

Preparation of a reference material containing sterigmatocystin

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2019-12-20 キーワード (Ja): キーワード (En): sterigmatocystin, reference material, ShakeMaster, Food Red06, particle size distribution 作成者: 田中, 健治, 佐合, 由紀, 中川, 博之, 内藤, 成弘, 久城, 真代 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24514/00002842

技術報告

ステリグマトシスチンを含む標準物質の調製

田中 健治¹, 佐合 由紀², 中川 博之², 内藤 成弘², 久城 真代²

Preparation of a reference material containing sterigmatocystin

Kenji Tanaka^{*1}, Yuki Sagou^{*2}, Hiroyuki Nakagawa^{*2}, Shigehiro Naito^{*2} and Masayo Kushiro^{*2}

^{*1} Agriculture, Forestry and Fisheries Technical Information Society,
15-6 Nihonbashi-Kabuto-cho, Chuo-ku, Tokyo, 103-0026 Japan

^{*2} National Food Research Institute, 2-1-12 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki, 305-8642 Japan

Abstract

To assure the homogeneity of a reference material for the mycotoxin sterigmatocystin (STE), a study was first conducted to prepare a reference material of rice containing the coloring Food Red 106. Initially, a V-shaped mixer was used to mix Food Red 106 and ground brown rice, but the resulting mixture was non-homogeneous. However, when a ShakeMaster was used for the simultaneous grinding and mixing of brown rice with Food Red 106, good homogeneity was achieved. Accordingly, a dried culture of *Aspergillus versicolor* NRRL5219 and brown rice was ground and mixed with the ShakeMaster. To assess the distribution of the STE an Autoprep[®] MF-A 1000 mini-column was used to isolate the STE, and 115-120% recovery was obtained. Repeatability (variability within a day) and intermediate precision (variability between days) were good. According to the IUPAC/ISO/AOAC INTERNATIONAL Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories, a homogeneous candidate reference material was obtained. The particle sizes of Food Red 106, ground brown rice, ground brown rice containing Food Red 106, and ground brown rice containing a non-STE producing culture of *A. oryzae* were analyzed and they ranged from 3~592 μm, 13~704 μm, 11~704 μm, and 16~704 μm, respectively.

Keyword

ステリグマトシスチン (sterigmatocystin), 標準物質 (reference material), シェイクマスター (ShakeMaster), 食用赤色106号 (Food Red 106), 粒子径分布 (particle size distribution)

緒言

ステリグマトシスチン (STE) は , *Aspergillus versicolor* やその他のカビによって産生される発ガン性のあるカビ毒 (マイコトキシン) の一つである . STE

は , トウモロコシ , 落花生 (ピーナッツ) , 綿実などをよく汚染するマイコトキシンであるアフラトキシンの前駆体である . 複数の試験室が共同の分析作業を行う場合に , 参加試験室が信頼性の高い分析値を得るためには , マイコトキシンの標準物質を利用できる必要がある . マイコトキシンを含有するいくつかの標準物

¹ 〒103-0026 東京都中央区日本橋兜町15-6 製粉会館6階 (社)農林水産技術情報協会

² 〒305-8642 茨城県つくば市観音台2-1-12 (独)農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

質は、例えば食品分野の化学分析技能評価プログラム (Food Analytical Performance Assessment Scheme (FAPAS)) のような組織から購入手続きをすれば得られるものもあるが、STE を含む多くのマイコトキシンの標準物質は今のところ利用できない。本研究では、STE を含有する玄米について、均一な標準物質を調製する方法を報告する。調製方法の有効性は、混合した標準物質の均一性を調べる指示薬として食品添加物である食用赤色106号を用いた予備試験で確認した。

材料及び方法

化学物質と試薬

STE (マコールケミカル社製) は、和光純薬工業株式会社から購入した。全ての試薬は HPLC 用を使用した。食用赤色106号は、癸巳 (きし) 化成株式会社の野澤氏から分与されたものを使用した。玄米の品種はコシヒカリ、2001年茨城県産のもので、5 で保存していたものを使用した。A. versicolor NRRL 5219は、アメリカ合衆国イリノイ州ペオリアにある USDA-ARS-NCAUR の Dr. Steve Peterson から分与を受けたものである。

