カツオ節類のマイコトキシンに関する研究

真鍋 勝・田中 健治・斉藤 道彦・松浦 慎治*¹M. MANABE, K. TANAKA, M. SAITO, and S. MATSUURA*¹
Studies on Mycotoxins of Katsuo-bushi (Dried Bonito Sticks)

我国の伝統的食品の一種であるカツオ節類は、製造工程中に“かび付け”といわれる重要な工程がある。焙乾したカツオ（ソウダカツオ、サバを原料とする雑節もある。）をかび付け箱に入れ、室（むろ）に入れてかびの生育に適した温・湿度を与えるのみで、特に純粋培養した種菌を接種することなく、室やかび付け箱に付着していたかびが種菌となる。このような現状から、マイコトキシン産生菌が混入しカツオ節に生育する危険性もあるため、鰹節類業界の協力により全国の産地からカツオ節を直接集め、マイコトキシン汚染の有無を調べると共に、カツオ節に生育しているかびを分離し、分離菌のマイコトキシン産生の有無を検討した。また、焙乾してかび付けを行なう直前のカツオに、既知のマイコトキシン産生菌を接種、培養し、マイコトキシン産生の有無を検討することにより、カツオ節のマイコトキシン汚染の可能性についても検討した。

実験方法

1. 試料：全国の産地から集めたカツオ節類は、表1に示す26点である。採集した試料の大部分は、3番かび付け工程のものであり、一部は2番かび付け工程のものもあった。

2. マイコトキシンの分析：カツオ節類に生育しているかびは、*Aspergillus* 属が多いことから、アフラトキシン (AF)、オクラトキシン (OC)、ステリグマトシスチン (ST) について分析した。

かびはカツオ節の表面に生育しているので、カツオ節削り器で表面から5mm位の深さまで削り取り、この削り節を分析試料とした。マイコトキシンの抽出は、肉類についてのAF分析として Bullerman ら¹⁾の開発した方法を参考に行なった。クロロホルム抽出液は、A. O. A. C. 法²⁾と同様にシリカゲルカラムを使って精製し、薄層クロマトグラフィー (TLC) によりAFとOCの分析を行なった。STについては、抽出クロロホルム液を蒸発乾固し、著者らの開発した方法³⁾により分析した。

3. 毒性試験：クロロホルムで抽出し、ヘキサンにより油脂類を除去したカツオ節抽出物の毒性試験を鶏胚法⁴⁾とブラインシュリンプ法⁵⁾により行なった。

4. 分離菌のマイコトキシン産生能試験：カツオ節からの菌の分離は、表面から5mm位の厚さにカツオ節を切り取り、常法により表面殺菌し、カツオエキスを加えた下記の寒天培地上に置き平板培養し、生育してきたかびを分離した。分離した菌の中の代表的菌株について、米と削り節を培地として28°、20日間培養し、カツオ節試料と同様にマイコトキシンの分析を行なった。培地組成は、グルコース 250g、ペプトン 5g、リン酸1カリウム 1g、硫酸マグネシウム 1g、硫酸亜鉛 50mg、カツオエキス 10g、寒天 20g、水 1000 ml である。

*¹ 農林水産省食品総合研究所 (〒305 茨城県筑波郡谷田部町観音台2-1-2)

National Food Research Institute, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (2-1-2, Kannondai, Yatabe-machi, Tsukuba-gun, Ibaraki 305, Japan)

5. 汚染試験：焙乾の終わったかび付前のカツオ節を1~5mm位の厚さに削り、これを培地として *Aspergillus flavus* NRRL 3000, *A. ochraceus* 0458, *A. versicolor* 0056 の3菌株を接種し、28°, 20日間培養した。培養終了後、カツオ節試料について行なったと同様に、マイコトキシンの分析を行なった。

実験結果および考察

1. マイコトキシンの検査と毒性試験：結果を表1に示す。アフラトキシン、オクラトキシン、ステリグマトシステチンの分析では、いずれの試料からもマイコトキシンが検出されなかった。鶏胚法の毒性試験では、卵1個当たり抽出物1mgを注入したが、いずれの試料も毒性が認められなかった。ブラインシュリンプ法では、抽出物の海水中濃度が300~800 μ g/mlになるように添加試験を行なったが、毒性が認められなかった。一般にブラインシュリンプのLD₅₀は、ステリグマトシステチン0.16 μ g/ml, アフラトキシン B₁ 0.8 μ g/ml, オクラトキシン A 32 μ g/ml であることより、抽出物

