

厚生労働科学研究費補助金
(食品の安全確保推進研究事業)

分担研究報告書

カビ毒の分析法の開発と汚染実態調査

研究分担者 吉成 知也 (国立医薬品食品衛生研究所)

研究要旨

デオキシニバレノール (DON) については、小麦において基準値 1.0 mg/kg が設定されている。今後、オクラトキシン A (OTA) についても小麦等について基準値の設定を検討することが予定されている。小麦中の DON と OTA の分析については、両者で抽出溶媒の組成、精製カラム、分析機器が異なっている。そのため、OTA の基準値が設定された場合、同じ検体に対し、DON に加え OTA の検査も新たに実施する必要が生じ、現場の負担の増加が懸念されている。そこで、本研究においては小麦における DON と OTA の同時分析法を開発した。小麦からの抽出液を多機能イムノアフィニティーカラムで精製し、LC-MS/MS で定量を行う DON と OTA の同時分析法を考案した。その分析法の妥当性を評価するために、国内の 8 分析機関による多機関共同試験を実施した。その結果、添加回収試験と自然汚染検体の分析結果のいずれも事前に設定したクライテリアを満たした。以上より、開発した分析法は、小麦中の DON と OTA の同時分析に使用可能であることが示された。

モニリフォルミン (MON) は、新興カビ毒に分類される化合物で、2017 年に公表された欧州食品安全機関 (EFSA) の評価結果において、実験動物において致死毒性を示すこと、様々な穀類に検出されることが公表され、国際的な関心が高まっており、さらなる情報の収集が望まれている。そこで本研究は、日本に流通する食品における MON の汚染実態を調べ、MON の日本人におけるばく露量を推定することを目的とした。MON の分析については、既報の方法を改良し、5 倍量の 85%アセトニトリル水溶液による 3 回抽出を行い、陰イオン交換カートリッジで精製後に HPLC で定量する方法を開発した。分析法の性能を評価するために、穀類と米を用いて添加回収試験を行った結果、回収率は 83.7~105.2%の範囲内に収まり、良好であった。開発した分析法により、国内に流通する小麦粉における MON 汚染を調べた結果、国産小麦由来の製品において、50.0%の陽性率で MON が検出された。

研究協力者	森田 剛史 (一財) 日本穀物検定協会
佐藤 英子 川崎市健康安全研究所	村山 智史 (一財) 日本穀物検定協会
竹内 浩 三重県保健環境研究所	下山 晃 (一財) 日本食品検査
谷口 賢 名古屋市衛生研究所	中村 歩 (一財) 日本食品分析センター
福光 徹 神奈川県衛生研究所	小杉 正樹 (一財) 日本食品分析センター
大脇 進治 (一財) 食品分析開発センター	宮崎 光代 (一財) 日本食品分析センター

SUNATEC

A. 研究目的

世界的に汚染頻度が高く、健康被害が予測されるカビ毒は、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA) で毒性評価が行われ、コーデックス委員会で規格策定が行われている。日本は、コーデックス委員会の加盟国であることから、コーデックス規格を食品の規格基準に採用することが厚生労働省の方針として決められている。

日本においては、リンゴジュース中のパツリン、小麦玄麦中のデオキシニバレノール (DON)、全食品中の総アフラトキシン及び乳中のアフラトキシン M₁ に対して規制が行われている。また、コーデックス規格が定められているオクラトキシン A (OTA) やフモニシンに関しては、これまでの厚生労働科学研究で汚染実態調査が行われており、それらについては食品安全委員会においてリスク評価が実施された。また、JECFA において毒性評価が行われたタイプ A トリコテセン系化合物 (T-2 トキシン、HT-2 トキシン及び 4,15-ジアセトキシシルペノール)、ゼアラレノン (ZEN)、ステリグマトシスチン及びエンニアチン類についても汚染実態調査を行った^{1,2)}。これらカビ毒の汚染実態の情報は、JECFA においてリスク評価がなされる際に活用され、国際機関へ貢献するとともに、日本においてリスク管理を行う必要性を議論するための根拠データとしても活用され、行政施策に直接貢献する。

