

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)

総合研究報告書

毒性試験のためのエンニアチン B の大量調製  
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  
(2019～2021 年度)

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

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の一環として、マウスを用いたエンニアチン B (ENB) の毒性試験を行うための ENB の大量調製、および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に関する検討を行った。ENB の大量調製では、研究室保存株の中から培養法によるエンニアチン類 (ENs) 高産生株の探索を行ったところ、最も高産生であった *Fusarium avenaceum* KFU-28 を見出した。本株を用いて米培地による大量培養を行ったところ、本培地での ENB の生産量は約 3 mg/g であった。この培養物から精製および HPLC による分取によって、ENB 約 2 g を得た。また、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では、本研究班の過去の成果を参照し、穀物のうちで *Fusarium* トキシンの汚染頻度・濃度が高いことが明らかとなっているハトムギおよびライムギを対象とした。試料を購入して収集し、カビ毒汚染の原因菌の探索を目的として、*Fusarium* トキシン、アフラトキシン (AF)、ステリグマトシスチン (STC) の分析、およびカビ毒汚染量が高かった検体からの *Fusarium* 属の分離・同定を行った。さらに、分離株のカビ毒産生性を調査するため、分離株培養物中の *Fusarium* トキシン等の分析を行った。その結果、国内流通ハトムギでは、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)、ステリグマトシスチン (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。国内流通ライムギでは、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 ENs でその傾向が強かった。これらの試料からの分離株の *Fusarium* トキシン産生性調査の結果、ハトムギ試料では、海外産からは 4,15-DAS のみを産生する *F. incarnatum* 菌株が、国内産からはタイプ 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* 菌株が多く分離された。ライムギ試料では、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。この菌種の差異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。今後、この菌種の差異をもたらす要因を解明する必要がある。

## 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  
清水 公德 東京理科大学  
平山 美咲 東京理科大学  
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

エンニアチン類 (ENs) およびタイプ 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いる。ENs については、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過去の実態調査においては、高濃度かつ高頻度で ENs が検出されており、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。欧州食品安全機関 (EFSA) が公表したマウスを用いたエンニアチン B (ENB) の 42 日間の反復投与試験と 42 日間の反復投与による生殖発生毒性試験では、公比 10 を設定し 0.18, 1.8, 18mg/kg/日の用量で強制経口投与試験を実施しているが、用量依存性の乏しいデータが多く、NOAEL を求めるためには再試験が必要であると考えられた。

また、タイプ A トリコテセン系化合物については、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-ジアセトキシスシルペノール (4,15-DAS) も含めるとされたり。これら 3 種のカビ毒汚染程度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、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。

そこで、2019 度は国立医薬品食品衛生研究所にて ENs 生産菌を培養し、毒性試験に必要な ENB を単離精製した。さらに 2020 および 2021 年度は、これまでの実態調査の成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ハトムギおよびライムギを対象として、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、及びカビ毒汚染原因菌を特定してカビ毒複合汚染のリスク因子を解明することを目的とした調査を行った。

## B. 研究方法

### (1) ENs 生産菌の探索

国立医薬品食品衛生研究所にて保管していた ENs を生産することが報告されている *Fusarium* 株の菌種 12 株を選択し、ENs 高産生株の探索を行った。1 ウェルあたり角田液体培地 (1L あたりの組成; 硫酸ナトリウム 2.0 g、リン酸水素二カリウム 1.0 g、塩化カリウム 0.5 g、硫酸マグネシウム 0.5 g、酵母エキス 2.5 g、ポリペプトン 5.0 g、スクロース 50 g) 2 mL を加えた 12 ウェルプレートに菌株を接種し、6 日間 25°C で静置培養した。培養後、培養液を 90% アセトニトリルで 1/10000 倍希釈し、LC-MS/MS で ENs 量を測定した (表 1)。LC-MS/MS の条件は、B (3) で後述する。菌株は B (6) に後述する方法で再同定を行い、菌種を確認した。

