

## Ⅱ 国内におけるトウモロコシに関するリコンディショニングの効果等の検討

### 1. 目的

国内に輸入される食用のトウモロコシは、食品衛生法に基づく命令検査<sup>注1</sup>の対象であり、厚生労働省の指定検査機関がサイロ毎にサンプリングを行ってアフラトキシン検査を実施し、その結果を受けて厚生労働省検疫所から輸入業者に対して合否の通知されている<sup>注2</sup>。

この検査における陽性の荷口（食品衛生法違反貨物）については、当該トウモロコシが収容されているサイロから他の空サイロへ移動させる際に発生するダストを集塵装置で取り除くことでアフラトキシン B<sub>1</sub>濃度を低減させるリコンディショニングを行い、再度アフラトキシン検査を行ったのち飼料用として転用されている。なお、リコンディショニングの際に発生したダストは産業廃棄物として焼却処分されている。

今回の検討では、アフラトキシン B<sub>1</sub>濃度が 10ppb 超のトウモロコシを用いて、リコンディショニングの効果、汚染トウモロコシ穀粒の偏在性など、種々の検討を行った。

注1 食品衛生法第 26 条に基づき、厚生労働大臣登録検査機関が行う検査で、生産地の事情等から見て有害、有毒であったり、規格基準違反となる可能性がある食品について、これらを輸入する者に対して検査を実施する。この場合、検査結果が出るまで貨物は留め置かれる。

注2 「アフラトキシン試験法改正について（平成 14 年 3 月 26 日付厚生労働省医薬局食品保健部監視安全課長通知、食監発第 0326001 号）」において、高速液体クロマトグラフ法により定量を行い、アフラトキシン B<sub>1</sub>が検出限界（10ppb）以上検出した場合に、質量分析計で確認した上で陽性と判断している。

### 2. 供試トウモロコシ

茨城県鹿島地区の穀物サイロに収容されていたアフラトキシン B<sub>1</sub>濃度が 10ppb 超の輸入トウモロコシから、当該サイロに設置されているオートサンプラーを用いて穀粒が約 200 トン通過する毎に約 10kg ずつ計 5 試料を採取した。

さらに、このサイロ内のトウモロコシについてリコンディショニングを行い、リコンディショニング後の穀粒が約 200 トン通過する毎に約 10kg 以上採取して均分器(不二金属製、図 1 - 1) により縮分し、約 1kg とした試料を計 5 試料採取するとともに、ほぼ同時点でサイロ下よりダストを約 1kg ずつ、計 5 試料採取した。



図 1 - 1 均分器

なお、これらの採取作業は、財団法人日本穀物検定協会関東支部鹿島事務所に依頼して、平成19年10月11日に実施した。また、リコンディショニング時のトウモロコシ穀粒の流れおよび今回使用された集塵機（パルスエアーコレクター）の構造は図1-2および1-3に示したとおりである。

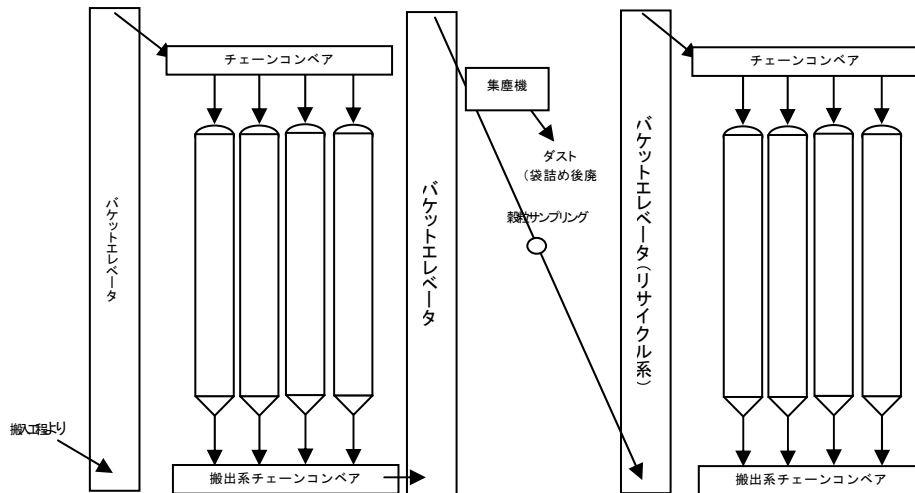


図1-2 リサイクル作業の概要

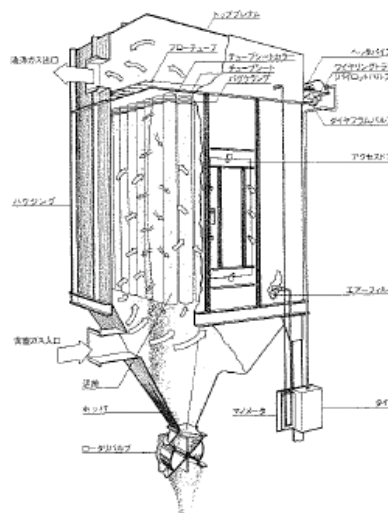


図1-3 集塵機の構造（パルスエアーコレクター）

### 3. 調査方法

#### 1) 分析用試料の調製

##### (1) アフラトキシン等の偏在性およびサンプリング手法に関する検討

入手したリコンディショニング前の穀粒（約10kg×5試料）を縮分器（リフラー、図2）で約5kgずつに二分し、一方を、1.0mmスクリーンを装着した超遠心

粉碎機（ZM100、Retsch 製）により全量粉碎したのち分析用試料として 50g ずつ 8 ヶ所の部位から採材した。他方は、インクリメント縮分<sup>1)</sup>を行って約 1.5kg 採材したのち全量を前述と同様の粉碎機で粉碎後、分析用試料として 50g ずつ 2 試料採材した。なお、前章で示したとおり、本試験で設定した全量粉碎時のサンプル量は現在米国からの輸出時のアフラトキシン検査のサンプル量（10 ポンド、約 4.5kg）に相当する。また、インクリメント縮分時のサンプル量は独立行政法人農林水産消費安全技術センターや厚生労働省によりわが国への輸入時に行われているサンプル量（前者 1.5kg 以上、後者 1kg）に相当する。



