内閣府食品安全委員会
平成 18 年度食品安全確保総合調査

食品中に含まれるカビ毒
(オクラトキシン，アフラトキシン，ゼアラレノン)
の汚染実態調査報告書

平成 19 年 3 月

財団法人 日本食品分析センター

目　　次

1　調査項目・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 1

2　調査実施場所・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 1

3　調査内容・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 1

4　検体・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 2

5　試験方法・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 9
　Ⅰ　オクラトキシン A・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 10
　Ⅱ　アフラトキシン B_1，B_2，G_1，G_2 及び M_1・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 21
　Ⅲ　ゼアラレノン及びゼアラレノール・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 38

6　実態調査の結果・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 55

7　文献調査・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 62

8　まとめ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 62

9　調査検討会・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 64

添付資料　収集した文献のリスト

食品中に含まれるカビ毒（オクラトキシンA，アフラトキシン，ゼアラレノン）の汚染実態調査報告書

1　調査項目

1）オクラトキシンA，アフラトキシン及びゼアラレノンについて，含有の可能性があって我が国において汚染実態調査がほとんど実施されていない食品を中心に汚染実態調査を実施する。

2）諸外国におけるオクラトキシンA，アフラトキシン及びゼアラレノン等に関する情報を収集・整理する。

2　調査実施場所

財団法人　日本食品分析センター　彩都研究所

大阪府茨木市彩都あさぎ7丁目4番41号

財団法人　日本食品分析センター　多摩研究所

東京都多摩市永山6丁目11番10号

3　調査内容

3.1　汚染実態調査

学識経験者による調査検討会で検討された表-1に示す食品群について調査を実施する。

表-1-1　汚染実態調査を実施する食品

食品	調査するカビ毒
オリーブ	オクラトキシンA
種子	オクラトキシンA，アフラトキシン，ゼアラレノン
輸入養殖エビ	オクラトキシンA，アフラトキシン，ゼアラレノン
養殖魚	オクラトキシンA，アフラトキシン，ゼアラレノン
健康食品（雑穀含む）	オクラトキシンA，アフラトキシン，ゼアラレノン
食肉製品（生）	オクラトキシンA，アフラトキシン，ゼアラレノン
食肉製品（加工品）	オクラトキシンA，アフラトキシン，ゼアラレノン
乳製品	オクラトキシンA，アフラトキシン，ゼアラレノン
卵及び卵製品	オクラトキシンA，アフラトキシン，ゼアラレノン
血液及び内臓（生）	オクラトキシンA，アフラトキシン，ゼアラレノン
血液及び内臓（加工品）	オクラトキシンA，アフラトキシン，ゼアラレノン
サトウキビ及び黒砂糖	アフラトキシン
ハーブ類	オクラトキシンA，アフラトキシン，ゼアラレノン
飲料	オクラトキシンA，アフラトキシン，ゼアラレノン
ベビーフード	オクラトキシンA，アフラトキシン，ゼアラレノン
幼児向け食品	オクラトキシンA，アフラトキシン，ゼアラレノン

表-1-2　汚染実態調査を実施する食品

食品	調査するカビ毒
菓子類	オクラトキシンA，アフラトキシン，ゼアラレノン
豆類	オクラトキシンA，アフラトキシン，ゼアラレノン
ドライフルーツ	オクラトキシンA，アフラトキシン，ゼアラレノン
キャッサバ	オクラトキシンA，アフラトキシン，ゼアラレノン

3.2　文献調査

諸外国におけるオクラトキシンA，アフラトキシンおよびゼアラレノンに関する報告書，規制情報，汚染実態調査データを収集して整理する。

4　検体

検体の一覧を表-2～21に示した。

表-2　オリーブ製品の一覧

試料番号	識別番号	品名	生産国	購入地域
1	OV-1	[redacted]	日本	神奈川県川崎市
2	OV-2		日本	インターネット
3	OV-3		日本	インターネット
4	OV-4		日本	インターネット
5	OV-5		日本	インターネット

表-3　ひまわり種子製品の一覧

試料番号	識別番号	品名	生産国	購入地域
6	SS-1	[redacted]	中国	東京都八王子市
7	SS-2		中国	東京都江東区
8	SS-3		アメリカ	東京都江東区
9	SS-4		フランス	東京都江東区
10	SS-5		ｱﾒﾘｶ, 中国	東京都新宿区
11	SS-6		中国	大阪府大阪市
12	SS-7		中国	大阪府大阪市
13	SS-8		中国	大阪府大阪市
14	SS-9		中国	兵庫県神戸市
15	SS-10		中国	大阪府大阪市

*1 品名及び生産国は同じだが同一製品ではない

表-4　輸入養殖エビの一覧

試料番号	試料番号	品名	生産国	購入地域
16	CS-1	[redacted]	フィリピン	東京都八王子市
17	CS-2		タイ	東京都八王子市
18	CS-3		ベトナム	神奈川県川崎市
19	CS-4		インド	東京都町田市
20	CS-5		中国	神奈川県川崎市

表-5　養殖魚の一覧

試料番号	識別番号	品名	生産国	購入地域
21	CF-1	[redacted]	日本	東京都八王子市
22	CF-2		日本	東京都多摩市
23	CF-3		中国	東京都江東区
24	CF-4		中国	神奈川県川崎市
25	CF-5		日本	神奈川県川崎市
26	CF-6		日本	大阪府箕面市
27	CF-7		日本	大阪府大阪市
28	CF-8		チリ	大阪府箕面市
29	CF-9		ノルウェー	大阪府大阪市
30	CF-10		中国	大阪府大阪市

*1 品名及び生産国は同じだが同一製品ではない

表-6-1　健康食品の一覧

試料番号	識別番号	品名	生産国	購入地域
31	HF-1	[redacted]	日本	東京都新宿区
32	HF-2		日本	東京都新宿区
33	HF-3		日本	東京都新宿区
34	HF-4		日本	神奈川県川崎市
35	HF-5		中国	東京都町田市
36	HF-6		中国	インターネット
37	HF-7		日本	インターネット
38	HF-8		日本	インターネット
39	HF-9		ﾊﾞﾝｸﾞﾗﾃﾞｨｼｭ	インターネット
40	HF-10		日本	インターネット
41	HF-11		日本	インターネット
42	HF-12		日本	インターネット
43	HF-13		スペイン	インターネット
44	HF-14		ブラジル	インターネット
45	HF-15		中国	インターネット
46	HF-16		日本	インターネット
47	HF-17		日本	インターネット
48	HF-18		インド	インターネット
49	HF-19		日本	インターネット
50	HF-20		日本	インターネット

*2 雑穀

表-6-2　健康食品の一覧

試料番号	識別番号	品名	生産国	購入地域
51	HF-21	[redacted]	日本	インターネット
52	HF-22		日本	インターネット
53	HF-23		日本	インターネット
54	HF-24		日本	インターネット
55	HF-25		日本	インターネット
56	HF-26		日本	インターネット
57	HF-27		中国	インターネット
58	HF-28		日本	インターネット
59	HF-29		日本	神奈川県川崎市
60	HF-30		日本	東京都多摩市
61	HF-31		日本	神奈川県川崎市

*2 雑穀

表-7　食肉製品（生）の一覧

試料番号	識別番号	品名	生産国	購入地域
62	RM-1	[redacted]	ｵｰｽﾄﾗﾘｱ	東京都多摩市
63	RM-2		日本	東京都八王子市
64	RM-3		アメリカ	東京都町田市
65	RM-4		日本	東京都町田市
66	RM-5		アメリカ	東京都町田市
67	RM-6		日本	東京都町田市

表-8　食肉製品（加工品）の一覧

試料番号	識別番号	品名	生産国	購入地域
68	PM-1	[redacted]	日本	大阪府箕面市
69	PM-2		ﾆｭｰｼﾞｰﾗﾝﾄﾞ	大阪府箕面市
70	PM-3		日本	大阪府箕面市
71	PM-4		イタリア	大阪府箕面市
72	PM-5		日本	大阪府箕面市
73	PM-6		中国	大阪府大阪市

表-9-1　乳製品の一覧

試料番号	識別番号	品名	生産国	購入地域
74	PMK-1	[redacted]	デンマーク	東京都新宿区
75	PMK-2		ベルギー	東京都新宿区
76	PMK-3		イギリス	東京都新宿区
77	PMK-4		オランダ	東京都町田市
78	PMK-5		フランス	東京都町田市

表-9-2　乳製品の一覧

試料番号	識別番号	品名	生産国	購入地域
79	PMK-6	[redacted]	イギリス	大阪府大阪市
80	PMK-7		スイス	大阪府大阪市
81	PMK-8		フランス	大阪府大阪市
82	PMK-9		オランダ	大阪府大阪市
83	PMK-10		イタリア	大阪府大阪市

表-10　卵及び卵製品の一覧

試料番号	識別番号	品名	生産国	購入地域
84	PE-1	[redacted]	中国	東京都八王子市
85	PE-2		タイ	東京都多摩市
86	PE-3		中国	東京都多摩市
87	PE-4		中国	東京都八王子市
88	PE-5		台湾	東京都八王子市
89	PE-6		台湾	兵庫県神戸市
90	PE-7		台湾	大阪府大阪市
91	PE-8		中国	大阪府箕面市
92	PE-9		中国	兵庫県神戸市

*1 品名及び生産国は同じだが同一製品ではない

表-11-1　血液及び内臓（生）の一覧

試料番号	識別番号	品名	生産国	購入地域
93	RVM-1	[redacted]	日本	神奈川県相模原市
94	RVM-2		日本	神奈川県相模原市
95	RVM-3		ｵｰｽﾄﾗﾘｱ	神奈川県相模原市
96	RVM-4		日本	神奈川県川崎市
97	RVM-5		日本	神奈川県川崎市
98	RVM-6		日本	東京都八王子市
99	RVM-7		日本	東京都八王子市
100	RVM-8		日本	神奈川県相模原市
101	RVM-9		日本	神奈川県相模原市
102	RVM-10		日本	東京都多摩市
103	RVM-11		日本	東京都江東区
104	RVM-12		ｵｰｽﾄﾗﾘｱ	神奈川県川崎市
105	RVM-13		日本	東京都町田市
106	RVM-14		日本	東京都八王子市
107	RVM-15		日本	東京都新宿区
108	RVM-16		日本	神奈川県川崎市
109	RVM-17		日本	東京都多摩市
110	RVM-18		日本	東京都多摩市
111	RVM-19		日本	東京都町田市
112	RVM-20		日本	東京都町田市

表-11-2　血液及び内臓（生）の一覧

試料番号	識別番号	品名	生産国	購入地域
113	RVM-21	[redacted]	日本	大阪府箕面市
114	RVM-22		日本	大阪府箕面市
115	RVM-23		日本	大阪府豊中市
116	RVM-24		日本	大阪府箕面市
117	RVM-25		日本	大阪府大阪市
118	RVM-26		日本	大阪府大阪市
119	RVM-27		日本	大阪府大阪市
120	RVM-28		日本	大阪府箕面市
121	RVM-29		日本	大阪府大阪市
122	RVM-30		日本	大阪府豊中市

表-12　血液及び内臓（加工品）の一覧

試料番号	識別番号	品名	生産国	購入地域
123	PVM-1	[redacted]	日本	東京都八王子市
124	PVM-2		ドイツ	東京都八王子市
125	PVM-3		日本	東京都多摩市
126	PVM-4		フランス	東京都町田市
127	PVM-5		日本	東京都町田市
128	PVM-6		アメリカ	東京都港区
129	PVM-7		スペイン	東京都港区
130	PVM-8		アメリカ	東京都港区
131	PVM-9		日本	インターネット
132	PVM-10		日本	インターネット
133	PVM-11		日本	大阪府豊中市
134	PVM-12		日本	大阪府大阪市
135	PVM-13		日本	東京都町田市
136	PVM-14		日本	大阪府豊中市
137	PVM-15		日本	大阪府大阪市

表-13　サトウキビ及び黒砂糖の一覧

試料番号	識別番号	品名	生産国	購入地域
138	SG-1	[redacted]	日本	インターネット
139	SG-2		日本	インターネット
140	SG-3		日本	インターネット
141	SG-4		日本	インターネット
142	SG-5		日本	インターネット

表-14　ハーブ類の一覧

試料番号	識別番号	品名	生産国	購入地域
143	HB-1	[redacted]	ブラジル	インターネット
144	HB-2		ブラジル	インターネット
145	HB-3		台湾	インターネット
146	HB-4		エジプト	東京都江東区
147	HB-5		南アフリカ	神奈川県川崎市
148	HB-6		アメリカ	神奈川県川崎市
149	HB-7		トルコ	大阪府大阪市
150	HB-8		チリ	大阪府大阪市
151	HB-9		マレーシア	兵庫県神戸市
152	HB-10		タイ	兵庫県神戸市

表-15　飲料の一覧

試料番号	識別番号	品名	生産国	購入地域
153	DK-1	[redacted]	アルゼンチン	東京都八王子市
154	DK-2		フィリピン	東京都新宿区
155	DK-3		中国	神奈川県川崎市
156	DK-4		スリランカ	大阪府大阪市
157	DK-5		インド	大阪府大阪市

表-16-1　ベビーフードの一覧

試料番号	識別番号	品名	生産国	購入地域
158	FB-1	[redacted]	日本	東京都多摩市
159	FB-2		日本	大阪府茨木市
160	FB-3		日本	大阪府茨木市
161	FB-4		日本	大阪府茨木市
162	FB-5		日本	大阪府茨木市
163	FB-6		日本	大阪府茨木市
164	FB-7		日本	大阪府茨木市
165	FB-8		日本	大阪府茨木市
166	FB-9		日本	大阪府茨木市
167	FB-10		日本	大阪府茨木市
168	FB-11		日本	大阪府茨木市
169	FB-12		日本	大阪府茨木市
170	FB-13		日本	大阪府茨木市
171	FB-14		日本	大阪府茨木市
172	FB-15		日本	大阪府茨木市

表-16-2　ベビーフードの一覧

試料番号	識別番号	品名	生産国	購入地域
173	FB-16	[redacted]	日本	東京都多摩市
174	FB-17		日本	東京都多摩市
175	FB-18		日本	東京都多摩市
176	FB-19		日本	東京都多摩市
177	FB-20		日本	東京都多摩市

表-17　幼児向け食品の一覧

試料番号	識別番号	品名	生産国	購入地域
178	FC-1	[redacted]	日本	東京都町田市
179	FC-2		日本	東京都町田市
180	FC-3		日本	東京都町田市
181	FC-4		日本	東京都町田市
182	FC-5		日本	東京都町田市
183	FC-6		日本	東京都町田市
184	FC-7		日本	東京都町田市
185	FC-8		日本	東京都町田市
186	FC-9		日本	東京都町田市
187	FC-10		日本	東京都町田市

表-18　菓子類の一覧

試料番号	識別番号	品名	生産国	購入地域
188	SN-1	[redacted]	中国	大阪府大阪市
189	SN-2		アメリカ	神奈川県相模原市
190	SN-3		中国	神奈川県相模原市
191	SN-4		台湾	大阪府大阪市
192	SN-5		台湾	大阪府大阪市

表-19　豆類の一覧

試料番号	識別番号	品名	生産国	購入地域
193	BN-1	[redacted]	日本	東京都新宿区
194	BN-2		日本	東京都新宿区
195	BN-3		日本	大阪府大阪市
196	BN-4		日本	大阪府大阪市
197	BN-5		インドネシア	インターネット

表-20　ドライフルーツの一覧

試料番号	識別番号	品名	生産国	購入地域
198	DF-1	[redacted]	フィリピン	東京都八王子市
199	DF-2		中国	東京都八王子市
200	DF-3		中国	東京都八王子市
201	DF-4		トルコ	東京都八王子市
202	DF-5		オマーン	神奈川県相模原市
203	DF-6		フィリピン	大阪府大阪市
204	DF-7		タイ	大阪府大阪市
205	DF-8		タイ	大阪府大阪市
206	DF-9		フィリピン	大阪府大阪市
207	DF-10		イラン	大阪府大阪市

表-21　キャッサバの一覧

試料番号	識別番号	品名	生産国	購入地域
208	CSV-1	[redacted]	タイ	東京都八王子市
209	CSV-2		マレーシア	神奈川県川崎市
210	CSV-3		ブラジル	インターネット
211	CSV-4		インドネシア	インターネット
212	CSV-5		日本	神奈川県川崎市

5　試験方法

以下の分析法により調査を行った。

I　オクラトキシンA(OTA)

1)　器具及び装置

遠心管(50 ml容, 100 ml容, 200 ml容)
メスフラスコ(50 ml容, 100 ml容, 200 ml容)
ナスフラスコ(200 ml容)
分液ロート(500 ml容)
ガラスロート
ピペット類
メスシリンダー
リザーバー及びジョイント
ガラス繊維ろ紙(GFP)[桐山製作所]
ヒスコトロン型ホモジナイザー
振とう機
遠心分離機
吸引マニュホールド
汎用天秤
ロータリーエバポレーター
分光光度計
高速液体クロマトグラフ(蛍光検出器付)
液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計

2)　試薬及び試液

OTA 標準品[Sigma-Aldrich 社]
水
メタノール(残留農薬・PCB 試験用, 高速液体クロマトグラフ用(以下「HPLC 用」)
[和光純薬工業株式会社]
アセトニトリル(残留農薬・PCB 試験用, HPLC 用)[和光純薬工業株式会社]
ヘキサン(残留農薬・PCB 試験用)[和光純薬工業株式会社]
アセトン(残留農薬・PCB 試験用)[和光純薬工業株式会社]
ギ酸(試薬特級)[関東化学株式会社]
トルエン(試薬特級)[小宗化学薬品株式会社]
炭酸水素ナトリウム(試薬特級)[和光純薬工業株式会社]
塩化ナトリウム(試薬特級)[関東化学株式会社]
りん酸水素二ナトリウム(試薬特級)[小宗化学薬品株式会社]
りん酸二水素カリウム(試薬特級)[小宗化学薬品株式会社]
塩化カリウム(試薬特級)[和光純薬工業株式会社]
硫酸アンモニウム(試薬特級)[和光純薬工業株式会社]
酢酸アンモニウム(試薬特級)[関東化学株式会社]
塩酸(試薬特級)[小宗化学薬品株式会社]

トリフルオロ酢酸(試薬特級)[和光純薬工業株式会社]
酢酸(試薬特級)[小宗化学薬品株式会社]
Bond Elut DEA カートリッジカラム(500 mg, 3 ml)[VARIAN 社]
イムノアフィニティーカラム(OchraTestWB)[VICAM 社]
イムノアフィニティーカラム(Ochraprep)[R-BIOPHARM 社]
メタノール及び 1 %炭酸水素ナトリウム溶液の混液(7:3):メタノール 700 ml と 1 %炭酸水素ナトリウム溶液(炭酸水素ナトリウム 3 g を水に溶解し, 300 ml にしたもの)300 ml を混合する。
アセトニトリル, 水及び塩酸の混液(8:1:1):アセトニトリル 800 ml, 水 100 ml 及び塩酸 100 ml を混合する。
PBS(phosphate buffer saline):塩化ナトリウム 8 g, りん酸水素二ナトリウム 1.2 g, りん酸二水素カリウム 0.2 g 及び塩化カリウム 0.2 g を水 1 L に溶解する。
0.01 mol/L 酢酸アンモニウム溶液:酢酸アンモニウム 0.38 g を水 500 ml に溶解する。
メタノール及び酢酸の混液(99:1):メタノール 99 ml と酢酸 1 ml を混合する。
アセトン及びアセトニトリルの混液(1:1):アセトン 100 ml とアセトニトリル 100 ml を混合する。
80 %メタノール:メタノール 400 ml と水 100 ml を混合する。
80 %メタノール及び酢酸の混液(99:1):80 %メタノール 99 ml と酢酸 1 ml を混合する。
80 %メタノール及びトリフルオロ酢酸の混液(99:1):80 %メタノール 99 ml とトリフルオロ酢酸 1 ml を混合する。
水, メタノール及び酢酸の混液(70:30:1):水 700 ml, メタノール(HPLC 用) 300 ml 及び酢酸 10 ml を混合する。
水, アセトニトリル及び酢酸の混液(510:480:10):水 510 ml, アセトニトリル(HPLC 用)480 ml 及び酢酸 10 ml を混合する。
1 %ギ酸:水 990 ml とギ酸 10 ml を混合する。
トルエン及び酢酸の混液(99:1):トルエン 99 ml 及び酢酸 1 ml を混合する。