A. versicolor 培養物と A. oryzae 培養物の調製

A. versicolor NRRL 5219は、ポテトデキストロース寒天培地で斜面培養した。STE を含有する玄米培養物を得るために、0.01% Tween 80を含む脱イオン水をオートクレーブ滅菌し、その10.0 ml を PDA 培地上に生育した A. versicolor 培養に加え、孢子の懸濁液を得るために十分に攪拌した。300 ml 容の三角フラスコに、5分づきのコメ30g と15 ml の脱イオン水を加え、3時間浸漬した後、121℃、30分間のオートクレーブ滅菌を行った。先に調製した孢子懸濁液1.0 ml を加え、25℃で14日間培養した。STE を含む培養物をオートクレーブ滅菌し、乾燥した。乾燥した培養物および玄米は、株式会社パイオメディカルサイエンス社製のシェイクマスターオート ver.1.5 (以下、シェイクマスターと略す) で粉砕した。STE を産生しない A. oryzae も A. versicolor と同じ方法で培養し、乾燥・シェイクマスター粉砕・手動混合後の混合物の粒子径分布を調べた。

器具

分離には、ドイツ Sarstedt 社製の14 ml 容の遠心チューブを使用した。食用赤色106号と粉砕した玄米を

混合するには、ジッパー付きプラスチックバッグ、ユニパック J-4 (340 x 240 x 0.04 mm, 生産日本社製) (以下、ユニパックと略す) を使用した。STE 培養物と粉砕した玄米を混合するには、市販のポリエチレン製プラスチックバッグ (500 x 700 x 0.1 mm) を使用した。

予備試験

試料の粉砕、混合方法について、まず二つの予備試験を行った。予備試験1では、シェイクマスターで玄米を粉砕し、粉砕した玄米と食用赤色106号を混合するのに、筒井理化学器械株式会社製のV型の混合機である透視式混合機 S-3型を使用した。予備試験2では、粉砕及び混合にシェイクマスターのみを使用した。

予備試験1：V型の混合機を用いたサンプルの調製：

玄米は最初にシェイクマスターで粉砕した。15 mm 直径の50個のステンレスボールと400 g の玄米を、直径140 mm x 高さ140 mm のステンレス製の容器に入れ、ステンレス製の蓋をした後、容器を縦に激しく振盪した。20分間の振盪を3回繰り返した。粉砕した玄米と食用赤色106号との混合には、40 g の粉砕した玄米と113 mg の食用赤色106号を V 型の混合機に入れ、約2時間30分混合した。この方法は、静電気の発生により満足のいくものではなかった。我々は、混合物をユニパックに入れ、V型混合機の中に入れた。バッグは、V型混合機の裏地の役割をさせようとしたものである。混合物は約13時間混合した。この条件下で、最初の内はバッグの混合物の一部は付着しなかったが、約3.5時間後には付着が起こり、混合の最後までこの付着は起こっていた。

混合物の均一性を確かめるため、200 mg の玄米 - 食用赤色の混合物サンプル (n = 8) をバッグからとり、9.0 ml の脱イオン水を加えた。振盪した後、5分間遠心分離し、上清を脱イオン水で1/10に希釈し、その希釈液の吸光度を、(株)島津製作所製の UV-260 の分光光度計を使って、566 nm で測定した。

予備試験2：シェイクマスターのみを使ったサンプルの調製

最初の実験で均一なサンプルが得られなかったので、我々は玄米と食用赤色106号の均一なサンプルを調製するために、V型の混合機を使用しない第2の方法を用いた。400 g の玄米、200 mg の食用赤色106号それに50個のステンレスのボールをシェイクマスター

の容器に入れ、20分間、3回粉碎・混合した。このサンプルを、粉碎・混合サンプル# 1と呼ぶことにする。180 gの玄米、17個のステンレスボール、40 gの粉碎・混合サンプル# 1、17個のステンレスボール、追加の180 gの玄米、それに16個のステンレスボールを、シェイクマスターの容器にこの順序で入れ、20分間、3回粉碎・混合した。この粉碎・混合物を、粉碎・混合サンプル# 2と呼ぶことにする。粉碎・混合した折には、粉碎物の一部がシェイクマスターの容器に付着していることに注意すべきである。武富らによれば（私信）、容器に付着した粉碎物は、均一に混合されていないので（データは示されていない）、シェイクマスターの容器を傾けた時に自由に落下する粉碎物だけを集めるべきである。

