

FAO/WHO合同食品添加物専門家会議 (JECFA)で評価された 食品汚染カビ毒とその分析法

Mycotoxins evaluated by Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)
and their Analytical Methods

小西 良子

Yoshiko Sugita-Konishi

東京農業大学 客員教授 / 国立医薬品食品衛生研究所 名誉所員

Tokyo University of Agriculture (Visiting Professor) / National Institute of Health Sciences (Honorary Member)

KEYWORD ▶

カビ毒

JECFA

分析法

はじめに

01

2022年の岩手県産南部小麦のデオキシニバレノール(DON)汚染事例や2024年の紅麹を原料とする健康食品による健康被害など、近年カビ毒が食品衛生分野で話題に上ることが多くなってきている。改めてカビ毒という汚染物質の特徴を挙げると、①カビ毒を産生するカビはある程度限られているが、環境中に多く存在すること、②熱に強く、分解されにくいこと、③発がん性をはじめ多くの健康被害を引き起こすこと、などがある。これらの特徴から、農作物や家畜飼料が汚染された場合、加工品に残存し健康への影響が問題となる。農作物の汚染状況に関して、近年の気候変動などの影響でカビ毒の被害が増加していることもあり、世界的にみると経済的損失は年間数十億ドル程度と算出されている。そのため、カビ毒の汚染による健康被害を守るため、CODEX委員会では、重要な健康リスクがあり国際的な貿易上の問題があるカビ毒に対して最大基準値(Maximal Level: ML)を設けている。この基準値は科学的根拠に基づき定められているが、科学的根拠を提供しているのがFAO/WHO合同食品添加物専門家会議(JECFA)である。すなわちリスク分析の役割からみるとJECFAはリスク評価機関であり、CODEX委員会はリスク管理機関ということになる。

本稿では、カビ毒のリスク評価機関であるJECFAで現在までに評価されたカビ毒を中心に解説するとともに、日本でバリデーションが終了している分析法について紹介したい。

ODEX委員会とJECFAとは

02

CODEX委員会は国連食糧農業機関(FAO)と世界保健機関(WHO)により1963年に設立され、加盟185カ国、およびEUが加盟している国際政府間組織である。消費者の健康保護、食品の公正な取引の保証が主目的であり、食品に関する国際規格や規範の策定を行っている。また、これらの基準は世界貿易機関(WTO)の衛生植物検疫措置の適用に関する協定(SPS協定)で国際基準として位置づけられている。一方、JECFAは1956年に国際的な食品安全確保を目的としてFAO/WHOのもとに設立され、食品添加物、カビ毒、自然毒、動物用医薬品の残留物、食品中で生成する有害物質等のリスク評価を担っている専門家集団である。CODEX委員会は政府機関であるためさまざまな利害関係が生じるが、JECFAはそれぞれの国の利害関係とは無関係に、科学的根拠のみで公平なリスク評価を行う機関といえる。図1に示したように、JECFAがリスク評価したものをCODEX委員

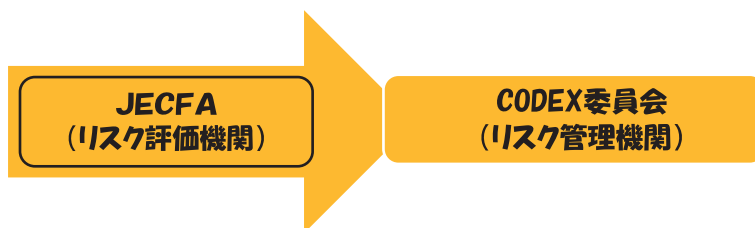


図1 JECFAとCODEX委員会の関係

会で基準値設定を行うというプロセスを踏む。CODEX基準値は国際的な基準値となるため、多くの国で準拠すべき基準となる。言い換えればJECFAで評価されたカビ毒がCODEX基準値になる可能性が高いということである。もし国際基準が定められているにも関わらず当事国での基準がなかった場合には、規格外(消費者の健康保護が担保されない)食品が輸出入される恐れがある。そのため日本ではCODEX基準値を尊重しており、これらを参考にしながら、食品衛生法、農薬取締法、飼料安全法などの策定を行っている。なお、日本ではリスク評価機関(食品安全委員会)とリスク管理機関(消費者庁、厚生労働省、農林水産省)を経て基準値および分析法が決められている。

