

# 新たな公定法であるアフラトキシンB<sub>1</sub> 試験法の検討

石井 俊靖, 矢崎 廣久

Examination of official new method of aflatoxin B<sub>1</sub> in nuts

Toshiyasu ISHII and Hirohisa YAZAKI

## I はじめに

アフラトキシン (AF) は, *Aspergillus flavus* や *Aspergillus parasiticus* などのカビから産生される有害な二次代謝物質であるカビ毒 (マイコトキシン, mycotoxin) の一種で, その急性毒性もさることながら, 天然物の中でも最強の発がん物質として知られている。1960年英国での七面鳥の大量斃死事件 (Turkey-X病) の原因物質として発見されて以降, 我が国でもピーナッツバターなどから検出される実状を踏まえ, 昭和46年3月付け監食第128号の厚生省通知<sup>1)</sup>により, 監視体制や食品の取り扱い, 検査体制などについて整備されることとなった。以後, 規制物質や対象品目の追加等, 法的整備も徐々に進められてきたが, 大幅な変更は見られなかった。

ところが, 平成14年3月をもって従来の試験法は廃止され, これに変わって, 労働環境保全上, クロロホルム等の有害試薬を使用しない試験方法<sup>2),3)</sup>として, 新たに「穀類, 豆類, 種実類及び香辛料中のアフラトキシンB<sub>1</sub> 試験法<sup>4)</sup>」が公定試験法として規定された。このAFB<sub>1</sub>試験法は, 従来法と比較し, より多くの食品に対応できる試験法<sup>1),4),5)</sup>となっているが, これまで薄層クロマトグラフィー (TLC)<sup>6)</sup> など簡易な手法でAFB<sub>1</sub>と共に判定ができたAFB<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>について述べられていないことと, 高速液体クロマトグラフ質量分析計 (LC/MS)<sup>7),8)</sup>等, 高度な分析機器の使用も視野に入れた特徴を備えている。

そこで, 今回提示された新公定法について, 最近問題となっているピスタチオや本県特産の落花生など8種類の種実類を用いて, 添加回収試験を行ない, 種実類の種別等による新試験法の適用性などについて検討を行ったので, その結果を報告する。

## II. 実験方法

### 1. 試料

あらかじめアフラトキシンが検出されないことを確認した市販の落花生, アーモンド, カシューナッツ, マカデミアナッツ, クルミ, 松の実, ひまわりの種, ピスタチオを用いた。

### 2. 試薬

1) 標準溶液: 標準品は, 和光純薬工業(株)製のAflatoxin (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>: 各1mg) Setを用い, 各濃度が5 ng/mlとなるようにトルエン・アセトニトリル (9:1) で希釈し, 最終標準溶液とし

た。

2) 多機能カラム: Autoprep MF-A1000 (昭和電工(株)製)

3) 薄層版: TLC plates Silica gel 60 (MERCK社製)

4) その他の試薬: メタノール, アセトニトリルは, 和光純薬工業(株)製又は関東化学(株)製 HPLC 用試薬を用い, 水はミリポア社製 MILLI-Q Labo により精製して用いた。その他の試薬は, すべて市販の試薬特級品を用いた。

### 3. 装置及び測定条件

高速液体クロマトグラフ装置は, 日本分光(株)製のポンプ: JASCO 880-PU, カラムオープン: JASCO CO-965, 蛍光検出器: JASCO FP-210を使用し, 次の条件で測定した。

カラム: Wakosil-II 5 C18 RS (4.6mm.i.d.×150mm)

移動相: Acetonitrile-Methanol-H<sub>2</sub>O (1:3:6)

流量: 1.0ml/min

カラム温度: 40℃

検出波長: 励起波長(EX)365nm, 蛍光波長(EM)450nm

注入量: 10 μl

薄層デンストメーターは, 島津製作所製の島津2波長クロマトスキャンCS-910を使用し, 次の条件で測定した。

ランプ: キセノンランプ (P/N 204-28135)

検出波長: 励起波長 (EX) 365nm, 蛍光波長 (EM) 450nm

スキャンスピード: 10mm/min

### 4. 試料溶液の調整

各種実を400g~500g分取し, ブレンダーにより粉碎し, 7~9メッシュのふるいを通したものを試料とした。この粉碎均一化した試料50gを量り採り, アセトニトリル・水 (9:1) 100mlを加え, 30分間の振とう又は5分間のブレンド後, 遠心分離し抽出液を得た。抽出液5mlを多機能カラムに注入し, 初流約1.0mlを試験管に集め, 試験溶液とした。その試験溶液0.5mlを共栓付き遠沈管にとり, エバポレーターを用いて溶媒を留去, 残留物にトリフルオロ酢酸0.1mlを加え激しく攪拌し, 室温, 暗所で15分間放置後, アセトニトリル・水 (1:9) を0.9ml加えHPLC用試験溶液とした。

