

(別紙)

○ 飼料分析基準（平成 20 年 4 月 1 日付け 19 消安第 14729 号農林水産省消費・安全局長通知）一部改正 新旧対照表

(傍線の部分は改正部分)

改正後	改正前
<p data-bbox="544 440 696 472">目次</p> <p data-bbox="459 485 761 517">第 1 章~第 4 章 (略)</p> <p data-bbox="512 584 728 616">第 5 章 かび毒</p> <p data-bbox="143 635 459 667">第 1 節・第 2 節 (略)</p> <p data-bbox="143 684 448 716">第 3 節 多成分分析法</p> <p data-bbox="174 734 338 766">1~10 (略)</p> <p data-bbox="174 778 1097 852"><u>11 オクラトキシン A 及びシトリニンの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法</u></p> <p data-bbox="143 865 338 896">第 4 節 (略)</p> <p data-bbox="512 916 728 948">第 6 章 農薬</p> <p data-bbox="143 959 327 991">第 1 節 各条</p> <p data-bbox="174 1003 369 1035">1~266 (略)</p> <p data-bbox="174 1043 1039 1075"><u>267 フェリムゾン (フェリムゾン E 体及びフェリムゾン Z 体)</u></p> <p data-bbox="174 1086 488 1118">第 2 節・第 3 節 (略)</p> <p data-bbox="454 1177 784 1209">第 7 章~第 20 章 (略)</p>	<p data-bbox="1525 440 1677 472">目次</p> <p data-bbox="1440 485 1742 517">第 1 章~第 4 章 (略)</p> <p data-bbox="1494 584 1709 616">第 5 章 かび毒</p> <p data-bbox="1126 635 1442 667">第 1 節・第 2 節 (略)</p> <p data-bbox="1126 684 1429 716">第 3 節 多成分分析法</p> <p data-bbox="1158 734 1321 766">1~10 (略)</p> <p data-bbox="1144 778 1227 810">(新設)</p> <p data-bbox="1126 865 1321 896">第 4 節 (略)</p> <p data-bbox="1494 916 1709 948">第 6 章 農薬</p> <p data-bbox="1126 959 1310 991">第 1 節 各条</p> <p data-bbox="1158 1003 1352 1035">1~266 (略)</p> <p data-bbox="1167 1043 1256 1075">(新設)</p> <p data-bbox="1158 1086 1471 1118">第 2 節・第 3 節 (略)</p> <p data-bbox="1440 1177 1769 1209">第 7 章~第 20 章 (略)</p>

改正後	改正前
<p>第1節 各条 1~266 (略) <u>267 フェリムゾン (フェリムゾン E 体及びフェリムゾン Z 体)</u> (略)</p> <p style="text-align: center;">第1章~第4章 (略)</p> <p style="text-align: center;">第5章</p> <p>第1節・第2節 (略) 第3節 多成分分析法 1 (略) 2 アフラトキシンの液体クロマトグラフによる同時分析法 (1) (略) (2) 適用範囲 <u>配合飼料、とうもろこし及びとうもろこしサイ</u> <u>レンジ</u> (3) (略)</p> <p style="text-align: center;">A 試薬の調製</p> <p>1)~4) (略) 5) アフラトキシンの混合標準原液 アフラトキシンの B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub> 及び G<sub>2</sub> 各標準原液の一定量を混合し、アセトニトリルで正確に希釈し、1 mL 中にアフラトキシンの 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 µg ずつを含有するアフラトキシンの混合標準原液を調製する。 <u>使用に際して、アフラトキシンの混合標準原液の一定量をアセトニトリルで正確に希釈し、1 mL 中にアフラトキシンの B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub> 及び G<sub>2</sub> として 20 ng を含有するアフラトキシンの混合標準液を調製する。</u></p>	<p>第1節 各条 1~266 (略) (新設) (略)</p> <p style="text-align: center;">第1章~第4章 (略)</p> <p style="text-align: center;">第5章</p> <p>第1節・第2節 (略) 第3節 多成分分析法 1 (略) 2 アフラトキシンの液体クロマトグラフによる同時分析法 (1) (略) (2) 適用範囲 <u>配合飼料及びとうもろこし</u>  (3) (略)</p> <p style="text-align: center;">A 試薬の調製</p> <p>1) ~4) (略) 5) アフラトキシンの混合標準原液 アフラトキシンの B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub> 及び G<sub>2</sub> 各標準原液の一定量を混合し、アセトニトリルで正確に希釈し、1 mL 中にアフラトキシンの 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 µg ずつを含有するアフラトキシンの混合標準原液を調製する。</p>

改正後	改正前
<p style="text-align: center;"><b>B 定 量</b></p> <p>抽出 分析試料 50 g<sup>注2</sup> (<u>とうもろこしサイレージは 25 g</u>) を量って 300 mL の褐色共栓三角フラスコに入れ、アセトニトリルー水 (9+1) 100 mL (<u>とうもろこしサイレージは 150 mL</u>) を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。抽出液を褐色共栓遠心沈殿管に入れ、650×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液をカラム処理に供する試料溶液とする。</p> <p>カラム処理 試料溶液 4.5 mL を試験管に入れ、多機能カラム (アフラトキシン前処理用)<sup>注3</sup> をゆっくり押し込み、充てん剤を通過した流出液を誘導体化反応に供する試料溶液とする。</p> <p>誘導体化反応 試料溶液 1 mL を 50 mL のなす形フラスコ<sup>注4</sup> に正確に入れ、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する。残留物にトリフルオロ酢酸 0.1 mL を正確に加え、なす形フラスコを密栓した後 15 分間静置し、更に水-アセトン (9+1) 0.9 mL を先のなす形フラスコに正確に加えて振り混ぜる。この液をプラスチック製遠心沈殿管 (容量 1.5 mL) に入れ、5,000×g 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する。</p> <p>同時にアフラトキシン混合標準原液 2~60 µL の間の数点及びアフラトキシン混合標準液 2.5~25 µL の間の数点をそれぞれ 50 mL のなす形フラスコ<sup>注4</sup> に正確に入れ、トリフルオロ酢酸 0.1 mL を正確に加える。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 <u>0.05~30 ng</u> 相当量を含む各標準液を調製する。</p> <p>液体クロマトグラフィー 試料溶液及び各標準液各 20 µL を液体クロマトグラフに注入し、クロマトグラムを得る。</p>	<p style="text-align: center;"><b>B 定 量</b></p> <p>抽出 分析試料 50 g<sup>注2</sup> を量って 300 mL の褐色共栓三角フラスコに入れ、アセトニトリルー水 (9+1) 100 mL を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。抽出液を褐色共栓遠心沈殿管に入れ、650×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液をカラム処理に供する試料溶液とする。</p> <p>カラム処理 試料溶液 4.5 mL を試験管に入れ、多機能カラム (アフラトキシン前処理用)<sup>注3</sup> をゆっくり押し込み、充てん剤を通過した流出液を誘導体化反応に供する試料溶液とする。</p> <p>誘導体化反応 試料溶液 1 mL を 50 mL のなす形フラスコに正確に入れ、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する。残留物にトリフルオロ酢酸 0.1 mL を正確に加え、なす形フラスコを密栓した後 15 分間静置し、更に水-アセトン (9+1) 0.9 mL を先のなす形フラスコに正確に加えて振り混ぜる。この液をプラスチック製遠心沈殿管 (容量 1.5 mL) に入れ、5,000×g 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する。</p> <p>同時にアフラトキシン混合標準原液 2~40 µL の間の数点をそれぞれ 50 mL のなす形フラスコに正確に入れ、トリフルオロ酢酸 0.1 mL を正確に加える。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 <u>1~20 ng</u> 相当量を含む各標準液を調製する。</p> <p>液体クロマトグラフィー 試料溶液及び各標準液各 20 µL を液体クロマトグラフに注入し、クロマトグラムを得る。</p>