3) 試験溶液の調製

①茶葉, オリーブオイル, ベビーフード及び幼児向け食品以外の試料

試料約 2.5 または 10 g を 200 ml 容遠心管に採取し, 試料が粉末または透明液体の場合はメタノール及び 1 %炭酸水素ナトリウム溶液の混液(7:3)100 ml を正確に加えて, 30 分間振とう抽出する。試料が粗い磨砕物や生体試料, 混濁した液体の場合はメタノール及び 1 %炭酸水素ナトリウム溶液の混液(7:3)70 ml を加え, ホモジナイザーを用いて約 1 分間撹はん抽出を行う。抽出液を 2,500 r/min で 5 分間遠心分離し, 上澄み液を綿栓ろ過する。撹はん抽出をした試料は, ろ液に抽出液を加え正確に 100 ml とする。ろ液 2.5 または 10 ml を正確に分取し[注 1)], 40 ℃で減圧濃縮

乾固し，残渣をメタノール約 2 ml に溶解する。これを PBS で希釈し正確に 50 ml とした後，ガラス繊維ろ紙でろ過する。

イムノアフィニティーカラムの内液をからさないように注意して吸引マニュホールドに連結し，リザーバーを取り付ける。先のろ液を 40 ml 分取し，イムノアフィニティーカラムに負荷する。流速は毎秒 1,2 滴になるように調整し，カラムは乾燥させないようにする。続いて 0.01 mol/L 酢酸アンモニウム溶液 5 ml でカラムを洗浄し，メタノール及び酢酸の混液(99:1)5 ml で溶出する。この溶出液を 40 ℃で減圧濃縮乾固し，残渣を水，メタノール及び酢酸の混液(70:30:1)1 ml に溶解して試験溶液とする。

注1) 分取量は試料当たり 0.25 g 相当とする。

②ベビーフード及び幼児向け食品

試料約 10 g を 200 ml 容遠心管に採取し，メタノール及び 1 %炭酸水素ナトリウム溶液の混液(7:3)70 ml を加えた後，ホモジナイザーを用いて約 1 分間撹はん抽出を行う。抽出液を 2,500 r/min で 5 分間遠心分離し，上澄み液を綿栓ろ過した後，抽出液を加え正確に 100 ml とする。ろ液 10 ml を正確に分取し，40 ℃で減圧濃縮乾固し，残渣をメタノール約 2 ml に溶解する。これを PBS で希釈し正確に 50 ml とした後，ガラス繊維ろ紙でろ過する。

イムノアフィニティーカラムの内液をからさないように注意して吸引マニュホールドに連結し，リザーバーを取り付ける。先のろ液を 25 ml 分取し，分取液及び PBS15 ml でイムノアフィニティーカラムに負荷する。流速は毎秒 1,2 滴になるように調整し，カラムは乾燥させないようにする。続いて 0.01 mol/L 酢酸アンモニウム溶液 5 ml でカラムを洗浄し，メタノール及び酢酸の混液(99:1)5 ml で溶出する。この溶出液を 40 ℃で減圧濃縮乾固し，残渣を水，メタノール及び酢酸の混液(70:30:1)0.5 ml に溶解して試験溶液とする。

③オリーブオイル

試料約 2.5 g を 200 ml 容遠心管に採取し，メタノール及び 1 %炭酸水素ナトリウム溶液の混液(7:3)60 ml を加えた後，ホモジナイザーを用いて約 1 分間撹はん抽出を行う。抽出液を 2,500 r/min で 5 分間遠心分離し，上澄み液を綿栓ろ過後，メタノール及び 1 %炭酸水素ナトリウム溶液の混液(7:3)を加えて正確に 100 ml とする。ろ液 10 ml を 500 ml 容分液ロートに正確に分取する。これに PBS 150 ml，塩化ナトリウム 10 g 及びヘキサン 80 ml を加えて，5 分間振とうする。しばらく静置した後下層を分取し，PBS を加え正確に 200 ml とし，これをガラス繊維ろ紙でろ過する。

イムノアフィニティーカラムの内液をからさないように注意して吸引マニュホールドに連結し，リザーバーを取り付ける。先のろ液を 80 ml 分取し，イムノアフィニティーカラムに負荷する。流速は毎秒 1,2 滴になるように調整し，カラムは乾燥させないようにする。続いて 0.01 mol/L 酢酸アンモニウム溶液 5 ml でカラムを洗

浄し，メタノール及び酢酸の混液(99:1)5 ml で溶出する。この溶出液を 40 ℃で減圧濃縮乾固し，残渣を水，メタノール及び酢酸の混液(70:30:1) 1 ml に溶解して試験溶液とする。

④茶葉

試料約 2.5 g を 200 ml 容遠心管に採取し，アセトニトリル，水及び塩酸の混液(8:1:1)100 ml を正確に加えて 30 分間振とう抽出後，2,500 r/min で 5 分間遠心分離する。上澄み液 2.5 ml を正確に分取し，アセトニトリル，水及び塩酸の混液(8:1:1)7.5 ml，硫酸アンモニウム 2 g を加えて 5 分間振とうする。2,500 r/min で 5 分間遠心分離した後，上層(アセトニトリル層)を分取する。

予め水 10 ml，メタノール 10 ml 及びアセトニトリル 10 ml で予備洗浄した Bond Elut DEA カートリッジカラムに先の分取液を負荷する。アセトン及びアセトニトリルの混液(1:1)10 ml，80 %メタノール及び酢酸の混液(99:1)10 ml でカラムを洗浄し，80 %メタノール及びトリフルオロ酢酸の混液(99:1)10 ml で溶出する。この溶出液を 40 ℃で減圧濃縮乾固し，残渣をメタノール約 2 ml に溶解する。これを PBS で希釈し正確に 50 ml とした後，ガラス繊維ろ紙でろ過する。

イムノアフィニティーカラムの内液をからさないように注意して吸引マニュホールドに連結し，リザーバーを取り付ける。先のろ液を 40 ml 分取し，イムノアフィニティーカラムに負荷する。流速は毎秒 1,2 滴になるように調整し，カラムは乾燥させないようにする。続いて 0.01 mol/L 酢酸アンモニウム溶液 5 ml でカラムを洗浄し，メタノール及び酢酸の混液(99:1)5 ml で溶出する。この溶出液を 40 ℃で減圧濃縮乾固し，残渣を水，メタノール及び酢酸の混液(70:30:1) 0.5 ml に溶解して試験溶液とする。

4) 高速液体クロマトグラフ操作条件

ポ ン プ：NANOSPACE SI-2［株式会社　資生堂］
検 出 器：分光蛍光検出器 NANOSPACE SI-2［株式会社　資生堂］
カ ラ ム：Mightysil RP-18 GP (内径4.6 mm, 長さ150 mm, 粒径5 μm)
［関東化学株式会社］
カラム温度： 40 ℃
移 動 相： 水，アセトニトリル及び酢酸の混液(510:480:10)
流　　量： 0.8 ml/min
測定波長： Ex 333 nm Em 460 nm
注 入 量： 50 μl

5)　標準溶液の調製

OTA標準品5 mgにメタノールを加えて溶解し，50 mlに定容して100 μg/mlの標準原液を調製する。この原液1 mlを正確に分取し，濃縮乾固したものに，トルエン及び酢酸の混液(99:1)を10 ml加え超音波処理を行ってよく溶解し，10 μg/mlの溶液を調製する。この溶液について，分光光度計[U-2000形 株式会社 日立製作所]及び1 cm石英セルを用い，トルエン及び酢酸の混液(99:1)を対照として333 nmにおける吸光度を測定し，得られた値を用い，次式からファクターを算出する。更に標準原液を適宜水，メタノール及び酢酸の混液(70:30:1)で希釈し，検量線用標準溶液(0.025～1 ng/ml)を調製する。

$$\text{OTA 標準原液のファクター} = \frac{A \times MW \times 1000}{\varepsilon \times 10}$$

A　：吸光度

MW：分子量＝403

ε　：トルエン及び酢酸の混液(99:1)におけるモル吸光係数＝5440

6)　検量線の作成

標準溶液 50 μl を高速液体クロマトグラフに注入し，得られた OTA のピーク高さと標準溶液の OTA の濃度から検量線を作成する。

7)　高速液体クロマトグラフ法による測定

試験溶液 50 μl を高速液体クロマトグラフに注入し，得られた OTA のピーク高さと 6)の検量線から試験溶液中の OTA 濃度を求め，試料中の濃度を算出する。

8)　検出限界及び定量限界の設定

牛肝臓及び茶には試料中の OTA 濃度が 0.5 ng/g になるように，ベビーフードには 0.05 ng/g になるように添加し，7 回の測定を実施した(表-22 参照)。検出限界は標準偏差の 3 倍，定量限界は 10 倍とすると，牛肝臓及び茶は設定予定の定量限界 0.5 ng/g の定量が，ベビーフードは設定予定の定量限界 0.05 ng/g の定量が可能であると判断された。

表-22　検出限界及び定量限界の確認

(ng/g)

	牛肝臓	茶	ベビーフード
1	0.441	0.268	0.0398
2	0.461	0.256	0.0380
3	0.430	0.312	0.0408
4	0.430	0.278	0.0380
5	0.407	0.306	0.0380
6	0.421	0.334	0.0358
7	0.489	0.380	0.0404
平均	0.439	0.304	0.0380
標準偏差(σ)	0.027	0.042	0.001
3σ	0.081	0.126	0.003
10σ	0.27	0.42	0.01

9)　添加回収試験(1)

牛肝臓及び茶には試料中の OTA 濃度が 5 ng/g 及び 0.5 ng/g になるように，ベビーフードには 0.5 ng/g 及び 0.05 ng/g になるように添加し，本分析法の操作にしたがって，添加回収試験(繰り返し 7 回)を実施して標準偏差(ばらつき)を求めた(表-23 参照)。

表-23　添加回収試験の結果

(%)

	牛肝臓		茶		ベビーフード	
添加濃度(ng/g)	5	0.5	5	0.5	0.5	0.05
1	73.7	88.2	69.3	53.6	86.1	79.6
2	74.5	92.2	76.0	51.2	100.1	76.0
3	70.4	86.0	73.6	62.4	80.8	81.6
4	70.3	86.0	84.2	55.6	78.2	76.0
5	71.2	81.4	63.2	61.2	69.2	76.0
6	72.7	84.2	86.6	66.8	71.9	71.6
7	73.6	97.8	76.8	76.0	83.8	80.8
平均	72.3	88.0	75.6	61.0	81.4	77.4
標準偏差(σ)	1.7	5.5	8.1	8.6	10.2	3.5

10)　添加回収試験(2)

ベビーフード及び幼児向け食品には試料中のOTA濃度が0.5 ng/gになるように，その他の各試料には5 ng/gになるように添加し，回収試験を実施した(表-24参照)。

表-24　添加回収試験の結果

(%)

食　品	回収率
オリーブオイル	94.1
オリーブペースト	76.1
ひまわり種子	61.8
養殖エビ	80.1
養殖魚(鰻蒲焼)	82.9
健康食品(プルーンエキス)	91.0
健康食品(アマランサス)	98.8
鶏ささみ	82.1
チキンナゲット	74.0
チーズ	85.0
ピータン	78.8
豚心臓	84.1
レバーペースト	74.0
ハーブ(コリアンダー)	105.4
ハーブ(レモングラス)	91.2
バナバ茶	68.5
ベビーフード(酢豚)	83.5
幼児向け食品(五目ごはん)	98.6
ピーナッツ菓子	87.5
小豆	87.7
テンペ	81.4
乾燥いちじく	79.7
マンジョッカ アマレーラ	81.1
タピオカスターチ	85.4

11)　妨害物質の有無(特異性)

添加回収試験で用いた試料からは，OTAの測定を妨げるピークは認められなかった。

12)　確認方法

OTAが検出された場合又は妨害ピークが認められた場合には，以下の条件で液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計による測定を行い，確認試験とした。

＜液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計操作条件＞

機　　種：1100 Series[Agilent Technologies]
検 出 器：質量分析計 API-4000[Applied Biosystems]
カ ラ ム：Mightysil RP-18 GP(内径2.0 mm, 長さ150 mm, 粒径5 μm)
　　[関東化学株式会社]
カラム温度： 40 ℃
移 動 相： A液；メタノール　B液；1 %ギ酸
グラジェント溶出条件：(B液の割合) 60 %→10 %(15分間)
流　　量： 0.2 ml/min
注 入 量： 10 μl
イオン化法： ESI　負イオンモード
イオン化電圧： -4500 V
コーン電圧：-80 V
ネブライザガス： 窒素　50 psi
コリュージョンエネルギー：-28 V
コリュージョンガス：窒素
設定質量数： m/z 402.1/358.1

13)　添付資料

①　検量線の一例

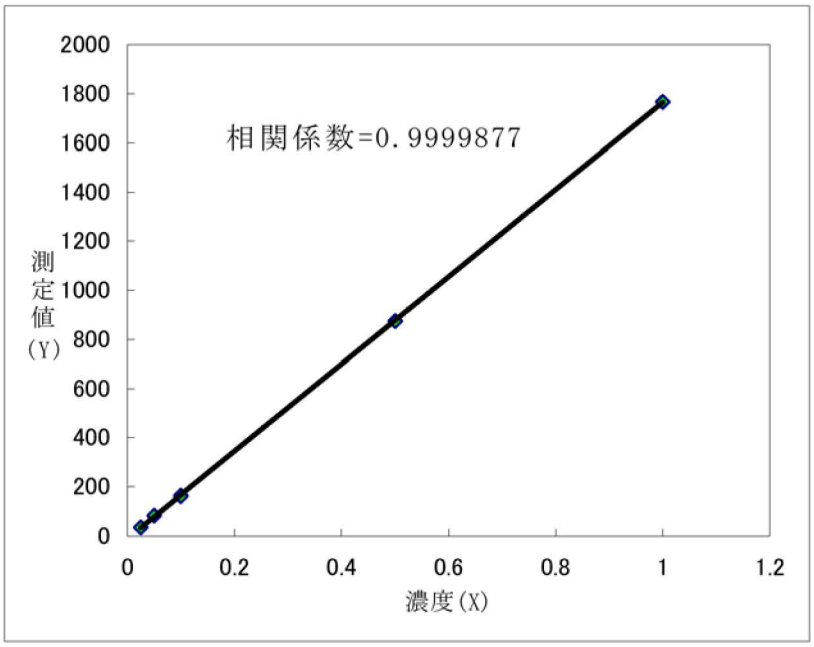

図-1　OTA の検量線の一例

② 標準溶液のクロマトグラム

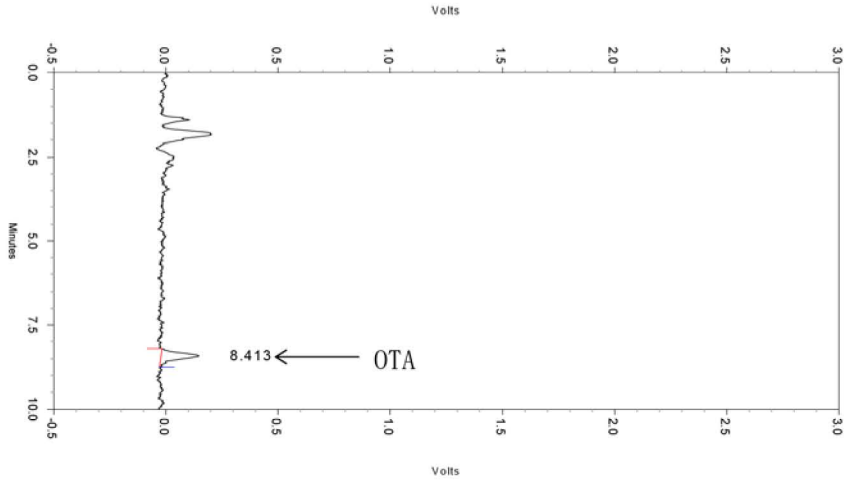

図-2 OTA 標準溶液 0.1 ng/ml

③ 添加回収試験のクロマトグラム(肝臓)

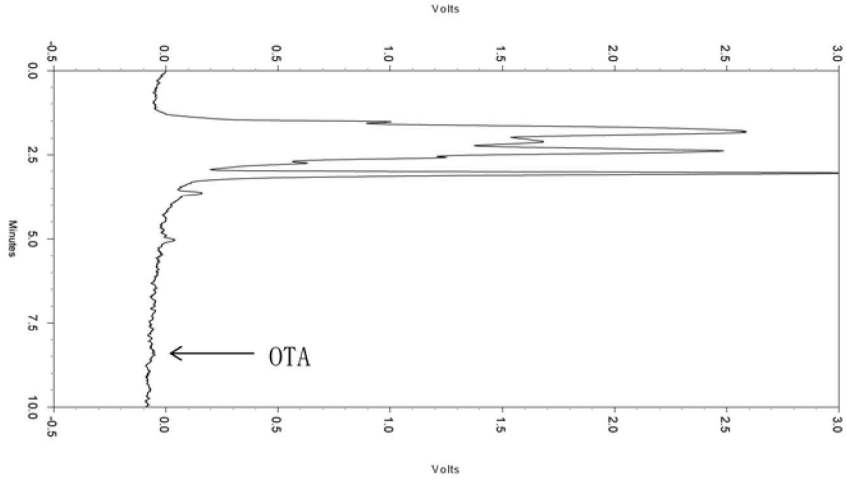

図-3 試料：肝臓(無添加)

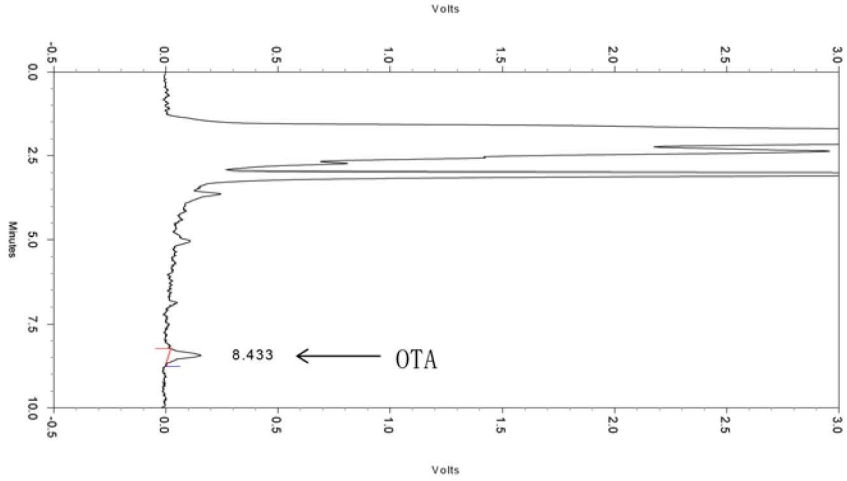

図-4 試料：肝臓(0.5 ng/g 相当添加)

④　標準溶液のクロマトグラム

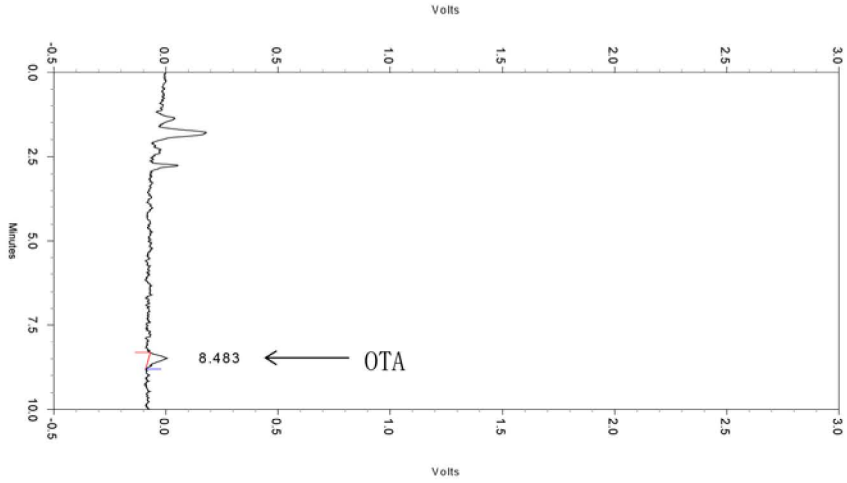

図-5　OTA 標準溶液　0.05 ng/ml

⑤　添加回収試験のクロマトグラム(ベビーフード及び茶)