一方, 「従来法との比較試験」で用いた方法は環食128号の分析法<sup>9)</sup>に準じた手法で行った。すなわち, 粉碎均一化した試料50gを溶媒抽出, カラムクロマトグラフィーで精製後, 減圧乾燥した残留物をベンゼン・アセトニトリル (98:2) 500 μlに溶かし, TLC用試験溶液とした。

### 5. AF添加回収試験

1) 繰り返しの添加回収試験

落花生とアーモンドについて, AFB<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>を用い, 20

ppb及び40ppbの2種類の添加濃度で試料を作成後、回収試験の操作をそれぞれ6回づつ行い、回収率を調べた。

2) 種実類の種類別添加回収試験

従来法で試験の対象<sup>13)</sup>となっていた落花生、アーモンド、カシューナッツ、マカディミアナッツ、クルミ、ピスタチオに、松の実、ひまわりの種を加え、計8種類の種実について添加回収試験を行った。ただし、落花生及びアーモンドの分析値は繰り返し行った6回の平均値を使用した。

3) 抽出操作の差による影響

新試験法でAFを抽出する際、「5分間ブレンドまたは30分間振とう」となっているが、どちらの操作で行っても差異は生じないか、カシューナッツ及びピスタチオで試験を行った。

4) 多機能カラム精製における溶出率等の検討

多機能カラム精製は、夾雑物がカラムに保持され遅く溶出されるが、AFは保持されず、常に一定の濃度で溶出されるため、初期溶離液1.0mlが最も精製度が高い<sup>9)</sup>とされている。そこで、8種類の種実から得た初期溶離液1.0ml中の夾雑物による影響、さらに、初期溶離液流出後の1.0~2.0ml目の次の溶離液1.0ml、2.0~3.0mlの目のその次の溶離液1.0mlをそれぞれ分取し、夾雑物の出現状況等について、落花生、ひまわりの種の抽出液を用いて調べた。

5) 従来法との比較検討

粉碎した落花生に20ppb及び40ppbの濃度でAFB<sub>1</sub>~G<sub>2</sub>を添加した試料について、従来法で操作を行い、最終的に得たTLC用試験溶液を薄層板に10μlスポットし、クロロホルム・アセトン(9:1)の展開溶媒で約12cm展開させ、濃度を測定したものを従来法による分析値とした。この結果と新公定法による添加回収試験の結果について、それぞれの回収率や操作性等を比較検討した。

III. 結果及び考察

1. 繰り返しによる添加回収試験

AFB<sub>1</sub>の判定について、従来法では10ppbを検出してはならないとなっていたが、新公定法では10ppbを上回る場合を「陽性」

としているだけで基準値としての明確な規定がない。そこで、添加回収試験の添加量については、厚生労働省の通知<sup>9)</sup>によると、基準値が不検出の場合、その定量限界値の2倍量を添加することとされているので、不検出或いは陽性とされている量の2倍量に当たる20ppb、さらにその倍の40ppbになるようにAFB<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>、G<sub>2</sub>を添加することとした。この20ppb及び40ppb添加の試料を落花生及びアーモンドで作成し、新公定法による回収試験を行った。その結果を表1及び表2に示す。

新公定法は「アフラトキシンB<sub>1</sub>試験法」であることから、先ずB<sub>1</sub>について見てみると、20ppb添加落花生の平均回収率は97.17%、標準偏差0.88、変動係数4.54と良好な結果が得られた。落花生への40ppb添加、アーモンドへの20、40ppb添加試料に対する結果についても回収率、標準偏差、変動係数ともに良好な値となった。

今回用いたHPLC分析法では、トリフルオロ酢酸(TFA)による誘導化反応によりB<sub>1</sub>、G<sub>1</sub>については、蛍光強度を強くして検出しているが、表に見られるように落花生ではとても良い結果となった。一方、B<sub>2</sub>、G<sub>2</sub>については、回収率、標準偏差こそ良いものの、落花生の変動係数が11.58~13.92と10を超えるものもあり、新公定法でのバラツキが見られた。また、アーモンドに至っては、G<sub>1</sub>においても変動係数が15.34となっており、新公定法があくまでB<sub>1</sub>だけを評価する試験法であることを表す結果となった。