均一性確認のために、粉碎・混合したサンプル# 2の20 gを4サンプルとり、200 mlの脱イオン水で抽出した。抽出液は、アドバンテック東洋のNo 2のろ紙でろ過し、ろ液は5分間遠心分離した。上清液は、1/10に希釈し、その吸光度を566 nmで測定した。

STE 標準物質の調製

190 gの玄米、17個のステンレスボール、20 gの *A. versicolor* NRRL 5219培養物の乾燥したもの、17個のステンレスボール、190 gの玄米、それに16個のステンレスボールを、シェイクマスターの容器の中にこの順序に入れて20分間の粉碎・混合を3回繰り返した。この物質を“First mixed sample”と名付けた。400 gの玄米を、シェイクマスターで、20分間、3回粉碎した。40 gの“First mixed sample”と360 gの玄米粉砕物をプラスチックバッグ（500 x 700 x 0.1 mm）の中に入れ、文字8の形になるように連続的に手で動かして、30回混合した。このプラスチックバッグに入れた後の手動による混合操作をもう一度繰り返し、得られた混合物を、“Second mixed sample”と呼ぶこととした。上記の操作で、更に2つの400 gの“Second mixed sample”の袋を得た。3つの群を一つのプラスチックバッグ（500 x 700 x 0.1 mm）に移して、上記の操作で手動による混合を行った。得られた混合物を、“Third mixed sample”と呼ぶことにした（Figure 1）。

その後、プラスチックバッグを用いない方法を試みた。すなわち、最初の混合物を得るまでは同じ操作を行った。その後180 gの玄米、17個のステンレスボール、40 gの最初の混合物、17個のステンレスボール、180 gの玄米、それに16個のステンレスボールを、シェイクマスターの容器の中にこの順序に入れて、20分

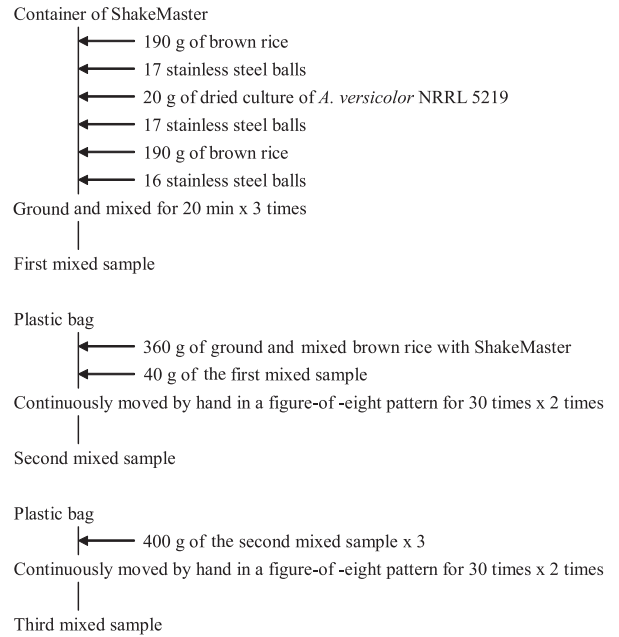


Figure 1. Procedure to prepare a homogeneous sample containing STE with ShakeMaster and plastic bag

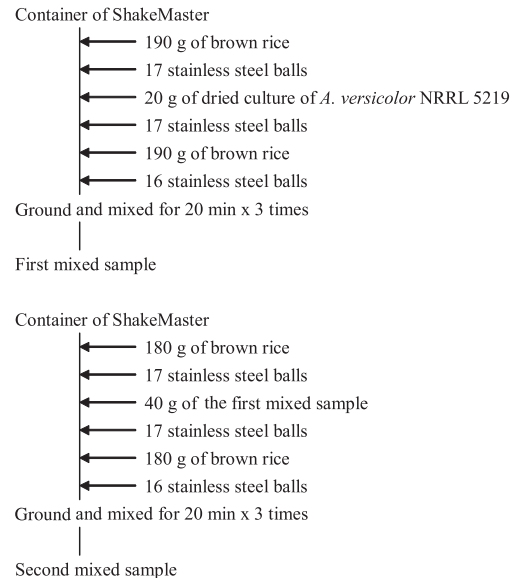


Figure 2. Procedure to prepare a homogeneous sample containing STE with ShakeMaster

