

4 アフラトキシンの液体クロマトグラフによる同時分析法の妥当性確認 ～稲発酵粗飼料及びイアコーンサイレージへの適用～

山多 晴子^{*1}, 佐藤 琢実^{*2}, 安藤 千咲^{*2}, 千原 哲夫^{*2}

Validation Study of Simultaneous Determination Method of Aflatoxins by LC ～Application to Whole-Crop Rice Silage and Ear Corn Silage～

YAMATA Seiko^{*1}, SATO Takumi^{*2}, ANDOU Chisaki^{*2} and CHIHARA Tetsuo^{*2}

(^{*1} Kobe Regional Center, Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC)

(Now Fertilizer and Feed Inspection Department, FAMIC),

^{*2} Kobe Regional Center, FAMIC)

We have made a validation study on the application of the simultaneous determination method of four aflatoxins (B₁, B₂, G₁ and G₂) to whole-crop rice silage (WCRS) and ear corn silage (ECS). This method uses a liquid chromatograph with fluorescence (LC-FD) for formula feed, corn and corn silage, and has been listed in the Feed Analysis Standard of Japan.

Aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂ (AFs) were extracted with acetonitrile-water (9:1), and then the solution was centrifuged. The supernatant was purified with a solid phase extraction column (Mycosep 226 AflaZon+, Romer Labs Division Holding GmbH, Getzersdorf, Austria), and the eluted solution was concentrated to dryness. For derivatization, trifluoroacetic acid was added to the residue, and the sample solution was injected into the LC-FD to determine the concentration of AFs. LC-FD separation was then carried out on an ODS column (Shodex C18M 4E, 4.6 mm i.d. × 250 mm, 5μm, Resonac Holdings Co.; Tokyo, Japan) with water-methanol (3:2) as a mobile phase.

Recovery tests were conducted on WCRS and ECS. AFB₁, G₁ and G₂ were added at the levels of 0.0013, 0.011, 0.022 and 0.044 mg/kg, and AFB₂ was added at the levels of 0.00022, 0.011, 0.022 and 0.044 mg/kg for WCRS respectively. The resulting mean recoveries ranged from 79.8 % to 91.0 % for AFB₁, 86.9 % to 98.2 % for AFB₂, 87.2 % to 112 % for AFG₁ and 93.8 % to 107 % for AFG₂. The repeatability in the form of relative standard deviations (RSD_r) was less than 2.8 % for AFB₁, less than 8.7 % for AFB₂, less than 6.7 % for AFG₁ and less than 2.5 % for AFG₂. AFB₁ and G₁ were added at the levels of 0.0026, 0.011, 0.022 and 0.044 mg/kg, AFB₂ was added at the levels of 0.00044, 0.011, 0.022 and 0.044 mg/kg, and AFG₂ was added at the levels of 0.0052, 0.011, 0.022 and 0.044 mg/kg for ECS respectively. The resulting mean recoveries ranged from 78.6 % to 100 % for AFB₁, 78.1 % to 100 % for AFB₂, 76.3 % to 108 % for AFG₁ and 82.3 % to 108 % for AFG₂. RSD_r was less than 7.6 % for AFB₁, less than 4.2 % for AFB₂, less than 6.5 % for AFG₁ and less than 5.1 % for AFG₂.

This AFs analysis method was thus verified to be applicable to WCRS and ECS.

Key words: aflatoxin; liquid chromatograph (LC); whole-crop rice silage; ear corn silage

キーワード : アフラトキシシ ; 液体クロマトグラフ ; 稲発酵粗飼料 ; イアコーンサイレー
ジ

^{*1} 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター, 現 肥飼料安全検査部

^{*2} 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター

1 緒 言

我が国の食料自給率向上のための重点的な施策として、サイレージを含む粗飼料等の国産飼料の増産対策が積極的に行われている¹⁾。これら国産のサイレージからはかび毒が検出される事例²⁾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。現行の飼料分析基準³⁾には、白井ら⁴⁾が検討した配合飼料及びとうもろこし、並びに、高橋ら⁵⁾が検討したとうもろこしサイレージを適用範囲としたアフラトキシンの液体クロマトグラフ（以下「LC」という。）による同時分析法（以下「収載法」という。）が収載されているが、稲発酵粗飼料（以下「WCRS」という。）及びイアコンサイレージ（以下「ECS」という。）は対象としていない。

そこで、今回、WCRS及びECSの収載法への適用の可否を検討したので、その概要を報告する。参考にアフラトキシンのB₁、B₂、G₁及びG₂の構造式等をFig. 1に示した。

