

3 愛玩動物用飼料のジャーキー、菓子類及び粉ミルク中のオクラトキシン A の液体クロマトグラフによる分析法の検討

船木 紀夫*, 野村 哲也*, 仲谷 琢実*

Study of Ochratoxin A Determination Method in Jerky, Confectionery and Milk Powder for Pet Food by LC

FUNAKI Norio*, NOMURA Tetsuya* and NAKATANI Takumi*

(* Kobe Regional Center, Food and Agricultural Materials Inspection Center)

A quantitative determination method using a liquid chromatograph with a fluorescence detector (LC-FD) was studied to determine the concentration of ochratoxin A in pet food products such as molded and dried jerky (hard and soft types), confectionery, and milk powder.

Initial analytical methods examined did not yield satisfactory results for jerky made from pork liver and milk powder. Therefore, appropriate analytical methods were found for each of the samples by changing the sample volume, extraction solvent, and extraction methods.

Key words: ochratoxin A; jerky; confectionery; milk powder; pet food; liquid chromatograph with fluorescence detector (LC-FD)

キーワード: オクラトキシン A ; ジャーキー ; 菓子類 ; 粉ミルク ; ペットフード ; 液体クロマトグラフ

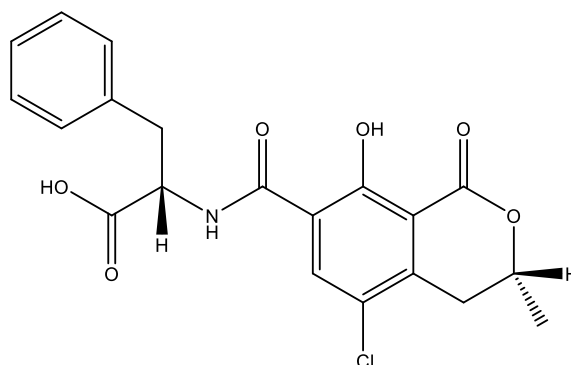
1 緒 言

オクラトキシン A は *Aspergillus* 属及び *Penicillium* 属の一部のかびが産生するかび毒で、穀類等から検出される。また、オクラトキシン A に汚染された飼料の摂取により、畜産物からも検出される。オクラトキシンの関連物質は 10 種類以上が知られているが、オクラトキシン A の汚染報告が最も多い¹⁾。動物試験ではオクラトキシン A に腎毒性及び発がん性が認められており、EU では基準値として、犬及び猫用のペットフードで 0.01 mg/kg が設定されている²⁾。我が国ではペットフードの基準値は設定されていないが、食品において基準値の設定が検討されている。

愛玩動物用飼料等の検査法に収載されているオクラトキシン A の分析法³⁾は、適用対象をドライ製品、セミドライ製品及びウェット製品に限定しており、スナック類への適用拡大に係る妥当性確認では、回収率の低下等が認められている⁴⁾。このため、平成 27 年の農林水産省の委託事業において、一般財団法人日本冷凍食品検査協会（現：日本食品検査）が開発した分析法⁵⁾（以下「冷食検法」という。）を基に、愛玩動物用飼料のジャーキー、菓子類及び粉ミルク中のオクラトキシン A の液体クロマトグラフ（以下「LC」という。）による分析法について、愛玩動物用飼料等の検査法への収載の可否を検討したので、その概要を報告する。

参考におクラトキシン A の構造式等を Fig. 1 に示した。

* 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター



Ochratoxin A

N-[[*(3R)*-5-Chloro-3,4-dihydro-8-hydroxy-3-methyl-1-oxo-1*H*-2-benzopyran-7-yl]carbonyl]-L-phenylalanine

C₂₀H₁₈ClNO₆ MW: 403.82 CAS No.: 303-47-9

Fig. 1 Chemical structure of ochratoxin A

2 実験方法

2.1 試料

成型ジャーキー、素材乾燥ジャーキー（ハードタイプ及びソフトタイプ）並びに菓子類はそれぞれ回転刃による粉砕機で粉砕し、目開き 1 mm のふるいを通し、分析用試料とした。粉ミルクは直接目開き 1 mm のふるいを通し、分析用試料とした。なお、検討に用いた愛玩動物用飼料を Table 1 に示した。

