

**技術レポート****4 愛がん動物用飼料（ウェット製品）中のアフラトキシン B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> 及び G<sub>2</sub> の液体クロマトグラフによる同時定量法の共同試験**野崎 友春<sup>\*1</sup>, 岩田 典子<sup>\*2</sup>Collaborative study of Determination of Aflatoxin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub> in Wet Type Pet Foods by LC-FLTomoharu NOZAKI<sup>\*1</sup> and Noriko IWATA<sup>\*2</sup><sup>\*1</sup>Food and Agricultural Materials Inspection Center, Nagoya Regional Center  
(Now Fertilizer and Feed Inspection Department),<sup>\*2</sup> Food and Agricultural Materials Inspection Center, Nagoya Regional Center)**1 緒 言**

アフラトキシンは、かび毒の一種で、*Aspergillus flavus* 及び *Aspergillus parasiticus* によって産生される有害な二次代謝産物である。これらの菌は東南アジア、インド、ブラジル等の熱帯及び亜熱帯地域や米国に広く分布しており、落花生や各種農産物にアフラトキシン汚染を起こしている。輸入食品、飼料で検出例が多い作物は、とうもろこし、ハトムギ等である<sup>1)</sup>。

アフラトキシンは遺伝毒性及び発がん性が認められている<sup>1)</sup>ことから、各国で基準が定められており、我が国における食品中の規制<sup>2)</sup>は、総アフラトキシンが 10 µg/kg 以下とされている。飼料中の指導基準<sup>3)</sup>はアフラトキシン B<sub>1</sub> が幼齢期用配合飼料で 0.01 mg/kg 以下、その他の配合飼料で 0.02 mg/kg 以下とされている。今般設定された愛がん動物用飼料（以下「ペットフード」という。）中の成分規格<sup>4)</sup>は水分含有量 10% に換算したものに対して 0.02 mg/kg 以下とされた。なお、諸外国の飼料の基準は米国で総アフラトキシンとして 20 µg/kg 以下<sup>5)</sup>、EU ではアフラトキシン B<sub>1</sub> として 10 µg/kg 以下<sup>6)</sup>となっている。

現在、愛がん動物用飼料等の検査法<sup>7)</sup>に記載されている、アフラトキシンの分析法は適用範囲がドライ及びセミドライ製品であり、ウェット製品を適用範囲とする分析法は記載されていない。今回、平成 21 年度に（財）日本食品分析センターが検討したウェット製品を対象とするアフラトキシン B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> 及び G<sub>2</sub> の液体クロマトグラフによる同時分析法<sup>8)</sup>が、愛がん動物用飼料等の検査法として適用可能と考えられたことから、妥当性確認の補足として共同試験を実施したので、その概要を報告する。

**2 実験方法****2.1 試 料**

愛がん動物用飼料犬用ウェット製品及び猫用ウェット製品をフードプロセッサで粉碎して供試試料として用いた。

<sup>\*1</sup> 独立行政法人農林水産消費安全技術センター名古屋センター，現 同肥飼料安全検査部，

<sup>\*2</sup> 独立行政法人農林水産消費安全技術センター名古屋センター

なお、それぞれに表示されていた原材料を Table 1 に示した。

Table 1 Ingredients list of the pet foods

Pet food types	Ingredients
Wet type for puppy and mother dog	Chicken , Corn , Barley , Soybean , Pork , Minerals(Na , P , Cl , Ca , P , Fe , Cu , Zn , I , Mn , Se) , Vitamins(B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , B <sub>6</sub> , B <sub>12</sub> , D <sub>3</sub> , E , Niacin , Pantothenic acid , Folic acid , Biotin , Choline) , Coloring agent(Iron oxide)
Wet type for adult cat	Pork liver , Pork , Chicken , Corn , Wheat , Corn starch , Cellulose , Animal fat , Chicken extract , Rice , Yeast , Vitamins , Amino acids(Taurine , Methionine) , Coloring agent(Caramel) , Thickening polysaccharide

## 2.2 試 薬

### 1) アフラトキシシン B<sub>1</sub> 標準液

アフラトキシシン B<sub>1</sub> (C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>) 標準品 (Acros organics 製, 純度 99.5%) が正確に 10 mg 入ったバイアルにアセトニトリル 2 mL を正確に加えて溶かし, アフラトキシシン B<sub>1</sub> 標準原液を調製した (この液 1 mL は, アフラトキシシン B<sub>1</sub> として 5 mg を含有 ( $f=0.995$ )) .