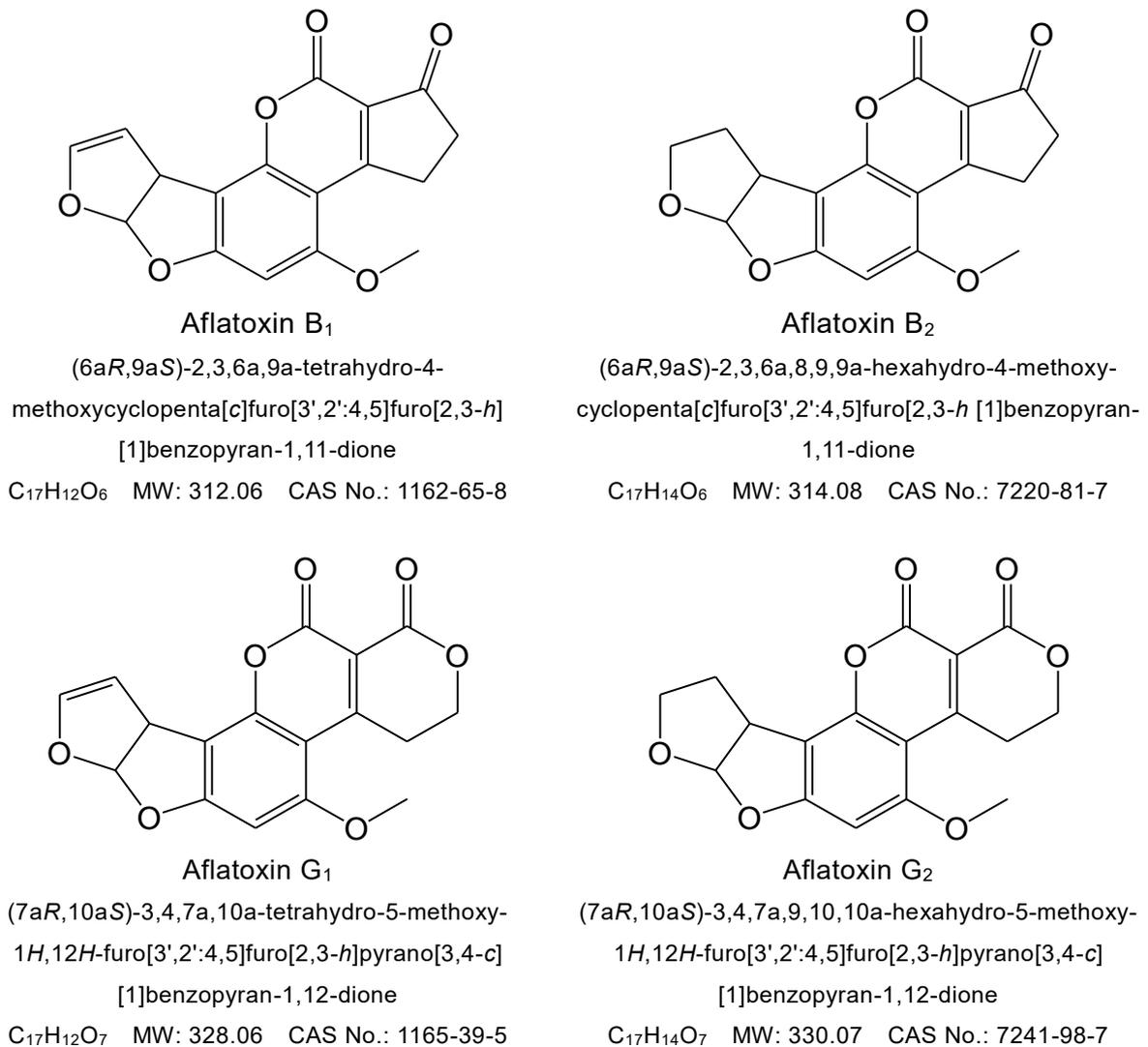


Fig. 1 Chemical structures of aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂

2 実験方法

2.1 試料

WCRS 及び ECS は 60 °C で 6 時間乾燥後，更に室内に静置して風乾した．これを目開き 1 mm のスクリーンを装着したカッティングミルで粉碎し，分析用試料とした．

2.2 試薬

1) メタノールは LC 用（富士フイルム和光純薬製）を用いた．トリフルオロ酢酸は Reagent Plus（Sigma-Aldrich 製）を用いた．その他の試薬は試薬特級を用いた．水は Milli-Q Integral 5（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) アフラトキシン混合標準液