改正後	改正前
<p>測定条件 例</p> <p>検出器：蛍光検出器（励起波長 365 nm、蛍光波長 450 nm）</p> <p>カラム：オクタデシルシリル化シリカゲルカラム（内径 4.6 mm、長さ 250 mm、粒径 5 μm）<sup>注5</sup></p> <p>溶離液：水-メタノール（3+2）</p> <p>流速：0.8 mL/min</p> <p>カラム槽温度：40 °C</p> <p>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> 量を算出する。</p> <p>注 1 （略）</p> <p>2 振り混ぜることが困難な試料については 25 g とする。</p> <p>3 （略）</p> <p>4 <u>50 mL のなす形フラスコの代わりに、50 mL 容以下のスクリーキャップ付きバイアルや試験管に正確にとり、遠心エバポレーター等を用いて 40 °C 以下で濃縮及び窒素ガスを送って乾固させた後、誘導体化反応を行うことも可能</u></p> <p>5 Mightysil RP-18 GP（関東化学製）又はこれと同等のもの</p> <p>（参考）分析法バリデーション</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・添加回収率及び繰返し精度</li> </ul> <p><u>添加回収試験結果（配合飼料及びとうもろこし）</u></p>	<p>測定条件 例</p> <p>検出器：蛍光検出器（励起波長 365 nm、蛍光波長 450 nm）</p> <p>カラム：オクタデシルシリル化シリカゲルカラム（内径 4.6 mm、長さ 250 mm、粒径 5 μm）<sup>注4</sup></p> <p>溶離液：水-メタノール（3+2）</p> <p>流速：0.8 mL/min</p> <p>カラム槽温度：40 °C</p> <p>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> 量を算出する。</p> <p>注 1 （略）</p> <p>2 振り混ぜることが困難な試料については <u>25.0</u> g とする。</p> <p>3 （略）</p> <p>（新設）</p> <p>4 Mightysil RP-18 GP（関東化学製）又はこれと同等のもの</p> <p>（参考）分析法バリデーション</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・添加回収率及び繰返し精度</li> </ul>

改正後

添加成分名	試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返 し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%以下)
アフラトキシンB <sub>1</sub>	鶏用配合飼料	0.01~0.1	3	96.0~103.3	5.2
	牛用配合飼料	0.01~0.1	3	96.0~97.3	2.8
	とうもろこし	0.01~0.1	3	92.0~100.3	4.0
アフラトキシンB <sub>2</sub>	鶏用配合飼料	0.01~0.1	3	92.0~95.0	4.8
	牛用配合飼料	0.01~0.1	3	90.7~100.3	4.7
	とうもろこし	0.01~0.1	3	92.7~96.3	5.3
アフラトキシンG <sub>1</sub>	鶏用配合飼料	0.01~0.1	3	95.3~102.7	7.4
	牛用配合飼料	0.01~0.1	3	94.0~102.3	4.4
	とうもろこし	0.01~0.1	3	95.3~101.0	4.2
アフラトキシンG <sub>2</sub>	鶏用配合飼料	0.01~0.1	3	92.7~96.0	8.0
	牛用配合飼料	0.01~0.1	3	91.0~103.7	5.0
	とうもろこし	0.01~0.1	3	91.7~97.0	1.7

添加回収試験結果（定量下限相当濃度、配合飼料及びとうもろこし）

添加成分名	試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返 し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
アフラトキシンB <sub>1</sub>	鶏用配合飼料	0.0005	5	91.8	4.5
	ほ乳期子牛育成用代用乳用配合飼料	0.0005	5	96.6	4.7
	とうもろこし	0.0005	5	94.2	2.7
アフラトキシンB <sub>2</sub>	鶏用配合飼料	0.0005	5	88.9	2.5
	ほ乳期子牛育成用代用乳用配合飼料	0.0005	5	90.2	2.5
	とうもろこし	0.0005	5	87.5	1.7
アフラトキシンG <sub>1</sub>	鶏用配合飼料	0.0005	5	94.9	3.7
	ほ乳期子牛育成用代用乳用配合飼料	0.0005	5	83.5	8.5
	とうもろこし	0.0005	5	91.9	1.6
アフラトキシンG <sub>2</sub>	鶏用配合飼料	0.0005	5	93.5	2.4
	ほ乳期子牛育成用代用乳用配合飼料	0.0005	5	89.9	5.3
	とうもろこし	0.0005	5	91.4	0.8

添加回収試験結果（とうもろこしサイレージ）

改正前

添加成分名	試料の種類	添加濃度 (µg/kg)	繰返 し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%以下)
アフラトキシンB <sub>1</sub>	鶏用配合飼料	10~100	3	96.0~103.3	5.2
	牛用配合飼料	10~100	3	96.0~97.3	2.8
	とうもろこし	10~100	3	92.0~100.3	4.0
アフラトキシンB <sub>2</sub>	鶏用配合飼料	10~100	3	92.0~95.0	4.8
	牛用配合飼料	10~100	3	90.7~100.3	4.7
	とうもろこし	10~100	3	92.7~96.3	5.3
アフラトキシンG <sub>1</sub>	鶏用配合飼料	10~100	3	95.3~102.7	7.4
	牛用配合飼料	10~100	3	94.0~102.3	4.4
	とうもろこし	10~100	3	95.3~101.0	4.2
アフラトキシンG <sub>2</sub>	鶏用配合飼料	10~100	3	92.7~96.0	8.0
	牛用配合飼料	10~100	3	91.0~103.7	5.0
	とうもろこし	10~100	3	91.7~97.0	1.7

(新設)

## 改正後

添加成分名	試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返 し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
アフラトキシンB <sub>1</sub>	とうもろこしサイレージ1	0.0013	5	116	2.1
		0.022	5	89.2	1.4
		0.044	5	92.7	1.7
	とうもろこしサイレージ2	0.0013	5	93.0	1.4
		0.011	5	92.5	1.6
		0.0013	5	97.8	4.4
アフラトキシンB <sub>2</sub>	とうもろこしサイレージ1	0.0013	5	104	2.1
		0.022	5	88.7	1.1
		0.044	5	89.7	1.6
	とうもろこしサイレージ2	0.0013	5	119	2.2
		0.011	5	89.9	1.5
		0.0013	5	113	4.2
アフラトキシンG <sub>1</sub>	とうもろこしサイレージ1	0.0013	5	103	3.3
		0.022	5	91.6	1.4
		0.044	5	95.3	2.2
	とうもろこしサイレージ2	0.0013	5	106	3.3
		0.011	5	96.1	2.3
		0.001	5	96.0	3.3
アフラトキシンG <sub>2</sub>	とうもろこしサイレージ1	0.00022	5	93.8	6.3
		0.022	5	91.7	0.8
		0.044	5	94.0	1.7
	とうもろこしサイレージ2	0.00022	5	94.8	10
		0.011	5	93.9	3.5
		0.00022	5	82.6	2.6
		0.022	5	87.5	2.6

