

ブラジルのトウモロコシ及び鶏用飼料のアフラトキシン汚染調査とそのリスク評価

誌名	香川大学農学部学術報告
ISSN	03685128
著者	Kikuchi, B.A. Hashimoto, E.H. Hirooka, E.Y. 川村, 理
巻/号	68巻
掲載ページ	p. 25-31
発行年月	2016年2月

ブラジルのトウモロコシ及び鶏用飼料のアフラトキシン汚染調査とそのリスク評価

Bagatin Artur Kikuchi・Elisabete Hiromi Hashimoto*・Elisa Yoko Hirooka**・川村 理

The contamination with aflatoxins in Brazilian corn and feed for chickens and the risk evaluation

Bagatin Artur Kikuchi, Elisabete Hiromi Hashimoto*, Elisa Yoko Hirooka** and Osamu Kawamura

Abstract

Aflatoxins (AFs) contamination were analyzed in Brazilian corn and feed for broiler chicken, as approximately 90% of chicken traded in Japan is imported from Brazil. AFs in feeding of such broilers can indicate the risk of possible secondary contamination due to ingestion of imported chicken meat.

The monoclonal antibody, which reacted with AFB₁, AFB₂, AFG₁ and AFG₂ at the same level, was coupled with a gel. Using the antibody-coupled gel, we developed an immuneaffinity column linked HPLC (IAC-HPLC) method. In recovery test, when 2.5 ng/g of AFs were added to the feed for chicken; AFs recoveries were 83.5–99.4% with RSD of less than 1.9%.

This IAC-HPLC method was applied to analyze total AFs in Brazilian corn (15 samples) and broiler chicken feed (16 samples). Four corn samples (27%) showed 6.22–63.09 ng/g level of total AFs, whereas 15 feed samples (94%) were contaminated with 0.36–4.38 ng/g of total AFs. However, the overall average \pm SD was 1.25 ± 0.95 ng/g, indicating that general contamination was lower than the Japanese as well as Brazilian guideline for animal feeding. Taking to account that the quantity of shift to chicken of AFB₁ in feed was less than 1/1,000 of feed levels, the data suggests that chicken supplied with the investigated feed batch would be at safe condition.

Key words : Aflatoxin, Immunoaffinity column, Brazilian feed for chickens,

緒 言

アフラトキシン類 (AFs) は、*Aspergillus flavus* や *A. parasiticus* などのカビによって生産される、強い毒性と発がん性を有するマイコトキシンである⁽¹⁾。Fig. 1に示した AFB₁、AFB₂、AFG₁ と AFG₂ が主要な AFs である。これらが飼料に混入した場合、乳製品や食肉に移行し、畜産物を汚染することが知られている⁽²⁾。

ブラジルは、世界5位の面積を有し、農業関連産業が GDP の33% を占める農業大国である。コーヒー、大豆、濃縮オレンジジュース、砂糖及び鶏肉の輸出量は世界一である⁽³⁾。また、ブラジルは世界3位のトウモロコシ生産国でもある。ブラジルのトウモロコシの77%が家畜飼

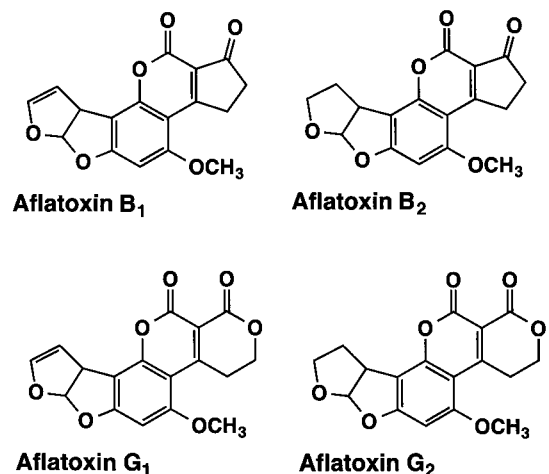


Fig. 1 アフラトキシン類の構造式

* パラナ連邦工業大学 (ブラジル) Unity of Francisco Beltrao, Federal Technological University of Parana, Brazil