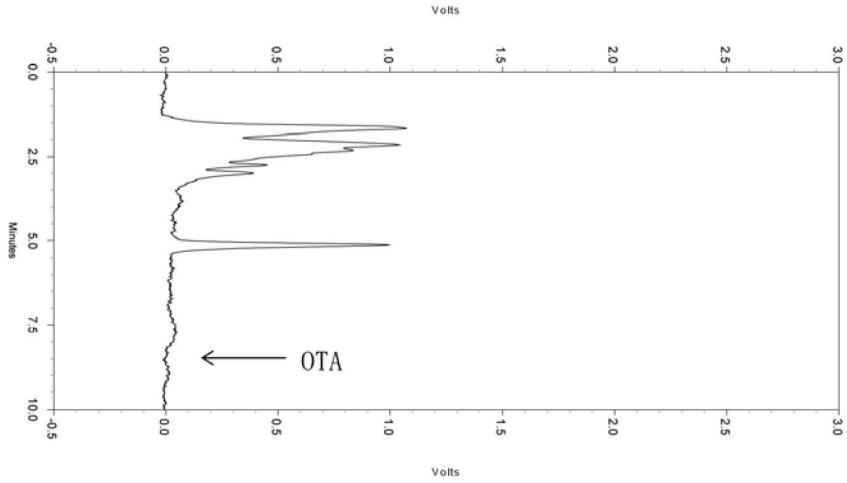

図-6　試料：ベビーフード(無添加)

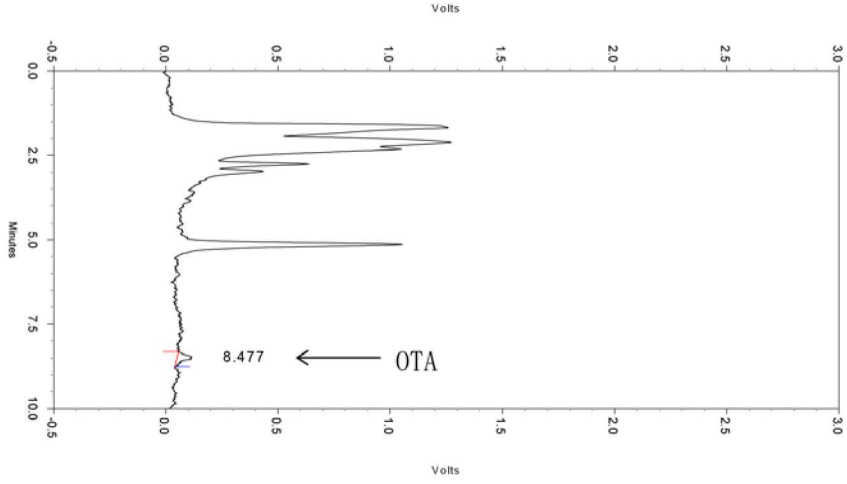

図-7　試料：ベビーフード(0.05 ng/g 相当添加)

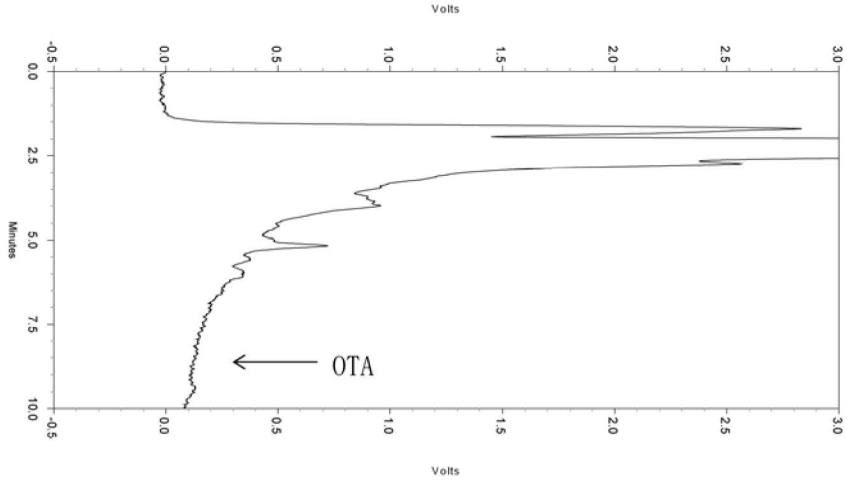

図-8　試料：茶(無添加)

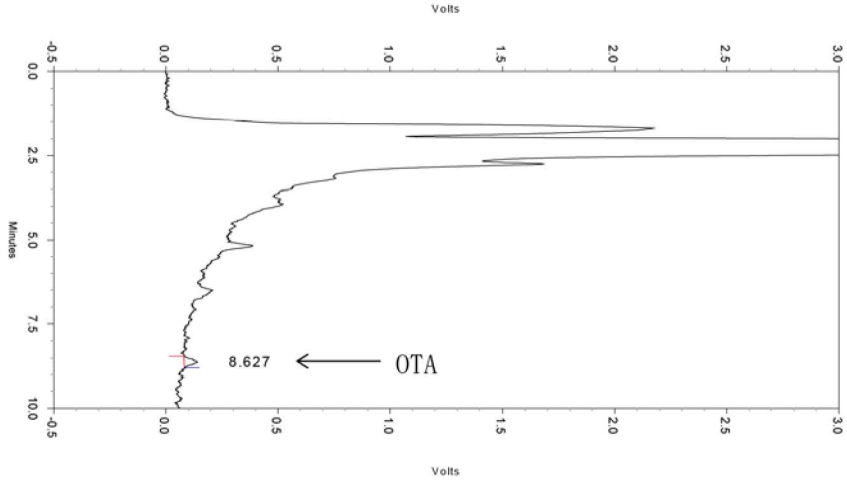

図-9　試料：茶(0.5 ng/g 相当添加)

Ⅱ　アフラトキシン B_1, B_2, G_1, G_2 及び M_1 (AF B_1, B_2, G_1, G_2 及び M_1)

1)　器具及び装置

遠心管(250 ml容)
桐山ロート
ろ紙(No.704)[日本理化学機器株式会社]
ヒスコトロン型ホモジナイザー
吸引瓶
アスピレーター
ガラスロート
ピペット類
メスシリンダー
メスフラスコ
振とう機
分液ロート(300 ml容)
ナス形フラスコ(100 ml容, 200 ml容)
汎用天秤
ロータリーエバポレーター
高速液体クロマトグラフ(蛍光検出器付)
液体クロマトグラフ-質量分析計

2)　試薬及び試液

AF 標準品:B_1, B_2, G_1, G_2 及び M_1[Sigma-Aldrich 社]
水
ジクロロメタン(試薬特級)[関東化学株式会社]
アセトン(試薬特級)[関東化学株式会社]
無水硫酸ナトリウム(試薬特級)[関東化学株式会社]
塩化ナトリウム(試薬特級)[関東化学株式会社]
水酸化カリウム(試薬特級)[関東化学株式会社]
ヘキサン(フタル酸エステル試験用)[関東化学株式会社]
メタノール(残留農薬・PCB 試験用)[関東化学株式会社]
メタノール(HPLC 用)[和光純薬工業株式会社]
アセトニトリル(残留農薬・PCB 試験用)[関東化学株式会社]
アセトニトリル(HPLC 用)[和光純薬工業株式会社]
酢酸アンモニウム[Merck 社]
ハイフロスーパーセル[Sigma-Aldrich 社]
Sep-Pak Plus Florisil [Waters Corporation]
多機能カラム(クリーンアップ用カートリッジカラム):
　Autoprep MF-A 1000[昭和電工株式会社]

1 %塩化ナトリウム溶液及びメタノールの混液(45:55):
塩化ナトリウム 36 g を溶解した水 3,600 ml 及びメタノール(残留農薬・PCB 試験用)4,400 ml を混合する。

0.02 mol/L 水酸化カリウム溶液:水酸化カリウム 1.1 g に水 1 L を加え溶解する。

ジクロロメタン及びメタノールの混液(9:1):ジクロロメタン 900 ml 及びメタノール 100 ml を混合する。

アセトン及び水の混液(97:3):アセトン 970 ml 及び水 30 ml を混合する。

アセトニトリル及び水の混液(9:1):アセトニトリル 900 ml 及び水 100 ml を混合する。

水及びメタノールの混液(6:4):水 1,800 ml 及びメタノール(HPLC 用)1,200 ml を混合する。

水，メタノール及びアセトニトリルの混液(6:3:1)：水 1,800 ml，メタノール(HPLC 用)900 ml 及びアセトニトリル(HPLC 用)300 ml を混合する。

0.01 mol/L 酢酸アンモニウム：酢酸アンモニウム 0.77 g を水に溶かし 1L とする。

3) 試験溶液の調製

① 乳製品・ベビーフード及び幼児向け食品以外の試料

試料約 10 g を 250 ml 容遠心管に採取し，1 %塩化ナトリウム溶液及びメタノールの混液(45:55)100 ml を正確に加える。試料が粉末または液体の場合は 30 分間振とうし，試料が粗い磨砕物や生体試料の場合はホモジナイザーを用いて約 2 分間撹はん抽出を行う。抽出液を吸引ろ過し，ろ液にヘキサン 100 ml を加えて 10 分間振とうする。下層にジクロロメタン 100 ml を加え 5 分間振とう後，下層を別の分液ロートに分取し，上層に再びジクロロメタン 50 ml を加え 5 分間振とうし，下層を合わせる。これに 0.02 mol/L 水酸化カリウム溶液 25 ml 及び精製水 100 ml を加えて洗浄後，無水硫酸ナトリウムで脱水ろ過し，40 ℃で減圧濃縮乾固する。残渣をジクロロメタン 20 ml に溶解した後，Sep-Pak Plus Florisil に負荷し，ジクロロメタン及びメタノールの混液(9:1)20 ml で洗浄後，アセトン及び水の混液(97:3)30 ml で溶出する。溶出液に少量のアセトニトリルを加え，40 ℃で減圧濃縮乾固後，残渣をアセトニトリル及び水の混液(9:1)2 ml に溶解したものを試験溶液とする。必要に応じて試験溶液を多機能カラム Autoprep MF-A 1000 に負荷し，流出液約 1 ml を試験溶液とする。

なお，クロマトグラム上に妨害物質が認められる場合は，適宜希釈を行う。

② ベビーフード及び幼児向け食品

試料約 10 g を 250 ml 容遠心管に採取し，1 %塩化ナトリウム溶液及びメタノールの混液(45:55)100 ml を正確に加え，30 分間振とう抽出を行う。抽出液を吸引ろ過し，ろ液にヘキサン 100 ml を加えて 10 分間振とうする。下層にジクロロメタン 100 ml を加え 5 分間振とう後，下層を別の分液ロートに分取し，上層に再びジクロロメタン 50 ml を加え 5 分間振とうし，下層を合わせる。

これに 0.02 mol/L 水酸化カリウム溶液 25 ml 及び精製水 100 ml を加えて洗浄後，無水硫酸ナトリウムで脱水ろ過し，40 ℃で減圧濃縮乾固する。残渣をジクロロメタン 20 ml に溶解した後，Sep-Pak Plus Florisil に負荷し，ジクロロメタン及びメタノールの混液(9:1)20 ml で洗浄後，アセトン及び水の混液(97:3)30 ml で溶出する。溶出液に少量のアセトニトリルを加え，40 ℃で減圧濃縮乾固後，残渣をアセトニトリル及び水の混液(9:1)1 ml に溶解して試験溶液とする。

③ 乳製品(加工品)

試料約 10 g を 250 ml 容遠心管に採取し，1 %塩化ナトリウム溶液及びメタノールの混液(45:55)100 ml を正確に加え，ホモジナイザーを用いて約 2 分間撹はん抽出を行う。抽出液を吸引ろ過し，ろ液にヘキサン 100 ml を加えて 10 分間振とうする。下層にジクロロメタン 100 ml を加え 5 分間振とう後，下層を別の分液ロートに分取し，上層に再びジクロロメタン 50 ml を加え 5 分間振とうし，下層を合わせる。これに 0.02 mol/L 水酸化カリウム溶液 25 ml 及び精製水 100 ml を加えて洗浄後，無水硫酸ナトリウムで脱水ろ過し，40 ℃で減圧濃縮乾固する。残渣をジクロロメタン 20 ml に溶解した後，Sep-Pak Plus Florisil に負荷し，ジクロロメタン及びメタノールの混液(9:1)20 ml で洗浄後，アセトン及び水の混液(97:3)30 ml で溶出する。溶出液に少量のアセトニトリルを加え，40 ℃で減圧濃縮乾固後，残渣をアセトニトリル 1 ml に溶解して試験溶液とする。

4) 機器操作条件

① 高速液体クロマトグラフ操作条件-1 (AF B_1, B_2, G_1 及び G_2)

機　　種：LC-10ADvp[株式会社　島津製作所] (PHRED フォトケミカルリアクター装着)
検 出 器：蛍光検出器 RF-10AXL[株式会社　島津製作所]
カ ラ ム：Mightysil RP-18 GP(内径 4.6 mm, 長さ 250 mm, 粒径 5 μm)
　　[関東化学株式会社]
カラム温度： 40 ℃
移 動 相： 水及びメタノールの混液(6:4)
測定波長： Ex 365 nm　Em 450 nm
流　　量： 0.7 ml/min
注 入 量： 10 μl

② 高速液体クロマトグラフ操作条件-2 (AF M_1)

機　　種：LC-10ADvp[株式会社　島津製作所] (PHRED フォトケミカルリアクター装着)
検 出 器：蛍光検出器 RF-10AXL[株式会社　島津製作所]
カ ラ ム：Mightysil RP-18 GP(内径 4.6 mm, 長さ 250 mm, 粒径 5 μm)
　　[関東化学株式会社]
カラム温度： 40 ℃
移 動 相： 水, メタノール及びアセトニトリルの混液(6:3:1)

測定波長： Ex 365 nm　Em 450 nm
流　　量： 0.7 ml/min
注 入 量： 10 μl

③ 液体クロマトグラフ-質量分析計操作条件

機　　種：LC-20AD[株式会社　島津製作所]
検 出 器：4000-Q-TRAP[Applied Biosystems]
カ ラ ム：ZORBAX Eclipse XDB-C18
（内径2.1 mm，長さ150 mm，粒径5μm）[Agilent Technologies Inc.]
カラム温度： 40 ℃
移 動 相：A液；0.01 mol/L酢酸アンモニウム
B液；アセトニトリル
グラジェント溶出条件：(B液の割合)10 %→80 %(20分間)
流　　量： 0.2 ml/min
注 入 量： 10 μl
イオン化法：ESI 正イオンモード
イオン化電圧：5000 V
ネブライザーガス：窒素
コリュージョンガス：窒素，650 ℃
コリュージョンエネルギー： AF B_1;33 V，AF B_2;37 V，AF G_1;39 V，AF G_2;35 V
コーン電圧： AF B_1;101 V，AF B_2;106 V，AF G_1;91 V，AF G_2;96 V
設定質量数： AF B_1；m/z　285.1/313.1，AF B_2；m/z　287.1/315.1
AF G_1；m/z　243.1/329.1，AF G_2；m/z 313.1/331.1

5)　標準溶液の調製

AF B_1，B_2，G_1及びG_2の各標準品1 mgにそれぞれアセトニトリルを加えて溶解し，200 mlに定容して5 μg/mlの標準原液を調製する。この原液を混合し，アセトニトリル及び水の混液(9:1)で適宜希釈し，AF検量線用混合標準溶液(0.05～10 ng/ml)を調製する。また，AF M_1の標準品0.01 mgにアセトニトリルを加えて溶解し，100 mlに定容して100 ng/mlの標準原液を調製する。この標準原液をアセトニトリルで適宜希釈し，AF M_1検量線用標準溶液(0.5～20 ng/ml)を調製する。

6)　検量線の作成

AF 混合標準溶液及び AF M_1 標準溶液 10 μl を高速液体クロマトグラフに注入し，得られた目的対象物質のピーク高さと標準溶液の目的対象物質の濃度から検量線を作成する。また，AF 混合標準溶液 10 μl を液体クロマトグラフ-質量分析計に注入し，得られた目的対象物質のピークの高さと標準溶液の目的対象物質の濃度から検量線を作成する。

7)　高速液体クロマトグラフ法による測定

ベビーフード及び幼児向け食品以外の試験溶液 10 μl を高速液体クロマトグラフに注入し，得られた目的対象物質のピーク高さと 6)の検量線から，試験溶液中の目的対象物質の濃度を求め，試料中の濃度を算出する。また，ベビーフード及び幼児向け食品の試験溶液 10 μl を液体クロマトグラフ-質量分析計に注入し，得られた目的対象物質のピーク高さと 6)の検量線から，試験溶液中の目的対象物質の濃度を求め，試料中の濃度を算出する。

8)　検出限界及び定量限界の設定

レモングラスに試料中の AF B_1，B_2，G_1 及び G_2 の濃度が 0.1 ng/g になるように添加し，7 回の測定を実施した結果を表-25 に示した。また，ベビーフードに試料中の AF B_1，B_2，G_1 及び G_2 の濃度が 0.01 ng/g になるように添加し，7 回の測定を実施した結果を表-26 に示した。検出限界は標準偏差の 3 倍，定量限界は 10 倍とすると，ベビーフード及び幼児向け食品で定量限界 0.01 ng/g，その他食品で定量限界 0.1 ng/g の定量が可能であると判断された。

また，チーズに試料中の AF M_1 の濃度が 0.1 ng/g になるように添加し，7 回の測定を実施した結果を表-27 に示した。検出限界は標準偏差の 3 倍，定量限界は 10 倍とすると，定量限界 0.1 ng/g の定量が可能であると判断された。

表-25　検出限界及び定量限界の確認(レモングラス)

(ng/g)

	AF			
	B_1	B_2	G_1	G_2
1	0.066	0.063	0.054	0.064
2	0.060	0.062	0.059	0.066
3	0.068	0.067	0.052	0.061
4	0.063	0.062	0.051	0.059
5	0.067	0.065	0.058	0.067
6	0.063	0.062	0.055	0.062
7	0.059	0.062	0.054	0.063
平均	0.063	0.063	0.054	0.063
標準偏差(σ)	0.0034	0.0019	0.0029	0.0027
3σ	0.01	0.01	0.01	0.01
10σ	0.03	0.02	0.03	0.03

表-26　検出限界及び定量限界の確認(ベビーフード)

(ng/g)

	AF			
	B_1	B_2	G_1	G_2
1	0.0051	0.0074	0.0071	0.0074
2	0.0062	0.0073	0.0073	0.0069
3	0.0054	0.0065	0.0059	0.0063
4	0.0057	0.0068	0.0075	0.0055
5	0.0057	0.0072	0.0073	0.0059
6	0.0055	0.0071	0.0071	0.0066
7	0.0043	0.0057	0.0061	0.0063
平均	0.0054	0.0068	0.0069	0.0064
標準偏差(σ)	0.00059	0.00059	0.00063	0.00062
3σ	0.002	0.002	0.002	0.002
10σ	0.006	0.006	0.006	0.006

表-27　検出限界及び定量限界の確認(チーズ)

(ng/g)

	AF M_1
1	0.064
2	0.073
3	0.060
4	0.054
5	0.064
6	0.066
7	0.066
平均	0.063
標準偏差(σ)	0.0058
3σ	0.02
10σ	0.06

9) 添加回収試験(1)

レモングラスに AF B_1, B_2, G_1 及び G_2 濃度が 0.1 ng/g 及び 1 ng/g になるように標準溶液を添加し，本分析法の操作にしたがって，添加回収試験(繰り返し 7 回)を実施して標準偏差(ばらつき)を求めた(表-28 参照)。同様にして，ベビーフードに濃度が 0.01 ng/g 及び 0.1 ng/g になるように添加し，添加回収試験を実施して標準偏差(ばらつき)を求めた(表-29 参照)。

更に AF M_1 についても同様に，チーズに濃度が 0.1 ng/g 及び 1 ng/g になるように添加し，添加回収試験を実施して標準偏差(ばらつき)を求めた(表-30 参照)。

表-28　添加回収試験の結果(レモングラス)

(%)

添加濃度(ng/g)	0.1				1			
AF	B_1	B_2	G_1	G_2	B_1	B_2	G_1	G_2
1	66.3	63.3	54.3	64.4	66.9	65.8	62.3	69.9
2	60.7	62.9	59.0	66.1	68.6	67.3	65.6	72.9
3	68.4	67.2	52.4	61.6	66.6	65.6	59.0	66.8
4	63.5	62.6	51.8	59.1	69.9	68.3	61.2	70.1
5	67.6	65.2	58.1	67.2	64.7	63.1	57.6	64.7
6	63.0	62.7	55.5	63.0	66.1	64.3	56.5	64.6
7	60.0	62.6	54.6	63.1	68.5	67.3	58.7	68.5
平均	64.2	63.7	55.1	63.5	67.3	65.9	60.1	68.2
標準偏差(σ)	3.3	1.8	2.7	2.7	1.8	1.8	3.1	3.1

