

Ⅲ. 個 表

各試料における添加回収試験の結果

カビ毒	ZEN		T-2		HT-2	
	5	50	5	50	5	50
大麦	78.5	79.3	108.2	108.8	109.4	108.3
はと麦	92.8	72.6	98.0	102.6	103.9	105.3
ライ麦	64.1	64.2	85.2	93.9	119.6	105.1
ビール	102.2	90.9	88.0	94.7	86.9	88.4
コーングリッツ	88.5	78.7	96.9	93.1	99.6	93.2
コーンスナック	97.4	100.8	95.9	99.9	97.0	104.0
小豆	101.5	87.0	101.2	94.6	100.7	99.3
大豆	66.9	52.1	76.4	97.3	99.5	93.9
雑穀米	110.7	111.1	83.2	86.7	105.8	109.2
精米	83.3	65.5	82.7	114.9	91.6	101.6
ゴマ	65.5	58.7	72.8	73.9	91.2	89.6

(Recovery(%) (n=3))

それぞれの試料の結果

(下線は検出限界値以上、定量限界値以下の値)

・国産小麦

検体名	産地	T-2(ng/g)	HT-2(ng/g)	ZEN(ng/g)	検体名	産地	T-2(ng/g)	HT-2(ng/g)	ZEN(ng/g)
24-DW01	北海道	1.0	2.7	3.0	24-DW21	北海道	ND	ND	<u>0.3</u>
24-DW02	北海道	<u>0.6</u>	1.9	ND	24-DW22	北海道	1.1	3.6	ND
24-DW03	北海道	3.0	9.0	ND	24-DW23	北海道	1.1	6.1	ND
24-DW04	北海道	<u>0.2</u>	<u>0.9</u>	1.0	24-DW24	北海道	3.3	7.7	<u>0.2</u>
24-DW05	北海道	ND	ND	ND	24-DW25	岩手県	0.7	<u>0.6</u>	ND
24-DW06	北海道	ND	ND	ND	24-DW26	茨城県	<u>0.2</u>	ND	7.9
24-DW07	北海道	ND	ND	ND	24-DW27	栃木県	ND	ND	ND
24-DW08	北海道	ND	ND	ND	24-DW28	群馬県	ND	ND	ND
24-DW09	北海道	ND	ND	ND	24-DW29	群馬県	ND	ND	ND
24-DW10	北海道	ND	ND	ND	24-DW30	埼玉県	ND	ND	ND
24-DW11	北海道	ND	ND	<u>0.2</u>	24-DW31	岐阜県	ND	ND	8.4
24-DW12	北海道	ND	<u>0.7</u>	ND	24-DW32	愛知県	ND	ND	<u>0.5</u>
24-DW13	北海道	ND	ND	ND	24-DW33	三重県	ND	ND	0.8
24-DW14	北海道	ND	ND	ND	24-DW34	滋賀県	ND	ND	4.6
24-DW15	北海道	ND	ND	ND	24-DW35	福岡県	<u>0.5</u>	ND	0.8
24-DW16	北海道	1.5	13.0	ND	24-DW36	福岡県	ND	ND	6.1
24-DW17	北海道	ND	ND	ND	24-DW37	福岡県	0.8	<u>1.0</u>	<u>0.3</u>
24-DW18	北海道	ND	ND	ND	24-DW38	佐賀県	ND	ND	<u>0.4</u>
24-DW19	北海道	<u>0.2</u>	<u>1.8</u>	ND	24-DW39	佐賀県	ND	ND	<u>0.4</u>
24-DW20	北海道	ND	<u>0.7</u>	ND	24-DW40	熊本県	ND	ND	1.3

