

コムギなまぐさ黒穂病のにおいに関する研究
—小麦の登熟段階における発病粒のにおいの変化および発病粒が小麦の
においに与える影響—

河野慎一

Study on the odor of bunt wheat

-Changes in bunt wheat odor during the ripening stage and the effect of bunt
wheat contamination rate on the odor of normal wheat grains-

Shinichi Kono

Volatile components of normal and bunt wheat grains were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry with olfactometry. Seven components, namely, trimethylamine and six C8 compounds such as 3-octanone, were identified as the cause of off-flavor. The odor intensity of bunt wheat decreased with ripening progressed. The odor concentration at harvest decreased to approximately 12% that at the milk-ripe stage. Moreover, the odor qualities were different. The ratio of C8 compounds was high around the milk-ripe stage and decreased considerably at the harvest time. However, the trimethylamine fraction was lower than that of the C8 compounds at the milk stage, and the rate of decrease was lower than that of the C8 compound at harvest time. The effect of the bunt wheat contamination rate on the odor of wheat grain was investigated using a model simulating bunt wheat crushed and mixed with normal wheat at harvesting. A difference was observed between normal wheat and a sample containing 0.05% bunt wheat in the organoleptic odor test. However, there was no difference in odor between the normal and contaminated grains at a contamination rate of 0.017%.

KEY-WORDS : Bunt wheat, Odor index, GC-MS

キーワード : コムギなまぐさ黒穂病, 臭気指数, GC-MS

北海道において、コムギなまぐさ黒穂病は1900年～1936年に多発した記録はあるが戦後は発生記録がほとんど無かった。しかし、2006（平成18）年に北海道内の一部地域で発生が確認されると、徐々に被害が拡大し2016（平成28）年には発生面積が全道で1,000haを超えるまでに至った¹⁾。

新村らは、北海道におけるなまぐさ黒穂病の病原菌がこれまで報告のあった *Tilletia caries* や *T. foetida* ではなく、日本では知られていない *T. controversa* であることを解明した²⁾。また、当菌が土壤中または土壌表面に生存し、生きた植物の地下部などで伝染（土壌伝染）すること、種子中または種子表面に生存して次世代の植物に伝染する（種子伝染）ことは無いこと、感染源となる厚膜胞子は小麦粒の中でしか作られないため、土壌中で厚膜胞子が増殖しないこと等を明らかにした³⁾。さらに、これらの知見のもと、小澤らは防除対策として効果のある薬剤とその散布時期や播種方法を示した⁴⁾。これらは北海道を通じて農業者へ普及され、農業者によるまん延防止対策が行われたことから、2018（平成30）年にはピーク時の約10分の1の127haまで減少した⁵⁾。

コムギなまぐさ黒穂病に罹患した発病穂は、小麦粒内部に茶から黒色の粉状の厚膜胞子が充満するが、その最大の特徴は発病粒に魚やスルメ等を想起させる異臭（なまぐさ臭）が発生することである。しかしながら、なまぐさ臭に関する知見や試験研究事例は極めて少ない。そこで、なまぐさ臭を構成する原因物質の特定、登熟過程におけるにおいの推移、被害粒の混入程度とにおい強度の関係を検討した。

実験方法

1. なまぐさ臭の原因物質の特定

なまぐさ臭の原因となる物質を特定するためにガスクロマトグラフ質量分析計（GC-MS）を用いて発病粒の揮発性成分を測定するとともに、におい嗅ぎ分析（GC-O）を行った。

(1) 供試試料

供試試料は、「きたほなみ」（2016年度北海道産）とし、乳熟期（出穂後約20日後）と収穫期（同約50日後）に採取した発病粒および健全粒を用いた。

(2) 揮発性成分の分析

小麦粒1粒を20mlバイアルに入れてすり潰した後、60℃で20分間予備加熱を行い、固相マイクロ抽出（SPME）法により揮発性成分を捕集（60℃で30分間）した。SPMEはDivinylbenzene/Carboxen/