間の粉碎・混合を3回繰り返した。得られた混合物を“Second mixed sample”と名付けた（Figure 2）。

STE の分析

一緒にした“Third mixed sample”の25 gをとり、40 mlのアセトニトリル - 水（85 : 15）で抽出し、昭和

電工製の固相抽出カラム (Autoprep[®] MF-A 1000; パッキング: silica+C18+ion exchange) により, 製造会社の仕様書に基づき抽出した。簡単に述べると, サンプルと溶媒を30分間振盪し, 抽出液をアドバンテック東洋のNo. 2のろ紙でろ過し, 15 ml のろ液を Autoprep[®] MF-A 1000のカラムに負荷した。カラムから流出した最初の4 mlを除いた。次に流出する2 mlを集め, 減圧下で溶媒がなくなるまで濃縮した。予備的試験で, 溶媒がなくなった後45分, 1分間更に乾燥させると, STEが73%となったことを考慮して, サンプルを減圧濃縮する際には, STEの減少をなくすために, 溶媒がなくなると直ぐに減圧濃縮を止めた。乾燥残留物は, HPLCで分析するために, 1 mlのメタノール-水(65:35)に溶解した。

STEは, HPLCシステム Agilent 1100シリーズ (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) を用い, UV吸収によって定量した。1.0 mlの65%メタノール溶液に溶かしたSTE標準溶液もしくは標準物質抽出液の20 µlを, 1100シリーズのオープンで25°Cに保った分析用の4.0 mm i.d. x 250 mmの逆相カラム Lichrosphere 100 RP-18 (E. Cica-Merck 東京) に, 負荷した。STEは, 次のようなメタノール-水のグラディエントのプログラムで分析した。52%のメタノールで12分, 52%から90%のメタノールで20分, 90%のメタノールを25分間継続, 26分目で90%から52%に切り替え, 52%のメタノールで40分まで流した。流速は, 0.5 ml/minであった。STEは, フォトダイオードアレイの330 nmでの吸光度を測ることにより, 検出した。これらの条件下でのSTEの検出限界は, 0.2 ngであった。

粒子径分布の分析

日機装株式会社製のマイクロトラック9220FRA 粒度分布測定装置を用い, 本装置の測定手順書に従いながら, いくつかの物質において, 円相当径での粒子径分布を測定した。

結果と考察

食用赤色106号は均一な物質であるので, 混合物質の均一性を測定するマーカー化合物として用いた。予備試験1では2つのステップを含んでいた。すなわち, まずシェイクマスターで玄米を粉碎し, 後でV型の混合機で混合するという2つのステップである。混合された玄米から抽出した食用色素106号の均一性の分

Table 1. Measurement of extracted Food Red 106 from a sample prepared with a ShakeMaster and a V-shaped mixer

1	0.883
2	0.957
3	0.842
4	0.779
5	0.953
Mean	0.875
Std. dev.	0.064
RSD (%)	7.31

Brown rice was ground with ShakeMaster. Food Red 106 was mixed using a V-shaped mixer. The sample was extracted with de-ionized water and the absorbance of the supernatant solution was measured at 566 nm.

Table 2. Measurement of extracted Food Red 106 from a sample prepared using the ShakeMaster alone

Sample	Absorbance
1	0.592
2	0.596
3	0.590
4	0.599
Mean	0.594
Std. dev.	0.004
RSD (%)	0.68

Brown rice and Food Red 106 were ground and mixed with a ShakeMaster.

The sample was extracted with de-ionized water.

The aqueous solution was filtered and filtrate was centrifuged at 3,000 rpm for 5 min. Absorbance of the supernatant solution was measured at 566 nm.

