食品加工時におけるトリコテセン系 マイコトキシンの分解^{*1}

(昭和 54 年 3 月 26 日受理)

上村 尚^{**} 西島基弘^{**} 斉藤和夫^{**}
安田和男^{**} 井部明広^{**} 永山敏廣^{**}
牛山博文^{**} 直井家壽太^{**}

The Decomposition of Trichothecene Mycotoxins During Food Processing

(Studies on Mycotoxins in Foods. XII)

Hisashi KAMIMURA, Motohiro NISHIJIMA, Kazuo SAITO,
Kazuo YASUDA, Akihiro IBE, Toshihiro NAGAYAMA,
Hirofumi USHIYAMA and Yasuta NAOI

(Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health,
24-1, Hyakunincho 3-chome, Shinjuku-ku, Tokyo)

The decomposition of trichothecene mycotoxins in laboratory prepared foods under various conditions of manufacturing and cooking was investigated.

Each food material was cooked, usually by baking, boiling or frying. Test foods were prepared from flour, Bread Japanese noodles and Chinese noodles, and the effects of heat treatment and food additives on the decomposition of added trichothecene mycotoxins were examined.

The results obtained were as follows:

- 1) After the manufacturing and cooking processes, ca. 50% of the added trichothecene mycotoxins remained in the test foods.
- 2) On pyrolysis at 120, 150, 180 and 210°C for 30 minutes, the decomposition of trichothecene mycotoxins increased with increasing temperature and pyrolysis time.
- 3) Brine which has been used in Chinese noodles as a flavor enhancer in Japan. The effect of brine (alkaline solution) in promoting the decomposition of trichothecene mycotoxins was considerable.

(Received March 26, 1979)

まえがき

最近、我が国産麦から deoxynivalenol および nivalenol の自然汚染例が報告され、その汚染実態の一部が明らかになり注目されている^{1), 2)}。

そこで、我々は穀類および小麦粉などの食品原料がトリコテセン系マイコトキシン（以下トキシン）に汚染された場合を想定して、小麦粉にトキシンを添加して食品を作製し、調理加工した場合の熱によるトキシンの分解

の有無、また食品添加物などの影響について検討したところ、若干の知見が得られたので報告する。

実験方法

1. 試薬、標準溶液および装置

1.1 試薬

1) カラムクロマト用アンバーライト XAD-2 およびフロリジル：前報³⁾ の操作に従い調製したものを用いた。

2) 薄層クロマトグラフィー用プレート：DC-Fertigplatten Kiesel gel (Merck 社製) 20×20 cm Art. 5721.

^{*1} 食品中のマイコトキシンに関する研究（第12報）

^{**2} 東京都立衛生研究所：東京都新宿区百人町 3-24-1

3) 展開溶媒: クロロホルム-メタノール (93:7).

4) その他の試薬: すべて市販特級品を用いた.

1.2 標準溶液

トキシン混合標準溶液: クロロホルム 1 ml 中に deoxynivalenol, nivalenol, fusarenon-X, diacetoxyscirpenol および neosolaniol については各 10 µg, T-2 toxin については 20 µg 含有するように調製した.

1.3 装置

1) ガスクロマトグラフ: (株)島津製作所製 GC-7A.

2) デジタルインテグレーター: (株)島津製作所製 ITG-2A.

3) 油浴: 2 L のビーカーに市販たばら油 1 L を入れ, 油中用パイプヒーターを投入した.

4) 電気定温乾燥器: (株)董恒医理工業.

5) カラムクロマト管: 前報³⁾に準じた.

2. 試験溶液の調製

前報³⁾に準じて試験溶液の調製を行った. なお, 食用油脂の場合は, その 50 g を秤取し, ヘキサン 100 ml を加え溶解後, 水-メタノール (9:1) 溶液 100 ml を加えて 30 分間振とう後静置し, 下層を分取した. 上層に水-メタノール溶液 100 ml を加え, 同様の操作を行い, 先の下層と合した後減圧下で約 100 ml に濃縮した. 濃縮液は前報³⁾と同様にアンバーライト XAD-2 カラムクロマトグラフィーおよびフロリジルカラムクロマトグラフィーによりクリーンアップ後, 試験溶液とした.