Polydimethylsiloxane（57348-U、メルク）を使用した。

捕集した揮発性成分をGC-MSにより表1記載の条件で測定した。また、同時にカラムにより分離された成分をにおい嗅ぎ装置を用いて実際に鼻でにおいを嗅ぐことによりヒトがにおいとして認識した成分を求めた。におい嗅ぎはスプリット比を4段階設けて（スプリットレス、3:1, 7:1, 15:1）徐々に大きくして行い、成分を絞り込んだ。成分の同定はライブラリにより行った。

表1 GC-MSの測定条件

機種	7890A/5975C（アジレントテクノロジー）
注入方法	スプリットレス
試料注入口温度	240℃
昇温プログラム	40℃（3分保持）-250℃（10℃/分, 10分保持）
キャリアガス流量	ヘリウム 1.7mL/分
イオン源温度	230℃
イオン化法	EI
カラム	DB-WAX UI（アジレントテクノロジー） 30m×φ0.25mm, 膜厚0.25μm

2. 登熟過程におけるなまぐさ臭の推移

小麦の登熟過程におけるなまぐさ臭の強度の推移を明らかにするため、においの指標として臭気指数相当値を測定した。また、同時にGC-MSを用いて前項で明らかにしたなまぐさ臭の原因物質を測定した。これらの測定を3年度にわたり実施した。

(1) 供試試料

2017年度は北海道内の小麦を育成しているほ場から被害粒を採取した。8試験区（7地区・4品種）において採取した22点を試験に供した。出穂日など登熟の詳細が不明なため採取した被害粒の水分を測定した。

2018年度は試験ほ場の6試験区（3地点・4品種）における採取時期の異なる21点を試験に供した。このうち3試験区は、乳熟期（出穂より約20日後）より1週間毎に試料を採取し、収穫期（同約50日後）まで合計5回の採取を行った。また、他の3試験区は乳熟期・収穫期に試料を採取した。

2019年度は試験ほ場の6試験区（3地点・4品種）における採取時期の異なる18点を試験に供した。乳熟期・収穫期・刈遅れ期（収穫期の1週間後）の3回の採取を行った。

(2) 臭気指数相当値

臭気指数は悪臭防止法で採用されており、対象となる気体を無臭空気で薄め、ヒトの嗅覚でその臭気を感知できなくなるまで希釈した場合の希釈倍数を基礎として算出され^{a)}、においの強さの指標となる。当試験では発病

粒の臭気指数，すなわちにおいの強さを算出してなまぐさ臭の強度とした。なお，臭気指数は工場や事業所の敷地境界付近の空気を採取して測定を行うが，当該試験では以下に示す方法によりにおい嗅ぎ用に試料を調製したため，臭気指数相当値と表記した。

発病穂 3 穂から 3 粒ずつ採取した 9 粒を，試料採取用バッグ（フレックサンプラー，Fタイプ，10L，近江オドエアーサービス）に入れてすり潰した。窒素ガス 8 L を封入し，24時間室温で静置した後，ヘッドスペースを新たなバッグへ移し替えて試料とした。

この試料を用いて，株式会社北炭ゼネラルサービスにて，臭気判定士の指導の下に同社のパネル 6 名にて三点比較式臭袋法により試験を行い，希釈倍率の最小値，最大値をカットした平均値から臭気指数相当値を求めた^{b)}。

また，乳熟期および収穫期の発病粒のにおいの違いについて，アンケート調査を行った。試料は発病粒を粉砕または粒状のままとして，前述のとおり調製した。サンプル名を伏せてパネルによるにおい嗅ぎに供し，臭気の違いの有無，およびにおいの質について調査を行った。パネルは当センター職員 12 名とした。