** 州立ロンドリーナ大学 (ブラジル) Center of Agricultural Sciences, Universidade Estadual de Londrina, Brazil

料になり、その内の49.8%がブロイラーの飼料として使用されている。日本の飼料原料のトウモロコシはほとんどアメリカからの輸入に頼っていたが、価格の高騰や安定供給を確保するため、2013年の日本の輸入トウモロコシの約30%をブラジルから輸入した。また、財務省「貿易統計」資料では、アジアの鶏インフルエンザの影響もあり、日本は2013年に860,000トンの鶏肉を輸入したが、その中で約9割がブラジル産であったと記載されていた。

このように、近年、ブラジルからの輸入食品は増加傾向にある。そこで、特に、鶏肉輸入量の約90%はブラジル産が占めていることに着目し、ブラジルで使用されているトウモロコシ及び鶏用飼料のアフラトキシンの汚染調査を行うことによって、その汚染レベルを明らかにし、輸入鶏肉へのマイコトキシンの2次汚染の可能性を調査し、リスク評価を行うことを目的とした。そこで、イムノアフィニティーカラム (IAC)-HPLC法で、ブラジル南部パラナ州から収集したトウモロコシと鶏用飼料中のAF類を分析し、ブラジル産のトウモロコシ、鶏用飼料及び鶏肉のリスク評価を行った。

方 法

試験試料及び試薬類

試験試料；ブラジルの南部、パラナ州で収集したトウモロコシの15検体。その内、4検体は、*Aspergillus*属のカビが単離された検体、及び鶏用飼料16検体。

AFs標準溶液（各2.5 µg/mL）、HPLCの移動相はHPLC用試薬、その他の試薬は特級又は同等品をそれぞれ和光純薬社（株）から購入した。

イムノアフィニティーカラム (IAC) の作製

4つのAF (AFB₁, B₂, G₁とG₂)と同程度に反応するモノクローナル抗体AFS.1-1抗体産生ハイブリドーマを無血清培地hybridoma-SFM培地 (Gibco, Life Technologies Corporation) に馴化した後、大量培養 (5.5 L) を行った。回収した培養上清は、Protein G column (GE Healthcare) で精製した。精製したAFS.1-1抗体とイムノアフィニティー担体 (アフィゲル10) を添付されたプロトコールに従って、抗体1.7 mg/mLゲルの割合で結合させた。抗体結合ゲル0.3 mLをミニカラム (ムロマックカラム size S, 室町ケミカル (株)) に詰めた。

抽出方法の検討

鶏飼料の主原料であるトウモロコシのAF類分析法の確立を目的とし、まず、汎用されているアセトニ

リル：水 (9 : 1) を用いた抽出法 (以下CH₃CN抽出法) とメタノール：水 (7 : 3) を用いた抽出法 (以下MeOH抽出法) で、それぞれのトウモロコシ抽出希釈濾液へのAF類添加し、回収率とIACの再使用回数について比較した。

CH₃CN抽出法では、粉碎したトウモロコシ10 gにアセトニトリル：水 (9 : 1 v/v) 50 mLを加え、振とう機 (AS-1 Almighty Shaker, アズワン株式会社) で200 rpmで30分振とう抽出後、5 C濾紙 (Advantec) で濾過後、ダルベッコのリン酸生理食塩水 (PBS) で4倍希釈し、GF-75ガラス繊維濾紙 (Advantec) で濾過した。この抽出希釈濾液にAF類を添加し、10 mLをIACに負荷した。

MeOH抽出法では、粉碎したトウモロコシ10 gにNaCl 2 gとメタノール：水 (7 : 3, v/v) 50 mLを加え、振とう機で200rpmで30分振とう抽出後、5 C濾紙 (Advantec) で濾過後、この濾液を蒸留水で3倍希釈し、GA-55ガラス繊維濾紙 (Advantec) ガラス繊維濾紙で濾過した。この抽出希釈濾液にAF類を添加し、10 mLをIACに負荷した。

IACでのクリーンアップとHPLC分析

PBS 10 mLで平衡化を行い、抽出希釈濾液を10 mL負荷した。PBS 5 mLと続いて蒸留水5 mLでゲルを洗浄後、メタノール2 mLで溶出した。溶出液に蒸留水を加え、4 mLに定容し、HPLC分析用検体とした。