アフラトキシン B₁, B₂, G₁ 及び G₂ 混合標準原液（各 25 µg/mL, Supelco 製）1 mL を 50 mL の全量フラスコに入れ，更に標線までアセトニトリルを加えて，アフラトキシン混合標準液 1 を調製した（この液 1 mL は，アフラトキシン B₁, B₂, G₁ 及び G₂ として各 0.5 µg を含有）．

さらに，アフラトキシン混合標準液 1 の 1 mL を 25 mL の全量フラスコに入れ，更に標線までアセトニトリルを加えて，アフラトキシン混合標準液 2 を調製した（この液 1 mL は，アフラトキシン B₁, B₂, G₁ 及び G₂ として各 20 ng を含有）．

2.3 装置及び器具

- 1) カッティングミル：SM 2000 Retsch 製（目開き 1 mm スクリーン，使用時回転数 835 rpm）
- 2) 振り混ぜ機：MW-DRV 宮本理研工業製（使用時振動数 300 rpm）
- 3) 多機能カラム：MycoSep 226 AflaZon+ Romer Labs Division Holding GmbH 製
- 4) 試験管濃縮装置：EB-303 アズワン製
- 5) LC：Prominence 島津製作所製

2.4 定量方法

1) 抽出

分析試料 25g を量って 500 mL の褐色共栓三角フラスコに入れ，アセトニトリル-水（9+1）200 mL（ECS は 150 mL）を加え，30 分間振り混ぜて抽出した．抽出液を褐色共栓遠心沈殿管に入れ，650×g で 5 分間遠心分離し，上澄み液をカラム処理に供する試料溶液とした．

2) カラム処理

試料溶液 4.5 mL を試験管に入れ，多機能カラムをゆっくり押し込み，充てん剤を通過した流出液を誘導体化反応に供する試料溶液とした．

3) 誘導体化反応

試料溶液 1 mL を 10 mL の試験管に正確に入れ，40 °C 以下に設定した試験管濃縮装置で窒素ガスを送って濃縮乾固した．残留物にトリフルオロ酢酸 0.1 mL を正確に加え，試験管に栓を施し，試験管ミキサーで 10 秒程度振り混ぜた後，15 分間静置した．更に水-アセトン（9+1）0.9 mL を試験管に正確に加え，試験管ミキサーで 10 秒程度振り混ぜた．この液をプラスチック製遠心沈殿管（容量 1.5 mL）に入れ，5000×g で 5 分間遠心分離し，上澄み液を液体クロマトグラフィーに供する試料溶液とした．

同時にアフラトキシン混合標準液 1（0.5 µg/mL）を用い，2~60 µL の間の数点並びにアフラ

トキシシン混合標準液 2 (20 ng/mL) を用い, 2.5~25 μ L の間の数点をそれぞれ 10 mL の試験管に正確に入れ, 40 °C 以下に設定した試験管濃縮装置で窒素ガスを送って濃縮乾固した. 残留物にトリフルオロ酢酸 0.1 mL を正確に加え, 以下は試料溶液と同様に操作し, 1 mL 中にアフラトキシシン B₁, B₂, G₁ 及び G₂ としてそれぞれ 0.05~30 ng 相当量を含む各検量線作成用混合標準液を調製した.

4) 液体クロマトグラフィー

試料溶液及び各検量線作成用混合標準液各 20 μ L を LC に注入し, クロマトグラムを得た. 測定条件を Table 1 に示した.

Table 1 Operating conditions of LC

Detector	FL detector (Ex: 365 nm, Em: 450 nm)
Column	Shodex C18M 4E (4.6 mm i.d.×250 mm, 5 μ m), Resonac
Mobile phase	Water-methanol (3:2)
Flow rate	0.8 mL/min
Column temperature	40 °C

5) 計 算

得られたクロマトグラムからピーク面積及び高さを求めて検量線を作成し, 試料中のアフラトキシシン B₁, B₂, G₁ 及び G₂ 量を算出した. なお, 3.2 以降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.

Under the light-shielding conditions

Sample 25.0 g (500 mL amber Erlenmeyer flask)

- added acetonitrile-water (9:1)
(WCRS: 200 mL, ECS: 150 mL)
- shook for 30 min
- centrifuged for 5 min at 650×g
- transferred 4.5 mL of supernatant into test tube

MycoSep 226 AflaZon+

- pushed MycoSep 226 AflaZon+ column into test tube
- transferred 1 mL of effluent solution through MycoSep 226 AflaZon+ column to another test tube

10 mL test tube

- evaporated under 40 °C and dried with N₂ gas

Derivatization (standard solution at the same time)

- added 0.1 mL of trifluoroacetic acid
- allowed to stand for 15 min
- added 0.9 mL of water-acetone (9:1)
- centrifuged for 5 min at 5000×g