(3) 揮発性成分の測定

(2)の測定で用いた同一の発病穂 3 穂から 1 粒ずつ採取した発病粒 3 粒を 10ml バイアルに入れすり潰した後，ヘッドスペース部を窒素置換し，内部標準（0.1% シクロヘキサノール）1 μ L をバイアル内壁に付着させた。密栓後，予備加熱（40℃，20分）を行い固相マイクロ抽出（SPME）法により揮発性成分を捕集（40℃，20分）した。SPMEはDivinylbenzene/Carboxen/Polydimethylsiloxane（57348-U，メルク）を使用した。サンプリングした揮発性成分をGC-MSにより表2記載の条件で測定した。測定後は前項で特定したなまぐさ臭の原因となる成分についてピーク面積（比内標）を求めた。

3. 発病粒混入モデルにおけるにおい強度

冒頭に述べたとおり，なまぐさ黒穂病の最大の特徴は，発病粒がなまぐさ臭を発することであるが，本道において，収穫した小麦への発病粒混入によるにおいの影響に関する知見がない。そこで，小麦の収穫・脱穀時に発病粒がつぶれ，厚膜胞子が健全粒に付着した状況を想定し，粉砕した発病粒を種々の比率で混入したモデルを調製し，健全粒との臭気差異の有無を検討した。

表 2 GC-MSの測定条件

	2017, 2018年度	2019年度
機種	GCMS-QP2010 Plus (島津製作所)	GCMS-QP2020 NX (島津製作所)
注入方法	スプリットレス	
試料注入口温度	250℃	
昇温プログラム	35℃(3分保持)–240℃(6℃/分, 3分保持)	
キャリアガス流量	ヘリウム 1.0mL/分	
イオン源温度	200℃	
イオン化法	EI	
カラム	DB-WAX (アジレントテクノロジー)	DB-WAX UI
	30m× ϕ 0.25mm, 膜厚0.25 μ m	

(1) 混入する発病粒の臭気指数相当値の影響

においの強さが異なる発病粒を用いてモデルを作成し，健全粒との臭気差異の有無を調べた。健全粒は「きたほなみ」（2017年，長沼町産）を用いた。発病粒の混入比率は0.050%（健全粒2,000粒に発病粒1粒）とした。対照として，健全粒2,000粒を入れた試料採取用バッグ（フレックサンプラー，Fタイプ，50L，近江オドエアーサービス）を2袋準備した。また，同様に調製したバッグに，発病粒を1粒入れて，密栓後に粒をすり潰して混合したもの（発病粒混入モデル）を1袋準備した。

これら3袋のバッグに窒素ガス50Lを封入し24時間室温で静置させた後，ヘッドスペースガスを新たなバッグへ移し替えて測定に供した。

発病粒は試験ほ場3地点にて収穫期に採取した臭気指数相当値の異なる6点（2018年度）を用いた。

これらの試料を用いて，のべ18名のパネルにより三点比較式臭袋法による試験を行った。まず，各パネルに対して，対照2袋およびモデル1袋，合計3袋のにおい袋を供した。パネルには試料のにおいを嗅いでモデルと判定するガスを選定させた。正解したパネルの人数を用いて二項検定を行い，健全粒とモデル間の臭気差異の有無を調べた。

(2) 発病粒の混入比率の影響

発病粒の混入比率を変化させてモデルを作成し，健全粒との臭気差異の有無を調べた。健全粒は「ゆめちから」（2018年，長沼町産）を用いた。混入比は0.050%，0.017%，および0.006%とし，それぞれ健全粒18,000粒に対し，発病粒を9粒，6粒，1粒添加し，3-(1)に準じて試料を調製した。

なお，発病粒は試験ほ場3地点にて収穫した2019年度産のうち，最も臭気指数相当値の高い発病粒2種および中間値の1種を用いた。これらの試料を用いて前項と同様に三点比較式臭袋法による試験を行った。