・ 輸入小麦

検体名	産地	T-2(ng/g)	HT-2(ng/g)	ZEN(ng/g)	検体名	産地	T-2(ng/g)	HT-2(ng/g)	ZEN(ng/g)
24-FW01	カナダ	ND	ND	ND	24-FW50	アメリカ	ND	<u>0.7</u>	ND
24-FW02	カナダ	ND	ND	ND	24-FW51	アメリカ	ND	1.9	ND
24-FW03	カナダ	ND	ND	ND	24-FW52	アメリカ	3.7	37.8	ND
24-FW04	カナダ	ND	ND	ND	24-FW53	アメリカ	8.4	85.0	<u>0.5</u>
24-FW05	カナダ	ND	ND	ND	24-FW54	アメリカ	1.7	18.6	<u>0.3</u>
24-FW06	カナダ	ND	ND	ND	24-FW55	アメリカ	0.6	4.0	<u>0.3</u>
24-FW07	カナダ	ND	ND	ND	24-FW56	アメリカ	4.5	24.9	2.8
24-FW08	カナダ	ND	ND	ND	24-FW57	アメリカ	ND	ND	ND
24-FW09	カナダ	<u>0.2</u>	4.3	ND	24-FW58	アメリカ	ND	ND	151
24-FW10	カナダ	ND	2.9	ND	24-FW59	アメリカ	ND	ND	ND
24-FW11	カナダ	ND	ND	ND	24-FW60	アメリカ	ND	ND	1.4
24-FW12	カナダ	ND	<u>1.2</u>	ND	24-FW61	アメリカ	ND	ND	<u>0.3</u>
24-FW13	カナダ	ND	ND	ND	24-FW62	アメリカ	ND	ND	ND
24-FW14	カナダ	ND	ND	ND	24-FW63	アメリカ	ND	ND	ND
24-FW15	カナダ	ND	<u>0.7</u>	ND	24-FW64	アメリカ	ND	ND	ND
24-FW16	カナダ	ND	ND	ND	24-FW65	アメリカ	ND	ND	ND
24-FW17	カナダ	ND	ND	ND	24-FW66	アメリカ	ND	ND	ND
24-FW18	カナダ	ND	ND	ND	24-FW67	アメリカ	ND	6.7	ND
24-FW19	カナダ	ND	<u>0.9</u>	ND	24-FW68	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FW20	カナダ	0.8	6.1	ND	24-FW69	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FW21	カナダ	ND	<u>1.1</u>	ND	24-FW70	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FW22	カナダ	ND	ND	ND	24-FW71	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FW23	カナダ	<u>0.4</u>	2.0	ND	24-FW72	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FW24	カナダ	1.8	19.4	ND	24-FW73	オーストラリア	<u>0.2</u>	ND	ND
24-FW25	オーストラリア	ND	ND	ND	24-FW74	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FW26	オーストラリア	ND	ND	ND	24-FW75	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FW27	オーストラリア	ND	ND	ND	24-FW76	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FW28	オーストラリア	ND	ND	ND	24-FW77	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FW29	オーストラリア	ND	ND	ND	24-FW78	アメリカ	ND	ND	ND
24-FW30	オーストラリア	ND	ND	ND	24-FW79	アメリカ	ND	ND	ND
24-FW31	オーストラリア	ND	ND	ND	24-FW80	アメリカ	ND	ND	ND
24-FW32	オーストラリア	ND	ND	ND	24-FW81	アメリカ	ND	<u>0.6</u>	ND
24-FW33	オーストラリア	ND	ND	ND	24-FW82	アメリカ	ND	<u>0.9</u>	ND
24-FW34	オーストラリア	ND	2.3	ND	24-FW83	アメリカ	ND	<u>1.3</u>	1.5
24-FW35	オーストラリア	ND	ND	ND	24-FW84	アメリカ	ND	ND	ND
24-FW36	カナダ	ND	ND	ND	24-FW85	アメリカ	ND	ND	ND
24-FW37	カナダ	ND	ND	ND	24-FW86	アメリカ	ND	ND	ND
24-FW38	カナダ	ND	<u>1.3</u>	ND	24-FW87	アメリカ	ND	ND	ND
24-FW39	カナダ	ND	ND	ND	24-FW88	アメリカ	ND	ND	ND
24-FW40	カナダ	ND	ND	ND	24-FW89	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FW41	カナダ	ND	ND	ND	24-FW90	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FW42	アメリカ	0.7	6.3	ND	24-FW91	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FW43	アメリカ	ND	ND	ND	24-FW92	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FW44	アメリカ	ND	ND	ND	24-FW93	アメリカ	ND	ND	ND
24-FW45	アメリカ	ND	ND	ND	24-FW94	アメリカ	ND	ND	ND
24-FW46	アメリカ	3.3	33.7	ND	24-FW95	アメリカ	ND	ND	<u>0.5</u>
24-FW47	アメリカ	<u>0.6</u>	4.3	<u>0.2</u>	24-FW96	アメリカ	<u>0.4</u>	2.9	ND
24-FW48	アメリカ	ND	<u>1.0</u>	ND	24-FW97	アメリカ	ND	<u>0.9</u>	ND
24-FW49	アメリカ	ND	ND	ND	24-FW98	アメリカ	ND	ND	ND

