産とで分布するカビ毒産生菌の種類が異なり、カビ毒汚染リスクが異なることが示唆された。

そこで、本年度は、昨年度に引き続きハトムギを調査することによって海外産と国内産との間のカビ毒汚染リスクの違いの年次変動の有無を明らかにすること、および昨年度までの実態調査の結果から国内流通製品がタイプ A トリコテセン類に汚染していることが明らかとなっているライムギを調査対象に加え、昨年度と同様の手法で検討を行った。*Fusarium* 属菌の分離効率を高めるため、第一段階としてハトムギおよびライムギ試料のタイプ A トリコテセン類の汚染濃度を確認し、第二段階として汚染レベルが高かった試料から *Fusarium* 属を分離し、分離株の同定およびカビ毒産生性を調査したので、その成果を報告する。

B. 研究方法

(1) 各種カビ毒に汚染されたハトムギおよびライムギ試料の探索

国内の小売店から、ハトムギの輸入品 10 検体および国産品 15 検体の計 25 検体、ライムギの輸入品 19 検体および国産品 9 検体の計 28 検体

を購入して収集した。産地の内訳は表 1 および表 2 に示した。収集した粒状のハトムギおよびライムギをミキサーで粉碎し、粉末状にした。この粉末をカビ毒の分析に用いた。

トリコテセン系化合物に加えて、*Fusarium* トキシシンでありトリコテセン類との複合汚染が予測されるエンニアチン類 (ENs) およびビューベリチン (BEA)、および穀類における高濃度汚染がしばしばみられるアフラトキシシン (AF) およびステリグマトシスチン (STC) の汚染調査を行った。

ハトムギおよびライムギ試料中の AF および STC の測定は以下の通り実施した。ハトムギまたはライムギ 7.5 g にアセトニトリル：水 (85 : 15) 30 mL を加え、30 分振盪し抽出液を得た。これをイムノアフィニティーカラム (IAC ; AFLAKING、堀場製作所) を用いて精製した。抽出液 5.0 mL をピペッターで 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。溶出液を窒素気流により乾固後、残渣をアセトニトリル 0.5 mL で溶解後、さらに蒸留水 0.5 mL 加えてから混合したものを試験溶液とした。試験溶液中のカビ毒を LC-MS/MS により定量した。LC-MS/MS の測定条件は以下の通りとした；

HPLC

カラム : InertSustain C18

2.1×150 mm、3 μm

カラム温度 : 40°C

移動相 : A 2 mmol/L 酢酸アンモニウム

B メタノール

分離条件 : 0 分 A : B = 60 : 40

13 分 A : B = 10 : 90

流速 : 0.2 mL/分

注入量 : 10 μL

MS

イオン化 : ESI positive

モニタリングイオン : 325 [M+H]⁺>281

ハトムギおよびライムギ試料中の ENs 類の測定は以下の通り実施した。測定対象をエンニアチン A (ENA)、エンニアチン A1 (ENA1)、エンニアチン B (ENB)、エンニアチン B1 (ENB1) および BEA とした。ハトムギ 2.5 g にアセトニトリル：水 (85 : 15) 25mL を加え、30 分間振盪し抽出液を得た。この抽出液 400 μL に精製水 800 μL を加えて希釈し、遠心分離を行った。この希釈液 900 μL をメタノール 3 mL と精製水 3 mL で平衡化した C18 カートリッジ (SepPak Vac C18 200 mg、Waters 社) で精製した後、10%アセトニトリル水溶液 3 mL と 50%アセトニトリル水溶液 3 mL で洗浄後、90%アセトニトリル水溶液 1.5 mL で溶出したものを試験溶液とした。試験溶液中の ENs および BEA を LC-MS/MS により定量した。LC-MS/MS の測定条件は以下の通りとした；

HPLC

カラム : Inertsil ODS-3

2.1×150 mm、3 μm

カラム温度 : 40°C

移動相 : A 2 mmol/L 酢酸アンモニウム

B アセトニトリル

分離条件 : 0 分 A : B = 30 : 70

20 分 A : B = 20 : 80

22 分まで保持

流速 : 0.2 mL/分

注入量 : 5 μL

MS

イオン化 : ESI positive

モニタリングイオン :

ENA 699>210、682

ENA1 685>210、668

ENB 657>196、640

ENB1 671>196、654

BEA 801>134、784

ハトムギおよびライムギ試料中のタイプ A トリコセテン類の測定は以下の通り実施した。ハト

ムギ 7.5 g に 85%アセトニトリル 30 mL を加え、30 分振盪し抽出液を得た。この抽出液約 10 mL を多機能カラム（昭和電工社製 AutoprepMF-T 1500）を用いて精製した。最初の流出液 3 mL を捨て、次いで流出する約 2.4 mL を試験管に採り、続く分析に用いた。その溶出液から 2.0 mL を別の試験管に分取し、窒素気流により乾固後、残渣をアセトニトリル：水（1：9）0.5 mL で溶解したものを試験溶液とした。試験溶液中のタイプ A トリコセテン類を LC-MS/MS により定量した。LC-MS/MS の測定条件は以下の通りとした；

HPLC

カラム：Inertsil ODS-3
2.1×150 mm、3 μm
カラム温度：40°C
移動相：A 2 mmol/L 酢酸アンモニウム
B メタノール
分離条件：0 分 A : B = 50 : 50
20 分 A : B = 10 : 90
11 分まで保持
流速：0.2 mL/分
注入量：2 μL

MS

イオン化：ESI positive
モニタリングイオン：
T-2 トキシシン 484>305、215
HT-2 トキシシン 442>215、187
4,15-DAS 657>307、247

ハトムギおよびライムギ試料中のタイプ B トリコセテン系カビ毒の測定は以下の通り実施した。ハトムギ 5 g に水 20 mL を加え 30 分間振盪し抽出液を得た。上清 5 mL に PBS 25 mL を加え、この希釈液 12 mL に PBS 10 mL および D.W. 10 mL を加えたものをカラムで精製した。精製後、メタノール 50 μL およびアセトニトリル 1.5 mL で溶出し窒素乾固を行った。その後、LC-MS/MS を用いて測定した。LC-MS/MS の測定条件は以下の通りとした；

HPLC

カラム：Inertsil ODS-3
2.1×150 mm、3 μm
カラム温度：40°C
移動相：A 2 mmol/L 酢酸アンモニウム
B アセトニトリル
分離条件：0 分 A : B = 95 : 5
8 分 A : B = 10 : 90
10 分まで保持
流速：0.2 mL/分
注入量：5 μL

MS

イオン化：ESI negative
モニタリングイオン：
DON 295>265
NIV 371>281
3-アセチル DON (3ADON) 337>307
15-アセチル DON (15ADON) 337>150