析結果を, Table 1に示した。玄米中の食用赤色106号の分布は, 均一ではなかった。

予備試験2では, V型混合機を用いずに, シェイクマスターのみを使って粉碎・混合を行うことにした。玄米と食用赤色106号はシェイクマスターの容器に入れ, 3回粉碎・混合した。それから, 混合物と9倍量の玄米とをシェイクマスターで3回粉碎・混合することにより, 10倍希釈した。シェイクマスターの容器への物質の入れ方は重要である(武富ら, 2006)という示唆に基づき, 同量の玄米の間に希釈すべき混合サンプルを挿入するように注意した。シェイクマスターの容器の内側の壁に, 粉碎・混合サンプルのいくらかが吸着するような現象が認められた。吸着した物質は充分には混合されていないので, 武富らの示唆どおり, 容器を傾けた際容易に落下する部分のみを集め, 保管した。混合された玄米中の食用赤色106号を抽出して

Table 3. Repeatability of STE recovery from spiked brown rice

Test number	1 ppm spiked*	2 ppm spiked	3 ppm spiked
1	1.199	2.328	3.462
2	1.171	2.366	3.362
3	1.182	2.374	3.518
4	1.178	2.400	3.528
5	1.202	2.338	3.526
6	1.177	2.358	3.474
7	1.182	2.388	3.372
Mean	1.184	2.365	3.463
Recovery(%)	118.4	118.2	115.4
SD	0.012	0.026	0.071
RSD(%)	0.98	1.09	2.04

*STE in methanol was spiked into 25 g of brown rice.

Table 4. Intermediate precision of the recovery of STE

Test Number (Month/Date)	1 ppm spiked*	2 ppm spiked	3 ppm spiked
1 (7/28)	1.182	2.368	3.462
2 (8/2)	1.190	2.134	3.548
3 (8/3)	1.162	2.410	3.474
4 (8/7)	1.173	2.326	3.562
5 (8/9)	1.187	2.386	3.686
6 (8/10)	1.201	2.400	3.674
7 (8/11)	1.182	2.406	3.674
Mean	1.182	2.347	3.583
Recovery(%)	118.2	117.4	119.4
Std. dev.	0.012	0.098	0.096
RSD(%)	1.05	4.19	2.68

*STE in methanol was spiked into 25 g of brown rice.

Table 5. Assigned values of STE in the prepared sample and homogeneity of STE

Sample	Duplicated results for random selected 10 samples	
	Results a (ppm)	Results b (ppm)
1	3.34	3.35
2	3.36	3.48
3	3.39	3.40
4	3.44	3.46
5	3.34	3.44
6	3.43	3.49
7	3.44	3.35
8	3.46	3.41
9	3.39	3.43
10	3.41	3.36
Total mean value		3.409 (n = 20)

(1) Cochran's outlier test: Cochran test statistics $C = 0.333 < 0.718$ of 1% of critical value

(2) Estimation of precision parameters:

$$S^2_{an} \text{ (analytical variance)} = 0.002165$$

$$S^2_{sam} \text{ (sampling variance)} = 8.444 \times 10^{-5}$$

$$\sigma_p \text{ (fitness-for-purpose based standard deviation)} = 0.453 \text{ (ppm)}$$

$$\sigma^2_{all} \text{ (allowed sampling variance)} = (0.3 \times \sigma_p)^2 = 0.01847$$

(3) Homogeneity test:

$$S^2_{sam} = 8.4 \times 10^{-5} < (1.88 \times \sigma^2_{all}) + (1.01 \times S^2_{an}) = 3.7 \times 10^{-2}$$

分析すると、その均一性は、Table 2 に示したように満足のいくものであり、4つのサンプル中の吸光度は、同様であり(0.594±0.004SD)、相対標準偏差(RSD)は0.68%であった。シェイクマスターだけの混合は、V型混合機を併用した場合よりも均一な混合が達成できたので、STEの標準物質を調製するには、シェイクマスターだけを用いることにした。

STEの標準物質を調製する前に、玄米へのSTEの添加回収実験を行った。40 ng/g、80 ng/g、400 ng/gとなるように玄米にSTEを添加すると、それぞれ122%、112%、112%の回収率となった。3つの濃度(1 ppm、2 ppmおよび3 ppm)でのSTEの添加回収実験における併行精度(repeatability)を、Table 3に示

