

小麦子実中デオキシニバレノール測定における ELISA 法の適応性

柿内俊輔・三角正俊
(熊本県農業研究センター)

Shunsuke Kakiuchi and Masatoshi Misumi :
Measurement of Deoxynivalenol in husked Wheat by ELISA-method

2002年5月に小麦子実中デオキシニバレノール (Deoxynivalenol, 以下 DON と略す) 濃度の暫定基準値1.1ppm が策定された。DON は赤かび病の原因となるフザリウム属のかびがつくるかび毒である。DON の分析には機器分析法が用いられるが、暫定基準値が策定されたため、安価で迅速な現場適応性の高い測定法が求められていた。2003年4月に食糧庁は酵素免疫測定 (Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay 以下 ELISA と略す) 法が簡易分析法としてスクリーニングに使用可能であることを示した。ELISA 法は迅速簡便な反面、分析溶液の pH や温度、特に分析対象物質と類似した類縁体など夾雑物の影響を強く受ける。また、西日本での赤かび病菌は DON だけでなく同種のかび毒のニバレノールを優先に生産する株も高い頻度でみいだされており¹⁾、特異な性質を有していると考えられるが、今まで熊本県において赤かび病菌株が生産する物質や DON 類縁体に関する詳細な報告はない。このため、今回 ELISA 法の熊本県産小麦子実中 DON 濃度測定に対する適応性の検討を行った。また、小麦の調整法の違いによる DON 濃度低減効果についても ELISA 法を用いて検討を行った。

1. 材料および方法

1) 小麦の調整: 所内で赤かび病菌を接種し栽培した小麦を収穫後速やかに11%程度の水分率に乾燥させた。ELISA 法の適応試験には2.2mm 篩を用い調整後に粉碎した。他試験ではそれぞれの調整法で調整した後に粉碎した。

2) ELISA 法: 市販3社の分析キットを用いた。キット毎の操作方法に従い測定を行った。

3) 機器分析法: アセトニトリル-水 (85:15) で抽出した後、ろ過、多機能性 (逆層+陽イオン交換+陰イオン交換+活性炭) カラムで精製し、濃縮、定容、遠沈後に、220nm の測定波長を用い HPLC にて測定した²⁾。

2. 結果および考察

1) ELISA 法の適応性の検討

機器分析で DON 濃度が0.07ppm から2.10ppm までの小麦30点を用いた。市販3社の何れのキットも ELISA 分析値と機器分析値には高い相関があり、熊本県産小麦中 DON のスクリーニングに使用可能であることが明らかとなった (第1図)。ELISA 法でのスクリーニング上限値0.7ppm (これ以上の濃度は機器分析による再測定が必要となる) の小麦は機器分析で0.4~0.5ppm であった。また、機器分析にて基準値1.1ppm を超えた小麦が ELISA 分析で0.7ppm 以下の値になることはなかった。

2) 調整法の違いによる DON 濃度低減効果

(1) 粒径による選別

全粒の DON 濃度が0.77ppm の小麦を用い、篩を用い2.0mm と2.2mm の粒径選別を行った。結果、粒径の小さい小麦は粒径の大きいものと比較して強く DON に汚染されていたが、全粒数に対しその割合が少ないので、

粒径選別による DON 濃度低減の効果は小さかった (第1表)。

第1表 小麦粒径別の DON 濃度の違い

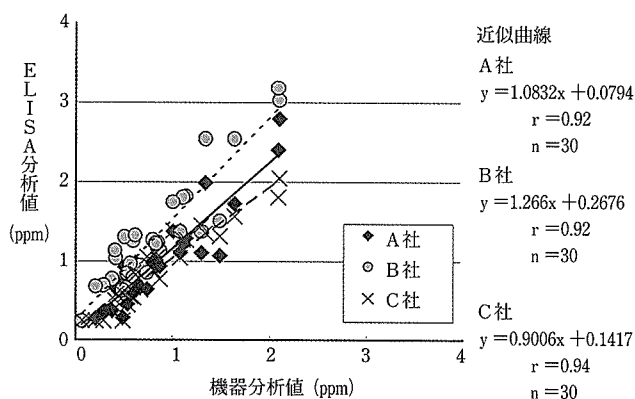
粒径	DON (ppm)	割合 (%)
<2.0	5 <	0.32
2.0-2.2	3.95	1.61
2.2<	0.65	
全粒	0.77	

(2) 揺動選別機または比重選別機による選別

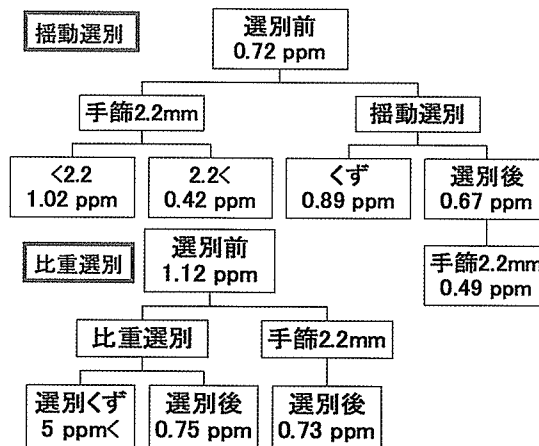
揺動選別には選別前 DON 濃度0.72ppm, 比重選別では選別前1.12ppm の小麦を用いた。揺動選別では選別後の小麦を更に粒径選別することで DON 濃度は低下した。一方比重選別の場合、比重選別を行うことのみで粒径選別を行った小麦の DON 濃度と同程度に低下していた。このことから揺動選別に比べ比重選別が DON 濃度を低減させる効果は高いと考えられた (第2図)。

引用文献

- 1) 吉澤宅實: 近畿大学農学総合研究所報告 5, 23-30, 1997.
- 2) 平成14年5月21日食発第0521001号厚生労働省医薬局食品保健部長通知.



第1図 機器分析値と ELISA 分析値の比較



第2図 選別方法による DON 濃度低減効果