(2) カビ毒汚染レベルが高いハトムギおよびライムギ試料からの *Fusarium* 属菌株の分離

Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol 寒天培地 (DRBC 寒天培地、Difco) 平板上に、供試したハトムギおよびライムギを 1 枚のプレートに 5 粒ずつ計 50 粒を置き、25°C で 7 日間培養した。この際、事前に 70%エタノールで 30 秒間洗浄し、食品表面に付着した真菌を除いてから培養に供した。培養後、生育したコロニーを目視によって観察し、*Fusarium* 属様コロニーをポテトデキストロース寒天 (PDA、栄研化学) 平板培地に釣菌して分離した後、25°C で 1~2 週間培養した。

(3) 分離された *Fusarium* 属菌株の同定

PDA 平板上に生育したコロニーの色調等性状を目視で観察した。さらにカーネーションリーフ・アガー培地に接種し 25°C で 7 日間培養後、プレパラートを作製して顕鏡し、孢子形状、孢子

形成様式等を観察した。また、分離株菌体を 2 mL マイクロチューブに入れたポテトデキストロース液体培地 (PDB) 1 mL に接種し、25°C で 2 晩培養後、得られた菌体から Maxwell RSC Plant DNA Kit (プロメガ株式会社) で DNA を抽出した。これを用いて β -tubulin および EF-1 α 遺伝子の PCR およびシーケンスを行った。この際プライマーは、 β -tubulin 遺伝子では Btu_F-F01

(5'-CAGACCGGTCAGTGC GTAA-3') および Btu_F-R01 (5'-TTGGGGTTCGAACATCTGCT-3')³⁾、EF-1 α 遺伝子では EF-11 (5'-ATGGGTAAGGARGACAAGAC-3') および EF-2 (5'-GGARGTACCAGTSATCATGTT-3')⁴⁾を用いた。得られた形態学的特徴および遺伝子塩基配列の解析結果を参照し、菌種の同定を行った。分離株は PDA 斜面培地に接種して 25°C で 7 日間前培養し、4°C で保存した。

(4) 分離された *Fusarium* 属菌株のトリコテセン系カビ毒産生性の検討

(3) で同定した *Fusarium* 属菌株について、トリコテセン系カビ毒の産生能を持つ菌種であった場合に、タイプ A およびタイプ B トリコテセンの産生量を調査した。前培養として角田培地に PDA 斜面培地で生育した菌体を接種して振盪培養で 25°C 1 日間培養した。この培養液を 200 mL 三角フラスコに入れた角田培地 30 mL に 100 μ L 接種し、25°C で 7 日間静置培養した。その培養物に 85%アセトニトリル 40 mL を加え振盪して得た抽出物を、50%メタノールを用いて 100~1,000 倍に適宜希釈し、(1) で上述の条件にて LC-MS/MS によって T-2 トキシン、HT-2 トキシン、4,15-DAS、DON、NIV、3ADON、15ADON および ENB の測定を行った。

C. 研究結果

(1) ハトムギ試料中のカビ毒検出量の評価

今回供試したハトムギ試料中のカビ毒分析の結果を表 1 に示した。輸入ハトムギ 10 検体からは、100%の検出率で 4,15-DAS (検出濃度の幅は 0.8-16.1 μ g/kg) が、および 80.0%の検出率で LOQ 以上の STC (検出濃度の幅は LOQ 未満-3.5 μ g/kg) が検出され、これらのカビ毒の検出量の平均値は国産品と比較して有意に高かった (4,15-DAS ; $p=0.004$ 、STC ; $p=0.05$)。また海外産ハトムギ群では 50.0%の検出率で AFB1 が検出された (検出濃度の幅は LOQ 未満-1.4 μ g/kg) ことに対して、国内産ハトムギ群では今回調査した全検体から LOQ 以上の検出は確認されず、有意な差ではなかったものの、海外産ハトムギでは国産品よりも比較的 AFB1 が検出される傾向が強いことが示された。国内産ハトムギ 15 検体からは、73.3%の検出率で HT-2 (検出濃度の幅は LOQ 未満-12.4 μ g/kg) が、100%の検出率で DON (0.6-36.9 μ g/kg) がそれぞれ検出され、これらのカビ毒の検出量の平均値は国産品と比較して有意に高かった (HT-2 ; $p=0.005$ 、DON ; $p=0.005$)。また国内産ハトムギ群では 93.3%の検出率で T-2 トキシシンが検出された (検出濃度の幅は LOQ 未満-18.80 μ g/kg) ことに対して、海外産ハトムギ群では今回調査した全検体から LOQ 以上の検出は確認されず、有意な差ではなかったものの、輸入品ハトムギでは国産品よりも比較的 T-2 トキシシンが検出される傾向が強いことが示された。また NIV については海外産および国内産の全検体から 1.4-233 μ g/kg の濃度で検出され、BEA については海外産で 90.0%、国内産で 93.3%のハトムギ検体から検出され (検出濃度の幅は LOQ 未満-62.7 μ g/kg)、海外産および国内産の両群から検出される頻度は高かった。以上のことから、国内流通ハトムギにおいては、輸入品では 4,15-DAS、NIV、STC、AFB1 および BEA の複合汚染リスクが、国産品では T-2 トキシシン、HT-2 トキシシン、DON、NIV および BEA の複合汚染リスクが、それぞれ高いことが示唆さ

れた。

(2) ライムギ試料中のカビ毒検出量の評価

供試したライムギ試料中のカビ毒分析の結果を表 2 に示した。海外産ライムギ群および国産品ライムギ群の結果を比較したところ、*Aspergillus* トキシンの STC および AFB1 については特段検出頻度や濃度に傾向の差は見られなかったが、4,15-DAS を除く今回調査した全ての *Fusarium* トキシンのについては、有意な差ではなかったものの、検出率および検出濃度の平均値は国産品の方が高かった。また国産品群からは DON で平均値±SD は 439.4±797.7 µg/kg、BEA で平均値±SD は 3.6±6.6 µg/kg、ENA で平均値±SD は 2.6±4.7 µg/kg、ENA1 で平均値±SD は 22.7±35.6 µg/kg、ENB で平均値±SD は 817.9±1189.6 µg/kg、ENB1 で平均値±SD は 223.7±344.0 µg/kg の濃度で検出され、海外産群の平均値よりも 10 倍以上高く検出された。以上のことから、国内流通ライムギについては、4,15-DAS を除く今回調査した全ての *Fusarium* トキシンの汚染濃度は、海外産よりも国内産の方が高い傾向にあり、特に DON および ENs でその傾向が強いことが示された。

(3) ハトムギおよびライムギ試料から分離された *Fusarium* 属菌種およびフザリウムトキシンの産生性

ハトムギ試料 (表 1) およびライムギ試料 (表 2) 中のカビ毒分析の結果を参照し、タイプ A トリコテセン系化合物の検出量が多かったまたは特徴的であったハトムギ 7 検体 (33-HT01、33-HT04、33-HT05、33-HT10、33-HT13、33-HT21、32-HT25) およびライムギ 3 検体 (33-RY10、33-RY18、33-RY25) を用いて *Fusarium* 属菌の分離を試みた。その結果、ハトムギからは計 42 株、ライムギからは計 30 株の *Fusarium* 属菌がそれぞれ分離された。これら