4. 統計処理

統計解析は、二項検定は確率表⁶⁾を、t検定およびTukeyの多重比較検定はSPSS15.0を用いて、それぞれ行った。

実験結果および考察

1. なまぐさ臭の原因物質の特定

揮発性成分分析の結果、乳熟期の健全粒からは48成分が、同発病粒から71成分が検出された。このうち発病粒に特徴的な成分として44成分が確認され、うち34成分を同定した。また、収穫期の健全粒からは18成分が、同発病粒からは29成分が検出された。このうち発病粒に特徴的な成分として15成分が確認され、うち9成分を同定した。

また、全試料からにおい嗅ぎによりヒトが認識可能な成分は37成分あり、そのうち健全粒と発病粒に共通する成分は8成分、微量のため同定できなかった成分が17成分、スプリット比を大きくするに伴い認識できなくなった成分が5成分であった。残る7成分はトリメチルアミン、3-オクタノン、1-オクタナール、1-オクテン-3-オン、trans-2-オクテナール、1-オクテン-3-オール、trans,trans-2,4-オクタジエナールであった。よって、発病粒に特異的な成分は、トリメチルアミンおよび炭素数が8個から成る3-オクタノン等のC8化合物であり、これらをなまぐさ臭の原因となる成分と特定した(表3)。トリメチルアミンは、におい嗅ぎの際に「生臭い」と認識され、化合物ライブラリには「魚様」、「刺激臭」、「アンモニア臭」などと表記されており、一般的には魚の珍味やスルメの様なにおいを有するとされている。また、C8化合物のうち、3-オクタノンはにおい嗅ぎの際に「青くさい」と認識され、ライブラリには「ハーブ様」、「樹脂様」などと表記されている。1-オクテン-3-オールは同におい嗅ぎの際に「甘い(系統の)香り」と認識され、ライブラリでは「マッシュルーム様」、「土様」などと表

記されている。なまぐさ臭はこれらが様々な割合で混合することにより生じていると推定された。

検出された揮発性成分は収穫期より乳熟期の方が多く、揮発性成分は小麦の登熟と共に減少することが示された。

2. なまぐさ臭の発生推移

(1) 臭気指数変化

2017年度試料において、登熟の進行による水分の減少に伴い、臭気指数相当値は減少したものが多かった(図1)。小麦は登熟に伴い水分が減少することが知られており⁷⁾、登熟に伴って臭気数相当値が減少すると考えられた。また、2018、2019年度試料においても登熟に伴い臭気数相当値は減少した(図2,3)。乳熟期に対する収穫期のおいの強さを算出するため、収穫期の臭気濃度(臭気指数=10×log10(臭気濃度))を乳熟期の同値で除した割合を算出したところ、0.3%~56.2%であり、平均値は12.1%であった(図4)。

においの変化に関するアンケートにおいて、乳熟期と収穫期の発病粒について差異の有無を確認したところ、臭気差異があると回答したパネルは、粒で提供した場合に83%、粉状にして提供した場合に92%であった。また、においの質に関する設問では、いずれの形態でも乳熟期では「スルメ・珍味・干物等の様なにおい」との回答が多くを占めたのに対し、収穫期では同回答の割合は少なく(図5)、「豊の様な」や、「埃の様な」など様々な回答が得られた。このことから、登熟により、においの質が変化していることが示唆された。「スルメの香りがするが、多くの成分が混ざっている様に思う」との発病粒のにおいを表現する象徴的な回答があった。

(2) 揮発性成分

各年度共に、登熟に伴い揮発性成分は減少した(図6~8)。収穫期頃にて揮発性成分は著しく減少し、特に1-オクテン-3-オール等のC8化合物が大きく減少した。また、乳熟期はC8化合物が主成分であるが、収穫期頃

