

成績概要書 (2005年1月作成)

研究課題：エライザ法による生麦のデオキシニバレノール分析技術
(生麦を用いたエライザ法によるDON分析のための前処理技術の確立)

担当部署：中央農試 農産工学部農産品質科, クリーン農業部病虫科

協力分担：中央農試生産システム部機械科

予算区分：受託

研究期間：2003～2004年度 (平成15～16年度)

1. 目的

北海道では2003年より、小麦に対するデオキシニバレノール (DON) の簡易検査法としてエライザ法の普及を推進しているが、エライザ法の利用に当たっては乾麦を粉砕したものから抽出することが前提になっている。将来的には荷受段階でのロット形成に際して、収穫直後の生麦でのDON分析が想定され、乾燥後の調製過程におけるDON分析においても、より簡便で迅速な抽出方法が望まれている。

そこで本試験では、ドライケミストリー法による小麦 α -アミラーゼ活性の簡易迅速測定システムの開発において用いている前処理技術 (生麦からの粉砕・抽出法) が、エライザ法によるDON分析の前処理法として適応可能かどうかについて検討した。

2. 方法

1) 供試試料 (2003～2004年産供試品種：春よ恋)

2003年：中央農試産生麦3点、現地圃場生麦4点、2002年産現地圃場乾麦 (ハルムカ；調製済) 2点

2004年：現地圃場生麦・半乾麦6点、現地圃場乾麦 (未調整) 6点、現地試験 (受入時) 4点

2) 生麦を用いた粉砕・抽出方法の検討

①ホモジナイザー (マイクロテック・ニチオン社製ヒスコトロン) 抽出条件 (生麦100g+抽出液600mL)：ジェネレーターの種類 (小麦標準用、少量用)、回転数 (7000、8000、9000rpm)、粉砕時間 (60、120、180秒)、遠心分離時間 (13000rpm-60、120秒)

②抽出液：抽出液の種類 (イオン交換水、 α -アミラーゼ用抽出液; 0.075%NaCl+0.003%CaCl₂)、抽出液温 (15℃、室温、25℃、30℃)

③抽出時の生麦条件：固液比 (生麦：抽出液=1:5、1:6)、試料水分 (12.5～31.9%)

3) エライザ法によるDON濃度の分析

①慣行抽出法：生麦子実を65℃で一晩乾燥、ワーリングブレンダーで粉砕 (100g×2反復)、固液比1:5 (粉砕物5g+蒸留水25mL) で3分間振とう抽出後にろ過

②エライザキット：ベラトクス ポミトキシシ DON5/5 (NEOGEN社)

③DON分析値：固液比は慣行法 (1:5) に合わせて換算し、分析値は乾物換算表示

3. 結果の概要

1) 赤かび粒の混入が少ない試料でもDON濃度が高いものも認められることから、生麦のDON濃度を赤かび粒率から推算することは困難である。(図1)。

2) 生麦のDON分析には、 α -アミラーゼ活性簡易迅速測定システムにおける前処理条件 (ジェネレーターの回転数; 8000rpm、粉砕・抽出時間; 120秒、抽出後の遠心分離時間; 60秒、固液比1:6) がそのまま適用可能であった。また、抽出液としては、DON分析の慣行法と同様のイオン交換水、または α -アミラーゼ抽出液 (0.075%NaCl+0.003%CaCl₂) のいずれもが利用可能であった (表1)。

3) 対象とする小麦子実については、生麦および乾麦のいずれについても本粉砕・抽出条件がそのまま適用可能であった。慣行法および生麦抽出法によるDON分析値の関係については、両者の間に高い正の相関関係 ($r=0.977^{**}$) が認められた (図2)。

4) 生麦のDON分析に必要な機材としては、エライザ分析に関わる機材を除くと、小麦専用ホモジナイザーおよび卓上小型遠心機を備えることで対応が可能で、1点当たりの抽出時間は6分、エライザ分析まで含めると約1時間で7点のDON濃度の分析が可能であった (表2)。

