

論文内容要旨

序論

稲、麦、落花生などの作物は、生育中に、あるいは、収穫後貯蔵中にカビによる侵襲をしばしばうける。近年、それらの糸状菌の産生するカビ毒による食品原料や食品の汚染が、食品衛生や農業生産の上で極めて重要な問題であることが明らかにされている。それらのカビ毒による中毒症は、アフラトキシンなどの様に肝ガン引き起こすことなど種々の障害を引き起こすことが知られている。

日本人の主食である米を安全な食糧として供給することはきわめて重要である。特に、比較的長期間貯蔵される米は、その間のカビ侵害が知られ、時おりカビ毒による汚染例も報告されている。しかしながら、貯蔵米に対する防黴剤の使用はその安全性から問題があり、完全な微生物制御法はまだ確立されていない。したがって、安全な食糧を供給するには、カビ毒汚染穀物を減毒あるいは無毒化することが、天然資源の有効利用の立場からも重要と言える。

米は玄米の形態で利用されることは少なく、通常、搗精（精白）過程で糠区分を除去した後、白米として食され、糠区分も一部は食品原料あるいは家畜の飼料として利用されている。しかしながら、玄米におけるカビとカビ毒の動態、すなわち、玄米粒内部におけるカビ毒の分布や、汚染カビの種類や湿度などの貯蔵環境条件が菌糸の侵入性やカビ毒の分布に与える影響については、これまで知られていない。

一方、糸状菌は細菌に比して増殖が緩慢なこともあり、その中毒症は微量なカビ毒を長期間摂取することによって生じる慢性中毒症、とりわけ発癌が問題となる。最近、新たな発癌性カビ毒も報告されており、未知のカビ毒の検索など生体への影響はの調査は今後も重要であることを示唆している。

以上のことから、本稿では、主として

1. 貯蔵玄米における汚染カビの動態
2. 貯蔵玄米における産生カビ毒の動態
3. カビ汚染米、およびカビ毒の変異原性など動物生体への影響

これらについて検討を行い得られた結果を以下に要約する。

本論

第一部 貯蔵玄米における汚染カビの動態

第1章 貯蔵玄米粒における汚染カビ菌糸の侵入状態

常温倉庫内などでカビによる自然汚染をうけた貯蔵玄米粒の表面や粒へ内部を走査型電顕 (SEM) により観察を行ない、汚染カビの侵入状態を調べた。

更に、貯蔵米の常在的な汚染カビ、5菌種を玄米に接種し、菌の種類や貯蔵湿度条件 (相対湿度85及び90%) による菌の粒内部への侵入性の影響を調べた。なお、玄米粒の縦断断面の模式図をそれぞれFig. 1に示した。

1. 果種皮表面の観察

いずれの試料米においても胚芽部をおおう果種皮表面はくぼみや間隙を有し、そこでは汚染カビの増殖が認められた。特に、接種米においては植物母体との接点になっていた維管束に沿って粒内へ侵入する汚染カビの菌糸が明瞭に観察された (Fig. 2)。これに対して、デンプン胚乳部 (starchy endosperm) を覆うそれは比較的平滑で、汚染カビの明瞭な増殖をみることは少なかった。

2. 米粒内部の観察

イ) 倉庫貯蔵玄米：汚染カビの侵入菌糸は胚芽部 (Fig. 3)、アリューロン層、Fig. 4) 及びそれらに接するデンプン胚乳部に集中して認められた。特に、胚芽と胚乳部とが接する空隙部分には多量の菌糸が存在した (Fig. 5)。侵入菌糸の作用により消化をうけた胚乳組織ではデンプン粒を取り囲んでいたプロテインボディは消失し、分解作用をうけたデンプン粒や胚乳細胞壁が認められた。

ロ) RH 85%における貯蔵米

60—120日間の貯蔵において A. versicolor を除けば、A. restrictus, E. rubrum, A. flavus, P. citrinum のいずれの接種カビも胚芽組織へ侵入し増殖するものの、デンプン胚乳部へはほとんどあるいは全く侵入しなかった (Fig. 6)。特に、P. citrinum の増殖は比較的弱かった。これに対して、A. versicolor はその自然汚染米の場合と同様に、胚乳細胞内へ侵入しデンプン粒やプロテイン