図 2 縮分器（リフラー）

## (2) リコンディショニングの効果に関する検討

リコンディショニング実施後の穀粒およびダストについて、それぞれ縮分器により二分し、それぞれ全量を粉碎したのち、分析用試料として 50g ずつ 2 試料を採材した。併せて、前章で述べたように、米国では網目 5mm 程度の電動式篩を用いたリコンディショニングが実施されていることから、(1)におけるインクリメント縮分後に残った穀粒を網目 7mm および 3mm の篩で順次篩分し、それぞれの篩上に残った穀粒および篩を通過した穀粒に 3 分画したのち、それぞれの全量を粉碎して分析用試料を 50g ずつ 2 試料採材した。

## 2) 分 析

各試料について、福中らの方法<sup>2)</sup>に準じてアフラトキシン B<sub>1</sub>、ゼアラレノン、デオキシニバレノールおよび T-2 トキシン濃度を、飼料分析基準<sup>3)</sup>によりフモニシン B<sub>1</sub> 濃度を分析した。それぞれの、検出限界は、アフラトキシン B<sub>1</sub> およびゼアラレノンでは 0.3ppb、デオキシニバレノールでは 13ppb、フモニシン B<sub>1</sub> では 30ppb、T-2 トキシンでは 2.4ppb であった。

## 4. 調査実施期間

平成 19 年 10 月 12 日～平成 20 年 1 月 11 日

## 5. 結果および考察

### 1) カビ毒の偏在性およびサンプリング手法に関する検討

リコンディショニング前のトウモロコシがバケットエレベータを約 200 トンの穀粒が通過する毎にオートサンプラーを用いて経時的に約 10kg ずつ採取した 5 点のトウモロコシ穀粒（No.1～5）について、それぞれを縮分器で約 5kg ずつに二分し、

一方の全量を微粉碎したのち 50g ずつ採材した 8 試料および他方の 5kg からインクリメント縮分法により約 1.5kg 採材し、これを全量粉碎したのち 50g ずつ採材した 2 試料のアフラトキシン B<sub>1</sub> 濃度を表 1-1 に示した。

5kg を全量粉碎後に分析用試料を採材した場合のアフラトキシン B<sub>1</sub> 濃度の範囲は 1.3~6.3ppb (平均 3.3ppb) であり、CV (変動係数) は 69.7%であった。一方、インクリメント縮分後の試料を粉碎して分析用試料を採材した場合の濃度範囲は 0.8~34.0ppb (平均 8.9ppb) であって、5 試料中 1 試料 (No.3) では 34.0ppb と著しく高い値を示したことから、試料間のバラツキは全量粉碎した場合に比べて大きかった (CV : 160.7%)。

このことは、Whitaker ら<sup>4, 5, 6)</sup> も指摘しているように、トウモロコシのロット中ではカビ毒に汚染された穀粒が偏在していることから、ロットから分析用試料を採材する際には、出来るだけ多量の試料を採取して全粉碎する必要があることを示しており、現在、わが国で行われているトウモロコシ着地時のアフラトキシン検査におけるサンプリング手法については、今後、検討する必要があるものと思われる。

また、参考のため、表 1-2~1-5 にその他のカビ毒の分析結果を示したが、T-2 トキシンはいずれの試料からも検出されなかった (検出限界 : 2.4ppb) もの、その他、検出されたカビ毒 (ゼアラレノン、デオキシニバレノールおよびフモニシン B<sub>1</sub>) についても、アフラトキシン B<sub>1</sub> と同様にインクリメント縮分時のバラツキが全量粉碎時に比べて大きくなる傾向が認められ、インクリメント縮分では均一な代表サンプルを得ることが困難であるものとみなされた。

表 1-1 サンプリング手法に関する検討 (アフラトキシン B<sub>1</sub>、ppb)

	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	全平均
(5kg を全量粉碎)						
分析 1	1.5	0.6	3.4	4.9	1.0	
分析 2	2.1	0.7	3.6	5.5	1.1	
分析 3	2.3	0.8	4.1	5.9	1.1	
分析 4	2.5	0.8	4.3	6.1	1.1	
分析 5	2.5	1.5	5.4	6.2	1.3	
分析 6	2.6	1.6	5.9	6.5	1.5	
分析 7	3.0	1.8	6.8	6.8	1.8	
分析 8	3.4	2.4	7.0	8.6	2.1	
平均	2.5	1.3	5.1	6.3	1.4	3.3
SD						2.3
CV						69.7
(インクリメント縮分後に粉碎)						
分析 1	0.7	7.5	31.1	0.7	0.6	
分析 2	0.8	8.1	36.9	1.8	0.9	
平均						8.9
SD						14.3
CV						160.7