JECFAで評価されたカビ毒(表1参照) 03

JECFAでは、世界的に汚染が広がり、健康被害が危惧されるカビ毒に関して、CODEX委員会からの依頼も踏まえて公平なリスク評価を行っている。言い換えれば、国際的に問題にならなければJECFAでは評価されないのである。一つの例としてトリコテセン系カビ毒の一つであるニバレノール(NIV)がある。このカビ毒は日本では麦類に汚染が検出されている。同じ仲間にデオキシニバレノール(DON)があるが、DONは世界的に汚染が多いことからJECFAで評価されている。NIVは地域性が高いカビ毒で、日本では国産麦でのDONとNIVの汚染が問題となる。そのため、食品安全委員会でリスク評価がなされ一日耐容摂取量(TDI)を0.4 $\mu\text{g/kg bw/day}$ と定めている。近年EUでも問題になり、欧州食品安全機関(EFSA)においてリスク評価を行っているが、食品安全委員会のリスク評価を参考にしており、日本より緩めのTDIを設定している。

ここでは国際基準を念頭にJECFAでの評価が終わっているカビ毒に限ってその概要を紹介していく。なお、それぞれのカビ毒のPMTDI(暫定耐容摂取量)は表1に示した。

3-1. アフラトキシン(AFs)

アフラトキシン(AFB1、AFB2、AFG1、AFG2)は、*Aspergillus*属が産生するカビ毒である。人の肝臓に発がん性があり、中でもアフラトキシンB1が最も強い発がん性を有する。JECFAではいままでも6回評価を行っているが、表1には最近の2007年および2016年の評価を載せた。それによるとアフラトキシン類による健康リスクを低減するため、摂取量を可能な限り低減すべきとなっている。特に、B型肝炎表面抗原陽性者では、陰性者に比べて肝がん発症率が30倍高いことから、アフラトキシン類の摂取量を減らすことが肝がんリスク低減に有効であると勧告している。また遺伝毒性があるためTDIは設定できないとしている。

内閣府食品安全委員会(食安委)では2009年および2013年にリスク評価を行っており、JECFAと同じ評価内容であるが、日

本に輸入される落花生においてAFB1以外のAFグループの汚染率が高くなる傾向があるため、いままでのAFB1のみの規制ではなくAFB1、AFB2、AFG1、AFG2の4種類を総アフラトキシンとして基準値を設定する必要があるとしている。

3-2. アフラトキシンM1 (AFM1)

AFB1の代謝産物であるAFM1は、飼料を介して牛乳に汚染する。AFsと同じく遺伝毒性を有するため、TDIは設定できない。JECFAでは最悪のシナリオから提案された0.05および0.5 $\mu\text{g/kg}$ のAFM1の最大基準値案では予測される肝臓がんの追加リスクは非常に小さいと結論している。近年JECFAで取り入れられた曝露マージン(MOE)によるリスク評価では、AFB1のBMLD10(ベンチマークドーズ:10%の影響が現れる信頼区間下限値)を170 $\text{ng/kg}\cdot\text{bw}$ としている。

食安委では2013年に食品健康影響評価を行い、飼料中のAFB1および乳中のAFM1の汚染は、合理的に達成可能な範囲で出来る限り低いレベルに抑えるべきであるとしている。

3-3. オクラトキシンA(OTA)

OTAは、*Aspergillus*属菌および*Penicillium*属菌が産生するカビ毒である。腎臓および肝臓に毒性を有しており、動物実験では発がん性も報告されている。バルカン諸国においての人の腎障害との関係も疑われている。JECFAでは、ブタの腎機能低下に基づいて、無影響量(LOEL)が8 $\mu\text{g/kg bw/day}$ であり、安全率500を適用して、PTWIを112 ng/kg bw/week に設定した。また、5または20 $\mu\text{g/kg}$ の最大基準値の使用がOTAへの食事曝露に影響を与える可能性は低いと結論付けた。これを受けてCODEX基準値は小麦・大麦・ライ麦を対象に5 $\mu\text{g/kg}$ と設定された。

JECFAは週当たりのPMTDIを設定しているが、食安委では2014年に評価を行い、非発がん毒性に関するPMTDIを16 ng/kg bw/day 、発がん性に関するPMTDIを15 ng/kg bw/day と設定した。現在、厚生労働省 薬事・食品衛生審議会において小麦および大麦を対象に5 $\mu\text{g/kg}$ の基準値案を食安委に提出しており、最終段階となっている。

3-4. パツリン(PAT)