### (2) ENs 生産菌培養による ENB の大量精製

PDA 斜面培地に接種し 25°C で 1 週間培養した *Fusarium avenaceum* KFU-28 株を 300 mL 三角フラスコに入れた角田液体培地に接種し、25°C で 24 時間振盪培養し、これを前培養液とした。15 本の培養器にそれぞれもち米（新潟産こがねもち 全農パールライス（株））50 g と精製水 15 mL を入れ、オートクレーブ滅菌した米培地に KFU-28 株の前培養液 10 mL を接種し、25°C で 11 日間静置培養した。培養器一本あたり 85%アセトニトリル水溶液 200 mL を加えミキサーで破碎後、培養液を回収し、エバポレーターで乾固した。残渣を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 25 mL で、続いて酢酸エチル 20 mL でそれぞれ懸濁し、回収した。懸濁液を激しく攪拌後に遠心分離を行い、上層の酢酸エチル層を回収した。得られた酢酸エチル層を乾固後、少量のメタノールに溶解した。メタノール 100 mL と 20%アセトニトリル水溶液 100 mL で平衡化した InertSep C2 カートリッジ 25 g（ジューエルサイエンス（株））にメタノール溶解物（酢酸エチル抽出物 1 g 相当量）を供し、20%アセトニトリル水溶液 100 mL、50%アセトニトリル水溶液 100 mL で洗浄後、80%アセトニトリル水溶液 100 mL で溶出される画分を回収した。溶出液を乾固後、少量のメタノール約 30 mL に溶解した。逆相 HPLC により ENB のピークを分取した。

#### <HPLC の条件>

カラム：Inertsil C4

20×250 mm, 5 μm

カラム温度：40°C

移動相：A 0.5%酢酸を含んだ精製水

B アセトニトリル

分離条件：A：4 mL/分

B：10 mL/分

注入量：80%アセトニトリル水溶液溶出画分を乾固したもの約 25 mg

HPLC で分取した画分をエバポレーターで濃

縮し、凍結乾燥機で乾固した。乾固して得られた ENB 1 g にメタノールおよび精製水を加え溶解後、上清を回収し、結晶を析出させた。結晶を凍結乾燥し、ENB を得た。

(3) 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

*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。国内の小売店から、2020 年から 2021 年度にかけて、ハトムギの輸入品 21 検体および国産品 25 検体の計 46 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。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、カビ毒の分析に用いた。トリコテセン系化合物および ENs に加えて、*Fusarium* トキシンでありトリコテセン類との複合汚染が予測されるおよびビューベリシン (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) を用いて精製後、その 2 mL を窒素気流により乾固し、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℃

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 分間振盪した。上清 5 mL に PBS 25 mL を加え、その 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℃

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

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 A<sub>1</sub> (ENA1)、エンニアチン B (ENB)、エンニアチン B<sub>1</sub> (ENB1) およびビューベリシン (BEA) とした。ハトムギ 2.5 g にアセトニトリル：水 (85 : 15) 25 mL を加え、30 分間振盪した。この抽出液 400 μL に精製水 800 μL を加え、その 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℃

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 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 分振盪後、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。その 5.0 mL を 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 および蒸留水 0.5 mL を加えて溶解したものを試験溶液とし、AFB1 と STC を定量した。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℃

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 > 281

（４）カビ毒汚染程度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℃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℃で 1～2 週間培養した。

（５）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、カーネーションリーフ・アガー培地に生育した菌体のプレパレート観察像を形態学的同定指標とした。さらに分子生物学的同定指標として、分離株菌体を少量培養し、ここから 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-1α 遺伝子の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 および Btu\_F-R01<sup>2)</sup>、EF-1α 遺伝子では EF-1 および EF-2<sup>3)</sup>を用いた。得られた同定指標を参照し、菌種の同定を行った。

（６）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

前述の（５）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と同定された場合に、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℃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 μL 接種し、25℃で 7 日間静置培養した。その培養液 500 μL の酢酸エチル抽出物に 200 μL のメタノールを加え溶解したものを、50%メタノールを用いて 100～10,000 倍に適宜希釈し、（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) ENs 生産菌の探索

角田液体培地における ENs 生産菌候補 12 株の ENB 生産量を定量した結果を表 1 に示した。12 株のうち、6 株で ENB の生産が認められた。その中で高い産生性が認められた KFU-28 株と YF016-B 株を米培地で培養した結果、KFU-28 株は米 1 g あたり約 3 mg の ENB を生産し、最も高い ENB 産生性を示した。形態観察および  $\beta$ -tubulin 遺伝子塩基配の解析結果から、本菌株は *F. avenaceum* であることを確認した。

