

平成 20 年度農林水産省流通飼料対策事業

平成 20 年度適正製造指針に係るSOP等の検討事業

穀類（トウモロコシおよび小麦）貯蔵中における  
カビ毒の消長試験報告書

平成 21 年 3 月

社団法人 日本科学飼料協会

## 穀類（トウモロコシおよび小麦）貯蔵中におけるカビ毒の消長試験報告書

### 1. 目的

カビ毒で汚染されたトウモロコシおよび小麦について、温度を変えて長期間保管した場合のカビ毒の消長について検討した。

### 2. 供試トウモロコシおよび小麦の選択

本試験には、カビ毒に汚染されたトウモロコシおよび小麦を供試する必要があるため、試験開始前に、輸入トウモロコシ 2 種類（トウモロコシ A；タイ産、トウモロコシ B；インドネシア産、いずれもハト用飼料として国内販売されていたもの）および輸入小麦 3 種類（小麦 A、B および C、いずれも輸出国不詳）を入手し、トウモロコシの場合にはアフラトキシン B<sub>1</sub> を、小麦の場合にはデオキシニバレノールを液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による一斉分析法<sup>1</sup>により分析した。

その結果、トウモロコシの場合、トウモロコシ A ではアフラトキシン B<sub>1</sub> は検出されなかった（定量下限 1.0ppb）が、トウモロコシ B ではアフラトキシン B<sub>1</sub> が 264.4～305.0ppb（平均 285.5ppb）検出されたことから、トウモロコシ B を供試することとした。また、小麦の場合は、小麦 B ではデオキシニバレノールは検出されず（定量下限 8.0ppb）、小麦 A ではデオキシニバレノールが 9.9～12.4ppb（平均 11.1ppb）検出されたが、小麦 C で 210.6～213.0ppb（平均 212.0ppb）検出されたことから、小麦 C を供試することとした。



写真1 供試トウモロコシ  
(インドネシア産)



写真2 供試小麦  
(輸出国不明)

### 3. 供試トウモロコシ及び小麦の保管条件

供試トウモロコシおよび小麦の保管条件は、低温（冷蔵室内、約 5℃）、室温（実験室内、約 23℃）および高温（恒温器内、約 45℃）の 3 条件とした。供試トウモロコシ

および小麦をそれぞれ約 3kg ずつに 3 等分して二重のクラフト紙製の袋に収容し、各保管条件下で 24 週間保管した。なお、低温および室温保管では特別の湿度調整は行わなかったが、高温保管では乾燥を防止するため、恒温機内に約 40°C の湯水に浸した布を常時入れて湿度が 40% 以上となるように留意した。

各保管場所には電子式温湿度記録計（SEKONIC ST-50、セコニック）を設置して温度及び湿度を連続測定するとともに、各保管袋内には 3M 温度トレーサー（TL20 住友スリーエム）を入れて供試トウモロコシ及び小麦の品温を測定した。



写真3 低温条件（冷蔵室）



写真4 室温条件（実験室）



写真5 高温条件（恒温器）

#### 4. 採材および分析用試料の調整

採材時点は、保管開始時、保管開始後 4、8、12 および 24 週の計 5 時点とし、各時点で保管してある全量からインクリメント縮分<sup>2</sup>を行って、200g ずつ 3 試料を採材した。

採材した試料は、1.0mm スクリーンを装着した超遠心粉砕機（ZM100、Retsch）により全量粉砕して分析用試料とした。

#### 5. 分析方法

##### 1) アフラトキシン B<sub>1</sub>、ゼアラレノン、デオキシニバレノール、ニバレノールおよび T-2 トキシン

分析は、液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による一斉分析法<sup>1</sup>により実施した。その概要は以下のとおりである。

##### (1) ゼアラレノンおよび T-2 トキシン標準原液の調製

ゼアラレノン分析用標準品（biopure、100ppm）および T-2 トキシン分析用標準品（biopure、100ppm）各 0.5mL をそれぞれ 25mL の褐色メスフラスコに入れ、標線までアセトニトリルを加えてそれぞれ 2ppm のゼアラレノンおよび T-2 トキシン標準原液を調製した。

##### (2) 混合標準液の調製

アフラトキシン B<sub>1</sub> 分析用標準品（biopure、2ppm） 0.625 mL、デオキシニバレノール分析用標準品（biopure、100ppm） 0.5mL およびニバレニール分析用標準

品 (SIGMA、100ppm) 0.5mL と、(1) で調製したゼアラレノン標準原液 0.625mL および T-2 トキシシン標準原液 5.0mL を 25 mL 容の褐色メスフラスコに入れ、標線までアセトニトリル-水 (21 : 4) を加え混合標準原液を調製した (この混合標準原液の濃度は、アフラトキシシン B<sub>1</sub> およびゼアラレノンが 50ppb、デオキシニバレノールおよびニバレノールが 2,000ppb および T-2 トキシシンが 400ppb となる)。

分析に際して、混合標準原液の一定量をアセトニトリル-水 (21 : 4) で希釈して各濃度段階の混合標準液を調製した。

### (3) 抽出

分析用試料 50g を量って 300mL の褐色共栓三角フラスコに入れ、アセトニトリル-水 (21 : 4) 100mL (トウモロコシの場合は 150mL) を加え、60 分間振とうして抽出した。抽出液を褐色共栓遠心沈殿管に入れ、650×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液をカラム処理に供する試料溶液とした。

試料溶液 10mL を多機能カラム (MultiSep226 AflaZon+, Romer Labs) に入れ、初めの流出液 4mL を捨てた。その後の流出液 2mL を目盛付試験管に受けて、流出液 1.0mL を別の試験管に入れ、酢酸-水 (1 : 100) 1.0mL を加えて希釈した。この液を 1.5mL 容遮光マイクロチューブにとり、5,000×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液を液体クロマトグラフタンデム型質量分析計 (以下、LC/MS/MS とする。) に供する試料溶液とした。

### (4) LC/MS/MS および定量下限

各試料溶液および混合標準液それぞれ 10μL を LC/MS/MS に注入し、表 1 に示す測定条件に従いマルチプルリアクションモニタリング (MRM) クロマトグラムを得た。

表 1 LC/MS/MS 測定条件

LC	Agilent 1200 Series
検出器	Agilent 質量分析計 6410 Triple Quad LC/MS
カラム	Agilent ZOBAX XDB-C18 (4.6 mm i.d.×150 mm、5μm)
溶離液	A 液 : アセトニトリル、B 液 : 10mmol/L 酢酸アンモニウム溶液 30%B (1min) →80%B (10min) →80%B (22min)
流速	0.2mL/min
カラム温度	40°C
イオン化法	エレクトロスプレーイオン化法 (ESI)
ネブライザーガス	窒素、50psi
乾燥ガス	窒素、10L/min
キャピラリー電圧	正イオン 4.0kV、負イオン 1.5kV
モニターイオン	正イオン、m/z 313>285、CE 25eV (アフラトキシシン B <sub>1</sub> ) 負イオン、m/z 317>175、CE 20eV (ゼアラレノン) 負イオン、m/z 355>295、CE 5eV (デオキシニバレノール) 負イオン、m/z 371>281、CE10eV (ニバレノール) 正イオン、m/z 484>305、CE 10eV (T-2 トキシシン)
注入量	10μL

得られたクロマトグラムからピーク面積を求めて検量線を作成し、試料中のアフラトキシン B<sub>1</sub>、ゼアラレノン、デオキシニバレノール、ニバレノールおよび T-2 トキシシン濃度を算出した。また、本法における各カビ毒の定量下限は、アフラトキシン B<sub>1</sub> およびゼアラレノンでは 1ppb、デオキシニバレノール、ニバレノールおよび T-2 トキシシンでは 8ppb であった。なお、方法の概要を図 1 に示した。