した。回収率が115~118%で、相対標準偏差(relative standard deviation, RSDs)が0.98から2.04%であったことから、併行精度は許容できるものであった。

玄米への3つの濃度での添加回収実験での室内再現精度(日間精密度)を、Table 4に示した。室内再現精度も、許容できるものであった。

混合とSTEの分析方法のいずれも満足のいくものであったので、STEの標準物質を調製するために、玄米と混合すべき*A. versicolor*培養物を調製した(材料及び方法の項を参照)。培養で得られたSTEの濃度は419 μg/gとかなりの高濃度であったので、標準物質を調製するには十分な試料と思われた。

STE標準物質は、材料及び方法の項で記載してい

Table 6. Assigned values and homogeneity of STE in a sample prepared using a ShakeMaster alone

Sample	Duplicated results for random selected 10 samples	
	Results a (ppm)	Results b (ppm)
1	3 58	3 57
2	3 68	3 60
3	3 54	3 57
4	3 55	3 53
5	3 61	3 62
6	3 52	3 56
7	3 54	3 58
8	3 55	3 61
9	3 57	3 65
10	3 42	3 59
Total mean value		3 571 (n = 20)

(1) Cochran's outlier test: Cochran test statistics $C = 0.604 < 0.718$ of 1% of critical value

(2) Estimation of precision parameters:

$$S^2_{an} \text{ (analytical variance)} = 0.002507$$

$$S^2_{sam} \text{ (sampling variance)} = 4.33 \times 10^{-4}$$

$$\sigma_p \text{ (fitness-for-purpose based standard deviation)} = 0.472 \text{ (ppm)}$$

$$\sigma^2_{all} \text{ (allowed sampling variance)} = (0.3 \times \sigma_p)^2 = 0.02005$$

(3) Homogeneity test:

$$S^2_{sam} = 4.3 \times 10^{-4} < (1.88 \times \sigma^2_{all}) + (1.01 \times S^2_{an}) = 4.0 \times 10^{-2}$$

るように、*A. versicolor* の培養物と玄米をシェイクマスターで粉砕・混合したのち、プラスチックバッグに移し、手動によって混合することにより調製した。調製した標準物質から無作為抽出した10サンプルを2回併行分析し、その結果を Table 5 に示した。

調製した標準物質における STE の均一性を、Fearn and Thomson(2001)¹⁾によって提案された、IUPAC/ISO/AOAC INTERNATIONAL の分析化学試験室の技能試験に関する国際ハーモナイズドプロトコル(2006)²⁾(以後ハーモナイズドプロトコルと記す)に記載された方法を用いて確認した(Table 5)。併行分析の標準偏差(S_{an})は、 $S_{an} = 0.0465 < 0.5\sigma_p = 0.227$ の不等式が成立するため、ハーモナイズドプロトコルの S_{an} に関する推奨条件を満足していた(Table 5)。

これらの結果から、シェイクマスター混合とプラスチックバッグによる手動混合の組み合わせにより、均一試料を得ることが出来た。この均一試料の詳細な調製プロトコルが Figure 1 である。

我々は、プラスチックバッグに入れた後の手動による混合をしないで、シェイクマスターだけを用いた手順に従い(Figure 2)、もう一つの STE 標準物質調製も行った。結果を Table 6 に示した。

併行分析の標準偏差 S_{an} は、 $S_{an} = 0.0501 < 0.5\sigma_p = 0.236$ であった。それ故、均一性確認試験に用いた分析法の併行分析精度は、ハーモナイズドプロトコルの推奨条件を満足していた。この試料についてもハーモナイズドプロトコルの方法によって均一性が確認で

きた。シェイクマスターのみによって均一試料を得る詳細な調製プロトコルが、Figure 2 である。

標準物質の粒子径は、考察すべき重要な課題であるので、4つの物質、すなわち、(1)食用赤色106号、(2)粉砕した玄米、(3)食用赤色106号と粉砕した玄米の混合物、それに(4)玄米と*A. oryzae*の培養物の粉砕混合物の円相当径での粒子径分布を測定した(Figures 3 - 6)。