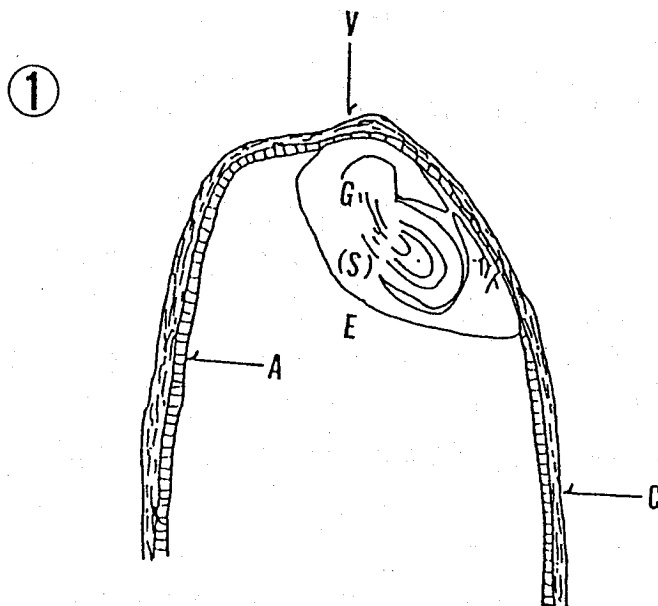
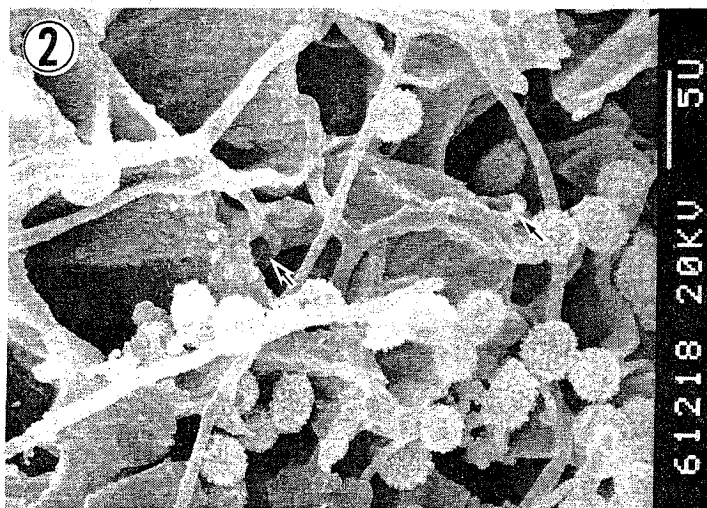
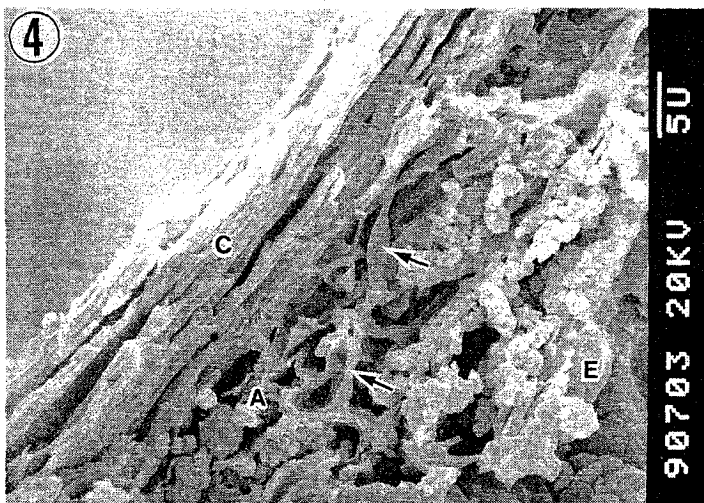
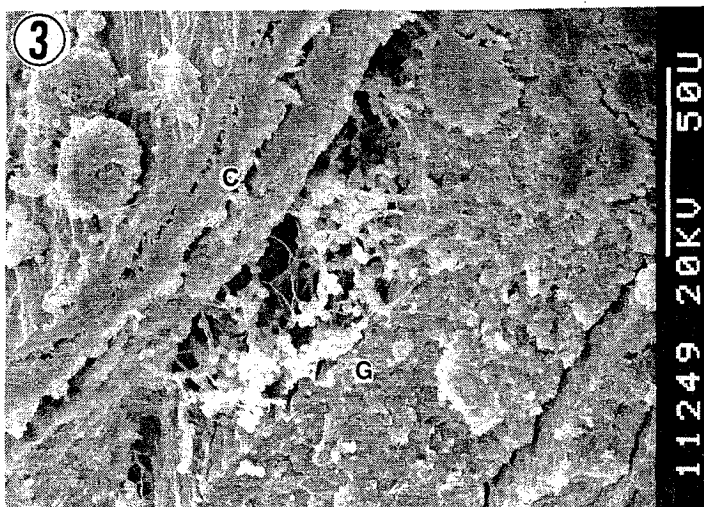


Fig. 1 Diagram of the mid longitudinal section of a brown rice kernel: Endosperm (E), Aleurone layer (A), Germ (G), Scutellum (S), Caryopsis coat (C), and remnants of vascular system (V).



Figs. 2-8 Scanning electron micrographs of warehouse-stored brown rice and experimentally fungus-infected rice kernels.