### 2) アフラトキシシン B<sub>2</sub> 標準液

アフラトキシシン B<sub>2</sub> (C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>) 標準品 (Acros organics 製, 純度 98.5%) が正確に 1 mg 入ったバイアルにアセトニトリル 2 mL を正確に加えて溶かし, アフラトキシシン B<sub>2</sub> 標準原液を調製した (この液 1 mL は, アフラトキシシン B<sub>2</sub> として 0.5 mg を含有 ( $f=0.985$ )) .

### 3) アフラトキシシン G<sub>1</sub> 標準液

アフラトキシシン G<sub>1</sub> (C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>O<sub>7</sub>) 標準品 (Acros organics 製, 純度 99.0%) が正確に 1 mg 入ったバイアルにアセトニトリル 2 mL を正確に加えて溶かし, アフラトキシシン G<sub>1</sub> 標準原液を調製した (この液 1 mL は, アフラトキシシン G<sub>1</sub> として 0.5 mg を含有 ( $f=0.990$ )) .

### 4) アフラトキシシン G<sub>2</sub> 標準液

アフラトキシシン G<sub>2</sub> (C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O<sub>7</sub>) 標準品 (Acros organics 製, 純度 98.7%) が正確に 1 mg 入ったバイアルにアセトニトリル 2 mL を正確に加えて溶かし, アフラトキシシン G<sub>2</sub> 標準原液を調製した (この液 1 mL は, アフラトキシシン G<sub>2</sub> として 0.5 mg を含有 ( $f=0.987$ )) .

### 5) 混合標準液

使用に際して, 各アフラトキシシン標準原液の一定量を正確にとり, アセトニトリルで正確に希釈し, 1 mL に各アフラトキシシンとしてそれぞれ 50 ng を含有する各混合標準液を調製した.

### 6) リン酸緩衝生理食塩水 (PBS)

リン酸緩衝生理食塩水錠剤 (和光純薬製 PBS Tablet) 2 個を 200 mL の全量フラスコに入れ, 水約 150 mL を加え, 超音波洗浄機を用いて溶解した. 更に標線まで水を加え混合し, リン酸緩衝生理食塩水を調整した.

### 7) トリフルオロ酢酸

シグマ アルドリッチ製 ReagentPlus, 99%

- 8) アセトニトリルは液体クロマトグラフ分析用試薬を用いた。特記している以外の試薬については特級を用いた。

### 2.3 装置及び器具

- 1) 液体クロマトグラフ装置：日本分光製 LC-2000 Series
- 2) 振とう機：タイテック製 レシプロシェーカー SR-2W
- 3) ロータリーエバポレーター：BÜCHI 製 R-200
- 4) 遠心分離器：久保田商事製 5200
- 5) イムノアフィニティーカラム（IAC）：堀場製作所製 AFLAKING
- 6) 超遠心分離器：コクサン製 H-51
- 7) ガラス繊維濾紙：Whatman 製 934AH

### 2.4 定量方法

#### 1) 抽出

分析試料 50.0 g を量って 300 mL の褐色共栓三角フラスコに入れ、アセトニトリル-水 (9+1) 70 mL を加え、15 分間振り混ぜて抽出した後 5 分間静置した。抽出液を 100 mL の共栓遠心沈殿管に入れ、1,600×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液を 200 mL の全量フラスコに入れた。共栓遠心沈殿管をアセトニトリル-水 (9+1) 35 mL ずつで 2 回洗浄し、洗液を順次先の褐色共栓三角フラスコに移し、同様に 15 分間振り混ぜて抽出した。抽出液を先の共栓遠心沈殿管に入れ、1,600×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液を先の全量フラスコに加え、更に標線までアセトニトリル-水 (9+1) を加えた。この液 5 mL を 25 mL の全量フラスコに正確に入れ、標線まで PBS を加えた後、ガラス繊維ろ紙でろ過し、ろ液をカラム処理に供する試料溶液とした。

