

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：32676

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06520

研究課題名（和文）かび毒汚染の制御を目指した紫外線照射の可能性の探究

研究課題名（英文）Possibility of ultraviolet irradiation for the control of mycotoxin contamination

研究代表者

川口 里恵（伊藤里恵）（Ito, Rie）

星薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：90398892

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：カビ毒アフラトキシン（AFs）汚染の制御を目指した紫外線照射の可能性を探索した。紫外線照射によって、照射時間の延長とともにAFs標準溶液は分解された。一方、モデル食品としたコーン中ではAFs分解率は低く、24時間照射によって30%程度の分解であった。しかしながら、長時間の照射で分解が進行することが分かった。さらに、光の照射によってAFsを産生するAspergillus属の真菌への影響を確認した。AFを産生する真菌を培養する際に、波長を変えた光を照射した。その結果、培地の目視観察において365 nmの光を照射した培地には菌が生育しなかったことから、紫外線照射で菌の生育を抑制できることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

持続可能な社会を達成するために、食品ロスが大きな問題となっている。日本ではエコフィードと言われる、残った食品を再利用した動物用飼料の製造が推奨されているが、カビ毒汚染の問題があった。そこで、食品リサイクルの過程でカビやカビ毒を減らすことができないかと考えた。紫外線照射に着目したところ、紫外線を照射することでカビ毒を産生する真菌の生育を抑制できた。さらに、カビ毒が産生された後でも、紫外線を照射することで一定量のカビ毒を分解することが可能であった。これらは食品ロスの問題を解決し、持続可能な社会を実現させるための有効な一手段となりうることを示唆している。

研究成果の概要（英文）：The possibility of UV irradiation to control contamination of aflatoxin (AFs) was examined. When the standard solution of AFs was exposed to UV-ray, they were decomposed as the exposure time was extended. On the other hand, in the corn sample, the decomposition rate of AFs was low, with only about 30% after 24 hours of exposure. Furthermore, we confirmed the effect of light exposure on Aspergillus fungi that produce AFs. When culturing AF-producing fungi, light of different wavelengths was irradiated. As a result, visual observation of the medium showed that the fungus did not grow in the medium irradiated with 365 nm light, indicating that UV exposure can inhibit fungal growth.

研究分野：分析化学

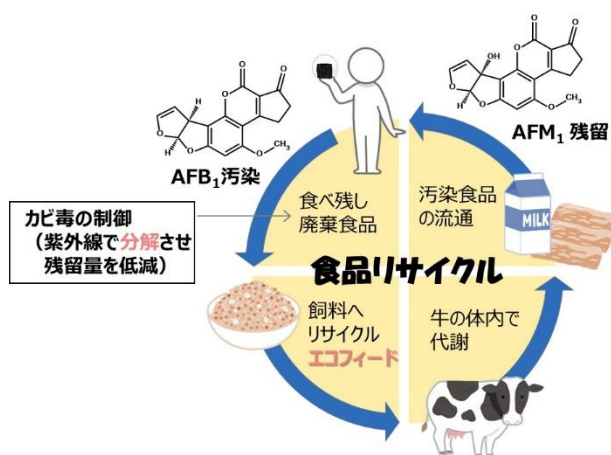
キーワード：カビ毒 紫外線照射 食品リサイクル

1. 研究開始当初の背景

2015年に国連が「SDGs(持続可能な開発目標)」を採択した。目標の一つである「持続可能な生産消費形態を確保する」の達成には、食品廃棄の減少が重要となっており、食品ロスを動物用飼料などへ再生利用することが有効であると考えられている。日本においても食品リサイクルによる資源の有効利用および飼料自給率の向上等を図る目的で、農林水産省が食品残渣を利用したエコフィードという動物用飼料の製造を推奨していた。ところで、アフラトキシン(AFB)B1というカビ毒に汚染された動物用飼料を摂取した家畜(牛)は、その家畜体内でAFを代謝する。このAF代謝物は、乳汁(牛乳)中に毒性のある代謝物として検出されることが分かり問題となっていた。そこで、食品を飼料として再生利用する際には、カビ毒のコントロールが不可欠であると考えた。そのためには、再生利用する食品自体のカビ汚染を低減し、また飼料中のカビ毒量を減らすことが必要不可欠であった。本研究では、カビ毒汚染の制御を目指して紫外線照射の可能性に着目した。日本において規制を受けるカビ毒の一つにAFsが挙げられるが、このAFsを産生する糸状菌に対する光照射の影響を精査し、AFsカビ(菌)の成育やカビ毒産生を抑制する条件を検討する。さらに、産生してしまったカビ毒に対しては、紫外線を照射することで、カビ毒の毒性軽減あるいはカビ毒の分解による汚染量の低減化について検討することにした。