Table 1 Compositions of the pet food

Pet food types	Ingredients
Formed jerky for dogs	Meat (beef, chicken), cornstarch, defatted soybeans, D-sorbitol, glycerin, fragrance, sodium lactate, pH adjuster, seasoning, phosphate (Na, K), antioxidants (extracted vitamin E, sodium vitamin C), coloring agent (sodium nitrite)
Dried jerky for dogs (hard type) 1	Ezo deer thigh meat
Dried jerky for dogs (hard type) 2	Pork liver
Dried jerky for dogs (soft type)	Chicken breast, salt, moisturizer (glycerin), antioxidant (propylene glycol), color former (sodium nitrite)
Confectionery (biscuit) for dogs	Flour, sugar, vegetable oil, tapioca starch, milk (milk powder, high fructose condensed milk), chicory extract (contains dietary fiber and oligosaccharides), lactic acid bacteria, minerals (Ca, Na), leavening agent, flavor, emulsifier, yucca extract, antioxidant (vitamin E)
Milk powder for cats	Milk (casein, skim milk powder, whey protein), fats and oils (animal oils, vegetable oils), lactose, egg yolk powder, docosahexaenoic acid powder, dry yeast, milk oligosaccharides, minerals (Ca, P, K, Na, Cl, Mg, Fe, Cu and Zn), emulsifier, vitamins (A, D, E, B ₁ , B ₂ , B ₆ , B ₁₂ , C, niacin, pantothenic acid, folic acid, β-carotene), amino acids (L-arginine, L-cystine, taurine), flavorings, nucleotides

2.2 試 薬

- 1) トルエン、酢酸エチル、ヘキサン及び無水硫酸ナトリウムは残留農薬・PCB 試験用を用いた。メタノールは液体クロマトグラフ用（富士フイルム和光純薬製）を用いた。アセトニトリルは残留農薬・PCB 試験用（前処理に使用）又は液体クロマトグラフ用（溶離液に使用）（ともに富士フイルム和光純薬製）を用いた。リン酸緩衝生理食塩水（以下「PBS」という。）はタブレット（シグマアルドリッチ製）を用いて調製した。無水炭酸ナトリウムは試薬特級（質量分率 99.8 %），塩化ナトリウムは試薬特級（質量分率 99.5 %），酢酸は試薬特級（質量分率 98 %），リン酸は試薬特級（質量分率 85 %），塩酸は試薬特級（質量分率 35~37 %）を用いた。酢酸アンモニウムは高速液体クロマトグラフ用 1 mol/L 水溶液（富士フイルム和光純薬製）を用いた。水は Milli-Q Advantage（Merck Millipore 製）により精製した超純水（JIS K 0211 の 5218 に定義された超純水）を用いた。

- 2) オクラトキシン A 標準液

オクラトキシン A 標準品（富士フイルム和光純薬製，純度 99.9 %）5 mg を量って 25 mL の全量フラスコに入れ，トルエン-酢酸（99+1）を加えて溶かし，更に標線までトルエン-酢酸（99+1）を加えてオクラトキシン A 標準原液を調製した（この液 1 mL は，オクラトキシン A として 0.2 mg を含有）。

使用に際して，オクラトキシン A 標準原液 1 mL を 20 mL の全量フラスコに正確に入れ，窒素ガスを送って乾固した。アセトニトリル-水（1+1）を加えて残留物を溶かし，更に標線までアセトニトリル-水（1+1）を加えて，1 mL 中にオクラトキシン A として 10 µg を含有する液を調製した。この液の一部を，アセトニトリル-水（1+1）で正確に希釈し，1 mL 中にオクラトキシン A として 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 及び 20 ng を含有する検量線作成用オクラトキシン A 標準液を調製した。

2.3 装置及び器具

- 1) 粉砕機：LM-2 岩谷産業製（使用時回転数 20000 rpm）
- 2) 振り混ぜ機：小型シェーカー MW-DRV 宮本理研工業製（使用時振動数 300 rpm）
- 3) ホモジナイザー：AM-7 日本精機製（使用時回転数 8000 又は 10000 rpm）
- 4) メンブランフィルター：HLC-DISK25（孔径 0.45 µm，直径 25 mm，親水性 PTFE） 関東化学製
- 5) ガラス製ろ紙：GF/A（孔径 1.6 µm，直径 90 mm） Whatman 製
- 6) イムノアフィニティークラム（以下「IAC」という。）：OCHRAKING 堀場製作所製
- 7) LC：Nexera X2 島津製作所製

2.4 定量方法

2.4.1 ジャーキー（豚レバーを原材料としたものを除く）及び菓子類（冷食検法）

- 1) 抽 出

分析試料 25 g を量って 500 mL の広口プラスチック容器（以下「PP 製容器」という。）に入れ，アセトニトリル-水（3+2）200 mL を加え，5 分間静置後，30 分間振り混ぜて抽出した。抽出した液を 15 mL のプラスチック製遠心沈殿管（以下「PP 製チューブ」という。）に入れ，2000×g で 5 分間遠心分離し，上澄み液をメンブランフィルター（孔径 0.45 µm）でろ過した。ろ液 4 mL を 50 mL の PP 製チューブに正確に入れ，PBS で約 10 mL に希釈し，カラム処理に

供する試料溶液とした。希釈時に濁りが見られた場合は、更に PBS を約 50 mL まで加えた後、ガラス製ろ紙でろ過し、ろ紙を少量の PBS で洗浄した洗液を合わせて、カラム処理に供する試料溶液とした。