の分離株を培養し、培養液中の T-2 トキシン、HT-2 トキシン、4,15-DAS、DON、NIV、3ADON、15ADON および ENB を測定し、いずれか 1 種類以上のカビ毒の産生性が認められた分離株については、同定を行った。その結果をハトムギ由来株については表 3 に、ライムギ由来株については表 4 に示した。輸入ハトムギからはタイプ A トリコテセン系化合物の産生菌の *F. incarnatum* のみが 2 株検出され、これらの株は 4,15-DAS の産生性のみを有した。国内産ハトムギからはタイプ A トリコテセン系化合物の産生菌の *F. armeniacum*、*F. sporotrichioides* および *F. incarnatum* が検出され、*F. armeniacum* は T-2 トキシンおよび 4,15-DAS を、*F. sporotrichioides* は T-2 トキシン、HT-2 トキシンおよび 4,15-DAS をそれぞれ同時に産生した。*F. incarnatum* は T-2 トキシンまたは 4,15-DAS のどちらかのみを産生する菌株が検出された。以上のことから、今回供試した検体では、海外産ハトムギと比べ、国内産ハトムギでは菌種の多様性がみられた。今回供試したハトムギ検体からは、タイプ B トリコテセン系化合物および ENB の産生能を有する菌株は分離されなかった。ライムギ試料では、国内産の 1 検体 (33-RY25) からのみ *Fusarium* 属菌を分離することができた。タイプ A トリコテセン系化合物の産生菌の *F. sporotrichioides* が 8 株検出され、これらの株は T-2 トキシン、HT-2 トキシンおよび 4,15-DAS を同時に産生した。またタイプ B トリコテセン系化合物の産生菌の *Fusarium graminearum* が 2 株検出され、これらの株は DON、3ADON および 15ADON を同時に産生した。さらに ENB 産生能を有する *Fusarium avenaceum* が 9 株検出された。

全ての分離株のうち、タイプ A トリコテセン系化合物 3 種全ての産生性が最も高かったのは、国内産ハトムギ試料 33-HT01 から分離された *F. sporotrichioides* の T-2 トキシン 2368 mg/kg、

HT-2 トキシン 484 mg/kg、および 4,15-DAS 76 mg/kg であった。この株の 3 種のタイプ A トリコテセン系化合物の合算値は 2928 mg/kg となり、昨年度および今年度分離されたハトムギ由来の *F. sporotrichioides* および *F. armeniacum* の全菌株中最も高く、他の菌株のおおよそ 10 倍程度の産生量であることを確認した。

D. 考察

今回調査の対象とした *Fusarium* トキシンについて、主な産生菌種はそれぞれ T-2 トキシンおよび HT-2 トキシンでは *F. sporotrichioides*、*Fusarium langsethiae*、*F. poae*、*F. armeniacum*、*Fusarium equiseti* など、4,15-DAS では *F. equiseti*、*F. sporotrichioides*、*F. armeniacum*、*F. langsethiae*、*F. poae*、*F. incarnatum*、*F. sambucinum* などである。3 種全てを生産する *F. sporotrichioides* などが広く分布していることから、3 種のタイプ A トリコテセン類の複合汚染のケースが、多くの穀物で確認されている。今回調査したライムギ試料もこれと一致する結果となった (表 2)。このことから、これらの合計値でのリスク評価を実施する国も多い。その一方で、*F. incarnatum*、*F. sambucinum*、*Fusarium venenatum* は 4,15-DAS を産生するが T-2 トキシンおよび HT-2 トキシンの産生性の報告はほとんど無く^{5,6)}、タイプ A トリコテセン系化合物の中でも、汚染原因菌は必ずしも共通ではない。汚染プロファイルを 3 種のカビ毒で確認することによって、汚染原因菌を推定することが可能となる場合がある。

本研究の結果から、タイプ A トリコテセン系化合物については、ハトムギ試料においては、2 年間の調査結果にわたって、4,15-DAS だけが国産品と比較して輸入品から有意に高い濃度で検出されたのに対して、T-2 トキシンおよび HT-2 トキシンでは逆に輸入品と比較して国産品から

明らかに高く検出される傾向となり、タイプ A トリコテセンの 3 者の間で検出傾向は一律ではなかった。このことから、4,15-DAS は同じタイプ A トリコテセンであっても T-2 トキシンおよび HT-2 トキシンとは汚染原因菌が異なり、ハトムギの産地ごとにカビ毒の汚染プロファイルが異なる要因は、汚染原因菌の違いによるものであることが考えられた。本研究では、実際に 2 年間の調査にわたって、4,15-DAS のみを産生する *F. incarnatum* が分離された (表 4)。以上のことから、海外産ハトムギでは、4,15-DAS 汚染原因菌は *F. incarnatum* が輸入ハトムギの 4,15-DAS 汚染原因菌の候補であると考えられる。また、輸入品からの *F. incarnatum* 以外の汚染原因菌分離も目指しての検討を継続する必要があるが、過去 2 年間の調査結果から、海外産ハトムギおよびライムギ試料からは、複数種類のフザリウムトキシンが 10 µg/kg 以上の濃度で検出されたにもかかわらず (表 5)、分離できた *Fusarium* 属菌は *F. incarnatum* および *F. verticillioides* のみであった。このことから、収穫から販売に至るまでの間の保管等の条件により、菌が減衰または死滅していた可能性が考えられた。今後はサンプル入手の条件を検討し、これらのカビ毒の汚染原因菌を分離し、特定を進める必要がある。

今回の調査結果から、海外産ハトムギからは 2 年間の調査を通じて T-2 トキシンおよび HT-2 トキシンはほとんど検出されなかったが (表 5)、海外産ライムギからは、検出率 68.4 および 47.4%、最大 16.20 mg/kg で検出された (表 6)。さらに、タイプ A トリコテセン系化合物の T-2 トキシン・HT-2 トキシン・4,15-DAS の複合汚染の原因菌としては、海外産ハトムギにおいては *F. incarnatum*、国内産ハトムギおよびライムギにおいては *F. sporotrichioides* および *F. armeniacum* が、それぞれ汚染の原因菌となっていた可能性が示された。ハトムギにおいては 2

年間の調査によって年をまたいでの再現性があることも確認された。ハトムギ・ライムギ試料中のタイプ A トリコテセン系化合物の汚染プロファイルの差異と、これらの検出された *Fusarium* 属菌の種類は関連していると考えられ、この菌種の違いがそれぞれの穀類のフザリウムトキシン汚染のリスク因子の一端となっている可能性が示唆された。

海外産ハトムギは東南・東アジア諸国産である一方で、海外産ライムギは北米およびヨーロッパ諸国産であり、この傾向の違いは、農作物の種類に特有であるのか、産地の地理的条件によるものであるのか、詳細は不明である。これを解明することは、タイプ A トリコテセン系化合物の農作物汚染のリスク因子解明およびリスク軽減策の作出につながると期待できることから、ハトムギ以外でも、温暖な地域で生産される品目のタイプ A トリコテセン汚染状況を、文献調査および分析による実態調査によって検討するなど、継続した調査が必要である。

E. 結論

本研究の結果から、国内に流通するハトムギおよびライムギ製品では、作物の種類や生産地によって、*Aspergillus* トキシンおよび *Fusarium* トキシンの汚染状況、および汚染原因菌の種類に偏りが存在することが明らかとなった。今後、ハトムギおよびライムギ製品から受けるヒトのフザリウムトキシンの摂取リスクに注視しつつ、より多検体を供試した検討を継続し、これらの偏りが有意な差であることを確認する必要がある。さらには、作物の種類や生産地によって分布する *Fusarium* 属菌の偏りが生じる原因とメカニズムを解明し、汚染を軽減させるための研究を実施する必要がある。

F. 参考文献

1) World Health Organization & Joint

FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 2017. Evaluation of certain contaminants in food: eighty-third report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. *WHO Technical Report Series: 1002*, pp. 41-55.