2. 種実の種類別添加回収試験

落花生、アーモンド等、計8種類の種実について、それぞれ添加回収を行った結果を表3に示す。

種実8種類の平均回収率が82.63%~92.08%と一見良い数値が得られているが、変動係数を調べると20以上であり、分析値のバラツキが大きいことが示されている。そこで、種類別ごとにしてみると、カシューナッツが34.75%~56.10%、ピスタチオが59.15%~78.75%でかなり低い結果となっており、他と同様にB<sub>1</sub>も回収率が低いことは問題と思われる。ちなみに、このカシューナッツとピスタチオを除いて計算してみると、表4の通り、非常に良好な結果となることから、種実類でも種別によって、同一試験を行っても、かなりバラツキが見られることがわかった。

表1 アフラトキシン添加回収試験結果(落花生)

		試 験 回 数						平均	標準偏差	回収率	変動係数
		1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	6回目				
20ppb添加											
B <sub>1</sub>	測定値	20.46	18.64	20.11	18.64	20.12	18.63	19.43	0.88	97.17	4.54
	回収率	102.30	93.20	100.55	93.20	100.60	93.15				
B <sub>2</sub>	測定値	15.65	18.40	14.78	19.33	18.68	19.79	17.77	2.06	88.86	11.58
	回収率	78.25	92.00	73.90	96.65	93.40	98.95				
G <sub>1</sub>	測定値	19.89	17.05	19.44	16.21	18.89	19.78	18.54	1.55	92.72	8.33
	回収率	99.45	85.25	97.20	81.05	94.45	98.90				
G <sub>2</sub>	測定値	17.09	19.24	17.18	18.37	19.66	18.63	18.36	1.05	91.81	5.73
	回収率	85.45	96.20	85.90	91.85	98.30	93.15				
40ppb添加											
B <sub>1</sub>	測定値	36.72	42.93	36.08	34.70	37.96	37.11	37.58	2.84	93.96	7.55
	回収率	91.80	107.33	90.20	86.75	94.90	92.78				
B <sub>2</sub>	測定値	34.13	41.64	37.04	33.45	36.06	35.31	36.27	2.93	90.68	8.08
	回収率	85.33	104.10	92.60	83.63	90.15	88.28				
G <sub>1</sub>	測定値	36.87	42.26	35.94	34.94	38.29	37.45	37.63	2.55	94.06	6.78
	回収率	92.18	105.65	89.85	87.35	95.73	93.63				
G <sub>2</sub>	測定値	35.58	26.08	36.85	33.89	40.71	34.91	34.67	4.83	86.68	13.92
	回収率	88.95	65.20	92.13	84.73	101.78	87.28				

表2 アフラトキシン添加回収試験結果 (アーモンド)

		試 験 回 数						平 均	標 準 偏 差	回 収 率	変 動 係 数
		1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	6回目				
20ppb添加											
B <sub>1</sub>	測定値	16.49	16.93	19.82	15.87	19.10	16.17	17.40	1.65	86.98	9.50
	回収率	82.45	84.65	99.10	79.35	95.50	80.85				
B <sub>2</sub>	測定値	15.12	17.57	18.37	14.49	17.25	16.91	16.62	1.50	83.09	9.02
	回収率	75.60	87.85	91.85	72.45	86.25	84.55				
G <sub>1</sub>	測定値	14.83	16.59	21.43	15.07	18.33	20.22	17.75	2.72	88.73	15.34
	回収率	74.15	82.95	107.15	75.35	91.65	101.10				
G <sub>2</sub>	測定値	15.36	19.04	20.23	15.33	20.85	15.81	17.77	2.56	88.85	14.40
	回収率	76.80	95.20	101.15	76.65	104.25	79.05				
40ppb添加											
B <sub>1</sub>	測定値	36.15	38.14	35.68	30.26	34.74	33.64	34.77	2.67	86.92	7.69
	回収率	90.38	95.35	89.20	75.65	86.85	84.10				
B <sub>2</sub>	測定値	32.77	33.86	35.36	28.16	32.92	30.28	32.23	2.59	80.56	8.04
	回収率	81.93	84.65	88.40	70.40	82.30	75.70				
G <sub>1</sub>	測定値	34.68	37.38	37.18	29.08	34.57	36.85	34.96	3.14	87.39	8.97
	回収率	86.70	93.45	92.95	72.70	86.43	92.13				
G <sub>2</sub>	測定値	32.77	24.45	37.72	28.61	37.06	34.03	32.44	5.11	81.10	15.74
	回収率	81.93	61.13	94.30	71.53	92.65	85.08				