本事業は、DON、OTA 及びモニリフォルミン (MON) を研究対象とする。DON は、*Fusarium graminearum* などの麦類の赤カビ病の原因となるカビによって産生されるカビ毒で、世界中の穀類において汚染が認められる。日本においては、2022 年 4 月 1 日より小麦について DON の規格基準 1.0 mg/kg が適用されることとなった。それに先立ち、2021 年 9 月 30 日に DON の試験法が通知された。85%アセト

ニトリル水溶液により DON を抽出後、多機能カラムによる精製を行い、HPLC 又は質量分析器を用いて定量を行う。OTA は、*Aspergillus* 属や *Penicillium* 属により産生されるカビ毒で、種実類、豆類や穀類での汚染が問題となっている。コーデックス委員会や EU においては、OTA の最大基準値が設定されているが、日本においては飼料、食品ともに設定されていない。これまで厚生労働科学研究によって 2004~2009 年度の 6 年間に亘って国内に流通する食品についての汚染実態調査が実施された。その結果、麦類やその加工品、カカオ製品、コーヒー豆などから OTA の検出が認められた³⁾。それら汚染実態調査や毒性試験の結果を踏まえ、食品安全委員会により日本における OTA 汚染によるリスク評価 (自ら評価) が実施され、発がん性に関する TDI 15 ng/kg 体重/日が設定された。このような背景を受け、2014 年の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会食品規格部会において、基準値設定の議論がなされ、コーデックス委員会で基準が定められている小麦等について、当該規格に準じて基準値を検討することが了承されている。OTA の汚染実態調査では、60%アセトニトリル水溶液により抽出後、イムノアフィニティーカラムによる精製を行い、HPLC で定量を行う分析法が用いられた。対象は同じ麦類であるが、DON と OTA の分析法は全く異なり、今後 OTA の基準値が設定された場合、輸入検疫において DON に加え OTA の検査も実施する必要性が生じ、現場の負担の増加が懸念されている。そこで、本研究においては小麦における DON と OTA の同時分析法を開発することとした。2022 年度には、イムノアフィニティーカラムによって DON と OTA を精製し、LC-MS/MS によって同時定量を行う分析法の妥当性を多機関共同試験によって評価した。

MON は、*Fusarium avenaceum* や *Fusarium subglutinans* などの植物病原性真菌により産生

されるカビ毒で、麦類やトウモロコシにおいて検出される。分子量が 98 と他のカビ毒と比較して小さく、水溶性が非常に高いという物性を有する。ラットに投与すると致死毒性を示す(LD₅₀ 19-25 mg MON/kg 体重) ことが報告されているが、詳細な毒性機構は明らかにされていない。EFSA によるリスク評価が行われ、2017 年にその結果が公表されたことを受け、ヒトの健康に対する新たな危害要因の一つとして国際的な関心が高まっている⁴⁾。そこで本研究においては、MON が日本人の健康に対してリスクを有するかを判断し、将来的に規格基準を設定する必要があるかを議論する根拠となるデータを得ることを目的とする。2022 年度には、穀類を対象とした分析法の開発を行った。

B. 研究方法

(1) DON と OTA の同時分析法

小麦破砕物 25.0 g に抽出溶媒アセトニトリル：メタノール：水 (1 : 1 : 2) 200 mL を加え、30 分間振盪することで抽出を行った。振盪後の試料と抽出溶媒の混合物のうち、約 40 mL を 50 mL 容遠心チューブに移して遠心分離(1,410 g、10 分間) し、抽出液を分離した。

精製にはイムノアフィニティーカラム (PerkinElmer 社製 MaxSignal IAC 4-in-1 アフラトキシン B₁/ZEN/DON/OTA Combo) を用いた。抽出液 10.0 mL を 50 mL 容のメスフラスコにとり、標線まで PBS を加え混合した。ガラスロートにガラス繊維ろ紙をセットし、希釈した抽出液を全てろ過した。イムノアフィニティーカラムに、アダプターを取り付けたリザーバーを連結し、ろ液 20.0 mL を添加した。全てのろ液を通過させたのち、リザーバーを取り除き、カラムに精製水 3 mL を加え、排出させる操作を 6 回繰り返すことによりカラムの洗浄を行った。カラム内の残った水分を、アダプターを取り付けたシリンジで通気し、除去した。ガ