2) Watanabe, M., Yonezawa, T., Sugita-Konishi, Y., et al. 2013. Application of phylotoxigenic relationships among trichothecene-producing *Fusarium* species to the prediction about the potential mycotoxin-productivity. *Food Additiv. Contam. A* 30(8):1370-81.

3) Watanabe, M., Yonezawa, T., Lee, K., et al. 2011. Evaluation of genetic markers for identifying isolates of the species of the genus *Fusarium*. *J. Food Sci.* 91:2500-2504.

4) O'Donnell K, Kistler HC, Cigelnik E, Ploetz RC. 1998. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:2044-2049.

5) Marasas, W.F.O., Nelson, E.P, Toussoun, T.A. 1984. *Toxigenic Fusarium Species*. The Pennsylvania State University Press. USA.

6) Leslie, J.F., Summerell, B.A. 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing. Oxford, UK.

G. 研究業績

【論文発表】

1) Hashimoto, K., Kawakami, Y., Hashimoto, R., Kitaoka, Y., Onji, Y., Oda, H., Watanabe, M., et al. 2021. Distribution of *Aspergillus* section *Nigri* at shochu fermenting places in Japan. *J. Air & Waste Manag. Assoc.* 24:1-8.

【学会発表】

- 1) 渡辺麻衣子, 平山美咲, 清水公德, 伴さやか, 矢口貴志, 吉成知也, 工藤由起子. 国内流通ハトムギにおけるカビ毒汚染実態およびトリコテセン系カビ毒産生. *Fusarium* 属菌の分布調査. 日本マイコトキシン学会第 87 回学術講演会. 2022.1.7. (オンライン開催)

- 2) 平山美咲, 渡辺麻衣子, 矢口貴志, 伴さやか, 工藤由起子, 吉成知也. ライ麦から分離されたフザリウム属真菌が生産する新興カビ毒の同定及び分析法の開発. 日本マイコトキシン学会第 87 回学術講演会. 2022.1.7. (オンライン開催)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

無し

2. 実用新案登録

無し

3. その他

無し

表 1. 供試した国内流通ハトムギ一覧およびカビ毒の汚染状況

| 試料No. | 試料の原産地 | 検出されたカビ毒 (µg/kg) | | | | | | | | | | | |
|----------------------|--------|--------------------|---------|----------|-----------|---------|---------|---------|----------|-------|-------|-------|-------|
| | | STC | AFB1 | DON | NIV | DAS | HT-2 | T-2 | BEA | ENA | ENA1 | ENB | ENB1 |
| 海外産ハトムギ | | | | | | | | | | | | | |
| 33-HT04 | タイ | < LOQ ¹ | 0.0 | < LOQ | 29.0 | 16.1 | < LOQ | < LOQ | 2.9 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT05 | タイ | 2.7 | 0.1 | < LOQ | 16.3 | 10.6 | < LOQ | < LOQ | 0.9 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT10 | タイ | 0.1 | < LOQ | < LOQ | 42.5 | 14.5 | < LOQ | < LOQ | 5.9 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT19 | タイ | 0.1 | 0.9 | < LOQ | 10.2 | 1.7 | < LOQ | < LOQ | 1.0 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT21 | タイ | 0.6 | < LOQ | < LOQ | 13.8 | 10.0 | < LOQ | < LOQ | 0.7 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT26 | タイ | 0.1 | < LOQ | < LOQ | 21.6 | 2.7 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT09 | 中国 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 8.9 | 0.8 | < LOQ | < LOQ | 4.1 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT18 | 中国 | 3.3 | 0.1 | < LOQ | 14.0 | 8.4 | < LOQ | < LOQ | 0.7 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT24 | 中国 | 0.3 | 1.4 | 3.8 | 59.1 | 3.8 | < LOQ | < LOQ | 3.9 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT25 | ラオス | 3.5 | < LOQ | < LOQ | 19.5 | 3.5 | < LOQ | < LOQ | 1.0 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| | 検出率(%) | 80.0 | 50.0 | 10.0 | 100 | 100 | 0 | 0 | 90.0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 最小値 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 8.9 | 0.8 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| | 最大値 | 3.5 | 1.4 | 3.8 | 59.1 | 16.1 | < LOQ | < LOQ | 5.9 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| | 平均値±SD | 1.1±1.5 | 0.3±0.5 | 0.4±1.2 | 23.5±16.0 | 7.2±5.5 | — | — | 2.1±1.9 | — | — | — | — |
| 国内産ハトムギ | | | | | | | | | | | | | |
| 33-HT01 | 岩手県 | 0.1 | < LOQ | 8.5 | 2.3 | 0.3 | 12.4 | 18.8 | 2.5 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT02 | 富山県 | < LOQ | < LOQ | 8.6 | 233.0 | 5.3 | 0.8 | 0.3 | 1.7 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT03 | 栃木県 | < LOQ | < LOQ | 12.5 | 13.5 | 0.3 | < LOQ | 0.4 | 17.0 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT06 | 福岡県 | < LOQ | < LOQ | 0.9 | 14.3 | 0.2 | < LOQ | 0.1 | 5.6 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT07 | 栃木県 | < LOQ | < LOQ | 6.2 | 10.8 | 0.1 | < LOQ | 0.4 | 62.7 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT08 | 島根県 | < LOQ | < LOQ | 0.6 | 15.9 | 0.1 | 0.3 | 0.2 | 2.0 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT12 | 岩手県 | 0.1 | < LOQ | 4.2 | 1.4 | < LOQ | 5.1 | 2.0 | 1.1 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT13 | 島根県 | < LOQ | < LOQ | 36.9 | 42.9 | 0.2 | 7.4 | 1.8 | 9.8 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT14 | 青森県 | < LOQ | < LOQ | 4.3 | 6.2 | 0.1 | 1.0 | 1.1 | 1.6 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT15 | 岩手県 | < LOQ | < LOQ | 28.1 | 5.7 | < LOQ | 4.8 | 1.6 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT16 | 岡山県 | < LOQ | < LOQ | 5.2 | 10.0 | 0.2 | 3.2 | 0.8 | 9.7 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT17 | 青森県 | < LOQ | < LOQ | 3.3 | 10.3 | < LOQ | 2.0 | 0.6 | 0.6 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT20 | 宮崎県 | < LOQ | < LOQ | 1.0 | 14.5 | 0.1 | < LOQ | < LOQ | 1.5 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 32-HT22 | 岩手県 | < LOQ | < LOQ | 15.9 | 2.5 | < LOQ | 8.4 | 5.2 | 0.7 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT23 | 大分県 | < LOQ | < LOQ | 4.3 | 7.6 | 0.3 | 3.4 | 2.1 | 8.6 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| | 検出率(%) | 13.3 | 0 | 100 | 100 | 73.3 | 73.3 | 93.3 | 93.3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 最小値 | < LOQ | < LOQ | 0.6 | 1.4 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| | 最大値 | 0.1 | < LOQ | 36.9 | 233.0 | 5.3 | 12.4 | 18.8 | 62.7 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| | 平均値±SD | 0.01±0.04 | — | 9.4±10.4 | 26.1±58.1 | 0.5±1.4 | 3.3±3.8 | 2.4±4.7 | 8.4±15.8 | — | — | — | — |
| t-test ^{*2} | | 0.05 | 0.139 | 0.005 | 0.873 | 0.004 | 0.005 | 0.073 | 0.152 | — | — | — | — |

