

**Fig.57 ESI-LC/MS SIM chromatograms of standard aflatoxin M1:1 ppb(A) and sample solutions (B)**

# 牛乳のアフラトキシン M1 の汚染実態

分担研究者 伊藤 嘉典  
国立感染症研究所  
主任研究官

## A. 研究目的

CODEX委員会において、乳・乳製品中のアフラトキシンM1(Af M1)の基準値 (0.5 µg/kg) の採択が本年7月に諮られる見通しであることから、我が国における基準値設定のため、早急に国内で流通しているこれら食品中の汚染実態を究明することにある。

## B. 研究方法

試料：試料とした牛乳は、市販されている国内産のものを50試料用いた。

分析方法：牛乳をアフィニティーカラムAflaTest P (VICAM社) により処理したものを高速液体クロマトグラフィーで分析を行った。

1. アフィニティーカラム、AflaTest P (VICAM社)
2. 高速液体クロマトグラフィー(HPLC)  
カラム：LiChrospher 100 ,RP-18, 5 µm, 4 x 250 mm (関東化学)  
カラムオープン：40~42℃  
蛍光検出器：Ex. 365 nm, Em. 435 nm (Waters 474)  
移動相：アセトニトリル(HPLC用+水 (25+75, v/v))  
HPLC注入用Af M1標準液：0.7 ng/ml, 0.14 ng/ml  
HPLC注入量：100 µl  
HPLC流量：1 ml/min.

## Af M1 試験方法

1. 牛乳を約37℃に加温後、ガラスフィルターでろ過。
2. ろ過した試料20 mlをアフィニティーカラムに負荷、自然落下させる。
3. アフィニティーカラム内を蒸留水約10mlで洗浄。
4. 洗浄後カラム内の水を注射器で押出す。
5. アセトニトリル4mlでAf M1を溶出し、バイアルに集める。
6. バイアルをアルミブロックヒーターを用い、窒素気流下で蒸発乾固する。
7. 溶液1mlを加え、溶解後、HPLC用試験液とした。

## C. 結果

分析した全ての牛乳、50試料からAf M1と類似のリテンションタイムをもつピークが検出された(添付クロマトグラムデータ参照)。

50試料中22試料について、Af M1の確認方法であるトリクロロ酢酸(TFA)処理によりAf M2aと類似のリテンションタイムをもつピークが検出された(クロマトグラムデータ一部添付)。これらの結果から、検出されたピークは、ほぼAf M1であると考えられる。検出されたAf M1の汚染量は0.004-0.028ppbの範囲であった。この結果をTableに示した。

この分析方法の牛乳 0.05 ppb での添加回収試験を4回行ったときの平均回収率は118.02%であった。

## D. 考察

分析した全ての牛乳から検出されたピークがAf M1だと仮定すると、その由来は輸入されたコンーなどの配合飼料と推定される。よって、これらの飼料を全く与えないで飼育された乳牛から得られた牛乳のAf M1分析を行い、比較検討する必要がある。このためには、農水省との連携が必要と考える。

検出されたAf M1の汚染量は0.004-0.028ppbの範囲であったが、1960年代後半と1970年代にヨーロッパで行われた実態調査の結果は0.02-13.3ppbであり、これらと比較すると、今回の結果はあまり高いとは考えられない。

今回得られたAf M1と類似のリテンションタイムをもつピークの確認に用いた方法は、単に、新しいピーク (Af M2a) とそのピークの蛍光強度が増加したというだけであるので、他の方法、薄層クロマトグラフィーなどによる確認試験が必要不可欠である。