・国産大麦

検体名	産地	T-2(ng/g)	HT-2(ng/g)	ZEN(ng/g)
24-DB01	北海道	2.1	6.7	0.4
24-DB02	茨城県	1.0	1.7	3.6
24-DB03	栃木県	ND	0.4	ND
24-DB04	栃木県	ND	ND	ND
24-DB05	富山県	5.5	8.8	5.3
24-DB06	福井県	ND	ND	0.2
24-DB07	岡山県	ND	ND	16.7
24-DB08	福岡県	ND	ND	2.8
24-DB09	佐賀県	0.5	ND	19.1
24-DB10	佐賀県	ND	ND	ND

・輸入大麦

検体名	産地	T-2(ng/g)	HT-2(ng/g)	ZEN(ng/g)
24-FB01	カナダ	0.3	1.7	0.1
24-FB02	カナダ	0.6	3.0	ND
24-FB03	カナダ	ND	1.2	ND
24-FB04	カナダ	4.0	21.4	0.7
24-FB05	カナダ	0.6	6.2	ND
24-FB06	カナダ	0.3	3.9	ND
24-FB07	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FB08	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FB09	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FB10	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FB11	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FB12	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FB13	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FB14	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FB15	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FB16	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FB17	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FB18	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FB19	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FB20	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FB21	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FB22	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FB23	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FB24	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FB25	オーストラリア	ND	ND	ND
24-FB26	オーストラリア	ND	ND	ND

・はと麦

検体名	原産国	T-2(ng/g)	HT-2(ng/g)	ZEN(ng/g)
24-BR01	日本	<u>0.02</u>	<u>0.1</u>	ND
24-BR02	日本	<u>0.02</u>	ND	ND
24-BR03	日本	0.07	<u>0.3</u>	ND
24-BR04	日本	0.06	<u>0.3</u>	ND
24-BR05	日本	0.06	<u>0.1</u>	ND
24-BR06	日本	0.07	<u>0.2</u>	ND
24-BR07	日本	0.03	<u>0.1</u>	ND
24-BR08	韓国	ND	ND	ND
24-BR09	日本	0.2	0.6	ND
24-BR10	日本	0.04	<u>0.3</u>	ND
24-BR11	日本	0.05	<u>0.2</u>	ND
24-BR12	日本	0.03	<u>0.1</u>	ND
24-BR13	日本	0.04	<u>0.2</u>	ND
24-BR14	日本	<u>0.02</u>	<u>0.07</u>	ND
24-BR15	日本	<u>0.02</u>	<u>0.1</u>	ND
24-BR16	日本	0.06	<u>0.2</u>	ND
24-BR17	韓国	ND	ND	ND
24-BR18	日本	0.03	<u>0.1</u>	ND
24-BR19	日本	0.03	<u>0.2</u>	ND
24-BR20	日本	ND	ND	ND