主に*Penicillium*属菌が産生するカビ毒でリンゴに多く汚染することが知られている。発見の経緯は抗生物質としてであったが、動物実験等で毒性が強いことが明らかになったことからカビ毒として分類された。毒性としては消化管の出血、潰瘍などが動物実験では認められるが、ヒトでの食中毒事例はない。JECFAではラットの体重減少を指標にPMTDを0.4 $\mu\text{g/kg bw/day}$ と設定した。食安委では2003年、厚生労働省 薬事・食品衛生審議会のパツリンのPTDIを0.4 $\mu\text{g/kg bw/day}$ と設定するとの評価結果を妥当と考えるとしている。

3-5. フモニシンB1、B2、B3 (FBs)

*Fusarium*属菌が産生するフモニシンは比較的新しく発見されたカビ毒で、1988年に構造が決定された。ウマの白質脳症やブタの肺水腫など家畜への健康影響があるが、ヒトにおいてはとうもろこし加工品を主食としている地域において、新生児の神経管への催奇形性を示すとの報告がある。また、動物実験では発がん性が認められている。JECFAは、FB1、FB2、およびFB3の単独または組み合わせで2 µg/kg bw/dayというグループPMTDI

を設定した。また、2016年の会議ではAFsとFBsへの共曝露も評価した。動物実験では前腫瘍性病変または肝細胞癌の発症におけるAFsとFBsの共曝露の相加的または相乗効果を示すエビデンスはあるが、現在、ヒトでのそのような影響に関するデータは入手できなかったとしている。食安委では2017年に行った評価においてJECFAと同様にFB1、FB2、およびFB3の単独または合計で2 µg/kg bw/dayと設定した。

表1 JECFAで評価したカビ毒と内閣府食品安全委員会のリスク評価

カビ毒	評価年	耐容摂取量	URL	食品安全委員会の評価	
バツリン	44回(1995年)	PMTDI 0.4 µg/kg bw/day	https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/37246/WHO_TRS_859.pdf?sequence=1	2003年	PMTDIを0.4 µg/kg bw/dayに設定
アフラトキシン	68回(2007年) 83回(2016年)	摂取量は合理的に可能な限り低いレベルに減らす必要がある。 確立されていない遺伝毒性発がん物質	https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/42142/WHO_TRS_884.pdf?sequence=1	2009年	アフラトキシンは遺伝毒性が関与すると判断される発がん物質であり、食品からの総アフラトキシンの摂取は合理的に達成可能な範囲で出来る限り低いレベルにするべきである。汚染実態調査の結果、BG グループの汚染率が近年高くなる傾向が見られていることを考慮すると、総アフラトキシンの基準値を設定する必要がある。
ゼアラレノン	53回(2000年)	ゼアラレノンおよびその代謝物(α-ゼアラレノールを含む)のPMTDI 0.5 µg/kg bw/day	https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/42378/WHO_TRS_896.pdf?sequence=1		
アフラトキシンM1	56回(2002年)	遺伝毒性発がん物質、BMDL ₁₀ 570 ng/kg	https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/42448/WHO_TRS_906.pdf?sequence=1	2013年	乳中のアフラトキシンM1の汚染は、合理的に達成可能な範囲で出来る限り低いレベルに抑えるべきである。
オクラトキシンA	68回(2007年)	許容摂取量: PTWI:112 ng/kg bw/week	https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/43870/9789241209472_eng.pdf?sequence=1	2014年	非発がん毒性に関するPMTDIを16 ng/kg bw/day、発がん性に関するPMTDIを15 ng/kg bw/dayと設定
アフラトキシン	68回(2007年)	摂取量:確立されていない、遺伝毒性発がん性物質。許容HBsAg陽性者における発がんリスクが高いことが再確認され、特にHBV感染率の高い地域ではアフラトキシン摂取の削減が肝がん予防に重要である	https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/43870/9789241209472_eng.pdf?sequence=1		
デオキシニバレノール	72回(2011年)	DONおよびアセチル化代謝物のPMTDI:1 µg/kg bw/day(グループPMTDI);ARfD: DON およびアセチル化代謝物に対して 8 µg/kg bw	https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/44514/WHO_TRS_959_eng.pdf?sequence=1	2010年/2018年	DONのTDIを1 µg/kg bw/dayに設定
ステリグマトシステイン	83回(2016年)	遺伝毒性があるため許容摂取量が決められず。BMDL10(ラット)は160 µg/kg	https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/254893/9789241210027_eng.pdf?sequence=1#page=120		
アフラトキシン	83回(2016年)	慢性肝疾患と発育阻害の発生率が、アフラトキシンとフモニシンの共曝露が、バイオマーカー研究で確認されている。BMDL10 170 ng/kg	https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/43870/9789241209472_eng.pdf?sequence=1	2009年	アフラトキシンは遺伝毒性が関与すると判断される発がん物質であり、食品からの総アフラトキシンの摂取は合理的に達成可能な範囲で出来る限り低いレベルにするべき
4,15-ジアセトキシニルベノール(DAS)	83回(2016年)	DAS、T-2、HT-2毒素 許容摂取量 60 ng/kg bw/day(グループPMTDI)	https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/254893/9789241210027_eng.pdf?sequence=1#page=54		
フモニシン(FBs)	83回(2016年)	フモニシン(FB1、FB2及びFB3の単独又は合計)TDI:2 µg/kg bw/day(グループPMTDI)	https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/254893/9789241210027_eng.pdf?sequence=1#page=69	2017年	フモニシン(FB1、FB2及びFB3の単独又は合計)のグループTDIを2 µg/kg bw/day
アーゴットアルカロイド(EA)	91回(2022年)	PMTDI: 0.4 µg/kg bw/day	https://www.who.int/publications/i/item/9789240054585		
T-2、HT-2、DASトキシジンズ	93回(2022年)	T-2、HT-2、およびDAS(グループARfD) 320 ng/kg bw、DAS、T-2、HT-2毒素(グループ PMTDI) 25 ng/kg bw/day 2016年のPMTDIは撤回された。	https://www.who.int/publications/i/item/9789240068452		