注) 各分析値は濃度の低い順に並び替えて表示した。

表 1 - 2 サンプルング手法に関する検討（ゼアラレノン、ppb）

	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	全平均
(5kg を全量粉砕)						
分析 1	<0.3	<0.3	5.6	9.9	11.6	
分析 2	<0.3	<0.3	6.4	9.9	13.0	
分析 3	<0.3	<0.3	7.8	10.3	13.8	
分析 4	<0.3	0.3	8.7	10.4	14.6	
分析 5	<0.3	1.9	8.7	11.6	15.9	
分析 6	<0.3	2.1	9.0	13.6	16.3	
分析 7	3.1	3.2	9.8	17.7	16.7	
分析 8	7.2	3.6	12.2	23.8	19.8	
平均	5.2	2.2	8.5	13.4	15.2	8.9
SD						5.4
CV						60.7
(インクリメント縮分後に粉砕)						
分析 1	7.2	5.8	2.9	30.2	4.2	
分析 2	10.1	6.5	4.0	36.6	6.7	
平均	8.7	6.2	3.5	33.4	5.5	11.5
SD						12.4
CV						107.8

注) 各分析値は濃度の低い順に並び替えて表示した。

表 1 - 3 サンプルング手法に関する検討（デオキシニバレノール、ppb）

	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	全平均
(5kg を全量粉砕)						
分析 1	150.0	193.9	168.6	219.7	265.6	
分析 2	157.0	196.6	186.7	235.4	291.9	
分析 3	160.7	198.8	198.0	236.0	297.2	
分析 4	161.9	198.8	239.2	237.0	298.1	
分析 5	162.7	200.3	254.8	262.7	301.9	
分析 6	163.5	204.2	274.5	266.4	323.9	
分析 7	163.8	210.7	279.2	274.0	351.6	
分析 8	164.5	211.7	286.7	274.4	375.9	
平均	160.5	201.9	236.0	250.7	313.3	232.5
SD						57.0
CV						24.5
(インクリメント縮分後に粉砕)						
分析 1	371.1	176.7	130.8	369.3	213.0	
分析 2	405.1	247.0	156.7	371.4	222.3	
平均	388.1	211.9	143.8	370.4	217.7	266.4
SD						107.2
CV						40.2

注) 各分析値は濃度の低い順に並び替えて表示した。

表 1 - 4 サンプルング手法に関する検討 (フモニシン B<sub>1</sub>、ppm)

	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	全平均
(5kg を全量粉砕)						
分析 1	2.0	2.2	1.6	2.1	1.5	
分析 2	2.0	2.5	1.9	2.3	1.5	
分析 3	2.0	2.5	2.0	2.5	1.6	
分析 4	2.1	2.6	2.0	2.5	1.7	
分析 5	2.2	2.7	2.1	2.6	1.8	
分析 6	2.3	2.7	2.2	2.7	1.8	
分析 7	2.6	2.7	2.2	2.7	1.9	
分析 8	2.6	3.0	2.4	2.7	2.0	
平均	2.2	2.6	2.1	2.5	1.7	2.2
SD						0.4
CV						18.2
(インクリメント縮分後に粉砕)						
分析 1	0.6	1.3	0.5	3.2	2.1	
分析 2	0.7	1.4	0.5	3.4	1.9	
平均	0.7	1.4	0.5	3.3	2.0	1.6
SD						1.1
CV						68.8

注) 各分析値は濃度の低い順に並び替えて表示した。

表 1 - 5 サンプルング手法に関する検討 (T-2 トキシン、ppb)

	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	全平均
(5kg を全量粉砕)						
分析 1	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	
分析 2	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	
分析 3	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	
分析 4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	
分析 5	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	
分析 6	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	
分析 7	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	
分析 8	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	
平均	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4
(インクリメント縮分後に粉砕)						
分析 1	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	
分析 2	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	
平均	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4

2) リコンディショニングの効果に関する検討 (トウモロコシ穀粒を篩分けした場合のアフラトキシン B<sub>1</sub>等の濃度変化)

リコンディショニング前のトウモロコシ穀粒を、網目 7mm および 3mm の篩で順次篩分した場合のアフラトキシン B<sub>1</sub>濃度は表 2 - 1 に示したとおりであって、7mm 篩上に残った穀粒のアフラトキシン B<sub>1</sub>濃度は検出限界 (0.3ppb) 未満~5.8ppb であったのに対して、3~7mm の穀粒では 2.4~12.8ppb (平均 7.3ppb)、3mm 以下の穀粒では 3.1~25.0ppb (平均 16.4ppb) であった。なお、各分画の穀粒重量から換算した

試料全体のアフラトキシン B<sub>1</sub>濃度は表 2 - 2 に示したとおりであって、前項で 5kg を全量粉砕した場合のアフラトキシン B<sub>1</sub>濃度と良く一致していた。

また、表 3 - 1～3 - 4 に示したとおり、その他のカビ毒でもアフラトキシン B<sub>1</sub>濃度の推移と同様の傾向が認められた。

表 2 - 1 トウモロコシを篩分けした場合のアフラトキシン B<sub>1</sub>濃度 (ppb)

試料	>7mm			3～7mm			<3mm		
	分析 1	分析 2	平均	分析 1	分析 2	平均	分析 1	分析 2	平均
No.1	2.1	2.4	2.3	6.1	7.6	6.9	15.6	16.7	16.2
No.2	<0.3	<0.3	<0.3	13.9	11.7	12.8	13.1	12.9	13.0
No.3	6.6	4.9	5.8	5.8	9.2	7.5	24.4	24.5	24.5
No.4	1.6	5.6	3.6	8.6	5.6	7.1	23.6	26.4	25.0
No.5	<0.3	<0.3	<0.3	2.4	2.4	2.4	2.5	3.6	3.1
全平均	<0.3～5.8			7.3±3.7			16.4±9.1		