HPLC装置は、(株) 島津製作所のシステムコントローラー (SCL-10A_{vp})、送液ユニット (LC-20AD)、オートインジェクター (SIL-20A_{int})、カラム (Shim-pack XR-ODS II (100 x 3.0 mm, 粒子径2.2 µm)、カラムオープン (CTO-10A)、蛍光検出器 (RF-20AXS) を用いた。移動相には、H₂O : MeOH : CH₃CN (6 + 3 + 1 V/V/V) を用い、流速、0.4 mL/min、波長は365 nm (励起) と450 nm (蛍光)、注入量は10 µLで行った。

CH₃CN抽出法とMeOH抽出法でのIACの再使用回数の比較

上記と同様に、それぞれの抽出希釈濾液をIACに負荷し、洗浄、溶出を行なった後、メタノール5 mLとPBS 10 mLでの洗浄を行った。このIACをPBS 10 mLで平衡化し、AF類添加抽出希釈濾液を再び負荷し、同じ操作を繰り返した。

AF類の添加回収実験

粉碎したトウモロコシ10 gに、AF類標準溶液を各AF 100, 250及び500 ng/mLの濃度になるようにCH₃CNで希釈し、調整した標準液を100 µL (各AFを1, 2.5及び5 ng/

g相当) 加え、瓶の口をキムワイプで覆い、暗所で1時間静置した後、MeOH抽出法で抽出した。鶏用飼料では、粉碎した鶏用飼料10 gに調整した標準液を100 μ L (各AFを2.5 ng/鶏用飼料1 g相当) 加え、トウモロコシの場合と同様に行った。

トウモロコシと鶏用飼料の分析

それぞれの検体をMeOH抽出法で抽出し、IACでのクリーンアップ後、HPLC分析を行った。陽性検体では、2回分析を繰り返し、その平均値を測定値とした。

結果および考察

HPLCの検量線

AF類を0.002~10.0 ng/mLの各濃度をHPLCで測定した結果、0.078 ng/mL以上ですべてのAFの検出が可能であったAFB₁、AFB₂、AFG₁及びAFG₂のそれぞれの検出限界は0.026, 0.0065, 0.078及び0.013 ng/mLであった。4つのAFのそれぞれの検量線はこの濃度範囲で、ピーク面積でも高さでもR²=0.999以上の直線性が得られた。それぞれのAF類5.0 ng/mLのクロマトグラムをFig. 2に示した。

CH₃CN抽出法とMeOH抽出法でのIACの再使用回数の比較

トウモロコシに各AFを1, 2.5, 及び5 ng/g添加し、CH₃CN抽出法で抽出し、クリーンアップした回収実験の結果、AFB₁、AFB₂、AFG₁及びAFG₂の回収率は、それぞれ99.6~104.7% (RSD 0.8%以下)、99.0~103.2% (RSD 0.7%以下)、99.5~104.2% (RSD 0.7%以下) 及び91.8~97.3% (RSD 2.1%以下) で高い回収率と良好な再現性であった。しかし、IACの再使用回数を調べた結果 (Fig. 3)、AFB₁とAFB₂はほとんど減少しないが、2回目以降、AFG₂の回収率が約10%ずつ低下した。これは、蛋白質変成作用の強いアセトニトリルにさらされた

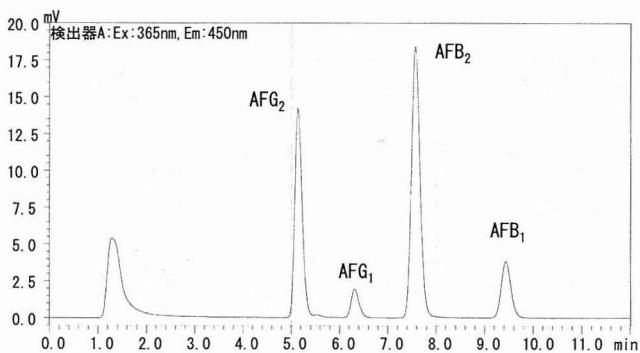


Fig. 2 アフラトキシン類の標準品のクロマトグラム

ために、やや反応性が弱いAFG₂との抗体との反応性が低下し、保持できなくなったためと考えられた。一方、MeOH抽出法で抽出し、クリーンアップした場合のIACの再使用回数を調べた結果 (Fig. 4)、いずれのAF類の回収率は、10回までは、ほとんど低下しなかった。この抗体は、ほとんどメタノールではダメージを受けず、速やかにAF類との反応性を回復することが判明した。以上の結果から、再使用のできるMeOH抽出法でトウモロコシと鶏用飼料の分析を行った。