3. 定性および定量

3.1 定性

Kieselgel 薄層プレートの下端より 2.5 cm の位置に, それぞれ 2 cm の間隔で試験溶液 20 µl およびトキシン混合標準溶液 10 µl 塗布して, 展開溶媒クロロホルム-メタノール (93:7) を用いて展開した後, 風乾した. 薄層プレートに 20%塩化アルミニウム溶液を噴霧し, 130°, 10分間加熱した後, 365 nm の紫外線を照射することにより deoxynivalenol, nivalenol および fusarenon-X の有無を確認した. 次に同じプレート上に 20%硫酸を噴

霧し, 130°, 10分間加熱した後, 365 nm の紫外線を照射し, diacetoxyscirpenol, neosolaniol および T-2 toxin の有無を確認した.

3.2 定量

試験溶液を減圧下で留去して, 残留物をシリル化後, 前報³⁾に準じてガスクロマトグラフィーを行った. なお, トキシン含量が低濃度の試料については, シリル化剤を留去して, 残渣をヘキサンに溶解後, ECD を用いたガスクロマトグラフィーを行い定量した.

4. 食品の調製

4.1 パン

小麦粉 (強力粉) 400 g に食塩 8 g を加え, よく混和した後, 生イースト 24 g, 砂糖 5 g および温湯 200 ml を加え, 十分練り合せて第一次発酵を45分間行った. ガス抜き後, 第二次発酵を25分間行い, 各 50 g に分割して, トキシン混合標準溶液 5 ml を加え, 成型し, オーブン中で 210°, 20分間焼いた.

4.2 うどん

小麦粉 300 g (強力粉および薄力粉をそれぞれ 150 g) に食塩 15 g を加え, よく混和したものを水 150 ml で練り合せ, 各 50 g に分割してトキシン混合標準溶液 5 ml を加え, 厚さ 5 mm になるまで圧延し, 幅 7 mm, 長さ 100 mm に切り 98°, 10分間ゆでた.

4.3 即席めん

小麦粉 300 g (強力粉および薄力粉をそれぞれ 150 g) に食塩 5 g を加え, よく混和したものをあらかじめかんすい 5 g を溶かした水 100 ml で練り合せ, 各 50 g に分割してトキシン混合標準溶液 5 ml を加え, 厚さ約 1.5 mm に圧延し, 適当な長さに切り 1 分間蒸した. 蒸しめんを大豆油で 140°, 2 分間揚げた.

結果および考察

1. 調理加工時におけるトキシンの安定性

小麦粉などの食品原料がトキシンに汚染されたことを想定した場合, 小麦粉は通常, 焼く, 煮る, 揚げるなどの処理を行い食用とするため, 調理加工時の熱などによ

Table 1. Residual Rate of Trichothecene Mycotoxins after the Manufacturing and Cooking Process

Product	Residual rate (%)					
	DN	NV	FX	DS	NS	T-2
Bread	51 (36-66)	43 (30-54)	40 (27-57)	67 (56-73)	55 (46-64)	59 (36-73)
Chinese noodle	28 (15-44)	32 (24-47)	ND	ND	ND	ND
Japanese noodle	57 (46-63)	61 (42-68)	41 (27-52)	65 (53-72)	44 (32-57)	68 (59-76)

DN, Deoxynivalenol; NV, Nivalenol; FX, Fusarenon-X; DS, Diacetoxyscirpenol; NS, Neosolaniol, T-2, T-2 toxin

Values indicate the average of 10 samples.

Values in parentheses indicate the range of 10 samples.