#### 2) カラム処理

イムノアフィニティーカラム内の保存液を液面が充てん剤の上端に達するまで流出させた後、PBS 6 mL を加え、同様に流出させた。カラムにリザーバーを連結し、試料溶液 10 mL を正確に加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させた。PBS 10 mL を加え、同様に流出させた。更に水 10 mL を加え、同様に流出させた後、圧注して全量を流出させた。50 mL のなし形フラスコをカラムの下に置き、アセトニトリル 1 mL をカラムに加えて各アフラトキシンを溶出させた後、5 分間静置した。更にアセトニトリル 2 mL を加え、アフラトキシンを溶出させた後、圧注して全量を溶出させ、誘導体化反応に供する試料溶液とした。

#### 3) 誘導体化

試料溶液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固した。残留物にトリフルオロ酢酸 0.1 mL を正確に加え、なし形フラスコを密栓し、振り混ぜた後 15 分間静置し、更に水-アセトニトリル (9+1) 0.9 mL を先のなし形フラスコに正確に加えて振り混ぜた。この液を 5,000×g (10,000 rpm) で 5 分間遠心分離し、上澄み液を液体クロマトグラフィーに供する試料溶液とした。

同時に、混合標準液 10~400 µL の間の数点をそれぞれ 50 mL のなし形フラスコに正確に入れ、窒素ガスを送って乾固した後、トリフルオロ酢酸 0.1 mL を正確に加えた。以下、試料溶液と同様に操作し、1 mL 中にアフラトキシン B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>及び G<sub>2</sub>としてそれぞれ 0.5~20 ng 相当量を含む各標準液を調製した。