^{*1}検出下限値。各カビ毒の値は以下の通り；STCでは0.008µg/kg、AFB₁では0.02µg/kg、DASでは0.05µg/kg、T-2トキシンでは0.02µg/kg、HT-2トキシンでは0.3µg/kg、DONでは1µg/kg、NIVでは0.7µg/kg、BEAでは0.5µg/kg、ENAでは1.6µg/kg、ENA₁では2.0µg/kg、ENBでは2.0µg/kg、ENB₁では2.0µg/kg。

^{*2}海外産ハトムギ群と国内産ハトムギ群との間で2標本t検定を行った結果のp値を示した。

表 2. 供試した国内流通ライムギー一覧およびカビ毒の汚染状況

| 試料No. | 試料の 原産地 | 検出されたカビ毒 (µg/kg) | | | | | | | | | | | |
|---------|------------|------------------|-------|-----------|---------|----------|---------|---------|----------|-------|---------|-----------|---------|
| | | STC | AFB1 | DON | NIV | 4,15-DAS | HT-2 | T-2 | BEA | ENA | ENA1 | ENB | ENB1 |
| 海外産ライムギ | | | | | | | | | | | | | |
| 33-Ry01 | ドイツ | < LOQ*1 | < LOQ | 14.8 | < LOQ | < LOQ | 0.3 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 1.5 | 7.4 | 6.0 |
| 33-Ry02 | アメリカ | < LOQ | < LOQ | 5.0 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-Ry03 | ドイツ | < LOQ | < LOQ | 3.4 | 0.4 | < LOQ | 0.8 | 0.1 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 35.4 | 9.5 |
| 33-Ry04 | ドイツ | < LOQ | < LOQ | 11.2 | 0.3 | < LOQ | 0.3 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 1.4 | 7.6 | 5.7 |
| 33-Ry08 | ドイツ主体 | < LOQ | < LOQ | 17.7 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 6.1 |
| 33-Ry10 | ドイツ | < LOQ | < LOQ | 11.7 | 1.5 | < LOQ | 5.3 | 1.2 | < LOQ | < LOQ | 3.0 | 24.7 | 11.7 |
| 33-Ry12 | ドイツ・カナダ | < LOQ | < LOQ | 2.7 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-Ry13 | ドイツ | < LOQ | < LOQ | 13.5 | 0.7 | < LOQ | 0.7 | 0.2 | < LOQ | < LOQ | 1.0 | 9.3 | 4.7 |
| 33-Ry15 | ドイツ | < LOQ | < LOQ | 19.6 | 2.8 | < LOQ | 1.6 | 0.4 | < LOQ | < LOQ | 1.2 | 26.2 | 8.1 |
| 33-Ry16 | アメリカ | < LOQ | < LOQ | 6.1 | < LOQ | < LOQ | 2.3 | 0.6 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 7.1 | 3.1 |
| 33-Ry18 | アメリカ | < LOQ | < LOQ | 41.1 | 5.6 | < LOQ | 16.2 | 4.3 | 1.0 | < LOQ | 11.3 | 43.5 | 33.4 |
| 33-Ry19 | アメリカ | 0.1 | < LOQ | 4.8 | < LOQ | < LOQ | 0.4 | 0.1 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-Ry20 | オーストラリア | 1.1 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-Ry21 | フランス | < LOQ | < LOQ | 33.7 | 0.9 | < LOQ | 0.5 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 0.7 | 8.6 | 3.6 |
| 33-Ry22 | ドイツ | < LOQ | < LOQ | 6.2 | 0.9 | < LOQ | 0.6 | 0.1 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 6.8 | 2.0 |
| 33-Ry23 | ドイツ | < LOQ | < LOQ | 4.7 | < LOQ | < LOQ | 0.3 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 2.6 | < LOQ |
| 33-Ry26 | ロシア | 0.1 | < LOQ | 2.3 | 0.9 | < LOQ | 4.4 | 0.7 | 0.6 | < LOQ | 1.9 | 38.4 | 11.4 |
| 33-Ry27 | オーストラリア | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-Ry28 | ドイツ | < LOQ | < LOQ | 9.9 | 0.6 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 1.8 | < LOQ |
| | 検出率(%) | 15.8 | 0 | 89.5 | 52.6 | 0 | 68.4 | 47.4 | 10.5 | 0 | 42.1 | 68.4 | 63.2 |
| | 最小値 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| | 最大値 | 1.1 | < LOQ | 41.1 | 5.6 | < LOQ | 16.2 | 4.3 | 1.0 | < LOQ | 11.3 | 43.5 | 33.4 |
| | 平均値±SD | 0.06±0.24 | < LOQ | 11.0±11.0 | 0.8±1.4 | — | 1.8±3.8 | 0.4±1.0 | 0.08±0.3 | — | 1.2±2.6 | 11.6±14.5 | 5.5±7.9 |