#### (2) ENs 生産菌の培養による ENB の大量精製

米培地に KFU-28 株を接種し培養後の抽出物を濃縮し、精製後、再結晶を行い、精製 ENB を 2 g 得た。精製した ENB の純度を HPLC により確認し (図 1)、98%以上の純度を有することを確認した。

#### (3) ハトムギ試料中のカビ毒汚染量の評価

2020 年度に購入して調査したハトムギ試料の結果を表 2 に示した。輸入ハトムギ 11 検体からは、100%の検出率で定量限界以上の STC (0.02-1.7  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) および 4,15-DAS (1.0-22.4  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) が検出され、検出量の平均値は国産品と比較して有意に高かった (STC ;  $p=3.7\text{E-}04$ 、4,15-DAS ;  $p=4.0\text{E-}05$ )。国産ハトムギ 10 検体からは、90.0%の検出率で定量限界以上の T-2 トキシン (定量下限値 $\sim$ 6.8  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) が、90.0%の検出率で定量限界以上の HT-2 トキシン (定量下限値 $\sim$ 33.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) がそれぞれ検出され、検出量の平均値は輸入品と比較して高い傾向にあった (T-2 トキシン ;  $p=0.005$ 、HT-2 トキシン ;  $p=0.071$ )。

2021 年度に購入して調査したハトムギ試料

の結果を表 3 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 (0.8-16.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) が、および 80.0%の検出率で LOQ 以上の STC (LOQ 未満 $\cdot$ 3.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) 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 ;  $p=0.004$ 、DAS ;  $p=0.05$ )。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 (LOQ 未満 $\cdot$ 1.4  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) が、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 トキシン (LOQ 未満 $\cdot$ 12.4  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) が、100%の検出率で DON (LOQ 未満 $\cdot$ 36.9  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) 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 トキシン ;  $p=0.005$ 、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 トキシンが検出された (LOQ 未満 $\cdot$ 18.8  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) 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  $\mu\text{g}/\text{kg}$  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 (LOQ 未満 $\cdot$ 62.7  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )、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。

2 年間の結果を総合的に評価すると、2 年間を通じて同様の結果が得られ、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 トキシン、HT-2 トキシン、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。

#### (4) ライムギ試料中のカビ毒検出量の評価

2021 年度に購入して調査したライムギ試料中のカビ毒分析の結果を表 4 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平均値は国産品のほうが高かった。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* トキシンにおいて、海外産よりも国内産の方が汚染濃度が高い傾向にあり、特に DON および ENs でその傾向が強いことが示された。

#### (5) 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

2020 年度のハトムギ試料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 5 検体から *Fusarium* 属菌の分離を試みた。その結果、23 株の *Fusarium* 属菌が分離された。これらの分離株について、角田液体培地における各種カビ毒の検出結果および同定結果を表 5 に示した。国産ハトムギ試料 32-HT06 から分離された計 3 株の *F. sporotrichioides* からはそれぞれ T-2 トキシシ (最大 368 mg/kg)、HT-2 ト

キシシ (最大 23 mg/kg)、および 4,15-DAS (最大 8.1 mg/kg) が検出された。また、国産ハトムギ試料 32-HT10 から分離された 1 株の *F. armeniacum* からは、T-2 トキシシ 152 mg/kg、HT-2 トキシシ 2.6 mg/kg、および 4,15-DAS 7.8 mg/kg が検出された。輸入ハトムギ試料からは、32-HT04 から分離された 1 株の *F. incarnatum* のみがトリコテセン類を産生 (DAS、2.2 mg/kg) した。

DON の前駆体である 3ADON の産生性については、分離株 32-HT06-12 および 32-HT10-04 は角田培地の培養では 16 mg/kg 程度の 3-AcDON の産生が確認されたところ、この株を米培養に供したところ、DON (316 mg/kg) および 3-AcDON (492 mg/kg) の産生が確認でき、これらの産生性が高まったことが確認された。このことから、米培養では、角田液体培地での培養と比較して、DON および 3ADON の産生性を向上させることが確認された。