表3 なまぐさ臭の原因となる成分とその記述子

物質名	におい嗅ぎにおける記述	化合物ライブラリの記述子
Trimethylamine	生臭い	魚様, 刺激臭, アンモニア臭
3-Octanone	青臭い	ハーブ様, 樹脂, バター
1-Octanal	不快, カメムシ様	青草様, フルーティ, 腐敗臭等
1-Octen-3-one	キノコ様	マッシュルーム, 金属のような, ハーブ様等
Oct-(2E)-enal	不快, カメムシ様	青草様, マッシュルーム, ナッツ様等
1-Octen-3-ol	甘い香り	マッシュルーム, 土の様な, 埃っぽい等
Octa-(2E,4E)-dienal	不快	青草様, 海藻, スパイシー

におい嗅ぎにおける記述は試験時にパネルが表現した記述。

化合物ライブラリの記述子はAroChembase(アルファ・モス・ジャパン)に掲載されていた記述子。

にて大きく減少した。トリメチルアミンの含量は微量であるが、登熟の進行に伴う減少の程度はC8化合物よりも少ない傾向であった。

前項にて小麦の登熟に伴い、臭気指数相当値すなわち、なまぐさ臭の強さは小さくなることが確認できたが、なまぐさ臭の原因成分についても登熟が進行すると共に減少していることが確認できた。

3. 発病粒混入モデルにおけるにおい強度

(1) 混入する発病粒の臭気指数相当値の影響

発病粒の混入が小麦全体のおいへ与える影響を確認するため、粉碎した発病粒を健全粒に0.050%混入させたモデルを作成し、三点比較試験によりモデルと健全粒の臭気差異を確認した。発病粒の臭気指数相当値の違い

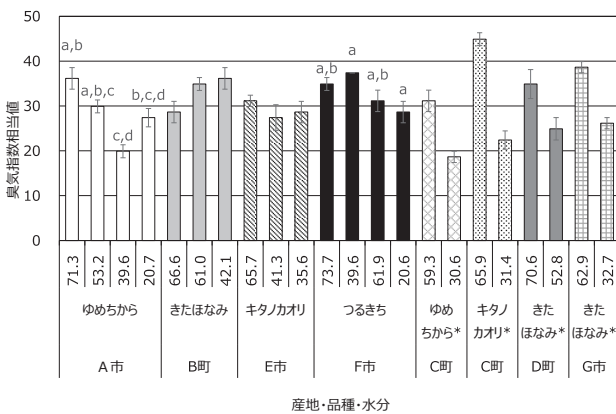


図1 臭気指数相当値の変化 (2017年度)

エラーバーは標準誤差を示す。A市, B町, E市, F市の試料は、同一産地内において、異なるアルファベット間には有意差があることを示す (Tukey法, $p < 0.05$)。C町, D町, G市の試料は品種名*は、各産地内における有意差があることを示す (t検定, $p < 0.05$)。

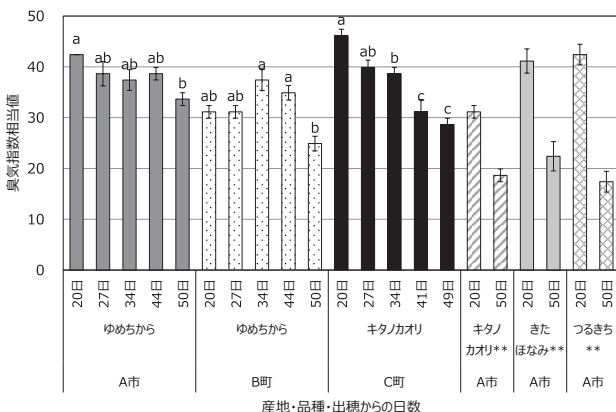


図2 臭気指数相当値の変化 (2018年度)

エラーバーは標準誤差を示す。A市とB町のゆめちから, C町のキタノカオリは同一産地内において異なるアルファベット間には有意差があることを示す (Tukey法, $p < 0.05$)。A市のゆめちから以外の品種**は、同一品種内に有意差があることを示す (t検定, $p < 0.01$)。