## 4) 液体クロマトグラフィー

試料溶液及び各混合標準液各 20  $\mu$ L を液体クロマトグラフに注入し、Table 2 の測定条件に従ってクロマトグラムを得た。

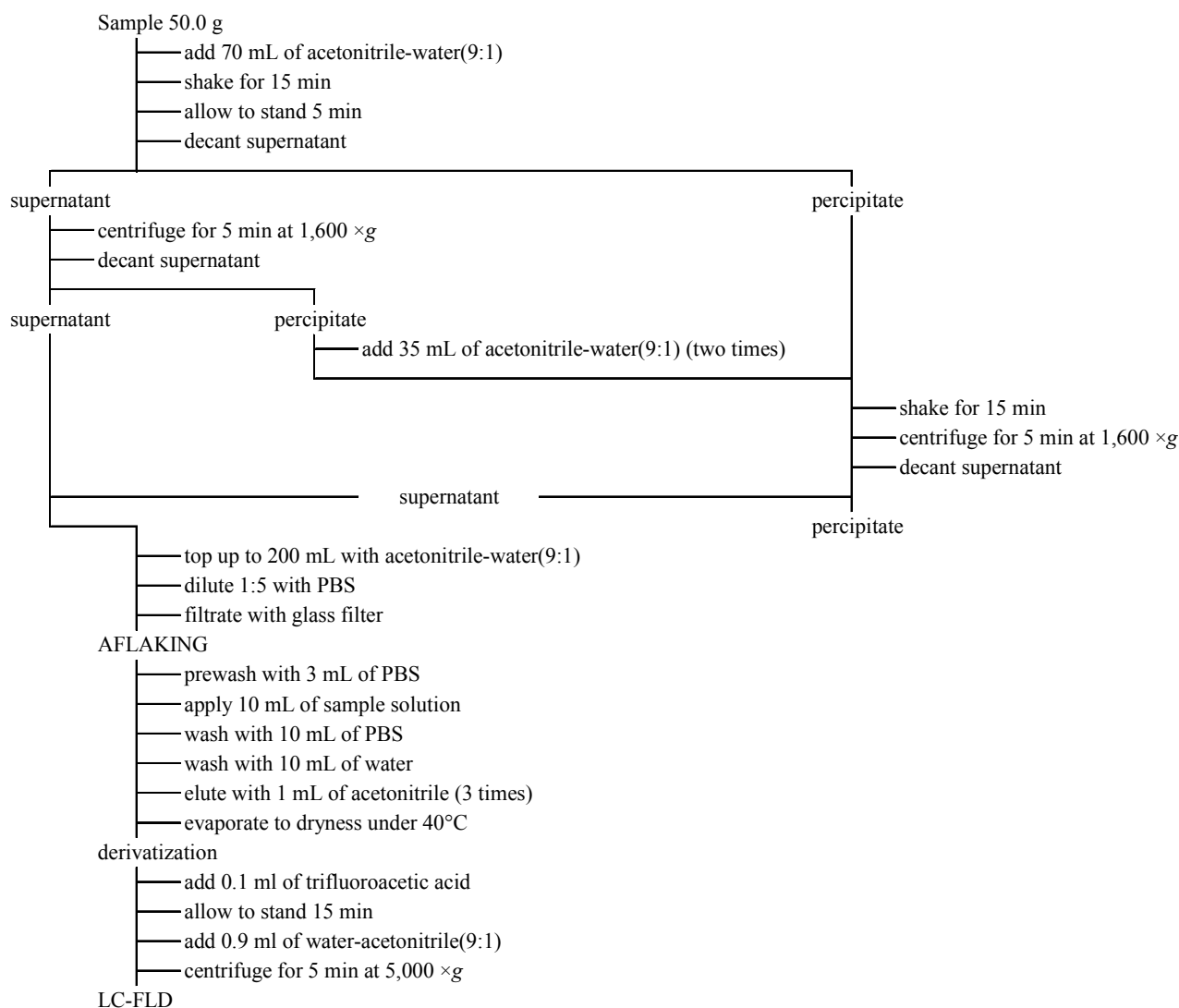
Table 2 Operating conditions of LC for analyzing aflatoxines

Column	Kanto Chemical mightysil RP-18(4.6 mm i.d.×250 mm, 5 $\mu$ m)
Mobile phase	water-methanol (3:2)
Detector	Fluorescence detector (Ex: 365 nm, Em 450 nm)
Flow rate	0.8 mL/min
Column temperature	40 °C

## 5) 計 算

得られたクロマトグラムからピーク高さ又は面積を求めて検量線を作成し、試料中の各アフラトキシン量を算出した。

なお、定量法の概要を Scheme 1 に示した。



Scheme 1 Analytical procedure for aflatoxines in wet type pet foods

### 3 結果及び考察

#### 3.1 共同試験

本法の室間再現精度を調査するため、共通試料による共同試験を実施した。

市販の愛がん動物用飼料（ウェット製品）2 種類（犬用及び猫用）に各アフラトキシンとしてそれぞれ 2.0 µg/kg 相当量を添加した共通試料を用い、株式会社日清製粉グループ本社 QE センター、日本ハム株式会社中央研究所、財団法人日本食品分析センター多摩研究所、財団法人マイコトキシン検査協会、独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部、同札幌センター、同仙台センター、同名古屋センター、同神戸センター及び同福岡センターの 10 試験室で共同試験を実施した。

アフラトキシン B<sub>1</sub> での結果を Table 3 に示した。犬用ウェット製品では、平均回収率は 84.0 %、その室内繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ相対標準偏差（RSD<sub>F</sub> 及び RSD<sub>R</sub>）として 4.8 % 及び 13 % であり、HorRat は 0.60 であった。猫用ウェット製品では、平均回収率は 86.8 %、その室内繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ RSD<sub>F</sub> 及び RSD<sub>R</sub> として 1.7 % 及び 12 % であり、HorRat は 0.53 であった。