PTDI:暫定耐容一日摂取量

ARfD:急性参照量

BMDL10 :ベンチマークドーズ 10% 値(10%の毒性発現頻度に対する信頼上限曲線における用量の信頼下限値)

3-6. ゼアラレノン(ZEN)

ZENは*Fusarium*属菌が産生するカビ毒であり、おもにブタの感受性が高く、生殖障害を発症する。また、ZENはエストロゲン作用があり、内分泌かく乱物質の一つである。遺伝毒性については陰性とされている。JECFAでは、ZENの安全性は最も感受性の高い種であるブタにおいてホルモン作用を及ぼさない用量に基づいて評価できると結論付け、ZENとその代謝物の合計のPMTDIを 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ と設定した。食安委では評価されていない。

3-7. ステリグマトシスティン(STC)

STCは*Aspergillus*属菌が産生するカビ毒である。AFsの前駆体であることから、遺伝毒性があり、PMTDIは設定されていない。JECFAでは曝露マージン(MOE)を評価するアプローチを使用し、リスク評価を行っている。BMDL₁₀を0.16 $\text{mg}/\text{kg}\cdot\text{bw}$ として、成人のMOEを算出すると、上限(UB)と下限(LB)の仮定に基づく平均推定値で9,400から530,000を超える範囲であった。上限のシナリオでは4,700~270,000の範囲であった。一般的にMOEが10,000を超えれば、発がんリスクは極めて低くなると判断される。CODEX委員会で基準値の設定が議論されたが時期尚早という結論であった。

食安委では評価されていないが、農林水産省の調査によって、国内の穀類乾燥調製施設内にはSTCを産生するカビが広く生息している可能性があることが報告されている。

3-8. T-2トキシシン(T-2)、HT-2トキシシン(HT-2)およびジアセトキシシルペノール(DAS)

T-2、HT-2およびDASは、*Fusarium*属菌の産生するトリコテセン系カビ毒であり、その中でも毒性の高いタイプAに分類される。JECFAでは、これら3つのカビ毒は構造的にも類似しており、同様の毒性作用があると判断された。症状は嘔吐下痢だけでなくT-2の汚染した穀類を摂取することで、ヒトにおいて白血球減少が起こり死者を出した食中毒事例がある。JECFAはこれらの3つを合わせてグループ急性参考量(ARfD)を320 $\text{ng}/\text{kg}\cdot\text{bw}$ とした。2016年のDASの評価時にグループTDIとして60 $\text{ng}/\text{kg bw}/\text{day}$ を決定したが、その後2022年に25 $\text{ng}/\text{kg bw}/\text{day}$ に改定している。食安委では評価されていない。

3-9. デオキシニバレノール(DON)

