

# 1 とうもろこしサイレージ及び稲発酵粗飼料中のフモニシンの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による分析法の開発

長久保 眞平\*<sup>1</sup>, 山上 陽平\*<sup>2,3</sup>

## Development of Fumonisin Determination Method in Corn Silage and Whole-Crop Rice Silage by LC-MS/MS

NAGAKUBO Shinpei\*<sup>1</sup> and YAMAGAMI Yohei\*<sup>2,3</sup>

(\*<sup>1</sup> Fertilizer and Feed Inspection Department, Food and agricultural Materials Inspection Center (FAMIC) (Now Fukuoka Regional Center, FAMIC),

\*<sup>2</sup> Fertilizer and Feed Inspection Department, FAMIC,

\*<sup>3</sup> Institute of Food Research, National Agriculture and Food Research Organization)

We have developed a quantitative determination method of fumonisin concentration in corn silage and whole-crop rice silage (WCRS) using a liquid-chromatograph electrospray-ionization tandem mass spectrometer (LC-ESI-MS/MS).

Fumonisin was extracted with methanol-water (3:1), and the extracted solution was filtered. The filtrate was then purified with a solid phase extraction column (Oasis MAX, Waters Co.; Milford, MA, USA), and injected into an LC-MS/MS to determine the fumonisin concentration. LC separation was then carried out on an ODS metal-free PEEK column (InertSustain C18, 2.1 mm i.d. × 150 mm, 3 µm, GL Sciences Inc.; Tokyo, Japan) with a gradient of 0.1 % formic acid aqueous solution and 0.1 % formic acid acetonitrile solution as a mobile phase. In the MS/MS analysis, the positive mode electrospray ionization (ESI+) was used.

Recovery tests were conducted on corn silage and WCRS. Corn silage and WCRS was added with 3.111 mg/kg of fumonisin B<sub>1</sub>, 1.111 mg/kg of fumonisin B<sub>2</sub> and 0.267 mg/kg of fumonisin B<sub>3</sub> respectively. The resulting mean recoveries ranged from 64.7 % to 66.2 % for fumonisin B<sub>1</sub>, 58.0 % to 65.8 % for fumonisin B<sub>2</sub> and 61.8 % to 67.0 % for fumonisin B<sub>3</sub>. The repeatability in the form of the relative standard deviation (RSD<sub>r</sub>) was less than 4.5 % for fumonisin B<sub>1</sub>, less than 2.5 % for fumonisin B<sub>2</sub> and less than 2.2 % for fumonisin B<sub>3</sub>. This method was considered in need of improvement, because the mean recoveries were out of target.

Key words: fumonisin; liquid-chromatograph tandem mass spectrometer (LC-MS/MS); electrospray ionization (ESI); corn silage; whole-crop rice silage

キーワード：フモニシン；液体クロマトグラフタンデム型質量分析計；エレクトロスプレーイオン化法；とうもろこしサイレージ；稲発酵粗飼料

## 1 緒 言

フモニシンは *Fusarium* 属の菌から産生されるかび毒である。フモニシンはウマの白質脳症、ブタの肺水腫、ヒトの新生児神経管障害の原因物質とされており、ヒトの食道癌との関係も示唆されている<sup>1)</sup>。今までにフモニシンは、A 群、B 群、C 群及び P 群の構造が決定されているが、その中

\*<sup>1</sup> 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部、現 福岡センター

\*<sup>2</sup> 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

\*<sup>3</sup> 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構食品研究部門

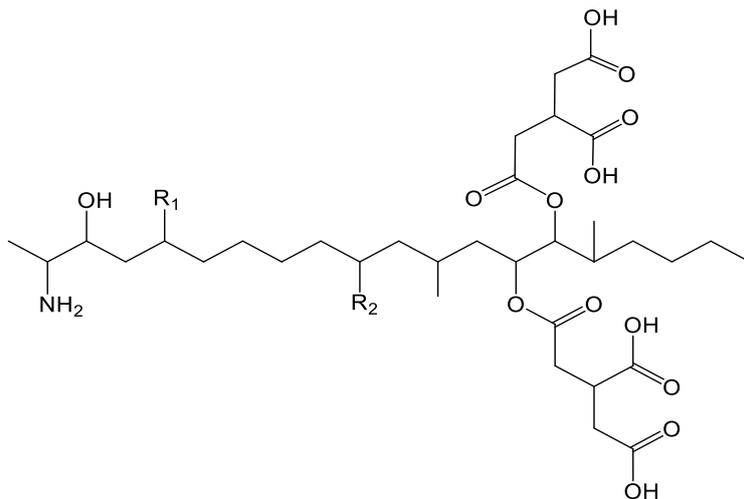
でも、フモニシン B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> 及び B<sub>3</sub> は自然汚染の報告事例が多い<sup>1)</sup>。

飼料自給率の向上は食料自給率向上の重点的な施策として位置づけられ、サイレージを含む粗飼料の増産対策が積極的に行われている<sup>2)</sup>。これら国産のサイレージからはフモニシンを含むかび毒が検出される事例<sup>3)</sup>があり、サイレージ等のかび毒のリスク管理を進める上で、サイレージ等中のかび毒の分析法の整備が急務となっている。

飼料中のフモニシン B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> 及び B<sub>3</sub> の分析法は、飼料分析基準<sup>4)</sup>において液体クロマトグラフ質量分析計による同時分析法が収載されているが、サイレージは対象としておらず、サイレージ中のかび毒の汚染実態が確認できない状況である。