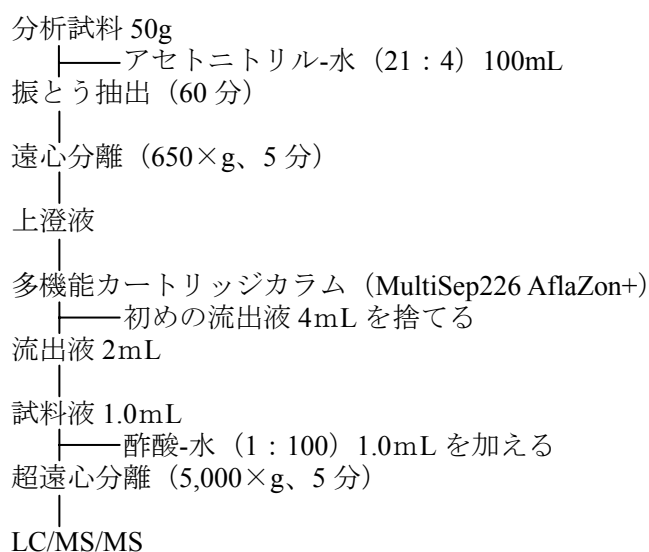


図 1 LC/MS/MS によるアフラトキシン B<sub>1</sub>、ゼアラレノン、デオキシニバレノール、ニバレノールおよび T-2 トキシシンの一斉分析法フローシート

## 2) フモニシン B<sub>1</sub> の分析

分析は、液体クロマトグラフ質量分析計による飼料中のフモニシン B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub> 及び B<sub>3</sub> の同時定量法<sup>3</sup> および Agilent Technologies : Agilent 6410 によるフモニシン類の高感度一斉分析法<sup>4</sup> に準じて実施した。その概要は以下のとおりである。

### (1) フモニシン B<sub>1</sub> 標準液の調製

フモニシン B<sub>1</sub> (biopure、50ppm) 0.5mL を 25 mL の褐色メスフラスコに入れ、標線までアセトニトリル-水 (1 : 1) を加えフモニシン B<sub>1</sub> 標準原液を調製した (この溶液のフモニシン B<sub>1</sub> 濃度は 1,000ppb となる)。

分析に際して、この標準原液の一定量をアセトニトリル-水 (1 : 1) で希釈して 5 ~ 500ppb の各標準液を調製した。

### (2) 抽出

分析試料 20g を量って 200mL の共栓三角フラスコに入れ、メタノール-水 (3 :

1) 100mL を加え、15 分間振とうして抽出した後、抽出液を共栓遠心沈殿管に入れ、1,000×g で 5 分間遠心分離した。この上澄み液 10mL を、メタノール 8mL およびメタノール-水 (3 : 1) 8mL で順次洗浄したイオン交換カートリッジ (Bond Elute LRC SAX、Varian Associates 製) に入れ、液面が充填剤の上面に達するまで流出させた後、メタノール-水 (3 : 1) 8mL およびメタノール 8mL を順次カートリッジに加え、同様に流出させた。

50mL のなし形フラスコをイオン交換カートリッジの下に置き、メタノール-酢酸 (99 : 1) 14mL をカートリッジに加え、フモニシン B<sub>1</sub> を溶出させた。溶出液を 40°C の水浴上でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って酢酸臭がなくなるまで乾固した。アセトニトリル-水 (1 : 1) 1.0mL (トウモロコシの場合は 2.0mL) を加えて超音波洗浄機を用いて残留物を溶かし、5,000×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液を LC/MS/MS に供する試料溶液とした。

### (3) LC/MS/MS および定量下限

各試料溶液および標準液それぞれ 5μL を LC/MS/MS に注入し、表 2 に示す測定条件に従いマルチプルリアクションモニタリング (MRM) クロマトグラムを得た。得られたクロマトグラムからピーク面積を求めて検量線を作成し、試料中のフモニシン B<sub>1</sub> 濃度を算出した。また、本法におけるフモニシン B<sub>1</sub> の定量下限は 25ppb であった。なお、分析の概要を図 2 に示した。

表 2 LC/MS/MS 測定条件

LC	Agilent 1200 Series
検出器	Agilent 質量分析計 6410 Triple Quad LC/MS
カラム	Agilent ZOBAX Eclipse XDB-C18 (2.1mm i.d.×150 mm、5μm)
溶離液	A : 0.1% キ酸、B : アセトニトリル 25%B (5min) →50%B (3min) →2min→25%B
流速	0.2mL/min
カラム温度	40°C
イオン化法	エレクトロスプレーイオン化法 (ESI)
ネブライザーガス	窒素、50psi
乾燥ガス	窒素、10L/min
キャピラリー電圧	3.0kV
モニターイオン	正イオン、m/z 722>352、CE 35eV
注入量	5μL

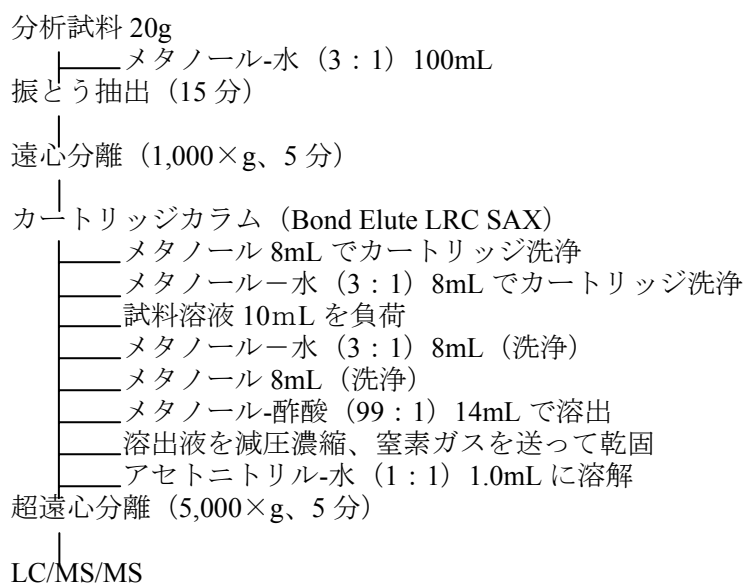


図2 LC/MS/MSによるフモニシン B<sub>1</sub>の分析法フローシート

### 3) 水分の分析

各分析用試料について飼料分析基準<sup>5</sup>により水分含量を分析した。

### 6. 結果の解析

得られたデータについて、保管条件と保管期間を要因とした二元配置法<sup>6</sup>により分散分析し、危険率5%以下で有意差が認められた場合には Tukey の多重検定<sup>6</sup>を行って平均値間の差の有意性を検定した。

### 7. 調査実施期間

平成20年7月15日～平成20年12月30日 (保管期間)

### 8. 結果

#### 1) 各保管条件下における保管期間中の温度および湿度

各保管条件における保管期間中の温度および湿度について表3に示した。

保管期間中の午前10時の平均温度および相対湿度は、低温保存で5.0℃および90.8%、室温保存で23.1℃及び59.2%、高温保存で43.2℃および56.9%であった。

表3 試験期間中の各保管条件における温度および湿度

保管条件	範囲		平均 <sup>1)</sup>	
	温度 (°C)	湿度 (%)	温度 (°C)	湿度 (%)
低温	5.0~6.0	60.2~95.5	5.0	90.8
室温	15.5~26.0	40.8~80.2	23.1	59.2
高温	42.0~45.0	40.4~80.5	43.2	56.9

注1) 午前10時における平均値

2) アフラトキシン B<sub>1</sub> に汚染されている供試トウモロコシの貯蔵による水分含量およびカビ毒濃度の推移

(1) 供試トウモロコシの水分含量の推移

供試トウモロコシの水分含量の保管中における推移は表4-1に、分散分析結果は表4-2に示したとおりであって、保管条件および保管期間のいずれの主要因においても有意差が認められた。