・ビール

検体名	原産国	T-2(ng/g)	HT-2(ng/g)	ZEN(ng/g)
24-HM01	日本(栃木県)	ND	ND	ND
24-HM02	日本	ND	ND	ND
24-HM03	日本	1.8	4.8	ND
24-HM04	日本	ND	ND	0.7
24-HM05	日本(宮城県)	<u>0.3</u>	ND	1.1
24-HM06	日本	44.3	21.5	1.6
24-HM07	-	ND	ND	9.8
24-HM08	日本	ND	ND	0.4
24-HM09	日本	2.4	ND	<u>0.3</u>
24-HM10	-	ND	ND	2.5
24-HM11	-	ND	ND	14.0
24-HM12	-	ND	ND	84.4
24-HM13	日本(島根県)	<u>0.2</u>	ND	<u>0.4</u>
24-HM14	日本	1.5	5.9	<u>0.4</u>
24-HM15	日本	15.8	<u>1.2</u>	3.4
24-HM16	-	ND	ND	5.2
24-HM17	韓国	<u>0.3</u>	ND	47.0
24-HM18	日本	ND	ND	1.0
24-HM19	日本(岡山県)	2.2	<u>1.2</u>	ND
24-HM20	日本(岡山県)	<u>0.2</u>	ND	ND

・コーングリッツ

検体名	原産国	T-2(ng/g)	HT-2(ng/g)	ZEN(ng/g)
24-CG01	アメリカ	0.8	ND	0.4
24-CG02	アメリカ	ND	ND	ND
24-CG03	中国	1.3	ND	<u>0.2</u>
24-CG04	アメリカ	ND	ND	ND
24-CG05		<u>0.5</u>	ND	ND
24-CG06		<u>0.2</u>	ND	<u>0.2</u>
24-CG07		1.0	ND	ND
24-CG08		ND	ND	ND
24-CG09		ND	ND	<u>0.2</u>
24-CG10		<u>0.2</u>	ND	1.4
24-CG11		<u>0.2</u>	ND	ND
24-CG12		ND	ND	ND
24-CG13		<u>0.2</u>	ND	ND
24-CG14		<u>0.3</u>	ND	ND
24-CG15		<u>0.4</u>	ND	0.7
24-CG16	アメリカ	ND	ND	ND
24-CG17	オーストラリア	ND	ND	ND
24-CG18	アメリカ	0.8	ND	ND
24-CG19	アメリカ	ND	ND	ND
24-CG20	イタリア	ND	ND	1.7

・コーンスナック

検体名	原産国	T-2(ng/g)	HT-2(ng/g)	ZEN(ng/g)
24-CS01		ND	ND	ND
24-CS03		ND	ND	ND
24-CS04		ND	ND	ND
24-CS05		ND	ND	ND
24-CS06		ND	ND	ND
24-CS07		ND	ND	ND
24-CS08		ND	ND	ND
24-CS11		ND	ND	ND
24-CS13	台湾	ND	ND	ND
24-CS15		ND	ND	ND

・ライ麦

検体名	原産国	T-2(ng/g)	HT-2(ng/g)	ZEN(ng/g)
24-RY01	ドイツ、カナダ	ND	ND	ND
24-RY02	ドイツ、カナダ主体	ND	ND	ND
24-RY03	ドイツ、カナダ主体	ND	ND	ND
24-RY04	北海道	0.3	8.9	<u>0.04</u>
24-RY05	日本（北海道）	1.7	8.7	8.5
24-RY06	日本（北海道）	2.0	7.8	5.7
24-RY07	ヨーロッパ、カナダ	0.8	2.8	5.6
24-RY08	ヨーロッパ、カナダ	0.7	2.4	3.7
24-RY09	アメリカ	15.4	135	ND
24-RY10	ドイツ	ND	1.5	ND
24-RY11	ドイツ	ND	1.5	ND

・小豆

検体名	原産国	T-2(ng/g)	HT-2(ng/g)	ZEN(ng/g)
24-AD01	北海道	0.2	0.3	125
24-AD02	北海道	4.6	7.8	51.0
24-AD03	北海道	14.6	8.2	32.9
24-AD04	北海道	48.4	37.0	43.6
24-AD05	北海道	21.4	45.7	117
24-AD06	北海道	17.7	34.9	38.4
24-AD07	北海道	5.0	3.3	17.5
24-AD08	京都府	1.9	2.9	54.6
24-AD09	北海道	24.7	8.5	40.0
24-AD10	北海道	0.5	0.8	53.9
24-AD11	北海道	14.8	11.7	8.2
24-AD12	北海道	32.1	15.3	47.8
24-AD13	北海道	6.1	5.5	7.5
24-AD14	北海道	7.2	4.1	70.0
24-AD15	北海道	1.7	3.1	10.3
24-AD16	北海道	2.4	2.3	49.3
24-AD17	北海道	23.2	18.6	15.2
24-AD18	北海道	21.9	11.0	62.9
24-AD19	北海道	25.6	21.7	21.8
24-AD20	北海道	33.4	24.5	50.8