そこで、今回、一般財団法人日本食品分析センターが「平成 25 年度飼料中の有害物質等の含有実態調査事業（重金属、かび毒）報告書」において使用したサイレージ中のフモニシンの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計（以下「LC-MS/MS」という。）による同時定量法<sup>5)</sup>（以下「JFRL 法」という。）について、とうもろこしサイレージ及び稲発酵粗飼料（以下「WCRS」という。）を対象に飼料分析基準への収載の可否を検討したので、その概要を報告する。

参考にフモニシンの構造式等を Fig. 1 に示した。



	Chemical formula	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Molecular formula	MW	CAS
Fumonisin B <sub>1</sub>	(2 <i>S</i> ,2' <i>S</i> )-2,2'-{[(5 <i>S</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> ,9 <i>R</i> ,11 <i>S</i> ,16 <i>R</i> ,18 <i>S</i> ,19 <i>S</i> )-19-amino-11,16,18-trihydroxy-5,9-dimethyl-icosane-6,7-diyl]bis[oxy(2-oxoethane-2,1-diyl)]}disuccinic acid	OH	OH	C <sub>34</sub> H <sub>59</sub> NO <sub>15</sub>	721.83	1136355-83-0
Fumonisin B <sub>2</sub>	(2 <i>R</i> ,2' <i>R</i> )-2,2'-{[(5 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>S</i> ,9 <i>S</i> ,16 <i>R</i> ,18 <i>S</i> ,19 <i>S</i> )-19-amino-16,18-dihydroxy-5,9-dimethyl-icosane-6,7-diyl]bis[oxy(2-oxoethane-2,1-diyl)]}disuccinic acid	OH	H	C <sub>34</sub> H <sub>59</sub> NO <sub>14</sub>	705.83	116355-84-1
Fumonisin B <sub>3</sub>	2- [ [ (5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>S</i> ,9 <i>S</i> ,11 <i>R</i> ,18 <i>R</i> ,19 <i>S</i> )-19-amino-6- (3,4-dicarboxybutanoyloxy)-11,18-dihydroxy-5,9-dimethyl-icosan-7-yl]oxycarbonylmethyl]butanedioic acid	H	OH	C <sub>34</sub> H <sub>59</sub> NO <sub>14</sub>	705.83	116379-59-4

Fig. 1 Chemical structures of fumonisins

## 2 実験方法

### 2.1 試料

とうもろこしサイレージ及び WCRS は 60 °C で 24 時間乾燥後，更に室内に静置して風乾した後，目開き 1 mm のスクリーンを装着した粉碎機で粉碎し，分析用試料とした。

### 2.2 試薬

1) アセトニトリル，ギ酸及びメタノールは LC-MS 用（富士フイルム和光純薬製）を用いた。アンモニア水は試薬特級（質量分率 28 %）を用いた。水は Milli-Q Advantage（Merck Millipore 製）により精製した超純水（JIS K 0211 の 5218 に定義された超純水）を用いた。

#### 2) フモニシン B<sub>1</sub> 標準原液

フモニシン B<sub>1</sub> 標準品（Sigma-Aldrich 製，純度 98.00 %）5 mg を量って 25 mL の全量フラスコに入れ，アセトニトリル-水（1+1）を加えて溶かし，更に標線までアセトニトリル-水（1+1）を加えてフモニシン B<sub>1</sub> 標準原液を調製した（この液 1 mL は，フモニシン B<sub>1</sub> として 200 µg を含有）。

3) フモニシン B<sub>2</sub> 標準原液

フモニシン B<sub>2</sub> 標準品 (Sigma-Aldrich 製, 純度 96 %) 1 mg を量って 10 mL の全量フラスコに入れ, アセトニトリル-水 (1+1) を加えて溶かし, 更に標線までアセトニトリル-水 (1+1) を加えてフモニシン B<sub>2</sub> 標準原液を調製した (この液 1 mL は, フモニシン B<sub>2</sub> として 100 µg を含有) .

4) フモニシン B<sub>3</sub> 標準原液

フモニシン B<sub>3</sub> 標準品 (Trilogy 製, 純度 98.0 %) のドライアップ製品に, 指定された量のアセトニトリル-水 (1+1) を加えて溶かし, フモニシン B<sub>3</sub> 標準原液を調製した (この液 1 mL は, フモニシン B<sub>3</sub> として 100 µg を含有) .

## 5) 混合標準液

フモニシン B<sub>1</sub> 標準原液 50 µL, フモニシン B<sub>2</sub> 標準原液及びフモニシン B<sub>3</sub> 標準原液各 100 µL を 20 mL の全量フラスコに入れて混合し, 更に標線までアセトニトリル-水 (1+1) を加えて混合標準原液を調製した (この液 1 mL は, 各フモニシンとして各 500 ng を含有) .

使用に際して, 混合標準原液の一部をアセトニトリル-水 (1+1) で正確に希釈し, 1 mL 中に各フモニシンとして 1, 2, 4, 6, 8, 10, 20, 40, 60, 80 及び 100 ng を含有する混合標準液を調製した.

## 2.3 装置及び器具

- 1) 粉砕機 : ZM 200 Retsch 製 (1 mm スクリーン, 使用時回転数 14000 rpm)
- 2) 振り混ぜ機 : レシプロシェーカー SR-2DW タイテック製 (使用時振動数 300 rpm)
- 3) 4 級アンモニウム塩修飾ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム (以下「ミニカラム」という.) : Oasis MAX (充てん剤量 500 mg, リザーバー容量 6 mL) Waters 製
- 4) メンブランフィルター : 13HP045AN (孔径 0.45 µm, 直径 13 mm, 親水性 PTFE) 東洋濾紙製
- 5) LC-MS/MS :  
LC 部 : Nexera XS 島津製作所製  
MS/MS 部 : LCMS-8050 島津製作所製

## 2.4 定量方法

## 1) 抽出

分析試料 20 g を量って 500 mL の共栓三角フラスコに入れ, メタノール-水 (3+1) 200 mL を加え, 30 分間振り混ぜて抽出し, 抽出液をろ紙 (5 種 A) を用いてろ過し, カラム処理に供する試料溶液とした.