アフラトキシン B<sub>2</sub> での結果を Table 4 に示した。犬用ウェット製品では、平均回収率は 84.0 %、その室内繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ RSD<sub>F</sub> 及び RSD<sub>R</sub> として 1.9 % 及び 12 % であり、HorRat は 0.54 であった。猫用ウェット製品では、平均回収率は 84.7 %、その室内繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ RSD<sub>F</sub> 及び RSD<sub>R</sub> として 1.8 % 及び 12 % であり、HorRat は 0.57 であった。

アフラトキシン G<sub>1</sub> での結果を Table 5 に示した。犬用ウェット製品では、平均回収率は 84.3 %、その室内繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ RSD<sub>F</sub> 及び RSD<sub>R</sub> として 4.9 % 及び 10 % であり、HorRat は 0.47 であった。猫用ウェット製品では、平均回収率は 87.4 %、その室内繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ RSD<sub>F</sub> 及び RSD<sub>R</sub> として 2.6 % 及び 9.5 % であり、HorRat は 0.43 であった。

アフラトキシン G<sub>2</sub> での結果を Table 6 に示した。犬用ウェット製品では、平均回収率は 84.3 %、その室内繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ RSD<sub>F</sub> 及び RSD<sub>R</sub> として 2.3 % 及び 8.2 % であり、HorRat は 0.37 であった。猫用ウェット製品では、平均回収率は 85.2 %、その室内繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ RSD<sub>F</sub> 及び RSD<sub>R</sub> として 1.5 % 及び 8.8 % であり、HorRat は 0.40 であった。

なお、参考のため、各試験室で使用した液体クロマトグラフの機種等を Table 7 に示した。

Table 3 Collaborative study results of aflatoxin B<sub>1</sub>

Lab. No.	Pet food types			
	Wet type for puppy and mother dog ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		Wet type for adult cat ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	
1	1.77	1.76	1.73	1.76
2	1.47	1.41	1.75	1.77
3	1.27	1.44	1.36	1.44
4	1.65	1.63	1.72	1.73
5	1.78	1.82	1.80	1.85
6	2.12	2.03	2.17	2.11
7	1.62	1.63	1.61	1.61
8	1.89	1.63	1.71	1.74
9	1.46	1.51	1.56	1.52
10	1.91	1.79	1.89	1.88
Spiked level ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	2.00		2.00	
Mean value <sup>a)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	1.68		1.74	
Recovery <sup>a)</sup> (%)	84.0		86.8	
RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	4.8		1.7	
RSD <sub>R</sub> <sup>c)</sup> (%)	13		12	
PRSD <sub>R</sub> <sup>d)</sup> (%)	22		22	
HorRat	0.60		0.53	

a)  $n=20$

b) Relative standard deviations of repeatability within laboratory

c) Relative standard deviations of reproducibility between laboratories

d) Predicted relative standard deviations of reproducibility between laboratories calculated from the modified Horwitz equation

Table 4 Collaborative study results of aflatoxin B<sub>2</sub>

Lab. No.	Pet food types			
	Wet type for puppy and mother dog		Wet type for adult cat	
	(µg/kg)		(µg/kg)	
1	1.61	1.60	1.56	1.62
2	1.55	1.54	1.75	1.69
3	1.44	1.42	1.32	1.38
4	1.60	1.62	1.69	1.70
5	1.76	1.78	1.80	1.83
6	2.11	2.06	2.14	2.09
7	1.58	1.59	1.55	1.52
8	1.75	1.70	1.70	1.72
9	1.54	1.51	1.52	1.57
10	1.97	1.86	1.87	1.85
Spiked level (µg/kg)	2.00		2.00	
Mean value <sup>a)</sup> (µg/kg)	1.68		1.69	
Recovery <sup>a)</sup> (%)	84.0		84.7	
RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	1.9		1.8	
RSD <sub>R</sub> <sup>c)</sup> (%)	12		12	
PRSD <sub>R</sub> <sup>d)</sup> (%)	22		22	
HorRat	0.54		0.57	

a)  $n=20$ 

b) Relative standard deviations of repeatability within laboratory

c) Relative standard deviations of reproducibility between laboratories

d) Predicted relative standard deviations of reproducibility between laboratories calculated from the modified Horwitz equation