表1 カツオ節類のマイコトキシン分析結果および毒性試験

試料 No.	生 産 地	ア フ ト ラ キ シ ン	オ ク ラ キ シ ン	ス テ シ グ チ ン	鶏 胚 法		ブライン シュリンプ法	
					24時間	48時間	24時間	48時間
1	千葉県安房郡千倉町	—	—	—	2/15*	2/15	1/49	3/49
2	〃	—	—	—	0/15	0/15	2/35	3/35
3	〃	—	—	—	2/15	3/15	1/45	8/45
4	静岡県加茂郡西伊豆町田子	—	—	—	0/14	2/14	1/48	5/48
5	〃 榛原郡御前崎町	—	—	—	0/15	2/15	1/71	4/71
6	〃 焼津町	—	—	—	1/15	3/15	0/55	3/55
7	〃	—	—	—	0/15	0/15	2/38	4/38
8	〃	—	—	—	0/15	0/15	0/61	2/61
9	〃	—	—	—	2/15	3/15	1/42	2/42
10	〃	—	—	—	2/15	2/15	0/37	2/37
11	三重県志摩郡大王町波切	—	—	—	2/13	2/13	0/39	4/39
12	〃	—	—	—	0/15	1/15	1/48	3/48
13	高知県土佐清水市	—	—	—	3/15	3/15	1/50	3/50
14	〃	—	—	—	0/15	0/15	1/82	2/82
15	〃	—	—	—	0/15	0/15	3/56	4/56
16	〃	—	—	—	0/15	0/15	1/41	2/41
17	〃	—	—	—	2/15	4/15	1/79	4/79
18	鹿児島県揖宿郡山川町	—	—	—	0/15	0/15	2/39	3/39
19	〃	—	—	—	2/15	3/15	2/29	5/29
20	〃	—	—	—	2/14	2/14	1/36	5/36
21	鹿児島県枕崎市	—	—	—	0/15	0/15	1/99	14/99
22	〃	—	—	—	0/15	0/15	0/68	4/68
23	〃	—	—	—	0/15	0/15	4/61	10/61
24	〃	—	—	—	0/14	0/14	0/110	5/110
25	〃	—	—	—	0/15	0/15	0/116	6/116
26	沖縄県宮古島	—	—	—	2/15	3/15	0/70	5/70

* 分母は検数、分子は死亡数

を 300 $\mu\text{g/ml}$ 以上加えても死滅が少ないことは、試料のカツオ節が安全であることを示している。

2. 分離菌のマイコトキシン産生能試験：試料から分離した菌は、*Aspergillus* 属が大部分であり、中でも *A. glaucus* group, *A. ochraceus* group, *A. versicolor* group が多かった。分離の中より代表的タイプの12菌株を選び産生能を検討した結果、いずれの菌株もマイコトキシン（アフラトキシン、オクラトキシン、ステリグマトシスチン）の産生を認めなかった。しかし、宮古島産のカツオ節の表面洗浄液から分離した *A. flavus* group の一菌株は、表面に付着していたと思われるが、アフラトキシン産生能を有し、米培養でアフラトキシン B₁ を 1.1ppm 産生した。

3. 汚染試験：マイコトキシン産生菌 3 株は、28°C の培養でカツオ節上で良好な生育を示し、かび付け工程でこれらの菌が存在すると充分にカツオ節に生育する可能性のあることが認められた。マイコトキシンを分析した結果、*A. flavus* を培養したカツオ節からは、約 10ppb のアフラトキシン B₁ が検出され、*A. ochraceus* からは約 5ppb のオクラトキシン A が検出された。*A. versicolor* を培養したカツオ節からはステリグマトシスチンを検出しなかったが、産生力の強い菌株であれば検出されることも考えられる。これらの結果から、かび付け工程で産生菌が存在すれば生育し、カツオ節がマイコトキシン汚染を受ける可能性があることを示唆している。

引用文献

- 1) Bullerman, L. B., Hartman, P. A., Ayres, J. C.: J. Assoc. Offic. Anal. Chemists., 52, (3), 638 (1969).
- 2) Anonymous: "Official Methods of Analysis of the Assoc. Offic. Anal. Chemists": 12 Edition. p. 462 (1975).
- 3) 真鍋 勝, 南沢正敏, 松浦慎治: 農化, 47(3), 209(1973).
- 4) 医科学研究所学友編: 細菌学実習提要, 第2版 p. 400 (1958) 丸善.
- 5) 田中健治ら: 食総研報, 30, 43(1975).