ラス試験管をカラムの下に置き、メタノール：酢酸 (49 : 1) 1 mL をカラムに注入し、自然落下で DON と OTA を溶出させた。溶出液が全て通過してから 5 分後、メタノール：酢酸 (49 : 1) 2 mL をカラムに注入した。アダプターを取り付けたシリンジでカラム担体内の溶媒を押し出した。窒素気流により溶出液を乾固後、残渣をアセトニトリル：水：酢酸 (30 : 70 : 1) 1.0 mL で溶解したものを試験溶液とした。

<LC-MS/MS の測定条件>

HPLC

カラム : InertSustain Swift C18 HP

2.1×150 mm, 3 μm

カラム温度 : 40 °C

移動相 : A 0.1%ギ酸水溶液

B 0.1%ギ酸含有アセトニトリル

分離条件 : 0 分 A : B = 90 : 10

6 分 A : B = 10 : 90

9.5 分まで保持

流速 : 0.2 mL/分

注入量 : 5 μL

MS

イオン化 : ESI positive

モニタリングイオン :

DON 297 [M+H]⁺ > 249, 203

OTA 404 [M+H]⁺ > 239, 102

(2) 多機関共同試験

添加回収試験用の試料については、日本国内で購入した全粒粉のうち、DON と OTA が不検出であったものを混合して調製した。3 種の自然汚染試料のうち、2 種は Trilogy 社が販売しているオクラトキシン A 用の管理標準試料 (Batch Code 121201(13.1B) と 121205(5.5B)) を購入し、それぞれ自然汚染検体 No.1 及び No.2 とした。もう 1 種 (No.3) は、日本国内で購入したデュラム小麦の全粒粉を用いた。自然汚染試料は、

配布前に一元分散分析による均一性の確認を行った。各試料から 25.0 g を 10 検体量り取り、さらにそれぞれの検体から 10.0 g を分取し、8 倍量の抽出溶媒を加え、上述の方法で精製を行った後、DON と OTA を定量した。

国内の 8 分析機関にそれぞれ以下のものを配付し、プロトコールに従った分析を依頼した。

- ・DON と OTA 不検出の小麦玄麦破砕物 200 g
- ・自然汚染小麦 30 g 計 6 袋 (No.01、02、03 を 2 袋ずつ)
- ・DON 標準品アセトニトリル溶液 (100 mg/L) 1 mL (検量線作成用)
- ・OTA 標準品トルエン：酢酸 (98：2) 溶液 (10 mg/L) 1 mL (検量線作成用)
- ・3 種の DON 添加回収試験溶液 0、20 及び 100 mg/L の濃度のアセトニトリル溶液約 0.6 mL を入れたガラス製バイアル小瓶を 2 つずつ。濃度は未記載で番号のみ記した。
- ・3 種の OTA 添加回収試験溶液 0、100 及び 500 µg/L の濃度のトルエン：酢酸 (98：2) 溶液約 0.6 mL を入れたガラス製バイアル小瓶を 2 つずつ。濃度は未記載で番号のみ記した。
- ・イムノアフィニティーカラム 14 本

多機関共同試験の結果の判断には、コーデックス委員会が公表する手順書に記載のクライテリアを参照した。各検体における回収率と室間再現性標準偏差 (RSD_R) のクライテリアを表 1 に示した。HorRat 値のクライテリアは 2 以下であることとした。

(3) MON の分析法

抽出は、試料 5 g にアセトニトリル：水 (85：15) 25 mL を加え、15 分間振盪することで行った。遠心分離 (470 g、10 分間) により抽出液を分離し、三角フラスコに回収した。沈殿にアセトニトリル：水 (85：15) 25 mL を加え、同じ抽出操作を行った。再度、沈殿にアセトニ