食用赤色106号の粒子径分布は、3 ~ 592 μm であった。玄米の粒子径分布は13 ~ 704 μm 、食用赤色106号を含んだ粉砕・混合した玄米の粒子径分布は11 ~ 704 μm 、それに玄米と*A. oryzae*の培養物を粉砕・混合したものの粒子径分布は、16 ~ 704 μm であった。体積平均径(Mean volume diameter)や中位径(median)の値は、Figure 中に記入した。もし、粒子径が小さいものであれば、均一なサンプルが得られやすいと考えられる。しかしながら、粒子径が小さくなれば静電気が発生しやすい。そこで、均一な標準物質を調製する際、粒子径分布を調べておくことは、重要である。

2つの実験をした結果、シェイクマスターだけで粉砕・混合をした場合も、シェイクマスターで粉砕・混合をし、その後プラスチックバッグに入れた後の手動による混合を組み合わせた場合にも、適切な標準物質を調製したことになった。このようなことから、シェイクマスターは、STEを産生するカビの培養物から標準物質を容易に調製する有益な機器であることも明らかとなった。

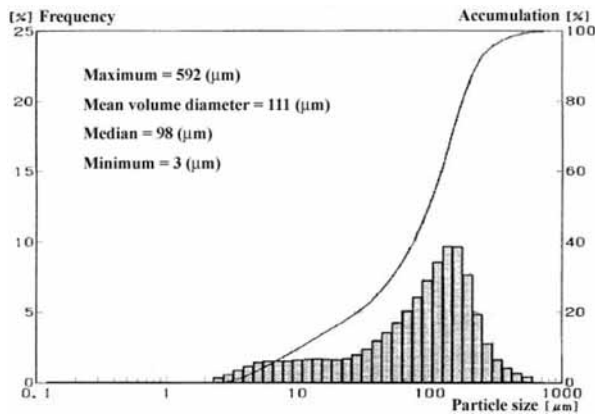


Figure 3. Particle size distribution of Food Red 106

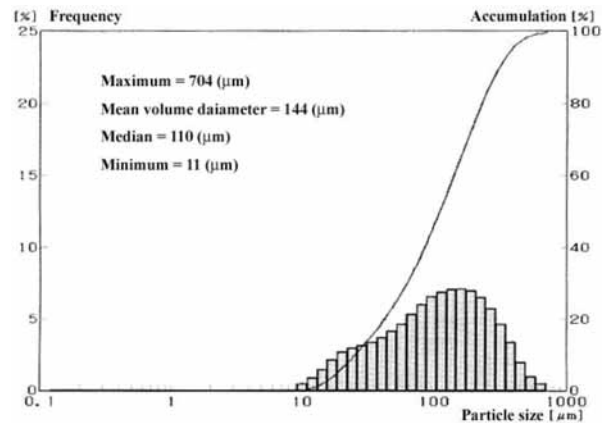


Figure 5. Particle size distribution of ground Food Red 106 and brown rice

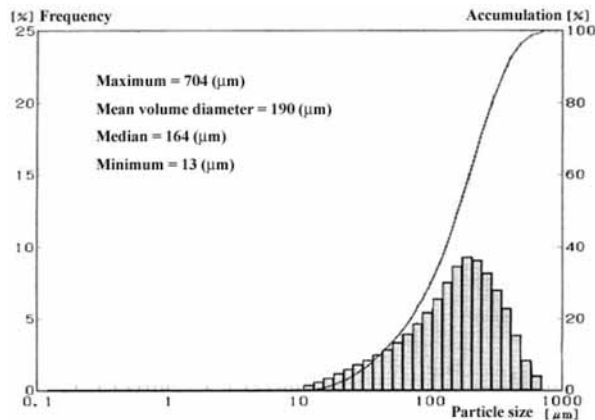
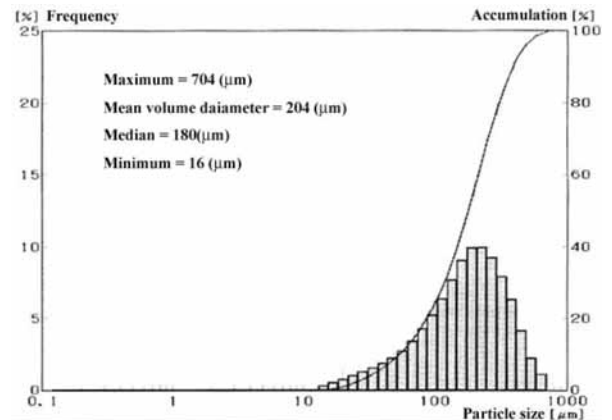