表 2 - 2 篩分けした各分画重量から推定した試料中のアフラトキシン B<sub>1</sub>濃度

試料	分画	試料重量 (g)	アフラトキシン B <sub>1</sub> 分析値 (ppb)	試料中のアフラトキシン B <sub>1</sub> 実量 (μg)	全試料中推定アフラトキシン B <sub>1</sub> 濃度 (ppb)	5kg 全量粉砕時の平均アフラトキシン B <sub>1</sub> 濃度 (ppb)
No.1	>7mm	4558.6	2.3	10.485	3.2	2.5
	3～7mm	841.3	6.9	5.805		
	<3mm	86.0	16.2	1.393		
No.2	>7mm	4426.6	<0.3	0	2.1	1.3
	3～7mm	779.0	12.8	9.971		
	<3mm	81.7	13.0	1.062		
No.3	>7mm	4669.2	5.8	27.081	6.3	5.1
	3～7mm	849.0	7.5	6.368		
	<3mm	70.6	24.5	1.730		
No.4	>7mm	4281.0	3.6	15.412	4.7	6.3
	3～7mm	741.5	7.1	5.265		
	<3mm	148.3	25.0	3.708		
No.5	>7mm	4982.2	<0.3	0	0.5	1.4
	3～7mm	896.0	2.4	2.150		
	<3mm	218.5	3.1	0.677		

表 3 - 1 トウモロコシを篩分けした場合のゼアラレノン濃度 (ppb)

試料	>7mm			3~7mm			<3mm		
	分析 1	分析 2	平均	分析 1	分析 2	平均	分析 1	分析 2	平均
No.1	3.3	3.5	3.4	38.8	45.8	42.3	159.3	167.3	163.3
No.2	6.4	6.6	6.5	23.2	24.3	23.8	227.0	271.6	249.3
No.3	40.5	47.7	44.1	30.4	46.5	38.5	128.6	183.6	156.1
No.4	6.8	7.2	7.0	26.2	29.6	27.9	79.2	91.3	85.3
No.5	5.2	7.7	6.5	34.5	53.1	43.8	154.5	208.3	181.4
全平均	13.5±17.2			35.3±8.9			167.1±58.7		

表 3 - 2 トウモロコシを篩分けした場合のデオキシニバレノール濃度 (ppb)

試料	>7mm			3~7mm			<3mm		
	分析 1	分析 2	平均	分析 1	分析 2	平均	分析 1	分析 2	平均
No.1	96.8	111.1	104.0	520.2	543.5	531.9	912.7	933.4	923.1
No.2	96.7	108.5	102.6	338.4	348.1	343.3	664.7	688.1	676.4
No.3	111.4	117.6	114.5	254.4	258.5	256.5	786.8	803.5	795.2
No.4	100.0	140.7	120.7	483.6	556.3	520.0	1003.6	1359.2	1181.4
No.5	60.5	175.2	117.9	684.6	693.5	689.1	1288.1	1334.0	1311.1
全平均	111.9±8.2			468.2±170.3			977.4±264.4		

表 3 - 3 トウモロコシを篩分けした場合のフモニシン B<sub>1</sub> 濃度 (ppm)

試料	>7mm			3~7mm			<3mm		
	分析 1	分析 2	平均	分析 1	分析 2	平均	分析 1	分析 2	平均
No.1	0.6	0.9	0.8	3.7	4.1	3.9	23.5	24.3	23.9
No.2	1.0	1.9	1.5	5.0	5.8	5.4	43.4	44.0	43.7
No.3	1.1	1.2	1.2	7.0	7.4	7.2	36.9	39.6	38.3
No.4	1.6	1.7	1.7	7.3	7.4	7.4	31.9	33.0	32.5
No.5	0.2	0.2	0.2	4.1	4.3	4.2	11.1	12.0	11.6
全平均	1.1±0.6			5.6±1.6			30.0±12.6		

表 3 - 4 トウモロコシを篩分けした場合の T-2 トキシン濃度 (ppb)

試料	>7mm			3~7mm			<3mm		
	分析 1	分析 2	平均	分析 1	分析 2	平均	分析 1	分析 2	平均
No.1	<2.4	<2.4	<2.4	3.2	3.3	3.3	23.6	21.6	22.6
No.2	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	8.1	11.8	10.0
No.3	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	15.1	26.2	20.6
No.4	<2.4	<2.4	<2.4	14.2	21.8	18.0	28.2	36.2	32.2
No.5	<2.4	2.5	<2.4 ~2.5	5.5	6.5	6.0	48.2	83.1	65.7
全平均	<2.4~2.5			<2.4~18.0			30.2±21.3		



3) リコンディショニングの効果に関する検討（日本国内でのリコンディショニング効果の検証）

国内の穀物サイロにおいてリコンディショニングを実施した際のトウモロコシ穀粒およびダストのアフラトキシン B<sub>1</sub>濃度は表 4-1 に示したとおりであって、入手した穀粒 5 試料中 1 試料ではアフラトキシン B<sub>1</sub>濃度が比較的高値を示したが、全体的にはダストに比べてアフラトキシン B<sub>1</sub>濃度は大きく低下しており、現在国内で実施されている集塵機によるリコンディショニングはアフラトキシン B<sub>1</sub>濃度を低減させるための手法として有効であるものとみなされた。