表-29　添加回収試験の結果(ベビーフード)

(%)

添加濃度(ng/g)	0.01				0.1			
AF	B_1	B_2	G_1	G_2	B_1	B_2	G_1	G_2
1	51.6	74.0	71.8	74.7	53.7	70.3	47.7	76.4
2	62.7	73.1	73.9	69.4	45.2	65.5	36.1	64.8
3	54.9	65.1	59.4	63.2	53.8	76.8	45.8	75.3
4	57.4	68.7	75.9	55.9	47.0	66.1	33.6	68.2
5	57.7	72.5	73.4	59.1	62.9	78.3	45.7	79.4
6	55.6	71.6	71.5	66.9	51.3	73.6	37.6	73.8
7	43.6	57.4	61.9	63.6	72.1	84.3	52.2	68.5
平均	54.7	68.9	69.6	64.6	55.1	73.5	42.6	72.3
標準偏差(σ)	6.0	5.9	6.4	6.3	9.4	6.8	6.9	5.3

表-30　添加回収試験の結果(チーズ)

(%)

添加濃度(ng/g)	0.1	1
AF	M_1	
1	64.6	67.4
2	73.4	72.2
3	60.1	74.9
4	54.4	72.3
5	64.1	73.4
6	66.3	72.1
7	66.8	75.6
平均	64.2	72.5
標準偏差(σ)	5.9	2.7

10) 添加回収試験(2)

試料にAF B_1, B_2, G_1, G_2及びM_1の試料中の濃度が検出限界の10倍になるように添加し，回収試験を実施した(表-31参照)。

表-31　添加回収試験の結果

(%)

食品(例)	回収率				
	B_1	B_2	G_1	G_2	M_1
松の実	62.4	69.5	45.7	67.2	−
養殖エビ	51.0	68.2	40.1	71.0	−
養殖魚(鰻蒲焼)	63.8	66.7	55.4	67.0	−
健康食品(もちあわ)	65.9	67.3	66.1	75.3	−
牛肉	55.1	67.3	54.0	78.0	−
チキンナゲット	65.3	64.8	65.4	79.1	−
チーズ	−	−	−	−	67.6
ゆで卵	54.4	56.7	52.7	62.2	−
鶏心臓	58.7	64.4	58.6	75.9	−
ホルモン	72.8	69.7	70.6	74.2	−
サトウキビ	63.6	67.0	60.0	70.3	−
ハーブ(レモングラス)	60.9	60.2	63.5	68.6	−
紅茶	45.7	45.7	48.3	52.1	−
ベビーフード	37.7	40.2	47.9	64.9	−
幼児用食品	47.5	69.6	50.7	76.0	−
ピーナッツ菓子	70.8	70.8	70.8	77.2	−
テンペ	72.1	75.1	69.8	78.7	−
乾燥いちじく	69.7	76.3	72.6	81.3	−
タピオカスターチ	57.0	67.8	50.2	74.8	−

11)　妨害物質の有無(特異性)

添加回収試験で用いた試料からは，AF B_1，B_2，G_1，G_2及びM_1の測定を妨げるピークは認められなかった。

12) 添付資料

① 検量線の一例

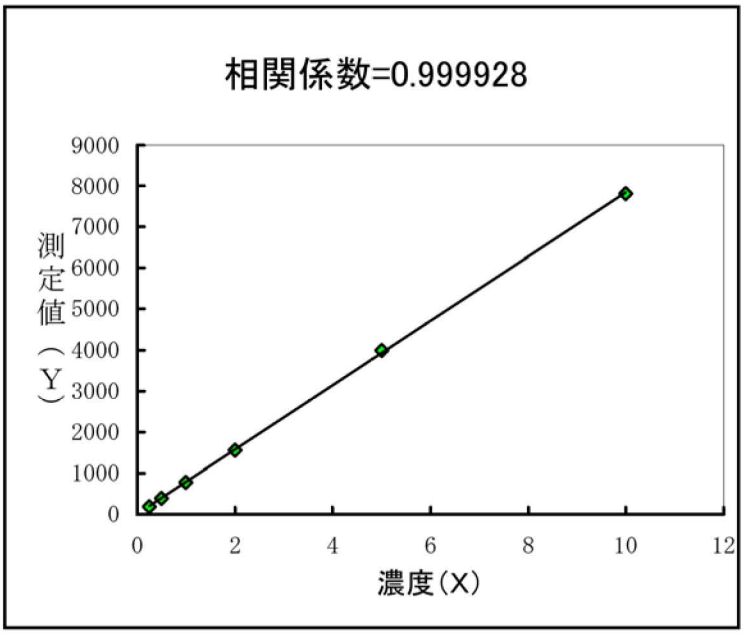

図-10 AF B_1 の検量線の一例（ベビーフード及び幼児向け食品以外）

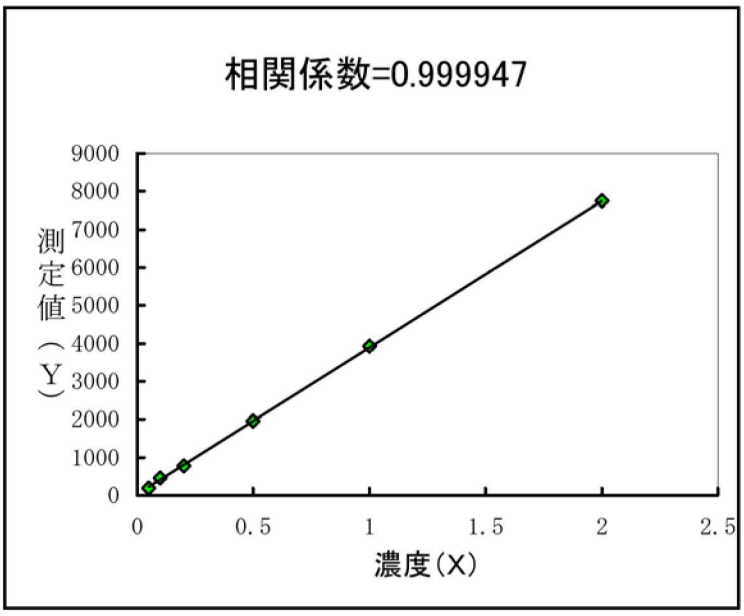

図-11 AF B_1 の検量線の一例（ベビーフード及び幼児向け食品）

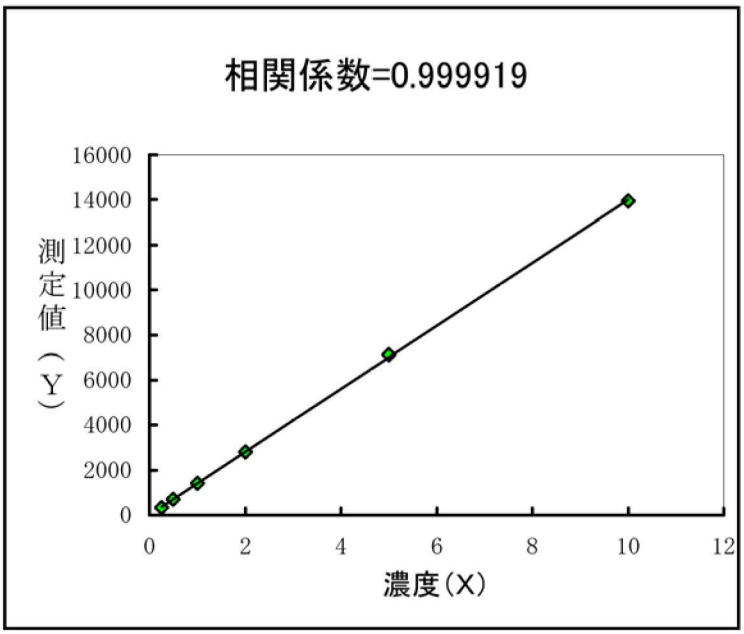

図-12　AF B_2の検量線の一例(ベビーフード及び幼児向け食品以外)

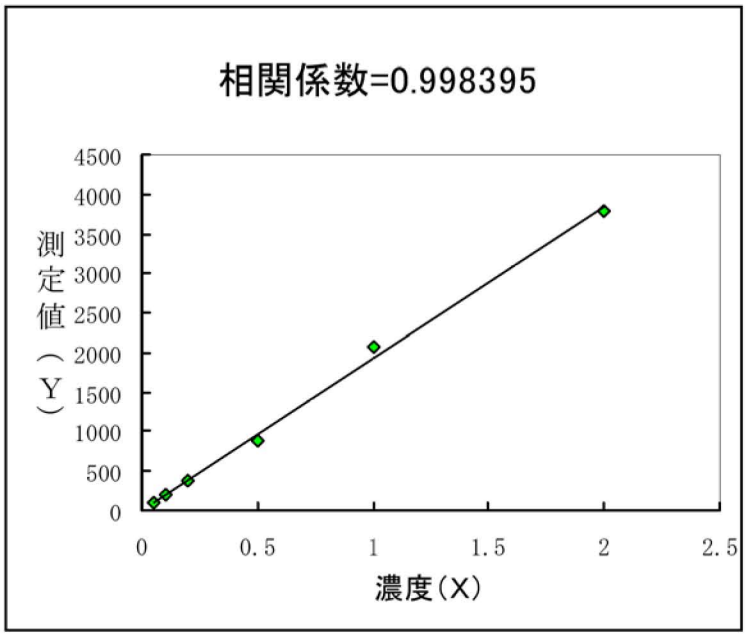

図-13　AF B_2の検量線の一例(ベビーフード及び幼児向け食品)

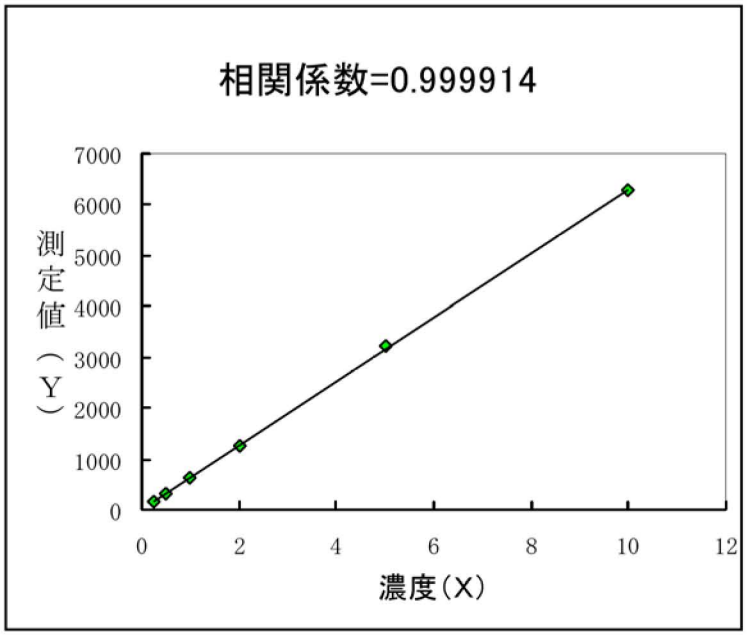

図-14　AF G_1 の検量線の一例(ベビーフード及び幼児向け食品以外)

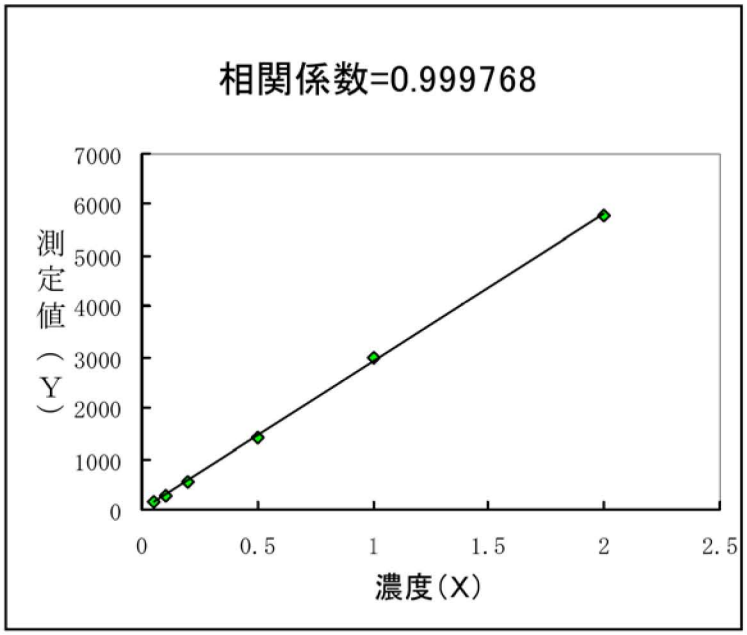

図-15　AF G_1 の検量線の一例(ベビーフード及び幼児向け食品)

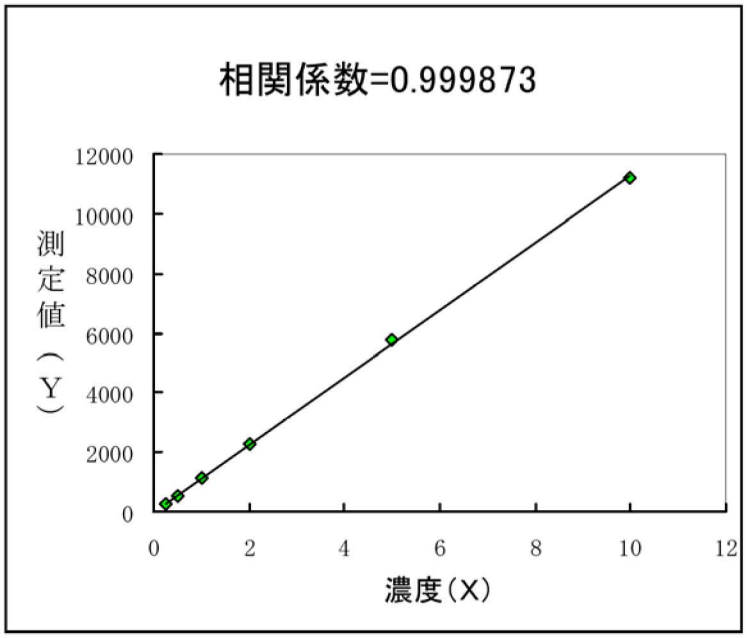

図-16　AF G_2の検量線の一例(ベビーフード及び幼児向け食品以外)

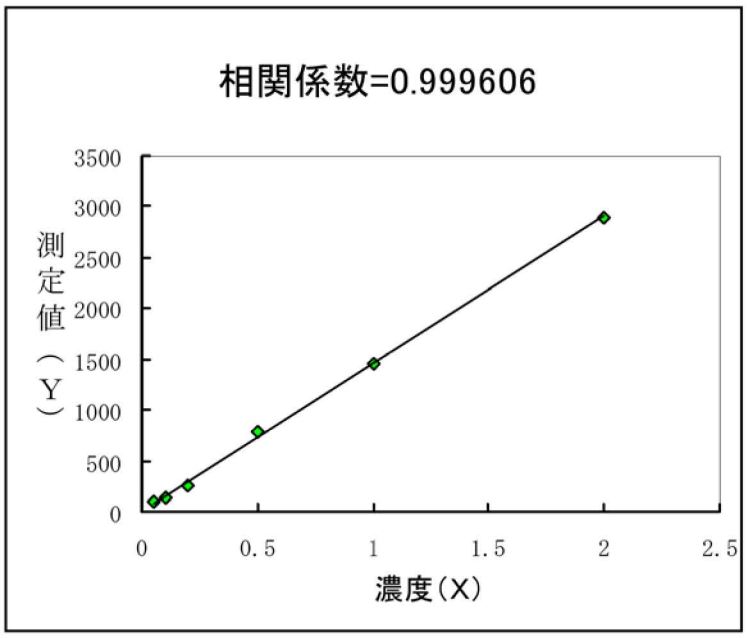

図-17　AF G_2の検量線の一例(ベビーフード及び幼児向け食品)

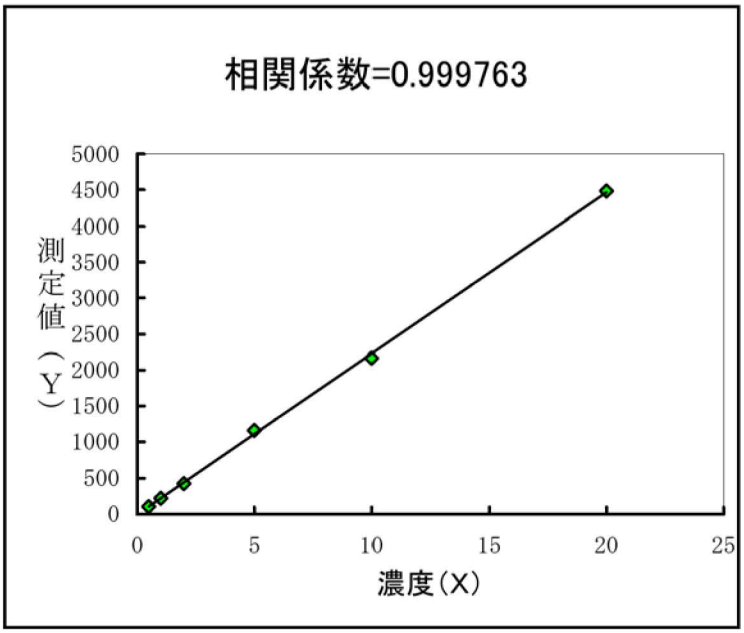

図-18　AF M_1 の検量線の一例

② 高速液体クロマトグラムの一例

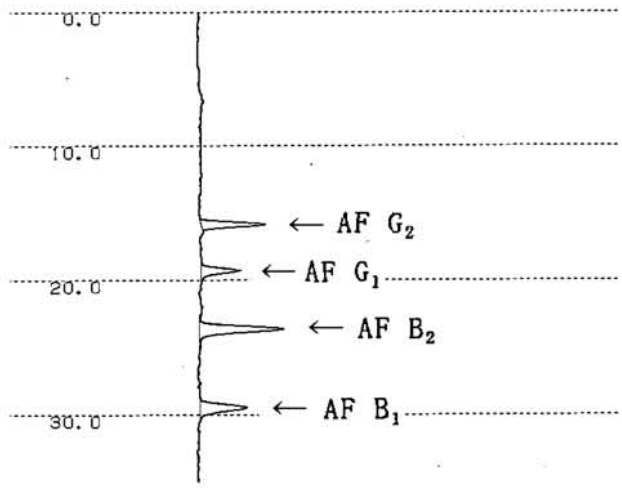

図-19　AF 混合標準溶液 0.5 ng/ml

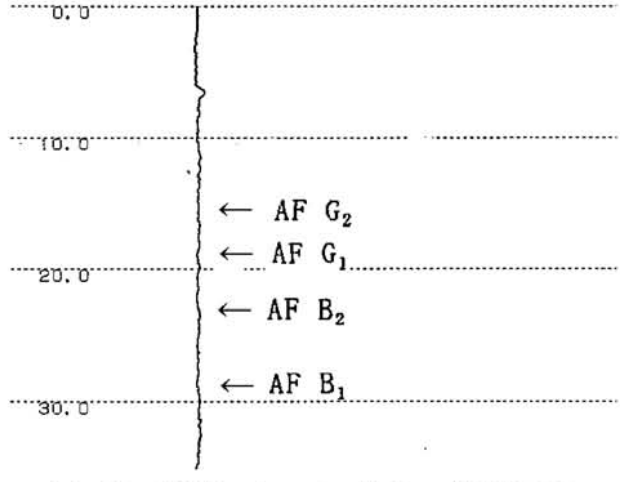

図-20　試料：レモングラス(無添加)