## 共同試験

分析成分名	試料の種類	試験 室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
アフラトキシンB <sub>1</sub>	鶏用配合飼料	7	0.02	98.5	2.9	3.8	0.17
アフラトキシンB <sub>2</sub>	鶏用配合飼料	7	0.02	90.6	2.8	7.3	0.33
アフラトキシンG <sub>1</sub>	鶏用配合飼料	7	0.02	100.0	2.6	3.0	0.14
アフラトキシンG <sub>2</sub>	鶏用配合飼料	7	0.02	93.5	2.6	4.9	0.22

- 定量下限 試料中 (とうもろこしサイレージを除く。)  
0.0005 mg/kg、とうもろこしサイレージ (風乾物) 中 アフ  
ラトキシン G<sub>2</sub> 0.0005 mg/kg その他のアフラトキシン 各  
0.003 mg/kg

## 改正前

## 共同試験

分析成分名	試料の種類	試験 室数	添加濃度 (μg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
アフラトキシンB <sub>1</sub>	鶏用配合飼料	7	20	98.5	2.9	3.8	0.17
アフラトキシンB <sub>2</sub>	鶏用配合飼料	7	20	90.6	2.8	7.3	0.33
アフラトキシンG <sub>1</sub>	鶏用配合飼料	7	20	100.0	2.6	3.0	0.14
アフラトキシンG <sub>2</sub>	鶏用配合飼料	7	20	93.5	2.6	4.9	0.22

- 定量下限 試料中 0.5 μg/kg

改正後	改正前
<p>・検出下限 試料中（とうもろこしサイレージを除く。） 各  <u>0.0001 mg/kg、とうもろこしサイレージ（風乾物）中 アフ  ラトキシシ G<sub>2</sub> 0.0002 mg/kg その他のアフラトキシシ 各  0.001 mg/kg</u></p>	
<p>3~10 （略）</p>	<p>3~10 （略）</p>
<p>11 <u>オクラトキシシ A 及びシトリニシの液体クロマトグラフタンデ  ム型質量分析計による同時分析法</u></p> <p>(1) <u>分析対象化合物 オクラトキシシ A 及びシトリニシ（2 成  分）</u></p> <p>(2) <u>適用範囲 飼料</u></p> <p>(3) <u>分析法</u></p> <p style="text-align: center;"><b>A 試薬の調製</b></p> <p>1) <u>オクラトキシシ A 標準原液 オクラトキシシ A  [C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>6</sub>Cl] 5 mg を正確に量って 50 mL の褐色全量フラ  スコに入れ、メタノールを加えて溶かし、更に標線まで同溶  媒を加える（この液 1 mL は、オクラトキシシ A として 0.1  mg を含有する。）。</u></p> <p>2) <u>シトリニシ標準原液 シトリニシ [C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub>] 5 mg を正  確に量って 50 mL の褐色全量フラスコに入れ、メタノールを  加えて溶かし、更に標線まで同溶媒を加える（この液 1 mL  は、シトリニシとして 0.1 mg を含有する。）。</u></p> <p>3) <u>混合標準液 オクラトキシシ A 標準原液及びシトリニシ  標準原液各 1 mL を 100 mL の全量フラスコに正確に入れて混  合し、更に標線までアセトニトリルを加えて混合標準原液を  調製する（この液 1 mL は、各成分としてそれぞれ 1 µg を含  有する。）。</u></p>	<p>（新設）</p>

改正後	改正前
<p><u>使用に際して、混合標準原液の一定量をアセトニトリル-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 0.1~80 ng 及びシトリニンとして 0.2~80 ng を含有する数点の混合標準液を調製する。</u></p> <p style="text-align: center;"><b>B 定 量</b></p> <p><u>抽出</u> 分析試料 25.0 g を量って 300 mL の共栓三角フラスコに入れ、アセトニトリル-塩酸-水 (8+1+1) 100 mL を加え、5 分間静置後、30 分間振り混ぜて抽出し、抽出液を 50 mL の共栓遠沈管に入れて 700×g で 5 分間遠心分離する。上澄み液 10 mL を 50 mL のなす形フラスコに正確に入れ、40 °C 以下の水浴で 1 mL 以下まで減圧濃縮し、窒素ガスを送ってアセトニトリルを除去し、液液分配に供する試料溶液とする。</p> <p><u>液液分配</u> 塩化ナトリウム約 0.5 g を試料溶液に加え、更に酢酸エチル 10 mL を正確に加えてよく混合した後、10 mL の試験管に入れ、1,000×g で 5 分間遠心分離する。酢酸エチル層 (上層) 4 mL を 50 mL のなす形フラスコに正確に入れ、40 °C 以下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する。ギ酸-メタノール (1+49) 2 mL を加えて残留物を溶かし、水 3 mL を加えてカラム処理に供する試料溶液とする。</p> <p><u>カラム処理</u> 弱塩基性陰イオン交換樹脂ミニカラム<sup>注1</sup>をメタノール 5 mL 及び水 5 mL で順次洗浄する。試料溶液をミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。試料溶液の入っていたなす形フラスコをメタノール 5 mL で 2 回洗浄し、洗液を順次カラムに加え同様に流出させる。</p> <p><u>50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、アンモニア水-メタノール (1+19) 10 mL をカラムに加え、オクラ</u></p>	

改正後	改正前
<p><u>トキシン A 及びシトリニン</u>を溶出させる。溶出液を 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させる。アセトニトリル-水 (1+1) 5 mL を加えて残留物を溶かし、5,000×g で 5 分間遠心分離し、液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定に供する試料溶液とする。</p> <p>液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定 試料溶液及び各混合標準液各 5 µL を液体クロマトグラフタンデム型質量分析計に注入し、選択反応検出クロマトグラムを得る。</p> <p>測定条件 例 (液体クロマトグラフ部)</p> <p>カラム : オクタデシルシリル化シリカゲルカラム (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒径 3 µm) <sup>注2</sup></p> <p>溶離液 : 0.1 v/v%ギ酸溶液-0.1 v/v%ギ酸アセトニトリル溶液 (19+1) → 10 min → (1+9) (5 min 保持)</p> <p>流速 : 0.2 mL/min</p> <p>カラム槽温度 : 40 °C (タンデム型質量分析計部<sup>注3</sup>)</p> <p>イオン化法 : エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法 (正イオンモード)</p> <p>イオン源温度 : 120 °C</p> <p>デソルベーションガス : N<sub>2</sub> (800 L/h、500 °C)</p> <p>キャピラリー電圧 : 3.5 kV</p> <p>コンガス : N<sub>2</sub> (50 L/h)</p> <p>コン電圧 : 下表のとおり</p>	