AF類の添加回収実験

トウモロコシと鶏用飼料にAF類を添加し、MeOH抽出法で抽出し、クリーンアップした回収率をTable 1に示した。トウモロコシの場合、AFB₁、AFB₂、AFG₁及びAFG₂の回収率は、それぞれ82.0~88.0% (RSD 2.2%以下)、86.9~92.3% (RSD 1.6%以下)、86.5~91.2% (RSD 2.4%以下) 及び89.1~95.1% (RSD 1.6%以下) であり、高い回収率と良好な再現性であった。また、鶏用飼料

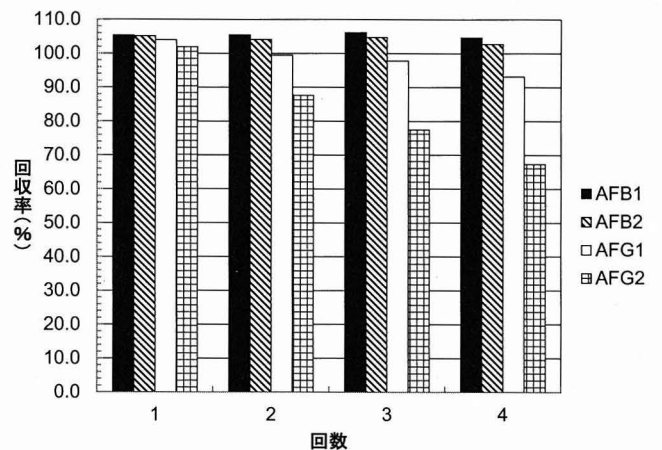


Fig. 3 CH₃CN抽出法でのイムノアフィニティーカラムの再使用回数毎の回収率

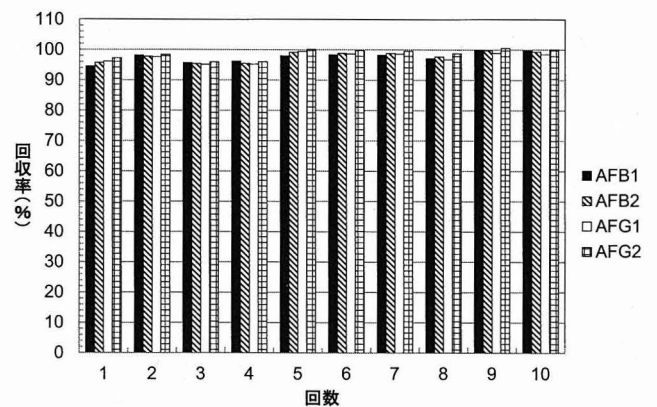


Fig. 4 MeOH抽出法でのイムノアフィニティーカラムの再使用回数毎の回収率

の場合、AF類無添加の検体 (BPF1205) でAFB₁が検出されたため、AF類添加検体から汚染量を差し引き、回収率を算出した。AFB₁、AFB₂、AFG₁及びAFG₂の回収率は、それぞれ83.5% (RSD 1.9%)、91.4% (RSD 0.7%)、99.4% (RSD 1.2%) 及び93.8% (RSD 0.6%) であり、高い回収率と良好な再現性であった (Table 1)。トウモロコシと鶏用飼料いずれの場合も、AFB₁、AFB₂、AFG₁及びAFG₂の検出限界は、それぞれ0.156、0.039、0.468及び0.078 ng/gであった。鶏用飼料にAF類2.5 ng/g相当添加したクロマトグラムではAF類のいずれのピークに重なる夾雑物のピークは認められなかった (Fig. 5)。

トウモロコシのAF汚染

トウモロコシの分析の結果をTable 2に示した。トウモロコシ15検体中4検体 (検出率27%) にAF類が検出された。その4検体すべてが、あらかじめ*Aspergillus*属の汚染検体であった。汚染濃度は総アフラトキシン

(AFB₁、AFB₂、AFG₁及びAFG₂の合計) で6.22~63.09 ng/gであり、AFB₁の汚染量がいずれの検体でも一番高かった (5.62~55.93 ng/g)。