トリル：水 (85：15) 25 mL を加え、抽出操作後に遠心分離 (1410g、10 分間) により抽出液を分離し、計 3 回の抽出液を合わせた。抽出液 22.5 mL をガラス容器に移し、窒素気流により乾固後、2 mL のメタノールに懸濁した。抽出液からの MON の精製には強陰イオン交換 (SAX) カートリッジ (Agilent 社製 Bond Elut LRC SAX 500 mg) を用いた。メタノール 2 mL、水 2 mL 及び 0.1M リン酸水溶液 2 mL で平衡した SAX カートリッジにメタノール懸濁液を全量添加した。ガラス溶液をメタノール 2 mL で洗浄後、洗浄液をカラムに添加した。0.1M リン酸水溶液 2 mL と 10%アセトニトリル水溶液 2 mL でカートリッジを洗浄後、減圧して残留する液体を除去した。3.5%硫酸水素テトラブチルアンモニウム含有 0.2M リン酸二水素カリウム水溶液 (pH7.0) 1.5 mL で溶出したものを試験溶液とした。

添加回収試験については、精製水に溶解した MON の標準溶液 (1 mg/mL) を精製水で適宜希釈し、試料中の終濃度が小麦、ライ麦、玄麦については、50 又は 300 µg/kg、はと麦とコーンについては、50、300 又は 2,000 µg/kg となるよう添加し、30 分間放置後に抽出を行った。

<HPLC の測定条件>

カラム：InertSustainSwift C18

4.6×250 mm, 5 µm

カラム温度：30 °C

移動相：水、7%硫酸水素テトラブチルアンモニウム含有 0.4M リン酸二水素カリウム水溶液 (pH7.0) と アセトニトリルの混液 (92：1：8)

分離時間：50 分

流速：1.0 mL/分

注入量：100 µL

(4) MON の汚染実態調査

国産小麦由来の小麦粉 40 件と海外産小麦由来の小麦粉 41 件を神奈川県内の小売店から、又はオンラインで販売されているものを入手した。上述の「MON 分析法」により、各検体中の MON 濃度を測定した。平均値は、検出限界値 (ND) 未満の値を 0 として算出した。

C. 研究結果

(1) DON と OTA の同時分析法の多機関共同試験

自然汚染試料の均一性については、計 20 検体の分析結果を用いた一元分散分析により、いずれの試料においても均一と判断された。自然汚染試料 No.1、No.2 及び No.3 の DON 濃度の平均値は、それぞれ 435.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、209.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 及び 1,540.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、OTA 濃度の平均値は、それぞれ 15.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、7.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 及び 2.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。

DON と OTA の各機関の測定値、平均値、回収率の平均値、併行相対標準偏差 (RSD_r)、室間再現性標準偏差 (RSD_R) 及び HorRat を表 2 と表 3 にそれぞれ示した。添加回収試験における DON の回収率は、97.0~98.3%、 RSD_r は 2.5~3.3%、 RSD_R は 8.3~10.1%、HorRat は 0.4~0.5 の範囲に収まった。3 種の自然汚染試料の DON 濃度の平均値は、それぞれ 380.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、191.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 及び 1436.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。 RSD_r 、 RSD_R 及び HorRat は、それぞれ 2.2~8.4%、12.2~16.9% 及び 0.6~0.8 の範囲に収まった。添加回収試験における OTA の回収率は、83.8~90.3%、 RSD_r は 3.1~3.7%、 RSD_R は 16.0~19.7%、HorRat は 0.7~0.9 の範囲に収まった。3 種の自然汚染試料の OTA 濃度の平均値は、それぞれ 15.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、7.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 及び 2.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。 RSD_r 、 RSD_R 及び HorRat は、それぞれ 11.7~26.7%、21.3~31.0% 及び 1.0~1.4 の範囲に収まった。