2) カラム処理

IAC にストップコックを取り付け、保存液を液面が充てん剤の上端に達するまで自然流下させて保存液を流出させた。PBS 3 mL を IAC に入れて流出させ、更に PBS 3 mL を IAC に入れて 1~2 mL 流出させた。リザーバーを取り付け、試料溶液全量を IAC に入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流下（自然流下させ、必要に応じて流速が 1 mL/min 程度になるよう吸引または圧注した。以下同様。）させた。試料溶液の入っていた PP 製チューブを PBS 3 mL ずつで 3 回洗浄し、洗液を順次 IAC に加え、同様に流出させた。更に、試料溶液の入っていた PP 製チューブを 10 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液 3 mL ずつで 3 回洗浄し、洗液を順次 IAC に加え、同様に流出させた後リザーバーを外し、圧注して全量流出除去させた。15 mL の PP 製チューブをカラムの下に置き、メタノール-酢酸 (49+1) 1 mL を加えて液面が充てん剤の上端に達するまで流下してオクラトキシン A を溶出させた。5 分間静置し、更にメタノール-酢酸 (49+1) 1 mL ずつで 2 回溶出させた後、圧注して全量溶出させた。溶出液を 45 °C 以下の水浴上で窒素ガスを送って乾固し、アセトニトリル-水 (1+1) 1 mL を正確に加えて残留物を溶かし、5000×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液を不活性処理済みバイアルに移し、LC による測定に供する試料溶液とした。

3) 液体クロマトグラフィー

試料溶液及び各オクラトキシン A 標準液各 50 µL を LC に注入しクロマトグラムを得た。測定条件を Table 2 に示した。

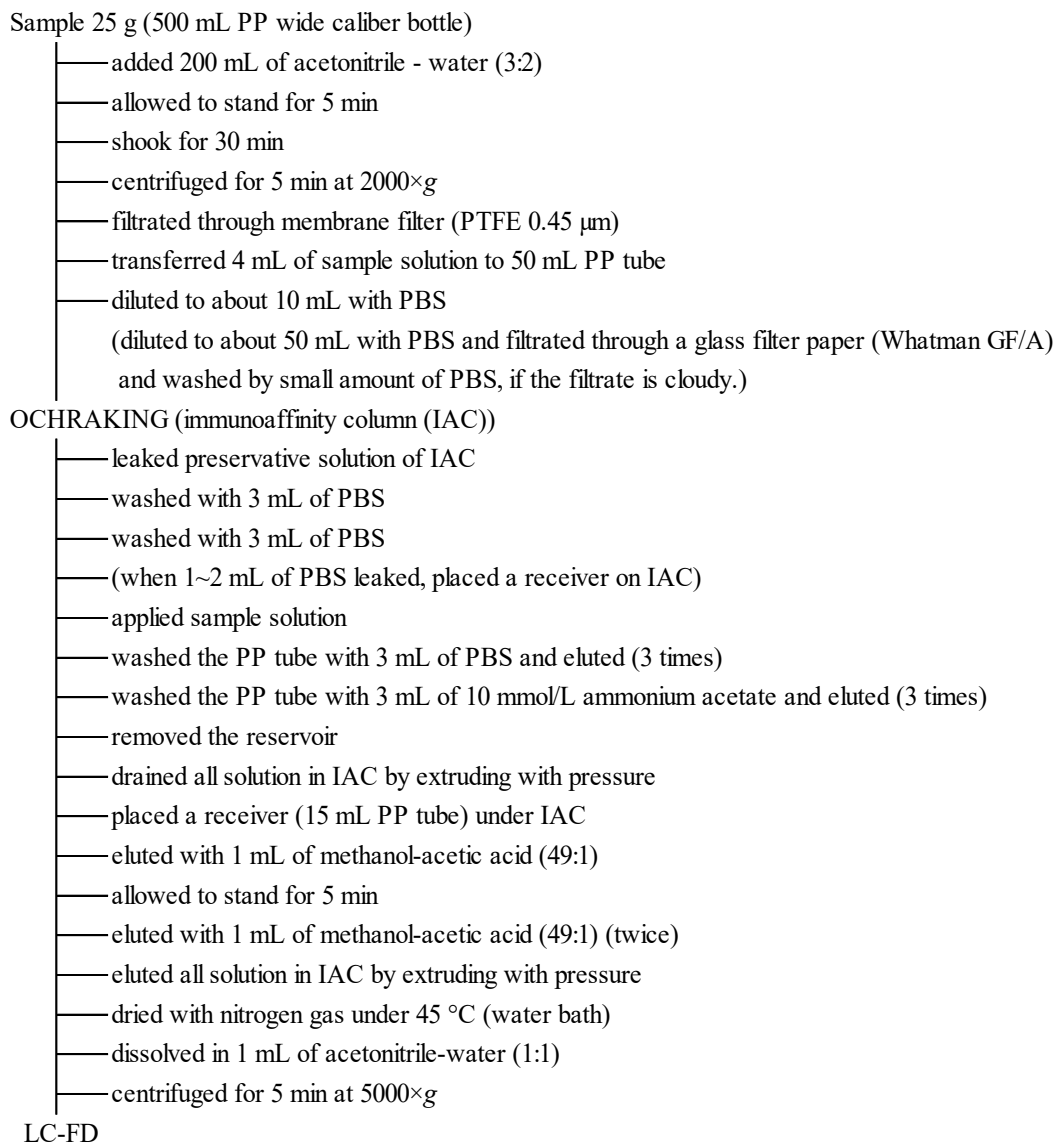
Table 2 Operating condition of LC

Detector	Fluorescence detector (excitation wavelength: 335 nm, fluorescence wavelength: 480 nm)
Column	Mightysil RB-18 (4.6 mm i.d, 250 mm, 5 µm), Kanto chemical
Mobile phase	Acetonitrile-water-1 % (v/v) phosphoric acid (230:230:1)
Flow rate	1.0 mL/min
Column temperature	40 °C