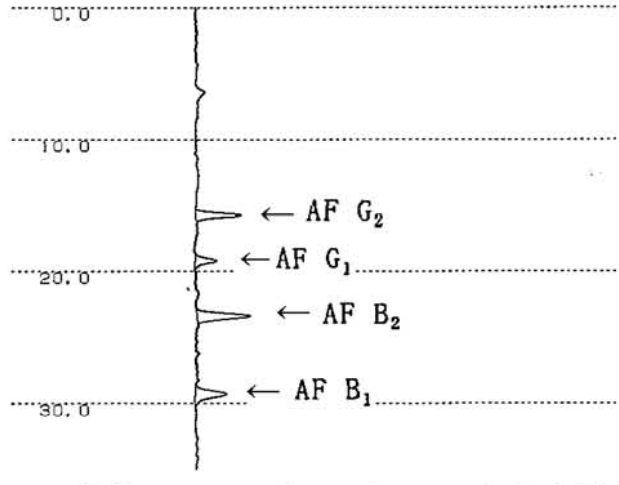

図-21　試料：レモングラス(0.1 ng/g 相当添加)

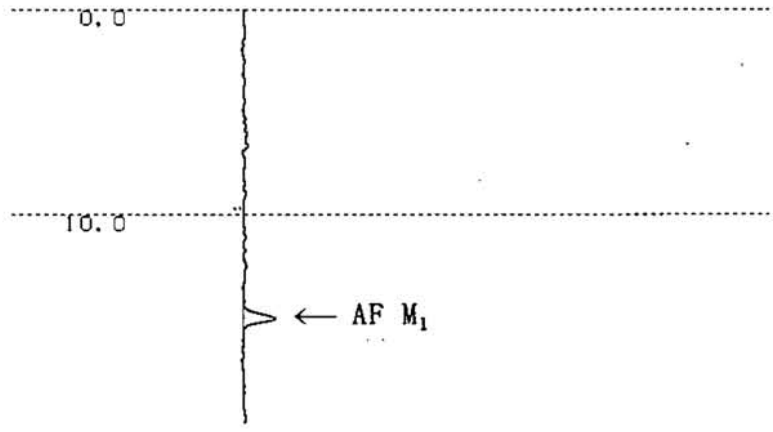

図-22　AF M_1標準溶液 1 ng/ml

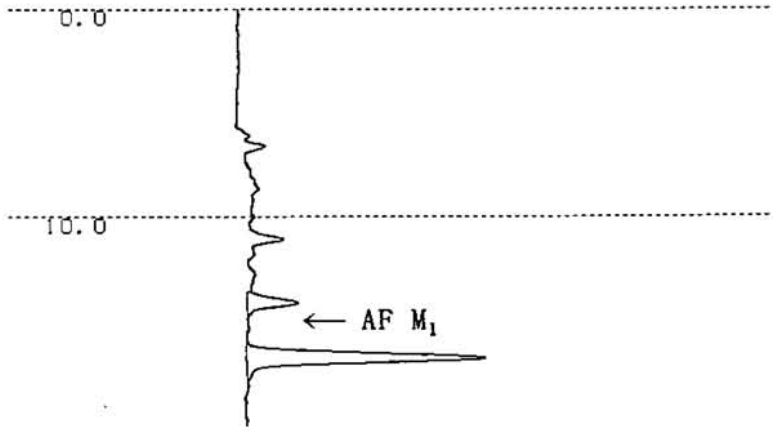

図-23　試料：チーズ(無添加)

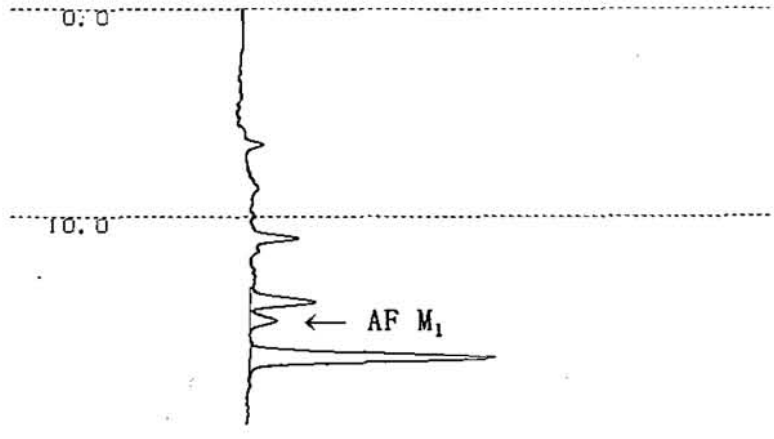

図-24　試料：チーズ(0.1 ng/g相当添加)

③ マスフラグメントグラムの一例

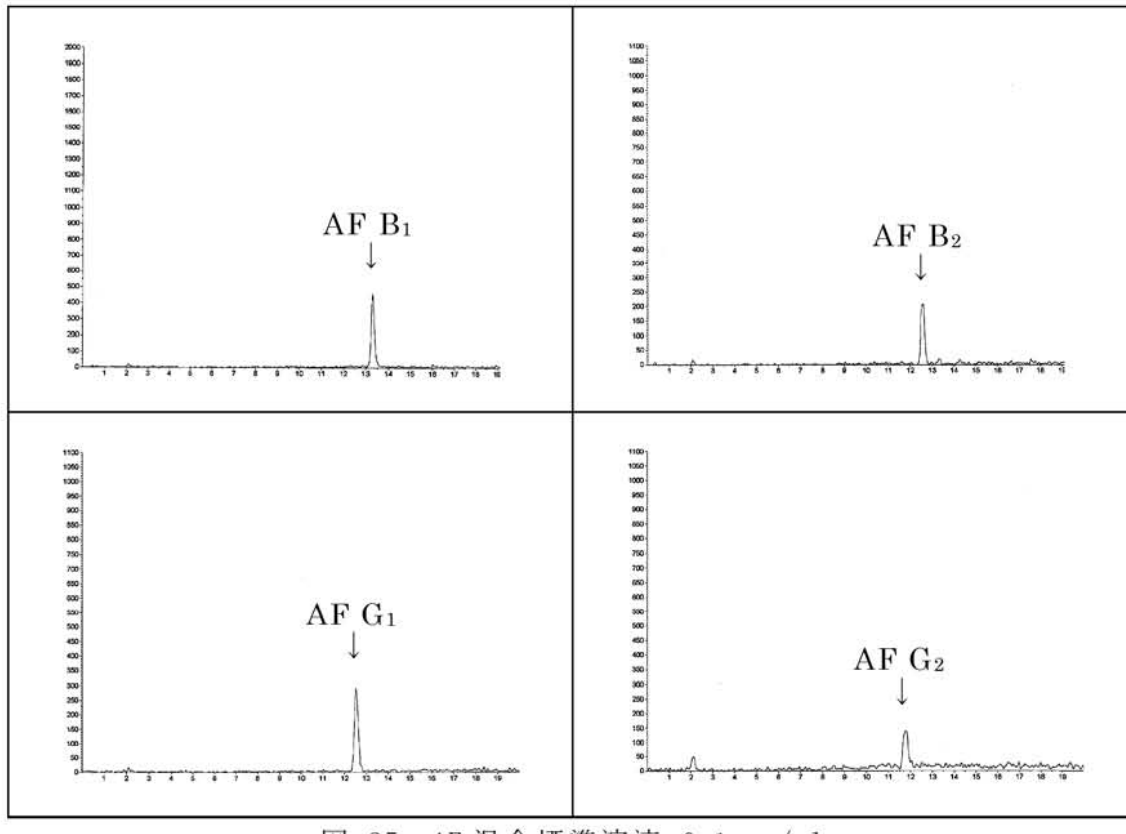

図-25　AF 混合標準溶液 0.1 ng/ml

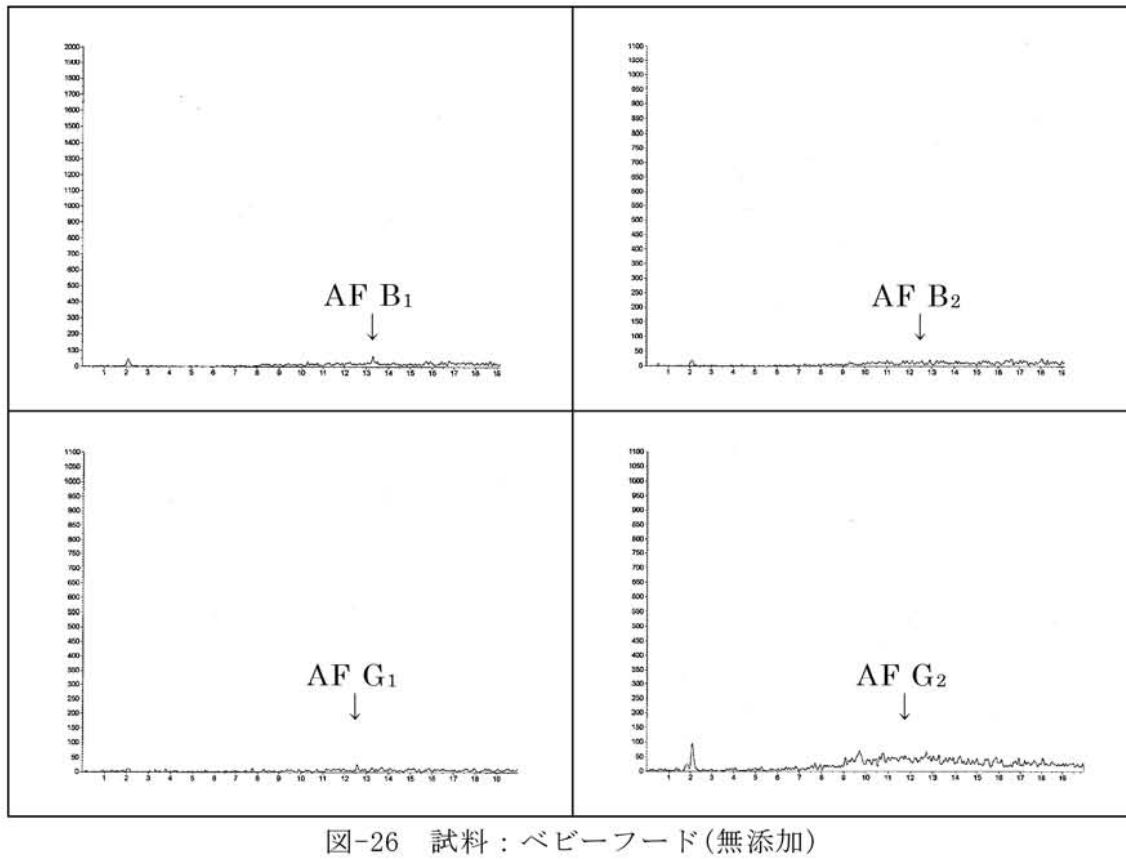

図-26　試料：ベビーフード(無添加)

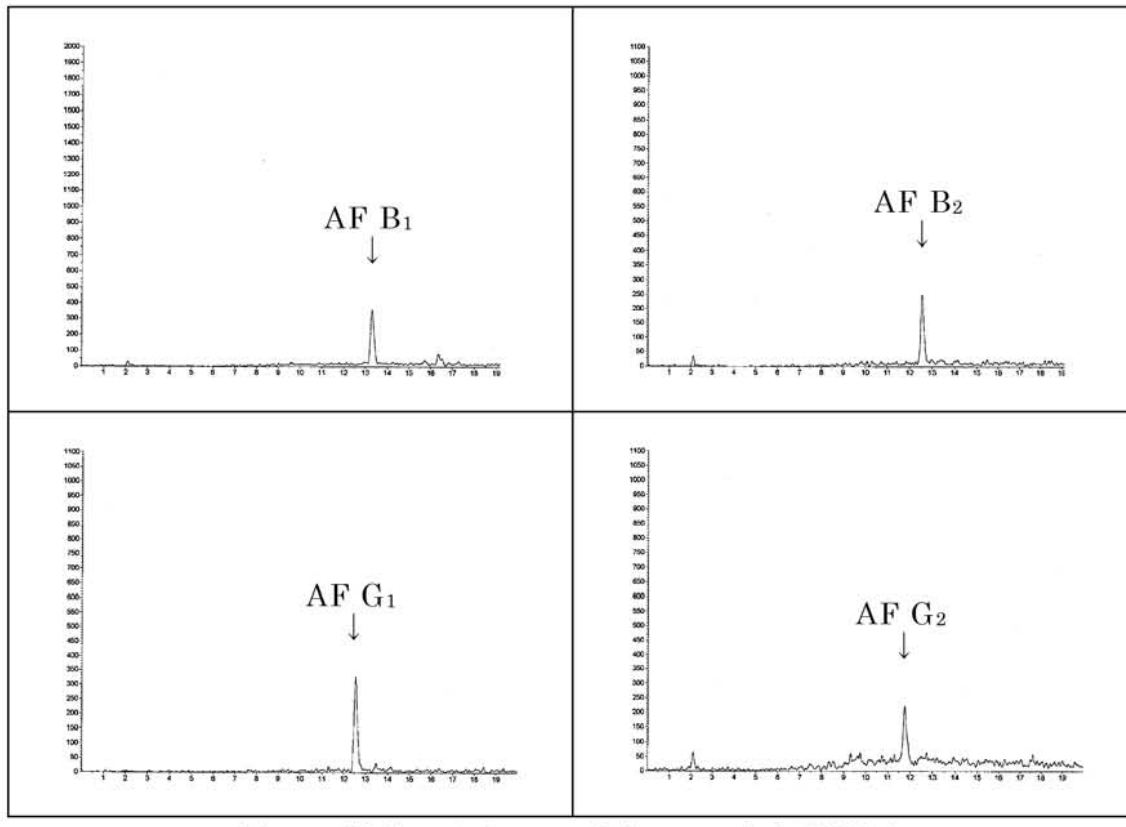

図-27　試料：ベビーフード(0.01 ng/g相当添加)

Ⅲ　ゼアラレノン(ZEN)及びゼアラレノール(Zel)

1)　器具及び装置

遠心管(50, 100及び250 ml容)
分液ロート(300 ml容)
ナス形フラスコ(200, 300 ml容)
ガラス管カラム(内径15 mm, 長さ350 mm)
ガラスロート
ピペット類
メスシリンダー
リザーバー及びジョイント
ろ紙(No.5A)[ADVANTEC社]
ガラス繊維ろ紙(GF/C)[Whatman社]
ヒスコトロン型ホモジナイザー
化学天秤
汎用天秤
振とう機
遠心分離機
ロータリーエバポレーター
pH メーター
高速液体クロマトグラフ(蛍光検出器付)
液体クロマトグラフ-質量分析計

2)　試薬及び試液

ZEN 標準品[Sigma-Aldrich 社]
α-Zel 標準品[Sigma-Aldrich 社]
β-Zel 標準品[Sigma-Aldrich 社]
水
アセトニトリル(残留農薬・PCB 試験用及び HPLC 用)[和光純薬工業株式会社]
メタノール(残留農薬・PCB 試験用及び HPLC 用)[和光純薬工業株式会社]
ヘキサン(残留農薬・PCB 試験用)[和光純薬工業株式会社]
りん酸水素二ナトリウム(試薬特級)[小宗化学薬品株式会社]
りん酸二水素ナトリウム(試薬特級)[小宗化学薬品株式会社]
りん酸二水素カリウム(試薬特級)[和光純薬工業株式会社]
酢酸アンモニウム(試薬特級)[関東化学株式会社]
りん酸(試薬特級)[関東化学株式会社]
フロリジール PR[和光純薬工業株式会社]
Sep-Pak Plus C18[Waters Corporation]
イムノアフィニティーカラム(ZearalaTest WB)[VICAM 社]

0.02 mol/L りん酸緩衝液(pH5.0)：0.02 mol/L りん酸二水素ナトリウム溶液(水1Lにりん酸二水素ナトリウム 2.40 g を溶解したもの)に 0.02 mol/L りん酸水素二ナトリウム溶液(水 1 L にりん酸水素二ナトリウム 2.84 g を溶解したもの)を加えて pH を 5.0 に調整する。

0.02 mol/L りん酸緩衝液(pH5.0)及び水の混液(4：6)：0.02 mol/L りん酸緩衝液(pH5.0)200 ml と水 300 ml を混合する。

0.1 mol/L りん酸二水素カリウム溶液(pH3.5)：りん酸二水素カリウム 6.80 g を水 500 ml に溶解し，りん酸を加えて pH を 3.5 に調整する。

0.01 mol/L 酢酸アンモニウム溶液：酢酸アンモニウム 0.77 g を水 1 L に溶解する。

水及びメタノールの混液(6：4)：水 60 ml 及びメタノール(PR 用)40 ml を混合する。

水及びメタノールの混液(3：7)：水 30 ml 及びメタノール(PR 用)70 ml を混合する。

水及びメタノールの混液(1：9)：水 100 ml 及びメタノール(PR 用)900 ml を混合する。

水及びアセトニトリルの混液(1：1)：水 500 ml 及びアセトニトリル(HPLC 用) 500 ml を混合する。

0.1 mol/L りん酸二水素カリウム溶液(pH3.5)，メタノール及びアセトニトリルの混液(10:1:9)：0.1 mol/L りん酸二水素カリウム溶液(pH3.5)500 ml，メタノール(HPLC 用)50 ml 及びアセトニトリル(HPLC 用)450 ml を混合する。

0.1 mol/L りん酸二水素カリウム溶液(pH3.5)，メタノール及びアセトニトリルの混液(11:1:8)：0.1 mol/L りん酸二水素カリウム溶液(pH3.5)550 ml，メタノール(HPLC 用)50 ml 及びアセトニトリル(HPLC 用)400 ml を混合する。

3) 試験溶液の調製

① 動物原料食品(植物原料の食品，ベビーフード及び幼児向け食品以外)

試料約 5 g を 250 ml 容遠心管に採取し，アセトニトリル 30 ml を加えてホモジナイザーを用いて約 3 分間撹はんした後，2,500 r/min で 5 分間遠心分離する。上澄み液を綿栓ろ過し，残留物に再度アセトニトリル 30 ml を加えて 1 分間振とうした後，2,500 r/min で 5 分間遠心分離する。上澄み液を綿栓ろ過して先のろ液と合わせ，ヘキサン 60 ml を加えて 5 分間振とうする。下層を分取し，再度ヘキサン 30 ml(脂肪分が多い場合は 60 ml)を加えて 5 分間振とうする。下層を分取し，あらかじめアセトニトリルによりガラス管カラムに充てんしアセトニトリル 100 ml で洗浄したフロリジール PR(8 g)に負荷する。アセトニトリル 30 ml を続けて流し，先の通過液と合わせて 40 ℃で減圧濃縮乾固する。残留物に 0.02 mol/L りん酸緩衝液(pH5.0)及び水の混液(4：6)10 ml を加えて溶解し，あらかじめメタノール 10 ml，水 10 ml 及び 0.02 mol/L リン酸緩衝液(pH5.0)2 ml で洗浄した Sep-Pak Plus C18 に負荷する。0.02 mol/L リン酸緩衝液(pH5.0)5 ml，水及

びメタノールの混液(6：4)10 ml で洗浄後，水及びメタノールの混液(3：7)10 ml を通し，ゼアラレノンを溶出する。溶出液に水 15 ml を加え，イムノアフィニティーカラムに負荷する。水 5 ml で洗浄後，メタノール 5 ml を通し，ゼアラレノンを溶出する。溶出液を 40 ℃で減圧濃縮乾固後，アセトニトリル及び水の混液(1:1)1 ml に溶解して試験溶液とする。

② 植物原料の食品(種子類，健康食品，ハーブ類，飲料，菓子類，豆類，ドライフルーツ及びキャッサバ)

試料約 10 g を 250 ml 容遠心管に採取し，水及びメタノールの混液(1：9) 50 ml を加えて試料が粉末または液体の場合は 30 分間振とう，粗い磨砕物の場合はホモジナイザーを用いて約 3 分間撹はんする。2,500 r/min で 5 分間遠心分離した後，ろ紙でろ過する。ろ液 5 ml を分取してメタノール 15 ml を加え，さらに水を加えて正確に 50 ml とした後ガラス繊維ろ紙でろ過し，ろ液 25 ml をイムノアフィニティーカラムに負荷する。水 10 ml で洗浄後，メタノール 5 ml を通し，ゼアラレノンを溶出する。溶出液を 40 ℃で減圧濃縮乾固後，アセトニトリル及び水の混液(1:1)0.5 ml に溶解し，試験溶液とする。