## 改正後

コリジョンガス：Ar (0.2 mL/min)

コリジョンエネルギー：下表のとおり

モニターイオン：下表のとおり

表 各物質のモニターイオン条件

測定対象物質	プリカーサー	プロダクトイオン		コーン	コリジョン
	イオン (m/z)	定量用 (m/z)	確認用 (m/z)	電圧 (V)	エネルギー (eV)
オクラトキシンA	404	239	—	25	25
		—	221		40
シトリニン	251	233	—	30	20
		—	205		30

計算 得られた選択反応検出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、試料中のオクラトキシンA量及びシトリニン量を算出する。

注 1 Oasis WAX (Waters 製、充てん剤量 500 mg、リザーバー容量 6 mL)

2 InertSustain C18 (ジールサイエンス製、本測定条件によるオクラトキシンA及びシトリニンの保持時間はそれぞれ約 9.5 及び 8.9 分) 又はこれと同等のもの

3 ACQUITY TQD (Waters 製) による条件例

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

## 改正前

改正後

改正前

添加成分名	試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
オクラトキシンA	ほ乳期子豚育成用配合飼料	0.001	5	103	5.8
		0.1	5	105	2.0
	肉用牛肥育用配合飼料	0.001	5	102	11
		0.1	5	99.3	2.4
	大麦	0.001	5	91.2	6.6
		0.005	5	98.1	5.0
	小麦	0.001	5	98.1	5.6
		0.005	5	104	3.3
	ふすま1	0.001	5	97.4	7.2
		0.01	5	99.7	3.0
	ふすま2	0.1	5	109	3.3
		0.25	5	109	3.4
	ふすま3	0.25	5	112	4.6
		0.25	5	103	1.1
シトリニン	ほ乳期子豚育成用配合飼料	0.005	5	103	5.7
		0.5	5	100	4.1
	肉用牛肥育用配合飼料	0.005	5	104	11
		0.5	5	108	2.3
	大麦	0.005	5	99.8	6.6
		0.05	5	93.3	2.0
	小麦	0.005	5	103	5.3
		0.05	5	101	2.5
	ふすま1	0.005	5	95.1	5.9
		0.05	5	95.9	5.0
	ふすま2	0.1	5	84.4	4.9
		0.25	5	95.1	7.0
	ふすま3	0.25	5	102	4.8
		0.25	5	92.8	1.3

・共同試験

成分名	試料の種類	有効試 験回数	棄却試 験回数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
オクラトキシンA	ほ乳期子豚育成用配合飼料	18	0	0.1	117	4.1	12	0.56
	肉用牛肥育用配合飼料	18	0	0.2	123	2.1	13	0.62
	大麦	18	0	0.01	95.1	8.9	17	0.75
	小麦	18	0	0.005	63.9	8.6	29	1.3
	ふすま	18	0	0.05	108	3.3	17	0.77
	シトリニン	ほ乳期子豚育成用配合飼料	17	1	0.1	118	8.4	17
シトリニン	肉用牛肥育用配合飼料	18	0	0.25	104	5.1	19	0.97
	大麦	18	0	0.025	94.3	8.2	33	1.5
	小麦	18	0	0.005	107	4.6	21	0.97
	ふすま	15	3	0.05	102	4.7	12	0.53

・定量下限 オクラトキシン A 試料中 0.001 mg/kg、シト  
リニン 試料中 0.005 mg/kg

改正後	改正前
<p>・検出下限 <u>オクラトキシン A 試料中 0.0003 mg/kg、シ トリニン 試料中 0.002 mg/kg</u></p> <p>第4節 (略)</p> <p style="text-align: center;"><b>第6章 農薬</b></p> <p>第1節 各条 1~266 (略)</p> <p><u>267 フェリムゾン (フェリムゾン E 体及びフェリムゾン Z 体)</u> <u>267.1 フェリムゾンの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計 による単成分分析法<sup>注1</sup></u> <u>(適用範囲：稲わら、稲発酵粗飼料及び粃米)</u></p> <p style="text-align: center;"><b>A 試薬の調製</b></p> <p>1) <u>フェリムゾン E 体標準原液 フェリムゾン E 体 [C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>] を 25 mg を正確に量って 50 mL の褐色全量フラ スコに入れ、アセトンを加えて溶かし、更に標線まで同溶媒 を加えてフェリムゾン E 体標準原液を調製する (この液 1 mL は、フェリムゾン E 体として 0.5 mg を含有する。)</u></p> <p>2) <u>フェリムゾン Z 体標準原液 フェリムゾン Z 体 [C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>] を 25 mg を正確に量って 50 mL の褐色全量フラ スコに入れ、アセトンを加えて溶かし、更に標線まで同溶媒 を加えてフェリムゾン Z 体標準原液を調製する (この液 1 mL は、フェリムゾン Z 体として 0.5 mg を含有する。)</u></p> <p>3) <u>混合標準液 使用に際して、フェリムゾン E 体標準原液 及びフェリムゾン Z 体標準原液各 1 mL を 50 mL の褐色全量 フラスコに正確に入れ、更に標線までアセトンを加えて、1 mL 中にフェリムゾン E 体及び Z 体としてそれぞれ 10 µg を 含有する混合標準原液を調製する。さらに、混合標準原液の</u></p>	<p>第4節 (略)</p> <p style="text-align: center;"><b>第6章 農薬</b></p> <p>第1節 各条 1~266 (略) (新設)</p>

改正後	改正前
<p><u>一定量をアセトニトリル-水 (3+2) で正確に希釈し、1 mL 中にフェリムゾン E 体及び Z 体としてそれぞれ 0.1~50 ng を含有する各混合標準液を調製する。</u></p> <p style="text-align: center;"><b>B 定 量</b></p> <p><u>抽出 分析試料 10.0 g を量って 300 mL の褐色共栓三角フラスコに入れ、水 30 mL (粃米は 20 mL) を加え 30 分間静置後、更にアセトン 120 mL (粃米は 100 mL) を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。200 mL の全量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、先の三角フラスコ及び残さを順次アセトン 50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過する。更に全量フラスコの標線までアセトンを加える。この液の一部をアセトンで正確に 10 倍希釈した後、希釈液 2 mL を 50 mL のなす形フラスコに正確に入れ、水 20 mL を加えて、カラム処理に供する試料溶液とする。</u></p> <p><u>カラム処理<sup>注2</sup> オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (500 mg) <sup>注3</sup> をアセトニトリル 5 mL 及び水 5 mL で順次洗浄する。試料溶液をミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。試料溶液の入っていたなす形フラスコを水-アセトニトリル (9+1) 5 mL ずつで 2 回洗浄し、洗液を順次ミニカラムに加え、同様に流出させる。</u></p> <p><u>10 mL の褐色全量フラスコをミニカラムの下に置き、アセトニトリル-水 (3+2) 9 mL をミニカラムに加えて、フェリムゾンを溶出させる。さらに、褐色全量フラスコの標線まで同溶媒を加えた後、この液の一定量を 5,000×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液を液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定に供する試料溶液とする。</u></p> <p><u>液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定 試料溶液及び各混合標準液各 5 µL を液体クロマトグラフタンデム</u></p>	