DONは、*Fusarium*属菌の産生するトリコテセン系カビ毒に属するが、比較的毒性が弱いタイプBのカビ毒である。同じタイプにNIVが存在する。DONは世界的に汚染が広がっており、植物体の中でアセチル化DONを産生する。アセチル化DONはヒトや動物の消化管内でDONに転換するため、その毒性はDONの毒性と同等であるとJECFAは結論付けている。この決定に基づき、JECFAはDONとアセチル化DONを合わせてグループPMTDIを1 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ と設定した。また、嘔吐などのARfD値を8 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{bw}$ とした。

食安委は、2010年にNIVとともに評価を行い、それぞれの

PMTDI を発表しているが、厚生労働省がDONの基準値を策定するときに諮問を受けて再評価をしている(2019年)。

3-10. 麦角アルカロイド(EA)

EAは、小麦などの穀類に寄生した麦角菌(*Claviceps purpurea*など)が作る「麦角」と呼ばれる黒い角状の固まりの中に含まれている。EAには多種類の類縁体が存在しているので、毒性の評価はグループPMTDIとして設定している。EAによる中毒は、中世ヨーロッパでは、非常に激しい手足の痛みを伴うことから「聖アントニウスの業火」として恐れられ、致死率も高かった。JECFAはグループPMTDIを0.4 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ とし、グループARfDもPMTDIと同じ値にした。

国内では、農産物規格規程において麦類の麦角粒の取り扱い決められている。CODEX委員会においては、麦角粒及び麦角の混入率の最大基準値を、小麦は0.05%、デュラム小麦は0.5%と設定しているが、食安委では評価が行われていない。

CODEX基準値と食品衛生法

04

表2に、現在までにCODEX委員会で最大基準値が設定されたカビ毒、および食品衛生法で基準値が定められたカビ毒をリストアップした。CODEX委員会ではPAT、AFs、AFM1、OTA、FBs(B1、B2、B3)、DONの6種類のカビ毒に最大基準値として特定の食品を対象に設定されている。これはCODEX基準値の原則に、「消費者の総暴露量への寄与率が高い食品のみに設定すべきで、消費者が十分に保護されるものであるべき」とあるからである。対象になった食品はそれぞれのカビ毒において国際的にみて寄与率の高い食品であるということである。しかし対象食品は国レベルでは、その国にあった食品になるべきである。

食品衛生法では、PAT、AFs、AFM1、DONの4種類に基準値が設定されている。なかでもAFsは全食品が対象となっており、検査には困難な食品もあるが消費者が十分に保護されるものであるといえる。OTAの基準値も近い将来策定されることから、コーデックス規格とのギャップは少なくなっているが、AFsやDONに関しては、CODEX委員会では乳幼児食品に対して基準値が設けられているにもかかわらず、日本では設けられていない。

分析法について

05

次にカビ毒の分析法について紹介する。食品衛生法で基準値のあるカビ毒に関しては、基準値を策定するときにその分析法も共に通知法等で発出している。いままで発出した通知法は、表2に挙げたので参考にしてほしい。その中の「トウモロコシ中の総

アフラトキシンの試験法について」はカビ毒の迅速簡易測定法に対して初めてクライテリアを示したものであり、カビ毒での初めての迅速簡易測定法の通知法である。その後、DONでもこのクライテリアに従って迅速簡易測定法が使われている。また、食品衛生法で基準値が設定されていないが、JECFAおよびCODEX委員会で評価または審議が行われたカビ毒に関しては、厚生科学研究費で分析法の確立とその分析法を用いた実態調査が行われている。ここでは、2007年と2014年にCODEX委員会で最大基準値が設定されたOTAとFBs(B1+B2+B3)、2016年の

JECFAで評価されたSTC、2022年に評価された麦角アルカロイド、T-2、HT-2およびDASの分析法について紹介する。LC-MS/MSの条件には表3にまとめた。

5-1. OTAの分析法(OTAとDONの同時分析法)