LC-fluorescence detector

Scheme 1 Analytical procedure for aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂ in whole-crop rice silage (WCRS) and ear corn silage (ECS)

2.5 添加回収試験

2.2 の 2) のアフラトキシン混合標準原液をアセトニトリルで正確に希釈し、添加に用いた。

WCRS について、原物換算してアフラトキシン B₁、G₁ 及び G₂ として 0.0013, 0.011, 0.022 及び 0.044 mg/kg 相当量（最終試料溶液中で 0.38, 3.1, 6.3 及び 12.5 ng/mL）、アフラトキシン B₂ として 0.00022, 0.011, 0.022 及び 0.044 mg/kg 相当量（同 0.063, 3.1, 6.3 及び 12.5 ng/mL）、ECS について、原物換算してアフラトキシン B₁、G₁ 及び G₂ として、0.0026, 0.0052 (G₂ のみ)、0.011, 0.022 及び 0.044 mg/kg 相当量（同 0.5, 1.0 (G₂ のみ)、2.2, 4.2 及び 8.3 ng/mL）、アフラトキシン B₂ として 0.00044, 0.011, 0.022 及び 0.044 mg/kg 相当量（同 0.083, 2.2, 4.2 及び 8.3 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。

なお、WCRS の風乾物試料に対して、アフラトキシン B₁、G₁ 及び G₂ として 0.003, 0.025, 0.05 及び 0.1 mg/kg 相当量、アフラトキシン B₂ として 0.0005, 0.025, 0.05 及び 0.1 mg/kg 相当量になるように添加し、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。また、ECS の風乾物試料に対して、アフラトキシン B₁、G₁ 及び G₂ として 0.003, 0.006 (G₂ のみ)、0.013, 0.025 及び 0.05 mg/kg 相当量、アフラトキシン B₂ として 0.0005, 0.013, 0.025 及び 0.05 mg/kg 相当量になるように添加し、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 30 % 及び 20 % と想定⁹⁾して、原物（水分含有量 30 %）中濃度 = 風乾物（水分含有量 20 %）中濃度 / 1.14 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

飼料分析基準第 5 章第 3 節 2 に従い、抽出操作を確認した。なお、WCRS 及び ECS は収載法の注 2 に記載されている振り混ぜることが困難な試料と判断し、試料採取量を 25 g に減量した。

抽出溶媒量をとうもろこしサイレージと同じ 150 mL とした場合、WCRS では試料が抽出溶媒により膨潤し、振り混ぜることが困難であったため、抽出溶媒量を 200 mL に増量した。また、抽出効率を高めるため、WCRS、ECS とともに褐色三角フラスコの容量を 300 mL から 500 mL に変更した。

3.2 妨害物質の検討

WCRS 及び ECS 各 2 検体を用い、本法により調製した試料溶液を LC に注入し、得られたクロマトグラムを確認したところ、全ての検体でアフラトキシン B₁、G₁ 及び G₂ のピーク前後に妨害ピーク（風乾物試料に対して最大 0.0008 mg/kg 相当量）が認められた。しかし、妨害ピークの面積は当検討の定量下限（0.003 mg/kg）と想定したピーク面積の 1/3 未満であり、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（以下「妥当性確認ガイドライン」という。）に定める選択性の許容範囲内であることから、以後の検討に支障はないものと判断した。