・大豆

検体名	原産国	T-2(ng/g)	HT-2(ng/g)	ZEN(ng/g)
24-DZ01	アメリカ	ND	ND	ND
24-DZ02	カナダ	ND	ND	ND
24-DZ03	カナダ	ND	ND	ND
24-DZ04	アメリカ	ND	ND	ND
24-DZ05	カナダ	ND	ND	ND
24-DZ06	カナダ	ND	ND	ND
24-DZ07	カナダ	ND	ND	ND
24-DZ08	北海道	ND	ND	ND
24-DZ09	北海道	ND	ND	ND
24-DZ10	北海道	4.3	ND	ND

・雑穀米

検体名	原産国	T-2(ng/g)	HT-2(ng/g)	ZEN(ng/g)
24-ZK01	日本	<u>0.2</u>	0.8	1.9
24-ZK02	日本他	0.2	<u>0.4</u>	4.2
24-ZK03	日本	<u>0.07</u>	<u>0.2</u>	0.7
24-ZK04	不明	ND	ND	18.2
24-ZK05	日本他	ND	ND	4.8
24-ZK06	日本他	ND	ND	1.4
24-ZK07	日本他	ND	ND	5.5
24-ZK08	日本	<u>0.1</u>	0.6	0.9
24-ZK09	日本	0.4	0.7	0.7
24-ZK10	北海道	1.7	2.3	<u>0.4</u>
24-ZK11	日本	0.9	0.8	1.6
24-ZK12	日本他	ND	ND	0.7
24-ZK13	日本他	ND	ND	1.9
24-ZK14	日本	ND	ND	17.6
24-ZK15	日本他	ND	ND	5.8
24-ZK16	日本他	ND	ND	39.3
24-ZK17	日本他	ND	ND	2.2
24-ZK18	日本	0.3	1.0	5.5
24-ZK19	日本	<u>0.1</u>	<u>0.2</u>	1.5
24-ZK20	日本	ND	ND	2.7

・ゴマ

検体名	原産国	T-2(ng/g)	HT-2(ng/g)	ZEN(ng/g)
24-GM01	グアテマラ他	ND	ND	0.5
24-GM02	パラグアイ他	ND	ND	0.2
24-GM03	グアテマラ他	ND	ND	0.4
24-GM04	パラグアイ他	ND	ND	0.4
24-GM05	ボリビア他	ND	ND	0.2
24-GM06	グアテマラ	ND	ND	0.4
24-GM07	国産	ND	ND	0.03
24-GM08	パラグアイ他	ND	ND	0.3
24-GM09	グアテマラ	ND	ND	0.7
24-GM10	パラグアイ他	ND	ND	0.4
24-GM11	パラグアイ他	ND	ND	2.5
24-GM12	ミャンマー	ND	ND	6.1
24-GM13	ミャンマー	ND	ND	21.3
24-GM14	ミャンマー他	ND	ND	2.5
24-GM15	ミャンマー他	0.1	0.05	0.4
24-GM16	ミャンマー	ND	ND	4.9
24-GM17	ミャンマー	ND	ND	3.1
24-GM18	トルコ	ND	ND	0.1
24-GM19	トルコ	ND	ND	0.03
24-GM20	トルコ	ND	ND	0.03

IV. 付 録

(付 録)

カビ毒試験法評価委員会報告

カビ毒試験法評価委員会委員

委員長：田中 敏嗣（神戸市環境保健研究所）
石黒 瑛一（(財)日本食品分析センター）
永山 敏廣（東京都健康安全研究センター）
中島 正博（名古屋市衛生研究所）
内藤 成弘（(独)農業・食品産業技術総合研究機構、食品総合研究所）
堀江 正一（大妻女子大学）