## 改正後

型質量分析計に注入し、選択反応検出クロマトグラムを得る。

## 測定条件 例

(液体クロマトグラフ部)

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲルカラム（内径 2.1 mm、長さ 100 mm、粒径 3  $\mu\text{m}$ ）<sup>注4</sup>

溶離液：2 mmol/L 酢酸アンモニウムセトニトリル（13+7）（14 min 保持）→1 min→（1+9）（5 min 保持）

流速：0.2 mL/min

カラム槽温度：40 °C

(タンデム型質量分析計部<sup>注5</sup>)

イオン化法：エレクトロスプレーイオン化法（正イオンモード）

ネブライザーガス：N<sub>2</sub>（1.5 L/min）

乾燥ガス：N<sub>2</sub>（10 L/min）

ヒートブロック温度：350 °C

D L 温度：150 °C

コリジョンガス：Ar（230 kPa）

コリジョンエネルギー：下表のとおり

モニターイオン：下表のとおり

## 表 モニターイオン条件

測定対象物質	モニターイオン (m/z)		コリジョンエネルギー (eV)
	プリカーサー	プロダクト	
フェリムゾンE体及びZ体	255	132 (定量)	21
		91 (確認)	35

計算 得られた選択反応検出クロマトグラムからピーク面積又は高さを求めて検量線を作成し、試料中のフェリムゾ

## 改正前

改正後

改正前

ン E 体量及びフェリムゾン Z 体量を算出し、その合量をフェリムゾン量とする。

- 注 1 定量操作は遮光した状態で行う。  
2 流速は 1 mL/min 程度とする。必要に応じて吸引マニホールドを使用する。  
3 InertSep Slim-J C18-B (ジーエルサイエンス製) 又はこれと同等のもの  
4 Inertsil ODS-SP (ジーエルサイエンス製) 又はこれと同等のもの  
5 LCMS-8040 (島津製作所製) による条件例

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

添加成分名	試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
フェリムゾンE体	稲わら	0.2	5	89.6	1.8
		20	5	83.5	2.3
	稲発酵粗飼料	0.1	5	90.9	5.2
		9	5	84.3	0.7
	粳米	0.2	5	85.4	7.4
		5	5	88.2	2.0
フェリムゾンZ体	稲わら	0.2	5	89.3	8.0
		20	5	88.9	1.3
	稲発酵粗飼料	0.1	5	94.5	3.7
		9	5	92.2	2.4
	粳米	0.2	5	90.5	4.6
		5	5	91.7	1.4



改正後	改正前
<p>ルベンゼン-<i>N</i>-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム (225 mg) <sup>注6</sup>を連結し、メタノール 6 mL 及び水 12 mL で順次洗浄する。200 mL のなす形フラスコ<sup>注7</sup>をミニカラムの下に置き、試料溶液 1 mL をミニカラムに正確に入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。更に水 18 mL をミニカラムに加え、同様に流出させ、誘導体化に供する試料溶液とする。</p> <p>誘導体化 試料溶液を 50 °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する。酢酸 1 mL 及びオルト酢酸トリメチル 4 mL を加えて残留物を溶かし<sup>注8</sup>、この容器を密栓して 100 °C で 2 時間加熱<sup>注9</sup>した後放冷し、50 °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する。酢酸エチル 4 mL を正確に加えて残留物を溶かし<sup>注8</sup>、カラム処理 II に供する試料溶液とする。</p> <p>カラム処理 II <sup>注4</sup> アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム (360 mg) の下にシリカゲルミニカラム (690 mg) を連結し、酢酸エチル 10 mL で洗浄する。試料溶液 2 mL をミニカラムに正確に入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。更に酢酸エチル 18 mL をミニカラムに加え、同様に流出させる。50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、アセトン 10 mL をミニカラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流下してグリホサート誘導体及び 3-メチルホスフィニコプロピオン酸誘導体を溶出させる。次に、アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラムをはずし、アセトン-水 (19+1) 10 mL をシリカゲルミニカラムに加えてグリホサート誘導体、3-メチルホスフィニコプロピオン酸誘導体及びグルホシネート誘導体を溶出させる。溶出液を 50 °C</p>	<p>ルベンゼン-<i>N</i>-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム (225 mg) <sup>注5</sup>を連結し、メタノール 6 mL 及び水 12 mL で順次洗浄する。200 mL のなす形フラスコ<sup>注6</sup>をミニカラムの下に置き、試料溶液 1 mL をミニカラムに正確に入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。更に水 18 mL をミニカラムに加え、同様に流出させ、誘導体化に供する試料溶液とする。</p> <p>誘導体化 試料溶液を 50 °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する。酢酸 1 mL 及びオルト酢酸トリメチル 4 mL を加えて残留物を溶かし<sup>注7</sup>、この容器を密栓して 100 °C で 2 時間加熱<sup>注8</sup>した後放冷し、50 °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する。酢酸エチル 4 mL を正確に加えて残留物を溶かし<sup>注7</sup>、カラム処理 II に供する試料溶液とする。</p> <p>カラム処理 II <sup>注3</sup> アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム (360 mg) の下にシリカゲルミニカラム (690 mg) を連結し、酢酸エチル 10 mL で洗浄する。試料溶液 2 mL をミニカラムに正確に入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。更に酢酸エチル 18 mL をミニカラムに加え、同様に流出させる。50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、アセトン 10 mL をミニカラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流下してグリホサート誘導体及び 3-メチルホスフィニコプロピオン酸誘導体を溶出させる。次に、アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラムをはずし、アセトン-水 (19+1) 10 mL をシリカゲルミニカラムに加えてグリホサート誘導体、3-メチルホスフィニコプロピオン酸誘導体及びグルホシネート誘導体を溶出させる。溶出液を 50 °C</p>