しかし、交互作用も有意であったことから、保管条件および保管期間毎に一元配置法による解析を行った結果(表4-3-1~3及び4-4-1~5)、高温保管時における水分含量の推移は、低温保管時および室温保管時に比べて明らかに異なっていた。すなわち、高温保管時では水分含量はほぼ一定値で推移したのに対して、低温保管時及び室温保管時では保管開始後4週以降に水分含量が有意に高まり、かつ、4週以降における低温保管時の水分含量、8週以降における室温保管時の水分含量は高温保管時より有意に高かった。

表4-1 供試トウモロコシの水分含量 (%)

保管条件	保管開始時	保管開始後			
		4週	8週	12週	24週
低温	11.6±0.4	13.4±0.1	12.9±0.1	14.0±0.1	14.8±0.1
室温	11.4±0.5	12.8±0.1	12.5±0.1	13.6±0.1	13.0±0.1
高温	12.0±0.7	12.6±0.2	12.0±0.2	12.1±0.1	11.8±0.1

注) 平均値±標準偏差 (n=3)

表4-2 供試トウモロコシの水分含量 (分散分析結果)

要因	平方和 (S)	f	平均平方 (MS)	P値
保管条件	11.67	2	5.83	<0.01
保管期間	15.98	4	4.00	<0.01
交互作用	10.91	8	1.36	<0.01
自由度	1.75	30	0.06	



表 4 - 3 - 1 供試トウモロコシの水分含量 (低温保管、%)

保管開始時	保管開始後			
	4 週	8 週	12 週	24 週
11.6a±0.4	13.4b±0.1	12.9c±0.1	14.0d±0.1	14.8e±0.1

注 1) 平均値±標準偏差 (n=3)、2) a、b 異符号間に有意差あり (p<0.05)

表 4 - 3 - 2 供試トウモロコシの水分含量 (室温保管、%)

保管開始時	保管開始後			
	4 週	8 週	12 週	24 週
11.4a±0.5	12.8b±0.1	12.5b±0.1	13.6c±0.1	13.0b±0.1

注 1) 平均値±標準偏差 (n=3)、2) a、b 異符号間に有意差あり (p<0.05)

表 4 - 3 - 3 供試トウモロコシの水分含量 (高温保管、%)

保管開始時	保管開始後			
	4 週	8 週	12 週	24 週
12.0±0.7	12.6±0.2	12.0±0.2	12.1±0.1	11.8±0.1

注) 平均値±標準偏差 (n=3)

表 4 - 4 - 1 供試トウモロコシの水分含量 (保管開始時、%)

低温	室温	高温
11.6±0.4	11.4±0.5	12.0±0.7

注) 平均値±標準偏差 (n=3)

表 4 - 4 - 2 供試トウモロコシの水分含量 (保管開始後 4 週、%)

低温	室温	高温
13.4a±0.1	12.8b±0.1	12.6b±0.2

注) 平均値±標準偏差 (n=3)、2) a、b 異符号間に有意差あり (p<0.05)

表 4 - 4 - 3 供試トウモロコシの水分含量 (保管開始後 8 週、%)

低温	室温	高温
12.9a±0.1	12.5b±0.1	12.0c±0.2

注 1) 平均値±標準偏差 (n=3)、2) a、b 異符号間に有意差あり (p<0.05)

表 4 - 4 - 4 供試トウモロコシの水分含量 (保管開始後 12 週、%)

低温	室温	高温
14.0a±0.1	13.6b±0.1	12.1c±0.1

注 1) 平均値±標準偏差 (n=3)、2) a、b 異符号間に有意差あり (p<0.05)

表 4 - 4 - 5 供試トウモロコシの水分含量 (保管開始後 24 週、%)

低温	室温	高温
14.8a±0.1	13.0b±0.1	11.8c±0.1

注 1) 平均値±標準偏差 (n=3)、2) a、b 異符号間に有意差あり (p<0.05)

(2) 供試トウモロコシのアフラトキシン B<sub>1</sub> 濃度の推移

供試トウモロコシのアフラトキシン B<sub>1</sub> 濃度の保管中における推移は表 5 - 1 に、分散分析結果は表 5 - 2 に示したとおりであって、保管条件の相違によるアフラトキシン B<sub>1</sub> 濃度への有意な影響はみられなかった。しかし、保管期間が長期になるとともにアフラトキシン B<sub>1</sub> 濃度が低下する傾向を示し、保管開始後 24 週間におけるアフラトキシン B<sub>1</sub> 濃度は保管開始時に比べて有意に低下した。なお、保管条件および保管期間の交互作用には有意差は認められなかった。

表 5 - 1 供試トウモロコシのアフラトキシン B<sub>1</sub> 濃度 (ppb)

保管条件	保管開始時	保管開始後			
		4 週	8 週	12 週	24 週
低温	330.4±127.9	208.5±15.8	301.9±15.0	333.3±124.2	218.7±105.5
室温	244.7± 21.6	324.1±62.9	317.6±98.0	221.8±173.5	220.3± 57.6
高温	342.1± 63.6	312.6±12.0	146.0±18.1	143.9± 35.2	78.4± 21.7
平均	305.7a± 85.6	281.7ab±64.2	255.1ab±121.9	233.0ab±136.0	172.5b± 93.3

注 1) 平均値±標準偏差 (n=3)、2) a、b 異符号間に有意差あり (p<0.05)

表 5 - 2 供試トウモロコシのアフラトキシン B<sub>1</sub> 濃度 (分散分析結果)

要因	平方和 (S)	f	平均平方 (MS)	P 値
保管条件	46846	2	23423	NS
保管期間	93953	4	23468	<0.05
交互作用	142659	8	17832	NS
自由度	238693	30	7956	

注) NS : 有意差なし (p>0.05)

(3) 供試トウモロコシのその他のカビ毒濃度の推移

供試トウモロコシのニバレノール、デオキシニバレノール、T-2 トキシン、ゼアラレノンおよびフモニシン B<sub>1</sub> 濃度の保管中における推移は表 6 - 1~6 - 5 に、フモニシン B<sub>1</sub> 濃度における分散分析結果は表 6 - 6 に示したとおりであって、デオキシニバレノールおよび T-2 トキシンは保管開始時及び保管開始後のいずれの時点においても検出されなかった（定量下限 8ppb）。

ニバレノールは、高温保管の場合、保管開始時における 3 試料中 1 試料（9.7ppb）で検出されるとともに、保管開始後 4 週時に 3 試料中 1 試料（12.9ppb）、同 8 週時に 3 試料中 2 試料（10.4 および 15.9ppb）で検出されたが、その他の時点では定量下限（ppb）以下であり、低温保管および室温保管の場合には保管開始時および保管開始後のいずれの時点においても検出されなかった。

ゼアラレノンは、保管開始時において、室温保存の場合に 3 試料中 2 飼料（1.1 および 1.4ppb）、室温保存の場合に 3 試料中 1 試料（10.5ppb）で検出され、保管開始後も検出される試料が散見されたが、保管条件や保管期間との間に一定の傾向は認められなかった。

フモニシン B<sub>1</sub> は、保管開始時において 428.1~955.9ppb 検出され、その後もほぼ同程度検出されたが、いずれの保管条件においても保管開始後の有意な変化は認められなかった。

表 6 - 1 トウモロコシ保管中のニバレノール濃度（ppb）

保管 条件	保管開始時	保管開始後			
		4 週	8 週	12 週	24 週
低温	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
室温	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
高温	<8.0~9.7	<8.0~12.9	<8.0~17.5	<8.0~15.9	<8.0