(2) MON の分析法の開発

既報の方法⁵⁾を改良した分析法により、MON の精製と定量を行った。85%アセトニトリル水溶液で 3 回抽出を行い、抽出液を強陰イオン交換カートリッジで精製後にイオンペア剤を移動相に添加した HPLC で定量を行った。性能評価のために実施した添加回収試験の結果を表 4 に示した。5 種の食品種に 2 又は 3 種の添加濃度で MON を添加した検体からの MON の回収率は、83.7~105.2%の範囲内に収まり、標準偏差は 7.6%以下であった。

(3) 国内流通小麦粉を対象とした MON の汚染調査

国産小麦由来の小麦粉 40 件と海外産小麦由来の小麦粉 41 件の調査結果を表 5、個別の製品における検出濃度を表 6、7 及び 8 に示した。小麦粉 (国産) における陽性率は 50.0%、平均値は 22.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、最大濃度は 198 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であり、小麦粉 (海外産) における陽性率は 14.6%、平均値は 3.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、最大濃度は 36.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。

D. 考察

(1) DON と OTA の同時分析法の多機関共同試験

DON と OTA の同時分析法を開発するにあたり、まずは精製用のカラムを探索した。操作の簡便さから、固相抽出カラムを最初に検討したが、用いた 3 種のいずれにおいても DON の回収率が 50%、OTA の回収率が 70%程度と十分な回収率が得られなかったことから、検討を中止した。次に DON と OTA を含む複数種のカビ毒を同時に精製可能な多機能イムノアフィニティーカラムを検討した。予備検討において、DON と OTA とともに 90%以上の回収率が得られた MaxSignal 4-in-1 を多機関共同試験に用いることとした。

国内の 8 分析機関において、2 種の添加検体と 3 種の自然汚染検体を分析した結果、回収率、 RSD_R 、 RSD_F 及び $HorRat$ はいずれも事前に設定したクライテリアを満たした。この結果より、小麦から DON と OTA をメタノール、アセトニトリルと水の混液で抽出し、多機能イムノアフィニティーカラムによる精製後に LC-MS/MS で定量を行う分析法の妥当性が示された。ただ、OTA の 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加検体の分析結果において、Laboratory No.5 と 8 における回収率が、クライテリアの下限に近い値であったこと、さらに、OTA の自然汚染検体 No.2 の RSD_F が AOAC が公表するクライテリア (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ で 21%以下) を上回った。このことより、OTA の分析において、分析機関によっては回収率がクライテリアを下回るといった問題が生じる可能性が考えられた。また、イムノアフィニティーカラムを用いた精製法は、コストが高いことや操作が煩雑といった欠点もある。次年度は、安価で精製操作が容易な多機能カラムを使用した分析法を開発し、妥当性を検証することとする。

(2) MON の分析法の開発及び汚染実態調査

穀類中の MON の分析法については、様々な方法が報告されている⁶⁾。抽出には水又はアセトニトリル水溶液、精製には陰イオン交換カートリッジや多機能カラムを用いた方法が主に用いられている。定量は、HPLC 又は質量分析器が用いられるが、移動相にイオンペア剤やランタン、分離カラムに HILIC カラムを用いることにより、MON の保持を高める工夫が成されている。これらの報告を参考にし、分析法の検討を行った結果、抽出には 85%アセトニトリル水溶液を用いることとした。水による抽出では、水溶性の成分が多く抽出され、MON の精製が困難となった。また、抽出を 3 回行うことで、回収率が大きく向上した。精製には陰イオン交換カートリッジを用い、HPLC の移動相にイオ

ンペア剤を加えて、C18 カラムを分離に用いた。HILIC カラムでは、ピーク形状が悪く、再現性のある保持時間が得られなかった。開発した分析法の性能を単一試験室による添加回収試験で評価した結果、いずれの食品種における回収率もコーデックス委員会が公表する手順書に記載のクライテリア (80-110%) を満たした。この結果より、開発した分析法により MON の汚染実態調査を行うこととした。