## 2) カラム処理

ミニカラムをメタノール 5 mL 及び水 5 mL で洗浄した. 試料溶液 1 mL をあらかじめアンモニア水 (1+19) 3 mL を入れたミニカラムに正確に加えて混和し, 液面が充てん剤の上端に達するまで流下 (必要に応じて流速が 1 mL/min 程度になるよう吸引した. 以下同様.) した. ミニカラムをメタノール 5 mL ずつで 2 回洗浄し, 50 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き, ギ酸-メタノール (1+49) 5 mL をミニカラムに加えて各フモニシンを溶出させた.

溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後, 窒素ガスを送って乾固

した。アセトニトリル-水 (1+1) 8 mL を正確に加えて残留物を溶かし、メンブランフィルターでろ過し、LC-MS/MS による測定に供する試料溶液とした。

### 3) LC-MS/MS による測定

試料溶液及び混合標準液各 5  $\mu$ L を LC-MS/MS に注入し、選択反応検出 (以下「SRM」という。) クロマトグラムを得た。測定条件を Table 1 及び 2 に示した。

Table 1 Operating conditions of LC-MS/MS

Column	InertSustain C18 metal-free PEEK column (2.1 mm i.d. $\times$ 150 mm, 3 $\mu$ m), GL Sciences
Mobile phase	0.1 v/v% formic acid aqueous solution – 0.1 v/v% formic acid acetonitrile solution (7:3) → 15 min → (1:9) (hold for 5 min) → 2 min → (7:3) (hold for 3 min)
Flow rate	0.2 mL/min
Column temperature	40 °C
Detector	Quadrupole mass spectrometer
Ionization	Electrospray ionization (ESI) (Positive ion mode)
Nebulizer gas	Air (2.5 L/min)
Drying gas	N <sub>2</sub> (5 L/min)
Interface temperature	250 °C
Heat block temperature	500 °C
Desolvation line temperature	150 °C
Collision gas	Ar (270 kPa)

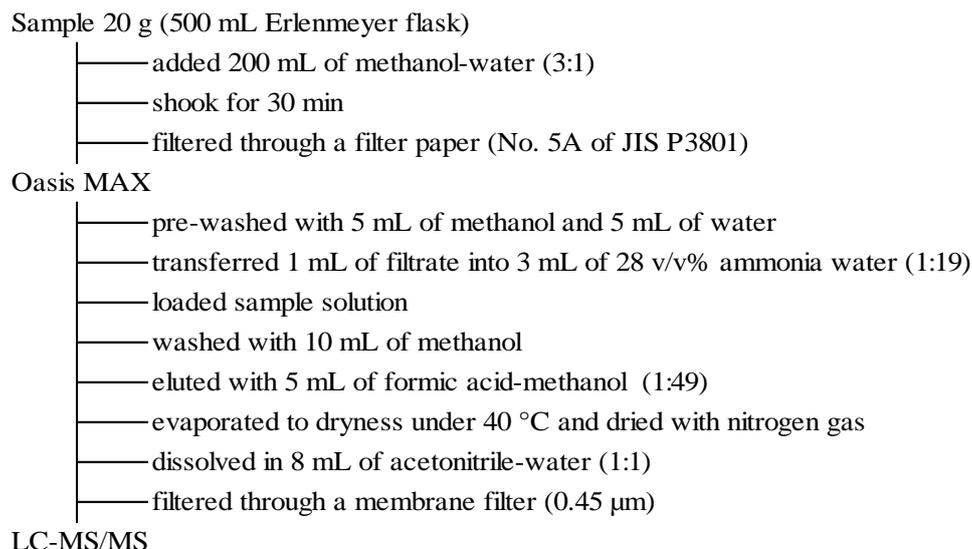
Table 2 MS/MS parameters

Target	Precursor ion ( <i>m/z</i> )	Product ion		Collision energy (eV)
		Quantifier ( <i>m/z</i> )	Qualifier ( <i>m/z</i> )	
Fumonisin B <sub>1</sub>	723	352	—	36
		—	334	42
Fumonisin B <sub>2</sub>	707	336	—	37
		—	318	40
Fumonisin B <sub>3</sub>	707	336	—	39
		—	318	39

### 4) 計 算

得られた SRM クロマトグラムからピーク面積又は高さを求めて検量線を作成し、試料中の各フモニシン量を算出した。なお、3.7 はピーク面積での結果を記載した。

なお、定量法の概要を Scheme 1 に示した。



Scheme 1 Analytical procedure for fumonisins in corn silage and whole-crop rice silage (WCRS)

## 2.5 標準添加法による汚染試料の定量方法

自然汚染が認められた試料については、必要に応じて標準添加法により定量値を求めた。各フモニシン標準液を添加した試料及び無添加試料について、2.4に従って得られたSRMクロマトグラムからピーク面積を求め、ピーク面積及び添加濃度（無添加試料については0 mg/kg）を用いて検量線を作成し、検量線を外挿した添加濃度の軸の負の切片から定量値を算出した。