事務局

小西 良子（国立医薬品食品衛生研究所）
吉成 知也（国立医薬品食品衛生研究所）

要旨

実態調査および規格基準等の管理のために用いる試験法は、その妥当性を確認の上用いることが国際的な常識となりつつある。この潮流はカビ毒に限らず、食品汚染化学物質および微生物までも範疇にはいる。ISO や AOAC などですでに妥当性確認された試験法の場合は、実行する機関においては、精度管理に重点が置かれるが、新しく開発された試験法の場合は、AOAC や IUPAC などの指針に従った妥当性試験を行うことが望ましい。

カビ毒の試験法を確立するときには、まず妥当性試験を行う。評価には第三者的な評価機関を設けることが必要であることから、本研究事業でカビ毒試験法評価委員会を設置し、評価を行っている。委員は、分析、統計の専門家で構成されている。今年度は、実態調査を目的としたフザリウムトキシン（デオキシニバレノール、T-2 トキシン、HT-2 トキシン及びゼアラレノン）の分析法を評価した。

フザリウムトキシンの分析法についての共同試験

1 はじめに

小麦を用いた 3 種類の濃度（ブランクを含む）の添加回収試験を行い、参加機関は 8 機関とし、測定はイムノアフィニティーカラムによる精製後、LC-MS/MS を用いた。

なお、デオキシニバレノールを DON、T-2 トキシンを T-2、HT-2 トキシンを HT-2、ゼアラレノン ZEN と表記する。

2 材料

- 以下の濃度の 2 種の DON、T-2、HT-2 及び ZEN 添加サンプルと無添加の計 3 種類を設定し、各 2 本ずつ送付した。
 - ① DON 100 ng/g、T-2、HT-2、ZEN それぞれ 30 ng/g
 - ② DON 20 ng/g、T-2、HT-2、ZEN それぞれ 6 ng/g
- 添加用小麦は TRILOGY 社から購入し、約 250 g を各機関に送付した。
- イムノアフィニティーカラムも送付した。

3 参加機関名

一般財団法人 食品分析開発センターSUNATEC、神奈川県衛生研究所、川崎市衛生研究所、財団法人 日本食品分析センター、財団法人 日本冷凍食品検査協会、独立行政法人 農林水産消費安全技術センター、名古屋市衛生研究所、三重県保健環境研究所（あいうえお順）

4 方法

参考1「食品中のフザリウムトキシン4種試験法」による

5 結果

8機関のデータ（無効データなし）について検出限界・定量限界値と統計的パラメーターを算出した結果を以下に示す。

4種のカビ毒について回収率は77～108%、室内再現性及び室間再現性の相対標準偏差はそれぞれ10及び32%以下であり、HorRat値は0.3～1.4の範囲に収まった。

6 評価

「カビ毒試験法評価委員会」に評価を依頼した。その結果、良好な結果が得られたとの評価を得た。

検出限界と定量限界

	Deoxynivalenol		T-2 toxin		HT-2 toxin		Zearalenone	
	LOD	LOQ	LOD	LOQ	LOD	LOQ	LOD	LOQ
A	0.1	0.3	0.001	0.003	0.01	0.03	0.002	0.01
B	0.2	1	0.02	0.1	0.1	0.3	0.2	1
C	1	3	0.04	0.1	0.2	1	0.02	0.1
D	2	8	0.2	1	1	2	0.1	0.4
E	1	5	0.1	0.2	0.5	2	0.1	0.3
F	0.2	1	0.03	0.1	0.03	0.1	0.1	0.4
G	1	3	0.1	0.3	0.2	1	0.1	0.3
H	2	5	0.03	0.1	0.1	0.3	0.2	1

(ng/g)

