

# 飼料研究報告

第39号

平成26年

## Research Report of Animal Feed

Vol. 39  
2014



独立行政法人 農林水産消費安全技術センター  
Food and Agricultural Materials Inspection Center  
(Incorporated Administrative Agency)  
OIE Collaborating Centre for Animal Feed Safety and Analysis  
Saitama, Japan



## はしがき

『飼料研究報告』は、独立行政法人農林水産消費安全技術センター（FAMIC）の飼料検査担当職員が飼料及び飼料添加物並びにペットフードの分析・鑑定技術の改善、検査・試験法の開発等を目指して行った調査・研究内容を年度毎にとりまとめているものです。今号は、昭和41年度の創刊以来39巻目の発刊となります。

FAMICは、農業生産資材（飼料、肥料、農薬など）、ペットフードや食品等を対象として科学的分析を行い、農業生産資材の安全の確保、食品等の品質表示の適正化等に技術で貢献することを使命に掲げ、検査等の業務を行う組織です。

また、平成21年5月に「飼料の安全と分析」の分野で、国際獣疫事務局（OIE）コラボレーティング・センターに指定され、飼料の安全の確保に関する国際会議への参加や、FAMICのホームページ上にコラボレーティング・センターのページを設け、飼料のハザード、飼料分析法等の情報を発信しており、平成25年12月には、アジア太平洋地域のOIE加盟国を対象としてかび毒の分析に関する研修会を実施しました。

FAMICの飼料検査担当部署は、「飼料安全法」及び「ペットフード安全法」に基づき、飼料等及びペットフードの製造業者、輸入業者等に立入検査を実施するとともに、収去又は集取した試料等を分析し、飼料等及びペットフードの安全性の確保を図っています。

更に、検査業務を迅速かつ的確に実施するために、分析法の研究開発等にも取り組んでおり、新たな分析法開発の他、既に開発された分析法についても必要に応じて見直しを行っています。また、これらの研究成果は検査等業務に迅速に活用すると共に、本研究報告に掲載する他、学術雑誌等への投稿等により公表しています。

今回とりまとめた研究成果の中には、公定法として農林水産省消費・安全局長が通知する「飼料分析基準」に追加収載されているものがあります。また、これら飼料等に係る分析法の解説は、既に発刊されている『飼料分析法・解説 -2009-』（飼料分析基準研究会編著）の改訂の際に、追加収載する予定でおります。

本研究報告が飼料及び飼料添加物並びにペットフードの安全性の確保の一助となることを期待するとともに、関係各位の皆様には、更なるFAMICの技術レベルの向上のために、引き続き、御指導、御鞭撻を賜りますよう、お願い申し上げます。

平成26年9月

理事長 木村 真人

## 謝 辞

本報告に掲載した分析法の開発及び報告書の作成に当たり、御助言賜りました下記の飼料分析基準検討会の各委員に感謝申し上げます。

平成 25 年度飼料分析基準検討会委員  
(敬称略。五十音順。御役職は平成 26 年 3 月時点。)

- |        |   |
|--------|---|
| 石黒 瑛一  | 一般財団法人日本食品分析センター 顧問                               |
| 永西 修   | 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構<br>畜産草地研究所 家畜生理栄養研究領域 上席研究員 |
| 小田中 芳次 | 公益財団法人日本植物調節剤研究協会 研究所 技術顧問                        |
| 後藤 哲久  | 国立大学法人信州大学 農学部 応用生命科学科 教授                         |
| 中島 正博  | 名古屋市衛生研究所 生活環境部長                                  |
| 永山 敏廣  | 明治薬科大学 薬学部 教授                                     |
| 濱本 修一  | 農林水産省動物医薬品検査所 検査第二部長                              |
| 堀江 正一  | 大妻女子大学 家政学部 食物学科 教授                               |
| 松井 徹   | 国立大学法人京都大学大学院 農学研究科 教授                            |
| 松本 清   | 崇城大学 生物生命学部応用微生物工学科 教授                            |
| 宮崎 茂   | 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構<br>動物衛生研究所 企画管理部長           |
| 安井 明美  | 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構<br>食品総合研究所 アドバイザー           |