4) 計 算

得られたクロマトグラムからピーク面積及び高さを求めて検量線を作成し、試料中のオクラトキシン A 量を算出した。以下、3.1, 3.2 及び 3.3 はピーク面積での結果を記載した。

なお、定量法の概要を Scheme 1 に示した。



Scheme 1 Analytical procedure for ochratoxin A in jerky and confectionery for pet food except for ones made from pork liver

2.4.2 豚レバーを原材料としたジャーキー（以下「豚レバー分析法」という。）

1) 抽出

分析試料 5 g（又は 25 g）を量って 500 mL のステンレス製ホモジナイザー専用カップに入れ、0.5 mol/L リン酸-2 mol/L 塩化ナトリウム（4+1）100 mL を加え、5 分間静置後、更に酢酸エチル 100 mL を加え、10000 rpm で 5 分間ホモジナイズして抽出した。抽出した液を 50 mL の PP 製チューブに入れ、2000×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液の酢酸エチル層を液液分配 I に供する試料溶液とした。

2) 液液分配 I

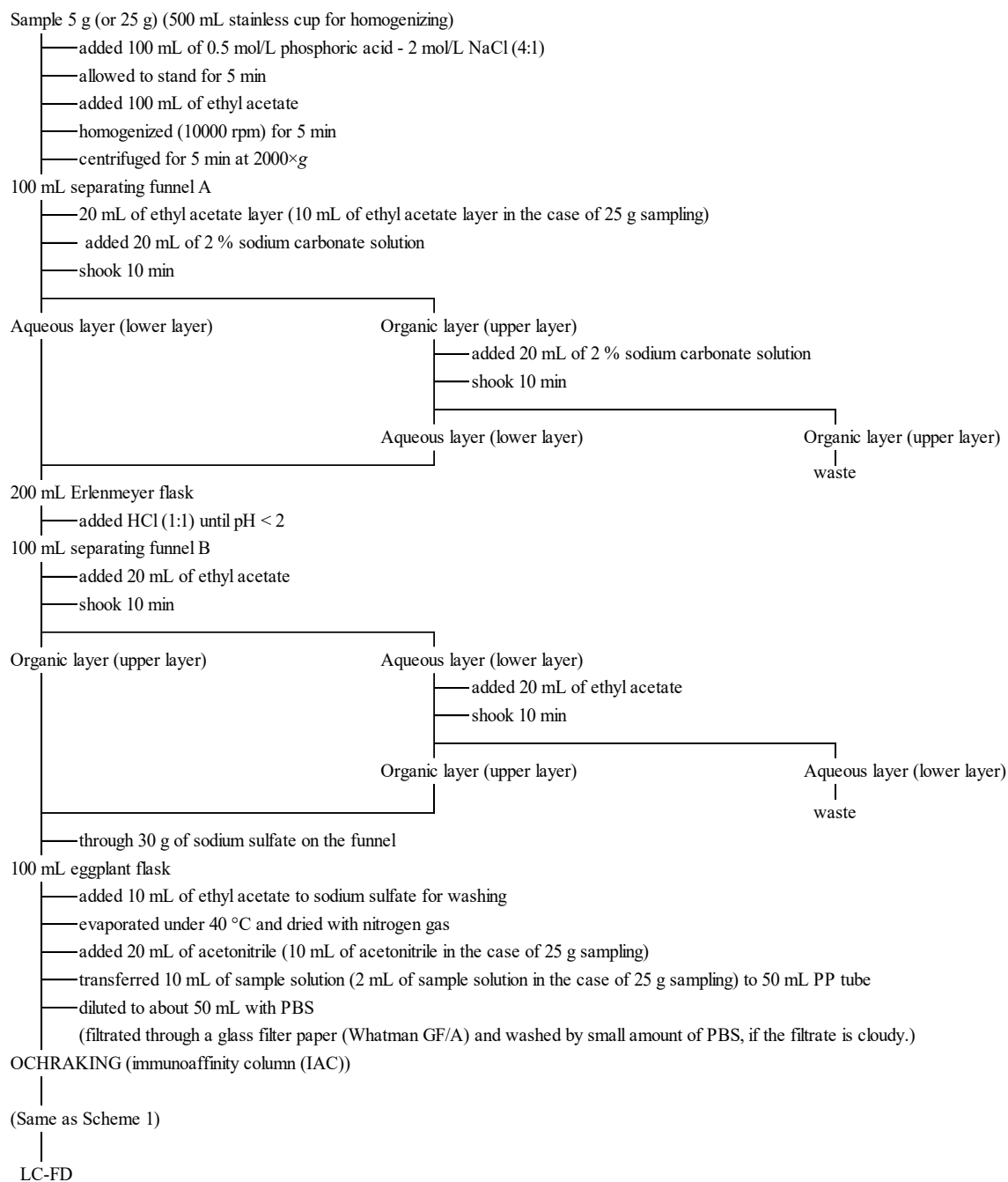
試料溶液 20 mL（25 g 採取時は 10 mL）をあらかじめ 2 %炭酸ナトリウム溶液 20 mL を入れた 100 mL の分液漏斗に正確に加え、10 分間振り混ぜた後静置し、水層（下層）を 200 mL の三角フラスコに移した。分液漏斗に 2 %炭酸ナトリウム溶液 20 mL を加えて 10 分間振り混ぜた後静置し、先の三角フラスコに水層（下層）を合わせ、酢酸エチル層（上層）は廃棄した。