③ ベビーフード及び幼児向け食品

試料約 10 g を 250 ml 容遠心管に採取し，アセトニトリル 60 ml を加えてホモジナイザーを用いて約 3 分間撹はんした後，2,500 r/min で 5 分間遠心分離する。上澄み液を綿栓ろ過し，残留物に再度アセトニトリル 30 ml を加えて 1 分間振とうした後，2,500 r/min で 5 分間遠心分離する。上澄み液を綿栓ろ過して先のろ液と合わせ，ヘキサン 60 ml を加えて 5 分間振とうする。下層を分取し，再度ヘキサン 30 ml を加えて 5 分間振とうする。下層を分取し，あらかじめアセトニトリルによりガラス管カラムに充てんしアセトニトリル 100 ml で洗浄したフロリジール PR(8 g)に負荷する。アセトニトリル 30 ml を続けて流し，先の通過液と合わせて 40 ℃で減圧濃縮乾固する。残留物に 0.02 mol/L りん酸緩衝液(pH5.0)及び水の混液(4：6)10 ml を加えて溶解し，あらかじめメタノール 10 ml，水 10 ml 及び 0.02 mol/L リン酸緩衝液(pH5.0)2 ml で洗浄した Sep-Pak Plus C18 に負荷する。0.02 mol/L リン酸緩衝液(pH5.0)5 ml，水及びメタノールの混液(6：4)10 ml で洗浄後，水及びメタノールの混液(3：7)10 ml を通し，ゼアラレノンを溶出する。溶出液に水 15 ml を加え，イムノアフィニティーカラムに負荷する。水 5 ml で洗浄後，メタノール 5 ml を通し，ゼアラレノンを溶出する。溶出液を 40 ℃で減圧濃縮乾固後，アセトニトリル及び水の混液(1:1)1 ml に溶解して試験溶液とする。

4)　高速液体クロマトグラフ操作条件

機　　種：NANOSPACE SI-2［株式会社　資生堂］

検 出 器：分光蛍光検出器 NANOSPACE SI-2［株式会社　資生堂］

カ ラ ム：Mightysil RP-18 GP　(内径 4.6 mm, 長さ 150 mm, 粒径 5 μm)
［関東化学株式会社］

カラム温度：40 ℃

移 動 相：0.1 mol/Lりん酸二水素カリウム溶液(pH3.5), メタノール及びアセトニトリルの混液(10:1:9)

流　　量：0.5 ml/min

測定波長：Ex 274 nm Em 440 nm

注 入 量：50 μl

5)　液体クロマトグラフ-質量分析計操作条件

機　　種：1100 Series[Agilent Technologies]

検 出 器：質量分析計 G1956B[Agilent Technologies]

カ ラ ム：Mightysil RP-18 GP　(内径2.0 mm, 長さ150 mm, 粒径5 μm)
［関東化学株式会社］

カラム温度：40 ℃

移 動 相：A液；0.01 mol/L酢酸アンモニウム溶液
B液；アセトニトリル(HPLC用)

グラジェント条件：(B液の割合) 40 % →15分→ 90 %(5分保持)

流　　量：　0.2 ml/min

注 入 量：　20 μl

イオン化法：ESI　負イオンモード

フラグメンタ電圧：ZEN；180 V,
α-Zel, β-Zel；200 V

ネブライザガス：窒素　40 psi

乾燥ガス：　窒素　10 l/min, 300 ℃

キャピラリー電圧：3500 V

設定質量数：ZEN；m/z　317,
α-Zel, β-Zel；319

6)　標準溶液の調製

①　ZEN

ZEN標準品25 mgにメタノール(HPLC用)を加えて溶解し，100 mlに定容して250 μg/mlの標準原液を調製する。この原液1 mlを正確に分取し，メタノール(HPLC用)で10 mlに定容して25 μg/mlの溶液を調製する。この溶液について，分光光度計[UV-1600 株式会社島津製作所]および1 cm石英セルを用い，メタノール(HPLC用)を対照として314 nmにおける吸光度を測定し，得られた値を用い，次式からファクターを算出する。更に，標準原

液を適宜アセトニトリル及び水の混液(1:1)で希釈し，検量線用標準溶液(0.0005～1 μg/ml)を調製する。

$$\text{ZEN 標準原液のファクター} = \frac{A \times MW \times 1000}{\varepsilon \times 25}$$

A ：吸光度
MW：分子量＝318
ε ：トルエン及び酢酸の混液(99:1)におけるモル吸光係数＝6000

② α-Zel

α-Zel標準品5 mgにアセトニトリル(HPLC用)を加えて溶解し，50 mlに定容して100 μg/mlの標準原液を調製する。この原液を適宜アセトニトリル及び水の混液(1:1)で希釈し，検量線用標準溶液(0.0005～1 μg/ml)を調製する。

③ β-Zel

β-Zel標準品5 mgにアセトニトリル(HPLC用)を加えて溶解し，50 mlに定容して100 μg/mlの標準原液を調製する。この原液を適宜アセトニトリル及び水の混液(1:1)で希釈し，検量線用標準溶液(0.0025～5 μg/ml)を調製する。

7) 検量線の作成

標準溶液を高速液体クロマトグラフまたは液体クロマトグラフ-質量分析計に注入し，得られた目的対象物質のピーク高さと標準溶液の目的対象物質の濃度から検量線を作成する。

8) 高速液体クロマトグラフ法による測定

試験溶液を高速液体クロマトグラフまたは液体クロマトグラフ-質量分析計に注入し，得られた目的対象物質のピーク高さと 7)の検量線から試験溶液中の目的対象物質の濃度を求め，試料中の濃度を算出する。

9) 検出限界及び定量限界の設定

① ZEN

エビ，カボチャ種子及びベビーフードに試料中の ZEN 濃度がそれぞれ 1 ng/g，5 ng/g 及び 0.1 ng/g になるように添加し，7 回の測定を実施した結果を表-32 に示した。検出限界は標準偏差の 3 倍，定量限界は 10 倍とすると，エビ(動物由来食品)で定量限界 1 ng/g，種子(植物由来食品)で定量限界 5 ng/g，ベビーフードで定量限界 0.1 ng/g の定量が可能であると判断された。

表-32　検出限界及び定量限界の確認

(ng/g)

	エビ	カボチャ種子	ベビーフード
1	0.9385	4.4302	0.1087
2	0.9115	5.2363	0.1050
3	0.8996	5.0973	0.1086
4	0.9554	5.0509	0.1110
5	0.8188	4.6989	0.1039
6	0.8929	4.1985	0.1194
7	0.8726	4.9861	0.1057
平均	0.898	4.814	0.1080
標準偏差(σ)	0.044	0.383	0.005
3σ	0.132	1.149	0.015
10σ	0.44	3.83	0.05

②　Zel

エビに試料中のα-Zel 濃度が 1 ng/g，β-Zel 濃度が 5 ng/g になるように標準溶液を添加し，7 回の測定を実施した結果を表-33 に示した。検出限界は標準偏差の 3 倍，定量限界は 10 倍とすると，α-Zel は 1 ng/g 程度，β-Zel は 5 ng/g 程度までの定量が可能であると判断された。

同様にベビーフードに試料中のα-Zel 濃度が 0.1 ng/g，β-Zel 濃度が 0.5 ng/g になるように標準溶液を添加し，7 回の測定を実施した結果を表-33 に示した。検出限界は標準偏差の 3 倍，定量限界は 10 倍とすると，α-Zel は 0.1 ng/g 程度，β-Zel は 0.5 ng/g 程度までの定量が可能であると判断された。

表-33　検出限界及び定量限界の確認

(ng/g)

	エビ		ベビーフード	
	α-Zel	β-Zel	α-Zel	β-Zel
1	0.9128	4.7077	0.0864	0.4348
2	0.8619	4.8198	0.0853	0.4433
3	0.8404	4.4529	0.0905	0.4398
4	0.8962	4.5446	0.0896	0.4377
5	0.8678	4.7359	0.0845	0.4493
6	0.9724	3.7499	0.0849	0.4409
7	0.8316	4.1167	0.0880	0.4298
平均	0.883	4.446	0.087	0.439
標準偏差(σ)	0.048	0.386	0.002	0.006
3σ	0.144	1.158	0.006	0.018
10σ	0.48	3.86	0.02	0.06

10)　添加回収試験(1)

①　ZEN

エビに試料中のZEN濃度がそれぞれ1 ng/g及び10 ng/gになるように，またカボチャ種子に試料中のZEN濃度がそれぞれ5 ng/g及び50 ng/gになるように，標準溶液を添加し，本分析法の操作にしたがって，添加回収試験(繰り返し 7 回)を実施して標準偏差(ばらつき)を求めた(表-34参照)。

同様にベビーフードに試料中のZEN濃度がそれぞれ0.1 ng/g及び1 ng/gになるように，標準溶液を添加し，本分析法の操作にしたがって，添加回収試験(繰り返し7回)を実施して標準偏差(ばらつき)を求めた(表-34参照)。

表-34　添加回収試験の結果

(%)

添加濃度(ng/g)	エビ		カボチャ種子		ベビーフード	
	1	10	5	50	0.1	1
1	93.8	75.2	88.6	95.8	108.7	82.5
2	91.1	70.9	104.7	85.2	105.0	75.5
3	89.9	83.7	101.9	90.5	108.6	86.6
4	95.5	78.5	101.0	89.9	111.0	83.2
5	81.8	83.4	93.9	79.1	103.9	84.3
6	89.2	85.6	83.9	78.2	119.4	86.9
7	87.2	87.5	99.7	81.6	105.7	86.5
平均	89.7	80.6	96.2	85.7	108.9	83.6
標準偏差(σ)	4.4	6.0	7.6	6.5	5.2	3.9

②　Zel

エビに試料中のα-Zel濃度がそれぞれ1 ng/g及び10 ng/gになるように，β-Zel濃度がそれぞれ5 ng/g及び50 ng/gになるように標準溶液を添加し，本分析法の操作にしたがって，添加回収試験(繰り返し 7 回)を実施して標準偏差(ばらつき)を求めた(表-35参照)。

また，ベビーフードに試料中のα-Zel濃度がそれぞれ0.1 ng/g及び1 ng/gになるように，またβ-Zel濃度がそれぞれ0.5 ng/g及び5 ng/gになるように標準溶液を添加し，本分析法の操作にしたがって，添加回収試験(繰り返し 7 回)を実施して標準偏差(ばらつき)を求めた(表-36参照)。

表-35　添加回収試験の結果

(%)

添加濃度(ng/g)	エビ			
	α-Zel		β-Zel	
	1	10	5	50
1	91.2	72.8	94.1	76.2
2	86.1	71.5	96.3	72.1
3	84.0	80.0	89.0	80.6
4	89.6	76.8	90.8	78.3
5	86.7	85.3	94.7	87.1
6	97.2	89.0	74.9	93.2
7	83.1	89.7	82.3	86.9
平均	88.2	80.7	88.8	82.0
標準偏差(σ)	4.8	7.4	7.7	7.3

表-36　添加回収試験の結果

(%)

添加濃度(ng/g)	ベビーフード			
	α-Zel		β-Zel	
	0.1	1	0.5	5
1	86.4	82.6	86.9	85.4
2	85.3	75.7	88.6	84.9
3	90.5	85.8	87.9	92.3
4	89.6	82.7	87.5	88.3
5	84.5	83.6	89.8	90.4
6	84.9	85.9	88.1	90.5
7	88.0	85.7	85.9	89.6
平均	87.0	83.1	87.8	88.7
標準偏差(σ)	2.3	3.5	1.2	2.7

11)　添加回収試験(2)

試料にZENもしくはα-Zelの場合は，試料中の濃度が10 ng/g(種子類，健康食品，ハーブ類，ドライフルーツ，飲料，菓子類，豆類及びキャッサバのZENは50 ng/g)になるように，β-Zelの場合は，試料中の濃度が50 ng/gになるように添加し，回収試験を実施した(表-37参照)。

またベビーフード及び幼児用食品については，試料にZENもしくはα-Zelの場合は，試料中の濃度が1 ng/gになるように，β-Zelの場合は，試料中の濃度が5 ng/gになるように添加し，回収試験を実施した(表-37参照)。

表-37　添加回収試験の結果

(%)

食品	回収率		
	ZEN	α-Zel	β-Zel
カボチャ種子	98.1	-	-
養殖エビ	64.6	65.9	68.8
養殖魚(ブリ)	78.3	78.2	71.0
健康食品[redacted]	92.7	-	-
豚肉	85.0	83.5	79.7
生ソーセージ	89.3	90.3	85.6
チーズ	78.9	81.8	80.8
ピータン	75.9	72.8	74.3
牛肝臓	81.5	88.0	91.3
レバーペースト	81.7	77.7	81.0
ハーブ類(チャイブ)	95.3	-	-
マテ茶	89.5	-	-
ベビーフード(炊き込みご飯)	91.9	92.6	94.1
幼児向け食品(トマトパスタ)	77.0	83.6	91.7
菓子類(ナッツ入りポップコーン)	90.3	-	-
小豆	87.2	-	-
乾燥マンゴー	100.7	-	-
タピオカスターチ	85.5	-	-

12)　妨害物質の有無(特異性)

添加回収試験で用いた試料からは，ZEN，α-Zel及びβ-Zelの測定を妨げるピークは認められなかった。

13)　確認方法

ZEN，α-Zel及びβ-Zelが検出された場合又は妨害ピークが認められた場合には試験溶液で以下の条件で高速液体クロマトグラフまたは液体クロマトグラフ-質量分析計による測定を行い，確認試験とした。

高速液体クロマトグラフ操作条件(確認条件)

機　　種：NANOSPACE SI-2［株式会社　資生堂］

検 出 器：分光蛍光検出器 NANOSPACE SI-2［株式会社　資生堂］

カ ラ ム：Mightysil RP-18 GP （内径 4.6 mm，長さ 150 mm，粒径 5 μm）
［関東化学株式会社］

カラム温度：40 ℃

移 動 相： 0.1 mol/Lりん酸二水素カリウム溶液(pH3.5)，メタノール及びアセトニトリルの混液(11:1:8)

流　　量： 1.0 ml/min

測定波長： Ex 274 nm Em 440 nm

注 入 量： 50 μl

液体クロマトグラフ-質量分析計操作条件①

機　　種：1100 Series[Agilent Technologies]

検 出 器：質量分析計 G1956B[Agilent Technologies]

カ ラ ム：Mightysil RP-18 GP （内径2.0 mm，長さ150 mm，粒径5 μm）
［関東化学株式会社］

カラム温度：40 ℃

移 動 相：A液；0.01 mol/L酢酸アンモニウム溶液
B液；メタノール(HPLC用)

グラジェント条件：(B液の割合)50 % →15分→ 90 %(5分保持)

流　　量： 0.2 ml/min

注 入 量： 20 μl

イオン化法：ESI　負イオンモード

フラグメンタ電圧：ZEN；180 V，α-Zel，β-Zel；200 V

ネブライザガス：窒素　40 psi

乾燥ガス： 窒素　10 l/min，300 ℃

キャピラリー電圧：3500 V

設定質量数：ZEN；m/z　317，
α-Zel，β-Zel；319

液体クロマトグラフ-質量分析計操作条件②

機　　種：API-4000[Applied Biosystems]

カ ラ ム：Mightysil RP-18 GP（内径 2.0 mm，長さ 150 mm，粒径 5 μm）
［関東化学株式会社］

カラム温度：40 ℃

移 動 相：A 液；0.01 mol/L 酢酸アンモニウム溶液
B 液；アセトニトリル(HPLC 用)

グラジェント条件：(B 液の割合)40 %→15 分→90 %(5 分保持)

流　　量：0.2 ml/min
注 入 量：10 μl
イオン化法：ESI　負イオンモード
イオン化電圧：120 V
コーン電圧：4200 V
ネブライザーガス：窒素 80 psi
コリジョンエネルギー：40 V
コリジョンガス：窒素
設定質量数： m/z 317/131