# 目 次

1 穀類中の 2,4-D 及びその関連物質の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による定量法	山本 克己, 野村 昌代, 山本 謙吾……………	1
2 飼料中のキャプタンのガスクロマトグラフによる定量法	齊木 雅一 ……………	17
3 穀類, 稲わら及び稲発酵粗飼料中のグリホサートの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による定量法	牧野 大作, 若宮 洋市, 榊原 良成, 船木 紀夫……………	30
4 飼料用イネ中のピメトロジンの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による定量法	武田 然也……………	44

## 技術レポート

1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法の妥当性確認 ～乾牧草及び稲わら中のペンディメタリンについて～	船木 紀夫, 設楽 賢治, 牧野 大作……………	55
2 共通試料による飼料中の動物由来たん白質 (牛) の検出法の共同試験	武田 然也, 橋本 仁康, 山本 貴之……………	62
3 遺伝子組換え小麦 (MON71800) の 1% 混入判定試験法の検討	橋本 仁康, 笠原 正輝, 會田 紀雄……………	68

## 精度管理

1 飼料中の粗たん白質, カルシウム及びりんの分析値に係る不確かさについて	小塚 健志, 永原 貴子……………	74
2 平成 25 年度飼料等の共通試料による分析鑑定について	小塚 健志, 藤田 敏文, 風間 鈴子, 三井 友紀子, 山西 正将, 佐古 理恵 ……………	81

## 調査資料

- 1 飼料中の有害物質等のモニタリング等の結果について（平成 25 年度）  
肥飼料安全検査部 飼料鑑定第一課，飼料鑑定第二課 …… 112
- 2 特定添加物検定結果等について（平成25年度）  
肥飼料安全検査部 飼料鑑定第二課 …………… 135
- 3 アフラトキシン定性用キットについて  
肥飼料安全検査部 飼料鑑定第一課 …………… 147
- 4 NaI (TI) シンチレーションスペクトロメータによる飼料中の放射性セシウムのス  
クリーニング法例 ―平成 24 年 3 月の暫定許容値見直しを受けた再検証―  
肥飼料安全検査部 飼料鑑定第一課 …………… 157

## 他誌掲載論文（抄録）

- 1 口蹄疫等の防疫における移動式レンダリング装置活用のための技術開発  
八木 行雄, 末吉 益雄, 勝田 賢, 宮崎 綾子, 鈴木 亨,  
田中 康男, 池口 厚男, 會田 紀雄, 石田 三佳, 中久保 亮,  
上村 涼子, 橋本 仁康, 弓削 正昭, 大崎 慎人, 犬丸 茂樹  
(家畜衛生学雑誌, 39(4), 149–156 (2014))…………… 165

## CONTENTS

1	Determination of 2,4-D and Related Compounds in Grains for Feed by LC-MS/MS Katsumi YAMAMOTO, Masayo NOMURA and Kengo YAMAMOTO .....	1
2	Determination of Captan in Feed by GC-ECD Masakazu SAIKI .....	17
3	Determination of Glyphosate in Grains, Rice Straw and Whole-crop Rice Silage for Feed by LC-MS/MS Daisaku MAKINO, Youichi WAKAMIYA, Yoshinari SAKAKIBARA and Norio FUNAKI .....	30
4	Determination of Pymetrozine in Rice Straw, Whole-crop Rice Silage and Paddy Rice for Feed by LC-MS/MS Zenya TAKEDA .....	44
§ Technical report		
1	Validation of the Simultaneous Determination Method of Pesticides by GC-MS ~ Pendimethalin in Grass Hay and Rice Straw ~ Norio FUNAKI, Kenji SHIDARA and Daisaku MAKINO .....	55
2	Collaborative Study on the Detection of Bovine Protein in Feed Zenya TAKEDA, Yoshiyasu HASHIMOTO and Takayuki YAMAMOTO .....	62
3	Study of Detection Test for Contamination of Genetically Modified Wheat (MON71800) Yoshiyasu HASHIMOTO, Masaki KASAHARA and Norio AITA .....	68
§ Proficiency test		
1	Measurement Uncertainty for the Analyses of Crude Protein, Calcium and Phosphorus in Feed Kenji KOZUKA and Takako NAGAHARA .....	74