Fig. 2 Surface of the caryopsis coat covering the germ, showing invading hyphae (arrows) of Aspergillus restrictus into the remnants of the vascular system of the brown rice kernel when kept at 85% RH for 30 days after inoculation.



g. 3 Longitudinally sliced section across the germ of the rice kernel, showing highly sporulating fungus (arrows) in the tissues and cleistothecia (arrow heads) on the caryopsis coat.

g. 4 Transverse section of the kernel, showing abundant invading mycelia (arrows) between the coat and endosperm. The structures of aleurone cells were almost destroyed by them.

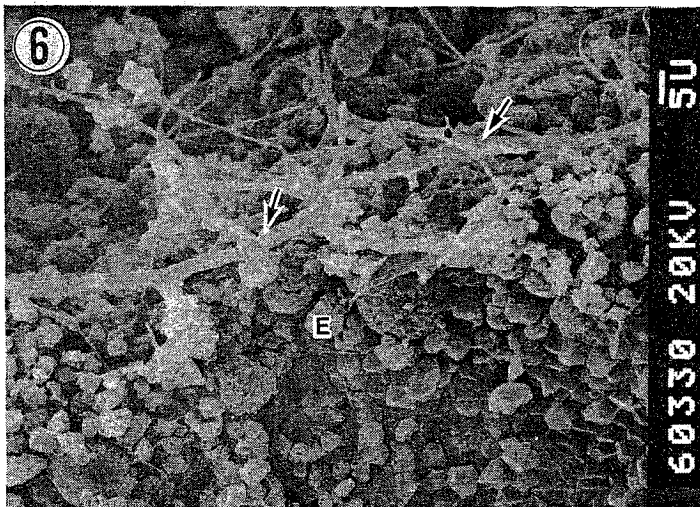
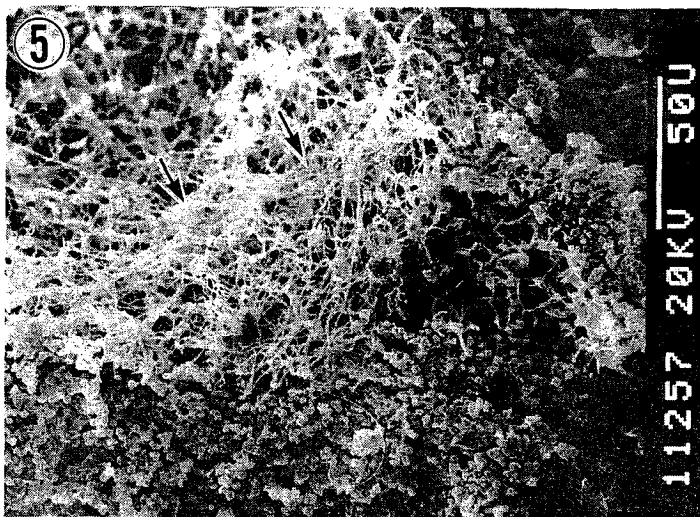


Fig. 5 Longitudinally section across the germ of the rice, showing an abundant mycelial mass (arrows) in the small vacant space between the endosperm and germ.

Fig. 6 Longitudinally section of the brown rice kernel, showing fungal mycelia (arrows) of Eurotium rubrum on the surface of the endosperm proximate to the germ, but none within the endosperm when kept at 85% RH for 70 days.

ボディをも消化した。

ハ) RH 90%における貯蔵米

A. flavus と P. citrinum の接種玄米について 15-60 日の貯蔵試験を行った。この条件下では、いずれの接種菌も活発な増殖を行った。A. flavus は胚芽部からだけでなく、アリューロン層からも胚乳組織へ侵入した。胚乳細胞に沿って侵入した A. flavus の菌糸は細胞相互を離脱させ、プロテインボディやデンプン粒をも消化した (Fig. 7)。これに対して、P. citrinum の侵入菌糸は主に胚芽部、及び果種皮と胚乳部との間の主として表層部に観察され、胚乳組織の内部ではほとんどみられず、さきの A. flavus の侵入パターンとはやや異なった (Fig. 8)。

第2章 糸状菌の産生する玄米組織の分解酵素について

米粒への侵入性が異なるとみられる、カビ毒産生菌の A. flavus, P. citrinum, P. viridicatum, 及び好乾性菌類の A. restrictus および E. rubrum の 5 菌種について、麩培養抽出酵素を用いて植物細胞壁の構成多糖であるキシラン、セルロースおよびペクチン質ならびに米生デンプンの分解活性の検討を行った。いずれの供試株も程度の差はあれ、それらの分解活性を有し、増殖と連動することを示した。好乾性菌類の A. restrictus, E. rubrum はキシラン (Table 1)、ペクチン (Table 2) およびデンプンなどいずれの分解活性も他の 3 株よりも弱かった。更に、玄米の果種皮と胚乳組織の両細胞壁調製物に対する分解活性についても検討を加えたところ (Table 3)、供試株による分解率の差は、果種皮の細胞壁よりもペクチン質に富む胚乳細胞壁の場合に顕著に現れた。すなわち、A. restrictus 等の好乾性菌類の米粒内部に対する侵入性が比較的低いは、ペクチンやキシランなどの植物細胞壁構成多糖に対する分解酵素の活性が弱いことがその一因をなしているものと推定された。