また、表 4-2~4-5 に示したとおり、その他のカビ毒でもアフラトキシン B<sub>1</sub>と同様に集塵によるリコンディショニングの効果が確認された。

表 4-1 国内におけるリコンディショニング効果の検証（アフラトキシン B<sub>1</sub>、ppb）

試料	分析 1	分析 2	平均	
穀粒	No.1 - 1	0.7	2.4	1.6
	No.1 - 2	<0.3	<0.3	<0.3
	No.2 - 1	<0.3	<0.3	<0.3
	No.2 - 2	<0.3	<0.3	<0.3
	No.3 - 1	<0.3	<0.3	<0.3
	No.3 - 2	11.2	12.1	11.7
	No.4 - 1	6.1	7.4	6.8
	No.4 - 2	<0.3	<0.3	<0.3
	No.5 - 1	4.6	7.3	6.0
	No.5 - 2	1.3	3.0	2.2
全平均	<0.3~11.7			
ダスト	No.1 - 1	3.1	3.3	3.2
	No.1 - 2	3.3	3.4	3.4
	No.2 - 1	7.4	9.8	8.6
	No.2 - 2	7.4	8.0	7.7
	No.3 - 1	9.8	10.6	10.2
	No.3 - 2	9.5	10.7	10.1
	No.4 - 1	13.1	16.8	15.0
	No.4 - 2	13.4	13.6	13.5
	No.5 - 1	6.3	8.5	7.4
	No.5 - 2	6.2	6.3	6.3
全平均	8.5±3.9			

表 4 - 2 国内におけるリコンディショニング効果の検証（ゼアラレノン、ppb）

	試料	分析 1	分析 2	平均
穀粒	No.1 - 1	2.0	2.1	2.1
	No.1 - 2	2.7	2.9	2.8
	No.2 - 1	5.9	8.3	7.1
	No.2 - 2	12.8	18.8	15.8
	No.3 - 1	9.2	10.8	10.0
	No.3 - 2	9.2	10.8	10.0
	No.4 - 1	4.3	5.9	5.1
	No.4 - 2	6.8	10.9	8.9
	No.5 - 1	19.4	21.3	20.4
	No.5 - 2	8.3	12.6	10.5
	全平均			9.3±5.6
ダスト	No.1 - 1	89.6	93.9	91.8
	No.1 - 2	96.4	116.4	106.4
	No.2 - 1	91.4	97.7	94.6
	No.2 - 2	111.1	118.7	114.9
	No.3 - 1	91.2	105.1	98.2
	No.3 - 2	88.6	98.3	93.5
	No.4 - 1	86.0	91.5	88.8
	No.4 - 2	90.5	91.2	90.9
	No.5 - 1	99.9	102.6	101.3
	No.5 - 2	92.1	93.3	92.7
	全平均			97.3±8.1

表 4 - 3 国内におけるリコンディショニング効果の検証（デオキシニバレノール、ppb）

	試料	分析 1	分析 2	平均
穀粒	No.1 - 1	184.6	212.3	198.5
	No.1 - 2	147.4	147.4	147.5
	No.2 - 1	148.9	168.9	158.9
	No.2 - 2	229.8	235.3	232.6
	No.3 - 1	143.8	166.7	155.3
	No.3 - 2	142.3	136.6	139.5
	No.4 - 1	152.9	165.5	159.2
	No.4 - 2	235.5	359.5	297.5
	No.5 - 1	342.5	432.2	387.4
	No.5 - 2	421.6	435.6	428.6
	全平均			230.5±105.6
ダスト	No.1 - 1	1395.1	1458.7	1426.9
	No.1 - 2	1395.4	1664.6	1530.0
	No.2 - 1	1318.5	1395.1	1356.8
	No.2 - 2	1327.8	1392.5	1360.2
	No.3 - 1	1277.3	1331.1	1304.2
	No.3 - 2	849.0	1304.0	1076.5
	No.4 - 1	1284.2	1341.5	1312.9
	No.4 - 2	1343.1	1572.3	1457.7
	No.5 - 1	1467.5	1559.7	1513.6
	No.5 - 2	973.0	984.9	979.0
	全平均			1331.8±179.3

表 4 - 4 国内におけるリコンディショニング効果の検証（フモニシン B<sub>1</sub>、ppm）

	試料	分析 1	分析 2	平均
穀粒	No.1 - 1	0.9	1.0	1.0
	No.1 - 2	0.6	0.7	0.7
	No.2 - 1	1.7	1.7	1.7
	No.2 - 2	3.6	4.3	4.0
	No.3 - 1	3.3	3.5	3.4
	No.3 - 2	1.9	2.1	2.0
	No.4 - 1	1.5	1.5	1.5
	No.4 - 2	1.4	1.4	1.4
	No.5 - 1	0.9	1.0	1.0
	No.5 - 2	0.6	0.7	0.7
	全平均			1.7±1.1
1.7 ダスト	No.1 - 1	13.4	14.3	13.9
	No.1 - 2	13.4	13.9	13.7
	No.2 - 1	9.7	10.1	9.9
	No.2 - 2	8.4	9.2	8.8
	No.3 - 1	8.4	9.4	8.9
	No.3 - 2	8.3	9.3	8.8
	No.4 - 1	3.6	4.1	3.9
	No.4 - 2	3.4	3.7	3.6
	No.5 - 1	1.8	2.0	1.9
	No.5 - 2	1.6	1.7	1.7
	全平均			7.5±4.5

表 4 - 5 国内におけるリコンディショニング効果の検証（T - 2 トキシン、ppb）

	試料	分析 1	分析 2	平均
穀粒	No.1 - 1	<2.4	<2.4	<2.4
	No.1 - 2	<2.4	<2.4	<2.4
	No.2 - 1	<2.4	<2.4	<2.4
	No.2 - 2	<2.4	<2.4	<2.4
	No.3 - 1	<2.4	<2.4	<2.4
	No.3 - 2	<2.4	<2.4	<2.4
	No.4 - 1	<2.4	<2.4	<2.4
	No.4 - 2	<2.4	<2.4	<2.4
	No.5 - 1	<2.4	<2.4	<2.4
	No.5 - 2	<2.4	<2.4	<2.4
	全平均			<2.4
ダスト	No.1 - 1	35.3	39.6	37.5
	No.1 - 2	37.5	39.0	38.3
	No.2 - 1	22.3	25.6	24.0
	No.2 - 2	24.6	25.0	24.8
	No.3 - 1	21.0	23.5	22.3
	No.3 - 2	22.2	22.2	22.2
	No.4 - 1	30.0	32.6	31.3
	No.4 - 2	32.9	33.9	33.4
	No.5 - 1	40.7	42.9	41.8
	No.5 - 2	33.9	39.2	36.6
	全平均			31.3±7.4

## 6. 参考文献

- 1) 農林省畜産局長通知：飼料等検査実施要領の制定について、昭和 52 年 5 月 10 日、

52 畜 B 第 793 号、1977.