ブラジルの飼料用原料 (トウモロコシを含む) の規制値は総AF 50 ng/gである。また、アメリカでは総AF 20 ng/g、EUではAFB₁ 20 ng/g (飼料原料) である。本研究の結果から、BC1203のみ上記3か国の規制値を超えていた。日本の飼料規制値は乳牛用飼料と幼畜用配合飼料でAFB₁ 10 ng/g、その他の配合飼料でAFB₁ 20 ng/gである。100%トウモロコシの配合飼料と仮定した場合、乳牛用飼料と幼畜用配合飼料としては、BC1201、BC1203とBC1204の3検体が基準値を超え、その他の配合飼料としては、BC1203のみ1検体が基準超過となる。*Aspergillus*属真菌が単離された検体からのみAF類が検出され、他の無作為に集めた9検体からはAF類が検出されなかったことから、*Aspergillus*属真菌検出が、トウモロコシの選別に有効な手段となりうる可能性が示唆され

Table 1 トウモロコシと鶏用飼料へのアフラトキシン類の添加回収実験 (n=3)

対象	各AF添加量 (ng/g)	AFB ₁ (%)			AFB ₂ (%)			AFG ₁ (%)			AFG ₂ (%)		
		回収率	± SD	RSD	回収率	± SD	RSD	回収率	± SD	RSD	回収率	± SD	RSD
トウモロコシ	1.0	82.0	± 1.8	2.2	86.9	± 1.3	1.6	86.5	± 2.0	2.4	89.1	± 1.5	1.6
	2.5	88.0	± 0.6	0.6	92.3	± 0.3	0.3	91.2	± 0.9	1.0	95.1	± 0.5	0.5
	5.0	87.6	± 0.5	0.5	92.1	± 0.5	0.6	90.9	± 0.7	0.7	94.7	± 0.7	0.7
鶏用飼料	2.5	83.5	± 1.6	1.9	91.4	± 0.6	0.7	99.4	± 1.2	1.2	93.8	± 0.6	0.6

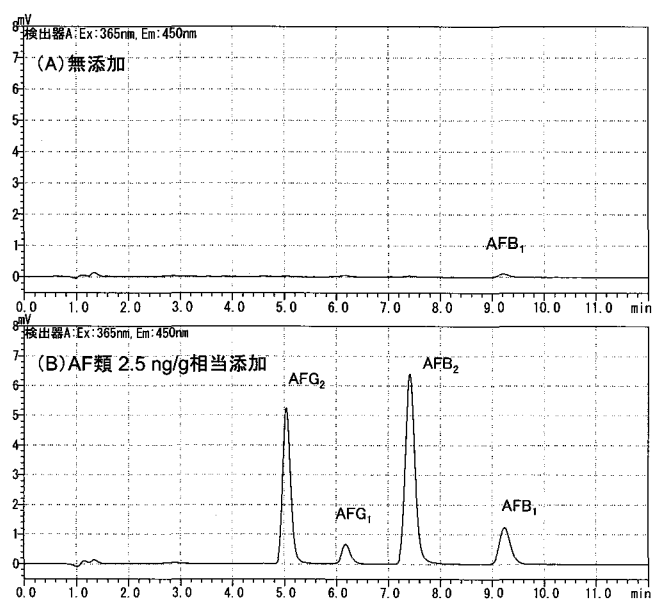


Fig. 5 鶏用飼料でのアフラトキシン類無添加 (A) と2.5 ng/g添加した (B) 場合のクロマトグラム

Table 2 トウモロコシの分析結果

検体	アフラトキシン濃度 (ng/g)				
	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	合計
BC1201*	12.99	0.51	ND**	ND	13.49
BC1202*	5.62	0.60	ND	ND	6.22
BC1203*	55.93	1.71	5.07	0.38	63.09
BC1204*	9.45	0.59	0.86	ND	10.90
BC1205	ND	ND	ND	ND	
BC1206	ND	ND	ND	ND	
BC1207	ND	ND	ND	ND	
BC1208	ND	ND	ND	ND	
BC1209	ND	ND	ND	ND	
BC1210	ND	ND	ND	ND	
BC1211	ND	ND	ND	ND	
BC1212	ND	ND	ND	ND	
BC1213	ND	ND	ND	ND	
BC1214	ND	ND	ND	ND	
BC1215	ND	ND	ND	ND	