2	Proficiency Test (in the Fiscal Year 2013)	Kenji KOZUKA, Toshifumi FUJITA, Reiko KAZAMA, Yukiko MITSUI, Masayuki YAMANISHI, and Rie SAKO .....	81
---	--	---	----

## § Investigative report

1	Monitoring Results of Undesirable Substances in Feeds (in the Fiscal Year 2013)	Feed Analysis 1st Division and 2nd Division, Fertilizer and Feed Inspection Department .....	112
2	Results of Official Testing of Specified Feed Additives (in the Fiscal Year 2013)	Feed Analysis 2nd Division, Fertilizer and Feed Inspection Department.....	135
3	Assessment of Qualitative Immunoassay Kits for Screening Test of Aflatoxin	Feed Analysis 1st Division, Fertilizer and Feed Inspection Department.....	147
4	Verification of the Screening Test for Radioactive Caesium in Animal Feed by a NaI(Tl) Scintillation Spectrometer	Feed Analysis 1st Division, Fertilizer and Feed Inspection Department.....	157

## § Papers accepted in other journals (abstract)

1	Technology development for the application of on-site rendering device in the prevention of epidemics such as foot-and-mouth disease	Yukio YAGI, Masuo SUEYOSHI, Ken KATSUDA, Ayako MIYAZAKI, Toru SUZUKI, Yasuo TANAKA, Atsuo IKEGUCHI, Norio AITA, Mitsuyoshi ISHIDA, Ryoh NAKAKUBO, Ryoko UEMURA, Yoshiyasu HASHIMOTO, Masaaki YUGE, Masato OSAKI and Shigeki INUMARU <i>(The Japanese Journal of Animal Hygiene (Kachiku Eiseigaku Zasshi))</i> , 39(4), 149–156 (2014)).....	165
---	--	--	-----

# 1 穀類中の2,4-D及びその関連物質の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による定量法

山本 克己\*, 野村 昌代\*, 山本 謙吾\*

## Determination of 2,4-D and Related Compounds in Grains for Feed by LC-MS/MS

Katsumi YAMAMOTO\*, Masayo NOMURA\* and Kengo YAMAMOTO

(\* Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department)

An analytical method was developed to determine levels of 2,4-D and related compounds in grains for feed using liquid chromatograph-tandem mass spectrometer (LC-MS/MS).

After adding water to the samples, 2,4-D and related compounds were extracted with acetone under acidic conditions, and the resulting solutions were filtered. The filtrate was then diluted with acetone to a final volume of 200 mL. The extract was purified by liquid-liquid distribution with hexane-ethyl acetate (1:1). 2,4-D related compounds, such as 2,4-D ethyl ester in the sample solutions were hydrolyzed to 2,4-D by heating for 30 minutes at 80 °C under alkaline condition. Then the sample solution was neutralized and purified with an SPE mini-column (Mega Bond Elut C18 from Agilent Technologies Inc.; Santa Clara, CA, U.S.), liquid-liquid distribution with diethylether under acidic condition, and an SPE mini-column (InertSep GC/PSA from GL Sciences Inc.; Tokyo, Japan). The sample solution was injected into the LC-MS/MS for determination of the 2,4-D level. LC separation was carried out on an ODS column (Atlantis T3, 2.1 mm i.d. × 150 mm, 3 µm from Waters; Milford, MA, U.S.) using 5 mmol/L ammonium acetate solution and 5 mmol/L ammonium acetate methanol solution as the mobile phase. In the MS/MS analysis, negative mode electrospray ionization (ESI-) was used.

Spike tests were conducted on grains. Wheat and rye were spiked with 0.5 or 0.05 mg/kg of 2,4-D and 2,4-D ethyl ester. Corn was spiked with same compounds at 0.05 or 0.01 mg/kg. The resulting values obtained for mean recovery and repeatability in terms of relative standard deviations (RSD<sub>r</sub>), respectively, were 78.7 to 93.6 % and not more than 5.7 % for 2,4-D, 84.0 to 103 % and not more than 6.8 % for 2,4-D ethyl ester.

