

玄麦中のデオキシニバレノールの妥当性評価

上沼由佳¹・宮川あし子^{1,2}・小山和志¹・土屋としみ^{1,2}

デオキシニバレノール (DON) の成分規格が厚生労働省告示により新たに設定されたことに伴い、令和 3 年 9 月、試験法^{1),2)}が通知された。これを受けて、1 濃度 2 併行により 5 日間妥当性評価試験を実施した。その結果、真度は 96.6%、併行精度 (RSD) は 1.3%、室内精度 (RSD) は 4.2%であった。定量下限値は試験法の 0.25 mg/kg を満たし、妨害ピークは認められなかった。これらの結果から、試験法の妥当性が認められた。

また、前処理操作における多機能カラムからの DON の溶出試験を実施した結果、5~10mL で DON が一定濃度で流出したことから、この画分を採取し、試験に供した。

キーワード：小麦、デオキシニバレノール、妥当性評価試験、HPLC

1 はじめに

行ったので報告する。

DON は、穀類の赤かび病の病原菌から産生されるかび毒であり、急性毒性としては、嘔吐、消化管、リンパ組織への障害、慢性毒性としては、体重減少などが知られている^{3), 4)}。

我が国では 1940 年~1950 年代にかけて、赤かび病に感染した穀類が DON を含むかび毒に汚染され、これらの穀類の摂食に起因する食中毒が複数報告されている^{4), 5)}。

平成 14 年 5 月、国内で流通する小麦が高濃度(最大 2.2 mg/kg) の DON に汚染されていたことを受け、玄麦に含有する DON の暫定的な基準値が、1.1 mg/kg に設定された⁶⁾。その後、1.0mg/kg を超えて含有するものではない旨の成分規格が、令和 3 年 7 月に告示された。

当所では、DON の暫定基準⁶⁾ が定められた平成 14 年度から令和 3 年度までに 237 検体の玄麦中のデオキシニバレノールの含有量の調査を行ってきた。暫定基準値(1.1 mg/kg) および成分規格(1.0 mg/kg) を超えた玄麦はなかったが、総検体数中 20 検体から DON が検出され、赤かび病が発生した年^{7),8),9)}には特に検出されることが多かった(表 1)。国内でも同様に玄麦からの検出事例が報告されている¹⁰⁾。今回、玄麦の成分規格の新たな設定に伴い、DON の試験法に従い、妥当性評価試験を行った。また、前処理における多機能カラムの分取画分について検討を

表 1 DON の検出数と赤かび病発生面積割合
(定量下限値：0.1mg/kg)

年度	検体数/検出数	発生面積割合 ¹⁾
平成 14 年	1/19	0
平成 15 年	2/20	10.9
平成 16 年	3/21	19.1
平成 17 年	0/17	0
平成 18 年	2/19	3.1
平成 19 年	0/9	0.2
平成 20 年	0/9	0.3
平成 21 年	1/10	0.2
平成 22 年	0/11	0.3
平成 23 年	5/11	12.4
平成 24 年	0/11	0.2
平成 25 年	0/11	0
平成 26 年	0/11	0
平成 27 年	0/11	0
平成 28 年	1/9	0
平成 29 年	0/9	0
平成 30 年	2/8	0.1
令和元年	0/8	0
令和 2 年	0/7	0
令和 3 年	3/6	15.0
計	20/237 (検出率 8.4%)	

1 長野県環境保全研究所 食品・生活衛生部 〒380-0944 長野市安茂里米村 1978

2 現：退職

2 方法

2.1 試料

HPLC のクロマトグラム上に、DON のピークが認められないことを確認した令和2年度産の玄麦を粉碎して1000 μ mのふるいを通したものをを用いた。

2.2 試薬及び標準液等

標準溶液は関東化学(株)製、デオキシニバレノールアセトニトリル溶液(100.0 μ g/mL)、富士フィルム和光純薬(株)製、デオキシニバレノール溶液(100 μ g/mLアセトニトリル溶液)を用いた。このDON標準溶液を適宜希釈分取し、窒素ガスを吹き付け濃縮乾固し、移動相を加えて、0.1~4mg/Lの標準溶液列を調製した。

その他の試薬は、関東化学(株)製、残留農薬試験用または高速液体クロマトグラフ用を用いた。

多機能カラムは、Romer Labs 製、MultiSep227Trich+を用いた。

2.3 測定方法

試料溶液は、試験法¹⁾に従い調製した。試料50gにアセトニトリル及び水の混液(17:3)200mLを正確に加え、30分間振とう抽出した液を吸引ろ過した。その抽出液10mLを多機能カラムに通過させ、5~7mLの画分を分取した。分取した画分の2mLを正確に採り、濃縮乾固し、移動相を加えて試験溶液とした。

調製した試験溶液及び標準溶液列を高速液体クロマトグラフ(HPLC)に注入し、定量した。測定条件を表2に示す。

表2 HPLC 測定条件

装置：(株)島津製作所 LC-20AD XR
カラム：L-column ODS(内径4.6mm×長さ250mm, 粒子径5 μ m)
移動相：アセトニトリル：水：メタノール (1:18:1)
注入量：20 μ L
流速：1.0mL/min
カラム温度：40℃
検出器：DAD 220nm (210~300nm)

2.4 妥当性評価方法

試験法¹⁾に従い、選択性、定量限界、真度及び精度の4項目について評価を行った。試料にDONを検体中濃度が1.0mg/kgになるように添加し、1日2併行で5日間の枝分かかれ試験を行った。