水層に pH < 2 になるまで塩酸 (1+1) を加え、液液分配 II に供する試料溶液とした。

3) 液液分配 II

試料溶液を元の分液漏斗に戻し、試料溶液の入っていた三角フラスコを酢酸エチル 20 mL で洗浄して分液漏斗に加え、10 分間振り混ぜた後静置し、水層（下層）を元の三角フラスコに入れ、酢酸エチル層（上層）を無水硫酸ナトリウム 30 g を入れた漏斗に通して脱水させながら 100 mL なす型フラスコに移した。水層を分液漏斗に戻し、試料溶液の入っていた三角フラスコを酢酸エチル 20 mL で洗浄し、分液漏斗に加えて 10 分間振り混ぜた後静置し、同様の操作を行った。漏斗上の硫酸ナトリウムを酢酸エチル 10 mL で洗浄して洗液を先のなす型フラスコに移し、40 °C 以下の水浴で減圧濃縮し、窒素乾固後、アセトニトリル 20 mL (25 g 採取時は 10 mL) を正確に加えて残留物を溶かし、10 mL (同 2 mL) を正確にとって 50 mL の PP 製チューブに入れ、PBS で約 50 mL に希釈し、カラム処理に供する試料溶液とした。PBS での希釈時に濁りが見られた場合は、ガラス製ろ紙にてろ過した後、ろ紙を少量の PBS で洗浄し、洗液を合わせて、カラム処理に供する試料溶液とした。

以下、2.4.1 の 2) から 4) に従って定量を行った。なお、定量法の概要を Scheme 2 に示した。



Scheme 2 Analytical procedure for ochratoxin A in jerky for pet food made from pork liver