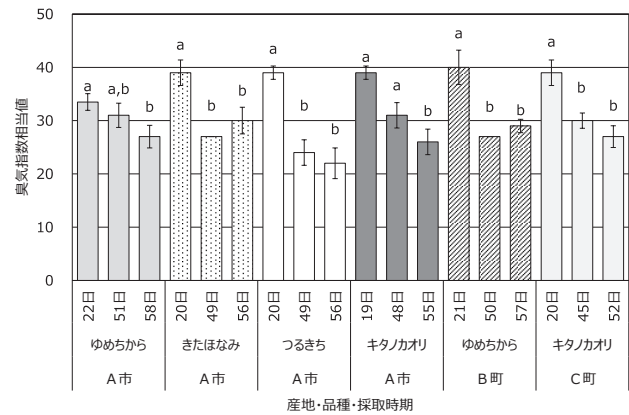


図3 臭気指数相当値の変化 (2019年度)

エラーバーは標準誤差を示す。同一産地・品種の試験区において、異なるアルファベット間には有意差があることを示す (Tukey法, $p < 0.05$)。

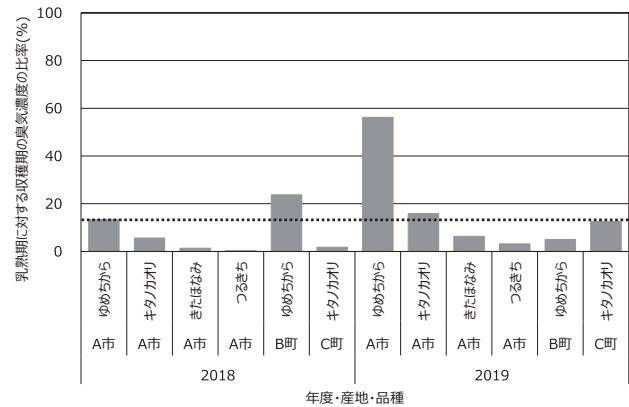


図4 乳熟期に対する収穫期の臭気濃度比率

点線は平均値を示す。

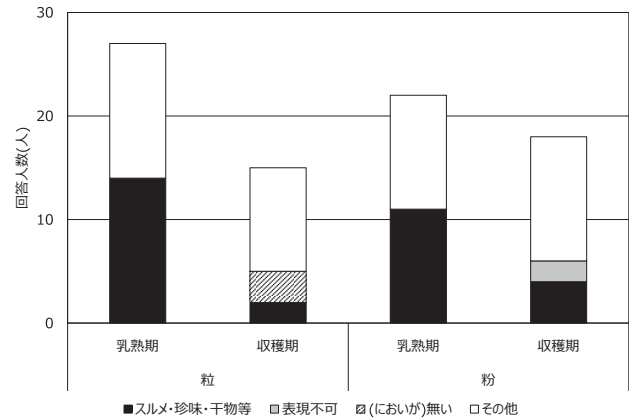


図5 登熟段階の違いによるおいの記述

乳熟期：出穂より約20日後
収穫期：出穂より約50日後

により正解率が異なり、臭気指数相当値の小さい発病粒を用いたモデルは、正解率が低く健全粒との有意差が確認出来なかった (表4)。一方、臭気指数相当値が大きい発病粒は正解率が高く、モデルと健全粒との臭気差異が有意であることが確認された。発病粒が0.050%混入することにより小麦全体のおいへに影響を与えることが