測定結果まとめ

	Deoxynivalenol						T-2 toxin					
	Blank		20 µg/kg		100 µg/kg		Blank		6 µg/kg		30 µg/kg	
A	5.4	5.5	25.9	24.6	105.3	107.4	ND	ND	5.4	6.0	26.1	28.7
B	5.7	6.0	25.0	22.4	99.4	104.0	ND	ND	5.1	5.3	31.6	29.4
C	6.0	5.4	25.5	24.1	94.8	98.8	ND	ND	5.0	5.3	30.0	27.3
D	9.7	8.7	25.2	23.8	85.4	93.6	ND	ND	5.6	5.4	25.4	29.2
E	13.5	12.1	31.0	33.2	116.4	99.8	ND	ND	10.1	9.9	35.2	32.8
F	7.8	8.2	23.9	27.0	99.5	110.3	ND	ND	5.6	5.8	26.3	27.8
G	5.5	6.4	23.0	22.2	80.9	113.2	<u>0.1</u>	ND	3.9	4.5	29.9	32.8
H	8.4	8.0	27.4	26.7	103.1	106.8	ND	ND	4.5	4.9	24.9	24.6
Mean (µg/kg)	7.7		25.7		101.2		-		5.8		28.9	
Mean recovery (%)	-		90.2		93.5		-		96.2		96.2	
Repeatability relative SD [RSDr,%]	-		5.2		9.8		-		4.3		6.1	
Reproducibility relative SD [RSDR,%]	-		11.9		9.8		-		31.2		11.0	
HorRat	-		0.5		0.4		-		1.4		0.5	

	HT-2 toxin						Zearalenone					
	Blank		6 µg/kg		30 µg/kg		Blank		6 µg/kg		30 µg/kg	
A	ND	ND	6.5	6.5	30.0	30.8	ND	ND	4.6	4.7	22.1	22.6
B	ND	ND	6.2	6.1	29.2	29.8	ND	ND	3.2	4.3	14.3	16.1
C	ND	ND	6.4	6.0	31.1	31.7	0.07	0.07	4.3	4.1	21.4	22.5
D	ND	ND	7.0	6.1	29.0	29.2	ND	ND	5.2	5.3	26.6	27.8
E	ND	ND	9.8	9.5	35.6	29.4	ND	ND	8.1	8.6	31.2	28.4
F	ND	ND	5.7	5.4	27.4	28.6	<u>0.4</u>	ND	4.3	4.9	24.3	24.2
G	ND	ND	4.4	4.8	26.7	30.0	0.5	<u>0.2</u>	4.4	4.3	21.5	24.3
H	ND	ND	6.3	6.2	32.0	31.2	ND	ND	4.5	4.6	21.7	21.9
Mean (µg/kg)	-		6.4		30.1		-		5.0		23.2	
Mean recovery (%)	-		107.2		100.3		-		82.6		77.3	
Repeatability relative SD [RSDr,%]	-		4.3		6.0		-		6.9		5.0	
Reproducibility relative SD [RSDR,%]	-		22.7		6.9		-		29.2		18.8	
HorRat	-		1.0		0.3		-		1.3		0.9	

ND: 検出限界値以下

下線: 定量限界以下、検出限界以上の値

V. 参 考

「食品中のフザリウムトキシシン4種試験法」

実態調査班用（平成24年3月改定）

操作手順

1. 抽出

- (1) 試料25 gを正確に抽出用容器に量り採る。
- (2) これに抽出溶媒メタノール：水（75：25）を100 mlを加え、30分間振とう抽出する。
- (3) 遠心分離（3000 rpm (1410 g)、10 分間）し、上清を抽出溶液とする。
- (4) 添加用試料の場合は別添1の容量を添加して、暗所に1時間放置した後、抽出する。

なお、今年度は小麦については添加回収試験を行わず、妥当性試験を代わりに行う。

妥当性試験用の小麦を25gずつ、6サンプル分を量り採り、試料番号1～6を付する。試料番号に対応するフザリウムトキシシン4種混合溶液をそれぞれ125 μ lずつ添加して、暗所に1時間放置した後に抽出を行う。以後の精製の操作は以下の通り。結果については、別添の結果記入用紙に記載する。