2. 研究の目的

食品リサイクル(右図)において、ヒトの残した食品(フードロス)やその他の食品は、家畜用飼料として再利用される。その家畜が食肉や乳汁といった食品となりヒトに戻ってくる。このリサイクル過程において、紫外線照射を用いたカビ毒コントロールを目指した。すなわち、紫外線照射によって、食品の際にカビを生やさない(生育抑制)ことや、生えてしまったカビが産生するカビ毒量を減らす(カビ毒産生抑制)こと、あるいは産生されてしまったカビ毒の毒性を低減する、産生されてしまったカビ毒を分解してカビ毒量を減らすことを目的に実験を行った。



3. 研究の方法

本研究は食品ロスの削減のため食品の再生利用を行う上で、問題となる食品のカビ汚染、カビ毒の発生について、紫外線照射技術を用いて検討してきた。本研究は以下の通り構成されており、それぞれの実験方法を示す。

アフラトキシン分析法の開発と性能評価

モデル食品に選択した冷凍コーン中のAFs分析法を開発した。冷凍コーンを粉碎し、溶媒抽出を行った。遠心分離後、上清をカビ毒分析用前処理多機能カラムに負荷した。流出液を窒素気流下で乾固し、トリフルオロ酢酸(TFA)を用いた誘導体化を行った。誘導体化した試料は、蛍光検出液体クロマトグラフィー(HPLC)分析に供した。AFsのうち、AFB1、G1は、感度が低いため標準溶液、コーン試料共に、TFA誘導体化を行った。逆相系のカラムを用いた蛍光検出HPLCにおいて、検出波長は励起波長が365 nm、蛍光波長が435 nmとした。開発した分析法は、1日2併行、5日間の添加回収実験を行い、一元配置分散分析により、その性能を評価した。

紫外線照射によるカビ毒の分解

カビ毒標準液およびモデル食品として冷凍コーンを用いて、カビ毒分解の検討を行った。紫外線照射には、紫外線ランプ(波長253.7 nm)を用いた。AFs標準溶液を蓋つき石英セルに入れ、紫外線を照射した。AFsを添加した冷凍コーン試料は、石英シャーレに入れ、上面を石英板で覆い、蓋をした。照射時間は0~150 minとしたが、コーン試料については24時間照射試料も準備した。

光照射によるカビの生育抑制およびカビ毒産生量低減

アフラトキシン産生菌として、独立行政法人 製品評価技術基盤機構より分譲された *Aspergillus parasiticus* NBRC 30110 株、*A. flavus* NBRC 33021 株、*A. nomius* NBRC 33223 株、*A. bombycis* NBRC 100700 株、*A. pseudotamarii* NBRC 100702 株および *A. pseudotamarii* NBRC 100703 株を使用した。紫外線照射波長は、365、450、525、600 および 660 nm を選択した。ポテトデキストロース寒天(PDA)培地は日水製薬製のものを使用した。まず、アフラトキシン産生菌6菌株を、PDA培地、暗黒下、25℃で1週間培養した。培養後のシャーレに、オートクレーブで滅菌した生理食塩水(tween80 0.1%添加) 10 mL を

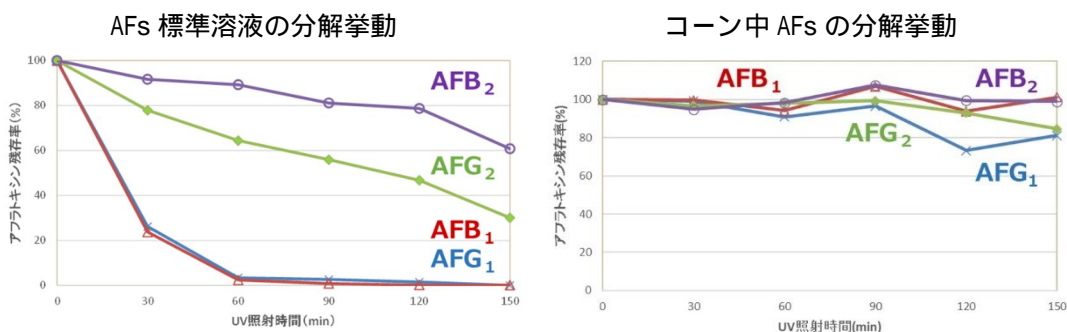
分注し、コーンラージ棒で培地表面を掻き取り、菌溶液を調製した。各菌溶液をそれぞれ PDA 培地の中央に 2 mL 滴下し、各波長の紫外線照射、25、1 週間培養した。培養後の菌は、培地ごと遠心チューブに移し入れ、凍結乾燥した。乾燥後、溶媒抽出し HPLC 分析に供した。すぐに分析できない場合は、-20 で保管した。