14)　添付資料

①　検量線の一例

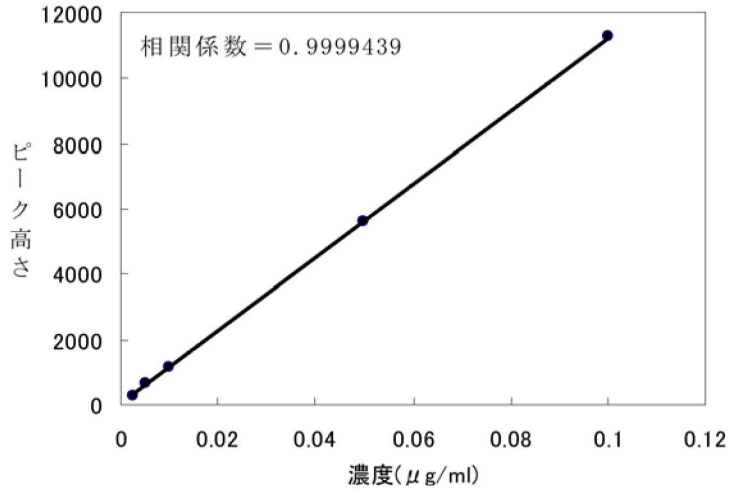

図-28　HPLC 測定時における ZEN の検量線の一例

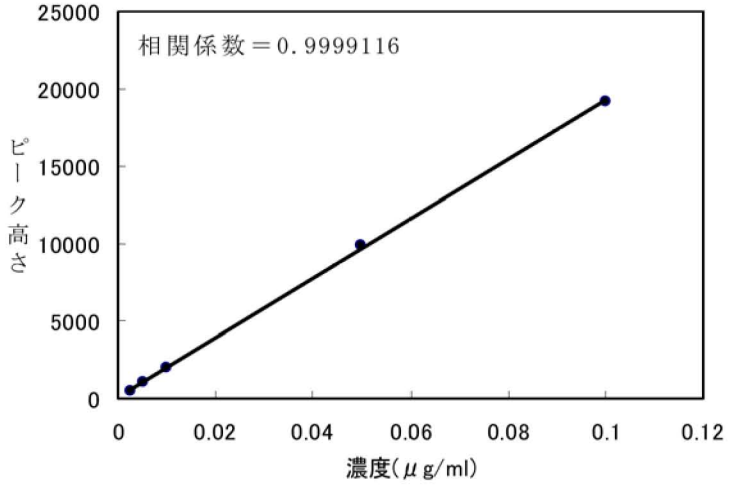

図-29　HPLC 測定時における α-Zel の検量線の一例

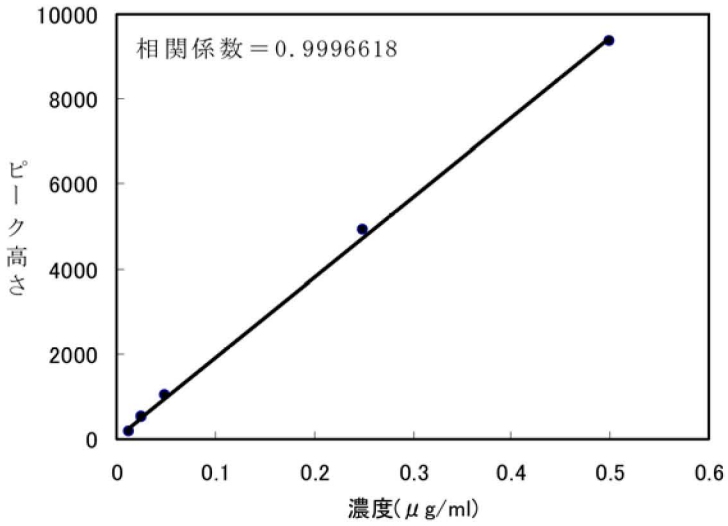

図-30　HPLC 測定時における β-Zel の検量線の一例

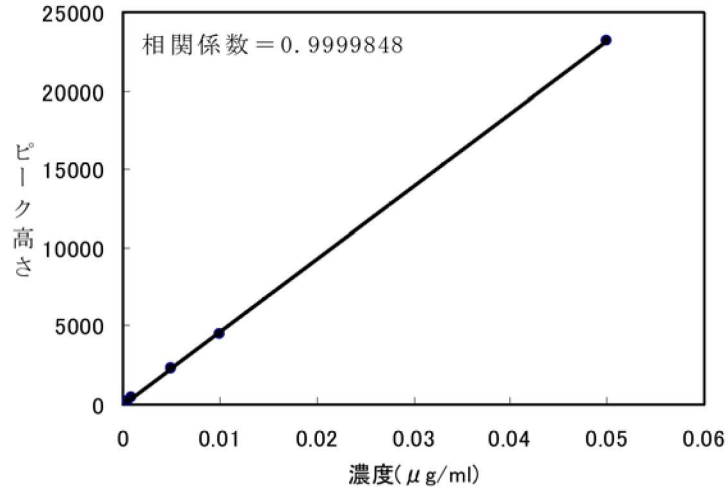

図-31　LC/MS 測定時における ZEN の検量線の一例

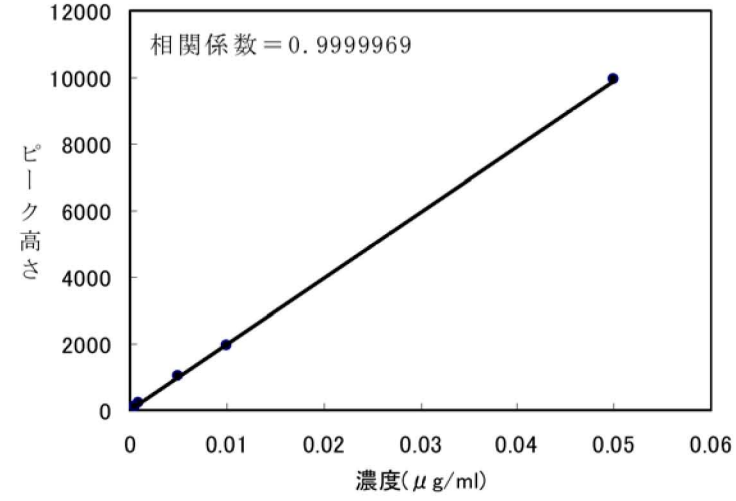

図-32　LC/MS 測定時における α-Zel の検量線の一例

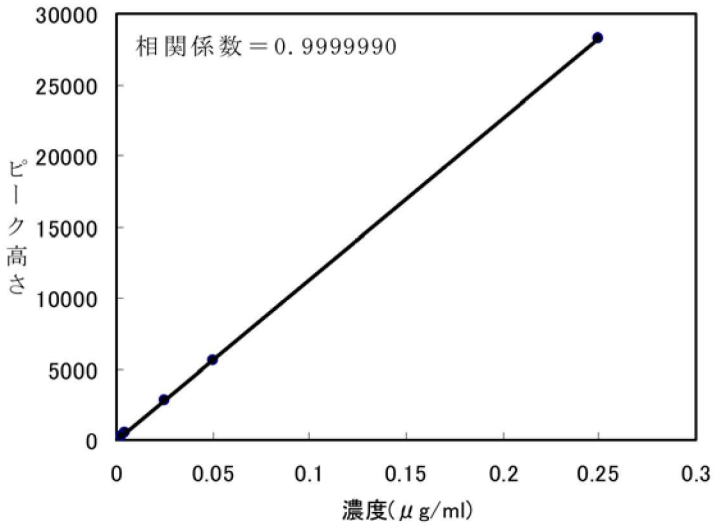

図-33　LC/MS 測定時における β-Zel の検量線の一例

② 高速液体クロマトグラムの一例

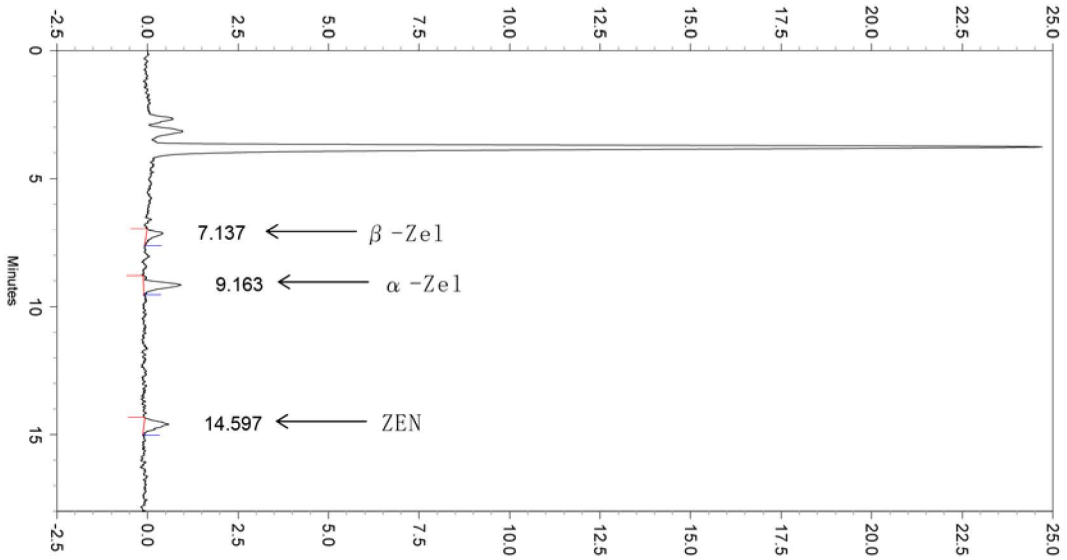

図-34　ZEN 及び α-Zel 標準溶液 0.005 μg/ml, β-Zel 標準溶液 0.025 μg/ml

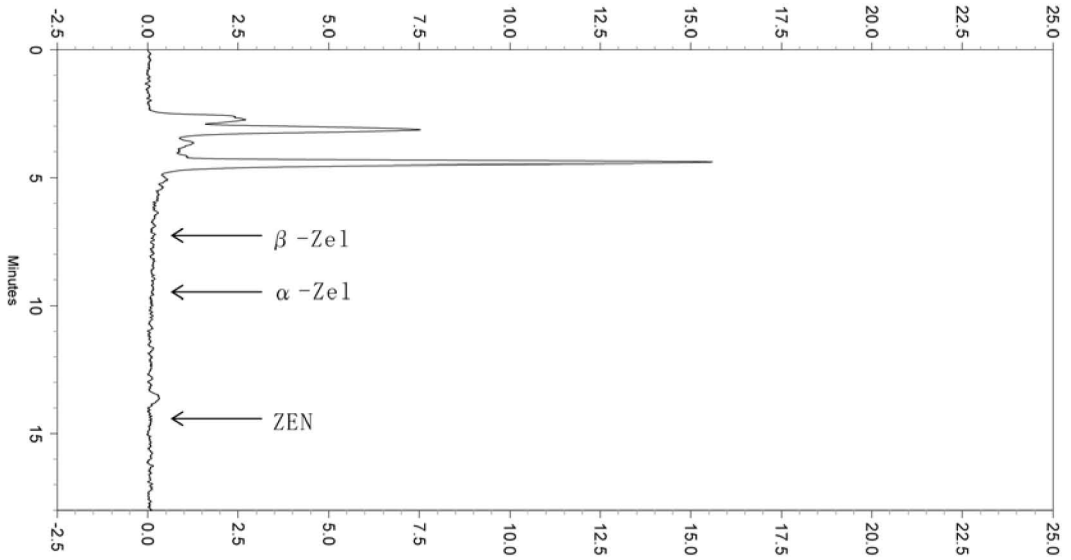

図-35　試料：エビ（無添加）

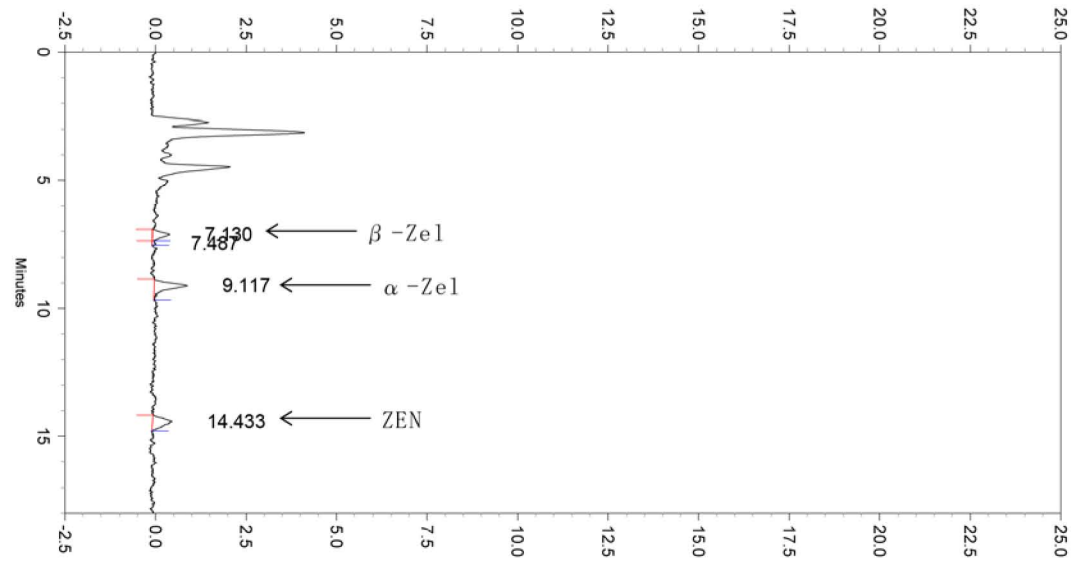

図-36　試料：エビ（ZEN 及びα-Zel 1 ng/g，β-Zel 5 ng/g 相当添加）

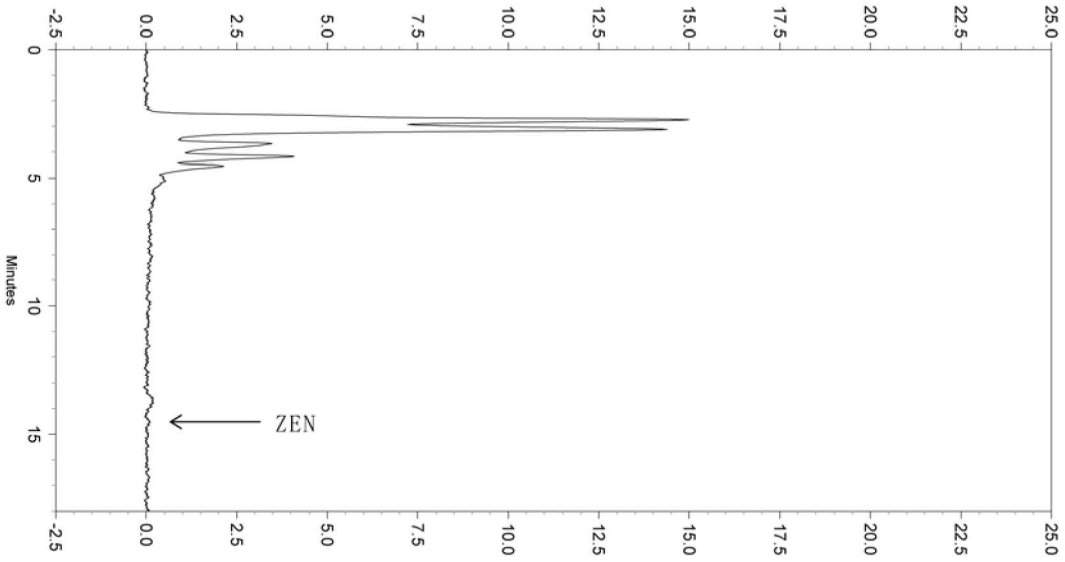

図-37　試料：カボチャ種子(無添加)

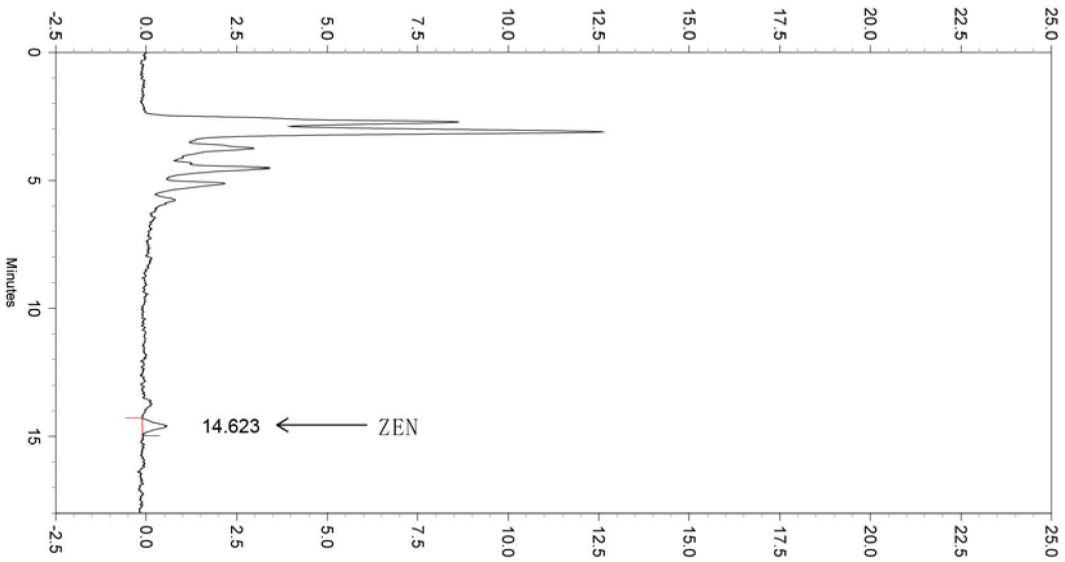

図-38　試料：カボチャ種子(ZEN 5 ng/g 相当添加)

③ マスフラグメントグラムの一例

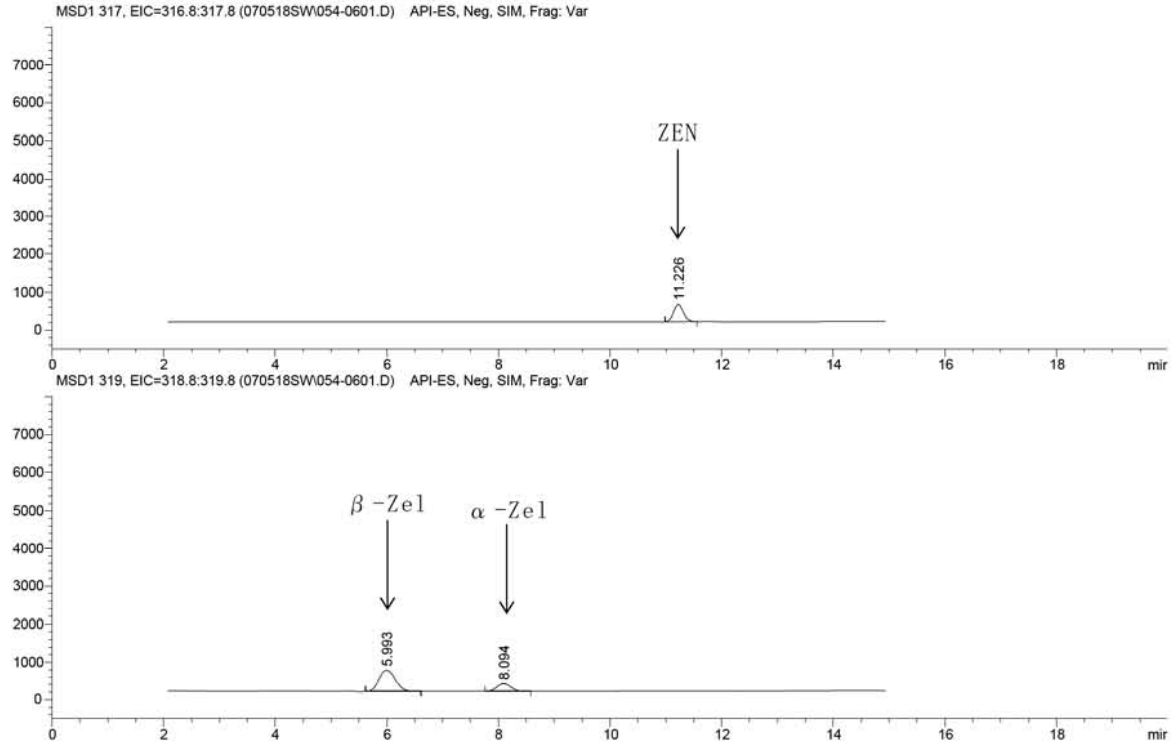

図-39　ZEN 及びα-Zel 標準溶液 0.001 μg/ml, β-Zel 標準溶液 0.005 μg/ml

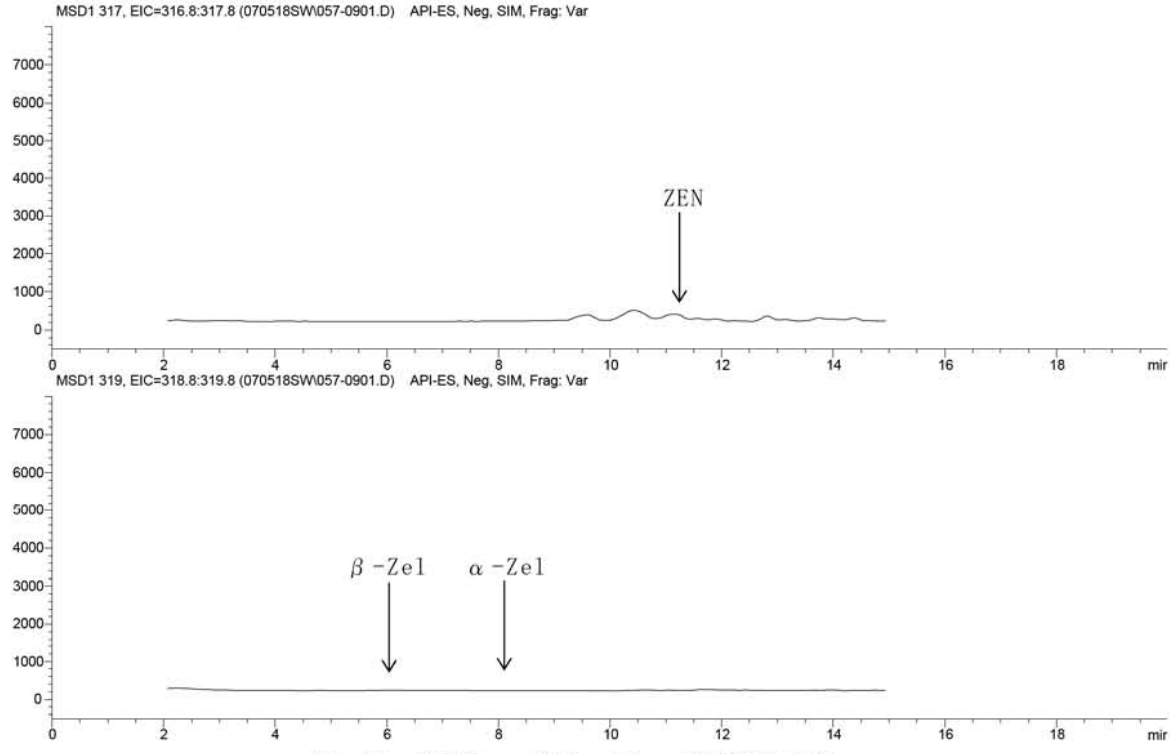

図-40　試料：ベビーフード(無添加)

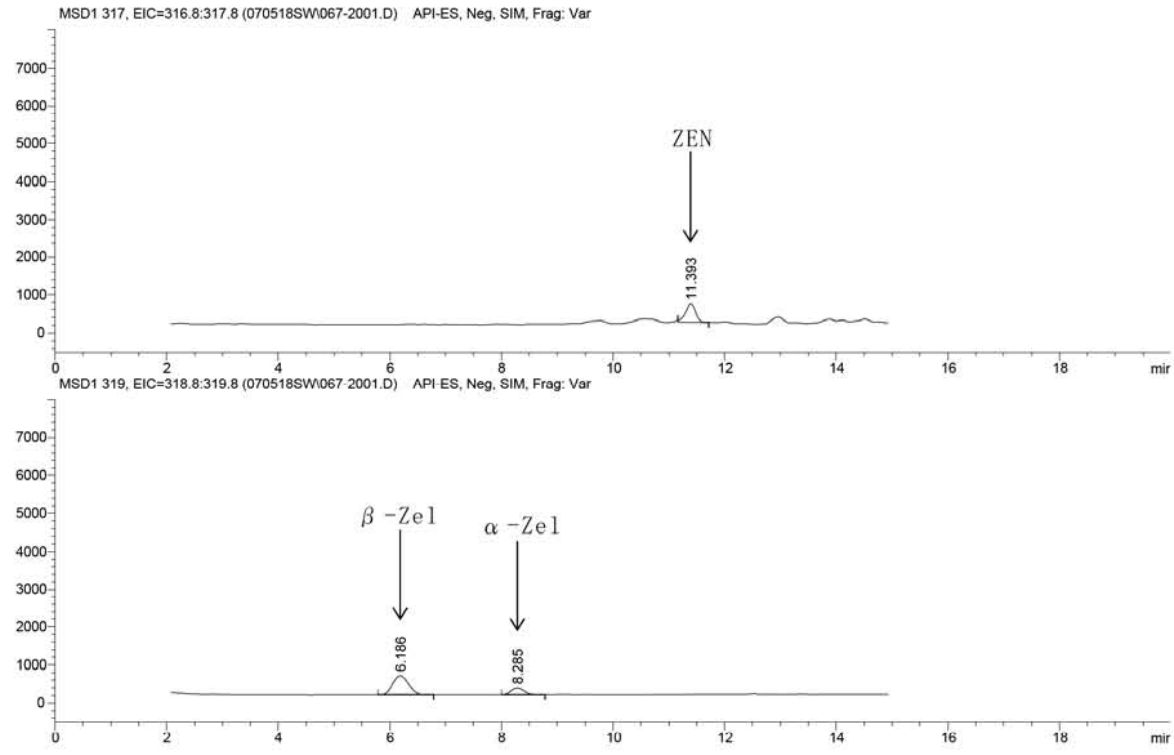

図-41　試料：ベビーフード(ZEN 及びα-Zel 0.1 ng/g, β-Zel 0.5 ng/g 相当添加)