今年度は小麦粉のみの調査を行った。国産と海外産で MON の汚染レベルに大きな違いがあり、平均値は国産が海外産の約 7 倍であった。海外産の検体における検出濃度は、定量限界値 (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$) ~40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の範囲であったが、国産では 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を超えて検出された検体が散見された。ドイツとオランダにおける報告によると、収集された小麦粉 22 検体中 1 検体からのみ 10.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の MON が検出され、ノルウェーの報告においては、収集された小麦からは最大 950 $\mu\text{g}/\text{kg}$ と高い濃度の MON が検出された^{5,6)}。以上から、MON の汚染は地域差が大きい可能性が考えられる。次年度は、開発した分析法を用いてより多くの食品種における MON 汚染を調べる。

E. 結論

小麦からの抽出液を多機能イムノアフィニティーカラムで精製し、LC-MS/MS で定量を行う DON と OTA の同時分析法を開発した。その分析法の妥当性を評価するために、国内の 8 分析機関による多機関共同試験を実施した。その結果、添加回収試験と自然汚染検体の分析結果のいずれも事前に設定したクライテリアを満たした。以上より、開発した分析法は、小麦中の DON と OTA の同時分析に使用可能であることが示された。

MON の分析については、既報の方法を改良し、5 倍量の 85%アセトニトリル水溶液による

3回抽出を行い、陰イオン交換カートリッジで精製後に HPLC で定量する方法を開発した。分析法の性能を評価するために、麦類と米を用いて添加回収試験を行った結果、回収率は 83.7～105.2%の範囲内に収まり、良好であった。国内に流通する小麦粉における MON 汚染を調べた結果、国産小麦粉由来の製品において、50.0%の陽性率で MON が検出された。

F. 参考

- 1) Yoshinari T. *et al.* Determination of sterigmatocystin in foods in Japan: method validation and occurrence data. *Food Addit Contam Part A.* 2019; 36(9):1404-1410.
- 2) Yoshinari T. *et al.* Occurrence of beauvericin and enniatins in wheat flour and corn grits on the Japanese market, and their co-contamination with type B trichothecene mycotoxins. *Food Addit Contam Part A.* 2016;33(10):1620-1626.
- 3) Sugita-Konishi Y. *et al.* Exposure and risk assessment for ochratoxin A and fumonisins in Japan. *Food Addit Contam Part A.* 2016;30(8):1392-1401.
- 4) European Food Safety Authority. Risks to human and animal health related to the presence of moniliformin in food and feed. *EFSA Journal.* 2018;16(3):5082.
- 5) Uhlig S. *et al.* Moniliformin in Norwegian grain. *Food Addit Contam Part A.* 2004;21(6):598-606.
- 6) Herrera M. *et al.* Survey of moniliformin in wheat- and corn-based products using a straightforward analytical method. *Mycotoxin Res.* 2017;33:333-341.

表 1 多機関共同試験の結果を評価するクライテリア

A) 添加回収試験

	添加濃度 (µg/kg)			
	DON		OTA	
	200	1000	1.0	5.0
回収率 (%)	80-110	80-110	60-115	60-115
室間再現性 標準偏差 (%)	< 32	< 32	< 44	< 44

B) 自然汚染試料

自然汚染試料	室間再現性標準偏差の クライテリア (%)	
	DON	OTA
No.1	< 32	< 44
No.2	< 32	< 44
No.3	< 22	< 44

表 2 多機関共同試験の結果 (DON)

A) 添加回収試験

	Spiked sample (µg/kg)					
	0 µg/kg		200 µg/kg		1,000 µg/kg	
Laboratory No.1	< 6.0	< 6.0	212.3	204.1	1057.2	1026.6
Laboratory No.2	6.0	6.7	214.9	206.4	1006.1	1070.8
Laboratory No.3	< 6.0	6.0	200.6	190.4	932.8	971.0
Laboratory No.4	< 6.0	6.6	168.3	170.8	820.2	826.2
Laboratory No.5	< 6.0	< 6.0	191.7	190.9	989.4	1016.4
Laboratory No.6	< 6.0	< 6.0	209.1	209.6	1025.2	1043.9
Laboratory No.7	< 6.0	6.5	207.9	217.7	1083.2	1018.7
Laboratory No.8	< 6.0	< 6.0	158.3	162.8	959.9	890.3
Mean (µg/kg)			193.9		982.8	
Mean recovery (%)			97.0		98.3	
Repeatability relative SD [RSD _r ,%]			2.5		3.3	
Reproducibility relative SD [RSD _R ,%]			10.1		8.3	
HorRat			0.5		0.4	