注) 定量下限：8.0ppb

表 6 - 2 トウモロコシ保管中のデオキシニバレノール濃度（ppb）

保管 条件	保管開始時	保管開始後			
		4 週	8 週	12 週	24 週
低温	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
室温	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
高温	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0

注) 定量下限：8.0ppb

表 6 - 3 トウモロコシ保管中の T-2 トキシン濃度 (ppb)

保管 条件	保管開始時	保管開始後			
		4 週	8 週	12 週	24 週
低温	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
室温	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
高温	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0

注) 定量下限 : 8.0ppb

表 6 - 4 トウモロコシ保管中のゼアラレノン濃度 (ppb)

保管 条件	保管開始時	保管開始後			
		4 週	8 週	12 週	24 週
低温	<1.0~1.4	<1.0~1.7	<1.0~1.0	<1.0~1.9	<1.0~2.0
室温	<1.0~10.5	<1.0~1.1	<1.0~3.0	<1.0~3.2	<1.0~6.4
高温	<1.0	3.5±1.2	<1.0~1.4	<1.0	2.7±0.1

注 1) 定量下限 : 1.0ppb、2) 平均値±標準偏差 (n=3)

表 6 - 5 トウモロコシ保管中のフモニシン B<sub>1</sub>濃度 (ppb)

保管 条件	保管開始時	保管開始後			
		4 週	8 週	12 週	24 週
低温	809.5±639.8	566.6±200.8	792.2±739.1	1058.3±91.5	908.9±525.8
室温	818.3±227.8	582.6±404.8	773.0±500.3	875.8±834.9	513.8±381.4
高温	617.5±193.6	1041.1±204.4	733.0±317.6	554.1±241.6	644.7±245.3
平均	748.4±366.5	730.1±340.5	766.0±474.4	829.4±489.8	689.1±388.5

注) 平均値±標準偏差 (n=3)

表 6 - 6 供試トウモロコシのフモニシン B<sub>1</sub>濃度 (分散分析結果)

要因	平方和 (S)	f	平均平方 (MS)	P 値
保管条件	124971	2	62485	NS
保管期間	95702	4	23925	NS
交互作用	1027531	8	128441	NS
自由度	5776337	30	192545	

注) NS : 有意差なし (p>0.05)

3) デオキシニバレノールに汚染されている供試小麦の貯蔵による水分含量およびカビ毒濃度の推移

(1) 供試小麦の水分含量の推移

供試小麦の水分含量の保管中における推移は表 7 - 1 に、分散分析結果は表 7 - 2 に示したとおりである。保管条件要因において有意差が認められ、交互作用も有意であったことから、保管期間毎に一元配置法による解析を行った結果（表 7 - 3 - 1 ~ 5）、低温および室温保管時における水分含量は保管開始 4 週以降に高温保管時より有意に高く、低温保管時における水分含量は保管開始後 8 週以降には室温保管時より有意に高く推移した。

表 7 - 1 供試小麦の水分含量 (%)

保管条件	保管開始時	保管開始後			
		4 週	8 週	12 週	24 週
低温	13.4±0.1	13.5±0.2	14.1±0.1	14.5±0.1	14.7±0.1
室温	13.5±0.1	13.6±0.2	13.7±0.2	13.9±0.2	13.6±0.1
高温	13.4±0.1	12.7±0.3	12.4±0.1	11.9±0.1	11.9±0.1

注) 平均値±標準偏差 (n=3)

表 7 - 2 供試小麦の水分含量 (分散分析結果)

要因	平方和 (S)	f	平均平方 (MS)	P 値
保管条件	20.01	2	10.02	<0.01
保管期間	0.19	4	0.05	NS
交互作用	8.80	8	1.10	<0.01
自由度	0.53	30	0.02	

注) NS : 有意差なし (p>0.01)

表 7 - 3 - 1 供試小麦の水分含量 (保管開始時、%)

低温	室温	高温
13.4±0.1	13.5±0.1	13.4±0.1

注) 平均値±標準偏差 (n=3)

表 7 - 3 - 2 供試小麦の水分含量 (保管開始後 4 週、%)

低温	室温	高温
13.5a±0.2	13.6a±0.2	12.7b±0.3

注) 平均値±標準偏差 (n=3)、2) a、b 異符号間に有意差あり (p<0.05)

表 7 - 3 - 3 供試小麦の水分含量（保管開始後 8 週、%）

低温	室温	高温
14.1a±0.1	13.7b±0.2	12.4c±0.1

注 1) 平均値±標準偏差 (n=3)、2) a、b 異符号間に有意差あり (p<0.05)

表 7 - 3 - 4 供試小麦の水分含量（保管開始後 12 週、%）

低温	室温	高温
14.5a±0.1	13.9b±0.2	11.9c±0.1

注 1) 平均値±標準偏差 (n=3)、2) a、b 異符号間に有意差あり (p<0.05)

表 7 - 3 - 5 供試小麦の水分含量（保管開始後 24 週、%）

低温	室温	高温
14.7a±0.1	13.6b±0.1	11.9c±0.1

注 1) 平均値±標準偏差 (n=3)、2) a、b 異符号間に有意差あり (p<0.05)

(2) 供試小麦のデオキシニバレノール濃度の推移

供試小麦のデオキシニバレノール濃度の保管中における推移は表 8 - 1 に、分散分析結果は表 8 - 2 に示したとおりであって、保管条件の相違によるデオキシニバレノール濃度への有意な影響はみられなかった。しかし、保管期間が長期になるとともにデオキシニバレノール濃度が低下する傾向を示し、保管開始後 4 週においてデオキシニバレノール濃度は保管開始時に比べて有意に低下した後、そのまま推移した。なお、保管条件および保管期間の交互作用には有意差は認められなかった。

表 8 - 1 供試小麦のデオキシニバレノール濃度 (ppb)

保管 条件	保管開始時	保管開始後			
		4 週	8 週	12 週	24 週
低温	343.5±58.8	282.7±22.5	234.2±22.6	257.5±53.9	224.6±14.9
室温	338.9±17.0	280.2±14.8	254.3±13.0	239.3±23.4	221.3±10.4
高温	320.5±57.7	249.2±44.1	226.4±21.3	224.6±31.1	218.7±29.0
平均	334.3a±43.4	270.7b±30.5	238.3b±20.9	240.5b±36.2	221.5b±17.3

注 1) 平均値±標準偏差 (n=3)、2) a、b 異符号間に有意差あり (p<0.05)

表 8 - 2 供試小麦のデオキシニバレノール濃度 (分散分析結果)

要因	平方和 (S)	f	平均平方 (MS)	P 値
保管条件	3919	2	1959	NS
保管期間	71669	4	17917	<0.05
交互作用	1975	8	247	NS
自由度	32968	30	1099	

注) NS : 有意差なし (p>0.05)

(3) 供試小麦のその他のカビ毒濃度の推移

供試小麦のニバレノール、アフラトキシン B<sub>1</sub>、T-2 トキシン、ゼアラレノンおよびフモニシン B<sub>1</sub>濃度の保管中における推移は表 9 - 1~9 - 5 に示したとおりであって、ニバレノール、アフラトキシン B<sub>1</sub>、T-2 トキシンおよびフモニシン B<sub>1</sub> は保管開始時および保管開始後のいずれの時点においても検出されなかった。

ゼアラレノンは、保管開始時において、低温および高温保管の場合に、それぞれ 3 試料中 1 試料 (1.8 および 2.0ppb) で検出された。保管開始後においては、いずれの保管条件において検出される試料が散見されたが、保管条件や保管期間との間に一定の傾向は認められなかった。

表 9 - 1 小麦保管中のニバレノール濃度 (ppb)

保管条件	保管開始時	保管開始後			
		4 週	8 週	12 週	24 週
低温	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
室温	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
高温	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0