表3 種実の種別による添加回収試験結果

種 別		20ppb添加				40ppb添加			
		B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>
落花生	測定値	19.05	18.79	18.40	18.97	37.58	36.27	37.63	34.67
	回収率	95.25	93.95	92.00	94.85	93.95	90.68	94.08	86.68
アーモンド	測定値	17.40	16.62	17.75	17.77	34.77	32.23	34.96	32.44
	回収率	87.00	83.10	88.75	88.85	86.93	80.58	87.40	81.10
カシューナッツ	測定値	7.21	6.95	10.70	8.81	21.04	19.23	22.44	20.60
	回収率	36.05	34.75	53.50	44.05	52.60	48.08	56.10	51.50
マカデミアナッツ	測定値	17.76	18.16	18.71	17.85	39.56	40.42	44.58	45.09
	回収率	88.80	90.80	93.55	89.25	98.90	101.05	111.45	112.73
クルミ	測定値	20.41	19.89	21.48	19.14	40.78	38.95	42.50	43.09
	回収率	102.05	99.45	107.40	95.70	101.95	97.38	106.25	107.73
松の実	測定値	20.06	20.44	22.05	20.44	43.07	42.03	44.85	45.82
	回収率	100.30	102.20	110.25	102.20	107.68	105.08	112.13	114.55
ひまわりの種	測定値	20.71	19.28	19.92	21.65	38.43	37.15	41.44	40.20
	回収率	103.55	96.40	99.60	108.25	96.08	92.88	103.60	100.50
ピスタチオ	測定値	13.48	12.08	15.75	13.58	25.24	23.66	26.26	23.82
	回収率	67.40	60.40	78.75	67.90	63.10	59.15	65.65	59.55
	平均値	17.01	16.53	18.10	17.28	35.06	33.74	36.83	35.72
	標準偏差	4.60	4.68	3.61	4.16	7.82	8.22	8.46	9.61
	平均回収率	85.05	82.63	90.48	86.38	87.65	84.36	92.08	89.29
	変動係数	27.03	28.33	19.95	24.10	22.30	24.36	22.96	26.90

\* 落花生及びアーモンドの測定値は、6回の平均値を使用。

表4 カシューナッツ及びピスタチオを除く添加回収試験結果

種 別	20ppb添加				40ppb添加			
	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>
平均濃度	19.23	18.86	19.72	19.30	39.03	37.84	40.99	40.22
標準偏差	1.40	1.36	1.74	1.51	2.84	3.46	3.95	5.56
平均回収率	96.16	94.32	98.59	96.52	97.58	94.60	102.48	100.55
変動係数	7.28	7.21	8.85	7.82	7.27	9.14	9.63	13.83

3. 抽出操作の差による影響

新公定法のAF抽出操作で、30分間振とう抽出と5分間ブレンダー抽出の二つの操作を併記しているが、いずれの操作においても同様な抽出率が見られるか否かを調べるため、カシューナッツ及びピスタチオを用いて比較検討した。カシューナッツの結果を表5に、また、ピスタチオの結果を表6に示す。

カシューナッツを30分間振とう抽出すると、ほとんどが回収率50%台と低い結果となった。これを5分間のブレンダー抽出で行うと、回収率が95.70%~106.68%と好結果が得られた。同様にピ

スタチオにおいても、30分間振とう抽出では、回収率50%前後であったものが、5分間のブレンダー抽出を行うと、回収率75.70%~82.35%と改善された。

この理由として、これらの種実は、粉碎すると均一化した粉体になり易いが、この粉体状の試料が30分間振とう抽出の中で2~5mm程度の粒状となってしまうため、粒状試料中に閉じ込められたアフラトキシンが十分に抽出されなくなるものと考えられる。

このことから、新公定法で試験する際、種実の種類毎に試験方法を精査し、きめの細かい操作指定が必要と思われる。

表5 抽出方法による添加回収試験結果(カシューナッツ)

抽出方法		20ppb添加				40ppb添加			
		B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>
30分間振とう	測定値	10.25	10.05	12.05	12.14	22.74	21.37	23.76	22.75
	回収率	51.25	50.25	60.25	60.70	56.85	53.43	59.40	56.88
5分間ブレンダー	測定値	19.49	19.14	20.09	21.31	42.67	39.08	41.07	39.89
	回収率	97.45	95.70	100.45	106.55	106.68	97.70	102.68	99.73