なお、得られたクロマトグラムの一例を Fig. 2 に示した。

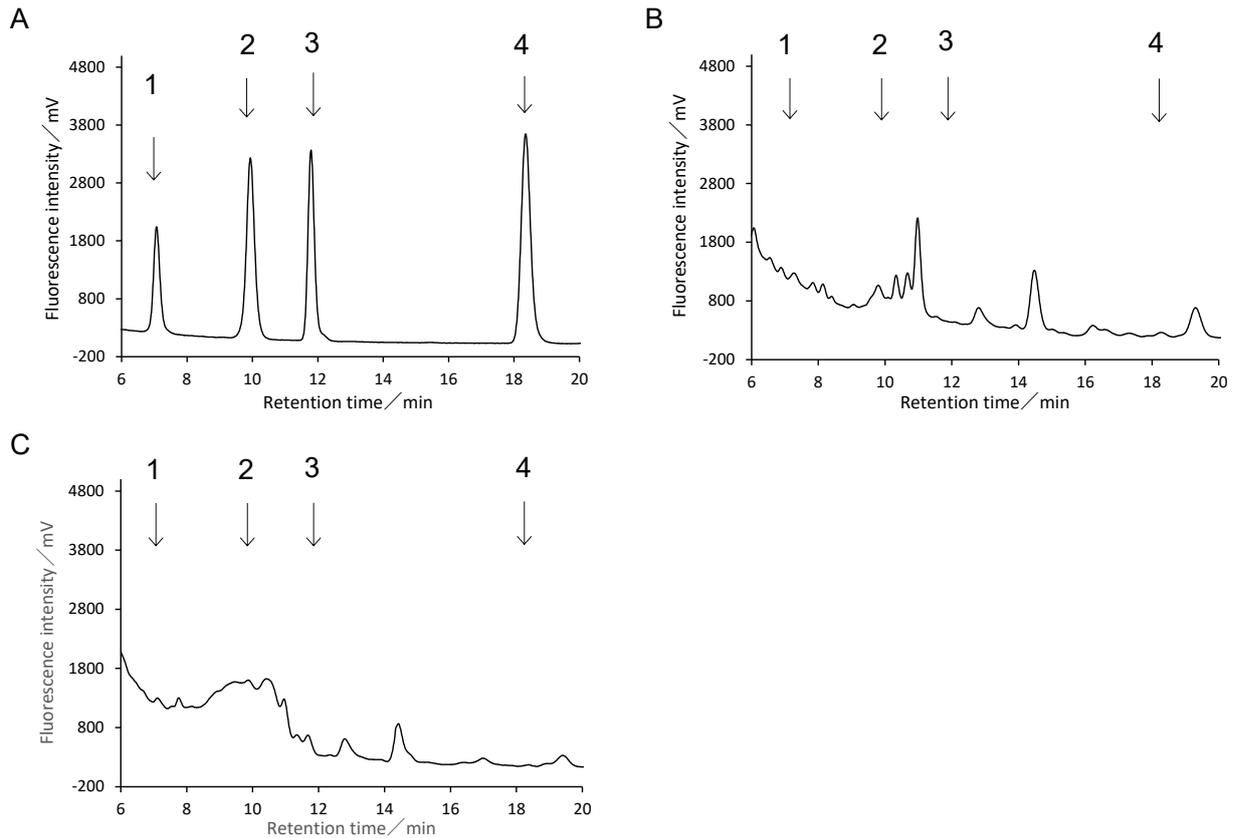


Fig. 2 Typical chromatograms of standard solution and blank sample solutions (LC conditions are shown in Table 1. Arrows indicate the retention times of 1: aflatoxin G₁ derivative, 2: aflatoxin B₁ derivative, 3: aflatoxin G₂ and 4: aflatoxin B₂)

A: Standard solution (The concentrations of aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂ are 0.4 ng/mL respectively)

B: Sample solution of WCRS

C: Sample solution of ECS

3.3 添加回収試験

2.5により添加回収試験を実施し、その結果をTable 2に示した。なお、添加回収試験の添加濃度は、飼料の有害物質の指導基準及び管理基準⁷⁾で示す配合飼料における最も低いアフラトキシン B₁の基準値 0.01 mg/kg 並びにとうもろこしの同値 0.02 mg/kg 及びその2倍相当量となるように設定した。定量下限の確認は、妨害ピークの影響及びとうもろこしサイレージの定量下限をふまえ、WCRSにおいて原物中でアフラトキシン B₁, G₁及び G₂は 0.0013 mg/kg, アフラトキシン B₂は 0.00022 mg/kgとなるように、ECSにおいて原物中でアフラトキシン B₁, G₁及び G₂は 0.0026 mg/kg, アフラトキシン B₂は 0.00044 mg/kgとなるように設定した。ECSのアフラトキシン G₂は試料により妨害ピークのパターンに違いが認められたことから、原物中 0.0052 mg/kg を追加で設定した。

WCRSにおけるアフラトキシン B₁の平均回収率は 79.8~91.0 %, その繰返し精度は相対標準偏差 (RSD_r) として 2.8 %以下, アフラトキシン B₂の平均回収率は 86.9~98.2 %, RSD_rは 8.7 %以下, アフラトキシン G₁の平均回収率は 87.2~112 %, RSD_rは 6.7 %以下, アフラトキシン G₂の平均回収率は 93.8~107 %, RSD_rは 2.5 %以下であった。

ECS におけるアフラトキシン B₁ の平均回収率は 78.6~100 %，RSD_r は 7.6 %以下，アフラトキシン B₂ の平均回収率は 78.1~100 %，RSD_r は 4.2 %以下，アフラトキシン G₁ の平均回収率は 76.3~108 %，RSD_r は 6.5 %以下であった。また，ECS1 に 0.0026 mg/kg 原物相当量を添加したアフラトキシン G₂ の平均回収率が 129 %となり，妥当性確認ガイドラインに定められた真度の目標値（70 %以上 120 %以下）を外れたが，その他の平均回収率は 82.3~108 %，RSD_r は 5.1 %以下であり，妥当性確認ガイドラインに定められた真度及び併行精度の目標値（22 %以下）を満たした。