## E. 結論

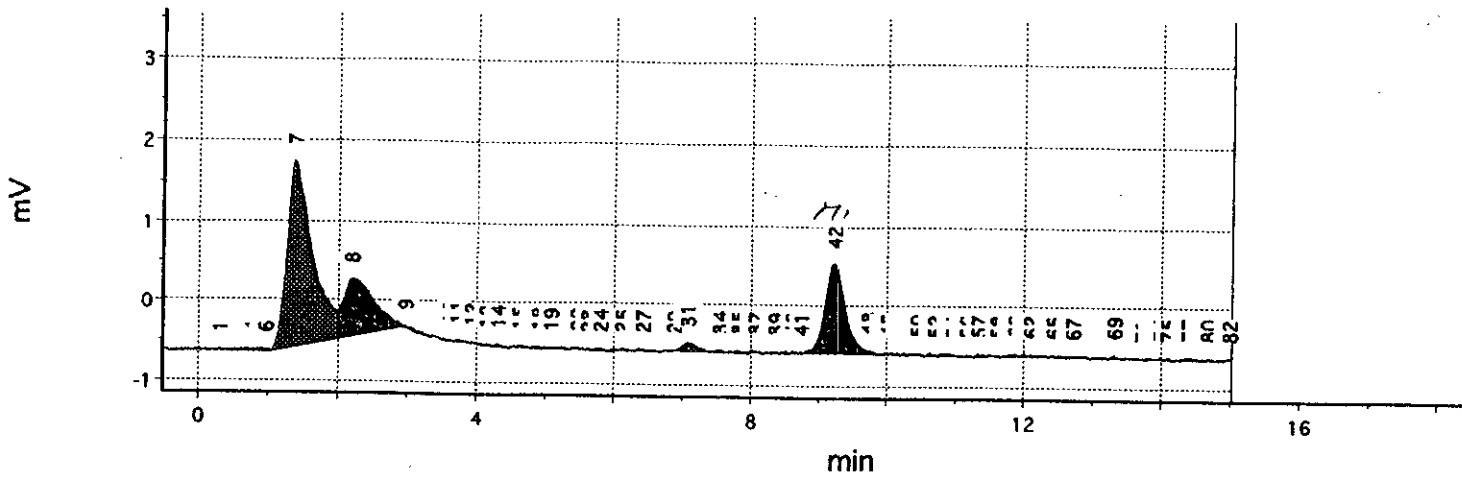
分析した全ての牛乳から検出されたピークがAf M1だと仮定すると、市販されている牛乳、或いは乳製品の全てがAf M1汚染を受けている可能性が大である。よって、今後とも市販牛乳、乳製品の実態調査が必要である。

Table

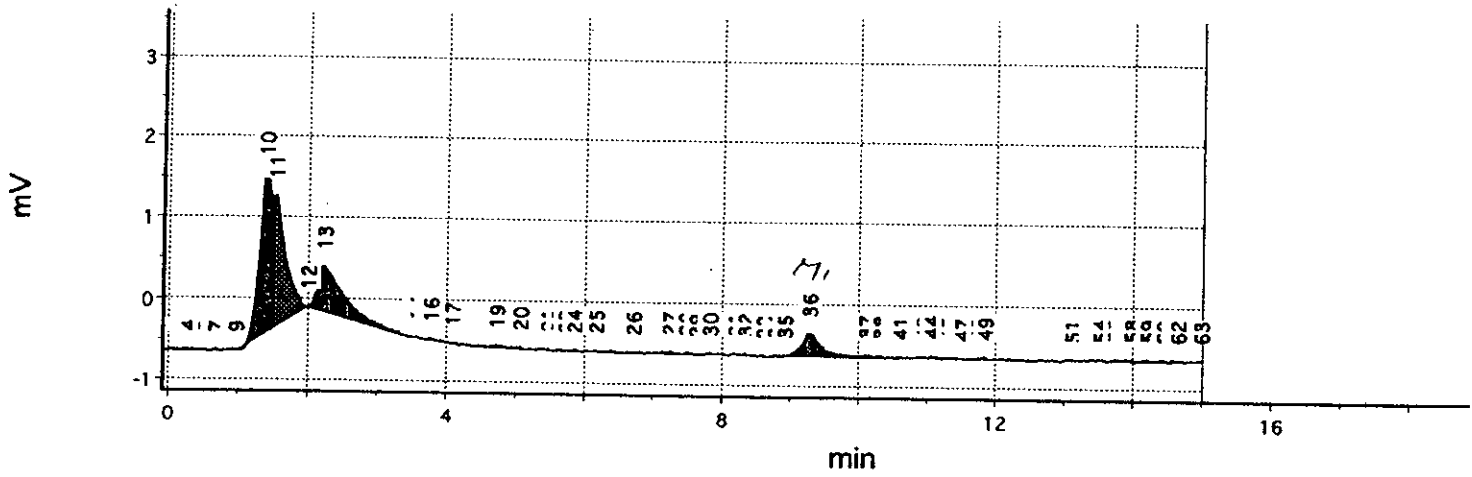
Smple No.	分析結果 Af M1 ppb	TFAによる 確認試験結果
Sample Y1	0.0182	+
Sample Y2	0.0180	
Sample Y3	0.0166	+
Sample Y4	0.0143	+
Sample Y5	0.0206	+
Sample Y6	0.0144	
Sample Y7	0.0157	
Sample Y8	0.0131	+
Sample Y9	0.0136	
Sample Y10	0.0076	
Sample Y11	0.0285	+
Sample Y12	0.0169	+
Sample Y13	0.0232	
Sample Y14	0.0083	+
Sample Y15	0.0148	+
Sample Y16	0.0169	
Sample Y17	0.0128	
Sample Y18	0.0095	+
Sample Y19	0.0065	
Sample Y20	0.0112	
Sample Y21	0.0137	+
Sample Y22	0.0081	+
Sample Y23	0.0040	+
Sample Y24	0.0100	+
Sample Y25	0.0113	
Sample Y26	0.0042	
Sample Y27	0.0116	
Sample Y28	0.0175	+
Sample Y29	0.0156	+
Sample Y30	0.0126	
Sample Y31	0.0145	+
Sample Y32	0.0102	+
Sample Y33	0.0129	
Sample Y34	0.0187	
Sample Y35	0.0125	
Sample Y36	0.0074	
Sample Y37	0.0120	
Sample Y38	0.0111	
Sample Y39	0.0142	
Sample Y40	0.0123	
Sample Y41	0.0154	
Sample Y42	0.0090	+
Sample Y43	0.0139	+
Sample Y44	0.0136	+
Sample Y45	0.0055	
Sample Y46	0.0129	
Sample Y47	0.0144	+
Sample Y48	0.0141	
Sample Y49	0.0101	
Sample Y50	0.0157	