- 2) 福中理絵、平岡久明：高速液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による飼料中の 11 種類のカビ毒の一斉分析法、飼料研究報告、31、8 - 30、独立行政法人肥飼料検査所、2006.
- 3) 飼料分析基準研究会：飼料分析法・解説 2004、5-69、社団法人日本科学飼料協会、2004.
- 4) A. S. Johansson, T. B. Whitaker, W. M. Hagler Jr., F. G. Giesbrecht, J. H. Young and D. T. Bowman : Testing Shelled Corn for Aflatoxin, part 1: Estimation of Variance Components, Journal of AOAC International, Vol. 83, No. 5, 1264 - 1269, 2000.
- 5) A. S. Johansson, T. B. Whitaker, F. G. Giesbrecht, W. M. Hagler Jr. and J. H. Young : Testing Shelled Corn for Aflatoxin, part 2: Modeling the Observed Distribution of Aflatoxin Test Results, Journal of AOAC International, Vol. 83, No. 5, 1270 - 1278, 2000.
- 6) A. S. Johansson, T. B. Whitaker, F. G. Giesbrecht, W. M. Hagler Jr. and J. H. Young : Testing Shelled Corn for Aflatoxin, part 3: Evaluating the Performance of Aflatoxin Sampling Plans, Journal of AOAC International, Vol. 83, No. 5, 1270 - 1278, 2000.
- 7) Iowa State University Extension : Aflatoxin in Corn revised ed., PM1800, 2005.

(参考1)



写真 1-1 リコンディショニング時に発生したダスト



写真 1-2 ダストは産業廃棄物として焼却処分される



写真 2 *Aspergillus flavus* が付着していると思われる穀粒



写真 3-1 トウモロコシを篩い分けした際に 7mm 篩上に残った穀粒



写真 3-2 同 7mm 篩を通過し、3mm 篩上に残った穀粒



写真 3-3 同 3mm 篩を通過した穀粒

(参考2)

## 1. 分析法

### 1) アフラトキシン B<sub>1</sub>、ゼアラレノン、デオキシニバレノールおよび T-2 トキシンの分析法

#### (1) ゼアラレノンおよび T-2 トキシンの標準原液の調製

ゼアラレノン (biopure 製、100ppm) および T-2 トキシンの (biopure 製、100ppm) 各 0.5mL をそれぞれ 25mL の褐色メスフラスコに入れ、標線までアセトニトリルを加えてそれぞれ 2ppm のゼアラレノンおよび T-2 トキシンの標準原液を調製した。

#### (2) 混合標準液の調製

アフラトキシン B<sub>1</sub> (biopure 製、2ppm)、ゼアラレノン標準原液、デオキシニバレノール (biopure 製、100ppm) および T-2 トキシンの標準原液のそれぞれ 0.625、0.625、0.5、5.0mL を 25 mL の褐色メスフラスコに入れ、標線までアセトニトリル-水 (21 : 4) を加え混合標準原液を調製した (この液の濃度は、アフラトキシン B<sub>1</sub> およびゼアラレノンが 50ppb、デオキシニバレノールが 2,000ppb および T-2 トキシンの 400ppb である。)

分析に際して、混合標準原液の一定量をアセトニトリル-水 (21 : 4) で希釈して各混合標準液を調製した。

#### (3) 抽出

分析試料 50g を量って 300mL の褐色共栓三角フラスコに入れ、アセトニトリル-水 (21 : 4) 100mL を加え、60 分間振とうして抽出した。抽出液を褐色共栓遠心沈殿管に入れ、2,000rpm 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。

試料溶液 10mL を多機能カラム (MultiSep226 AflaZon+、Romer Labs 製) に入れ、初めの流出液 4mL を捨てた。その後の流出液 2mL を目盛付試験管に受けて、そのうち 1mL を別の試験管に入れ、酢酸-水 (1 : 100) を加えて希釈した。この液の一定量を 1.5mL 容遮光マイクロチューブにとり、10,000rpm で 5 分間遠心分離し、上澄み液を液体クロマトグラフタンデム型質量分析計 (以下、LC/MS/MS とする。) に供する試料溶液とした。

#### (4) LC/MS/MS

各試料溶液および混合標準液それぞれ 10μL を LC/MS/MS に注入し、表 1 に示す測定条件に従いマルチプルリアクションモニタリング (MRM) クロマトグラムを得た。得られたクロマトグラムからピーク面積を求めて検量線を作成し、試料中のアフラトキシン B<sub>1</sub>、ゼアラレノン、デオキシニバレノールおよび T-2 トキシンの濃度を算出した。