2021 年度のハトムギ試料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 検体およびライムギ 3 検体から分離された *Fusarium* 属菌分離株について、角田液体培地における各種カビ毒の検出結果を表 6 に示した。なお 2021 年度は米培地による検討は行わなかった。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 トキシシ、HT-2 トキシシ、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、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。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 *F. 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 76.4 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、2 年間の調査で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

##### (1) 毒性試験のための ENB の大量調製

本研究の結果から、国内に分布する *F. avenaceum* は ENB の生産性が高いことが示され、十分量の ENB を精製することができた。また、国産農作物の ENB 汚染の原因菌として本菌が重要であることが示唆された。

##### (2) 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

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 トキシンおよび 4,15-DAS の 3 種全ての産生能を持つ菌種としては *F. sporotrichioides*、*Fusarium poae*、*F. armeniacum* が広く知られており、3 者のタイプ 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。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 4)。その一方で、*F. incarnatum*、*Fusarium 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<sup>4,5)</sup>、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、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 種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。以上のことから、国内産ハトムギでは、T-2 トキシン・HT-2 トキシン・4,15-DAS の複合汚染が問題となり、



汚染原因菌が主に *F. sporotrichioide* および *F. armeniacum* である一方で、海外産ハトムギのタイプAトリコテセン系化合物の汚染で問題となるのは 4,15-DAS であり、その汚染原因菌は *F. incarnatum* が有力な候補であると考えられた。さらには、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。

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、ハトムギ以外にも、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。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。今後、ハトムギおよびライムギ製品に含まれる *Fusarium* トキシンによる日本人の健康に対するリスクに注視し

つつ、より多検体を供試した検討を継続する必要がある。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., 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.
- 3) 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.
- 4) Marasas, W.F.O., Nelson, E.P, Toussoun, T.A. 1984. *Toxigenic Fusarium Species*. The Pennsylvania State University Press. USA.
- 5) 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) A New Protocol for Detection of *Aspergillus* Section *Versicolores* Using a High Discrimination Polymerase. A. Kubosaki, N. Kobayashi, M. Watanabe, T. Yoshinari, K. Takatori, Y. Kikuchi, Y. Hara-Kudo, J.

Terajima, Y. Sugita-Konishi. *Biocontrol Science*. *Biocontrol Science*. 25:113-118, 2020.

2) Discrimination between edible and poisonous mushrooms among Japanese *Entoloma sarcopum* and related-species based on phylogenetic analysis and insertion/deletion patterns of nucleotide sequences of cytochrome oxidase 1 gene. W. Aoki, M. Watanabe, M. Watanabe, N. Kobayashi, J. Terajima, Y. Sugita-Konishi, K. Kondo, Y. Hara-Kudo. *Genes and Genetic Systems*. *Genes and Genetic System*. 95:133-139, 2020.

3) 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) 青木渉、渡辺麻衣子、渡邊雅樹、小林直樹、寺嶋淳、小西良子、近藤一成、工藤由起子. CO1 遺伝子塩基配列における挿入/欠失パターンおよび系統解析に基づく日本国内に分布する *Entoloma sarcopum* とその近縁種の食用および毒キノコの識別. 日本食品衛生学会 第 116 回学術講演会. 2021.11. ウェブ開催.

2) 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)

3) 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 エンニアチン生産候補株の液体培地中の ENB 生産量

株名	同定結果	由来	ENB (mg/L)
TSY0039	<i>Fusarium avenaceum</i>	マスクメロン	ND
ATCC200255	<i>Fusarium avenaceum</i>	オーストラリア土壌	29
TSY0741	<i>Fusarium avenaceum</i>	サラミ	ND
TSY0338	<i>Fusarium avenaceum</i>	不明	ND
MAFF239207	<i>Fusarium avenaceum</i>	国産カーネーション	34
MAFF239206	<i>Fusarium avenaceum</i>	国産カーネーション	ND
IFM50012	<i>Fusarium avenaceum</i>	国内小麦畑土壌	2
TSY1093	<i>Fusarium avenaceum</i>	国内住宅外壁	ND
TSY0439	<i>Fusarium avenaceum</i>	不明	ND
KFU28	<i>Fusarium avenaceum</i>	不明	156
YF016-A	<i>Fusarium acuminatum</i>	アメリカ産小麦	18
YF016-B	<i>Fusarium acuminatum</i>	アメリカ産小麦	169