3 結果及び考察

3.1 多機能カラムからの溶出試験

多機能カラムに、実際の添加回収試験と同様に小麦のマトリックスを含む抽出溶液10mLを負荷し、流出液を1mLずつ分取し、その溶液中の濃度を測定した。その結果を図1に示す。DONは5mL~10mLの画分で濃度が一定になった。通知においては、多機能カラムに抽出溶液を注入し、DONが流出する画分の約2.2~2.4mLを採取し、濃縮乾固後0.5mLに定容することとなっている。

今回の溶出試験結果により、最初の4mLを除き、3mLを分取した。そこから2mLを正確に分取し、濃縮乾固後、移動相を加えて試験溶液とした。

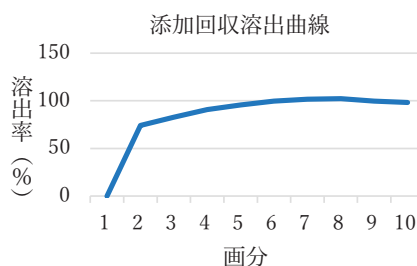


図1 添加回収溶出曲線

3.2 妥当性評価試験結果

試験法¹⁾にしたがって、選択性、定量限界、真度および精度を評価した結果、妥当性が認められた。

3.3 選択性および定量限界

ブランク試料を測定し、定量を妨害するピークの有無を確認した結果、妨害ピークは確認されなかった(図2)。

定量限界は、0.1mg/Lの標準溶液を繰り返し5回測定し、その標準偏差($\sigma=0.0102$)から求めた。その結果、0.102mg/kg(10σ)となり、目標値である0.25mg/kg以下を満たした。

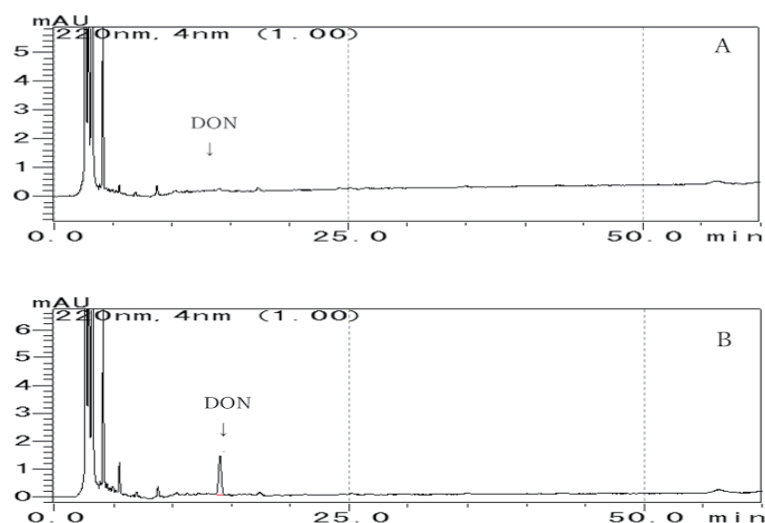


図2 HPLC クロマトグラム
A:サンプルブランク, B:検出したサンプル

3. 4 真度および精度

真度は96.6%, 併行精度は1.3%, 室内精度は4.2%であり, 目標値である真度80~110%, 併行精度10%未満, 室内精度15%未満を満たした。

4 まとめ

1濃度2併行により5日間, デオキシニバレノールの妥当性評価試験を行った結果, 選択性, 定量限界, 真度及び精度は目標値を満たし, 妥当性が認められた。また, 多機能カラム通過後の溶出液は5mL~10mLの画分で一定濃度で溶出した。

DONは, 赤かび病が発生した年には検出されることが多く, 近年も発生がみられる^{7),9)}。今回妥当性評価を実施し, 検査実施標準作業書を改訂した。確実な検査を実施し, 健康被害を防ぐための一助としていきたい。

文 献

- 1) 厚生労働省大臣官房生活衛生・食品安全審議官通知(令和3年9月30日付け生食発0930第1号)「小麦中のデオキシニバレノール試験法について」
- 2) 厚生労働省医薬・生活衛生局食品基準審査課事務連絡(令和3年9月30日)「小麦中のデオキシニバレノール試験法について」
- 3) デオキシニバレノール及びニバレノールに係る食品健康影響評価書第2版(2019年12月)食品安全委員会
- 4) 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会食品規格部会報告書(2020年9月30日)
- 5) 中村 富・武田周平・小笠原和夫・唐島田隆・安藤和夫:「赤黴病被害小麦の食中毒に関する研究」北海道衛研報 2, 35-46(1951)
- 6) 厚生労働省医薬局食品保健部長通知(平成14年5月21日付け食発第0521001号)「小麦のデオキシニバレノールに係る暫定的な基準値の設定について」
- 7) 第77号2022 No.1 The 信州エコ・へるす
- 8) 第50号2014 No.3 The 信州エコ・へるす
- 9) 病害虫発生予察注意報第1号 病害虫名:コムギ赤かび病(令和3年(2021年)5月28日)長野県病害虫防除所
- 10) 農林水産省ホームページ, かび毒含有実態調査の結果:
https://www.maff.go.jp/j/syoutan/seisaku/risk_analysis/priority/kabidoku/tyosa/#mugirui
(2022年12月確認)
- 11) 長野県病害虫防除所, 農作物病害虫発生予察事業年報

Validity evaluation on analysis of deoxynivalenol in unpolished wheat

Yuka UENUMA¹, Ashiko MIYAGAWA^{1,2}, Kazushi KOYAMA¹ and Toshimi TSUCHIYA^{1,2}

1 Food and Pharmaceutical Sciences Division , Nagano Environmental Conservation Research Institute, 1978 Komemura, Amori, Nagano 380-0944, Japan

2 Present address: Retirement