A collaborative study was conducted in nine laboratories using wheat spiked with 0.5 µg/kg of 2,4-D and 2,4-D ethyl ester. The mean recovery, repeatability and reproducibility in terms of the relative standard deviations (RSD<sub>r</sub> and RSD<sub>R</sub>), and HorRat, respectively, were 84.5 % and 7.1 %, 12 %, and 0.63 for 2,4-D, and 95.5 % and 6.5 %, 8.7 %, and 0.48 for 2,4-D ethyl ester.

This method was validated and established for use in the inspection of 2,4-D and related compounds in grains for feed.

Key words: 2,4-D and related compounds ; liquid chromatograph-tandem mass spectrometer (LC-MS/MS) ; electrospray ionization (ESI) ; feed

\* 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

キーワード：2,4-D 及びその関連物質；液体クロマトグラフタンデム型質量分析計；エレクトロスプレーイオン化法；飼料

## 1 緒 言

2,4-D は 1950 年に国内登録されたホルモン型の選択性除草剤である。広葉雑草を枯らすのが、イネ科作物には効果は小さく、水田用除草剤として広く使用されている<sup>1)</sup>。

我が国では、農林水産省令における飼料の 2,4-D (2,4-D ナトリウム塩, 2,4-D ジメチルアミン塩, 2,4-D エチル, 2,4-D イソプロピル, 2,4-D ブトキシエチル及び 2,4-D アルカノールアミン塩 (以下「2,4-D 関連物質」という。)) を含む。) の残留基準値<sup>2)</sup>は、えん麦, 大麦, マイロ, 小麦及びライ麦で 0.5 mg/kg, とうもろこしで 0.05 mg/kg, 牧草で 260 mg/kg となっている。また, 飼料の有害物質の指導基準における残留基準値<sup>3)</sup>は, 稲わらで 1 mg/kg となっている。さらに, 厚生労働省の食品, 添加物等の規格基準における残留農薬基準値<sup>4)</sup>は, 米 (玄米) で 0.1 ppm, とうもろこしで 0.05 ppm, その他穀類では 0.5 ppm となっている。

食品中の 2,4-D の分析法としては, 厚生労働省通知試験法<sup>5)</sup>として個別試験法 (ガスクロマトグラフ及びガスクロマトグラフ質量分析計) が示されている。飼料中の 2,4-D の分析法としては, 既に飼料分析基準<sup>6)</sup>にガスクロマトグラフによる 2,4,5-T との同時分析法<sup>7)</sup>が記載されているが, この方法は操作が煩雑であり, また 2,4-D 関連物質を分析対象としていない。このことから, 一般財団法人日本食品分析センターが「平成 22 年度飼料中の有害物質等分析法開発事業」において開発した 2,4-D 及び MCPA エチルを分析対象とする液体クロマトグラフタンデム型質量分析計 (以下「LC-MS/MS」という。) による同時分析法<sup>8)</sup> (以下「JFRL 法」という。) を基に, 2,4-D 及びその関連物質に対して適用可能な方法を開発し, 飼料分析基準への適用の可否について検討したのでその概要を報告する。