注) 定量下限 : 8.0ppb

表 9 - 2 小麦保管中のアフラトキシン B<sub>1</sub>濃度 (ppb)

保管条件	保管開始時	保管開始後			
		4 週	8 週	12 週	24 週
低温	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
室温	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
高温	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0

注) 定量下限 : 1.0ppb

表 9 - 3 小麦保管中の T-2 トキシン濃度 (ppb)

保管 条件	保管開始時	保管開始後			
		4 週	8 週	12 週	24 週
低温	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
室温	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
高温	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0

注) 定量下限 : 8.0ppb

表 9 - 4 小麦保管中のゼアラレノン濃度 (ppb)

保管 条件	保管開始時	保管開始後			
		4 週	8 週	12 週	24 週
低温	<1.0~1.8	<1.0~1.2	<1.0~1.5	<1.0~1.8	<1.0~1.1
室温	<1.0~2.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0~1.1
高温	<1.0	<1.0~2.9	<1.0~1.2	<1.0~1.0	<1.0~1.1

注 1) 定量下限 : 1.0ppb

表 9 - 5 小麦保管中のフモニシン B<sub>1</sub> 濃度 (ppb)

保管 条件	保管開始時	保管開始後			
		4 週	8 週	12 週	24 週
低温	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0
室温	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0
高温	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0

注) 定量下限 : 25.0ppb

## 9. 考察

本試験では、*Aspergillus flavus*、*A. parasiticus*、*A. nomius* 等が産生する<sup>7)</sup> アフラトキシン B<sub>1</sub> に汚染されたトウモロコシを低温 (約 5°C)、室温 (約 23°C) および高温 (約 45°C) の 3 条件で 24 週間保存したが、いずれの温度条件においてもアフラトキシン B<sub>1</sub> の増加はなく、むしろ、保管期間が長期になるにしたがってアフラトキシン B<sub>1</sub> 濃度が低下する傾向を示した。また、トウモロコシ中の水分濃度とアフラトキシン B<sub>1</sub> の関連性も認められなかった。アフラトキシン B<sub>1</sub> は 100°C 程度の熱に対して非常に安定である<sup>8)</sup> とされているが、Thompson ら<sup>9)</sup> は、保管容器、温度および湿度、保管日数などの要因とトウモロコシでのアフラトキシン産生量との間には相互関係は認められなかったと報告しており、本試験の成績とほぼ一致しているものと思われる。また、トウモロコシの保管中には、デオキシニバレノール、ニバレノールおよび T-2 トキシ



ンを含むトリコテセン系マイコトキシン、あるいはゼアラレノンおよびフモニシン濃度の増加もみとめられず、これらのカビ毒の主要な産生菌である *Fusarium graminearum*、*F. moniliforme* 等の *Fusarium* 属の数種<sup>10, 11, 12</sup>の生育もなかったものと推察される。

同様に、デオキシニバレノールに汚染された小麦を、上述のトウモロコシと同一の条件下で保管した場合にも、デオキシニバレノール濃度の増加は認められず、その他のカビ毒濃度の増加も見られなかった。

したがって、本試験で設定した条件化であれば、トウモロコシや小麦がアフラトキシン B<sub>1</sub> やデオキシニバレノールに汚染されていたとしても、6ヶ月程度の長期間保存してもカビ毒濃度は増加しないものと考えて良いであろう。しかし、本試験の結果は、保管時の温度要因を主要因として設定したものであって、わが国では、夏季には高温、高湿度になることから、このような条件下で保管した場合のカビ毒濃度の推移についても、今後さらに検討する必要があると思われる。また、本試験で用いた小麦のデオキシニバレノール濃度は 9.9~12.4ppb であって、2001~2005 年の飼料用小麦の汚染実態調査<sup>13</sup>における最高値（1300ppb）より汚染の程度は低かったことから、高レベルに汚染された場合の動向についても注意が必要であろう。

なお、アフラトキシン B<sub>1</sub> 等のカビ毒は穀粒中での偏在性が非常に高く、サンプリング手法等によっては成績に大きく影響することが知られており<sup>14, 15, 16</sup>、平成 19 年度に本協会で開催したアフラトキシン B<sub>1</sub> に汚染されたトウモロコシに対するリコンディショニングの有効性に関する検討<sup>17</sup>においても汚染トウモロコシ 10kg を二分して、その一方を全量粉砕して分析した場合、および他方から 1.5kg をインクリメント縮分したのち粉砕して分析した場合のアフラトキシン B<sub>1</sub> 濃度のバラツキ（変動係数；CV）は、それぞれ 69.7%および 160.7%であった。これらの知見から、本試験では、各採材時にはその都度、保管している試料全量をよく混合し、必要量を採材し、採材した全量を粉砕して分析用試料を調整したが、温度条件毎に調整した各 3 試料のバラツキは 5.0~78.2%の範囲であって、平成 19 年度の検討時に比べてバラツキを抑えることが出来たものと思われる。

## 10. 参考文献

- 1) 農林水産省消費・安全局長通知：飼料分析基準、平成 20 年 4 月 1 日、19 消安第 14729 号、2008.
- 2) 農林省畜産局長通知：飼料等検査実施要領の制定について、昭和 52 年 5 月 10 日、52 畜 B 第 793 号、1977.
- 3) 青山幸二、石黒瑛一：液体クロマトグラフ質量分析計による飼料中のフモニシン B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub> 及び B<sub>3</sub> の同時定量、飼料研究報告、31、118 - 127、独立行政法人肥飼料検査所、2006.

- 4) Agilent Technologies : Agilent 6410 によるフモニシン類の高感度一斉分析 (アプリケーションノート概要/LCMS-200804TK-002)、2008. <http://www.chem-agilent.com/cimg/LCMS-200804TK-002.pdf>
- 5) 飼料分析基準研究会 : 飼料分析法・解説 2004、5-69、社団法人日本科学飼料協会、2004.
- 6) 吉田 實 著 : 畜産を中心とした実験計画表、養賢堂、東京、1983.
- 7) D. M. Wilson *et al.* : Mycotoxins and Food safety, J. W. DeVries *et al.* eds., p.3, Kluwer Academic/Plenum Publ., New York, 2002.
- 8) 田端節子ほか : 調理加工によるアフラトキシンの消長及びそれに及ぼす食品成分の影響、食衛誌、33、150-156、1992.
- 9) Cristanne Thompson and Scott E. Henke : Effect of climate and type of storage container on aflatoxin Production in corn and its associated risks to wildlife species. J. Wildlife Diseases, 36 (1) , 172-179, 2000.
- 10) Pitt, J. I. and Hocking, A.D. : Fungi and Food Spoilage, 2nd ed., Aspen Publ., p.593, 1999.
- 11) Seo, J. A. *et al.* : Isolation and characterization of two new type C fumonisins produced by *Fusarium oxysporum*, J. Natural Products, 59, 1003-1005, 1996.
- 12) Thiel, P. G. *et al.* : Survey of fumonisin production by *Fusarium* species, Appl. Environ. Microbiol., 57, 1089-1093, 1991.
- 13) 石黒瑛一、飼料のカビ毒の規制と最近の汚染の現状、Mycotoxins、57 (2)、123-127、2007.
- 14) A. S. Johansson, T. B. Whitaker, W. M. Hagler Jr., F. G. Giesbrecht, J. H. Young and D. T. Bowman : Testing Shelled Corn for Aflatoxin, part 1: Estimation of Variance Components, Journal of AOAC International, Vol. 83, No. 5, 1264 - 1269, 2000.
- 15) A. S. Johansson, T. B. Whitaker, F. G. Giesbrecht, W. M. Hagler Jr. and J. H. Young : Testing Shelled Corn for Aflatoxin, part 2: Modeling the Observed Distribution of Aflatoxin Test Results, Journal of AOAC International, Vol. 83, No. 5, 1270 - 1278, 2000.
- 16) A. S. Johansson, T. B. Whitaker, F. G. Giesbrecht, W. M. Hagler Jr. and J. H. Young : Testing Shelled Corn for Aflatoxin, part 3: Evaluating the Performance of Aflatoxin Sampling Plans, Journal of AOAC International, Vol. 83, No. 5, 1270 - 1278, 2000.
- 17) 社団法人日本科学飼料協会: トウモロコシにおけるアフラトキシシン等の汚染実態を把握するためのサンプリング手法およびリコンディショニングの有効性に関する検討報告書、平成 20 年 3 月、社団法人日本科学飼料協会、2008.