なお，得られたクロマトグラムの一例を Fig. 3 及び Fig. 4 に示した。

Table 2 Recoveries for aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂ in WCRS and ECS

Aflatoxin	Spiked level (mg/kg original matter) ^{a) b)}	WCRS1		WCRS2		ECS1		ECS2	
		Recovery ^{c)} (%)	RSD _r ^{d)} (%)						
B ₁	0.0013	79.8	0.8	84.8	2.5	—	—	—	—
	0.0026	—	—	—	—	91.6	1.6	92.2	1.4
	0.011	—	—	85.0	2.8	—	—	100	7.6
	0.022	86.7	2.3	—	—	78.6	1.7	—	—
	0.044	91.0	1.0	—	—	81.7	1.0	—	—
B ₂	0.00022	91.3	8.7	98.2	7.4	—	—	—	—
	0.00044	—	—	—	—	100	4.2	86.4	2.2
	0.011	—	—	86.9	1.3	—	—	93.0	3.7
	0.022	86.9	2.2	—	—	78.1	1.4	—	—
	0.044	87.6	0.7	—	—	79.4	1.1	—	—
G ₁	0.0013	93.6	1.0	112	6.7	—	—	—	—
	0.0026	—	—	—	—	97.8	1.4	101	0.5
	0.011	—	—	88.1	3.6	—	—	108	6.5
	0.022	87.2	3.5	—	—	76.3	1.8	—	—
	0.044	99.7	1.9	—	—	86.1	1.3	—	—
G ₂	0.0013	95.8	1.5	107	2.5	—	—	—	—
	0.0026	—	—	—	—	129	1.2	101	1.4
	0.0052	—	—	—	—	95.0	0.4	—	—
	0.011	—	—	94.9	2.3	—	—	108	5.1
	0.022	93.8	2.0	—	—	82.3	1.2	—	—
	0.044	96.5	1.5	—	—	86.3	1.4	—	—

— : not tested

In dark cell, mean recovery is more than 120 % (exceed the upper limit of the target value).

a) The aflatoxins were spiked to air-dried WCRS samples one night prior to extraction. The spiked level were 0.003, 0.025, 0.05 and 0.1 mg/kg air-dry matter for aflatoxins B₁, G₁ and G₂, and 0.0005, 0.025, 0.05 and 0.1 mg/kg air-dry matter for aflatoxin B₂ respectively. The levels of aflatoxins in original matter were calculated with following equation on the assumption that the moisture content of WCRS samples was 60 % for original matter and 10 % for air-dry matter.

The levels of aflatoxins in original matter (moisture 60 %)

= the levels of aflatoxins in air-dry matter (moisture 10 %) / 2.25

b) The aflatoxins were spiked to air-dried ECS samples one night prior to extraction. The spiked level were 0.003, 0.006 (G₂ only), 0.013, 0.025 and 0.05 mg/kg air-dry matter for aflatoxins B₁, G₁ and G₂, and 0.0005, 0.013, 0.025 and 0.05 mg/kg air-dry matter for aflatoxin B₂ respectively. The levels of aflatoxins in original matter were calculated with following equation on the assumption that the moisture content of ECS samples was 30 % for original matter and 20 % for air-dry matter.

The levels of aflatoxins in original matter (moisture 30 %)

= the levels of aflatoxins in air-dry matter (moisture 20 %) / 1.14

c) Mean ($n = 5$)