改正後	改正前
<p>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する。0.01 v/v%ギ酸溶液 1 mL を正確に加えて残留物を溶かし<sup>注8</sup>、液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定に供する試料溶液とする。</p> <p>標準液の誘導体化 農薬混合標準原液 1 mL を 200 mL のなす形フラスコに正確に入れ、50 °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する。</p> <p>酢酸 1 mL 及びオルト酢酸トリメチル 4 mL を加えて残留物を溶かし<sup>注8</sup>、なす形フラスコを密栓して 100 °C で 2 時間加熱<sup>注9</sup>した後放冷する。この液を 50 °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する。0.01 v/v%ギ酸溶液 10 mL を正確に加えて残留物を溶かし<sup>注8</sup>、更に同溶媒で正確に希釈し、1 mL 中にグリホサート、グルホシネート及び 3-メチルホスフィニコプロピオン酸としてそれぞれ 0.3~300 ng 相当量を含む数点の標準液を調製する。</p> <p>液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定 試料溶液及び各標準液各 5 µL を液体クロマトグラフタンデム型質量分析計に注入し、選択反応検出クロマトグラムを得る。</p> <p>測定条件 例 (液体クロマトグラフ部)</p> <p>カ ラ ム : オクタデシルシリル化シリカゲルカラム (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒径 5 µm) <sup>注9</sup></p> <p>溶 離 液 : 0.01 v/v%ギ酸溶液-アセトニトリル (93+7) (12 min 保持) → 3 min → (5+95) (10 min 保持)</p> <p>流 速 : 0.2 mL/min</p>	<p>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する。0.01 v/v%ギ酸溶液 1 mL を正確に加えて残留物を溶かし<sup>注7</sup>、液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定に供する試料溶液とする。</p> <p>標準液の誘導体化 農薬混合標準原液 1 mL を 200 mL のなす形フラスコに正確に入れ、50 °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する。</p> <p>酢酸 1 mL 及びオルト酢酸トリメチル 4 mL を加えて残留物を溶かし<sup>注7</sup>、なす形フラスコを密栓して 100 °C で 2 時間加熱<sup>注8</sup>した後放冷する。この液を 50 °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する。0.01 v/v%ギ酸溶液 10 mL を正確に加えて残留物を溶かし<sup>注7</sup>、更に同溶媒で正確に希釈し、1 mL 中にグリホサート、グルホシネート及び 3-メチルホスフィニコプロピオン酸としてそれぞれ 0.3~300 ng 相当量を含む数点の標準液を調製する。</p> <p>液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定 試料溶液及び各標準液各 5 µL を液体クロマトグラフタンデム型質量分析計に注入し、選択反応検出クロマトグラムを得る。</p> <p>測定条件 例 (液体クロマトグラフ部)</p> <p>カ ラ ム : オクタデシルシリル化シリカゲルカラム (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒径 5 µm) <sup>注9</sup></p> <p>溶 離 液 : 0.01 v/v%ギ酸溶液-アセトニトリル (93+7) (12 min 保持) → 3 min → (5+95) (10 min 保持)</p> <p>流 速 : 0.2 mL/min</p>

改正後

カラム槽温度：40 °C  
 (タンデム型質量分析計部<sup>注11</sup>)  
 イオン化法：エレクトロスプレーイオン化  
 (ESI) 法 (正イオンモード)  
 イオン源温度：120 °C  
 デソルベーション温度：400 °C  
 キャピラリー電圧：3 kV  
 コーン電圧：下表のとおり  
 コリジョンエネルギー：下表のとおり  
 モニターイオン：下表のとおり  
 表 モニターイオン条件

測定対象物質	プリカーサー イオン ( <i>m/z</i> )	プロダクト イオン ( <i>m/z</i> )	確認 イオン ( <i>m/z</i> )	コーン 電圧 (V)	コリジョン エネルギー (eV)
グリホサート誘導体	254	102	152	22	17
グルホシネート誘導体	252	210	150	26	14
3-メチルホスフィニコプロピオン酸誘導体	181	149	93	21	14

計 算 得られた選択反応検出クロマトグラムからグリホサート誘導体、グルホシネート誘導体及び 3-メチルホスフィニコプロピオン酸誘導体のピーク面積を求めて検量線を作成し、試料中のグリホサート (N-アセチルグリホサートを含む。) 量、グルホシネート (N-アセチルグルホシネートを含む。) 及び 3-メチルホスフィニコプロピオン酸のそれぞれの量を求めた後、次式により試料中のグルホシネート量を算出する。

$$\text{試料中のグルホシネート量 (mg/kg)} = A + B \times 1.3$$

A : 検量線から求めた試料中のグルホシネート (N-アセチルグルホシネートを含む。) の濃度 (mg/kg)

改正前

カラム槽温度：40 °C  
 (タンデム型質量分析計部<sup>注10</sup>)  
 イオン化法：エレクトロスプレーイオン化  
 (ESI) 法 (正イオンモード)  
 イオン源温度：120 °C  
 デソルベーション温度：400 °C  
 キャピラリー電圧：3 kV  
 コーン電圧：下表のとおり  
 コリジョンエネルギー：下表のとおり  
 モニターイオン：下表のとおり  
 表 モニターイオン条件

測定対象物質	プリカーサー イオン ( <i>m/z</i> )	プロダクト イオン ( <i>m/z</i> )	確認 イオン ( <i>m/z</i> )	コーン 電圧 (V)	コリジョン エネルギー (eV)
グリホサート誘導体	254	102	152	22	17
グルホシネート誘導体	252	210	150	26	14
3-メチルホスフィニコプロピオン酸誘導体	181	149	93	21	14

計 算 得られた選択反応検出クロマトグラムからグリホサート誘導体、グルホシネート誘導体及び 3-メチルホスフィニコプロピオン酸誘導体のピーク面積を求めて検量線を作成し、試料中のグリホサート量、グルホシネート (N-アセチルグルホシネートを含む) 及び 3-メチルホスフィニコプロピオン酸のそれぞれの量を求めた後、次式により試料中のグルホシネート量を算出する。

$$\text{試料中のグルホシネート量 (mg/kg)} = A + B \times 1.3$$

A : 検量線から求めた試料中のグルホシネート (N-アセチルグルホシネートを含む) の濃度 (mg/kg)

改正後	改正前
<p><i>B</i> : 検量線から求めた試料中の 3-メチルホスフィニコプロピオン酸の濃度 (mg/kg)</p> <p>注 1 本法では、試料中のグリホサート、グリホサートアンモニウム塩、グリホサートイソプロピルアミン塩、グリホサートトリメシウム塩及びグリホサートナトリウム塩をグリホサート誘導体に誘導体化し、グリホサートとして定量する。</p> <p>2 <u>グリホサート及び <i>N</i>-アセチルグリホサートの誘導体は同一であることから、<i>N</i>-アセチルグリホサートはグリホサートとの含量として定量する。<i>N</i>-アセチルグリホサートの分析法の妥当性は、とうもろこしのみで確認している。その他の試料に適用する場合は、必要に応じて別表 3 に定めるところにより妥当性を確認すること。</u></p> <p>3 グルホシネート及び <i>N</i>-アセチルグルホシネートの誘導体は同一であることから、<i>N</i>-アセチルグルホシネートはグルホシネートとの含量として定量する。</p> <p>4 流速は 2~3 mL/min 程度とする。必要に応じて吸引マニホールドを使用する。</p> <p>5 Oasis HLB (Waters 製、リザーバー容量 6 mL) 又はこれと同等のもの</p> <p>6 Oasis Plus MCX (Waters 製) 又はこれと同等のもの</p> <p>7 50 mL のなす形フラスコを用いる場合には、同様に操作した後、流出液を少量の水で 200 mL のなす形フラスコに移し、誘導体化に供する試料溶液とする。</p> <p>8 必要に応じて超音波処理し、十分に拡散させる。</p> <p>9 乾燥器等に入れる。乾燥器を用いる場合は十分に庫内及び実験室内を換気すること。</p> <p>10 ZORBAX Eclipse XDB-C18 (Agilent Technologies 製、</p>	<p><i>B</i> : 検量線から求めた試料中の 3-メチルホスフィニコプロピオン酸の濃度 (mg/kg)</p> <p>注 1 本法では、試料中のグリホサート、グリホサートアンモニウム塩、グリホサートイソプロピルアミン塩、グリホサートトリメシウム塩及びグリホサートナトリウム塩をグリホサート誘導体に誘導体化し、グリホサートとして定量する。 (新設)</p> <p>2 グルホシネート及び <i>N</i>-アセチルグルホシネートの誘導体は同一であることから、<i>N</i>-アセチルグルホシネートはグルホシネートとの含量として定量する。</p> <p>3 流速は 2~3 mL/min 程度とする。必要に応じて吸引マニホールドを使用する。</p> <p>4 Oasis HLB (Waters 製、リザーバー容量 6 mL) 又はこれと同等のもの</p> <p>5 Oasis Plus MCX (Waters 製) 又はこれと同等のもの</p> <p>6 50 mL のなす形フラスコを用いる場合には、同様に操作した後、流出液を少量の水で 200 mL のなす形フラスコに移し、誘導体化に供する試料溶液とする。</p> <p>7 必要に応じて超音波処理し、十分に拡散させる。</p> <p>8 乾燥器等に入れる。乾燥器を用いる場合は十分に庫内及び実験室内を換気すること。</p> <p>9 ZORBAX Eclipse XDB-C18 (Agilent Technologies 製、</p>