OTAの分析法は、DONとの同時分析法として令和4年度度の厚生科学研究費(厚労科研費)において小麦での検討が行われている。

それによると小麦破碎物25.0 gに抽出溶媒アセトニトリル:メ

表2. カビ毒のCODEX最大基準値と食品衛生法による基準値

	CODEX最大基準値			食品衛生法での基準値			
カビ毒	対象食品	基準値	備考	対象食品	基準値	分析法/備考	
パツリン	リンゴ果汁	50 µg/kg		リンゴ果汁	50 µg/kg	パツリンの試験法について（平成15年12月15日、食安基発第1215001号） https://www.mhlw.go.jp/web/t_doc?dataId=00ta6162&dataType=1&pageNo=1#:~:te xt=%281%29%20	
総アフラトキシン	加工原料用落花生	15 µg/kg		すべての食品	10 µg/kg	・総アフラトキシンの試験法について（平成23年8月16日、食安発0816第1号） https://www.mhlw.go.jp/web/t_doc?dataId=00tb7561&dataType=1&pageNo=1 ・トウモロコシ中の総アフラトキシンの試験法について（平成23年8月16日、食安監発0816第7号） https://www.shodex.com/themes/custom/ja/pdf/autoprep/kosou/b/230816taflatoxinkani.pdf	
	加工原料用木の実（アーモンド、ヘーゼルナッツ、ピスタチオ、殻無しブラジルナッツ）						
	直接消費用木の実（アーモンド、ヘーゼルナッツ、ピスタチオ、殻無しブラジルナッツ）	10 µg/kg					
	直接消費用乾燥いちじく						
	加工向けのトウモロコシ穀粒	15 µg/kg					
	トウモロコシのフラワー、ミール、セモリナ及びフレーク	10 µg/kg					
	玄米	20 µg/kg					
	精米	5 µg/kg					
	加工向けのソルガム穀粒	10 µg/kg					
	乳児用穀類加工品	10 µg/kg					（基準値は販売されている商品全体（消費用に水戻しや調製をしていないもの）へ適用）
	（乳児（12か月まで）及び幼児（12～36か月）向けのすべての穀類加工品に適用）						
	乳児（6～12か月）及び幼児用穀類加工品	5 µg/kg					（基準値は販売されている商品全体（消費用に水戻しや調製をしていないもの）へ適用）
（乳児（6～12か月）及び幼児（12～36か月）向けの食料援助用の穀類加工品に適用）							
アフラトキシンM1	牛乳	0.5 µg/kg		牛乳	0.5 µg/kg	乳に含まれるアフラトキシンM1の試験法について（平成27年7月23日、食安発072第5号、 https://www.mhlw.go.jp/web/t_doc?dataId=00tc1153&dataType=1&pageNo=1 ）	
オクラトキシンA	小麦、大麦、ライ麦	5 µg/kg		大麦・小麦	5 µg/kg	近々決定予定	
デオキシニバレノール	加工向けの穀類（小麦、大麦、トウモロコシ）	2 mg/kg	「加工向け」とは、食品原材料として使用される前、さもなくば食用としての加工又は提供の前に、DON濃度を低減する追加の加工/処理を受けることが意図されているものを指す。加盟国は、濃度を低減する加工を規定できる。	小麦玄麦	1 mg/kg	デオキシニバレノールの試験法について（令和3年9月30日、生食発0930第2号） https://www.mhlw.go.jp/content/11135200/000838886.pdf	
	小麦、大麦又はトウモロコシを原料とするフラワー、ミール、セモリナ及びフレーク	1 mg/kg					
	乳幼児用穀類加工品	0.2 mg/kg	基準値は販売されている商品全体（消費用に水戻しや調製をしていないもの）へ適用				
フモニシン	未加工のとうもろこし穀粒	4000 µg/kg					
	とうもろこしのフラワー及びミール	2000 µg/kg					

タノール:水(1:1:2)200 mLを加え、30分間振盪することで抽出を行い、遠心分離し上清を得る。精製にはイムノアフィニティークラムを用い、メタノール:酢酸(49:1)でDONとOTAを溶出させる。窒素乾固後、残渣をアセトニトリル:水:酢酸(30:70:1)1.0 mLで溶解したものをLC-MS/MSで測定する。

多機関共同試験による妥当性評価では、DONの添加回収率は、97.0～98.3%、併行相対標準偏差(RSDr)は2.5～3.3%、室間再現相対標準偏差(RSDR)は8.3～10.1%、HorRatは0.4～0.5の範囲であった。OTAの回収率は、83.8～90.3%、RSDrは3.1～3.7%、RSDRは16.0～19.7%、HorRatは0.7～0.9の範囲に収まっていた。自然汚染検体での妥当性は現在検討中である。

5-2. FBs (B1、B2、B3)の分析法

国立衛生研究所による多機関共同試験(11機関)の結果から確立された分析法である。

抽出は検体25 gに対し抽出溶媒メタノール:水(3:1)100 mLを加え、15分間振とう後、遠心分離により上清を得る。前処理として強塩基性陰イオン交換体ミニカラムを用いる。カラムに負荷したのち、抽出溶媒メタノール:酢酸(99:1)14 mLを入れ、FBsを溶出させる。窒素乾固後、残渣をアセトニトリル:水(50:50)1.0 mLで溶解し、LC-MS/MSで測定する。