表6 抽出方法による添加回収試験結果(ピスタチオ)

抽出方法		20ppb添加				40ppb添加			
		B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>
30分間振とう	測定値	12.39	11.85	11.19	10.34	20.21	19.63	19.25	19.31
	回収率	61.95	59.25	55.95	51.70	50.53	49.08	48.13	48.28
5分間ブレンダー	測定値	16.47	15.46	15.79	15.14	31.52	30.43	31.70	31.26
	回収率	82.35	77.30	78.95	75.70	78.80	76.08	79.25	78.15

4. 多機能カラム精製における溶出率等の検討

夾雑物除去のための方法は、新公定法で MultiSep#228, AutoprepMF-A, ISOLUTE MULTIMODE<sup>TM</sup>, MycoSep#226, #228<sup>®</sup>などが紹介されており、他にも酸化マグネシウムを積層したミニカラム<sup>®</sup>や二次元HPLCによる確認試験法<sup>7)</sup>などが報告されている。今回は、昭和電工株式製の Autoprep MF-A1000を用い、ひまわりの種の初期溶離液1ml, 次の溶離液1ml, 更に次の溶離液1mlの精製状況等について検討した。その結果、得られたクロマトグラムを図1に示す。

図1のIからB<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>間に夾雑物ピークが見られる。このように初期溶離液に夾雑物ピークが見られる種実は、8種類の種実のうちひまわりの種のほか、アーモンドのG<sub>1</sub>, B<sub>1</sub>間に見られる。幸いこの2種の夾雑物ピークは、AFの各ピークと重ならず、また、その他の6種実には、溶媒ショック以外の夾雑物ピークと思われるピークが見られない。

次に、ひまわりの種での1mlを超えた溶離液のクロマトグラムを観察すると、図1のII, IIIの通り夾雑物ピークが多く、そして大きくなる傾向があることが確認された。落花生についても同様のクロマトグラムをとったが、初期溶離液から3ml溶離液までの間に夾雑物ピークは見られなかった。

5. 従来法との比較検討

落花生に20ppb及び40ppbとなるように添加し、従来法で回収試験を行った結果を表7に示す。従来法での回収率は67.75%~109.85%と多少のバラツキはあるものの、良好な結果が得られた。しかし、新公定法は、健康危害防止及び環境汚染防止の観点から改正され、結果としてクロロホルム等の有機溶剤使用の軽減が図られ、更に試験操作の簡素化が行われ、作業時間も軽減された中で、今回調べた種実類については、ほぼ従来法と同等の結果が得られている。その一方で、高度、かつ高価な機器等が必要となり、トータルの分析費用の増大化には疑問も残る。

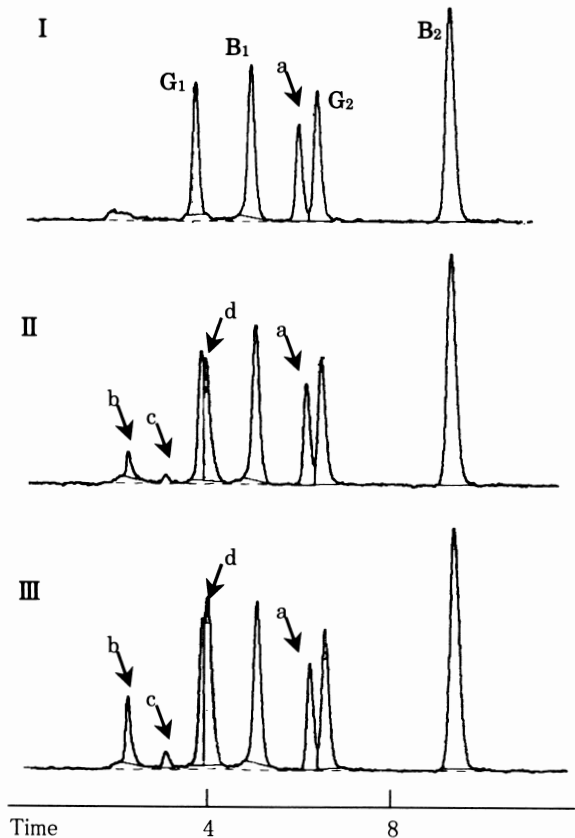


図1 ひまわりの種の夾雑物  
I: 多機能カラム初流1 ml中のクロマトグラム  
II: 多機能カラム1 ml ~ 2 ml中のクロマトグラム  
III: 多機能カラム1 ml ~ 3 ml中のクロマトグラム