表 2. 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	90.9	18.2	100	100	0	9.1	90.9	0	0	0	0
最小値	0.02	< 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	100	90.0	90.0	90.0	100	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 <sup>*2</sup>	3.7.E-04	0.126	0.678	0.169	4.0.E-05	0.071	0.005	0.359	—	—	—	—

\*1 検出下限値。各カビ毒の値は以下の通り；STC：0.008μg/kg、AFB1：0.02μg/kg、4,15-DAS：0.05μg/kg、T-2トキシソ：0.02μg/kg、HT-2トキシソ：

\*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. 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	AFB <sub>1</sub>	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 <sup>*1</sup>	< 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	< LOQ	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 <sup>*2</sup>	0.05	0.139	0.005	0.873	0.004	0.005	0.073	0.152	—	—	—	—

\*<sup>1</sup>検出下限値。各カビ毒の値は以下の通り；STC：0.008μg/kg、AFB<sub>1</sub>：0.02μg/kg、4,15-DAS：0.05μg/kg、T-2トキシソ：0.02μg/kg、HT-2トキシソ：0.3μg/kg、DON：1μg/kg、NIV：0.7μg/kg、BEA：0.5μg/kg、ENA：1.6μg/kg、ENA1：2.0μg/kg、ENB：2.0μg/kg、ENB1：2.0μg/kg。

\*<sup>2</sup>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 4. 2021 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 <sup>*1</sup>	< 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 <sup>*2</sup>	0.689	—	0.143	0.025	—	0.371	0.332	0.152	0.128	0.108	0.076	0.093

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

\*<sup>2</sup>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 5. 2020 年度に分離した *Fusarium* トキシン産生性のハトムギ由来株のカビ毒産生性および同定結果一覧

菌株番号	分離源ハトムギ		分離株同定結果	角田培地 (mg/kg)						米培養 (mg/kg)	
	検体番号	産地		T-2	HT-2	4,15-DAS	DON	NIV	3ADON	DON	3ADON
32-HT04-06	32-HT04	タイ	<i>F. incarnatum</i>	<1	<1	<1	<1	<1	NT	NT	NT
32-HT04-09	32-HT04	タイ	<i>F. incarnatum</i>	<1	<1	<1	<1	<1	NT	NT	NT
32-HT04-16	32-HT04	タイ	<i>F. incarnatum</i>	<1	<1	2.2	<1	<1	NT	NT	NT
32-HT06-10	32-HT06	島根	<i>F. spotrichioides</i>	368	21	8.1	<1	<1	NT	NT	NT
32-HT06-12	32-HT06	島根	<i>F. boothii</i> or <i>F. graminearum</i>	<1	<1	<1	<1	<1	<1	160	656
32-HT06-18	32-HT06	島根	<i>F. spotrichioides</i>	257	23	1.6	<1	<1	NT	NT	NT
32-HT06-21	32-HT06	島根	<i>F. incarnatum</i>	<1	<1	<1	<1	<1	NT	NT	NT
32-HT06-22	32-HT06	島根	<i>F. incarnatum</i>	<1	<1	<1	<1	<1	NT	NT	NT
32-HT06-23	32-HT06	島根	<i>F. incarnatum</i>	<1	<1	<1	<1	<1	NT	NT	NT
32-HT06-23	32-HT06	島根	<i>F. incarnatum</i>	<1	<1	<1	<1	<1	NT	NT	NT
32-HT06-25	32-HT06	島根	<i>F. incarnatum</i>	<1	<1	<1	<1	<1	NT	NT	NT
32-HT06-28	32-HT06	島根	<i>F. spotrichioides</i>	150	5.2	3.9	<1	<1	NT	NT	NT
32-HT10-04	32-HT10	岩手	<i>F. boothii</i> or <i>F. graminearum</i>	<1	<1	<1	<1	<1	16	316	492
32-HT10-07	32-HT10	岩手	<i>F. incarnatum</i>	<1	<1	<1	<1	<1	NT	NT	NT
32-HT10-10	32-HT10	岩手	<i>F. armeniacum</i>	152	2.6	7.8	<1	<1	NT	NT	NT
32-HT10-11	32-HT10	岩手	<i>F. incarnatum</i>	<1	<1	<1	<1	<1	NT	NT	NT
32-HT10-12	32-HT10	岩手	<i>F. incarnatum</i>	<1	<1	<1	<1	<1	NT	NT	NT
32-HT16-01	32-HT16	栃木	<i>F. incarnatum</i>	<1	<1	<1	<1	<1	NT	NT	NT
32-HT16-03	32-HT16	栃木	<i>F. incarnatum</i>	<1	<1	<1	<1	<1	NT	NT	NT
32-HT16-04	32-HT16	栃木	<i>F. incarnatum</i>	<1	<1	<1	<1	<1	NT	NT	NT
32-HT16-05	32-HT16	栃木	<i>F. incarnatum</i>	<1	<1	<1	<1	<1	NT	NT	NT
32-HT16-06	32-HT16	栃木	<i>F. incarnatum</i>	<1	<1	<1	<1	<1	NT	NT	NT
32-HT19-01	32-HT19	中国	<i>F. incarnatum</i>	<1	<1	<1	<1	<1	NT	NT	NT