Fig. 1. Stability of trichothecene mycotoxins against heat treatment

—○—○—, Deoxynivalenol, Nivalenol, Fusarenon-X
 —●—●—, Diacetoxyscirpenol, Neosolaniol, T-2 toxin

りトキシンが分解することも期待できる。そこで小麦粉を原料とする代表的な食品であるパン、うどんおよび即席めんを実験方法4に示した方法でそれぞれ10検体作製して、トキシシンに与える影響を検討し、その残存率をTable 1に示した。いずれの調理加工においても、トキシシンの減少が認められた。この原因としては、パンの場合は熱による影響、うどんの場合は熱による影響の他に煮汁中への移行、即席めんの場合は熱による影響の他にトキシシンの油中への移行または食品添加物などの影響が推察される。

2. 熱によるトキシシンの安定性

調理加工時にトキシシンが減少する原因としては熱による影響が考えられる。そこで通常、調理加工時に使用される98~210°におけるトキシシンの安定性の検討を行った。

トキシシン混合標準溶液 5ml をナン型フラスコに秤取し、溶媒を減圧留去後、ナン型フラスコを油浴中に投入して加熱した場合のトキシシンの安定性を Fig. 1 に示した。

120°加熱の場合、45分以内ではすべてのトキシシンはほぼ100%が残存していた。

150°加熱の場合、残存率が二つのグループに分けられた。すなわち deoxynivalenol, nivalenol および fusarenon-X のいわゆる nivalenol タイプの残存率はほぼ同程度であり、15分後に84%、30分後に78%、45分後に65%と徐々に減少していく傾向がみられた。また、diacetoxyscirpenol, neosolaniol および T-2 toxin のいわゆる T-2 タイプの残存率はほぼ同程度であり、15分後に90%、30分後に88%、45分後は78%であった。

180°加熱の場合、残存率は150°と同様に二つのグループに分けられ、nivalenol タイプのトキシシンの残存率は、

15分後に45%、45分後で2%となり、T-2 タイプのトキシシンは、15分後に60%、45分後では22%であった。

210°加熱の場合、加熱15分後で nivalenol タイプのトキシシンは10%であり、また T-2 タイプのトキシシンは30%と急激に減少し、30分後にはすべてのトキシシンは検出されなかった。これらのことより、トキシシンは高温になるに伴い、分解され易くなるが、調理加工時の加熱温度および加熱時間では一部残存することが推察された。

また、うどんなどは水煮を行うため、沸騰水中でのトキシシンの安定性を検討した。ナン型フラスコにトキシシン混合標準溶液 5ml を入れ、溶媒を減圧下で留去後、水を加えてトキシシンを溶解させた。ナン型フラスコを油浴中に投入して煮沸させたときのトキシシンの安定性を Fig. 2 に示した。煮沸後2時間以内では、トキシシンはほとんど分解されなかったが、2時間を経過すると各トキシシンとも減少する傾向がみられた。しかし調理加工上煮る時間は、1時間以内が多いことから水煮中の熱によっては

Fig. 2. Stability of trichothecene mycotoxins in boiling water

—○—○—, Fusarenon-X
 —●—●—, Diacetoxyscirpenol, T-2 toxin

トキシンはほとんど分解されないことが推察された。

これらの結果からパンは、“210°、20分間”という加熱条件であるため、トキシンのほとんどが分解されると考えられたにもかかわらず、約50%のトキシンが残存した。この原因はパンの表面温度が210°であっても、パンの中心部の温度が表面温度より40~50°低い150°程度であるためと考えられる。

うどんは、“98°、10分間”という比較的低い加熱条件であるためいずれのトキシンもそのほとんどが残存することが予想された。しかしその残存率は予想に反し60%程度であった。この原因はトキシンの“煮汁中への移行”などが推察される。

即席めんは、“140°、2分間”という加熱条件であるため、トキシンのほとんどが残存すると予想された。しかし deoxynivalenol が28%また nivalenol が32%残存したのみで fusarenon-X および T-2 タイプのトキシンは検出されなかった。この原因は、トキシンの“揚げ油中への移行”あるいは“食品添加物による影響”などが推察される。