示唆された。

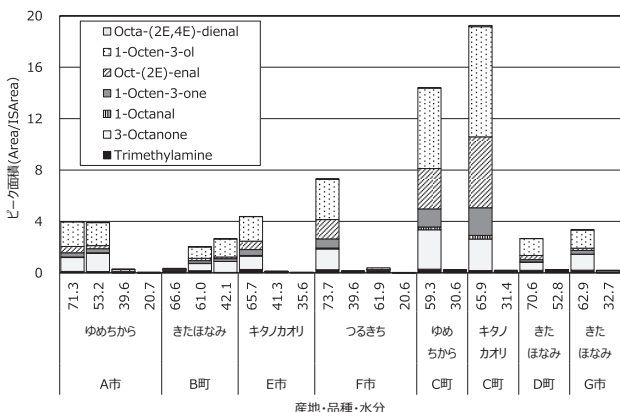


図6 揮発性成分の変化 (2017年度)

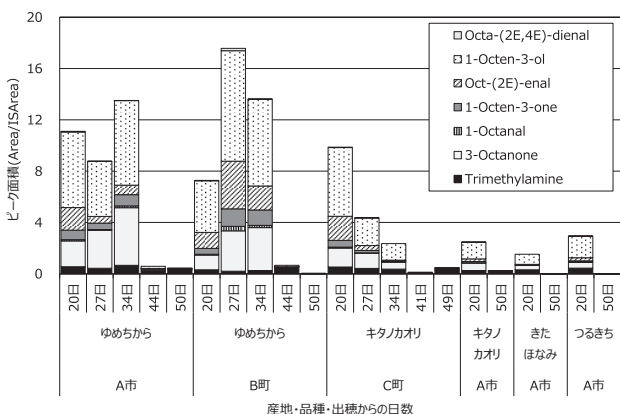


図7 揮発性成分の変化 (2018年度)

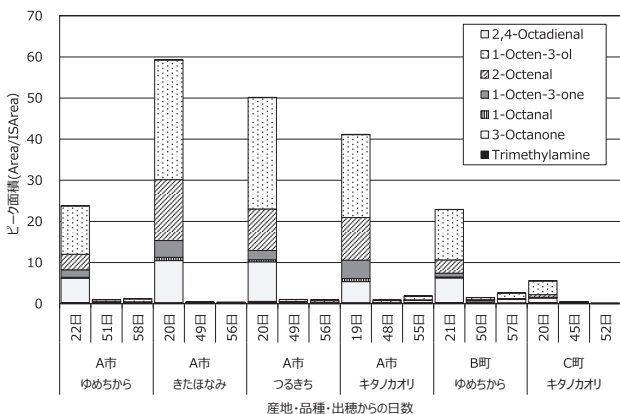


図8 揮発性成分の変化 (2019年度)

表4 モデルに用いた発病粒の臭気指数相当値と健全粒との臭気差異

産地	A市	A市	C町	A市	A市	B町	
品種	ゆめちから	キタノカオリ	キタノカオリ	きたほなみ	つるきち	ゆめちから	
供試発病粒	臭気指数相当値	26	24	21	19	17	12
正解率 (%)	55.6*	55.6*	61.1*	38.9	44.4	38.9	

*はモデルと健全粒との間に臭気差異があることを示す (二項検定, $p < 0.05$) .

このため、発病率の混入比率を変更してモデルを作成し、健全粒との三点比較試験を行い、発病粒の混入比率が小麦全体のおいに与える影響を調べた。発病粒の混入比率0.050%のモデルは正解率が高く、健全粒との臭気差異が有意であることが確認された。一方、同0.017%および0.006%混入モデルは正解率が低く健全粒との有意な差が確認出来なかった (表5)。

カナダでは、輸出用小麦の被害粒 (コムギなまぐさ黒穂病の発病粒を含む被害粒全般) の混入比が0.050%を上限としているが⁸⁾、北海道におけるコムギなまぐさ黒穂病の発病粒は同比で健全粒に混入した場合には、小麦全体のおいに影響を与えるケースがあることが確認された。また、発病粒の混入比が0.017%未満では、健全粒との臭気差異は確認出来なかった。当試験では2019年度に採取した中で最も高い臭気指数当値を持つ発病粒をモデル作成に用いており、発病粒が健全粒に0.017%混入する場合には、健全粒のおいと有意差が認められず、小麦全体のおいに影響を与えないことが示唆された。