第二部 米粒内部におけるカビ毒の分布状態と摺精によるカビ毒の除去

前述の毒カビ汚染玄米 (倉庫貯蔵米および A. flavus, P. citrinum の RH 85% ならびに 90% 保存米) の粒内部におけるカビ毒の分布を蛍光顕微鏡を用いて観察した。さらに、それらのカビ米を摺精し、白米中にどの程度カビ毒が残留す

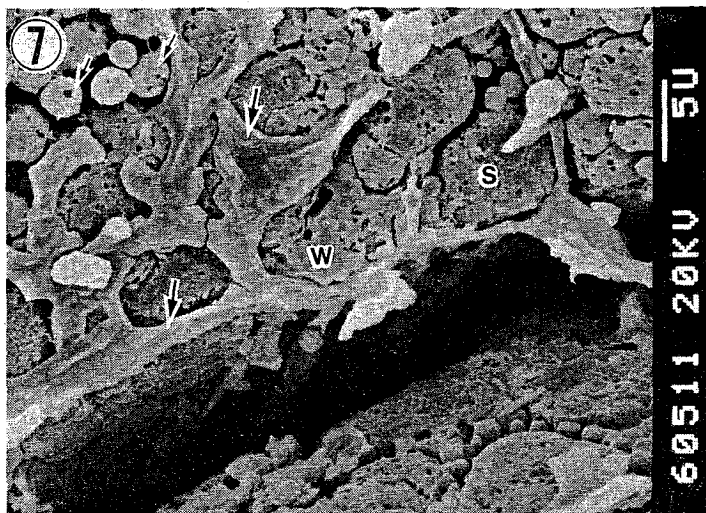


Fig. 7 Longitudinally section of the endosperm of *A. flavus*-infested brown rice kernel when kept at 90% RH for six days, showing invading mycelia (large arrows) along the endosperm cells and partially digested cell walls, starch granules and protein bodies (small arrows) surrounding them. The cells were likely to separate from each other.

Fig. 8 Cross section of *P. citrinum*-infested brown rice kernel when kept under the same conditions described above for 45 days, showing abundant mycelia (arrows) between the caryopsis coat and endosperm, but rare in the major portion of the tissue. Aleurone grains and lipid bodies disappeared in the aleurone.

Abbreviation: V;remnants of vascular system, C;caryopsis coat A;aleurone layer, G;germ, E;endosperm, S;starch granule, W;wall of endosperm cells.

Scales: U indicates μ m.

Table 1 Xylolytic Activity of the Crude Enzyme Preparations Extracted from Wheat Bran Cultures of *A. flavus* R-1, *P. citrinum* NRRL 1843, *P. viridicatum* M-102, *A. restrictus* CR-2 and *E. rubrum* CR-1.

Strain	Specific activity (10 ⁻⁴ unit ^b /mg protein)						
	Culture period (day) ^a						
	1	2	3	4	5	6	8
<i>A. flavus</i>	3.7	4.4	3.4	n.d. ^c	n.d.	n.d.	n.d.
<i>P. citrinum</i>	n.d.	n.d.	9.4	4.1	3.7	n.d.	n.d.
<i>P. viridicatum</i>	n.d.	n.d.	5.1	4.3	5.2	n.d.	n.d.
<i>A. restrictus</i>	n.d.	n.d.	n.d.	1.9	n.d.	2.3	2.6
<i>E. rubrum</i>	n.d.	n.d.	n.d.	0.5	n.d.	0.8	0.2

^a Cultured at 28°C. ^b 1 unit=1 μmol liberated xylose /min.

^c Not determined.

Reaction mixture; xylan = 3mg (1 ml dist. water), 0.1M acetate buffer(pH 4.5) = 4 ml, enzyme solution (10 mg protein)= 2 ml. Incubation for 3 hrs with reciprocal shaking (60 rpm.) at 40°C.

Table 2 Pectin Liquefying Activity of Crude Preparations Extracted from Wheat Bran Cultures of *A. flavus* R-1, *P. citrinum* NRRL 1843, *P. viridicatum* M-102, *A. restrictus* CR-2 and *E. rubrum* CR-1.