d) Relative standard deviation of repeatability

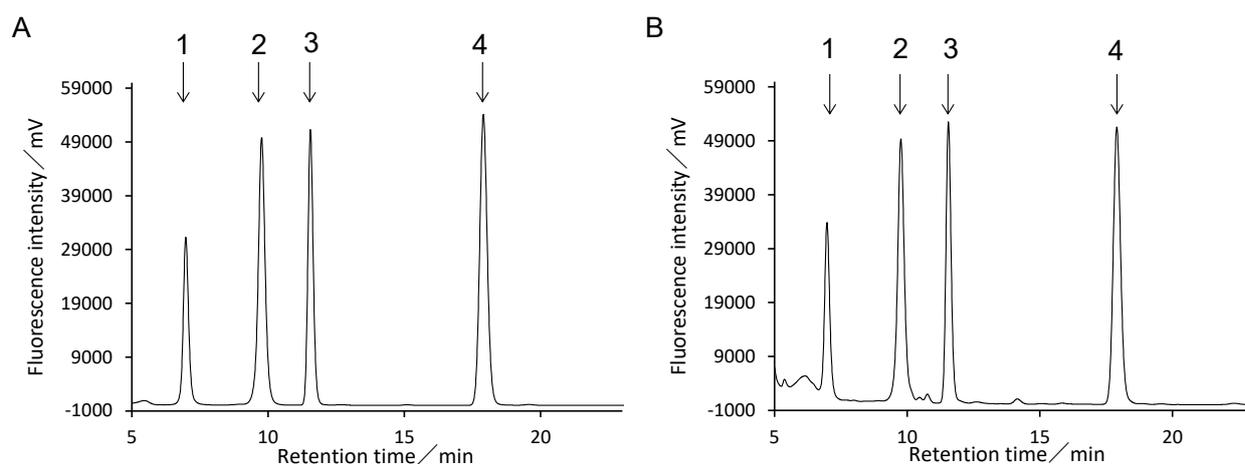


Fig. 3 Typical chromatograms of standard solution and spiked sample (WCRS) (LC conditions are shown in Table 1. Arrows indicate the peaks of 1: aflatoxin G₁ derivative, 2: aflatoxin B₁ derivative, 3: aflatoxin G₂ and 4: aflatoxin B₂)
A: Standard solution (The concentrations of aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂ are 6.0 ng/mL respectively)
B: Sample solution of WCRS (spiked at 0.022 mg/kg original matter of aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂ (corresponding to 6.3 ng/mL))

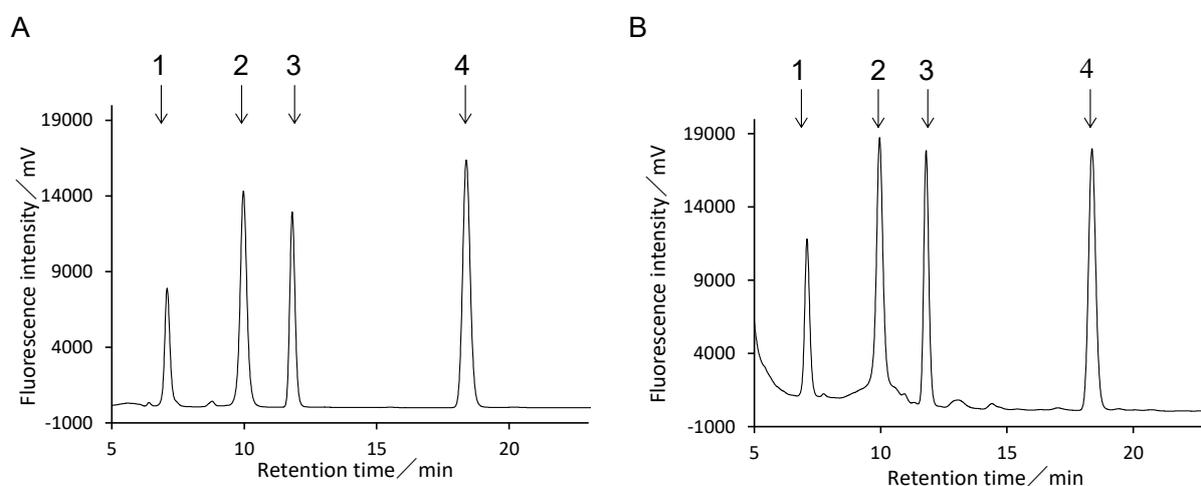


Fig. 4 Typical chromatograms of standard solution and spiked sample (ECS) (LC conditions are shown in Table 1. Arrows indicate the peaks of 1: aflatoxin G₁ derivative, 2: aflatoxin B₁ derivative, 3: aflatoxin G₂ and 4: aflatoxin B₂)
A: Standard solution (The concentrations of aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂ are 2.0 ng/mL, respectively)
B: Sample solution of ECS (spiked at 0.011 mg/kg original matter of aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂ (corresponding to 2.2 ng/mL))