**Aspergillus* 属真菌が検出された検体

**NDは検出限界以下。検出限界は、AFB₁: 0.156 ng/g, AFB₂: 0.039 ng/g, AFG₁: 0.468 ng/g, AFG₂: 0.078 ng/gであった。

た。また、無作為に集めた11検体からいずれも、AF類は検出されなかったことから、十分に管理されたトウモロコシであれば、それほどリスクは高くないと考えられた。

鶏用飼料のAF汚染とリスク評価

ブラジルのパラナ州で収集した鶏用飼料16検体の分析結果をTable 3に、代表的なクロマトグラムをFig. 6に示した。鶏用飼料16検体中15検体（検出率94%）でAF類が検出された。汚染濃度は総アフラトキシンで0.36～4.38 ng/gであり、平均±SDは、1.25±0.95 ng/gであった。トウモロコシと同様、AFB₁の汚染量がいずれの検体でも一番高かった（0.36～4.14 ng/g）。BPF1206では唯一AFG₁が0.73 ng/g検出された（Fig. 6 B）。最高汚染濃度はBPF1207で、AFB₁が4.14 ng/g、AFB₂が0.24 ng/gで合計4.38 ng/gのAF類が検出された。いずれの検体もブラジル、アメリカ、EU及び日本の飼料の規制値（それぞれ総AF 50 ng/g、総AF 20 ng/g、AFB₁ 10～20 ng/g及びAFB₂ 10～20 ng/g）を超えていなかった。したがって、検出率は、94%と高かったが、十分に安全なレベルにある飼料であった。

Rossiらは、パラナ州のプロイラー用飼料34検体中30検体（88%）で0.79～60.80 ng/gの総AFを検出し、平均汚染量は8.41 ng/gであった。また、雌鶏用飼料は36検体

中33検体（92%）で1.03～91.04 ng/gの総AFが検出され、平均汚染量は19.75 ng/gであったと報告した⁽⁴⁾。Kobashigawaらは、サンパウロ州の鶏用飼料を飼料工場と養鶏場でそれぞれ47検体を収集してAF汚染を調査した。飼料工場の場合、10検体（21%）で0.69～9.05 ng/gの総AFが検出され、養鶏場では8検体（17%）で0.57～14.66 ng/gの総AFが検出されたと報告した⁽⁵⁾。また、サンパウロ州の牛用飼料30検体の40%にAFB₁が検出され、汚染範囲は1.2～19.5 ng/gで、平均汚染量は8.4 ng/gであったとの報告があった⁽⁷⁾。これらの報告と今回の分析結果を比較すると、本調査のAF類の検出率は94%で高頻度であったが、平均汚染濃度は1.25 ng/gであり、これらの報告の約1/7程度と低かった。

ブロイラーは通常49日齢（小型）～59日齢（大型）で出荷されるが、Hussainらは、飼料中AFの鶏肉への移行を調べるため、若鶏にAFを添加した飼料を与え、その肉中のAF濃度を調べた。その結果、1,600、3,200及び6,400 ng/gのAFB₁を添加した飼料を7日齢から7日間給餌されたブロイラーのレバーにそれぞれ平均3.51、3.74及び6.97 ng/g、肉でそれぞれ平均1.63、1.90及び3.27 ng/gが検出された。また、14日齢と28日齢のブロイラーの場合は、レバー及び肉での汚染量は7日齢より低かった。さらに、給仕7日目にレバーと肉に最大量AFが検出されたと報告した。しかし、汚染された飼料の提供を停止した1週間後、ほぼすべてのグループで、レバーや肉にはAFが検出されなかった⁽⁷⁾。Yangらは、AFB₁ 134.0 ng/g及びAFB₂ 23.6 ng/gに汚染された飼料をブロイラーに与えたところ、レバーと胸肉でそれぞれ0.137と0.016 ng/gのAFB₁が検出された。この結果から、飼料中AFB₁