## 2.6 添加回収試験

2.2の2)~4)の各標準原液をアセトニトリル-水（1+1）で正確に希釈し添加に用いた。

とうもろこしサイレージ及びWCRSについて、原物換算して、フモニシンB<sub>1</sub>として3.111 mg/kg相当量（最終試料溶液中で87.5 ng/mL）、フモニシンB<sub>2</sub>として1.111 mg/kg相当量（同31.25 ng/mL）、フモニシンB<sub>3</sub>として0.267 mg/kg相当量（同7.5 ng/mL）をそれぞれ添加後よく混合し、一夜静置した後に2.4に従って定量し、平均回収率及び繰返し精度を求めた。回収率は各試料のブランク値を差し引いて算出した。

なお、添加濃度は風乾物試料に対して、フモニシンB<sub>1</sub>として7 mg/kg相当量、フモニシンB<sub>2</sub>として2.5 mg/kg相当量、フモニシンB<sub>3</sub>として0.6 mg/kg相当量であり、原物中濃度への換算は、原物中及び風乾物中の水分含有量を60%及び10%と想定して、原物（水分含有量60%）中濃度＝風乾物（水分含有量10%）中濃度／2.25の式により行った。

## 3 結果及び考察

### 3.1 抽出溶媒量の検討

JFRL法と同様に、分析試料20 gにメタノール-水（3+1）100 mLを加えたところ、抽出溶媒を吸収し十分に振り混ぜられない試料があった。そのため、抽出溶媒量は200 mLとし、抽出容器は500 mLの三角フラスコを用いることとした。

なお、3.5以降の検討は試料採取量及び抽出溶媒量を半量にし、抽出容器を200 mL三角フラスコに変更して実施した。

### 3.2 精製方法の検討

JFRL 法と同様に抽出液を 1650×g で遠心分離したところ、試料が十分に沈殿せず、上澄み液の採取が困難な試料があったため、ろ紙を用いてろ過することとした。また、最終溶液をメンブランフィルターに通過させることとした。

### 3.3 ピーク形状の確認

2.2 の 5)により調製した混合標準液各 5 μL を LC-MS/MS に注入し、InertSustain C18 を用いて得られた SRM クロマトグラムを確認したところ、全成分にテーリングが見られ、流路及びカラムの洗浄を行ったが、ピーク形状は改善されなかった。そこで、InertSustain C18 メタルフリー PEEK カラムに変更したところピーク形状が改善されたため、以後の検討はこのカラムを使用することとした。

参考として、得られたクロマトグラム例を Fig. 2-1 及び Fig. 2-2 に示した。

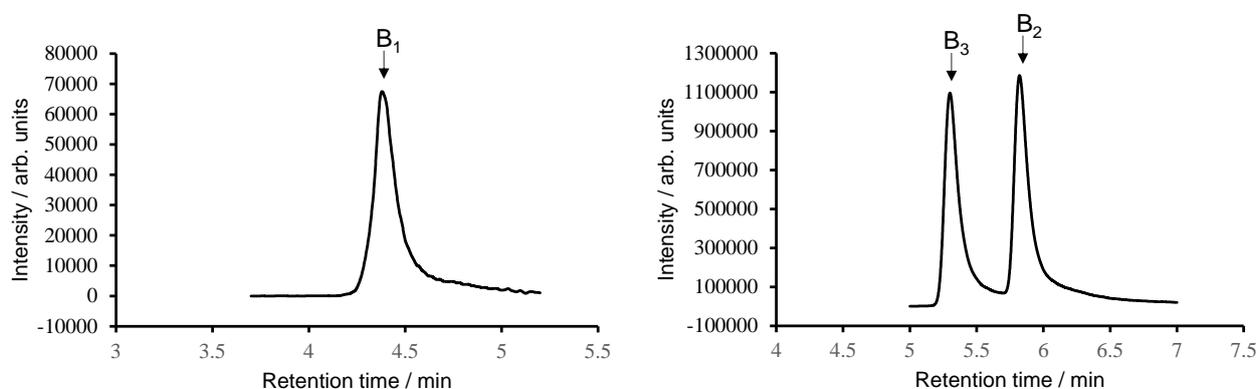


Fig. 2-1 Selected reaction monitoring (SRM) chromatogram using InertSustain C18 column

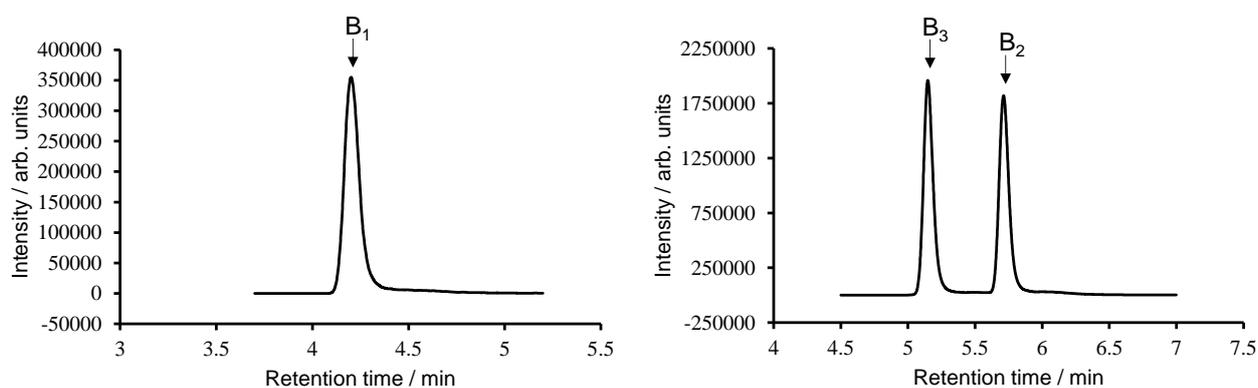


Fig. 2-2 SRM chromatogram using InertSustain C18 metal-free PEEK column

### 3.4 検量線

2.2 の 5)により調製した混合標準液各 5 μL を LC-MS/MS に注入し、得られた SRM クロマトグラムからピーク面積及び高さを用いて検量線を作成した。