2.4.3 粉ミルク（以下「粉ミルク分析法」という．）

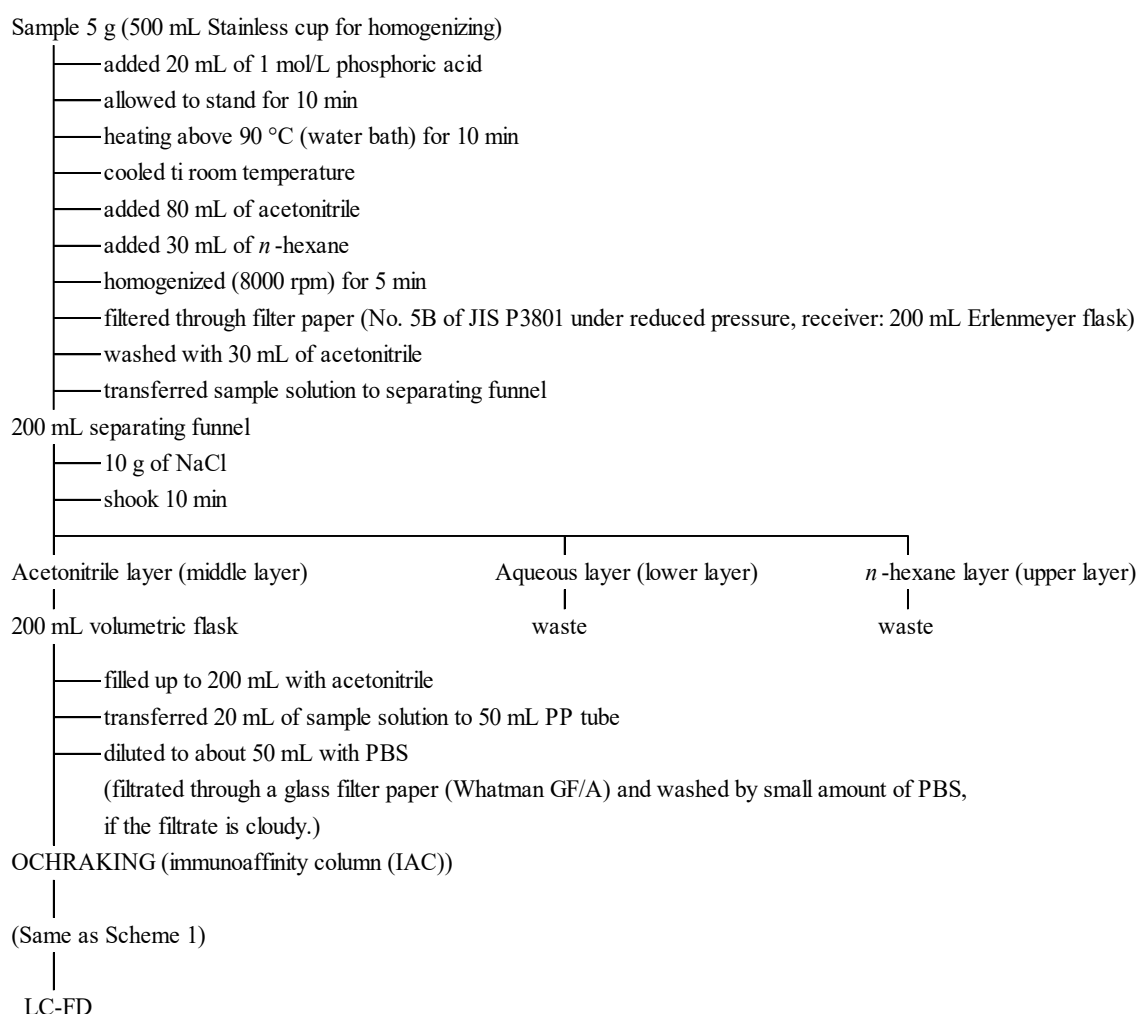
1) 抽出

分析試料 5 g を量って 500 mL のステンレス製ホモジナイザー専用カップに入れ、1 mol/L リン酸 20 mL を加え、10 分間静置後、90 °C 以上の水浴上で 10 分間加熱後、放冷した。アセトニトリル 80 mL 及びヘキサン 30 mL を加え、8000 rpm で 5 分間ホモジナイズして抽出した。200 mL の三角フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙（5 種 B）で吸引ろ過した後、残さをアセトニトリル 30 mL で洗浄し、洗液を合わせて、液液分配に供する試料溶液とした。

2) 液液分配

試料溶液をあらかじめ塩化ナトリウム 10 g を入れた 200 mL の分液漏斗に加え，試料溶液の入っていた三角フラスコをアセトニトリル 5 mL で洗浄し，洗液を試料溶液に合わせた．10 分間振り混ぜた後静置し，塩化ナトリウムを含む水層（下層）を抜いてからアセトニトリル層（中層）を 200 mL の全量フラスコに入れ，更にアセトニトリルで定容した．この液 20 mL を正確にとって 50 mL の PP 製チューブに入れ，PBS で約 50 mL に希釈し，カラム処理に供する試料溶液とした．PBS での希釈時に濁りが見られた場合は，ガラス製ろ紙でろ過し，ろ紙を少量の PBS で洗浄した洗液を合わせて，カラム処理に供する試料溶液とした．

以下，2.4.1 の 2) から 4) に従って定量を行った．なお，定量法の概要を Scheme 3 に示した．



Scheme 3 Analytical procedure for ochratoxin A in milk powder for pet food

2.5 添加回収試験

2.2 の 2) で調製した，1 mL 中にオクラトキシン A として 10 μ g を含有する液の一部を，アセトニトリル-水（1+1）で正確に希釈し添加に用いた．

愛玩動物用飼料のジャーキー，菓子類及び粉ミルクについて，オクラトキシン A としてそれぞれ 0.01 mg/kg 相当量（最終試料溶液中で 5 ng/mL）になるように添加してよく混合し，一夜静置した後本法に従って定量し，回収率を求めた．

3 結果及び考察

3.1 検量線

2.2 の 2)により調製した各検量線作成用オクラトキシン A 標準液 50 μL を LC に注入し、得られたクロマトグラムからピーク面積及び高さを用いて検量線を作成した。

得られた検量線の一例は Fig. 2 のとおりであり、各 0.25~20 ng/mL （注入量として 0.0125~1 ng 相当量）の範囲で直線性を示した。なお、当該検量線の濃度範囲は、オクラトキシン A を 0.0005~0.04 mg/kg 含有する分析用試料を本法（冷蔵検法、豚レバー分析法及び粉ミルク分析法）に従い調製した最終試料溶液中のオクラトキシン A 濃度範囲に相当する。