Strain	Reduction of viscosity ^a (%)		Pectin transeliminase ^b activity	
	Pectin	Pectic acid	O.D. at 235nm	at 550nm ^c
<i>A. flavus</i>	96.0	30.8	1.88	0.20
<i>P. citrinum</i>	76.0	23.1	1.84	0.18
<i>P. viridicatum</i>	76.0	53.9	1.87	0.20
<i>A. restrictus</i>	24.0	15.4	0.73	0.09
<i>E. rubrum</i>	73.6	7.7	1.01	0.12

^a Reaction mixture; 1% pectin (Pectic acid) solution=3 ml, McIlvaine buffer, pH 5.5 (pH 4.5)=3 ml, enzyme solution (10 mg protein)=1 ml. Incubation for 20 min with reciprocal shaking at 40°C. ^b Reaction mixture; 1% pectin solution=3 ml, McIlvaine buffer (pH 5.5)=2 ml, enzyme solution (15mg protein)=2 ml. Incubation for 3hr with reciprocal shaking at 40°C. ^c By thiobarbitur reaction.

Table 3 Degradative Activity on Cell Wall Preparations by Crude Enzyme Preparations Extracted from Wheat Bran Cultures of *Aspergillus flavus* R-2, *Penicillium citrinum* NRRL 1843, *P. viridicatum* M-102, *A. restrictus* CR-2 and *Eurotium rubrum* CR-1.

Strain	Caryopsis coat ^a cell walls lysis ^b (%)	Endosperm cell walls lysis ^b (%)
<i>A. flavus</i>	24.5	40.5
<i>P. citrinum</i>	45.9	47.6
<i>P. viridicatum</i>	27.0	36.0
<i>A. restrictus</i>	24.0	20.0
<i>E. rubrum</i>	13.0	12.0

^a Consisting of pericarp and seed coat. ^b Liberated sugars were determined as xylose by the phenol-sulfuric acid method and expressed as percentage of the original substrate. Reaction mixture; cell wall=3 mg, 0.2M acetate buffer (pH 5.5)=2 ml, enzyme solution (20 mg protein)=2 ml. Incubation for 5 hr with reciprocal shaking at 40°C.

Table 4 Distribution of Sterigmatocystin in the Milled Rice and Rice Bran plus Polish Fraction at Various Milling Yield Levels.

Milling Yield ^a (%)	Fraction	Weight ^b (g)	Concentration of Sterigmatocystin (ppm)	Distribution of Sterigmatocystin (%)
91.7	Milled rice	9.41	3.0	71.6
	Rice bran	0.85	13.2	28.4
86.9	Milled rice	9.92	2.0	41.3
	Rice bran	1.30	21.8	58.7
69.3	Milled rice	7.41	0.8	12.2
	Rice bran	3.29	12.2	87.8
56.4	Milled rice	5.88	0.6	7.7
	Rice bran	4.54	8.7	92.3

a: Milling yield = (weight of milled rice/weight of brown rice) X 100.

b: Wet basis.

るかについて検討を加えた。

イ) 常温倉庫貯蔵 (A. versicolor自然汚染) 玄米粒におけるステリグマトシスチンの分布

ステリグマトシスチンによる蛍光は、主として米粒の胚芽、アリューロン層ならびにそれらに接するデンプン胚乳部、殊に胚芽部周辺に強く認められた (Fig. 9)。このカビ米を通常の歩留りで搗精すると (91—93%、搗精歩留 (%) = 白米重量 ÷ もとの玄米重量 × 100)、もとのカビ毒の30%近くが糠区分に回収された。歩留りを低下させるにつれ、白米中のステリグマトシスチンの含量も低下したが、完全に除去することはできなかった (Table 4)。

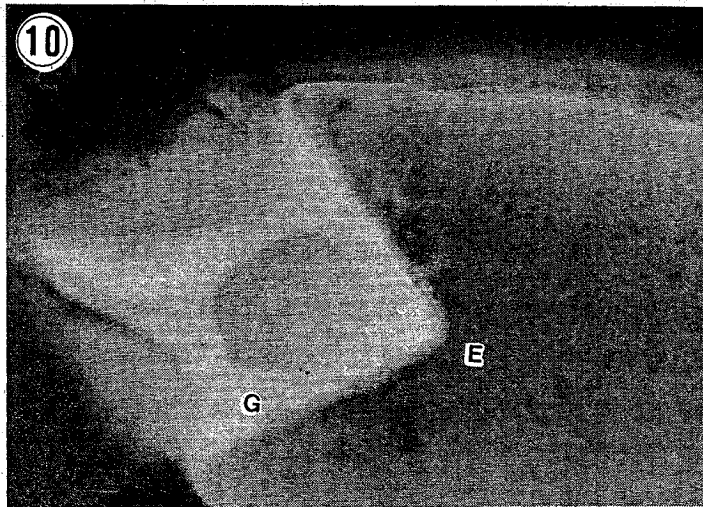
これらの結果は、カビ毒が粒の表層部付近に集中するとの蛍光顕微鏡観察結果や、SEMによる侵入の観察結果と一致した。このことは、ステリグマトシスチンの分布が菌糸の侵入状態と一致することを示している。一方、糠区分におけるこの毒素の濃度はもとの玄米 (3.8—4.3 ppm) の約2—5倍に達した。