2. イムノアフィニティーカラムカラムによる精製

イムノアフィニティーカラムの取り扱い上の注意：カラム内にはPBS が充填されていて、カラム上部には僅かに空気が入っている。そのため、横に倒すと空気がカラム（充填剤）に触れてしまい、その結果良好な回収率が得られなくなるため、保存時から分析終了時まで直立の状態を保っている必要がある。もし、ゲル上の白いフリッツ表面に気泡が溜まっていたら、タッピングして除去すること。

- ① イムノアフィニティーカラム（配付）は室温になるまで放置する。
- ② きり等でイムノアフィニティーカラムの上キャップに穴を開けてから上キャップをはずした後、下キャップをはずし、ストップコックを取り付け、カラム架台あるいはバキュームマニホールドにセットする。カラム内溶液を自然落下で排出後、あらたにPBSでカラム内を満たし、自然落下で排出させる。再度PBSでカラム内を満たし、PBSを半分程排出させた後、ストップコックを閉じる。
- ③ 「1.」の操作で得られた抽出溶液10.0 mlを正確にピペッターまたはホールピペットなどで50 mlのメスフラスコへとり、標線までPBSを加え良く混合し、試料溶液とする。
- ④ ③の溶液が混濁した場合は、ガラスロートにガラス繊維ろ紙をセットしろ過を行う。ろ液を三角フラスコにとり、試料溶液とする。

- ⑤ カラムにアダプターを取り付けたリザーバーを連結する。
- ⑥ ③又は④で得られた試料溶液5.0 mlをピペッター又はホールピペットで正確にとりイムノアフィニティーカラムに注入する。ストップコックを開き、1～2滴/秒の速さでろ液を排出させる（途中、排出速度が非常に遅くなった場合には、ゲル上の白いフリット表面に泡が付着していることがあるので、リザーバー及びカラムを手で保持し試料ろ液がこぼれないよう注意し、カラムを指等でタッピングし泡を取り除く）。全てのろ液を排出させたのち、リザーバーを取り除き、カラムを精製水で満たし、排出させる操作を5回繰り返すことにより洗浄を行う。カラム内の水分はアダプターを取り付けたシリンジ等で強く通気し十分に追い出す。その後共栓付き10 ml容試験管あるいはキャップ付きバイアルにメタノール1 mlで溶出した後、アダプターを取り付けたシリンジ等で3回溶液を吸引及び通気を繰り返す。続いてメタノール1 mlで溶出を行った後、強く通気し、ゲル内のメタノールをすべて排出させる。

3. 試料のマトリックス効果を調べるサンプルの調整

トキシシン標準溶液の添加を行っていないブランクの試料について、「2.」の操作を行い、溶出液を得る。その溶出液に別紙1のトキシシン標準液④－2及び⑤－4をそれぞれ20 µlずつ（乾固して再溶解後の終濃度は10 ppbとなる）添加し、以下の作業を続ける。

4. 試料溶液の調製

「2.」の⑥で得られたメタノール溶液を窒素気流を送るかエバポレーターを用いて溶媒を除去する。残さを5%メタノール水溶液0.5 mlで溶解する。孔径0.45 µmメンブランフィルター（フィルターを用いる場合は、吸着に注意してください）でろ過するか、あるいは10,000 rpm 以上、5 分間遠心し、その上清をLC/MS/MS用試験溶液とする。

5. 高速液体クロマトグラフ-質量分析計 (LC/MS)による分析

LC/MS/MSを用いて試験溶液について測定を行う。

測定条件

HPLC

カラム：Inertsil ODS-4 3×50 mm, 2 µm（配布済み）

カラム温度：40°C

移動相：A溶媒 10 mM 酢酸アンモニウム

B溶媒 メタノール

分離条件：0分 A : B = 95 : 5

8分 A : B = 10 : 90 14分まで保持

流速：0.2 ml/分

注入量：10 μ l

MS

イオン化：ESI

モニターイオン：各機関で以下の検出限界目標値を満たすイオンを選択する

検出限界目標値：

DON 5 ppb

T-2、HT-2、ZEN 1 ppb

以上