表7 従来法による添加回収試験結果

種 別		20ppb添加				40ppb添加			
		B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>
落花生	測定値	15.34	20.54	15.70	15.16	41.50	27.10	34.16	43.94
	回収率	76.70	102.70	78.50	75.80	103.75	67.75	85.40	109.85

IV. まとめ

1. 落花生及びアーモンドについてのAFB<sub>1</sub>添加回収試験の繰り返し行った結果は、良好であった。また、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>、G<sub>2</sub>については、おおむね良好であったが、変動係数からみて新公定法で行う場合、更に試験法等の検討が必要である。
2. 8種類の種実類について、30分間の振とう抽出操作で試験を行った結果、カシューナッツ及びピスタチオの添加回収率が低く、B<sub>1</sub>でカシューナッツ36.05%、ピスタチオ67.40%、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>、G<sub>2</sub>もほぼ同様の結果となり、種類別により試験方法を検討する必要があることが示唆された。
3. カシューナッツ及びピスタチオについて、5分間ブレンダー抽出操作で試験をやり直した結果、添加回収率が改善された。30分間振とうの場合、試料の粉体が粒状化することにより、抽出が充分できないものと考えられた。このことから、食品の種類によって、新公定法においても操作方法等の詳細部分を適切に指定する必要がある。
4. 8種類の種実類のうち、アーモンドではG<sub>1</sub>、B<sub>1</sub>間に、ひまわりの種ではB<sub>1</sub>、G<sub>2</sub>間に夾雑物ピークが初期溶離液から見られる。また、ひまわりの種での1mlを超えた溶離液では、更に夾雑物ピークが多くなることが確認された。落花生では3mlまでの溶離液中に夾雑物ピークは見られなかった。
5. 従来法に比較し、新公定法は、その改正目的通り有機溶媒の使用が大幅に軽減されたと同時に、試験の簡素化、時間の短縮化が図られたが、同時に全体的な分析費用は増加した。

文 献

- 1) 厚生省環境衛生局食品衛生課長通知“カビ毒（アフラトキシン）を含有する食品の取り扱いについて”昭和46年3月16日、環食第128号（1971）。
- 2) Akiyama, H., Chen, D., Miyahara, M., Toyoda, M., Saito, Y., Simple HPLC determination of aflatoxins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub> in nuts and Corn. Shokuhin Eiseigaku

Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan), 37, 195-201 (1996).

- 3) Goda, Y., Akiyama, H., Otsuki, T., Fujii, A., Toyoda, M., Application and improvement of aflatoxin analysis in foods using a multifunctional column and HPLC. Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan), 42, 56-62 (2001).
- 4) 厚生労働省医薬品食品保健部監視安全課長通知“カビ毒（アフラトキシン）を含有する食品の取り扱いについて”平成14年3月26日、食環第0326001号（2002）。
- 5) 厚生省環境衛生局食品衛生課長通知“カビ毒（アフラトキシン）を含有する食品の取扱いについて”昭和56年9月14日、環食第204号（1981）。
- 6) Taguchi, S., Yoshida, S., Tanaka, Y., Hori, S., Rapid analysis of aflatoxins in raw peanuts, corn, buckwheat and red pepper by a new mini-column cleanup and HPLC using post-column photochemical derivatization system. Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan), 43, 202-207 (2002).
- 7) Onji, Y., Okayama, A., Yasumura, K., Tamaki, M., Two-dimensional liquid chromatographic separation of aflatoxins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub> in spices. Mycotoxins, 52, 115-121 (2002).
- 8) Goto, T., Marzuki, M.A., Daud, M.J., Oshibe, A., Nakamura, K., Nagashima, H., Simple analytical method for aflatoxin contamination in dried oil palm frond (OPF) and OPF base feed. Mycotoxins, 52, 123-128 (2002).
- 9) 厚生省生活衛生局食品保健課長通知“食品衛生検査施設等における検査等の業務の管理の実施について”平成9年4月1日、環食第117号（1997）。
- 10) Tanaka, T., Yoneda, A., Sugiura, Y., Inoue, S., Takino, M., Tanaka, A., Shinoda, A., Suzuki, H., Akiyama, H., Toyoda, M., An application of liquid chromatography and mass spectrometry for determination of aflatoxins. Mycotoxins, 52, 107-112 (2002).