付表1 トウモロコシおよび小麦中のカビ毒濃度 (ppb)

原料		NIV <sup>1)</sup>	DON	AFB <sub>1</sub>	T-2	ZEN
トウモロコシ A	試行 1	<8.0 <sup>2)</sup>	205.8	<1.0	<8.0	23.9
	試行 2	<8.0	176.0	<1.0	<8.0	16.0
	試行 3	<8.0	197.2	<1.0	<8.0	21.2
	平均	<8.0	193.0	<1.0	<8.0	20.4
トウモロコシ B	試行 1	<8.0	<8.0	287.0	<8.0	<1.0
	試行 2	<8.0	<8.0	264.4	<8.0	<1.0
	試行 3	<8.0	<8.0	305.0	<8.0	<1.0
	平均	<8.0	<8.0	285.5	<8.0	<1.0
小麦 A	試行 1	-	12.4	-	-	-
	試行 2	-	9.9	-	-	-
	試行 3	-	11.2	-	-	-
	平均	-	11.2	-	-	-
小麦 B	試行 1	-	<8.0	-	-	-
	試行 2	-	<8.0	-	-	-
	試行 3	-	<8.0	-	-	-
	平均	-	<8.0	-	-	-
小麦 C	試行 1	-	213.0	-	-	-
	試行 2	-	210.6	-	-	-
	試行 3	-	212.4	-	-	-
	平均	-	212.0	-	-	-

注1) NIV : ニバレノール、DON : デオキシニバレノール、AFB<sub>1</sub> : アフラトキシン B<sub>1</sub>、T-2 : T-2 トキシン、ZEN : ゼアラレノン 注2) 不等号 : 定量下限未満

付表 2-1 トウモロコシ中のニバレノール濃度 (ppb)

保管条件	試料 <sup>1)</sup>	保管開始時	保管開始後					
			4 週	8 週	12 週	24 週		
低温	1	試行 1	<8.0 <sup>2)</sup>	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	2	試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	3	試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	全平均		<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	室温	1	試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
			試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
平均			<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
2		試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
3		試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
全平均		<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0		
高温		1	試行 1	<8.0	11.9	8.1	<8.0	<8.0
			試行 2	<8.0	13.9	8.1	<8.0	<8.0
	平均		<8.0	12.9	8.1	<8.0	<8.0	
	2	試行 1	9.7	<8.0	<8.0	14.7	<8.0	
		試行 2	8.1	<8.0	<8.0	17.0	<8.0	
		平均	8.9	<8.0	<8.0	15.9	<8.0	
	3	試行 1	<8.0	<8.0	19.0	12.7	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	15.9	8.1	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	17.5	10.4	<8.0	
	全平均		<8.0~9.7	<8.0~12.9	<8.0~17.5	<8.0~15.9	<8.0	

注 1) 各試料について試行 2 回で分析した。 注 2) 不等号：定量下限未満

付表 2-2 トウモロコシ中のデオキシニバレノール濃度 (ppb)

保管条件	試料 <sup>1)</sup>	保管開始時	保管開始後					
			4 週	8 週	12 週	24 週		
低温	1	試行 1	<8.0 <sup>2)</sup>	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	2	試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	3	試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	全平均		<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	室温	1	試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
			試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
平均			<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
2		試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
3		試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
全平均			<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
高温		1	試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
			試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
	平均		<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	2	試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	3	試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	全平均		<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	

注) 付表 2 - 1 の脚注と同。

付表 2-3 トウモロコシ中のアフラトキシン B<sub>1</sub> 濃度 (ppb)

保管条件	試料 <sup>1)</sup>	保管開始時	保管開始後					
			4 週	8 週	12 週	24 週		
低温	1	試行 1	365.4	205.3	471.2	243.4	184.6	
		試行 2	327.7	226.1	416.2	211.7	180.2	
		平均	346.6	215.7	443.7	227.6	182.4	
	2	試行 1	199.0	176.7	144.3	300.3	139.6	
		試行 2	191.4	204.1	145.2	304.0	132.6	
		平均	195.2	190.4	144.8	302.2	136.1	
	3	試行 1	437.4	213.4	326.1	508.0	340.0	
		試行 2	461.4	225.4	308.1	432.1	335.2	
		平均	449.4	219.4	317.1	470.1	337.6	
	全平均		330.4	208.5	301.9	333.3	218.7	
	室温	1	試行 1	215.7	410.8	394.6	125.4	154.5
			試行 2	225.1	381.4	462.8	140.3	153.8
平均			220.4	396.1	428.7	132.9	154.2	
2		試行 1	259.0	275.5	272.5	108.5	259.8	
		試行 2	264.2	284.6	288.6	112.8	258.7	
		平均	261.6	280.1	280.6	110.7	259.3	
3		試行 1	257.6	301.0	230.1	412.5	246.5	
		試行 2	246.6	291.0	256.6	430.9	248.2	
		平均	252.1	296.0	243.4	421.7	247.4	
全平均			244.7	324.1	317.6	221.8	220.3	
高温		1	試行 1	278.5	294.7	171.7	154.0	95.4
			試行 2	284.9	310.3	161.7	155.3	86.7
	平均		281.7	302.5	166.7	154.7	91.1	
	2	試行 1	328.1	303.7	131.6	105.3	53.8	
		試行 2	344.2	315.1	144.8	103.6	52.7	
		平均	336.2	309.4	138.2	104.5	53.3	
	3	試行 1	396.5	333.9	133.9	162.3	88.9	
		試行 2	420.3	317.9	132.1	182.4	92.7	
		平均	408.4	325.9	133.0	172.4	90.8	
	全平均		342.1	312.6	146.0	143.9	78.4	

注) 付表 2 - 1 の脚注と同。

付表 2-4 トウモロコシ中の T-2 トキシン濃度 (ppb)

保管条件	試料 <sup>1)</sup>	保管開始時	保管開始後					
			4 週	8 週	12 週	24 週		
低温	1	試行 1	<8.0 <sup>2)</sup>	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	2	試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	3	試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	全平均		<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	室温	1	試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
			試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
平均			<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
2		試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
3		試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
全平均			<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
高温		1	試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
			試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
	平均		<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	2	試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	3	試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	全平均		<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	

注) 付表 2 - 1 の脚注と同。

付表 2-5 トウモロコシ中のゼアラレノン濃度 (ppb)