4. 研究成果

蛍光検出 HPLC 分析法において、移動相やカラムなど分析法を最適化した。分析法の性能評価では、真度（平均回収率）併行精度、室内精度を一元配置分散分析法により算出した。真度は、85.8~96.2%、併行精度は 5.18~11.9%、室内精度は 7.06~12.2%であった。これは『総アフラトキシンの試験法について(食安発 0816 第 1 号)』に示された真度および精度の目標値を達成していたことから、分析法の妥当性が示された。

紫外線照射によるカビ毒の分解

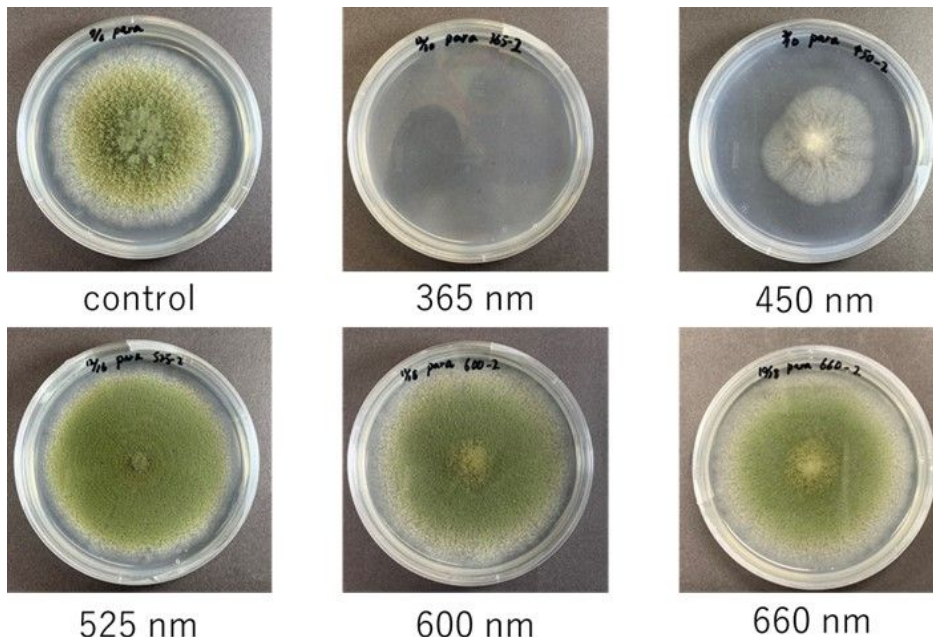
下図に示す通り、標準溶液は 0~150 分の照射時間の延長に伴って分解し、特に毒性の高い AFB1 は、120 分で完全に分解した（定量下限値以下）。AFG1 も同様に分解した一方、AFG2 および AFB2 の分解は穏やかであった。コーン中では、150 分の照射においても、その分解は限定的であり、最も分解の進んだ AFG1 においても、150 分後に約 80% が残存していた。



そこで、コーン試料においては紫外線を 24 時間照射した。その結果、総 AFs で約 30% の分解が達成された。標準溶液とコーン中での AFs 分解挙動の違いは、主に紫外線照射面積に起因すると考えられた。すなわち、標準溶液は透明な液体のため、試料溶液全体に紫外線が照射されるのに対し、コーン試料は固体表面のみ紫外線照射され、内部までは照射されないため分解されないと考えられた。

光照射によるカビの生育抑制およびカビ毒産生量低減

AF を産生する *Aspergillus* 属の真菌に光照射し、その成育が抑制されるか確認した。365、450、525、600、660 nm の光を照射したところ、培地の目視観察において、どの AF 産生菌においても、365 nm の光を照射した培地には菌が成育しなかった。代表的な例として *A. parasiticus* NBRC 30110 株のコロニーを下に示す。また、450 nm 照射時にはコントロールと比較し、コロニーサイズが縮小された。培養後の菌から AFs を抽出し、蛍光検出 HPLC で分析したところ、360 nm 照射の培地では、アフラトキシンが検出されなかったことから、紫外線照射を検討することで、アフラトキシンの産生を制御できることが明らかとなった。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 伊藤里恵、原田理紗、北島伶海、若菜大悟、岩崎雄介、細江智夫、穂山浩
2. 発表標題 紫外線照射による食品中アフラトキシンの分解
3. 学会等名 第9回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	若菜 大悟 (Wakana Daigo) (80700129)	星薬科大学・薬学部・助教 (32676)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------