3.4 定量下限及び検出下限

アフラトキシン B₁, B₂, G₁ 及び G₂ の検量線の直線性が確認されている範囲の下端付近となる

濃度（WCRS の風乾物中では、アフラトキシン B₁、G₁ 及び G₂ については 0.003 mg/kg 相当量（最終試料液中濃度 0.38 ng/mL）、アフラトキシン B₂ については 0.0005 mg/kg 相当量（同 0.063 ng/mL）、ECS 中では、アフラトキシン B₁ 及び G₁ については 0.003 mg/kg 相当量（同 0.5 ng/mL）アフラトキシン B₂ については 0.0005 mg/kg 相当量（同 0.083 ng/mL）、アフラトキシン G₂ については 0.006 mg/kg 相当量（同 1.0 ng/mL））の添加回収試験の結果から、本法の定量下限及び検出下限を求めた。Fig. 2 のとおり、各アフラトキシンのピークの前後において妨害物質のピークが多数存在していることから、定量値の標準偏差の 10 倍及び 4.26 倍（Student の *t*-値（片側、有意水準 0.05、自由度 4）の 2 倍）から定量下限及び検出下限を推定したところ、WCRS の風乾物中のアフラトキシン B₁、G₁ 及び G₂ の定量下限は 0.003 mg/kg、検出下限は 0.001 mg/kg、アフラトキシン B₂ の定量下限は 0.0005 mg/kg、検出下限は 0.0002 mg/kg と考えられた。

また、同様に、ECS の風乾物中のアフラトキシン B₁ 及び G₁ の定量下限は 0.003 mg/kg、検出下限は 0.001 mg/kg、アフラトキシン B₂ の定量下限は 0.0005 mg/kg、検出下限は 0.0002 mg/kg、アフラトキシン G₂ の定量下限は 0.006 mg/kg、検出下限は 0.001 mg/kg と考えられた。

なお、Table 2 に示したとおり、当該定量下限における添加回収試験結果は良好であった。

4 まとめ

WCRS 及び ECS 中のアフラトキシン B₁、B₂、G₁ 及び G₂ について、収載法のアフラトキシンの LC による同時定量法の適用の可否について検討したところ、WCRS の抽出溶媒量等を変更することで、以下の結果が得られ、適用が可能であると考えられた。

- 1) WCRS 及び ECS 中のアフラトキシン B₁、G₁ 及び G₂ は、本法に従って得られたクロマトグラムに定量を妨げるピークが認められたが、妥当性確認ガイドラインに定める選択性の許容範囲内であった。また、アフラトキシン B₂ は、本法に従って得られたクロマトグラムに定量を妨げるピークは認められなかった。
- 2) WCRS に対し、原物中に換算してアフラトキシン B₁、G₁ 及び G₂ として 0.0013, 0.011, 0.022 及び 0.044 mg/kg 相当量、アフラトキシン B₂ として 0.00022, 0.011, 0.022 及び 0.044 mg/kg 相当量を、ECS に対し、原物中に換算してアフラトキシン B₁、G₁ 及び G₂ として 0.0026, 0.0052 (G₂ のみ)、0.011, 0.022 及び 0.044 mg/kg 相当量、アフラトキシン B₂ として 0.00044, 0.011, 0.022 及び 0.044 mg/kg 相当量添加し、本法に従って 5 点併行分析を実施して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及び併行精度の目標値を満たす結果が得られた。
- 3) 本法の WCRS 中のアフラトキシン B₁、G₁ 及び G₂ の定量下限は風乾物中で 0.003 mg/kg、検出下限は 0.001 mg/kg、アフラトキシン B₂ の定量下限は風乾物中で 0.0005 mg/kg、検出下限は 0.0002 mg/kg と推定された。ECS 中のアフラトキシン B₁ 及び G₁ の定量下限は風乾物中で 0.003 mg/kg、検出下限は 0.001 mg/kg、アフラトキシン B₂ の定量下限は風乾物中で 0.0005 mg/kg、検出下限は 0.0002 mg/kg、アフラトキシン G₂ の定量下限は風乾物中で 0.006 mg/kg、検出下限は 0.001 mg/kg と推定された。

文 献

- 1) 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/l_siryo/attach/pdf/index-1046.pdf, 令和 6 年 3 月.
- 2) 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).
- 3) 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).
- 4) 白井 裕治, 関口 好浩, 下村 正之, 早川 俊明：多機能クリーンナップカラム法／高速液体クロマトグラフィーによる飼料中のアフラトキシン B₁, B₂, G₁ 及び G₂ の同時定量, 飼料研究報告, **24**, 10-25 (1999).
- 5) 高橋 雄一, 嶋村 知紗：アフラトキシンの液体クロマトグラフによる同時分析法の適用範囲をとうもろこしサイレージに拡大するための妥当性確認, 飼料研究報告, **44**, 121-135 (2019).
- 6) 加藤 耕一, 嘉手苺 舞, 桑原 正良：カルタップの液体クロマトグラフ質量分析計による分析法の妥当性確認～イアコーンサイレージへの適用～, 飼料研究報告, **47**, 89-97 (2022).
- 7) 農林水産省畜産局長通知：飼料の有害物質の指導基準及び管理基準について, 昭和 63 年 10 月 14 日, 63 畜 B 第 2050 号 (1988).