Table 5 Collaborative study results of aflatoxin G<sub>1</sub>

Lab. No.	Pet food types			
	Wet type for puppy and mother dog ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		Wet type for adult cat ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	
1	1.82	1.79	1.77	1.81
2	1.48	1.69	1.90	1.74
3	1.24	1.45	1.36	1.45
4	1.64	1.64	1.70	1.74
5	1.81	1.81	1.85	1.87
6	1.89	1.83	1.92	1.90
7	1.72	1.73	1.70	1.69
8	1.84	1.66	1.81	1.87
9	1.50	1.54	1.55	1.54
10	1.87	1.78	1.90	1.88
Spiked level ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	2.00		2.00	
Mean value <sup>a)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	1.69		1.75	
Recovery <sup>a)</sup> (%)	84.3		87.4	
RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	4.9		2.6	
RSD <sub>R</sub> <sup>c)</sup> (%)	10		9.5	
PRSD <sub>R</sub> <sup>d)</sup> (%)	22		22	
HorRat	0.47		0.43	

a)  $n=20$

b) Relative standard deviations of repeatability within laboratory

c) Relative standard deviations of reproducibility between laboratories

d) Predicted relative standard deviations of reproducibility between laboratories calculated from the modified Horwitz equation



Table 6 Collaborative study results of aflatoxin G<sub>2</sub>

Lab. No.	Pet food type			
	Wet type for puppy and mother dog		Wet type for adult cat	
	(µg/kg)		(µg/kg)	
1	1.69	1.69	1.68	1.70
2	1.58	1.66	1.76	1.76
3	1.50	1.46	1.38	1.45
4	1.66	1.66	1.74	1.74
5	1.79	1.82	1.86	1.87
6	1.83	1.79	1.85	1.81
7	1.72	1.72	1.67	1.66
8	1.64	1.55	1.67	1.59
9	1.52	1.57	1.55	1.55
10	1.98	1.88	1.91	1.89
Spiked level (µg/kg)	2.00		2.00	
Mean value <sup>a)</sup> (µg/kg)	1.69		1.70	
Recovery <sup>a)</sup> (%)	84.3		85.2	
RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	2.3		1.5	
RSD <sub>R</sub> <sup>c)</sup> (%)	8.2		8.8	
PRSD <sub>R</sub> <sup>d)</sup> (%)	22		22	
HorRat	0.37		0.40	

a)  $n=20$ 

b) Relative standard deviations of repeatability within laboratory

c) Relative standard deviations of reproducibility between laboratories

d) Predicted relative standard deviations of reproducibility between laboratories calculated from the modified Horwitz equation

Table 7 Instruments used in the collaborative study

Lab. No.	LC	LC column (i.d.×length, particle size)
1	Agilent Technologies 1100 Series	Kanto Chemical Mightysil RP-18GP (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)
2	Agilent Technologies 1100 Series	Kanto Chemical Mightysil RP-18GP (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)
3	Shimadzu, Pump LC-10AD Detector RF-20A XS	GL Science Inertsil ODS-3 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)
4	Agilent Technologies 1100 Series	Showa Denko Shodex C18M4E (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)
5	Hitachi Lachrom Series	GL Science Inertsil ODS-3 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)
6	Waters, Pump 1517 Detector 2475	Kanto Chemical Mightysil RP-18GP (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)
7	Hitachi L-2000 Series	Kanto Chemical Mightysil RP-18GP (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)
8	Agilent Technologies 1100 Series	Kanto Chemical Mightysil RP-18GP (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)
9	Agilent Technologies 1100 Series	Kanto Chemical Mightysil RP-18GP (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)
10	Shimadzu, Pump LC-20AD Detector RF-20A XS	Kanto Chemical Mightysil RP-18GP (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)