表 1 LC/MS/MS 測定条件

LC	Agilent 1200 Series
検出器	Agilent 質量分析計 6410 Triple Quad LC/MS
カラム	Agilent ZOBAX XDB-C18 (4.6 mm i.d.×150 mm、5μm)
溶離液	A液：アセトニトリル、B液：10mmol/L 酢酸アンモニウム溶液 30%B (1min) →80%B (10min) →80%B (22min)
流速	0.2mL/min
カラム温度	40°C
イオン化法	エレクトロスプレーイオン化法 (ESI)
ネブライザーガス	窒素、50psi
乾燥ガス	窒素、10L/min
キャピラリー電圧	正イオン 4.0kV、負イオン 1.5kV
モニターイオン	正イオン、m/z 313>285、CE 25eV (アフラトキシン B <sub>1</sub> ) 負イオン、m/z 317>175、CE 20eV (ゼアラレノン) 負イオン、m/z 355>295、CE 5eV (デオキシニバレノール) 正イオン、m/z 484>305、CE 10eV (T-2 トキシン)
注入量	10μL

分析試料 50g

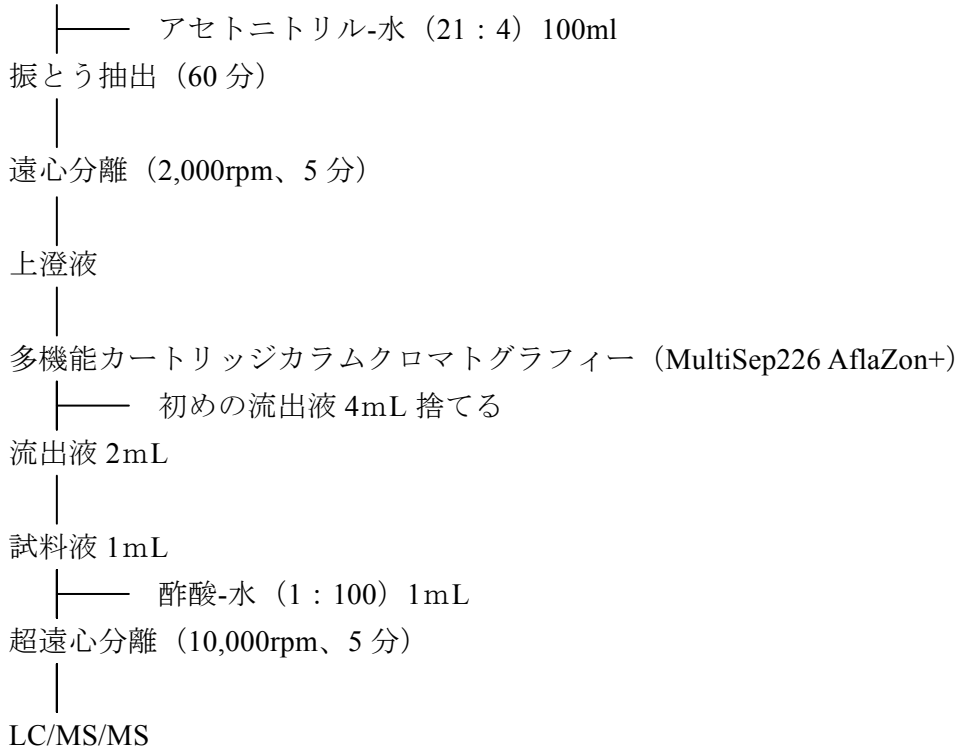


図 1 LC/MS/MS によるアフラトキシン B<sub>1</sub>、ゼアラレノン、デオキシニバレノールおよび T-2 トキシンの一斉分析法フローシート

## 2) フモニシン B<sub>1</sub> の分析法

### (1) フモニシン B<sub>1</sub> 標準液の調製

フモニシン B<sub>1</sub> (和光純薬販売) 10mg を正確に量って 20mL のフラスコに入れ、

メタノールを加えて溶かし、更に標線まで同溶媒を加えて 500ppm の標準原液を調製した。分析に際して、標準原液の一定量をメタノール-水 (3 : 1) で希釈してフモニシン B<sub>1</sub> として 1,2,4,及び 8ppm を含有する標準液を調製した。

## (2) 抽出

分析試料 20g を量って 200mL の共栓三角フラスコに入れ、メタノール-水 (3 : 1) 100mL を加え、15 分間振とうして抽出した後、抽出液を共栓遠心沈殿管に入れ、1, 500rpm で 5 分間遠心分離した。この上澄み液 10mL をメタノール 8mL およびメタノール-水 (3 : 1) 8mL で順次洗浄したイオン交換カートリッジ (Bond Elute LRC SAX, Varian Associates 製) に入れ、液面が充填剤の上面に達するまで流出させた後、メタノール-水 (3 : 1) 8mL およびメタノール 8mL を順次カートリッジに加え、同様に流出させた。

50mL のなし形フラスコをイオン交換カートリッジの下に置き、メタノール-酢酸 (99 : 1) 14mL をカートリッジに加え、フモニシン B<sub>1</sub> を溶出させた。溶出液を 40°C の水浴上でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って酢酸臭がなくなるまで乾固した。メタノール-水 (3 : 1) 1mL を加えて超音波洗浄機を用いて残留物を溶かし、10,000rpm で 5 分間遠心分離し、上澄み液を高速液体クロマトグラフィー (以下、HPLC とする。) に供する試料溶液とした。

## (3) HPLC

試料溶液および各標準液それぞれ 20 $\mu$ L を HPLC に注入し、表 2 に示す測定条件に従いクロマトグラムを得た。得られたクロマトグラムからピーク面積を求めて検量線を作成し、試料中のフモニシン B<sub>1</sub> 濃度を算出した。