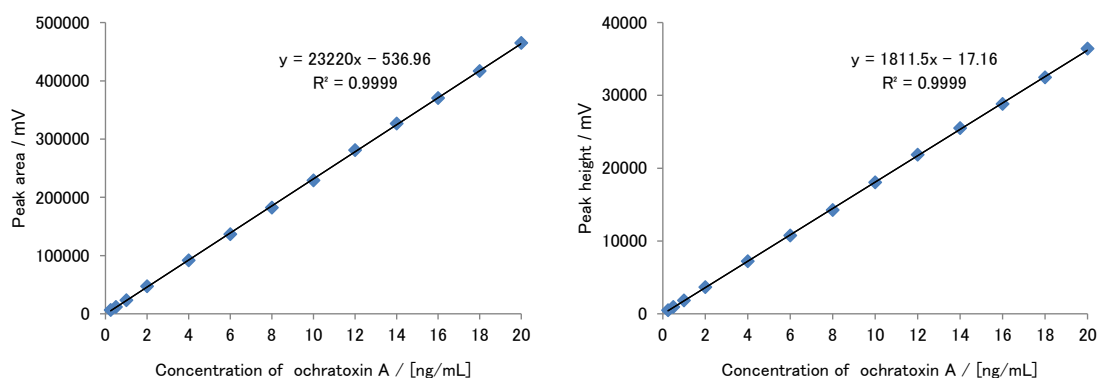


Fig. 2 Calibration curves of ochratoxin A by peak area (left) and peak height (right)

3.2 冷蔵検法による予備検討

成型ジャーキー、素材乾燥ジャーキー（ハードタイプ）1 及び 2、素材乾燥ジャーキー（ソフトタイプ）、菓子類及び粉ミルクについて、2.5 に従いオクラトキシン A 標準液を添加し、2.4.1 の冷蔵検法により添加回収試験を行った。その結果は Table 3 のとおりであり、素材乾燥ジャーキー（ハードタイプ）2 及び粉ミルクを除いた各試料について、愛玩動物用飼料等の試験法³⁾第 11 章試験法の妥当性確認法（以下「試験法の妥当性確認法」という。）に定められた真度の目標値（0.01 mg/kg では 60 %以上 115 %以下）を満たす良好な結果であった。良好な結果が得られなかった 2 試料について、オクラトキシン A 標準液を添加せずに IAC 工程前までの前処理を行い、その後にオクラトキシン A 標準液を添加したところ、回収率は Table 4 のとおり良好であったことから、IAC 工程までの抽出工程に問題があると考えられた。

Table 3 Recoveries for ochratoxin A (method for jerky for pet food except for ones made from pork liver)

Samples	Spiked level (mg/kg)	Recovery (%)
Formed jerky for dogs	0.01	82.7
Dried jerky for dogs (hard type) 1	0.01	83.0
Dried jerky for dogs (hard type) 2	0.01	38.2
Dried jerky for dogs (soft type)	0.01	81.8
Confectionery for dogs	0.01	76.5
Milk powder for cats	0.01	34.0

n = 1

Table 4 Recoveries for ochratoxin A spiked after the extraction step (method for jerky for pet food except for ones made from pork liver)

Samples	Spiked level (mg/kg)	Recovery (%)
Dried jerky for dogs (hard type) 2	0.01	85.5
Milk powder for cats	0.01	94.5

n = 1

3.3 抽出方法の検討 1：豚レバー分析法

豚のレバーにはオクラトキシン A の蓄積が認められることから⁶⁾、素材乾燥ジャーキー（ハードタイプ）2 のように、それを主原材料とするジャーキーについては、特に分析法の開発が求められているが、3.2 の結果で低回収率だったことから、冷食検法とは異なる分析法を検討することとした。Table 3 及び 4 の結果から、IAC 工程までの抽出工程に問題があると考えられたため、オクラトキシン A に係る他の抽出方法を調査したところ、オクラトキシン A を酸性条件下で有機溶媒により抽出し、一旦アルカリで逆抽出後、液性を酸性に戻してから再び有機溶媒で抽出する方法が報告されており^{1), 7)~9)}、抽出に用いる有機溶媒については、クロロホルム⁷⁾、酢酸エチル¹⁾又はクロロホルムと酢酸エチルの併用^{8), 9)}を用いた例があった。

そこで、鰹節を対象とした内山らの報告⁷⁾を基に、振り混ぜ抽出をホモジナイズ抽出に、有害性の高いクロロホルムを酢酸エチルにそれぞれ変更した。素材乾燥ジャーキー（ハードタイプ）2 について、2.5 に従いオクラトキシン A 標準液を添加し、2.4.2 の豚レバー分析法により添加回収試験を行った。なお、試料採取量を 25 g とした場合及び振り混ぜ抽出の場合も検討した。その結果、Table 5 のとおり、試料採取量 5 g 及びホモジナイズ抽出の場合が最も良好な結果となった。

Table 5 Recoveries for ochratoxin A (method for jerky for pet food made from pork liver)