表 6. 2021 年度に分離した *Fusarium* トキシン産生性のハトムギおよびライムギ由来株のカビ毒産生性および同定結果一覧

(A) ハトムギ

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 <sup>*1</sup>	< 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。



## (B) ライムギ

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 <sup>*1</sup>	< 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

\*<sup>1</sup>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。

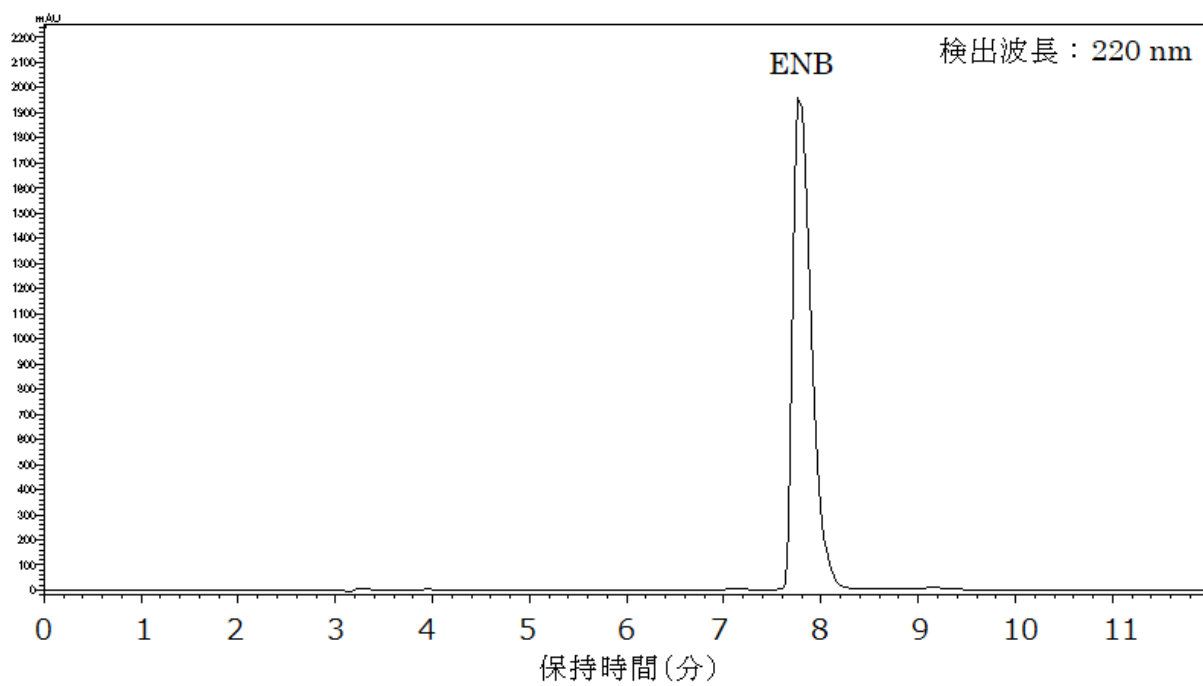


図1 精製した ENB のクロマトグラム