#### 4 まとめ

愛がん動物用飼料（ウェット製品）中のアフラトキシンについて、分析センター法の愛がん動物用飼料等の検査法への適用の可否を検討するため、妥当性確認の補足として共同試験を実施したところ、次の結果を得た。

- 1) 愛がん動物用飼料（ウェット製品）2種類にアフラトキシンとしてそれぞれ 2.0 μg/kg 相当量を添加した共通試料を用いて 10 試験室で本法による共同試験を実施した。アフラトキシン B<sub>1</sub>において、犬用ウェット製品では、平均回収率は 84.0 %、その室内繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ相対標準偏差（RSD<sub>f</sub>及び RSD<sub>R</sub>）として 4.8 %及び 13 %であり、HorRat は 0.60 であった。猫用ウェット製品では、平均回収率は 86.8 %、その室内繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ RSD<sub>f</sub>及び RSD<sub>R</sub>として 1.7 %及び 12 %であり、HorRat は 0.53 であった。アフラトキシン B<sub>2</sub>において、犬用ウェット製品では、平均回収率は 84.0 %、その室内繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ RSD<sub>f</sub>及び RSD<sub>R</sub>として 1.9 %及び 12 %であり、HorRat は 0.54 であった。猫用ウェット製品では、平均回収率は 84.7 %、その室内繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ RSD<sub>f</sub>及び RSD<sub>R</sub>として 1.8 %及び 12 %であり、HorRat は 0.57 であった。アフラトキシン G<sub>1</sub>において、犬用ウェット製品では、平均回収率は 84.3 %、その室内繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ RSD<sub>f</sub>及び RSD<sub>R</sub>として 4.9 %及び 10 %であり、HorRat は 0.47 であった。猫用ウェット製品では、平均回収率は 87.4 %、その室内繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ RSD<sub>f</sub>及び RSD<sub>R</sub>として 2.6 %及

び 9.5 % であり、HorRat は 0.43 であった。アフラトキシン G<sub>2</sub> において、犬用ウェット製品では、平均回収率は 84.3 %、その室内繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ RSD<sub>r</sub> 及び RSD<sub>R</sub> として 2.3 % 及び 8.2 % であり、HorRat は 0.37 であった。猫用ウェット製品では、平均回収率は 85.2 %、その室内繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ RSD<sub>r</sub> 及び RSD<sub>R</sub> として 1.5 % 及び 8.8 % であり、HorRat は 0.40 であった。

## 謝 辞

共同試験にご協力いただいた株式会社日清製粉グループ本社 QE センター、日本ハム株式会社中央研究所、財団法人日本食品分析センター多摩研究所及び財団法人マイコトキシン検査協会の試験室の各位に感謝の意を表します。

## 文 献

- 1) 食品安全委員会：カビ毒評価書 総アフラトキシン（アフラトキシン B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>），平成 21 年 3 月 19 日府食第 261 号(2009).
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：アフラトキシンを含有する食品の取扱いについて，平成 23 年 3 月 31 日，食安発 0331 第 5 号 (2011).
- 3) 農林水産省畜産局長通達：飼料の有害物質の指導基準について，昭和 63 年 10 月 14 日，63 畜 B 第 2050 号 (1988).
- 4) 農林水産省令・環境省令：愛がん動物用飼料の成分規格等に関する省令，平成 21 年 4 月 28 日，第 1 号 (2009).
- 5) FDA：CPG Sec. 555.400 Foods - Adulteration with Aflatoxin, Compliance Policy Guides , 1980/10/1, (1980).
- 6) THE EUROPEAN PARLIAMENT AND THE COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION : on undesirable substances in animal feed, DIRECTIVE 2002/32/EC OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND THE COUNCIL, 2002/5/7, (2002)
- 7) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター理事長通知：「愛がん動物用飼料等の検査法」制定について，平成 21 年 9 月 1 日，21 消技第 1764 号，(2009)
- 8) 財団法人日本食品分析センター：平成 21 年度 愛がん動物用飼料安全確保調査等委託事業 ペットフード中の有害物質の分析法の開発，(2010).