参考に 2,4-D 及び 2,4-D エチルの構造式等を Fig. 1 に示した。

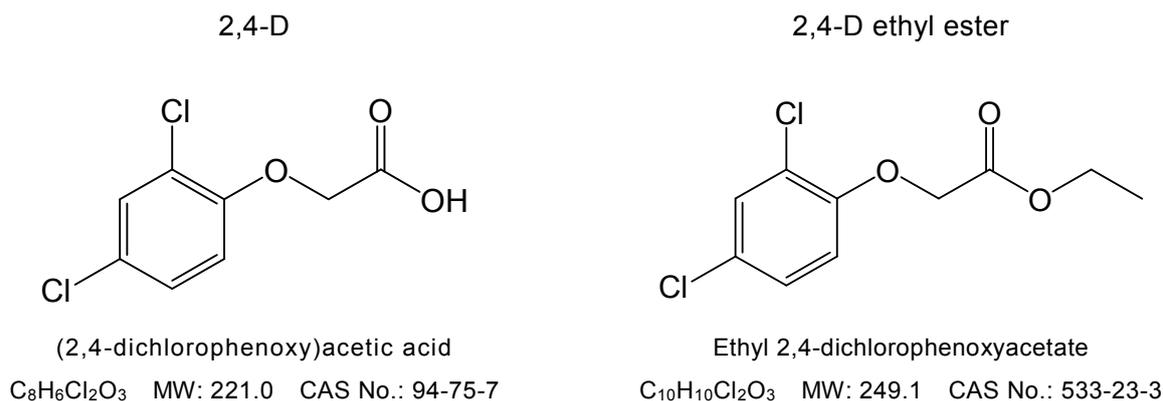


Fig. 1 Chemical structures of 2,4-D and 2,4-D ethyl ester

## 2 実験方法

### 2.1 試料

小麦, とうもろこし, ライ麦, チモシー乾草及びライグラス乾草を, それぞれ 1 mm の網ふるいを通すまで粉砕して用いた。

## 2.2 試薬

1) アセトニトリル, アセトン, 酢酸エチル, ジエチルエーテル, トルエン, ヘキサン, 塩化ナトリウム及び硫酸ナトリウム(無水)は残留農薬・PCB試験用を用いた。メタノールは抽出及び精製操作には残留農薬・PCB試験用を, 溶離液にはLC/MS用を用いた。酢酸アンモニウム溶液は和光純薬工業製 1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液 LC 用を用いた。水は超純水(JIS K 0211 に定める 5218 の超純水)を用いた。その他の試薬は特級(ただしギ酸は98%のもの)を用いた。

### 2) 2,4-D 標準液

2,4-D 標準品(関東化学製, 純度98.6%) 25 mg を正確に量って50 mL の全量フラスコに入れ, アセトンを加えて溶かし, 更に標線までアセトンを加えて2,4-D 標準原液を調製した(この液1 mL は, 2,4-D として0.5 mg ( $f=0.986$ ) を含有する。)

使用に際して, 2,4-D 標準原液の一定量を, メタノール-ギ酸(1000+1)で正確に希釈し, 1 mL 中に2,4-D として0.004, 0.008, 0.02, 0.04, 0.08, 0.2 及び0.4 µg を含有する各2,4-D 標準液を調製した。

### 3) 2,4-D エチル標準原液

2,4-D エチルエステル標準品(Dr. Ehrenstorfer 製, 純度97.0%) 25 mg を正確に量って50 mL の全量フラスコに入れ, アセトンを加えて溶かし, 更に標線までアセトンを加えて2,4-D エチル標準原液を調製した(この液1 mL は, 2,4-D エチルとして0.5 mg ( $f=0.970$ ) を含有する。)

## 2.3 装置及び器具

- 1) 粉碎機: Retsch 製 ZM-100 (使用時回転数: 14000 rpm)
- 2) 乾牧草用粉碎機: Retsch 製 SM-100 (使用時回転数: 1430 rpm)
- 3) 振とう機: タイテック製 レシプロシェーカーSR-2W
- 4) ロータリーエバポレーター: BÜCHI 製 R-200
- 5) ウォーターバス: BÜCHI 製 B-490
- 6) 吸引マニホールド: ジーエルサイエンス製 GL-SPE 吸引マニホールド
- 7) オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム: Agilent Technologies 製 Mega Bond Elut C18 カートリッジ(充てん剤量1 g) にリザーバー(20 mL) を連結したもの
- 8) グラファイトカーボン/エチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム: ジーエルサイエンス製 InertSep GC/PSA カートリッジ(充てん剤量500 mg/500 mg) にリザーバー(50 mL) を連結したもの
- 9) 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計:  
LC部: Waters 製 ACQUITY UPLC System  
MS部: Waters 製 ACQUITY Xevo TQD LC/MS/MS System