02/13/2002 data

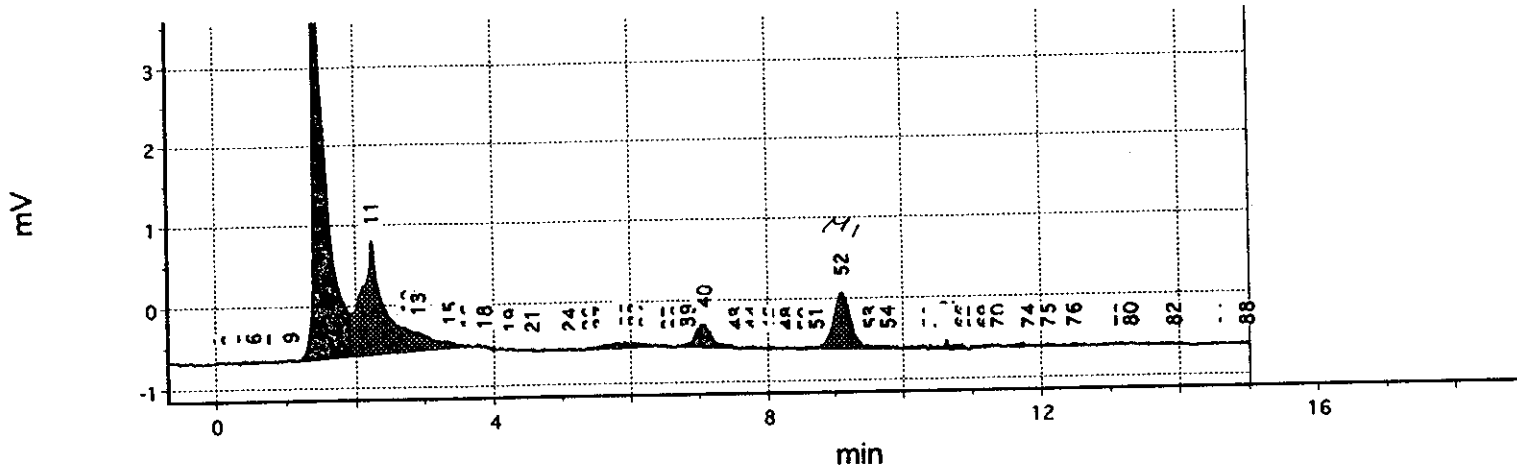
St. Af M1 0.07 ng / injection



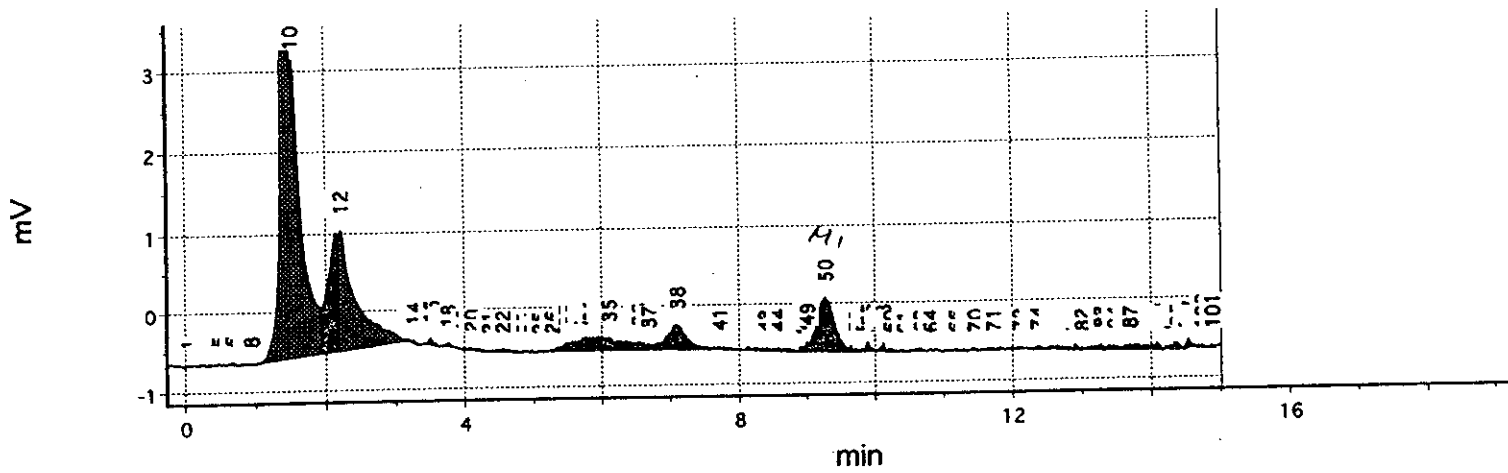