保管条件	試料 <sup>1)</sup>	保管開始時	保管開始後				
			4 週	8 週	12 週	24 週	
低温	1	試行 1	<1.0 <sup>2)</sup>	1.6	<1.0	<1.0	<1.0
		試行 2	<1.0	1.7	<1.0	<1.0	<1.0
		平均	<1.0	1.7	<1.0	<1.0	<1.0
	2	試行 1	1.1	<1.0	1.0	<1.0	<1.0
		試行 2	1.1	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
		平均	1.1	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
	3	試行 1	1.4	1.1	<1.0	1.9	2.8
		試行 2	1.4	1.0	<1.0	1.9	1.1
		平均	1.4	1.1	<1.0	1.9	2.0
全平均		<1.0~1.4	<1.0~1.7	<1.0~1.0	<1.0~1.9	<1.0~2.0	
室温	1	試行 1	1.1	1.0	<1.0	2.4	<1.0
		試行 2	<1.0	1.0	3.0	2.3	<1.0
		平均	<1.0~1.1	1.0	<1.0~3.0	2.4	<1.0
	2	試行 1	13.2	1.1	<1.0	3.0	<1.0
		試行 2	7.8	<1.0	<1.0	3.3	<1.0
		平均	10.5	<1.0~1.1	<1.0	3.2	<1.0
	3	試行 1	<1.0	1.0	<1.0	<1.0	6.2
		試行 2	<1.0	1.1	<1.0	1.1	6.6
		平均	<1.0	1.1	<1.0	<1.0~1.1	6.4
全平均		<1.0~10.5	<1.0~1.1	<1.0~3.0	<1.0~3.2	<1.0~6.4	
高温	1	試行 1	<1.0	3.3	<1.0	<1.0	2.7
		試行 2	<1.0	2.6	<1.0	<1.0	2.9
		平均	<1.0	3.0	<1.0	<1.0	2.8
	2	試行 1	<1.0	4.5	<1.0	<1.0	2.6
		試行 2	<1.0	5.1	<1.0	<1.0	2.9
		平均	<1.0	4.8	<1.0	<1.0	2.8
	3	試行 1	<1.0	2.7	1.2	<1.0	2.5
		試行 2	<1.0	2.5	1.5	<1.0	2.7
		平均	<1.0	2.6	1.4	<1.0	2.6
全平均		<1.0	3.5	<1.0~1.4	<1.0	2.7	

注) 付表 2 - 1 の脚注と同。



付表 2-6 トウモロコシ中のフモニシン B1 濃度 (ppb)

保管条件	試料 <sup>1)</sup>	保管開始時	保管開始後					
			4 週	8 週	12 週	24 週		
低温	1	試行 1	404.3	612.0	708.8	1014.0	1455.1	
		試行 2	451.9	655.4	743.3	945.3	1573.7	
		平均	428.1	633.7	726.1	979.7	1514.4	
	2	試行 1	1500.9	342.9	1651.2	1208.3	598.7	
		試行 2	1595.3	338.6	1472.9	1109.1	689.8	
		平均	1548.1	340.8	1562.1	1158.7	644.3	
	3	試行 1	429.6	715.9	131.0	1013.3	582.8	
		試行 2	474.7	734.5	45.6	1059.9	553.0	
		平均	452.2	725.2	88.3	1036.6	567.9	
	全平均		809.5	566.6	792.2	1058.3	908.9	
	室温	1	試行 1	1102.3	381.1	848.0	600.2	932.3
			試行 2	784.8	398.0	801.8	612.0	976.1
平均			943.6	389.6	824.9	606.1	954.2	
2		試行 1	1125.9	313.7	1298.7	1811.3	286.2	
		試行 2	785.8	307.0	1191.8	1813.3	288.0	
		平均	955.9	310.4	1245.3	1812.3	287.1	
3		試行 1	551.0	1000.2	243.6	210.0	298.3	
		試行 2	559.6	1095.3	253.8	208.1	302.1	
		平均	555.3	1047.8	248.7	209.1	300.2	
全平均			818.3	582.6	773.0	875.8	513.8	
高温		1	試行 1	580.3	1220.7	780.7	632.7	531.0
			試行 2	635.0	1266.8	690.6	399.4	665.0
	平均		607.7	1243.8	735.7	516.1	598.0	
	2	試行 1	436.6	1028.0	1060.3	781.7	884.4	
		試行 2	421.3	1061.2	1038.1	843.1	935.4	
		平均	429.0	1044.6	1049.2	812.4	909.9	
	3	試行 1	833.0	838.0	400.4	333.6	432.0	
		試行 2	798.7	832.0	427.5	333.7	420.2	
		平均	815.9	835.0	414.0	333.7	426.1	
	全平均		617.5	1041.1	733.0	554.1	644.7	

注) 付表 2 - 1 の脚注と同。

付表 2 - 7 トウモロコシ中の水分 (%)

保管条件	試料 <sup>1)</sup>	保管開始時	保管開始後					
			4 週	8 週	12 週	24 週		
低温	1	試行 1	11.3	13.2	12.7	14.1	14.7	
		試行 2	11.3	13.5	12.9	14.1	14.8	
		平均	11.3	13.4	12.8	14.1	14.8	
	2	試行 1	12.0	13.4	12.9	13.9	14.9	
		試行 2	11.9	13.3	12.8	13.8	14.9	
		平均	12.0	13.4	12.9	13.9	14.9	
	3	試行 1	11.5	13.2	12.9	14.1	14.7	
		試行 2	11.5	13.4	12.8	14.1	14.7	
		平均	11.5	13.3	12.9	14.1	14.7	
	全平均		11.6	13.4	12.9	14.0	14.8	
	室温	1	試行 1	11.4	12.7	12.5	13.6	13.2
			試行 2	11.3	12.7	12.4	13.6	13.0
平均			11.4	12.7	12.5	13.6	13.1	
2		試行 1	11.8	12.8	12.6	13.6	12.9	
		試行 2	11.7	12.9	12.6	13.7	12.9	
		平均	11.8	12.9	12.6	13.7	12.9	
3		試行 1	10.9	12.9	12.5	13.6	13.0	
		試行 2	10.8	12.8	12.4	13.5	12.9	
		平均	10.9	12.9	12.5	13.6	13.0	
全平均			11.4	12.8	12.5	13.6	13.0	
高温		1	試行 1	12.6	12.6	11.7	12.0	11.8
			試行 2	12.6	12.6	11.9	12.1	11.8
	平均		12.6	12.6	11.8	12.1	11.8	
	2	試行 1	11.9	12.4	12.1	12.0	11.7	
		試行 2	12.0	12.4	12.0	12.0	11.8	
		平均	12.0	12.4	12.1	12.0	11.8	
	3	試行 1	11.3	12.7	12.1	12.1	11.9	
		試行 2	11.2	12.7	12.1	12.1	11.8	
		平均	11.3	12.7	12.1	12.1	11.9	
	全平均		12.0	12.6	12.0	12.1	11.8	

注) 付表 2 - 1 の脚注と同。

付表 3-1 小麦中のニバレノール濃度 (ppb)

保管条件	試料 <sup>1)</sup>	保管開始時	保管開始後					
			4 週	8 週	12 週	24 週		
低温	1	試行 1	<8.0 <sup>2)</sup>	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	2	試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	3	試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	全平均		<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	室温	1	試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
			試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
平均			<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
2		試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
3		試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
全平均			<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
高温		1	試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
			試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
	平均		<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	2	試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	3	試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	全平均		<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	

注) 付表 2 - 1 の脚注と同。

付表 3-2 小麦中のデオキシニバレノール濃度 (ppb)