## 2.4 定量方法

### 1) 抽出

分析試料10.0 g を量って300 mL の共栓三角フラスコに入れ, 水20 mL を加え, 30分間静置後, 更に塩酸(4 mol/L) 5 mL 及びアセトン100 mL を加え, 30分間振り混ぜて(300 rpm) 抽出した。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

引る過した後、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、同様に吸引ろ過した。更に全量フラスコの標線までアセトンを加え、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 8 mL を、あらかじめ塩化ナトリウム溶液 (10 w/v%) 100 mL 及び酢酸エチルーヘキサン (1+1) 100 mL を入れた 300 mL の分液漏斗 A に正確に加え、5 分間振り混ぜた後静置した。水層 (下層) を 300 mL の分液漏斗 B に入れ、酢酸エチルーヘキサン層 (上層) を 300 mL の三角フラスコに入れた。分液漏斗 A を酢酸エチルーヘキサン (1+1) 50 mL で洗浄し、洗液を分液漏斗 B に加え、5 分間振り混ぜた後静置し、水層を捨て、酢酸エチルーヘキサン層を先の三角フラスコに合わせた。酢酸エチルーヘキサン層を適量の硫酸ナトリウム (無水) で脱水し、200 mL のなす形フラスコにろ紙 (5 種 A) でろ過した。分液漏斗 B 及び先の三角フラスコを少量の酢酸エチルーヘキサン (1+1) で洗浄し、洗液を先のろ紙を通してろ液を合わせた。ろ液を 40 °C 以下の水浴で約 1 mL まで減圧濃縮し、窒素ガスを送って乾固した。メタノール 2 mL を加えて残留物を溶かし、加水分解に供する試料溶液とした。

## 3) 加水分解

試料溶液の入った 200 mL のなす形フラスコに水酸化ナトリウム溶液 (1.5 mol/L) 1 mL を加え、冷却管を付けて 80 °C の水浴で 30 分間加温した後放冷した。pH を塩酸 (1.5 mol/L) で 7.5~8.0 に調整 (pH は pH 試験紙を用いて確認) した後、炭酸水素ナトリウム溶液 (0.1 w/v%) 16 mL を加え、カラム処理 I に供する試料溶液とした。

## 4) カラム処理 I

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムをメタノール 10 mL 及び水 10 mL で順次洗浄した (吸引マニホールドを用い、流速を 1 mL/min 程度とした。以下同じ。)。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た。50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、試料溶液の入っていたなす形フラスコを炭酸水素ナトリウム溶液 (0.1 w/v%) -メタノール (1+1) 5 mL で洗浄し、洗液をミニカラムに加えて 2,4-D を溶出させ、更に同溶媒 15 mL をミニカラムに加えて同様に溶出させた。この溶出液を液液分配 II に供する試料溶液とした。

## 5) 液液分配 II

試料溶液をあらかじめ塩酸 (4 mol/L) 5 mL 及び塩化ナトリウム溶液 (10 w/v%) 100 mL を入れた 300 mL の分液漏斗 C に加えた。試料溶液の入っていたなす形フラスコをジエチルエーテル 50 mL で洗浄し、洗液を分液漏斗 C に加え、5 分間振り混ぜた後静置した。水層 (下層) を 300 mL の分液漏斗 D に入れ、ジエチルエーテル層 (上層) を 200 mL の三角フラスコに入れた。分液漏斗 C をジエチルエーテル 50 mL で洗浄し、洗液を分液漏斗 D に加え、5 分間振り混ぜた後静置し、水層を捨て、ジエチルエーテル層を先の三角フラスコに合わせた。ジエチルエーテル層を適量の硫酸ナトリウム (無水) で脱水し、200 mL のなす形フラスコにろ紙 (5 種 A) でろ過した。分液漏斗 D 及び先の三角フラスコを少量のジエチルエーテルで洗浄し、洗液を先のろ紙を通してろ液を合わせた。ろ液を 40 °C 以下の水浴で約 1 mL まで減圧濃縮し、窒素ガスを送って乾固した。アセトニトリルトルエン (3+1) 5 mL を加えて残留物を溶かし、カラム処理 II に供する試料溶液とした。