5) 以上のように、生麦にも対応できる迅速な粉砕・抽出法が確立され、エライザ法による生麦のDON分析が可能となった。

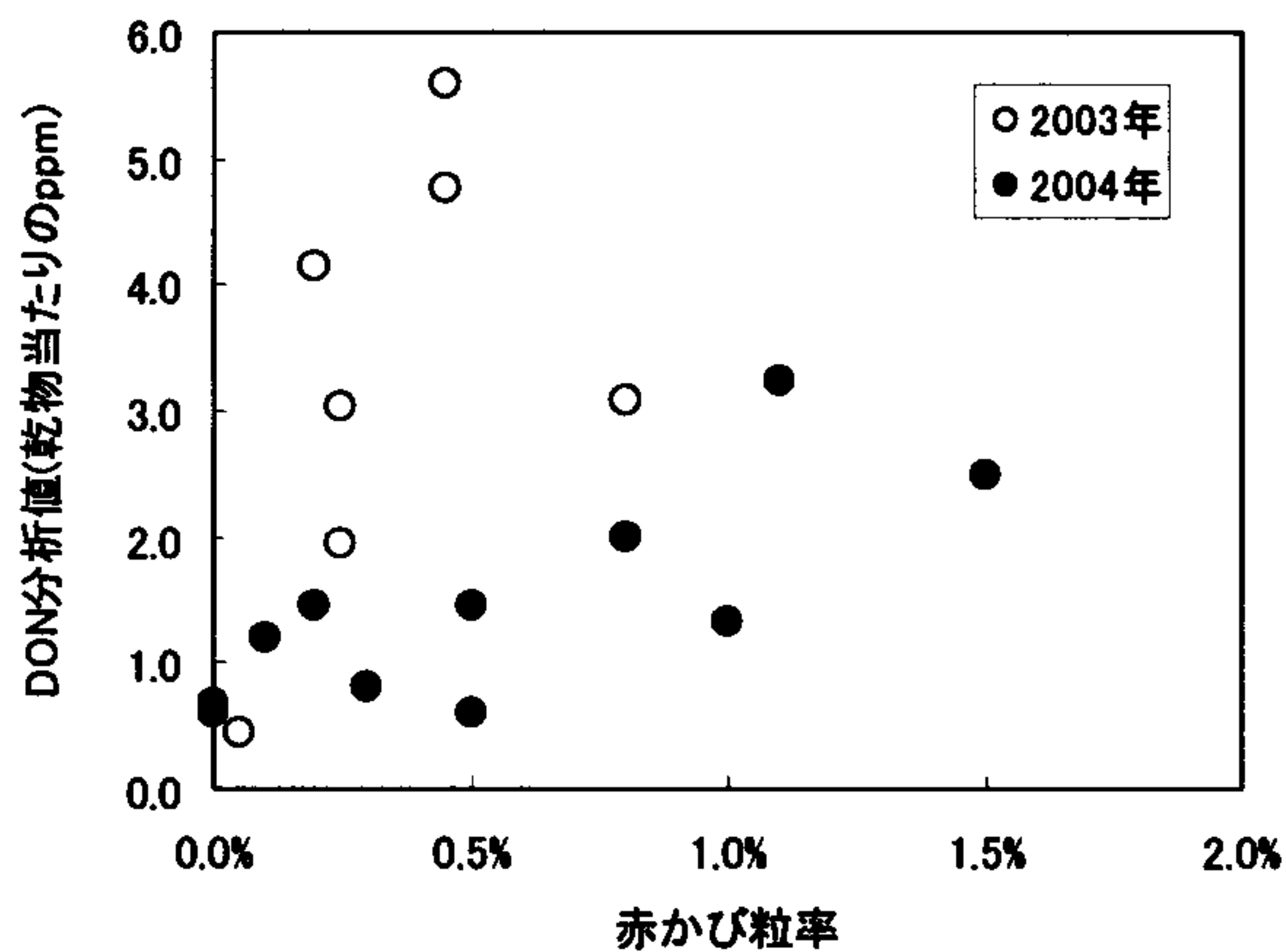


図1 赤かび粒率とDON濃度の関係

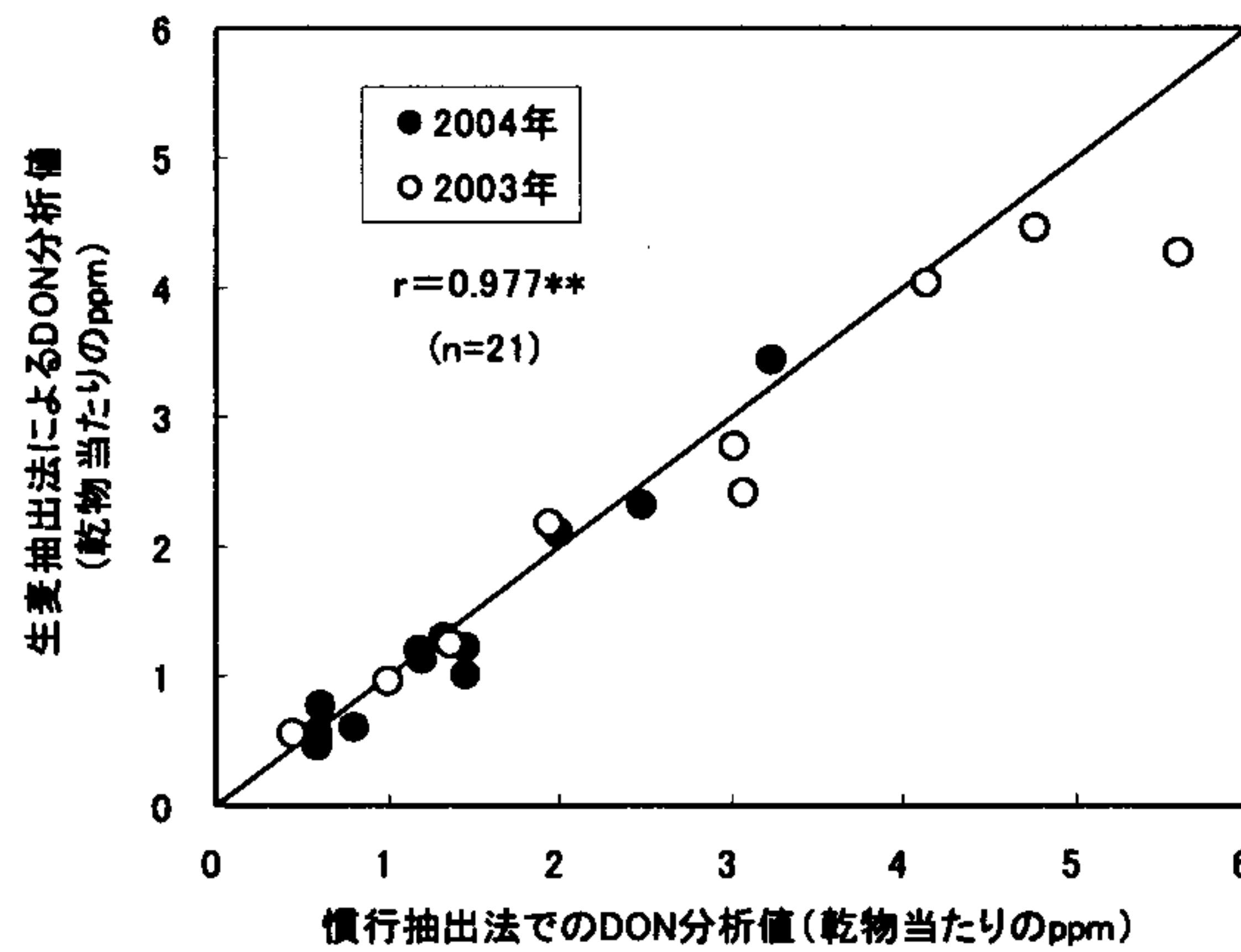


図2 生麦抽出法と慣行抽出法によるDON分析値の関係

表1 生麦を用いたエライザ法によるDON分析のための抽出条件

項目	設定条件	現場での対応
小麦試料	100g	はかり(最小目盛0.1g)
抽出液	液量	600mL
	組成	イオン交換水 0.075%NaCl, 0.003%CaCl ₂
	温度	20~25℃
抽出容器	容量	1リットル
	位置	偏心:2.0cm クリアランス:4.0cm
ホモジナイズ	回転数	8000rpm
	時間	120秒
		現場での対応
		プラスチック製メスシリンダー
		カートリッジ式純水器
		15%NaCl,0.6%CaCl ₂ 水溶液を イオン交換水で200倍に希釈
		室温馴化により調整
		汎用プラスチック容器
		簡易に位置決めが可能な 専用台を作成
		目盛で固定
		タイマーにより自動停止