表 2. 供試した国内流通ライムギ一覧およびカビ毒の汚染状況 (続き)

| 試料No. | 試料の 原産地 | 検出されたカビ毒 (µg/kg) | | | | | | | | | | | |
|---------|----------------------|------------------|-------|-------------|---------|----------|---------|---------|---------|---------|-----------|--------------|-------------|
| | | STC | AFB1 | DON | NIV | 4,15-DAS | HT-2 | T-2 | BEA | ENA | ENA1 | ENB | ENB1 |
| 国内産ライムギ | | | | | | | | | | | | | |
| 33-Ry09 | 国内 | < LOQ | < LOQ | 94.4 | 6.6 | < LOQ | 8.7 | 2.0 | 1.1 | 2.1 | 5.4 | 29.6 | 17.6 |
| 33-Ry29 | 国内 | < LOQ | < LOQ | 19.7 | < LOQ | < LOQ | 0.4 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 14.3 | 3.3 |
| 33-Ry24 | 長野県 | 0.1 | < LOQ | 2180.0 | 12.7 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 0.8 | 3.0 | 28.6 | 1042.4 | 260.2 |
| 33-Ry07 | 兵庫県 | < LOQ | < LOQ | 5.7 | 3.3 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 1.5 | 1.3 | 3.3 | 39.4 | 14.4 |
| 33-Ry06 | 北海道 | < LOQ | < LOQ | 8.4 | 2.8 | < LOQ | 0.8 | 0.2 | 2.1 | 0.3 | 4.9 | 261.3 | 63.8 |
| 33-Ry14 | 北海道 | 0.04 | < LOQ | 112.0 | 2.1 | < LOQ | 0.7 | 0.2 | 2.3 | < LOQ | 8.2 | 426.0 | 102.8 |
| 33-Ry17 | 北海道 | < LOQ | < LOQ | 94.8 | 2.2 | < LOQ | 1.4 | 0.3 | 2.1 | < LOQ | 8.9 | 367.4 | 97.9 |
| 33-Ry25 | 北海道 | 1.1 | < LOQ | 1430.0 | 2.2 | < LOQ | 29.3 | 5.6 | 21.1 | 14.7 | 112.8 | 3696.7 | 1079.0 |
| 33-Ry30 | 北海道 | < LOQ | < LOQ | 9.7 | 2.2 | < LOQ | 3.7 | 0.9 | 1.3 | 1.7 | 32.1 | 1483.9 | 374.5 |
| | 検出率(%) | 33.3 | 0 | 100 | 88.9 | 0 | 77.8 | 66.7 | 88.9 | 66.7 | 88.9 | 100 | 100 |
| | 最小値 | < LOQ | < LOQ | 5.7 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 14.3 | 3.3 |
| | 最大値 | 1.1 | < LOQ | 2180.0 | 12.7 | < LOQ | 29.3 | 5.6 | 21.1 | 14.7 | 112.8 | 3696.7 | 1079.0 |
| | 平均値±SD | 0.11±0.32 | — | 439.4±797.7 | 3.8±3.8 | — | 5.0±9.5 | 1.0±1.8 | 3.6±6.6 | 2.6±4.7 | 22.7±35.6 | 817.9±1189.6 | 223.7±344.0 |
| | t-test ^{*2} | 0.689 | — | 0.143 | 0.025 | — | 0.371 | 0.332 | 0.152 | 0.128 | 0.108 | 0.076 | 0.093 |

*1検出下限値。各カビ毒の値は以下の通り；STCでは0.008µg/kg、AFB₁では0.02µg/kg、DASでは0.05µg/kg、T-2では0.02µg/kg、HT-2では0.3µg/kg、DONでは1µg/kg、NIVでは0.7µg/kg、BEAでは0.5µg/kg、ENAでは1.6µg/kg、ENA₁では2.0µg/kg、ENBでは2.0µg/kg、ENB₁では2.0µg/kg。

*2海外産ハトムギ群と国内産ハトムギ群との間で2標本t検定を行った結果のp値を示した。

表 3. *Fusarium* トキシンを産生したハトムギ由来分離株のカビ毒産生性および同定結果

| 菌株番号 | 分離原試料 の産地 | 菌種 | 培養液中のカビ毒検出量(mg/kg) | | | | | | | |
|------------|--------------|----------------------------|---------------------|-------|----------|-------|-------|-------|-------|--------|
| | | | T-2 | HT-2 | 4,15-DAS | ENB | DON | NIV | 3ADON | 15ADON |
| 33-HT01-02 | 岩手県 | <i>F. incarnatum</i> | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT01-09 | 岩手県 | <i>F. incarnatum</i> | < LOQ ^{*1} | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT01-24 | 岩手県 | <i>F. sporotrichioides</i> | 2368 | 484 | 76 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT01-31 | 岩手県 | <i>F. armeniacum</i> | 7.7 | < LOQ | 0.5 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT10-07 | タイ | <i>F. incarnatum</i> | < LOQ | < LOQ | 1.8 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT13-09 | 島根県 | <i>F. incarnatum</i> | < LOQ | < LOQ | 0.4 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT13-14 | 島根県 | <i>F. incarnatum</i> | < LOQ | < LOQ | 0.8 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-HT21-02 | タイ | <i>F. incarnatum</i> | < LOQ | < LOQ | 1.8 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |

*¹検出下限値。各カビ毒の値は以下の通り；T-2では0.1mg/kg、HT-2では1mg/kg、4,15-DASでは0.2mg/kg、ENBでは8mg/kg、DONでは4mg/kg、NIVでは3mg/kg、3ADONでは0.004mg/kg、15-ADONでは0.024mg/kg。

表 4. *Fusarium* トキシンを産生したライムギ由来分離株のカビ毒産生性および同定結果

| 菌株番号 | 分離原試料 の産地 | 菌種 | 培養液中のカビ毒検出量(mg/kg) | | | | | | | |
|------------|--------------|----------------------------|---------------------|-------|----------|-------|-------|-------|-------|--------|
| | | | T-2 | HT-2 | 4,15-DAS | ENB | DON | NIV | 3ADON | 15ADON |
| 33-Ry25-03 | 北海道 | <i>F. avenaceum</i> | < LOQ ^{*1} | < LOQ | < LOQ | 42 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-Ry25-04 | 北海道 | <i>F. avenaceum</i> | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 28 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-Ry25-05 | 北海道 | <i>F. avenaceum</i> | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 99 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-Ry25-06 | 北海道 | <i>F. sporotrichioides</i> | 8.6 | < LOQ | 0.7 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-Ry25-09 | 北海道 | <i>F. avenaceum</i> | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 41 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-Ry25-13 | 北海道 | <i>F. sporotrichioides</i> | 36 | 1.9 | 3.4 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-Ry25-19 | 北海道 | <i>F. sporotrichioides</i> | 14 | < LOQ | 2.4 | 4.2 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-Ry25-20 | 北海道 | <i>F. sporotrichioides</i> | 8.0 | < LOQ | 0.7 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-Ry25-23 | 北海道 | <i>F. sporotrichioides</i> | 109 | 14 | 3.8 | 9.5 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-Ry25-25 | 北海道 | <i>F. graminearum</i> | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 0.5 | < LOQ | 0.09 | 2.1 |
| 33-Ry25-26 | 北海道 | <i>F. avenaceum</i> | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 41 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-Ry25-28 | 北海道 | <i>F. avenaceum</i> | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 12 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-Ry25-29 | 北海道 | <i>F. graminearum</i> | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 0.2 | < LOQ | 1.1 | < LOQ |
| 33-Ry25-30 | 北海道 | <i>F. sporotrichioides</i> | 194 | 31 | 5.7 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-Ry25-32 | 北海道 | <i>F. avenaceum</i> | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 56 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-Ry25-33 | 北海道 | <i>F. sporotrichioides</i> | 44 | 5.7 | 5.4 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-Ry25-34 | 北海道 | <i>F. avenaceum</i> | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 14 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-Ry25-35 | 北海道 | <i>F. sporotrichioides</i> | 144 | 21 | 14 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 33-Ry25-36 | 北海道 | <i>F. avenaceum</i> | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 49 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |

*¹検出下限値。各カビ毒の値は以下の通り；T-2では0.1mg/kg、HT-2では1mg/kg、DASでは0.2mg/kg、ENBでは8mg/kg、DONでは4mg/kg、NIVでは3mg/kg、3ADONでは0.004mg/kg、15ADONでは0.024mg/kg。

表 5-1. 2020 年度に実施した国内流通ハトムギのカビ毒の汚染状況のまとめ

| 供試検体 | 検出されたカビ毒 (µg/kg) | | | | | | | | | | | |
|----------|------------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|---------|---------|-------|-------|-------|-------|
| | STC | AFB1 | DON | NIV | 4,15-DAS | HT-2 | T-2 | BEA | ENA | ENA1 | ENB | ENB1 |
| 輸入ハトムギ | | | | | | | | | | | | |
| 検出率 | 100.0 | 90.9 | 18.2 | 100.0 | 100.0 | 0.0 | 9.1 | 90.9 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 最小値 | 0.0 | < LOQ | < LOQ | 10.2 | 1.0 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 最大値 | 1.7 | 6.2 | 177.8 | 282.3 | 22.4 | < LOQ | 0.0 | 12.4 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 平均値±SD | 0.9±0.7 | 0.9±1.9 | 17.9±53.4 | 61.1±78.1 | 12.6±7.3 | — | — | 2.3±3.4 | — | — | — | — |
| 国産ハトムギ | | | | | | | | | | | | |
| 検出率 | 90.0 | 50.0 | 100.0 | 100.0 | 90.0 | 90.0 | 90.0 | 100.0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 最小値 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 1.4 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 0.3 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 最大値 | 0.5 | 0.01 | 159.3 | 69.0 | 8.7 | 33.0 | 6.8 | 14.0 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 平均値±SD | 0.01±0.01 | 0.00±0.00 | 27.5±50.2 | 24.2±23.9 | 0.3±0.4 | 5.8±10.1 | 2.2±2.3 | 3.9±4.1 | — | — | — | — |
| t-test*2 | 0.000 | 0.126 | 0.678 | 0.169 | 0.000 | 0.071 | 0.005 | 0.359 | — | — | — | — |

表 5-2. 2021 年度に実施した国内流通ハトムギのカビ毒の汚染状況のまとめ

| 供試検体 | 検出されたカビ毒 (μg/kg) | | | | | | | | | | | |
|----------------------|------------------|---------|----------|-----------|----------|---------|---------|----------|-------|-------|-------|-------|
| | STC | AFB1 | DON | NIV | 4,15-DAS | HT-2 | T-2 | BEA | ENA | ENA1 | ENB | ENB1 |
| 輸入ハトムギ | | | | | | | | | | | | |
| 検出率 | 80.0 | 50.0 | 10.0 | 100 | 100 | 0 | 0 | 90.0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 最小値 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 8.9 | 0.8 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 最大値 | 3.5 | 1.4 | 3.8 | 59.1 | 16.1 | < LOQ | < LOQ | 5.9 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 平均値±SD | 1.1±1.5 | 0.3±0.5 | 0.4±1.2 | 23.5±16.0 | 7.2±5.5 | — | — | 2.1±1.9 | — | — | — | — |
| 国産ハトムギ | | | | | | | | | | | | |
| 検出率 | 13.3 | 0 | 100 | 100 | 73.3 | 73.3 | 93.3 | 93.3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 最小値 | < LOQ | < LOQ | 0.6 | 1.4 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 最大値 | 0.1 | < LOQ | 36.9 | 233.0 | 5.3 | 12.4 | 18.8 | 62.7 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 平均値±SD | 0.01±0.04 | — | 9.4±10.4 | 26.1±58.1 | 0.5±1.4 | 3.3±3.8 | 2.4±4.7 | 8.4±15.8 | — | — | — | — |
| t-test* ² | 0.050 | 0.139 | 0.005 | 0.873 | 0.004 | 0.005 | 0.073 | 0.152 | — | — | — | — |

*¹検出下限値。各カビ毒の値は以下の通り；STCでは0.008μg/kg、AFB₁では0.02μg/kg、DONでは1μg/kg、NIVでは0.7μg/kg、4,15-DASでは0.05μg/kg、HT-2トキシシンでは0.3μg/kg、T-2では0.02μg/kg、BEAでは0.5μg/kg、ENAでは1.6μg/kg、ENA₁では2.0μg/kg、ENBでは2.0μg/kg、ENB₁では2.0μg/kg。

*²海外産ハトムギ群と国内産ハトムギ群との間で2標本t検定を行った結果のp値を示した。

表 6. 2018 年度に実施した国内流通ライムギのカビ毒の汚染状況のまとめ

| 供試検体 | 検出されたカビ毒 (μg/kg) | | | | | | | | | | | |
|----------------------|---------------------|-------|-------------|---------|----------|---------|---------|----------|---------|-----------|--------------|-------------|
| | STC | AFB1 | DON | NIV | 4,15-DAS | HT-2 | T-2 | BEA | ENA | ENA1 | ENB | ENB1 |
| 輸入ライムギ | | | | | | | | | | | | |
| 検出率 | 15.8 | 0 | 89.5 | 52.6 | 0 | 68.4 | 47.4 | 10.5 | 0 | 42.1 | 68.4 | 63.2 |
| 最小値 | < LOQ ^{*1} | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ |
| 最大値 | 1.1 | < LOQ | 41.1 | 5.6 | < LOQ | 16.2 | 4.3 | 1.0 | < LOQ | 11.3 | 43.5 | 33.4 |
| 平均値±SD | 0.06±0.24 | < LOQ | 11.0±11.0 | 0.8±1.4 | — | 1.8±3.8 | 0.4±1.0 | 0.08±0.3 | — | 1.2±2.6 | 11.6±14.5 | 5.5±7.9 |
| 国産ライムギ | | | | | | | | | | | | |
| 検出率 | 33.3 | 0 | 100 | 88.9 | 0 | 77.8 | 66.7 | 88.9 | 66.7 | 88.9 | 100 | 100 |
| 最小値 | < LOQ | < LOQ | 5.7 | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | < LOQ | 14.3 | 3.3 |
| 最大値 | 1.1 | < LOQ | 2180.0 | 12.7 | < LOQ | 29.3 | 5.6 | 21.1 | 14.7 | 112.8 | 3696.7 | 1079.0 |
| 平均値±SD | 0.11±0.32 | — | 439.4±797.7 | 3.8±3.8 | — | 5.0±9.5 | 1.0±1.8 | 3.6±6.6 | 2.6±4.7 | 22.7±35.6 | 817.9±1189.6 | 223.7±344.0 |
| t-test ^{*2} | 0.689 | — | 0.143 | 0.025 | — | 0.371 | 0.332 | 0.152 | 0.128 | 0.108 | 0.076 | 0.093 |