表 2 HPLC 測定条件

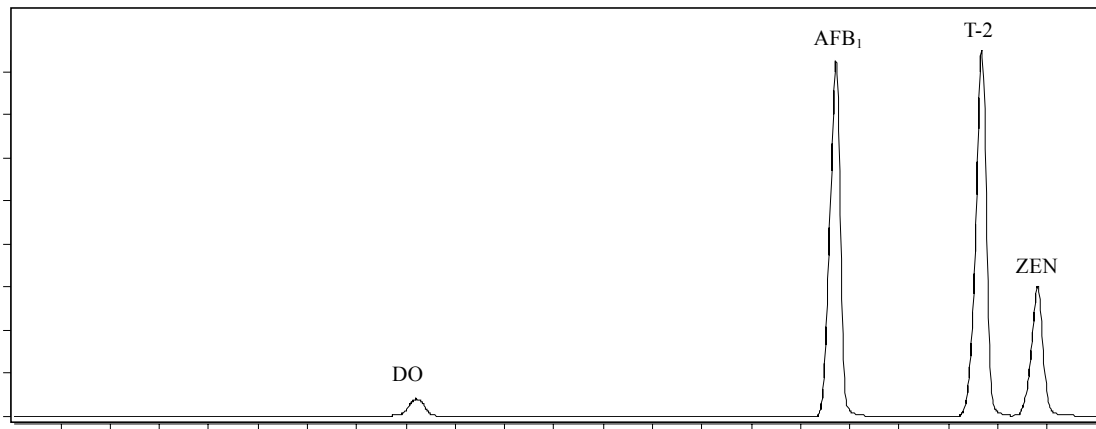
LC	Agilent 1100 Series
検出器	蛍光検出器 (励起波長 340nm、蛍光波長 450nm)
カラム	Fluofix 120E (内径 4.6mm、長さ 30mm、粒径 : 5 $\mu$ m)
溶離液	メタノール-無水トリフルオロ酢酸(0.1%) (55+45)
反応液	蛍光化試液 <sup>注1)</sup>
流速	溶離液 1.0mL/min、反応液 0.5 mL/min
温度	カラム槽 50°C、反応槽 70°C
反応コイル	SHISEIDO NANOSPASE SI-2 (内径 0.25mm、長さ 10m)
注入量	20 $\mu$ L

注 1) *o*-フタルアルデヒド 0.4g 及び *N*-アセチル-L-システイン 0.5g をメタノール 5mL で溶かし、更にほう酸緩衝液 (ほう酸 24.7g および水酸化ナトリウム 12.3g を水に溶かし、水酸化ナトリウム溶液 (30w/v%) で pH9.9 ~10.1 に調整して 1L とし、メンブランフィルター (径 0.5  $\mu$ m 以下) でろ過した。) を加えて 500mL とした。



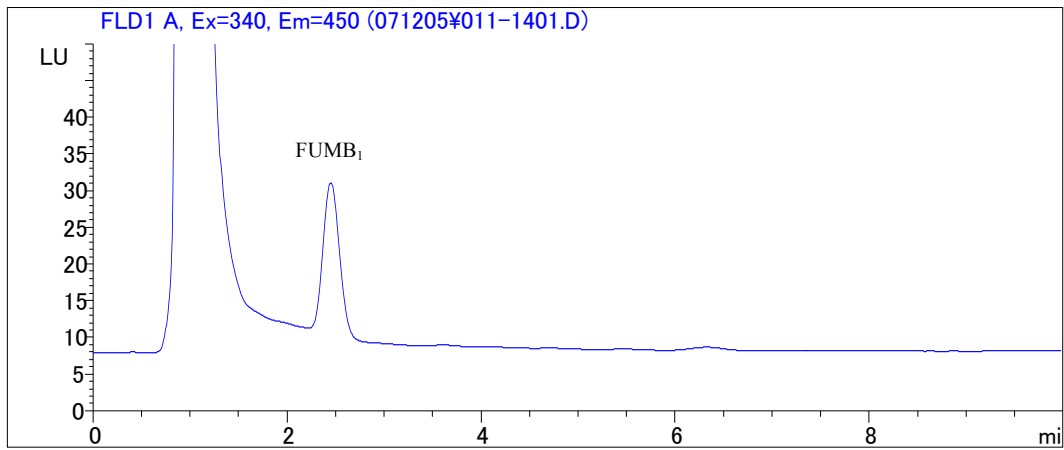
分析試料 20g  
 |——メタノール-水 (3 : 1) 100ml  
 振とう抽出 (15分)  
 |  
 ろ紙 (5種 A) でろ過  
 |  
 カートリッジカラムクロマトグラフィー (Bond Elute LRC SAX)  
 |——メタノール 8mL およびメタノール-水 (3 : 1) 8mL でカートリッジ洗浄  
 |——試料溶液 10mL を負荷  
 |——メタノール-水 (3 : 1) 8mL (洗浄)  
 |——メタノール 8mL (洗浄)  
 |——メタノール-酢酸 (99 : 1) 14mL で溶出  
 |——溶出液を減圧濃縮、窒素ガスを送って乾固  
 |——メタノール-水 (3 : 1) 1mL で溶かす  
 超遠心分離 (10,000rpm、5分)  
 |  
 HPLC

図2 HPLCによるフモニシン B<sub>1</sub>の分析法フローシート



付図1 アフラトキシシン B<sub>1</sub>、ゼアラレノン、デオキシニバレノールおよび T-2 トキシシンの MRM クロマトグラム例 (トウモロコシに混合標準液を添加した試料)

注) DON : デオキシニバレノール 400ppb 相当量  
 AFB<sub>1</sub> : アフラトキシシン B<sub>1</sub> 10ppb 相当量  
 T-2 : T-2 トキシシン 80ppb 相当量  
 ZEN : ゼアラレノン 40ppb 相当量



付図2 フモニシン B<sub>1</sub> のクロマトグラム例 (トウモロコシに標準液を添加した試料)

注) FUMB<sub>1</sub> : フモニシン B<sub>1</sub> 1ppm 相当量