3. トキシンの水中への移行

うどんを調理したときにトキシンが減少する原因は、煮汁中へトキシンが移行することも考えられる。そこでうどんの煮汁中の含有量を調べたところ、30%前後のトキシンが煮汁中へ移行していることが判明した。これらは添加実験であるため自然汚染されたものについても同様の結果が得られるかを確認するため deoxynivalenol 4.7 ppm および nivalenol 4.5 ppm が検出された汚染麦を粉砕し、2倍量の水に1時間浸せきした後、ろ別して、粉砕麦の部分と浸せき水の部分について含量を調査した結果を Table 2 に示した。粉砕麦の部分には deoxynivalenol および nivalenol とも70%程度が残存し、浸せき水の部分にはそれらの30%程度が移行することが判明した。これらのことから、汚染麦で作られたうどんについてもほぼ同様の傾向があることが推定された。

4. トキシンの油中への移行

揚げ物をする場合、食品中の水分が油と交換され、その後、水分は蒸発してしまうと考えられている。したがって汚染小麦粉で即席めんを作製した場合もトキシンの

Table 2. Residual Rate of Deoxynivalenol and Nivalenol in Naturally Infected Barley by Water Soaking

Sample	Deoxynivalenol		Nivalenol	
	Found (ppm)	Residual rate (%)	Found (ppm)	Residual rate (%)
Wheat before soaking	4.7		4.5	
Wheat after soaking	3.3	71	2.5	63
Soak	1.5	32	1.3	29

Table 3. Recovery of Trichothecene Mycotoxins Added to Edible Oil

Added (μg)	Recovery (%)					
	DN	NV	FX	DS	NS	T-2
20	98	94	96	89	86	72
100	96	90	91	88	94	78
Average	97	92	93	89	90	75

DN, Deoxynivalenol; NV, Nivalenol; FX, Fusarenon-X; DS, Diacetoxyscirpenol; NS, Neosolaniol; T-2, T-2 toxin

一部が油中に移行することも推察される。

そこで、食用油中のトキシンを定量するために実験方法2に示した試験法を作製した。大豆油 50 g を秤取して、トキシン混合標準溶液 2 ml および 5 ml を添加した後、1昼夜放置して、試験したときの回収率を Table 3 に示した。T-2 toxin の平均回収率は75%であったが、他のトキシンは89~97%と良好な回収率が得られ、ガスクロマトグラム上妨害を示すピークは特にみられなかった。

そこで本法を用いて、即席めんの揚げ油中へのトキシン移行の調査を行ったが、移行はほとんど認められなかった。

5. 食品添加物によるトキシンの安定性

即席めんにトキシンを添加した場合、deoxynivalenol および nivalenol が著しく減少し、他は全く検出されなかった原因について種々検討したところ、食品添加物として使用されているかんすい（炭酸塩）の影響が推察された。即席めんには通常かんすいが0.5%前後の濃度で使用されている。そこで fusarenon-X, diacetoxyscirpenol および T-2 toxin の標準溶液 5 ml をナシ型フラスコに入れ、溶媒を減圧下で留去後、0.5% 炭酸ナトリウム溶液を加えてトキシンを溶解させ、室温に放置したときの安定性を Fig. 3 に示した。diacetoxyscirpenol および T-2 toxin の残存率は1時間浸せき後に40%、5時間浸せきで約4%であった。fusarenon-X は急激に減少し、1時間浸漬で20%、2時間浸せきでは全く検出されなかった。この結果より、かんすいはトキシンの分解に強く作用することが判明した。これらのことから、即席めん中から fusarenon-X および T-2 タイプのトキシンが検出されなかった原因は、かんすいが大きく関与していたことが判明した。

6. アルカリ溶液中での fusarenon-X の挙動

構造上類似した nivalenol と fusarenon-X をかんすい中で比較した場合、nivalenol が残存し、fusarenon-X が全く検出されなかった原因を調査するため fusarenon-X を 0.01 N 炭酸ナトリウム溶液に浸せきして室温に放置したときの挙動を Fig. 4 に示した。fusarenon-X は経時的に分解し、その残存率は1時間浸せきで65%、5時