Figure 4. Particle size distribution of ground brown rice

Figure 6. Particle size distribution of ground brown rice and *A. oryzae* culture material

本報告に関しては、*Food Additives and Contaminants*, 25(9), 1141 - 1146 (2008). が原著である。多くの方々が均一な試料を作製する際の参考となるように、著作権のある出版社 Taylor & Francis の許可を得て、翻訳・一部訂正・加筆などして、技術報告としたものである。*Food Additives and Contaminants* での我々の論文は、open URL の <http://journalsonline.tandf.co.uk/> で、オンライン上で利用可能である。

謝 辞

我々は、STE 高産生菌である *A. versicolor* 菌株を分与いただいたアメリカの USDA-ARS-NCAUR の Dr. Steve Peterson に感謝する。サンプルとして食用

赤色106号を分与いただいた癸巳化成株式会社の野澤亮一氏に感謝する。粉碎・混合について貴重な情報の御教示ならびに粒子径分布の分析を実施いただいた日清製粉グループ本社の武富賢二氏、秋山聡氏、小澤和三氏、前田竜郎氏に感謝する。サンプルを均一にするため、プラスチックバッグに入れ手動によって混合する方法について御教示いただいた、財団法人日本穀物検定協会の法月廣子氏に感謝する。V型のS-3型混合機によるサンプルの混合について御指導いただいた、新潟大学の大坪研一教授に感謝する。サンプルの混合についてご指導いただいた財団法人食品薬品安全センター秦野研究所の鈴木達也氏、渡辺卓穂氏、高坂典子氏に感謝する。この研究は、農林水産省の「安全で信頼性、機能性が高い食品・農産物供給のための評価・管理技術の開発」のプロジェクトの支援のもとになさ

れたものである。

要 約

カビ毒（マイコトキシン）の一種であるステリグマトシスチン（STE）の標準物質の均一性を確保するために，食用赤色106号を含む標準物質を調製する研究を最初に行った．開発された手順書を，STE を含有する標準物質を調製するのに使用した．最初に，V - 型の混合機を用いて，食用赤色106号とシェイクマスターオート ver .1 5（ShakeMaster）で粉碎した玄米を混合した．しかし，得られた混合物は均一ではなかった．そこで，シェイクマスターを用いて，玄米と食用赤色106号の粉碎・混合を同時に行った結果，良好な均一性が得られた．次に，*Aspergillus versicolor* NRRL 5219の培養乾燥物と玄米をシェイクマスターで粉碎・混合した．STE の分布状態を評価するために，Auto-prep[®] MF-A 1000のミニカラムをSTE の精製に用いた．添加回収実験を行ったところ，115～120%の回収率が得られた．併行精度（repeatability）および中間精

度（Intermediate precision，日間差ばらつき）は良好であった．分析化学研究室用の技能試験のための IUPAC /ISO/AOAC INTERNATIONAL Harmonized Protocol（2006）の均一性確認方法によって，均一な候補標準物質が得られた．食用赤色106号，粉碎玄米，食用赤色106号を含む粉碎混合玄米，それに玄米と *A .versicolor* と同じ属でSTE を産生しない *A .oryzae* の培養物を粉碎・混合したものの粒子径分布を調べると，それぞれ3～592 μm，13～704 μm，11～704 μm，16～704 μm であった．

参考文献

- 1) Fearn, T., Thomson, M. A new test for 'sufficient homogeneity', Analyst, 126,1414-1417(2001).
- 2) Thompson, M., Ellison, S.L.R., Wood, R. The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories, Pure and Applied Chemistry, 78,145-196(2006).