Table 3 鶏用飼料の分析結果

検体	アフラトキシン濃度 (ng/g)				合計
	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	
BPF1201	0.95	0.11	ND*	ND	1.06
BPF1202	1.43	0.14	ND	ND	1.57
BPF1203	0.76	0.10	ND	ND	0.86
BPF1204	1.31	0.16	ND	ND	1.47
BPF1205	0.36	ND	ND	ND	0.36
BPF1206	1.45	0.09	0.73	ND	2.27
BPF1207	4.14	0.24	ND	ND	4.38
BPF1208	0.51	0.04	ND	ND	0.56
BPF1209	1.43	0.09	ND	ND	1.52
BPF1210	3.16	0.20	ND	ND	3.36
BPF1211	0.38	ND	ND	ND	0.38
BPF1212	0.90	0.12	ND	ND	1.02
BPF1213	0.62	ND	ND	ND	0.62
BPF1214	1.50	0.14	ND	ND	1.64
BPF1215	0.91	0.12	ND	ND	1.02
BPF1216	ND	ND	ND	ND	-
平均±SD	1.10±0.87	0.12±0.05	0.73±0.00	-	1.25±0.95

*NDは検出限界以下。それぞれ検出限界はAFB₁: 0.156 ng/g、AFB₂: 0.039 ng/g、AFG₁: 0.468 ng/g、AFG₂: 0.078 ng/gであった。

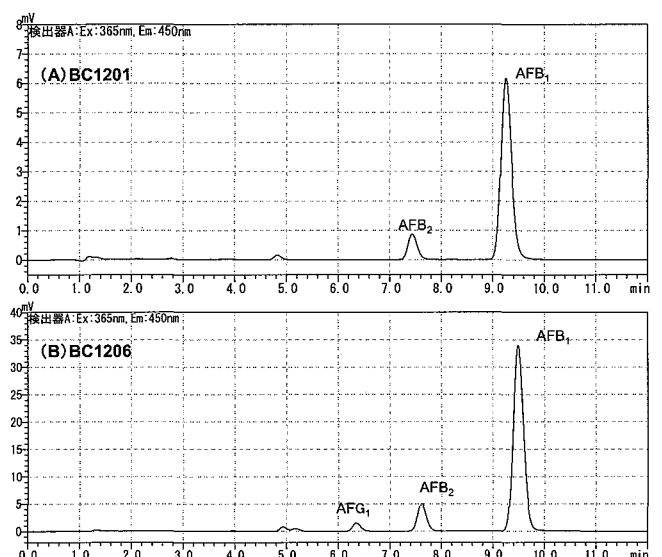


Fig. 6 鶏用飼料の代表的汚染検体のクロマトグラム

濃度の約1/1,000濃度のAFB₁がレバーで検出され、約1/8,000濃度のAFB₁が胸肉で検出されたとの報告であった⁽⁸⁾。AFが低濃度の場合でも同様の移行率であると仮定して計算すると、我々の最大汚染飼料を給仕された鶏のレバーと胸肉のAFB₁濃度はそれぞれ $4.14 \times 1/1,000 = 0.00414 \text{ ng/g}$ と $4.14 \times 1/8,000 = 0.000512 \text{ ng/g}$ となった。これらの値は、いずれも日本の食品の総AFの基準値10 ng/gを大きく下回っていた。さらに、配合飼料中のAFB₁濃度が基準値(10~20 ng/g)以下である場合は、畜産物にAF類の残留は検出限界(0.1 ng/g)以下であるとの報告もある⁽⁹⁾。以上のことから、飼料中AF類が基準値以下であれば、家禽肉に移行するAF類量は極めて少なく、ヒトへのリスクはほぼ無視できると推定できた。したがって、本研究で分析したブラジルのパラナ州の鶏用飼料はいずれも日本の飼料の規制を下回っており、輸入鶏肉のAF汚染に関するリスクは充分に低いと考えられた。しかし、*Aspergillus*属真菌が分離されたトウモロコシでは、比較的高濃度のAF類汚染があったこと、悪天候などが原因で年によってカビの繁殖とそれに伴うマイコトキシン汚染が大きく異なることがあるため、今後も、持続的に飼料のAF類の汚染調査を行うことが必要であると考えられた。

今回確立した方法は、熟練した技術を必要とせず、短時間で高感度な鶏用飼料の分析が可能な方法であった。また、本法は、乾固・再溶解の操作を必要としないので、簡便であり、1日1人で20検体以上の分析が可能であった。本法が鶏用飼料のAF類分析に幅広く活用され、日本の食の安全のみならず、ブラジルや世界の食の安全に寄与することが期待される。