Extraction method	Spiked level (mg/kg)	Amount of sampling (g)	Recovery (%)
Shaking	0.01	5	43.4
Homogenizing	0.01	5	91.8
		25	77.6

n = 1

3.4 抽出方法の検討 2：粉ミルク分析法

粉ミルクにも豚レバー分析法を適用できるか試したところ、低回収率となった。その原因として、粉ミルクには水溶性成分が多く含まれ、脂溶性成分が多い豚レバーとは異なる物性を示したためと考えられた。そこで、乳汁中のオクラトキシン A 分析法¹⁰⁾を基に、抽出溶媒の変更及び加熱工程の追加（試料を固化させ、吸引ろ過工程を容易にするため）等を行った。粉ミルクについて、2.5 に従いオクラトキシン A 標準液を添加し、2.4.3 の粉ミルク分析法により添加回収試験を行った。その際、リン酸添加量及び加熱時間についても検討した。その結果、Table 6 のとおり、すべての条件で試験法の妥当性確認法に定められた真度の目標値（0.01 mg/kg では 60 % 以上 115 % 以下）を満たす結果であったが、最も回収率の高かったリン酸 20 mL 添加、10 分加熱を採用することとした。

Table 6 Recoveries for ochratoxin A (method for milk powder for pet food)

Samples	Spiked level (mg/kg)	Addition amount of 1 mol/L phosphoric acid (mL)	Heating time (min)	Recovery (%)
Milk powder for cats	0.01	20	10	84.4
		20	15	70.5
		40	10	76.2
		40	15	69.2

n = 1

4 まとめ

愛玩動物用飼料のジャーキー、菓子類及び粉ミルク中のオクラトキシン A について、冷食検法を基に、LC を用いた定量法の愛玩動物用飼料等の検査法への収載の可否について検討したところ、以下の結果が得られた。

- 1) ジャーキー、菓子類及び粉ミルクについて冷食検法による添加回収試験を行った結果、豚レバーを原材料に使用したものを除くジャーキー及び菓子類については、良好な回収率が得られたが、豚レバーを原材料に使用したジャーキー及び粉ミルクについては、低回収率であった。
- 2) 豚レバーを原材料に使用したジャーキーについては試料採取量の変更、抽出溶媒等の変更、振り混ぜ抽出からホモジナイズ抽出への変更及び液液分配の実施等、粉ミルクについては試料採取量の変更、抽出溶媒等の変更、振り混ぜ抽出からホモジナイズ抽出への変更及び加熱工程の追加等により、良好な回収率が得られた。

- 3) 検量線は 0.25~20 ng/mL 相当量（注入量として 0.0125~1 ng 相当量）の範囲で直線性を示した。なお、当該検量線の濃度範囲は、オクラトキシン A を 0.0005~0.04 mg/kg 含有する分析用試料を本法に従い調製した最終試料溶液中の濃度範囲に相当する。

文 献

- 1) 田端 節子, 飯田 憲司, 木村 圭介, 岩崎 由美子, 中里 光男, 鎌田 国広, 広門 雅子 : HPLC-FL および LC/MS/MS による食品中のオクラトキシン A, B およびシトリニンの同時分析法, 食品衛生学雑誌, 49(2), 100-105 (2008).
- 2) THE EUROPEAN COMMISSION : COMMISSION RECOMMENDATION (EU) 2016/1319 of 29 July 2016 amending Recommendation 2006/576/EC as regards deoxynivalenol, zearalenone and ochratoxin A in pet food, Official Journal of the European Union, L 208/58-60 (2016).
- 3) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター : 「愛玩動物用飼料等の検査法」の制定について, 平成 21 年 9 月 1 日, 21 消技第 1764 号 (2009).
- 4) 一般財団法人日本海事検定協会 : 平成 26 年度愛玩動物用飼料の分析法検討委託事業報告書, 2. オクラトキシン A (2015).
- 5) 一般財団法人日本冷凍食品検査協会 : 平成 27 年度愛玩動物用飼料の分析法検討等委託事業報告書 ー分析法開発の部ー, オクラトキシン A の分析法の開発 (2016).
- 6) Schrenk D, Bignami M, Bodin L, Chipman J, Mazo J, Grasl-Kraupp B, Hogstrand C, Hoogenboom L, Leblanc J, Nebbia C, Nielsen E, Ntzani E, Sand S, Schwerdtle T, Vleminckx C, Wallace H, Gropp J, Antonissen G, Rychen G, Ruiz J, Innocenti M, Rovesti E and Petersen A : Risks for animal health related to the presence of ochratoxin A (OTA) in feed, *EFSA Journal*, 21(11), 8375 (2023)
- 7) UCHIYAMA S, SAITO Y and UCHIYAMA M : Protein-bonding of Ochratoxin A and Its Extractability from Proteinous Food, *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 26(6), 651-657 (1985).
- 8) 矢崎 廣久, 高橋 治男, 七山 悠三 : マイコトキシンに関する研究 オクラトキシンの抽出と分析について, 千葉衛研報告, 2, 1-6 (1978).
- 9) 矢崎 廣久, 高橋 治男 : オクラトキシンーオクラトキシンの性状と分析方法ー, 千葉衛研報告, 9, 6-15 (1985).
- 10) 一般社団法人日本科学飼料協会 : 平成 19 年度飼料等の適正製造指針の検討事業報告書 オクラトキシン A の乳中等への移行残留調査 (2007). (未公表)