B) 自然汚染試料

	Naturally contaminated sample (µg/kg)					
	No.1		No.2		No.3	
Laboratory No.1	439.4	437.1	211.6	204.2	1549.6	1560.5
Laboratory No.2	377.5	440.9	229.0	220.6	1597.2	1591.0
Laboratory No.3	405.5	376.9	201.8	192.5	1364.1	1386.8
Laboratory No.4	287.2	207.5	160.1	135.7	1070.5	1069.5
Laboratory No.5	422.9	420.1	193.9	195.7	1588.0	1583.1
Laboratory No.6	348.4	404.9	205.4	211.0	1548.9	1490.1
Laboratory No.7	427.5	385.5	165.7	200.4	1472.1	1365.9
Laboratory No.8	349.1	349.2	174.5	161.0	1379.7	1364.1
Mean (µg/kg)	380.0		191.5		1436.3	
Mean recovery (%)	-		-		-	
Repeatability relative SD [RSD _r ,%]	8.4		6.2		2.2	
Reproducibility relative SD [RSD _R ,%]	16.9		13.6		12.2	
HorRat	0.8		0.6		0.6	

表 3 多機関共同試験の結果 (OTA)

A) 添加回収試験

	Spiked sample (µg/kg)					
	0 µg/kg		1.0 µg/kg		5.0 µg/kg	
Laboratory No.1	< 0.2	< 0.2	1.1	1.1	5.4	5.1
Laboratory No.2	0.2	0.2	0.9	1.0	4.8	5.1
Laboratory No.3	< 0.2	< 0.2	1.0	1.0	4.6	4.8
Laboratory No.4	< 0.2	< 0.2	0.8	0.8	3.7	3.7
Laboratory No.5	< 0.2	< 0.2	0.7	0.7	3.0	3.1
Laboratory No.6	< 0.2	< 0.2	1.1	1.0	4.6	4.6
Laboratory No.7	< 0.2	< 0.2	1.0	0.9	4.0	4.1
Laboratory No.8	< 0.2	< 0.2	0.8	0.8	3.3	3.1
Mean (µg/kg)			0.9		4.2	
Mean recovery (%)			90.3		83.8	
Repeatability relative SD [RSD _r ,%]			3.7		3.1	
Reproducibility relative SD [RSD _R ,%]			16.0		19.7	
HorRat			0.7		0.9	

B) 自然汚染試料

	Naturally contaminated sample (µg/kg)					
	No.1		No.2		No.3	
Laboratory No.1	20.9	17.3	12.1	7.0	2.8	3.3
Laboratory No.2	21.8	18.4	10.0	7.3	3.2	2.9
Laboratory No.3	17.3	21.8	9.3	8.2	3.1	2.5
Laboratory No.4	13.7	14.7	5.9	5.8	2.3	3.0
Laboratory No.5	10.9	12.0	4.1	7.4	1.8	2.0
Laboratory No.6	15.0	16.1	9.2	9.8	3.3	3.2
Laboratory No.7	13.7	13.7	4.7	8.9	2.5	2.0
Laboratory No.8	10.1	12.8	5.2	4.8	1.9	2.1
Mean (µg/kg)	15.6		7.5		2.6	
Mean recovery (%)	-		-		-	
Repeatability relative SD [RSD _r ,%]	11.8		26.7		11.7	
Reproducibility relative SD [RSD _R ,%]	24.2		31.0		21.3	
HorRat	1.1		1.4		1.0	