改正後	改正前
<p data-bbox="324 225 1099 384">本測定条件によるグリホサート誘導体の保持時間は約 7.2 分、グルホシネート誘導体の保持時間は約 4.4 分、3-メチルホスフィニコプロピオン酸誘導体の保持時間は約 5.8 分) 又はこれと同等のもの</p> <p data-bbox="293 395 936 432"><u>11</u> ACQUITY TQD (Waters 製) による条件例</p> <p data-bbox="224 438 629 475">(参考) 分析法バリデーション</p> <ul data-bbox="244 481 629 518" style="list-style-type: none"><li>・ 添加回収率及び繰返し精度</li></ul>	<p data-bbox="1305 225 2080 384">本測定条件によるグリホサート誘導体の保持時間は約 7.2 分、グルホシネート誘導体の保持時間は約 4.4 分、3-メチルホスフィニコプロピオン酸誘導体の保持時間は約 5.8 分) 又はこれと同等のもの</p> <p data-bbox="1274 395 1917 432"><u>10</u> ACQUITY TQD (Waters 製) による条件例</p> <p data-bbox="1205 438 1610 475">(参考) 分析法バリデーション</p> <ul data-bbox="1225 481 1610 518" style="list-style-type: none"><li>・ 添加回収率及び繰返し精度</li></ul>

## 改正後

添加成分名	試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
グリホサート	大麦	0.04	3	117	17
		20	3	82.8	6.5
	小麦	0.5	3	85.0	7.0
		5	3	86.4	6.1
	とうもろこし	0.1	3	85.4	13
		1	3	80.1	7.6
	稲わら	0.04	3	100	14
		0.2	3	97.3	4.2
N-アセチル グリホサート	稲発酵粗飼料	0.04	3	83.0	7.2
		0.2	3	88.6	8.8
	とうもろこし	0.04	5	102	7.1
グルホシネート	大麦	0.05	3	88.0	14
		0.5	3	100	6.5
	小麦	0.05	3	102	16
		0.2	3	93.1	6.2
	とうもろこし	0.05	3	103	14
		0.1	3	112	2.6
	稲わら	0.05	3	103	16
		0.5	3	94.2	5.4
3-メチル ホスフィニコ プロピオン酸	稲発酵粗飼料	0.05	3	92.7	11
		0.5	3	84.6	2.2
	大麦	0.05	3	81.2	17
		0.5	3	89.9	5.3
	小麦	0.05	3	98.0	7.2
		0.2	3	80.0	8.9
	とうもろこし	0.05	3	108	5.5
		0.1	3	85.7	7.0
N-アセチル グルホシネート	稲わら	0.05	3	117	3.3
		0.5	3	92.4	7.2
	稲発酵粗飼料	0.05	3	91.1	4.1
		0.5	3	76.9	10
	大麦	0.05	3	101	19
		0.5	3	89.0	7.0
	小麦	0.05	3	74.1	11
		0.2	3	82.2	7.4
N-アセチル グルホシネート	とうもろこし	0.05	3	85.4	11
		0.1	3	88.0	5.3
	稲わら	0.05	3	84.4	16
		0.5	3	82.4	13
	稲発酵粗飼料	0.05	3	82.3	10
	0.5	3	73.0	8.3	

## 改正前

添加成分名	試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
グリホサート	大麦	20	3	82.8	6.5
		0.04	3	117	17
	小麦	5	3	86.4	6.1
		0.5	3	85.0	7.0
	とうもろこし	1	3	80.1	7.6
		0.1	3	85.4	13
	稲わら	0.2	3	97.3	4.2
		0.04	3	100	14
(新設)	稲発酵粗飼料	0.2	3	88.6	8.8
		0.04	3	83.0	7.2
	大麦	0.5	3	100	6.5
グルホシネート	大麦	0.05	3	88.0	14
		0.5	3	100	6.5
	小麦	0.2	3	93.1	6.2
		0.05	3	102	16
	とうもろこし	0.1	3	112	2.6
		0.05	3	103	14
	稲わら	0.5	3	94.2	5.4
		0.05	3	103	16
3-メチル ホスフィニコ プロピオン酸	稲発酵粗飼料	0.5	3	84.6	2.2
		0.05	3	92.7	11
	大麦	0.5	3	89.9	5.3
		0.05	3	81.2	17
	小麦	0.2	3	80.0	8.9
		0.05	3	98.0	7.2
	とうもろこし	0.1	3	85.7	7.0
		0.05	3	108	5.5
N-アセチル グルホシネート	稲わら	0.5	3	92.4	7.2
		0.05	3	117	3.3
	稲発酵粗飼料	0.5	3	76.9	10
		0.05	3	91.1	4.1
	大麦	0.5	3	89.0	7.0
		0.05	3	101	19
	小麦	0.2	3	82.2	7.4
		0.05	3	74.1	11
N-アセチル グルホシネート	とうもろこし	0.1	3	88.0	5.3
		0.05	3	85.4	11
	稲わら	0.5	3	82.4	13
		0.05	3	84.4	16
	稲発酵粗飼料	0.5	3	73.0	8.3
	0.05	3	82.3	10	