摘 要

アフラトキシン (AF) は、強い発がん性を有し、トウモロコシや飼料などを汚染するマイコトキシンである。日本の輸入鶏肉の約9割がブラジル産である。そこで、ブラジルのトウモロコシと鶏用飼料のAF汚染調査を行い、鶏肉への2次汚染の可能性を調査し、リスク評価を行うことを目的とした。

AFB₁、AFB₂、AFG₁及びAFG₂とほぼ同程度反応するAFS.1-1抗体をゲルと結合させてイムノアフィニティーカラム (IAC) を作製した。このIACを用いてトウモロコシと鶏用飼料へのAF添加回収実験を行って条件を検討し、AF類をIACから溶出後、乾固を行わずに分析する方法を確立した。鶏用飼料での添加回収実験の回収率は83.5~99.4%、RSDは1.9%以下で良好であった。確立したIAC-HPLC法でブラジル産トウモロコシ15検体及び鶏用飼料16検体中のAF汚染調査を行った結果、トウモロコシでは、15検体中4検体(27%)陽性で、総AFで6.22~63.09 ng/gであった。鶏用飼料では、16検体中15検体(94%)が陽性で、総AFで0.36~4.38 ng/gであり、平均値±SDは、 $1.25 \pm 0.95 \text{ ng/g}$ であった。いずれの検体もブラジルと日本の飼料の規制値を超えていなかった。飼料中AFB₁の鶏肉への移行量は飼料濃度の1/1,000以下であることから、これらの飼料で飼育された鶏肉も安全なレベルにあり、健康被害を及ぼす可能性はほぼないと推察された。また、本法は簡便で多数検体処理に優れた方法であり、今後、鶏用飼料などの分析に幅広く使われると期待される。

引 用 文 献

- (1) Groopman, J. D. and Wogan G. N.: Aflatoxin: A Global Public Health Problem. *Encyclopedia of Food and Health*, 68-72 (2016).
- (2) 食品安全委員会 かび毒・自然毒等専門調査会：かび毒評価書 乳中のアフラトキシンM₁及び飼料中のアフラトキシンB₁. 23-39, 2013年7月
- (3) Lora, R.S. (2012) An Overview on Agriculture and Agribusiness in Brazil. Seminar.http://www.maff.go.jp/primaff/meeting/kaisai/pdf/brazil_sep2012sec.pdf (2015/11/04)
- (4) Rossi, C.N., Takabayashi, C.R., Ono, M.A., Saito, G.H., Itano, E.N., Kawamura, O., Hirooka, E.Y., Ono, E.Y.S. Immunoassay based on monoclonal antibody for aflatoxin detection in poultry feed. *Food Chemistry*, 132, 221-2216 (2012)
- (5) Kobashigawa, E. :Occurrence of aflatoxin and fumonisin in a poultry productive system in the state of São Paulo. (2010). [Ph. D. Thesis, Universidade de São Paulo]
- (6) Oliveira, C.A.F., Sebastião, L.S., Fagundes, H., Rosim, R.E., Fernandes, A.M.: Determinação de aflatoxina B₁ em rações e aflatoxina M₁ no leite de propriedades do Estado de São Paulo. *Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas*, 30, 221-225 (2010). (In Portuguese)
- (7) Hussain, Z., Khan, M.Z., Khan, A., Javed, I., Saleemi, M.K., Mahmood, S., Asi, M.R.:Residues of aflatoxin B₁ in broiler meat: Effect of age and dietary aflatoxin B₁ levels. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 3304-3307 (2010).

- (8) Yang, J., Bai, F., Zhang, K., Lv, X., Zhao, L., Peng, X., Ding, X., Li, Y., Zhang, J.: Effects of feeding corn naturally contaminated with AFB₁ and AFB₂ on performance and aflatoxin residues in broilers. *Czech J. Anim. Sci.*, 57, 506-515 (2012).
- (9) D. L. Park, Pohland, A.E.: A rationale for the control of aflatoxin in animal feeds. In *Mycotoxins and Phycotoxins*, pp.443-482, Elsevier Science Publishers, Amsterdam (1992).