表 4 MON の分析法の性能評価のための添加回収試験の結果

食品種	添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回収率 (%)	
		平均値	標準偏差
小麦	50	105.2	4.3
	300	104.2	2.8
はと麦	50	89.6	4.9
	300	86.3	0.8
	2,000	83.7	1.3
ライ麦	50	97.8	7.6
	300	104.4	1.6
玄米	50	94.2	5.6
	300	100.8	2.8
コーン	50	98.9	2.7
	300	102.6	1.7
	2,000	101.3	1.4

(n=4)

表 5 国内に流通する小麦粉における MON 汚染の実態

	検体数	陽性数	陽性率 (%)	平均値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	最大値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
国産	40	20	50.0	22.6	198
海外産	41	6	14.6	3.1	36.3

表 6 小麦粉（国産）における MON 汚染濃度

サンプルID	原産地	MON ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	サンプルID	原産地	MON ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
33-JWF01	北海道	36.6	34-JWF01	北海道	ND
33-JWF02	北海道	18.2	34-JWF02	北海道	32.3
33-JWF03	北海道	ND	34-JWF03	岩手県	ND
33-JWF04	北海道	22.5	34-JWF04	北海道	ND
33-JWF05	北海道	98.2	34-JWF05	北海道	40.4
33-JWF06	北海道	51.9	34-JWF06	国内産	ND
33-JWF07	国産	ND	34-JWF07	北海道	ND
33-JWF08	北海道	ND	34-JWF08	国産	ND
33-JWF09	北海道	17.8	34-JWF09	国産	ND
33-JWF10	国産	18.6	34-JWF10	北海道	15.8
33-JWF11	国産	22.2	34-JWF11	北海道	43.3
33-JWF12	国産	ND	34-JWF12	岩手県	14.3
33-JWF13	岩手県	ND	34-JWF13	国内	22.4
33-JWF14	国産	35.4	34-JWF14	国産	ND
33-JWF15	北海道	113.5	34-JWF15	国産	40.7
33-JWF16	滋賀県	ND	34-JWF16	北海道	ND
33-JWF17	九州産	ND	34-JWF17	国産	ND
33-JWF18	北海道	ND	34-JWF18	北海道	ND
33-JWF19	北海道	198.1	34-JWF19	北海道	29.9
33-JWF20	北海道	ND	34-JWF20	北海道	30.5

ND : 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満

表7 小麦粉（海外産）における MON 汚染濃度-1

サンプルID	原産地	MON ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
32-FWF01	フランス	ND
32-FWF02	不明	ND
32-FWF03	イタリア	ND
32-FWF04	不明	ND
32-FWF05	北米他	ND
32-FWF06	北米他	ND
32-FWF07	フランス	ND
32-FWF08	アメリカ他	ND
32-FWF09	北米他	ND
32-FWF10	フランス	19.3
32-FWF11	カナダ、アメリカ主体	ND
32-FWF12	北米、オーストラリア他	ND
32-FWF13	北米他	ND
32-FWF14	カナダ主体	ND
32-FWF15	ドイツ	ND
32-FWF16	北米、オーストラリア他	ND
32-FWF17	北米、オーストラリア他	ND
32-FWF18	カナダ	ND
32-FWF19	カナダ	ND
32-FWF20	北米産	ND
32-FWF21	北米産	ND

ND : 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満

表 8 小麦粉（海外産）における MON 汚染濃度-2

サンプルID	原産地	MON ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
34-FWF01	オーストラリア	30.9
34-FWF02	オーストラリア	ND
34-FWF03	オーストラリア	36.3
34-FWF04	オーストラリア	ND
34-FWF05	アメリカ他	ND
34-FWF06	フランス	ND
34-FWF07	フランス	ND
34-FWF08	カナダ主体	17.5
34-FWF09	カナダ、アメリカ	ND
34-FWF10	ドイツ	13.2
34-FWF11	ドイツ	11.2
34-FWF12	アメリカ	ND
34-FWF13	インド	ND
34-FWF14	北米	ND
34-FWF15	アメリカ	ND
34-FWF16	カナダ	ND
34-FWF17	カナダ、アメリカ	ND
34-FWF18	北米、オーストラリア他	ND
34-FWF19	フランス、北米他	ND
34-FWF20	北米他	ND

ND : 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満