得られた検量線の一例は Fig. 3-1, Fig. 3-2 及び Fig. 3-3 のとおりであり、各 1~100 ng/mL (注入量として 0.005~0.5 ng 相当量) の範囲で直線性を示した。なお、当該検量線の濃度範囲は、各フモニシンを 0.08~8 mg/kg 含有する分析用試料を本法に従い調製した最終試料溶液中の各フモニ

シン濃度範囲に相当する。

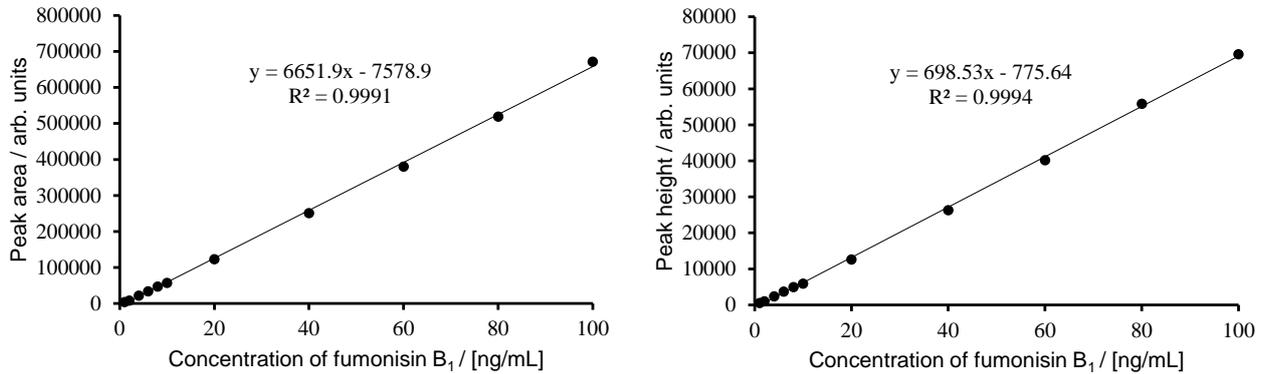


Fig. 3-1 Calibration curves of fumonisin B<sub>1</sub> by peak area (left) and peak height (right)

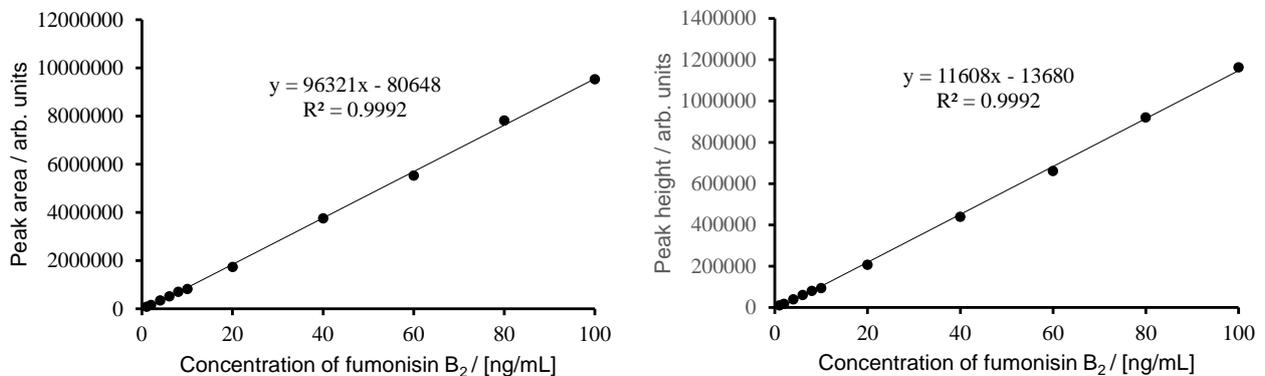


Fig. 3-2 Calibration curves of fumonisin B<sub>2</sub> by peak area (left) and peak height (right)

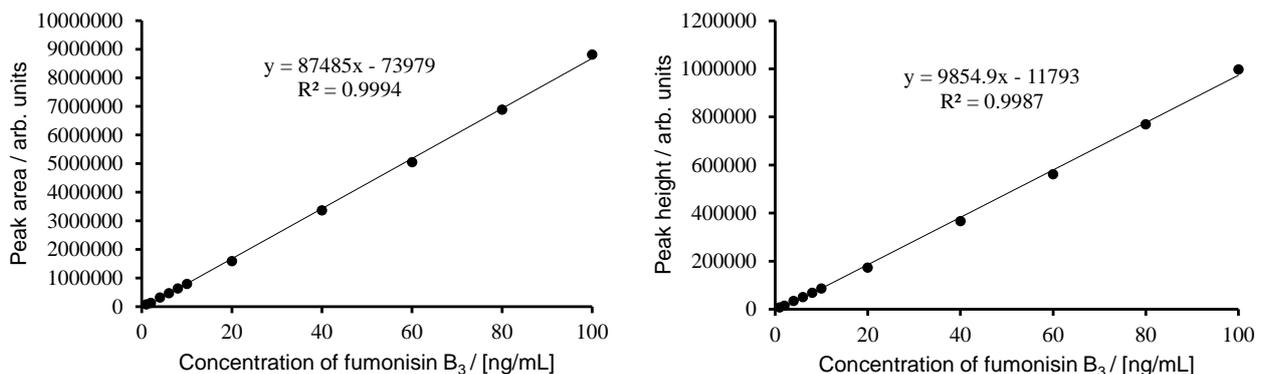


Fig. 3-3 Calibration curves of fumonisin B<sub>3</sub> by peak area (left) and peak height (right)