ロ) A. flavus および P. citrinum 接種 RH 85% 保存米粒におけるカビ毒の分布

A. flavus 汚染米粒におけるアフラトキシンによる蛍光は、胚芽ならびにアリューロン層に認められたが、デンプン胚乳部ではほとんどあるいは全く観察されなかった (Fig. 10)。このカビ米を搗精して得られた白米において、アフラトキシンは45日間貯蔵の場合には完全に糠区分に除去され検出されなかったが、60日間貯蔵では残存した (Table 5)。一方、P. citrinum 汚染米粒では、この条件下で90日間保存してもシトリニンの蛍光は観察されず、また、化学分析でもこの毒素は検出されなかった。

ハ) A. flavus および P. citrinum 接種 RH 90% 貯蔵米粒におけるカビ毒の分布

A. flavus 汚染米粒でのアフラトキシンによる蛍光は、Fig. 8の汚染米と同様に胚芽、アリューロン層更にはそれらに接する胚乳組織内部でも観察された。このカビ米を搗精時間を一定にして搗精すると、貯蔵期間の経過と共に歩留りの低下がみられ、汚染カビの侵入による胚乳組織の崩壊が進行していることをうかがわせた。この汚染米でも搗精によるカビ毒の完全な除去は困難で、15日間貯蔵の



Figs. 9-11 Fluorescence micrographs of longitudinally sliced section of warehouse-stored and experimentally fungi-infected brown rice kernels across the germ.

Fig. 9 Warehouse-stored rice, showing bright fluorescence due to sterigmatocystin in the surface layer of the kernel, conspicuously in the endosperm around the germ.

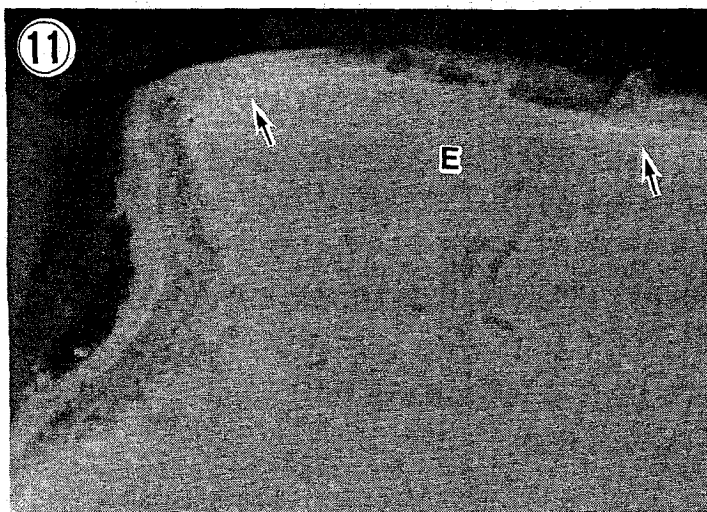


Fig. 10 A. flavus-infected rice kernel when kept at 85% RH and 28° C for 45 days, showing fluorescent glow due to aflatoxin in the germ, but not rare in the endosperm.

Fig. 11 P. citrinum-infected rice kernel when kept at 90% RH and 28° C 45 days, showing fluorescence (arrows) due to citrinin outlining the endosperm.

Table 5 Milling Yield and Content of Aflatoxins in Milled Rice and Rice Bran Plus Polish Fraction Made from Aspergillus flavus-infected Brown Rice Stored at About 85% RH and 28° C.

Incubation Period (Day)	Milling Yield ^a (%)	Fraction	Weight ^b (g)	Concentration of Aflatoxins (ng/g)	
				B1	G1
Stored at 85% RH					
0	0	0
15	91.3	Milled rice	12.6	0	0
		Rice bran	1.2	0	0
30	88.4	Milled rice	12.2	0	0
		Rice bran	1.6	40	100
45	85.4	Milled rice	12.3	0	0
		Rice bran	2.1	240	800
60	83.3	Milled rice	12.0	20	40
		Rice bran	2.2	2,620	5,310

a: Milling for 6min.

b: Wet basis.

場合はもとの玄米中の毒素の約10%が白米中に残留した。これに対して、*P. citrinum*汚染米粒におけるシトリニンの蛍光は、胚芽ならびにアリューロン層付近でみとめられたが (Fig. 11)、胚乳内部では比較的少なかった。この汚染米の貯蔵経過に伴う搗精歩留りの低下はみられなかった。この汚染玄米においても搗精によるカビ毒の完全な除去は困難であった。

第三部 カビ毒における変異原物質の検索とカビ米の生体への影響

第1章 カビ毒における変異原物質の検索

1) Ames testによる検索

アフラトキシンなど21種のカビ毒についてAmes testにより変異原性試験を行い、結果をTable 6に示した。検出微生物としては、TA-100 (塩基置換型感受性)株を、S9はフェノバルビタールにより誘導したものをそれぞれ用いた。