6　実態調査の結果

実態調査の結果を表-38～57に示した。測定を実施していないものについては表中「－」で示した。

表-38　オリーブ製品の結果　(ng/g)

試料番号	識別番号	OTA
1	OV-1	< 0.5
2	OV-2	< 0.5
3	OV-3	< 0.5
4	OV-4	< 0.5
5	OV-5	< 0.5

表-39　種子の結果　(ng/g)

試料番号	識別番号	OTA	AF				ZEN
			B_1	B_2	G_1	G_2	
6	SS-1	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
7	SS-2	< 0.5	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 5
8	SS-3	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
9	SS-4	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
10	SS-5	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
11	SS-6	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
12	SS-7	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
13	SS-8	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
14	SS-9	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
15	SS-10	< 0.5	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5

表-40　輸入養殖エビの結果　(ng/g)

試料番号	識別番号	OTA	AF				ZEN		
			B_1	B_2	G_1	G_2	ZEN	α-Zel	β-Zel
16	CS-1	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
17	CS-2	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
18	CS-3	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
19	CS-4	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
20	CS-5	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5

表-41-1　養殖魚の結果　(ng/g)

試料番号	識別番号	OTA	AF				ZEN		
			B_1	B_2	G_1	G_2	ZEN	α-Zel	β-Zel
21	CF-1	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
22	CF-2	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
23	CF-3	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
24	CF-4	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
25	CF-5	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5

表-41-2　養殖魚の結果　(ng/g)

試料番号	識別番号	OTA	AF				ZEN		
			B_1	B_2	G_1	G_2	ZEN	α-Zel	β-Zel
26	CF-6	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
27	CF-7	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
28	CF-8	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
29	CF-9	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
30	CF-10	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5

表-42　健康食品の結果　(ng/g)

試料番号	識別番号	OTA	AF				ZEN
			B_1	B_2	G_1	G_2	
31	HF-1	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
32	HF-2	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
33	HF-3	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
34	HF-4	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	6
35	HF-5	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
36	HF-6	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
37	HF-7	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
38	HF-8	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	10
39	HF-9	< 0.5	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2	5
40	HF-10	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	13
41	HF-11	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	12
42	HF-12	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
43	HF-13	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
44	HF-14	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
45	HF-15	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
46	HF-16	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
47	HF-17	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	5
48	HF-18	< 0.5	0.2	< 0.1	< 0.1	< 0.1	16
49	HF-19	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
50	HF-20	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
51	HF-21	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
52	HF-22	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
53	HF-23	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
54	HF-24	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
55	HF-25	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
56	HF-26	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
57	HF-27	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
58	HF-28	< 0.5	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 5
59	HF-29	< 0.5	0.2	< 0.1	< 0.1	< 0.1	39
60	HF-30	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
61	HF-31	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5

表-43　食肉製品（生）の結果　(ng/g)

試料番号	識別番号	OTA	AF				ZEN		
			B_1	B_2	G_1	G_2	ZEN	α-Zel	β-Zel
62	RM-1	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
63	RM-2	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
64	RM-3	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
65	RM-4	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
66	RM-5	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
67	RM-6	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5

表-44　食肉製品（加工品）の結果　(ng/g)

試料番号	識別番号	OTA	AF				ZEN		
			B_1	B_2	G_1	G_2	ZEN	α-Zel	β-Zel
68	PM-1	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
69	PM-2	< 0.5	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 1	< 1	< 5
70	PM-3	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
71	PM-4	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
72	PM-5	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
73	PM-6	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	1	< 1	< 5

表-45　乳製品の結果　(ng/g)

試料番号	識別番号	OTA	AF M_1	ZEN		
				ZEN	α-Zel	β-Zel
74	PMK-1	< 0.5	< 0.1	< 1	< 1	< 5
75	PMK-2	< 0.5	< 0.1	< 1	< 1	< 5
76	PMK-3	< 0.5	< 0.1	< 1	< 1	< 5
77	PMK-4	< 0.5	< 0.1	< 1	< 1	< 5
78	PMK-5	< 0.5	< 0.1	< 1	< 1	< 5
79	PMK-6	< 0.5	< 0.1	< 1	< 1	< 5
80	PMK-7	< 0.5	< 0.1	< 1	< 1	< 5
81	PMK-8	< 0.5	< 0.1	< 1	< 1	< 5
82	PMK-9	< 0.5	< 0.1	< 1	< 1	< 5
83	PMK-10	< 0.5	< 0.1	< 1	< 1	< 5

表-46　卵（加工品）の結果　(ng/g)

試料番号	試料番号	OTA	AF				ZEN		
			B_1	B_2	G_1	G_2	ZEN	α-Zel	β-Zel
84	PE-1	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
85	PE-2	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
86	PE-3	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
87	PE-4	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
88	PE-5	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
89	PE-6	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
90	PE-7	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
91	PE-8	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
92	PE-9	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5

表-47　血液及び内臓（生）の結果　(ng/g)

試料番号	試料番号	OTA	AF				ZEN		
			B_1	B_2	G_1	G_2	ZEN	α-Zel	β-Zel
93	RVM-1	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
94	RVM-2	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
95	RVM-3	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
96	RVM-4	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
97	RVM-5	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
98	RVM-6	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
99	RVM-7	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
100	RVM-8	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
101	RVM-9	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
102	RVM-10	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
103	RVM-11	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
104	RVM-12	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
105	RVM-13	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
106	RVM-14	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
107	RVM-15	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
108	RVM-16	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
109	RVM-17	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
110	RVM-18	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
111	RVM-19	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
112	RVM-20	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
113	RVM-21	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
114	RVM-22	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
115	RVM-23	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
116	RVM-24	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
117	RVM-25	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
118	RVM-26	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
119	RVM-27	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
120	RVM-28	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
121	RVM-29	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
122	RVM-30	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5

表-48　血液及び内臓（加工品）の結果　(ng/g)

試料番号	識別番号	OTA	AF				ZEN		
			B_1	B_2	G_1	G_2	ZEN	α-Zel	β-Zel
123	PVM-1	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
124	PVM-2	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
125	PVM-3	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
126	PVM-4	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
127	PVM-5	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
128	PVM-6	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
129	PVM-7	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
130	PVM-8	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
131	PVM-9	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
132	PVM-10	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
133	PVM-11	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
134	PVM-12	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
135	PVM-13	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
136	PVM-14	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5
137	PVM-15	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 1	< 1	< 5

表-49　サトウキビ及び黒砂糖の結果 (ng/g)

試料番号	識別番号	AF			
		B_1	B_2	G_1	G_2
138	SG-1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1
139	SG-2	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1
140	SG-3	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1
141	SG-4	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1
142	SG-5	0.4	< 0.1	< 0.1	< 0.1

表-50　ハーブ類の結果　(ng/g)

試料番号	識別番号	OTA	AF				ZEN
			B_1	B_2	G_1	G_2	
143	HB-1	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
144	HB-2	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
145	HB-3	< 0.5	< 1	< 1	< 1	< 1	< 5
146	HB-4	< 0.5	< 2	< 2	< 2	< 2	< 5
147	HB-5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 5
148	HB-6	< 0.5	< 1	< 1	< 1	< 1	< 5
149	HB-7	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
150	HB-8	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
151	HB-9	0.8	< 1	< 1	< 1	< 1	< 5
152	HB-10	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5

表-51　飲料の結果　(ng/g)

試料番号	識別番号	OTA	AF				ZEN
			B_1	B_2	G_1	G_2	
153	DK-1	< 0.5	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 5
154	DK-2	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
155	DK-3	< 0.5	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 5
156	DK-4	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
157	DK-5	< 0.5	0.2	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5

表-52　ベビーフードの結果　(ng/g)

試料番号	識別番号	OTA	AF				ZEN		
			B_1	B_2	G_1	G_2	ZEN	α-Zel	β-Zel
158	FB-1	< 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.1	< 0.1	< 0.5
159	FB-2	< 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.1	< 0.1	< 0.5
160	FB-3	< 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	0.2	< 0.1	< 0.5
161	FB-4	< 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	0.2	< 0.1	< 0.5
162	FB-5	< 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	0.2	< 0.1	< 0.5
163	FB-6	< 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	0.3	< 0.1	< 0.5
164	FB-7	< 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	0.2	< 0.1	< 0.5
165	FB-8	< 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	0.1	< 0.1	< 0.5
166	FB-9	< 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.1	< 0.1	< 0.5
167	FB-10	< 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	0.1	< 0.1	< 0.5
168	FB-11	< 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	0.1	< 0.1	< 0.5
169	FB-12	< 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.1	< 0.1	< 0.5
170	FB-13	< 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.1	< 0.1	< 0.5
171	FB-14	< 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.1	< 0.1	< 0.5
172	FB-15	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	0.1	< 0.1	< 0.5
173	FB-16	< 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.1	< 0.1	< 0.5
174	FB-17	< 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.1	< 0.1	< 0.5
175	FB-18	< 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.1	< 0.1	< 0.5
176	FB-19	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.1	< 0.1	< 0.5
177	FB-20	< 0.05	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.5

表-53　幼児向け食品の結果　(ng/g)

試料番号	識別番号	OTA	AF				ZEN		
			B_1	B_2	G_1	G_2	ZEN	α-Zel	β-Zel
178	FC-1	< 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	0.2	< 0.1	< 0.5
179	FC-2	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.1	< 0.1	< 0.5
180	FC-3	< 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.1	< 0.1	< 0.5
181	FC-4	< 0.05	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.5
182	FC-5	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.1	< 0.1	< 0.5
183	FC-6	< 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.1	< 0.1	< 0.5
184	FC-7	< 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.1	< 0.1	< 0.5
185	FC-8	< 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.1	< 0.1	< 0.5
186	FC-9	< 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.1	< 0.1	< 0.5
187	FC-10	< 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	0.1	< 0.1	< 0.5

表-54　菓子類の結果　(ng/g)

試料番号	識別番号	OTA	AF				ZEN
			B_1	B_2	G_1	G_2	
188	SN-1	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
189	SN-2	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
190	SN-3	< 0.5	< 2	< 2	< 2	< 2	< 5
191	SN-4	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
192	SN-5	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5

表-55　豆類の結果　(ng/g)

試料番号	識別番号	OTA	AF				ZEN
			B_1	B_2	G_1	G_2	
193	BN-1	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	26
194	BN-2	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
195	BN-3	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
196	BN-4	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
197	BN-5	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5

表-56　ドライフルーツの結果　(ng/g)

試料番号	識別番号	OTA	AF				ZEN
			B_1	B_2	G_1	G_2	
198	DF-1	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
199	DF-2	< 0.5	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 5
200	DF-3	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
201	DF-4	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
202	DF-5	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
203	DF-6	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
204	DF-7	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
205	DF-8	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
206	DF-9	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
207	DF-10	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5

表-57　キャッサバの結果　(ng/g)

試料番号	識別番号	OTA	AF				ZEN
			B_1	B_2	G_1	G_2	
208	CSV-1	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
209	CSV-2	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
210	CSV-3	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
211	CSV-4	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5
212	CSV-5	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 5

7　文献調査

収集した文献のリストを添付資料にて示した。

8　まとめ

8.1 汚染実態調査

市場に流通している食品(表-58参照)を購入し，オクラトキシンAについては207検体，アフラトキシン(乳製品はアフラトキシンM_1を分析)については207検体，ゼアラレノン(動物性食品についてはα-ゼアラレノール及びβ-ゼアラレノールも分析)については202検体の食品について汚染実態調査を実施した。

調査の結果，オクラトキシンAがハーブ類1検体(コリアンダーシードパウダー)から0.8 ng/g検出された。また，ゼアラレノンが健康食品8検体から5～39 ng/g，食肉製品(加工品)1検体(チキンナゲット)から1 ng/g，ベビーフード9検体から0.1～0.3 ng/g，幼児向け食品2検体から0.1及び0.2 ng/g，豆類(国産小豆)1検体から26 ng/gの濃度でそれぞれ検出された。アフラトキシンは，アフラトキシンB_1が健康食品2検体(ウコン粉末及びハトムギ粉)から各検体ともに0.2 ng/g，黒砂糖1検体から0.4 ng/g，飲料1検体(紅茶)から0.2 ng/gの濃度でそれぞれ検出された。

表-58　検体の概要

検体(食品)	調査したカビ毒		
	オクラトキシンA	アフラトキシン	ゼアラレノン
オリーブ	5	0	0
種子	10	10	10
輸入養殖エビ	5	5	5
養殖魚	10	20	20
健康食品	31	31	31
食肉製品（生）	6	6	6
食肉製品（加工品）	6	6	6
乳製品	10	10	10
卵及び卵製品	9	9	9
血液及び内臓（生）	30	30	30
血液及び内臓（加工品）	15	15	15
サトウキビ及び黒砂糖	0	5	0
ハーブ類	10	10	10
飲料	5	5	5
ベビーフード	20	20	20
幼児向け食品	10	10	10
菓子類	5	5	5
豆類	5	5	5
ドライフルーツ	10	10	10
キャッサバ	5	5	5
合計	207	207	202

8.2 分析法の検証結果

8.2.1 オクラトキシンA

牛肝臓及び茶を用いて，7回の繰り返し試験で求めた添加回収率の平均は，0.5 ng/g添加で88.0 %(牛肝臓)及び61.0 %(茶)，5 ng/g添加で72.3 %(牛肝臓)及び75.6 %(茶)であった。ベビーフードを用いて，7回の繰り返し試験で求めた添加回収率の平均は，0.05 ng/g添加で77.4 %，0.5 ng/g添加で81.4 %であった。また，牛肝臓及び茶における標準偏差は0.5 ng/g添加で5.5(牛肝臓)及び8.6(茶)，5 ng/g添加で1.7(牛肝臓)及び8.1(豚肉)であった。ベビーフードにおける標準偏差は0.05 ng/g添加で3.5，0.5 ng/g添加で10.2であった。

また，定量限界はベビーフード(幼児向け食品含む)で0.05 ng/g，それ以外の食品は0.5 ng/gとした。

8.2.2 アフラトキシン

レモングラスを用いて，7回の繰り返し試験で求めた添加回収率の平均は，1 ng/g添加でB_1は67.3 %，B_2は65.9 %，G_1は 60.1 %，G_2は68.2 %，0.1 ng/g添加でB_1は64.2 %，B_2は63.7 %，G_1は55.1 %，G_2は63.5 %であった。また，ベビーフードの0.1 ng/g添加でB_1は52.5 %，B_2は71.5 %，G_1は 42.0 %，G_2は73.4 %，0.01 ng/g添加でB_1は54.7 %，B_2は68.9 %，G_1は 69.6 %，G_2は64.6 %であった。また，標準偏差はレモングラスの1 ng/g添加でB_1は1.8，B_2は1.8，G_1は3.1，G_2は3.1，0.1 ng/g添加でB_1は3.3，B_2は1.8，G_1は2.7，G_2は2.7，ベビーフードの0.1 ng/g添加でB_1は5.7，B_2は4.9，G_1は6.0，G_2は5.1，0.01 ng/g添加でB_1は6.0，B_2は5.9，G_1は6.4，G_2は6.3であった。

また，定量限界はベビーフード(幼児向け食品含む)で0.01 ng/g，健康食品で0.5 ng/g，それ以外の食品は0.1 ng/gとしたが，検体によっては妨害物質の影響により定量限界が変更となったものもあった。

同様に乳製品中のアフラトキシンM_1では，チーズを用いて7回の繰り返し試験で求めた添加回収率の平均は1 ng/g添加で72.5 %，0.1 ng/g添加で64.2 %，標準偏差は1 ng/g添加で2.7，0.1 ng/g添加で5.9であった。

また，乳製品の定量限界は0.1 ng/gに設定した。

8.2.3 ゼアラレノン

カボチャ種子を用いて，7回の繰り返し試験で求めた添加回収率の平均は，ゼアラレノンの5 ng/g及び50 ng/g添加でそれぞれ96.2 %及び85.7 %であった。エビにおいては，ゼアラレノンの1 ng/g及び10 ng/g添加でそれぞれ89.7 %及び80.6 %，α-ゼアラレノールの1 ng/g及び10 ng/g添加でそれぞれ88.2 %及び80.7 %，β-ゼアラレノールの5 ng/g及び50 ng/g添加でそれぞれ88.8 %及び82.0 %であった。ベビーフードにおいては，ゼアラレノンの0.1 ng/g及び1 ng/g添加でそれぞれ108.9 %及び83.6 %，α-ゼアラレノールの0.1 ng/g及び1 ng/g添加でそれぞれ87.0 %及び83.1 %，β-ゼアラレノールの0.5 ng/g及び5 ng/g添加でそれぞれ87.8 %及び88.7 %であった。また，標準偏差はカボチャ種子のゼアラレノン5 ng/g及び50 ng/g添加でそれぞれ7.6及び6.5であった。エビのゼアラレノ

ン1 ng/g及び10 ng/g添加でそれぞれ4.4及び6.0，α-ゼアラレノール1 ng/g及び10 ng/g添加でそれぞれ4.8及び7.4，β-ゼアラレノールの5 ng/g及び50 ng/g添加でそれぞれ7.7及び7.3であった。ベビーフードのゼアラレノン0.1 ng/g及び1 ng/g添加でそれぞれ5.2及び3.9，α-ゼアラレノール0.1 ng/g及び1 ng/g添加でそれぞれ2.3及び3.5，β-ゼアラレノールの0.5 ng/g及び5 ng/g添加でそれぞれ1.2及び2.7であった。

また，ゼアラレノンの定量限界はベビーフード(幼児向け食品含む)で0.1 ng/g，植物原料食品で5 ng/g，動物原料食品で1 ng/gとした。代謝体のα-ゼアラレノールの定量限界はベビーフード(幼児向け食品含む)で0.1 ng/g，動物原料食品で1 ng/gとし，β-ゼアラレノールの定量限界はベビーフード(幼児向け食品含む)で0.5 ng/g，動物原料食品で5 ng/gとした。

8.3 文献調査

カビ毒に関する文献65篇を収集した。このうちオクラトキシンAについての記載のある文献は48篇，アフラトキシンの文献は31篇，ゼアラレノン文献は21篇であった。

9 調査検討会

本年度の調査に先立って，調査試料の選定に関しての調査検討会を開催し，本調査はこの検討会の結果に基づいて実施した。

得られた調査結果についても委員の方々よりコメントを頂き，以下に取りまとめた。

1) アフラトキシン

・ウコン及びハトムギについては汚染の報告もあり，それが裏付けられた結果である。
・黒糖については汚染が懸念されていたことではあるが，検出されたことにより日本における産生菌の分布調査について考慮していくことも考えられる。
・紅茶から検出されたのは意外であり，今後更なる調査が必要であろう。

2) オクラトキシン

・オクラトキシンは予想外に検出されていなかった。
・次年度以降継続されるのであれば，もう少し時間をかけて対象食品を検討した方が良いと思われる。特に東南アジア産のハーブ類を調べたい。

3) ゼアラレノン

・濃度が低いものの検出頻度が高かったのは興味深い。
・成人の場合は濃度的にあまり問題とはならないと思われるが，ベビーフード及び幼児用食品から検出率が高いのは注目すべきである。他のトリコテセン系カビ毒の汚染が憂慮される。
・ベビーフード及び幼児食品における原因食材はこの結果からは明確とはならないが，コメやコーンスターチによるものだと推測される。

・ウコンはこれまでアフラトキシンによる汚染が知られているが，ゼアラレノンについても追加の調査が必要である。
・同様に北海道産の小豆からも検出されていることから，国内産の豆類の調査も必要である。

以　上