St. Af M1 0.014 ng / injection



### Sample Y1

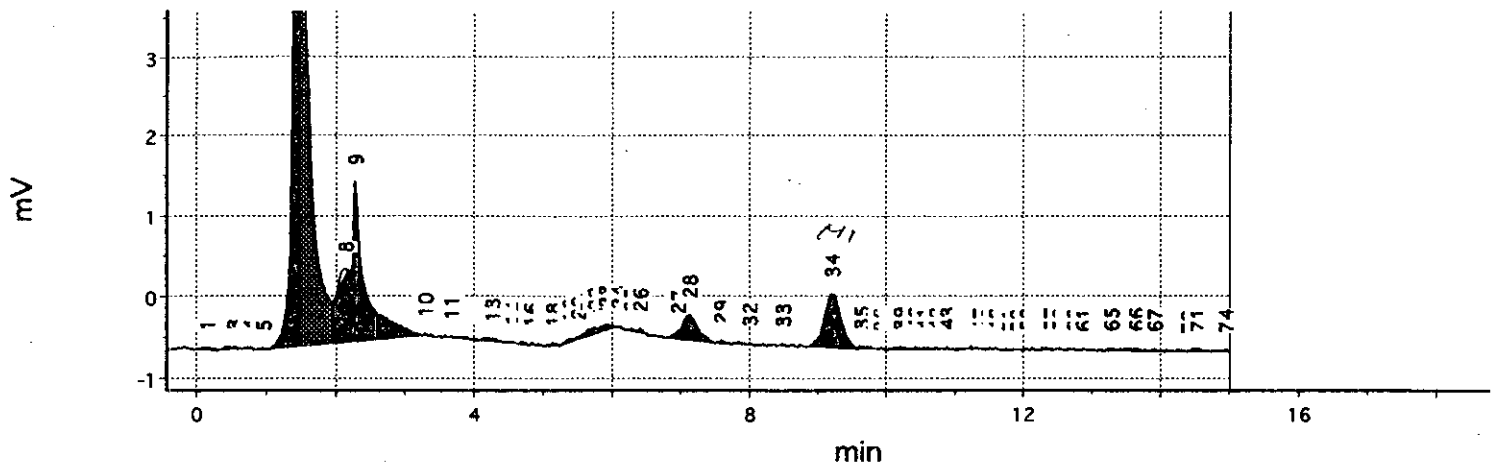


### Sample Y2