明かに変異原性がみられたのはアフラトキシンB1、G1には明かな、また、B2およびステリグマトシスチンには弱い変異原性が認められ、これまでの報告と一致した。これまで、Ames テストで変異原が報告されていたアフラトキシンG2、麴酸ならびにエポキシ環を有するPRートキシンは (PR-toxin) 今回陰性であった。この他、ニバレノール (nivalenol) を含め他の供試カビ毒も陰性であった。

2) カビ毒の極微弱発光測定

それらのカビ毒について、低波長域 (400-500 nm) に感度特性を有するOX-71を用いた極微弱発光 (chemiluminescence) の測定結果をTable 7に示す。S9はAmes testと同様のものを用いた。対照値の30%を越えて発光がみられたのはアフラトキシン類、ステリグマトシスチン、PRートキシンおよびシクロピアゾン酸であった。特に、アフラトキシンB1では反応開始後11-12分に発光のピークが観察された。シクロピアゾン酸を除けば、それらの毒素は今回、あるいはこれまでAmes test陽性を示したカビ毒であり、極微弱発光とAmes テストの結果はほぼ一致していると言える。トリコテセン系化合物のフザレノン-Xも比較的強い発光が観察された。

これらの結果から、極微弱発光の測定は変異原性測定のスクリーニング法とし

Table 6. Mutagenic activity of mycotoxin in the Salmonella typhimurium assay with TA 100.

Mycotoxin	Revertants/plate ^a	
	10 μ g/plate	100 μ g/plate
Aflatoxin B1 ^b	U.C. ^c (+) ^d	23330 (+)
Aflatoxin G1	312 (+)	9320 (+)
Aflatoxin B2	248 (+)	260 (+)
Aflatoxin G2	191 (-)	177 (-)
Sterigmatocystin	246 (+)	324 (+)
Ochratoxin A	139 (-)	119 (-)
Kojic Acid	134 (-)	110 (-)
Secalonic acid D	136 (-)	129 (-)
Luteoskyrin	147 (-)	102 (-)
Glyseofulvin	110 (-)	102 (-)
PR-toxin	179 (-)	175 (-)
Rubratoxin B	142 (-)	150 (-)
Patulin	89 (-)	95 (-)
Penicillic acid	127 (-)	109 (-)
Citrinin	121 (-)	110 (-)
Cyclopiazonic Acid	110 (-)	131 (-)
Moniliformin	134 (-)	146 (-)
Zearalenone	125 (-)	138 (-)
T-2 toxin	138 (-)	112 (-)
Nivalenol	104 (-)	101 (-)
Fusarenon X	131 (-)	130 (-)
Control	120	

Phenobarbital-induced S9 fraction was used in the reaction mixtures. a: Average of 2 plates. b: 2 μ g and 10 μ g per plate was added in place of 10 μ g and 100 μ g, respectively, in the case of aflatoxin B1. c: uncountable large number. d: + >100% of control, - \leq 100%.

Table 7 Intensity of chemiluminescence of mycotoxin in S9 mix system for 20 min.

Mycotoxin	Incubation time (min)				Total Intensity
	0 - 5	5 - 10	10 - 15	15 - 20	
	Counts(X 10 ⁻²)/5 min				
Aflatoxin B1	567	849	966	882	32,364 (+) ^a
Aflatoxin G1	280	324	364	409	2,454 (+)
Aflatoxin B2	258	297	335	373	1,264 (+)
Aflatoxin G2	246	257	280	312	1,096 (+)
Sterigmatocystin	238	261	291	315	1,106 (+)
Ochratoxin A	236	240	249	251	976 (-)
Kojic acid	223	222	232	233	910 (-)
Secalonic acid D	211	230	237	248	926 (-)
Luteoskyrin	201	231	244	262	939 (-)
Glyseofulvin	229	232	223	258	942 (-)
PR-toxin	270	310	319	354	1,254 (+)
Rubratoxin B	221	230	239	244	934 (-)
Patulin	220	224	243	257	944 (-)
Penicillic acid	205	214	236	242	897 (-)
Citrinin	244	246	239	255	984 (-)
Cyclopiazonic acid	302	375	454	535	1,667 (+)
Moniliformin	236	240	249	251	976 (-)
Zearalenone	252	260	231	220	963 (-)
T-2 toxin	226	236	268	270	998 (-)
Nivalenol	230	237	249	252	968 (-)
Fusarenon X	246	259	279	294	1,077 (±)
Control	211	199	218	209	837

Sixty μ g of the toxin was added with S9 (phenobarbital induced) mix. The intensity of emission was counted with OX-71 which was sensitive to blue green light around 400-500 nm, and shown by 4 consecutive counts for 5min each and a total counts for 20min.

a: + > 30% of control, 30% \leq \pm \leq 20%, - < 20%.