### 3.5 妨害物質の検討

とうもろこしサイレージ 2 検体及び WCRS 2 検体を用い、本法により調製した試料溶液を LC-MS/MS に注入し、得られた SRM クロマトグラムを確認した結果、定量を妨げるピークは認められなかった。

なお、とうもろこしサイレージは各フモニシンと同じ保持時間に、WCRS はフモニシン B<sub>2</sub> と同じ保持時間にピークが認められた。これらのピークについて、定量イオンと確認イオンの比を

確認したところ、標準液と同等であったことからフモニシンであると判断した。

本検討により得られた SRM クロマトグラムの一例を Fig. 4 に示した。

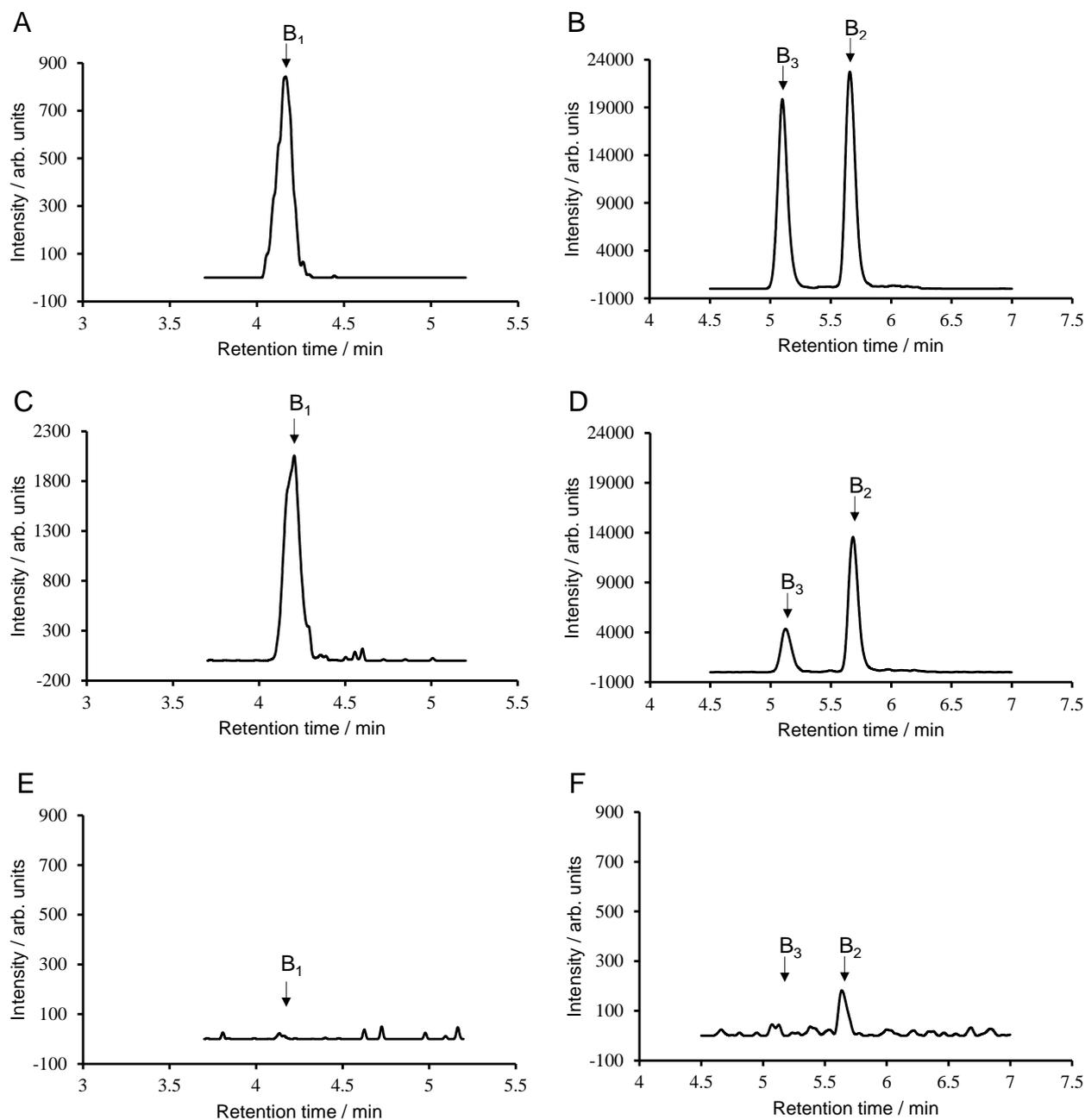


Fig. 4 Typical SRM chromatograms of fumonisins in standard and blank sample solutions

(LC-MS/MS conditions are shown in Tables 1 and 2. Arrows indicate the peaks of

B<sub>1</sub>: fumonisin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>: fumonisin B<sub>2</sub> and B<sub>3</sub>: fumonisin B<sub>3</sub>.)