保管条件	試料 <sup>1)</sup>	保管開始時	保管開始後				
			4 週	8 週	12 週	24 週	
低温	1	試行 1	397.9	271.8	212.1	238.6	242.8
		試行 2	411.3	276.7	211.4	201.4	229.3
		平均	404.6	274.3	211.8	220.0	236.1
	2	試行 1	295.5	268.9	217.9	318.0	241.1
		試行 2	279.0	262.2	249.6	320.5	218.6
		平均	287.3	265.6	233.8	319.3	229.9
	3	試行 1	324.7	308.5	261.2	229.2	198.7
		試行 2	352.5	307.6	252.6	236.9	216.7
		平均	338.6	308.1	256.9	233.1	207.7
全平均		343.5	282.7	234.2	257.5	224.6	
室温	1	試行 1	320.9	280.3	255.0	236.6	245.3
		試行 2	330.6	262.0	258.0	252.6	221.2
		平均	325.8	271.2	256.5	244.6	233.3
	2	試行 1	344.4	279.5	288.1	203.1	198.6
		試行 2	321.2	264.9	244.0	224.3	233.9
		平均	332.8	272.2	266.1	213.7	216.3
	3	試行 1	353.7	294.3	252.6	255.3	215.2
		試行 2	362.5	300.2	228.0	264.0	213.4
		平均	358.1	297.3	240.3	259.7	214.3
全平均		338.9	280.2	254.3	239.3	221.3	
高温	1	試行 1	376.0	205.8	207.0	246.7	264.0
		試行 2	362.5	191.1	196.8	249.3	238.1
		平均	369.3	198.5	201.9	248.0	251.1
	2	試行 1	342.7	264.4	232.5	238.3	203.4
		試行 2	328.3	275.6	249.0	234.9	216.3
		平均	335.5	270.0	240.8	236.6	209.9
	3	試行 1	239.8	272.3	239.7	185.1	191.0
		試行 2	273.8	285.8	233.2	193.4	199.4
		平均	256.8	279.1	236.5	189.3	195.2
全平均		320.5	249.2	226.4	224.6	218.7	

注) 付表 2 - 1 の脚注と同。

付表 3-3 小麦中のアフラトキシン B<sub>1</sub> 濃度 (ppb)

保管条件	試料 <sup>1)</sup>	保管開始時	保管開始後					
			4 週	8 週	12 週	24 週		
低温	1	試行 1	<1.0 <sup>2)</sup>	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
		試行 2	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
		平均	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
	2	試行 1	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
		試行 2	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
		平均	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
	3	試行 1	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
		試行 2	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
		平均	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
	全平均		<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
	室温	1	試行 1	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
			試行 2	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
平均			<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
2		試行 1	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
		試行 2	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
		平均	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
3		試行 1	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
		試行 2	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
		平均	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
全平均			<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
高温		1	試行 1	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
			試行 2	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
	平均		<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
	2	試行 1	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
		試行 2	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
		平均	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
	3	試行 1	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
		試行 2	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
		平均	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
	全平均		<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	

注) 付表 2 - 1 の脚注と同。

表 3-4 小麦中の T-2 トキシン濃度 (ppb)

保管条件	試料 <sup>1)</sup>	保管開始時	保管開始後					
			4 週	8 週	12 週	24 週		
低温	1	試行 1	<8.0 <sup>2)</sup>	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	2	試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	3	試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	全平均		<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	室温	1	試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
			試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
平均			<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
2		試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
3		試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
全平均			<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
高温		1	試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
			試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
	平均		<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	2	試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	3	試行 1	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		試行 2	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
		平均	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	
	全平均		<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	

注) 付表 2 - 1 の脚注と同。

付表 3-5 小麦中のゼアラレノン濃度 (ppb)

保管条件	試料 <sup>1)</sup>	保管開始時	保管開始後					
			4 週	8 週	12 週	24 週		
低温	1	試行 1	1.0	1.2	1.2	<1.0	1.1	
		試行 2	2.6	<1.0	1.2	<1.0	1.1	
		平均	1.8	<1.0~1.2	1.2	<1.0	1.1	
	2	試行 1	<1.0 <sup>2)</sup>	<1.0	1.7	1.7	<1.0	
		試行 2	<1.0	<1.0	1.3	1.8	<1.0	
		平均	<1.0	<1.0	1.5	1.8	<1.0	
	3	試行 1	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	1.1	
		試行 2	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	1.1	
		平均	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	1.1	
	全平均		<1.0~1.8	<1.0~1.2	<1.0~1.5	<1.0~1.8	<1.0~1.1	
	室温	1	試行 1	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	1.1
			試行 2	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	1.1
平均			<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	1.1	
2		試行 1	2.1	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
		試行 2	1.9	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
		平均	2.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
3		試行 1	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
		試行 2	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
		平均	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
全平均		<1.0~2.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0~1.1		
高温		1	試行 1	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	1.1
			試行 2	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	1.1
	平均		<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	1.1	
	2	試行 1	<1.0	<1.0	1.2	<1.0	<1.0	
		試行 2	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
		平均	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	
	3	試行 1	<1.0	2.9	<1.0	1.0	<1.0	
		試行 2	<1.0	2.8	<1.0	<1.0	<1.0	
		平均	<1.0	2.9	<1.0	<1.0~1.0	<1.0	
	全平均		<1.0	<1.0~2.9	<1.0~1.2	<1.0~1.0	<1.0~1.1	

注) 付表 2 - 1 の脚注と同。

付表 3-6 小麦中のフモニシン B<sub>1</sub> 濃度 (ppb)

保管条件	試料 <sup>1)</sup>	保管開始時	保管開始後					
			4 週	8 週	12 週	24 週		
低温	1	試行 1	<25.0 <sup>2)</sup>	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	
		試行 2	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	
		平均	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	
	2	試行 1	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	
		試行 2	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	
		平均	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	
	3	試行 1	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	
		試行 2	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	
		平均	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	
	全平均		<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	
	室温	1	試行 1	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0
			試行 2	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0
平均			<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	
2		試行 1	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	
		試行 2	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	
		平均	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	
3		試行 1	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	
		試行 2	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	
		平均	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	
全平均			<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	
高温		1	試行 1	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0
			試行 2	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0
	平均		<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	
	2	試行 1	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	
		試行 2	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	
		平均	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	
	3	試行 1	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	
		試行 2	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	
		平均	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	
	全平均		<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	<25.0	

注) 付表 2 - 1 の脚注と同。



付表 3-7 小麦中の水分 (%)

保管条件	試料 <sup>1)</sup>	保管開始時	保管開始後					
			4 週	8 週	12 週	24 週		
低温	1	試行 1	13.2	13.6	14.1	14.6	14.6	
		試行 2	13.4	13.6	14.2	14.6	14.6	
		平均	13.3	13.6	14.2	14.6	14.6	
	2	試行 1	13.3	13.5	14.1	14.3	14.7	
		試行 2	13.4	13.7	14.0	14.4	14.6	
		平均	13.4	13.6	14.1	14.4	14.7	
	3	試行 1	13.4	13.2	14.1	14.4	14.8	
		試行 2	13.5	13.3	14.0	14.4	14.7	
		平均	13.5	13.3	14.1	14.4	14.8	
	全平均		13.4	13.5	14.1	14.5	14.7	
	室温	1	試行 1	13.6	13.3	13.8	14.0	13.6
			試行 2	13.6	13.4	13.9	14.0	13.5
平均			13.6	13.4	13.9	14.0	13.6	
2		試行 1	13.4	13.8	13.6	14.0	13.6	
		試行 2	13.5	13.8	13.6	13.9	13.5	
		平均	13.5	13.8	13.6	14.0	13.6	
3		試行 1	13.3	13.6	13.7	13.7	13.5	
		試行 2	13.4	13.5	13.7	13.7	13.4	
		平均	13.4	13.6	13.7	13.7	13.5	
全平均			13.5	13.6	13.7	13.9	13.6	
高温		1	試行 1	13.5	12.9	12.3	12.0	11.9
			試行 2	13.5	12.8	12.5	11.8	11.9
	平均		13.5	12.9	12.4	11.9	11.9	
	2	試行 1	13.5	12.7	12.2	11.9	12.0	
		試行 2	13.4	12.8	12.3	11.9	11.9	
		平均	13.5	12.8	12.3	11.9	12.0	
	3	試行 1	13.3	12.4	12.4	11.9	11.9	
		試行 2	13.2	12.3	12.4	12.0	11.8	
		平均	13.3	12.4	12.4	12.0	11.9	
	全平均		13.4	12.7	12.4	11.9	11.9	

注) 付表 2 - 1 の脚注と同。