妥当性試験結果は、回収率の平均値はFB1で79.7～85.2%、FB2で78.6～92.8%、FB3で79.0～83.1%であり、HorRatは、FB1では0.3～0.6、FB2では0.5～1.4、FB3では0.4～1.2で

あった。いずれも妥当性試験のクライテリアを満たしていた。

5-3. STCの分析法

令和元年度の厚労科研で行われた実態調査の目的で確立された分析法である。抽出は、試料(米、小麦粉(国産及び海外)など)25 gにアセトニトリル:水(85:15)100 mLを加え、30分間振盪し、遠心分離により上清を得る。精製はイムノアフィニティークラム(堀場製作所社製 AFLAKING)を用いる。アセトニトリルで溶出し、窒素乾固したのちアセトニトリル0.5 mLおよび蒸留水0.5 mLを加えて溶解しLC-MS/MSで測定する。

妥当性評価結果は、0.5 µg/kg添加群における回収率は92.0～106.8%であり、標準偏差は5.4%以下であった。5 µg/kg添加群における回収率は90.7～101.2%であり、標準偏差は5.5%以下であった。

5-4. タイプAトリコセン系化合物(T-2、HT-2およびDAS)の分析法

令和元年度厚労科研費で行われた実態調査の目的で確立された分析法である。固体試料を25 g量りとり、アセトニトリル:水(85:15)100 mLを加え、30分間振とうし、遠心後、上清を得る。精製は多機能カラムを用いる。液体試料の精製は固相カートリッジを用い、窒素乾固後アセトニトリル:水(1:9)0.5 mLで溶解したものをLC-MS/MSに供する。

妥当性試験結果では、DAS、T-2、およびHT-2の回収率は101～111%、RSDr 1.6～7.7%、RSDRは5.3～8.2%、HorRat

表3 LC-MS/MSの条件

カビ毒	DONおよびOTAの同時分析	FBs (B1+B2+B3)	STC	T-2、HT-2およびDASの同時分析	麦角アルカロイド
分析カラム	InertSustain Swift C18 HP 2.1×150 mm, 3 µm	オクタデシルシリル化シリカゲル(Inertsil ODS-4 3×50 mm, 2 µm)	InertSustain C18 2.1×150 mm, 3 µm	Inertsil ODS-3 2.1×150 mm, 3 µm	Phenomenex Gemini C6-Phenyl (3.0 µm, 100 mm × 2.0 mm) ガードカラム Phenomenex Gemini C6-Phenyl (4.0 mm × 2.0 mmID)
カラム温度	40 °C	40 °C	40°C	40°C	30 °C
移動相	A: 0.1%ギ酸水溶液 B: 0.1%ギ酸含有アセトニトリル	A: 0.1% ギ酸水溶液、 B: アセトニトリル	A 2 mmol/L 酢酸アンモニウム B メタノール	A: 2 mmol/L 酢酸アンモニウム B: メタノール	A:カルバミン酸アンモニウム水溶液 B:アセトニトリル
分離条件	0分 A 90% B 10% 6分 A 10% B 90% 9.5分まで保持	0分 A 75% B 25% 5分 A 50% B 50% 8分 A 50% B 50% 10分 A 75% B 25%	0分 A 60% B 40% 13分 A 10% B 90%	0分 A 50% B 50% 8分 A 10% B 90% 11分まで保持	0分 A 90% B 10% 6.0分 A 90% B 10% 9.0分 A 10% B 90% 20.0分 A 10% B 90% 22.1分 A 55% B 45%、
流速	0.2 mL/分	0.2 ml/分	0.2 mL/分	0.2 mL/分	0.1 mL/mL
注入量	5 µL	5 µL	10 µL	2 µL	10 µL
イオン化	ESI (+)	ESI(+)	ESI(+)	ESI(+)	ESI(+)
モニタリングイオン	DON 297 > 249, 203 OTA 404 > 239, 102	FB1 722 > 344, 352 FB2 706 > 336, 354 FB3 706 > 336, 354	325 > 281	T-2 484 > 305, 215 HT-2 442 > 215, 187	ET, ETI 548 > 223, 208 EA, EAI 563 > 223, 208 EY, EYI 576 > 223, 208 EM, EMI 610 > 223, 208 ES, ESI 326 > 223, 208 EC, ECI 582 > 223, 208 EM, EMI 610 > 223, 208
URL	https://mhlw-grants.niph.go.jp/system/files/report_pdf/202224026A-buntan1_0.pdf	参考文献 ¹⁾	https://mhlw-grants.niph.go.jp/system/files/report_pdf/2019yoshinari-buntan.pdf	https://mhlw-grants.niph.go.jp/system/files/report_pdf/2019yoshinari-sokatsu.pdf	https://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/risk_analysis/priority/kabidoku/tyosa/attach/pdf/index-26.pdf