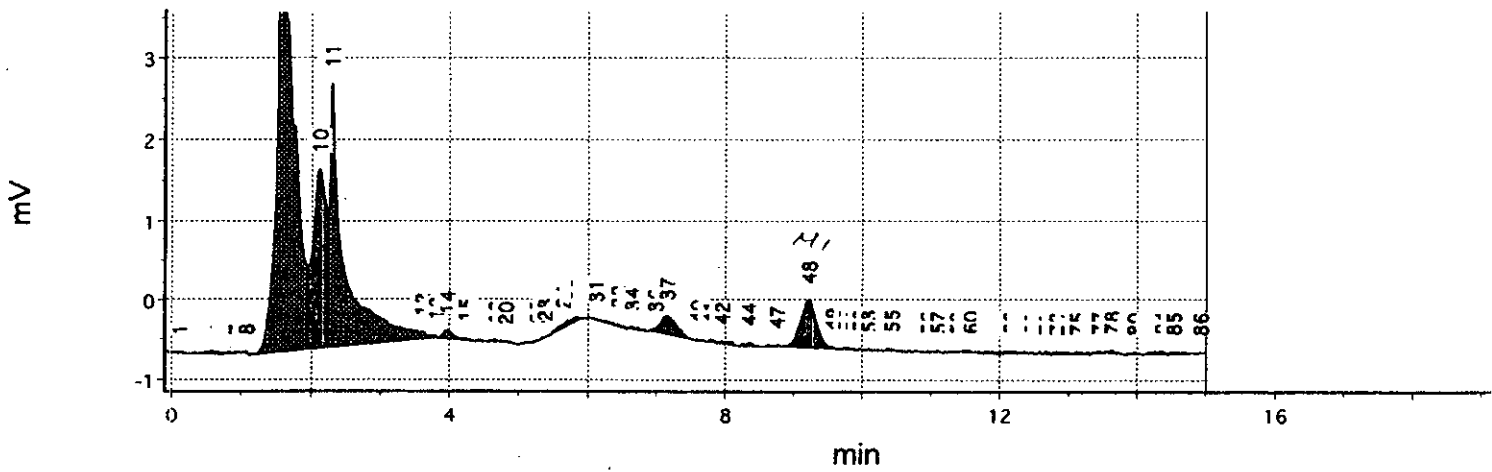




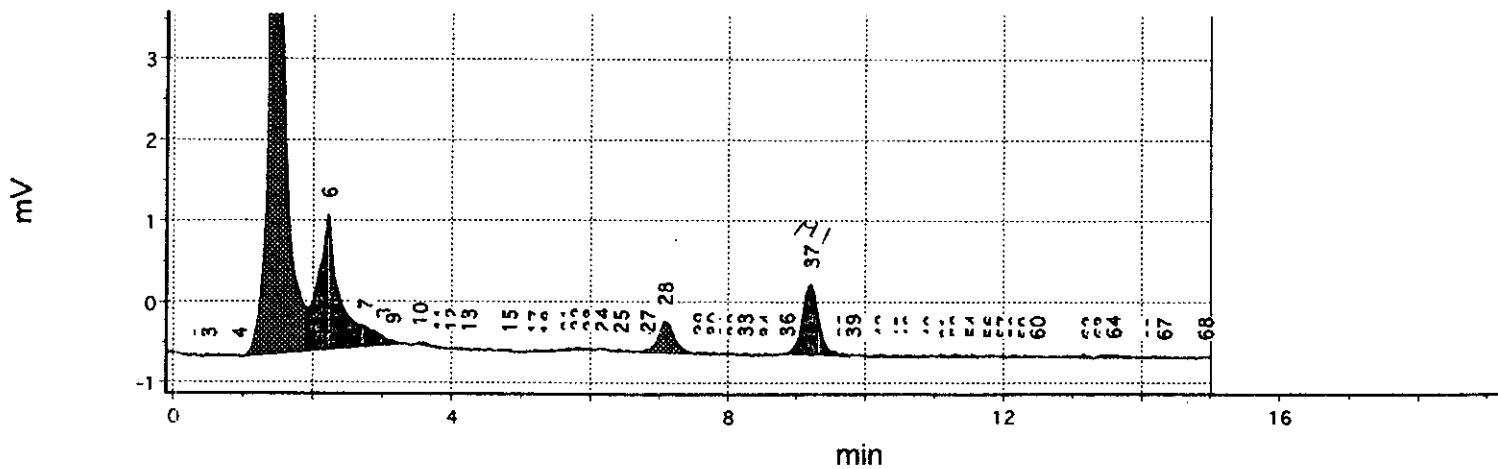
### Sample Y3



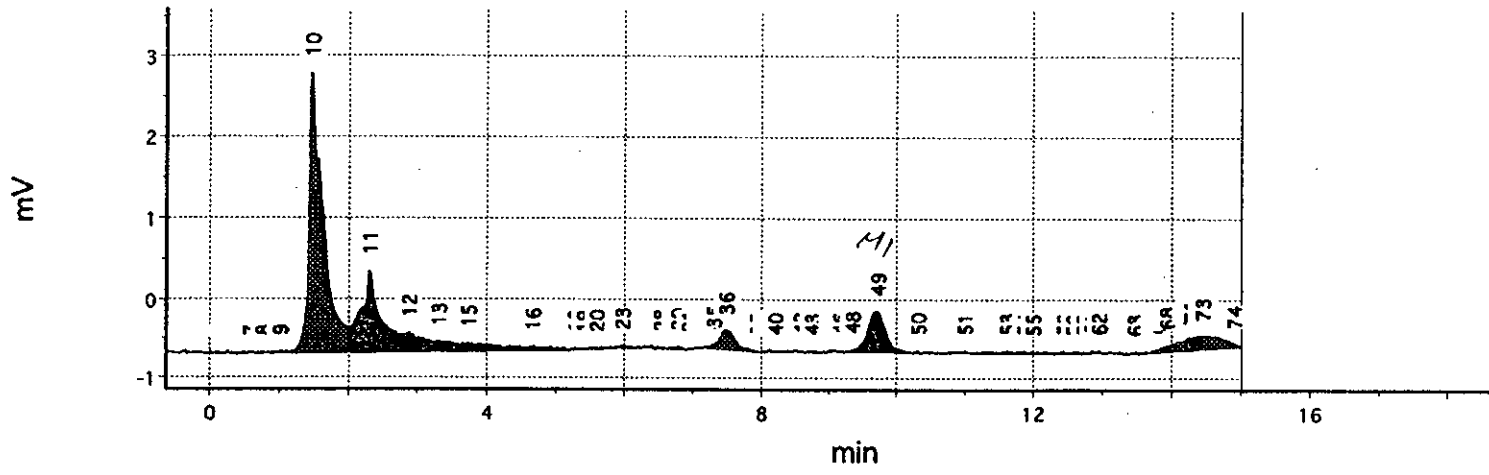