Fig. 3. Stability of trichothecene mycotoxins in 0.5% Na_2CO_3

○—○—, Fusarenon-X,
●—●—, Diacetoxyscirpenol, T-2 toxin

Fig. 4. Behavior of fusarenon-X in 0.01 N Na_2CO_3

●—●—, Fusarenon-X
--●--●--, Nivalenol

間浸せきで5%と急激に減少したが fusarenon-X の減少に伴い, nivalenol が出現し, 時間とともに増加することが判明した。これらの結果より, 即席めん中より nivalenol が検出された原因は, 添加した nivalenol はかんすいにより徐々に分解を受ける一方, fusarenon-X の分解に伴い nivalenol が生成したためその一部が検出されたものと推察される。

7. アルカリ溶液中でのトキシンの安定性

かんすいはアルカリ性であるため液性がトキシンの分解に関与していることも考えられる。そこで食品添加物として使用許可されている炭酸水素ナトリウム溶液, アンモニア水, 炭酸ナトリウム溶液および水酸化ナトリウム溶液などが diacetoxyscirpenol および T-2 toxin に与える影響を検討し, その結果を Fig. 5 に示した。diacetoxyscirpenol および T-2 toxin を 0.01 N の各種アルカリ溶液に浸せきし, 室温に放置したときの残存率は5時間後で炭酸水素ナトリウム溶液で75%, アンモニア水で40%, 炭酸ナトリウム溶液で20%であり, 水酸化ナトリウム溶液は1時間浸せきで3%と急激に減少した。これらのことより, トキシンはアルカリ溶液中ではいずれも不安定であり, かつアルカリ強度に比例してトキシンが分解を受けやすくなることが判明した。

Fig. 5. Stability of diacetoxyscirpenol and T-2 toxin in various alkaline solution

(I), 0.01 N NaHCO_3 ; (II), 0.01 N NH_4OH ;
(III), 0.01 N Na_2CO_3 ; (IV), 0.01 N NaOH

8. 酸溶液中でのトキシンの安定性

アルカリ溶液がトキシンの分解に顕著な効果を示すことが判明したので, 食品添加物として使用が許可されている塩酸および硫酸中でのトキシンの安定性について検討した。0.1 N 塩酸および硫酸中にトキシンを浸せきし, 室温に放置したときの残存率は5時間後でもほぼ100%であり, 酸溶液中ではトキシンが安定であることが判明した。

まとめ

小麦粉など食品原料がトキシンの汚染されていた場合, 調理加工時の熱または食品添加物の作用などにより分解するかについて検討した。

小麦粉にトキシンを添加して, パン, うどんおよび即席めんを作製して残存率を調査したところ, パンは50%程度, うどんは60%程度が残存することが判明した。また即席めんは deoxynivalenol および nivalenol がいずれも30%程度残存したが, fusarenon-X および T-2 タイプのトキシンは検出されず調理加工形態により非常に異なることが判明した。トキシンが減少する要因として熱が関与していることが考えられる。そこで調理時に繁用されている温度を選び, トキシンを加熱したところ, 加熱温度が高くなるに従い, トキシンの分解は高まるが, 調理の際に通常用いられている温度および時間ではその一部は残存することが判明した。また, 比較的調理温度の低いうどんでも残存率が予想以上に少なかった原因は, トキシンが煮汁に移行しているためであることが分った。即席めん中のトキシンの減少は製造する際に添加したかんすいが関与していることが判明した。

しかし, いずれの調理加工形態の場合も, 通常の調理方法ではトキシンは完全に分解されず一部残存することは, 市販製品についてはもちろんのこと, 小麦粉などの原料, 収穫時の穀類についても汚染実態調査を行う必要があると考える。

本研究の要旨は, 日本食品衛生学会第35回学術講演会(1978年5月東京)および第36回学術講演会(1978年12月静岡)において発表した。

文 献

- 1) 芳沢宅美, 松浦 康, 土谷幸生, 諸岡信一, 木谷清美, 一戸正勝, 倉田 浩: 食衛誌, **20**, 21 (1979).
- 2) 芳沢宅美, 土谷幸生, 寺浦 優, 諸岡信一: Proc. Tap. Assoc. Mycotoxicol. **2**, 30 (1976).
- 3) 上村 尚, 西島基弘, 斎藤和夫, 高橋尚子, 井部明広, 落合節子, 直井家壽太: 食衛誌, **19**, 443 (1978).