A, B: Standard solution (1 ng/mL: 5 pg as fumonisins)

C, D: Sample solution of corn silage

E, F: Sample solution of WCRS

### 3.6 マトリックス効果の確認

2.4 の 1)~2)により調製したとうもろこしサイレージ及び WCRS のブランク試料溶液に各フモニシンとして 6.4 mg/kg 相当量（最終試料溶液中で 80 ng/mL 相当量）を添加したマトリックス標準液について、2.2 の 2)及び 3)に従って調製した同濃度の各かび毒標準液に対するピーク面積比を確認したところ、Table 3 のとおり、試料マトリックスの測定値への顕著な影響は認められなかった。なお、各マトリックス標準液のピーク面積は各試料ブランクの平均ピーク面積を差し引いて算出した。

Table 3 Matrix effect study

Mycotoxin	Samples	Concentration of mycotoxins		Matrix effect <sup>b)</sup> (%)
		Matrix standard solution (ng/mL)	Sample <sup>a)</sup> (mg/kg air-dry matter)	
Fumonisin B <sub>1</sub>	Corn silage	80	6.4	112
	WCRS	80	6.4	116
Fumonisin B <sub>2</sub>	Corn silage	80	6.4	107
	WCRS	80	6.4	103
Fumonisin B <sub>3</sub>	Corn silage	80	6.4	102
	WCRS	80	6.4	100

$n = 3$

a) Converted from the concentration in matrix standard solution

b) Ratio of peak area of fumonisins in the presence of matrix to that in the absence of matrix

### 3.7 添加回収試験

2.6 により添加回収試験を実施した。その結果は Table 4 のとおり、フモニシン B<sub>1</sub> については平均回収率は 64.7 及び 66.2 %，その繰返し精度は相対標準偏差（RSD<sub>r</sub>）として 4.2 %以下，フモニシン B<sub>2</sub> については平均回収率は 58.0 及び 65.8 %，RSD<sub>r</sub>は 2.5 %以下，フモニシン B<sub>3</sub> については平均回収率は 61.8 及び 67.0 %，RSD<sub>r</sub>は 2.2 %以下の成績が得られ，飼料分析基準別紙 2 の試験法の妥当性確認ガイドライン<sup>5)</sup>（以下「妥当性確認ガイドライン」という。）に定められた目標値（真度：70 %以上 120 %以下，精度：3.111 及び 1.111 mg/kg では 16 %以下，0.267 mg/kg では 22 %以下）のうち真度の目標値を満たせず，分析法の改良が必要であると考えられた。なお，得られた SRM クロマトグラムの一例を Fig. 5 に示した。

Table 4 Recoveries for fumonisins

Mycotoxin	Spiked level (mg/kg original matter) <sup>a)</sup>	Corn silage			WCRS		
		Natural contamination <sup>b)</sup> (mg/kg)	Recovery <sup>c)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>d)</sup> (%)	Natural contamination <sup>b)</sup> (mg/kg)	Recovery <sup>c)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>d)</sup> (%)
Fumonisin B <sub>1</sub>	3.111	0.438	64.7	1.2	ND	66.2	4.2
Fumonisin B <sub>2</sub>	1.111	0.0671	65.8	2.5	0.141	58.0	0.68
Fumonisin B <sub>3</sub>	0.267	0.0215	67.0	2.2	ND	61.8	1.4

a) The mycotoxins were spiked to air-dried samples one night prior to extraction. The spiked levels were 7 mg/kg as air-dry basis for fumonisin B<sub>1</sub>, 2.5 mg/kg as air-dry basis for fumonisin B<sub>2</sub> and 0.6 mg/kg as air-dry basis for fumonisin B<sub>3</sub>, respectively. The levels of mycotoxins as fed basis were calculated with following equation on the assumption that the moisture content of samples was 60 % for fed basis and 10 % for air-dry basis.

The levels of mycotoxins as fed basis (moisture 60 %)

= the levels of mycotoxins as air-dry basis (moisture 10 %) / 2.25

b) Natural contamination was measured in standard addition method when it was higher than one tenth of spiked level. Natural contamination was measured in mean of the five samples, when it was lower than one tenth of spiked level.