Fig. 28 Chemical structures of selected mycotoxins.

て、用い得ることを示した。

第2章 カビ米の生体への影響

ステリグマトシスチン産生 *A. versicolor* を玄米に接種した後、RH 90%で2カ月間保存してカビ米を得た。それを粉碎後、脂肪酸やビタミン類を添加して調製した餌を24時間絶食させた後のネズミ（BDF1系、C3H/HeおよびICR系）に投与し、その影響をみた。なお、その時のステリグマトシスチンの濃度は約0.6 ppmであった。ネズミはいずれの系でも投与開始後2-3日でこの餌の摂食を忌避した。この餌に、さらに蔗糖を3-5%加え組成を変えて投与したが、同様の結果であった。

第4部 総合的総括

カビ毒汚染玄米粒における毒素の分布は侵入菌糸のそれとほぼ一致した。すなわち、胚芽部周辺を中心とする粒表層部にほぼ局在したが、菌種や保存湿度条件による菌糸の侵入度の差異を反映した。これらのことは、米粒内におけるカビ毒の分布は、菌糸の分布状態に規定されるものと見られる。

それらの汚染米を搗精すると、汚染が極めて軽度な場合には毒素はほぼ完全に糠区分に除去されるものの、重度の場合には完全に取り除くことはできず多少白米中に残留した。他方、糠区分のカビ毒の濃度はもとの玄米の数倍に達した。

カビ毒の中でアフラトキシン B1, G1, B2, ステリグマトシスチンには Ames test で変異原性が認められた。また、それら変異原性のカビ毒などは、ネズミの肝抽出物 (S9) と反応させることにより程度の差はあれ極微弱発光が検出された。

ステリグマトシスチン産生 *A. versicolor* 汚染玄米を主成分として調製した餌をネズミに与えると、数日間で摂食を忌避した。

この様に、糸状菌の産生する代謝産物の中には変異原性をはじめ動物の生体に様々な有害な作用を有するものがある。貯蔵玄米は、通常、白米として食されているが、搗精の過程はカビ毒を除去し、減毒、あるいは無毒化する役割を果たしていることが明かとなった。しかしながら、貯蔵米の微生物制御が完全でない今日、食糧の安全性には十分な注意が必要である。

審査結果の要旨

日本人の主食である米を安全な食糧として供給することはきわめて重要である。特に、比較的長期間貯蔵される米は、その間にカビによる侵襲があり、時おりカビ毒による汚染例も報告されている。米におけるカビとカビ毒の動態、すなわち、米粒内部におけるカビ毒の分布や、汚染カビの種類や湿度などの貯蔵環境条件が菌糸の侵入やカビ毒の分布に与える影響についての知見は意外に少ない。本論文はこの点に着目し、貯蔵中における米の糸状菌による劣化、とくに糸状菌の産生する有毒代謝産物による汚染について検討したものである。本論文は3部からなっている。

第1部では、貯蔵玄米における汚染カビの動態について検討している。すなわち、カビの侵入は、胚芽部周辺を中心とする粒表層部にはほぼ局在しており、菌糸の侵入度の差異は菌種や保存湿度条件によることの実態を明らかにした。

第2部では、貯蔵玄米における産生カビ毒の動態について検討し、カビ毒汚染玄米粒における毒素の分布は、侵入菌糸のそれとほぼ一致しており、米粒内におけるカビ毒の分布は、菌糸の分布状態に規定されることを示した。また、それらの汚染米を搗精しても、汚染が重度の場合には、完全に取り除くことはできず、多少白米中に残留することを示すとともに、糠区分のカビ毒の濃度はもとの玄米の数倍に達していることを明らかにした。

第3部ではカビ汚染米、およびカビ毒の変異原性などの動物生体への影響について検討を行った。カビ毒の中でアフラトキシン-B₁, G₁, B₂, ステリグマトシスチンにはAmes testで変異原性が認められたが、これら変異原性のカビ毒などは、ネズミの肝抽出物(S-9 mix)と反応させることにより、程度の差はあれ極微弱発光が検出されることを明らかにした。また、ステリグマトシスチン産生 *A. versicolor* 汚染玄米を主成分として調整した餌をラットに与え、動物への影響を検討したが、数日後にはラットはこの摂食を忌避するようになり、飢餓状態になっても摂食せず、その影響を観察することは出来なかった。ラットでは忌避作用が見られるのに、人間のばあい、アフラトキシンの場合のように、カビ毒にたいして忌避反応が起こらず、結果的に発癌につながっていることを考えると、毒性試験の重要性を示唆しているといえよう。

本論文は、カビの米への侵害の実態を示し、そのカビ毒の分布やカビ毒の作用や特性などを明らかにし、食品衛生のみならず栄養学の領域で新しい知見を提出し、貢献するところが多い。よって著者は博士(農学)の学位を授与されるに充分の資格があると判定した。