は0.2~0.3であり、クライテリアを満たしていた。

5-5. 麦角アルカロイド類の分析法

農林水産省が委託した分析機関が、ドイツ連邦リスクアセスメント研究所の「Analytik und Vorkommenvon Mutterkornalkaloiden in ausgewählten Lebensmitteln」を参考に作成した分析法である。代表的な麦角菌である *Claviceps purpurea* が産生する以下 12 種類の麦角アルカロイド類(エルゴクリスチン(ET)、エルゴクリスチニン(ETI)、エルゴタミン(EA)、エルゴタミニン(EAI)、エルゴクリプチン(EY)、エルゴクリプチニン(EYI)、エルゴメトリン(EM)、エルゴメトリニン(EMI)、エルゴシン(ES)、エルゴシニン(ESI)、エルゴコルニン(EC)及びエルゴコルニニン(ECI))を分析対象としている。

抽出は、分析用試料20.00 gに冷蔵した抽出液(酢酸エチル:メタノール:アンモニア水=75:5:7(v/v/v)) 100 mLを加えて、振とう器で45分間かくはんし、一部を遮光遠心チューブに移して遠心分離し上清を得る。前処理は塩基性アルミナカートリッジカラムを用い、流出液2.0 mLを窒素乾固し、残渣アセトニトリル:カルバミン酸アンモニウム水溶液=5:5(v/v)) 2.0 mLを加えて、超音波で10分間溶解したあと、LC-MS/MSに供する。

平均添加回収率およびRSDはクライテリアの許容範囲に収まっていた。

セン系カビ毒の配糖体や代謝産物など食品に本体のカビ毒とともに汚染するものも対象になっていくと考えられる。また、それらの複合汚染も飛躍的に多くなっている。分析法の確立には、標準物質の入手可能性が重要であり、次に回収率、精度、再現性の向上を目指した妥当性試験の実施が推奨されている。今後、複合汚染に対応するためのマルチマイコトキシン分析法の確立にも注目していきたい。

参考文献

1. T. Yoshinari, et al., Inter-Laboratory Study of an LC-MS/MS Method for Simultaneous Determination of Fumonisin B1, B2 and B3 in Corn. Food Hyg. Saf. Sci., 2013, 54, 266 – 276.
2. 小西良子, FAO / WHO 食品添加物合同専門家会議 (JECFA) のマイコトキシン規制への役割, マイコトキシン, 2009, 59, 1, 29-33.
3. 国立保健医療科学院, H26 年度厚生科学研究費分担研究報告書「モリニホルミンの分析法」カビ毒の汚染実態調査エンニアチンとビューベリンの分析法 https://mhlw-grants.niph.go.jp/system/files/report_pdf/202199006A-buntan1_29.pdf (参照 2025-04.30)

受理日: 2025 年 6 月 6 日

今後着目すべきカビ毒

06

気候変動や異常気象などの影響から、農作物の抵抗力が減少しカビ毒汚染のリスクが高まっていると同時に、カビ毒の汚染分布に変化がみられる。2024年に飼料会社が発表した世界のカビ毒汚染分布地図によると各地域においての穀物汚染の割合は、北アメリカでは77%(主流はDON、FBs、ZEN)、中央アメリカでは複合汚染として87%、ヨーロッパで49%(主流はDON、FBs)、アジアでは79%(主流はDON、AFL)、中東地方では56%(主流はDON、FBs)、アフリカでは複合汚染として72%である。近年の特徴として、2種類以上の複合汚染が増加していることおよび新興カビ毒としてエンニアチン(ENs)、ビューベリン(BEA)やモリニホルミン(MON)が穀類から比較的高く検出されていることが挙げられる。これらのカビ毒の汚染実態および分析法に関しては、厚生科学研究で行われているので、参考にさせていただきたい。

おわりに

07

本稿では、誌面の関係からJECFAで評価がされているカビ毒に限ってその分析法を紹介したが、今後は新興カビ毒やトリコテ