要約

発病粒と健全粒の揮発性成分をにおい嗅ぎ付きGC-MSを用いて分析し、異臭の原因となる7成分を特定した。7成分はトリメチルアミンと3-オクタノン等のC8化合物6成分であった。なまぐさ臭の強度は小麦の登熟が進行するとともに減衰した。乳熟期に比較して収穫期では、臭気濃度が約12%に減少した。また、おいの質も異なっていることが示された。乳熟期は、C8化合物の占める割合は高かったが、収穫期に向けて大きく減少する傾向が認められた。一方、トリメチルアミンは乳熟期ごろの割合は低く、その後減少するものの、減少の程度はC8化合物に比較して少ない傾向が認められた。収穫時に発病粒がつぶれ健全粒に混入することを想定したモデルを用いて、発病粒混入率が小麦のおいに与える影響を検討した。発病粒が0.050%混入したモデルは健全粒との臭気差異が確認されたが、同0.017%混入したモデルでは、健全粒との臭気差異は確認できなかった。

本研究は農研機構生研支援センター「革新的技術開発・緊急展開事業 (うち経営体強化プロジェクト)」の支援を受けて実施したものである。

北海道立総合研究機構農業研究本部の小澤徹氏、新村昭憲氏、相馬潤氏には供試試料を栽培し、採取いただいた。株式会社北炭ゼネラルサービスの神田薫氏、松尾篤志氏、職員の皆さんには臭気指数を測定いただいた。記して謝意を表する。

表5 モデルにおける発病粒の混入率が健全粒との臭気差異に与える影響

発病粒の品種 (出穂からの日数) 産地	発病粒の 臭気指数相当値	モデルの 発病粒混入率 (%)	正解率
キタノカオリ (48日) A市	31	0.050	61.1*
		0.017	44.4
		0.006	38.9
ゆめちから (51日) A市	31	0.050	66.7**
		0.017	22.2
		0.006	38.9
キタノカオリ (55日) A市	24	0.050	72.2**
		0.017	44.4
		0.006	44.4

*, **は、モデルと健全粒との間に臭気差異があることを示す（二項検定 * : $p < 0.005$, ** : $p > 0.01$ ）。

文献

- 1) 田中文夫 (2019). 北海道におけるコムギなまぐさ黒穂病防除について. 農薬時代. 200, p12-16
- 2) 新村昭憲ら (2019). *Tilletia controversa*によるコムギなまぐさ黒穂病の発生. 日本植物病理学会報. 85, (1), p85
- 3) 新村昭憲ら (2019). *Tilletia controversa*によるコムギなまぐさ黒穂病の感染条件. 日本植物病理学会報. 85, (1), p85
- 4) 新村昭憲ら (2019). 北海道における秋まきコムギなまぐさ黒穂病に対するフルアジナム水和剤処理の防除効果. 日本植物病理学会報. 85, (1), p85-86
- 5) 北海道農政部 (2020). コムギなまぐさ黒穂病Q&A 第2版.
- 6) 相島鐵郎 (2001). 食品ラボにおける官能評価 (2). 日食工誌. 48, (5), p386-387
- 7) 北海道農産協会 (2022). 北海道の小麦づくり, p40
- 8) Gaudet, D.A. (2013). Seeding date and location affect winter wheat infection by common bunt (*Tilletia tritici* and *T.laevi*) in western Canada. Canadian Journal of Plant Science, 93, (3), p483-489.

引用url

- a) 環境省, 三点比較式臭袋法マニュアル, p1, <https://www.env.go.jp/content/900397475.pdf>
- b) a) 環境省, 三点比較式臭袋法マニュアル, p23-36, <https://www.env.go.jp/content/900397475.pdf>