*¹検出下限値。各カビ毒の値は以下の通り；STCでは0.008μg/kg、AFB₁では0.02μg/kg、DONでは1μg/kg、NIVでは0.7μg/kg、4,15-DASでは0.05μg/kg、HT-2トキシシンでは0.3μg/kg、T-2では0.02μg/kg、BEAでは0.5μg/kg、ENAでは1.6μg/kg、ENA₁では2.0μg/kg、ENBでは2.0μg/kg、ENB₁では2.0μg/kg。

*²海外産ハトムギ群と国内産ハトムギ群との間で2標本t検定を行った結果のp値を示した。

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻号 | ページ | 出版年 |
|---|--|--|-----|---------|------|
| Takashima, K., Nakajima, K., Shimizu, S., Ojio, R., Tang, Q., Okano, H., Takahashi, Y., Ozawa, S., Jin, M., Yoshinari, T., Yoshida, T., Sugita-Konishi, Y., Shibutani, M. | Disruption of postnatal neurogenesis and adult-stage suppression of synaptic plasticity in the hippocampal dentate gyrus after developmental exposure to streptomycin in rats. | Toxicol. Lett. | 349 | 69-83 | 2021 |
| Okano, H., Okamura, T., Takahashi, Y., Takashima, K., Ojio, R., Tang, Q., Jin, M., Kikuchi, S., Ogawa, B., Yoshida, T., Yoshinari, T., Shibutani, M. | A 28-day repeated oral dose toxicity study of enniatin complex in mice. | The Journal of Toxicological Sciences | 46 | 157-165 | 2021 |
| Hashimoto K, Kawakami Y, Hashimoto R, Kitaoka Y, Onogi Y, Oda H, Watanabe M, Takahashi H, Yokoyama K. | Distribution of Aspergillus section Nigri at shochu fermenting places in Japan. | Journal of the Air & Waste Management Association. | 24 | 1-8 | 2021 |
| | | | | | |
| | | | | | |

厚生労働大臣 殿

機関名 国立大学法人東京農工大学

所属研究機関長 職 名 学長

氏 名 千葉 一裕

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 令和3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）

2. 研究課題名 日本国内流通食品に検出される新興カビ毒の安全性確保に関する研究

3. 研究者名（所属部署・職名） 農学研究院 動物生命科学部門 教授

（氏名・フリガナ） 渋谷 淳 （シブタニ マコト）

4. 倫理審査の状況

| | 該当性の有無 | | 左記で該当がある場合のみ記入（※1） | | |
|---|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------|--------------------------|
| | 有 | 無 | 審査済み | 審査した機関 | 未審査（※2） |
| 人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針（※3） | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 遺伝子治療等臨床研究に関する指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| その他、該当する倫理指針があれば記入すること （指針の名称:東京農工大学動物実験等に関する規定） | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | 東京農工大学 | <input type="checkbox"/> |

（※1）当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他（特記事項）

（※2）未審査の場合は、その理由を記載すること。

（※3）廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

| | |
|-------------|---|
| 研究倫理教育の受講状況 | 受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/> |
|-------------|---|

6. 利益相反の管理

| | |
|--------------------------|--|
| 当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> （無の場合はその理由：） |
| 当研究機関におけるCOI委員会設置の有無 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> （無の場合は委託先機関：） |
| 当研究に係るCOIについての報告・審査の有無 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> （無の場合はその理由：） |
| 当研究に係るCOIについての指導・管理の有無 | 有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> （有の場合はその内容：） |

（留意事項） ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和 4 年 4 月 1 1 日

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学院長)

機関名 東京農業大学

所属研究機関長 職名 学長

氏名 江口 文陽

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業
2. 研究課題名 日本国内流通食品に検出される新興カビ毒の安全性確保に関する研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 応用生物科学部・嘱託教授
(氏名・フリガナ) 小西 良子・ コニシ ヨシコ

4. 倫理審査の状況

| | 該当性の有無 | | 左記で該当がある場合のみ記入 (※1) | |
|------------------------------------|--------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | 有 | 無 | 審査済み | 未審査 (※2) |
| 人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3) | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 遺伝子治療等臨床研究に関する指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称：) | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし、
クレ一冊若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

| | |
|-------------|---|
| 研究倫理教育の受講状況 | 受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/> |
|-------------|---|

6. 利益相反の管理

| | |
|--------------------------|--|
| 当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由：) |
| 当研究機関におけるCOI委員会設置の有無 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関：) |
| 当研究に係るCOIについての報告・審査の有無 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由：) |
| 当研究に係るCOIについての指導・管理の有無 | 有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容：) |

(留意事項) ・該当する口にチェックを入れること。

・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 合田 幸広

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 日本国内流通食品に検出される新興カビ毒の安全確保に関する研究

3. 研究者名 (所属部署・職名) 衛生微生物部第四室 室長

(氏名・フリガナ) 吉成 知也 (ヨシナリ トモヤ)

4. 倫理審査の状況

| | 該当性の有無 | | 左記で該当がある場合のみ記入 (※1) | | |
|-------------------------------------|--------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------|--------------------------|
| | 有 | 無 | 審査済み | 審査した機関 | 未審査 (※2) |
| 人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3) | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 遺伝子治療等臨床研究に関する指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:) | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

| | |
|-------------|---|
| 研究倫理教育の受講状況 | 受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/> |
|-------------|---|

6. 利益相反の管理

| | |
|--------------------------|---|
| 当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:) |
| 当研究機関におけるCOI委員会設置の有無 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:) |
| 当研究に係るCOIについての報告・審査の有無 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:) |
| 当研究に係るCOIについての指導・管理の有無 | 有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:) |

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 合田 幸広

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業
2. 研究課題名 日本国内流通食品に検出される新興カビ毒の安全確保に関する研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 衛生微生物部第三室 室長
(氏名・フリガナ) 渡辺 麻衣子 (ワタナベ マイコ)

4. 倫理審査の状況

| | 該当性の有無 | | 左記で該当がある場合のみ記入 (※1) | | |
|-------------------------------------|--------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------|--------------------------|
| | 有 | 無 | 審査済み | 審査した機関 | 未審査 (※2) |
| 人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3) | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 遺伝子治療等臨床研究に関する指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:) | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

| | |
|-------------|---|
| 研究倫理教育の受講状況 | 受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/> |
|-------------|---|

6. 利益相反の管理

| | |
|--------------------------|---|
| 当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:) |
| 当研究機関におけるCOI委員会設置の有無 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:) |
| 当研究に係るCOIについての報告・審査の有無 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:) |
| 当研究に係るCOIについての指導・管理の有無 | 有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:) |

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。