c) (mean of the five samples – natural contamination) / spiked level × 100

d) Relative standard deviation of repeatability

ND: Not detected

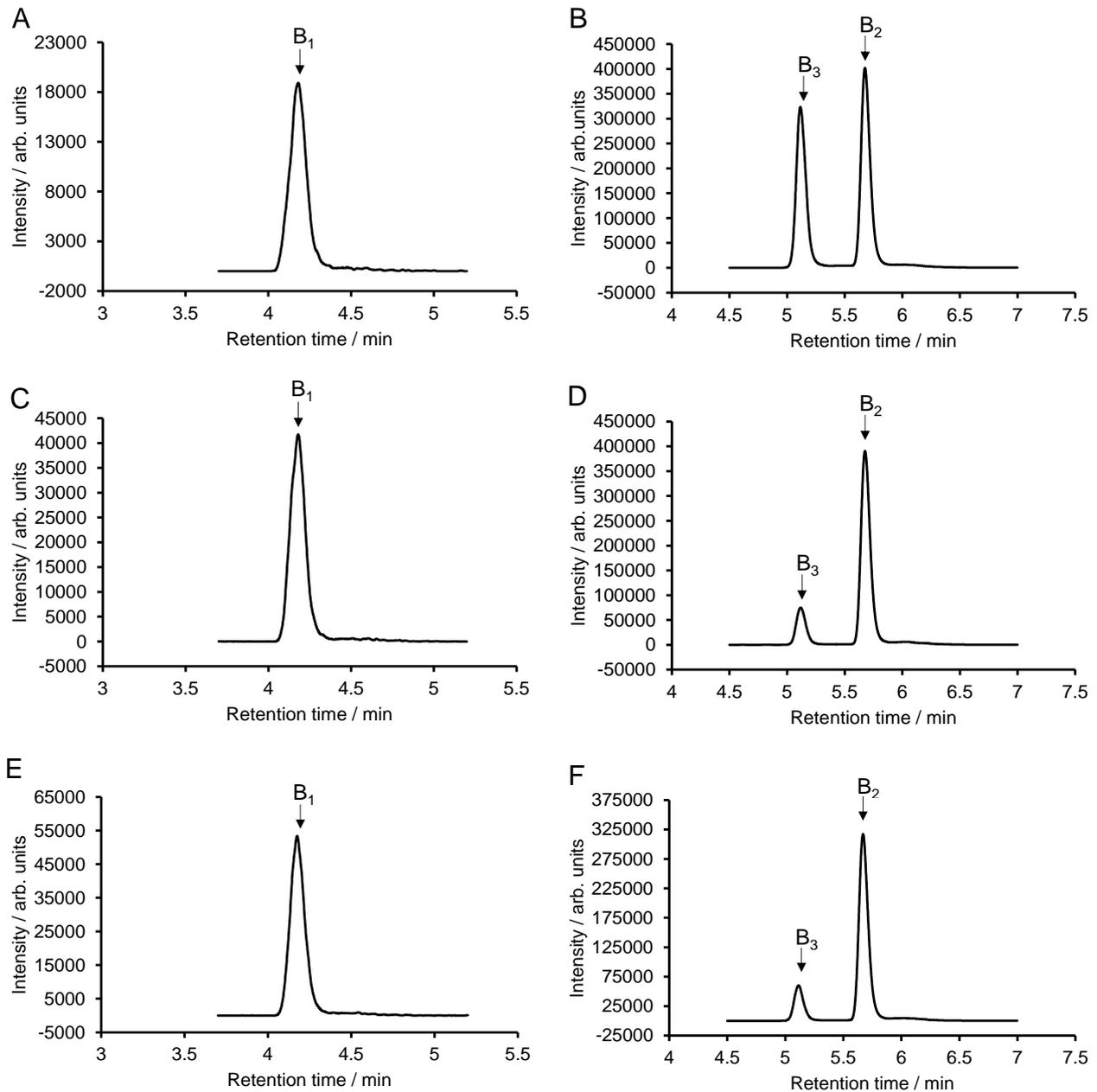


Fig. 5 Typical SRM chromatograms of fumonisins in standard and spiked sample solutions (LC-MS/MS conditions are shown in Tables 1 and 2. Arrows indicate the peaks of B<sub>1</sub>: fumonisin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>: fumonisin B<sub>2</sub> and B<sub>3</sub>: fumonisin B<sub>3</sub>.)

A, B: Standard solution (25 ng/mL: 125 pg as fumonisins)

C, D: Sample solution of corn silage (spiked at 3.111 mg/kg as fed basis of fumonisin B<sub>1</sub> (as 87.5 ng/mL in sample solution), 1.111 mg/kg as fed basis of fumonisin B<sub>2</sub> (as 31.25 ng/mL in sample solution) and 0.267 mg/kg as fed basis of fumonisin B<sub>3</sub> (as 7.5 ng/mL in sample solution))

E, F: Sample solution of WCRS (spiked at 3.111 mg/kg as fed basis of fumonisin B<sub>1</sub> (as 87.5 ng/mL in sample solution), 1.111 mg/kg as fed basis of fumonisin B<sub>2</sub> (as 31.25 ng/mL in sample solution) and 0.267 mg/kg as fed basis of fumonisin B<sub>3</sub> (as 7.5 ng/mL in sample solution))

## 4 まとめ

とうもろこしサイレージ及び WCRS 中のフモニシンについて、JFRL 法を基に、LC-MS/MS を用いた同時定量法について、飼料分析基準への収載の可否を検討したところ、抽出溶媒量及び精製方法を変更することで、以下の結果が得られた。

- 1) 検量線はそれぞれ 1~100 ng/mL 相当量（注入量として 0.005~0.5 ng 相当量）の範囲で直線性を示した。なお、当該検量線の濃度範囲は、各フモニシンを 0.08~8 mg/kg 含有する分析用試料を本法に従い調製した最終試料溶液中の各フモニシン濃度範囲に相当する。
- 2) 本検討で用いたとうもろこしサイレージ及び WCRS について、本法に従って得られたクロマトグラムには、定量を妨げるピークは認められなかった。
- 3) 本法に従い得られた試料溶液についてマトリックス効果を確認した結果、試料マトリックスの測定値への顕著な影響は認められなかった。
- 4) 原物中に換算して、フモニシン B<sub>1</sub> として 3.111 mg/kg 相当量、フモニシン B<sub>2</sub> として 1.111 mg/kg 相当量、フモニシン B<sub>3</sub> として 0.267 mg/kg 相当量を添加し、本法に従って 5 点併行分析を実施し、回収率及び繰返し精度を求めたところ、妥当性確認ガイドラインに定められた真度の目標値を満たせず、分析法の改良が必要であると考えられた。

## 文 献

- 1) JECFA: Safety evaluation of certain mycotoxins in food, WHO food additives series 47 (2001). <https://inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je03.htm>, cited 27 Dec. 2023.
- 2) 農林水産省畜産局飼料課：飼料をめぐる情勢，[https://www.maff.go.jp/j/chikusan/sinko/lin/1\\_siryo/attach/pdf/index-1046.pdf](https://www.maff.go.jp/j/chikusan/sinko/lin/1_siryo/attach/pdf/index-1046.pdf)，令和 6 年 3 月。
- 3) 平岡 久明：飼料中のマイコトキシン汚染状況，臨床獣医，25 (6)，10-17 (2007)。
- 4) 農林水産省消費・安全局長通知：飼料分析基準の制定について，令和 5 年 12 月 1 日，5 消安第 4714 号 (2023)。
- 5) 一般財団法人日本食品分析センター：平成 25 年度飼料中の有害物質等の含有量実態調査事業（重金属，かび毒）報告書，平成 26 年 3 月 (2014)。