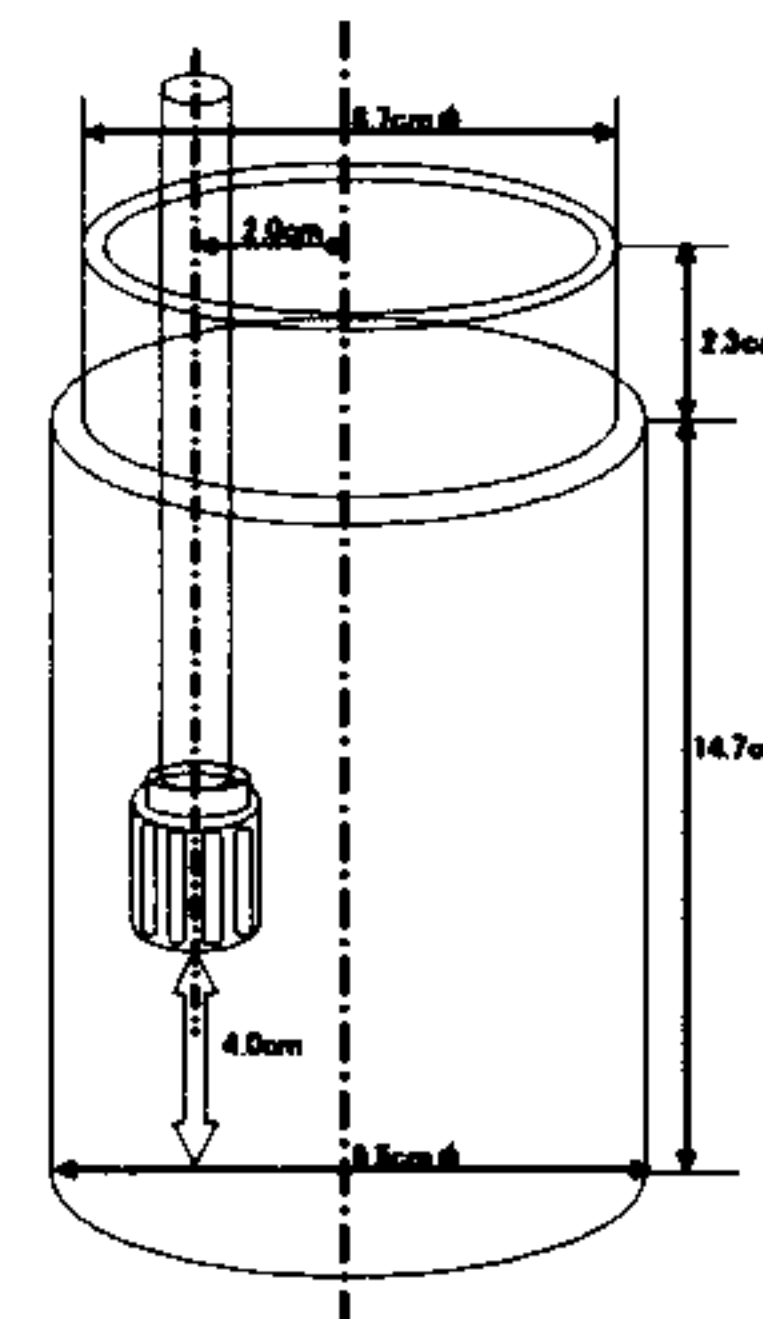


表2 生麦抽出法と慣行抽出法におけるDON分析手順と所要時間

作業工程	生麦からの抽出法		慣行法(生麦の場合)		
	作業内容	所要時間(分)	作業内容	所要時間(分)	
前処理	試料の採取	小麦子実を1kg程度採取する	0.5	小麦子実を1kg程度採取する	0.5
	試料の乾燥	不要	—	65℃で一晩乾燥	16時間
	水分測定	近赤外分析装置等を用いて子実水分を測定する	1	近赤外分析装置等を用いて子実水分を測定する	1
	粉碎試料の計量	不要	0	小麦子実100gを計量する	0.5
	試料の粉碎	不要	0	1mmの篩を通過するよう粉碎	10
	抽出試料の計量	小麦子実100gを計量する	0.5	粉碎物5gを計量する	0.5
	抽出液の準備	抽出液600mlを計量する	0.5	蒸留水25mlを計量する	0.5
	抽出	8,000rpm、120秒間ホモジナイズする	2	シェーカーで3分間振とうする	3
分離	13,000rpm、60秒間遠心分離する	1.5	WhatmanNo.1ろ紙で濾過する	6	
小計		6分		16時間22分	
エライザ分析	分析	エライザキットにより分析する	30	エライザキットにより分析する	30
	測定	吸光度計で測定する	5	吸光度計で測定する	5
合計		41分		16時間57分	

4. 成果の活用面と留意事項

- 1) 本成果は、農業生産現場において、生麦のみならず半乾麦および乾麦をも対象とした小麦収穫物のエライザ法によるDON分析に活用できる。
- 2) α-アミラーゼ活性簡易迅速測定システムが導入されている農業現場等においては、一度の抽出でα-アミラーゼ活性とDON濃度の両方の分析に供することが可能である。
- 3) 生麦のDON濃度を分析する場合には、水分補正により乾麦(水分12.5%)に換算する。
- 4) 本粉碎・抽出法は、エライザキット(ベラトクス ボミトキシム DON5/5)で推奨している抽出法とは異なる。

5. 残された問題とその対応