### Sample Y4



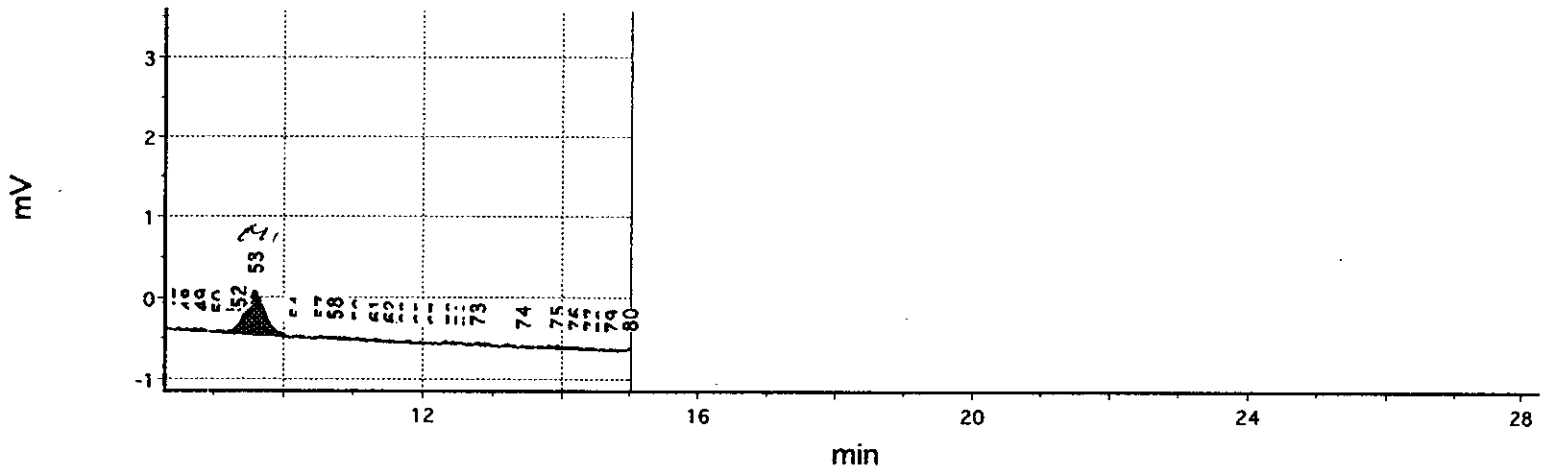
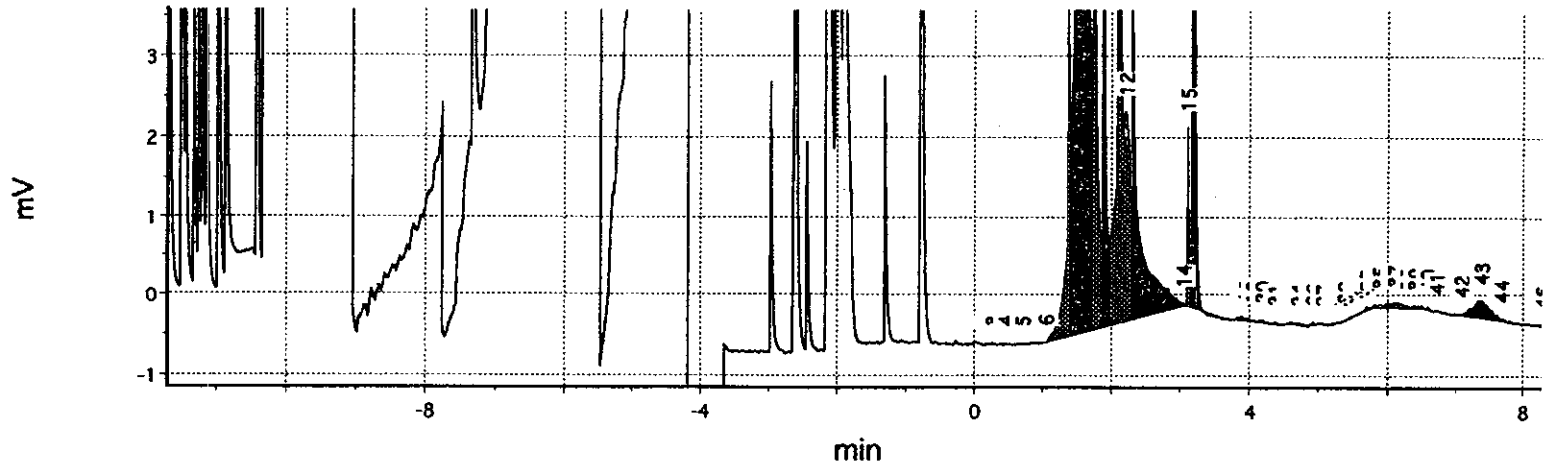
### Sample Y5