改正後	改正前
<p>(略) 28~32 (略)</p> <p style="text-align: center;"><b>第9章 抗生物質</b></p> <p>第1節 (略) 第2節 各条 1~4 (略) 5 エフロトマイシン 5.1 定量試験法 (プレミックス) 5.1.1 平板法</p> <p style="text-align: center;"><b>A 試薬等の調製</b></p> <p>1)・2) (略) 3) エフロトマイシン標準液 常用標準エフロトマイシン <u>又はこれと同等のもの</u> 40 mg 以上を正確に量り、12号緩衝液-アセトニトリル (4+1) を正確に加えて溶かし、0.4 mg(力価)/mL のエフロトマイシン標準原液を調製する。 使用に際して、標準原液の一定量を希釈溶媒で正確に希釈し、1.6 µg(力価)/mL の高濃度標準液及び0.4 µg(力価)/mL の低濃度標準液を調製する。 4)~7) (略)</p> <p style="text-align: center;"><b>B 試料溶液の調製 (略)</b> <b>C 定 量 (略)</b></p> <p>(参考) 分析法バリデーション (略) 5.2 (略)</p>	<p>(略) 28~32 (略)</p> <p style="text-align: center;"><b>第9章 抗生物質</b></p> <p>第1節 (略) 第2節 各条 1~4 (略) 5 エフロトマイシン 5.1 定量試験法 (プレミックス) 5.1.1 平板法</p> <p style="text-align: center;"><b>A 試薬等の調製</b></p> <p>1)・2) (略) 3) エフロトマイシン標準液 常用標準エフロトマイシン 40 mg 以上を正確に量り、12号緩衝液-アセトニトリル (4+1) を正確に加えて溶かし、0.4 mg(力価)/mL のエフロトマイシン標準原液を調製する。 使用に際して、標準原液の一定量を希釈溶媒で正確に希釈し、1.6 µg(力価)/mL の高濃度標準液及び0.4 µg(力価)/mL の低濃度標準液を調製する。 4)~7) (略)</p> <p style="text-align: center;"><b>B 試料溶液の調製 (略)</b> <b>C 定 量 (略)</b></p> <p>(参考) 分析法バリデーション (略) 5.2 (略)</p>

改正後	改正前
<p>6~32 (略)</p> <p>第3節 (略)</p> <p style="text-align: center;"><b>第16章 動物由来 DNA</b></p> <p>第1節 (略)</p> <p>第2節 各条</p> <p>本節において bp (base pair) とあるのは、DNA の塩基対数を表す。</p> <p>また超純水とは、水を更に電気伝導率 5.6 <math>\mu\text{S}/\text{m}</math> 以下 (比抵抗 18 <math>\text{M}\Omega\cdot\text{cm}</math> 以上) に精製したものとする。なお、滅菌する場合は高压蒸気滅菌 (121 <math>^{\circ}\text{C}</math>、15 min 以上) 又は同等と認められる方法で処理する。</p> <p>試薬及び器具類は、必要に応じて滅菌したものを用いる。</p> <p>1 ほ乳動物由来 DNA</p> <p>1.1~1.4 (略)</p> <p>1.5 しか由来 DNA (適用範囲：動物質性飼料 (魚介類に由来するものを除く。))</p> <p style="text-align: center;"><b>A 試薬等の調製</b></p> <p>1)~9) (略)</p> <p>10) 陽性対照 <u>しか (品種：ホンシュウジカ又はエゾシカ) のミトコンドリア DNA を抽出<sup>注1</sup>し、TE 緩衝液を加えて溶かし、1 mL 中に DNA として 10 <math>\mu\text{g}</math> を含有する陽性対照を調製する。</u></p> <p>11) プライマー溶液 しか検出用プライマー対<sup>注2</sup>をそれぞれ滅菌した超純水に加えて、2 <math>\mu\text{mol}/\text{L}</math> の 5'プライマー溶液及び 3'プライマー溶液を調製する。</p>	<p>6~32 (略)</p> <p>第3節 (略)</p> <p style="text-align: center;"><b>第16章 動物由来 DNA</b></p> <p>第1節 (略)</p> <p>第2節 各条</p> <p>本節において bp (base pair) とあるのは、DNA の塩基対数を表す。</p> <p>また超純水とは、水を更に電気伝導率 5.6 <math>\mu\text{S}/\text{m}</math> 以下 (比抵抗 18 <math>\text{M}\Omega\cdot\text{cm}</math> 以上) に精製したものとする。なお、滅菌する場合は高压蒸気滅菌 (121 <math>^{\circ}\text{C}</math>、15 min 以上) 又は同等と認められる方法で処理する。</p> <p>試薬及び器具類は、必要に応じて滅菌したものを用いる。</p> <p>1 ほ乳動物由来 DNA</p> <p>1.1~1.4 (略)</p> <p>1.5 しか由来 DNA (適用範囲：動物質性飼料 (魚介類に由来するものを除く。))</p> <p style="text-align: center;"><b>A 試薬等の調製</b></p> <p>1)~9) (略)</p> <p>10) 陽性対照 <u>1.1 の A の 10)による。</u></p> <p>11) プライマー溶液 しか検出用プライマー対<sup>注1</sup>をそれぞれ滅菌した超純水に加えて、2 <math>\mu\text{mol}/\text{L}</math> の 5'プライマー溶液及び 3'プライマー溶液を調製する。</p>

改正後	改正前
<p>12) (略)</p> <p style="text-align: center;">B 検 出<sup>注3</sup></p> <p>DNA の抽出～判定 (略)</p> <p><u>注 1</u> <u>mtDNA エキストラクターCT キット (富士フィルム和光純薬製) を用いた方法又はこれと同等の結果が得られる方法</u></p> <p><u>2</u> しか検出用プライマー対 [deer54, deer33] (北海道システム・サイエンス製) 又はこれと同等の結果が得られるもの</p> <p><u>3</u> 試薬等及び器具類は必要に応じ冷却する。また、試験操作は必要に応じ冷却条件下で行うとともに、汚染防止のため陽圧クリーンベンチ内で行う。 (以下略)</p> <p>2~3 (略)</p> <p>第3節・第4節 (略)</p> <p style="text-align: center;">第17章～第20章 (略)</p> <p>別表1 (略)</p> <p>フェリシアン化カリウム 特級 <math>K_3Fe(CN)_6</math> (CAS : 13746-66-2)</p> <p><u>フェリムゾン E 体</u> <u><math>C_{15}H_{18}N_4</math> (CAS : 77359-18-3)</u></p> <p><u>フェリムゾン Z 体</u> <u><math>C_{15}H_{18}N_4</math> (CAS : 89269-64-7)</u></p> <p>(略)</p> <p>別表2～別表4 (略)</p>	<p>12) (略)</p> <p style="text-align: center;">B 検 出<sup>注2</sup></p> <p>DNA の抽出～判定 (略)</p> <p>(新設)</p> <p><u>注 1</u> しか検出用プライマー対 [deer54, deer33] (北海道システム・サイエンス製) 又はこれと同等の結果が得られるもの</p> <p><u>2</u> 試薬等及び器具類は必要に応じ冷却する。また、試験操作は必要に応じ冷却条件下で行うとともに、汚染防止のため陽圧クリーンベンチ内で行う。 (以下略)</p> <p>2~3 (略)</p> <p>第3節・第4節 (略)</p> <p style="text-align: center;">第17章～第20章 (略)</p> <p>別表1 (略)</p> <p>フェリシアン化カリウム 特級 <math>K_3Fe(CN)_6</math> (CAS : 13746-66-2)</p> <p>(新設)</p> <p>(新設)</p> <p>(略)</p> <p>別表2～別表4 (略)</p>