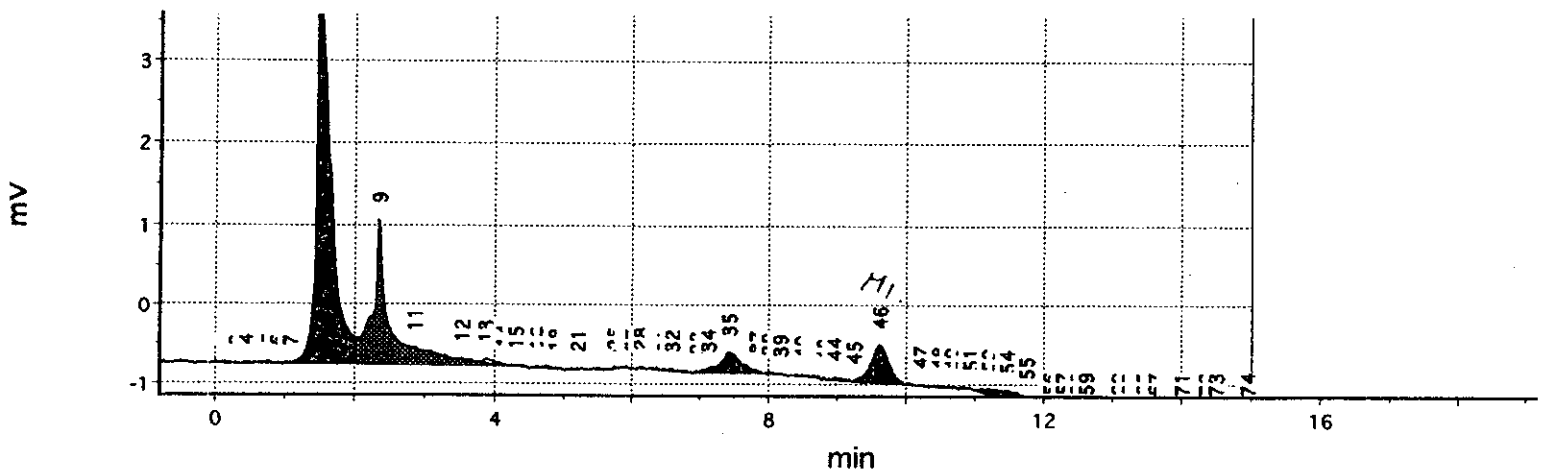
Sample Y6



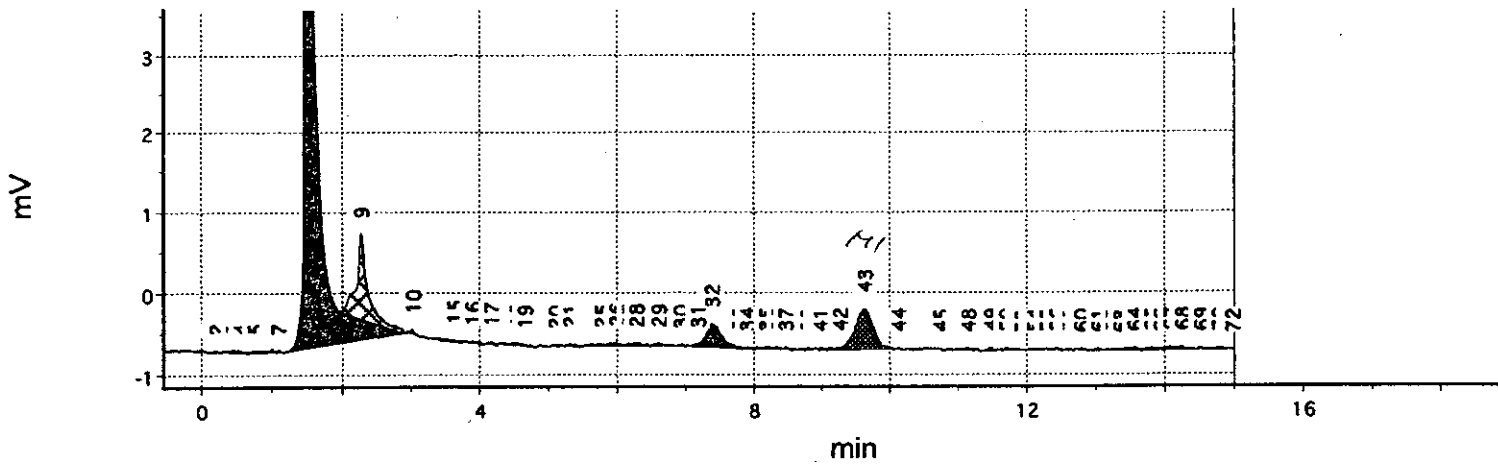
# Sample Y7



# Sample Y8



### Sample Y9



### Sample Y10