## 6) カラム処理 II

グラファイトカーボン/エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムをアセトニトリル-トルエン (3+1) 10 mL で洗浄した。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た。更に、試料溶液の入っていたなす形フラスコをアセトニトリル-トルエン (3+1) 5 mL で洗浄し、洗液をミニカラムに入れ、同様に流出させた。50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、試料溶液の入っていたなす形フラスコをアセトニトリル-トルエン-ギ酸 (75+25+1) 5 mL で洗浄し、洗液をミニカラムに加えて 2,4-D を溶出させ、更に同溶媒 25 mL をミニカラムに加えて同様に溶出させた。溶出液を 40 °C 以下の水浴で約 1 mL まで減圧濃縮し、窒素ガスを送って乾固した。メタノール-ギ酸 (1000+1) 1 mL を正確に加えて残留物を溶かし、LC-MS/MS による測定に供する試料溶液とした。

## 7) LC-MS/MS による測定

試料溶液及び各 2,4-D 標準液各 5 µL を LC-MS/MS に注入し、選択反応検出 (以下「SRM」という。) クロマトグラムを得た。測定条件を Table 1 及び 2 に示した。

Table 1 Operating conditions of LC-MS/MS

Column	Waters, Atlantis T3 (2.1 mm i.d. × 150 mm, 3 µm)
Mobile phase	5 mmol/L ammonium acetate solution - 5 mmol/L ammonium acetate methanol solution (70:30) → 10 min → (0:100)(10 min)
Flow rate	0.2 mL/min
Column temperature	40 °C
Ionization	Electrospray ionization (ESI)
Mode	Negative
Ion source temperature	150 °C
Desolvation gas temperature	400 °C
Capillary voltage	0.6 kV

Table 2 MS/MS parameters

Target substance	Precursor ion ( <i>m/z</i> )	Product ion ( <i>m/z</i> )	Qualifier ion ( <i>m/z</i> )	Cone voltage (V)	Collision energy (eV)
2,4-D	219	161	-	28	12
	221	-	163		

## 8) 計 算

得られた SRM クロマトグラムから 2,4-D のピーク面積及び高さを求めて検量線を作成し、試料中の 2,4-D 量を算出した。

また、2,4-D エチルのみを添加して添加回収試験を行った際の回収率の計算は、検量線から求めた 2,4-D の濃度を次式により 2,4-D エチルの濃度に換算し、添加した 2,4-D エチルの濃度で除してその割合を求めることにより行った。

試料中の 2,4-D エチル量 =  $A \times 249.1 / 221.0$

A : 検量線から求めた試料中の 2,4-D 量

なお、定量法の概要を Scheme 1 に示した。

## 2.5 乾牧草の定量方法

- 1) 抽出 分析試料 10.0 g を量って 300 mL の共栓三角フラスコに入れ、水 30 mL を加え、30 分間静置後、塩酸 (4 mol/L) 5 mL 及びアセトン 120 mL を加え、30 分間振り混ぜて (300 rpm) 抽出した。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、同様に吸引ろ過した。更に全量フラスコの標線までアセトンを加えた。
- 2) 希釈 1) で得られた液の一定量をアセトンで正確に 500 倍希釈して液液分配 I に供する試料溶液とし、2.4 の 2) 以降の操作を行い定量した。

## 2.6 高濃度試料溶液 (乾牧草) の希釈方法の検討

2,4-D として、チモシー乾草に 260 mg/kg 相当量を添加し、2.5 の 1) のとおり操作し得られた抽出液 3 点を用いて、各々下記 1) 及び 2) に従い、得られた試料溶液を LC-MS/MS に供し、添加回収率を比較した。

- 1) 2.5 の 2) に従い抽出液をアセトンで正確に 500 倍希釈した後、2.4 の 2) 以降の操作を行った。
- 2) 抽出液を希釈せずに 2.4 の 2) から 6) までの操作を行った後、更にメタノールーギ酸 (1000+1) で正確に 500 倍希釈した。

## Sample 10.0 g (300 mL Erlenmeyer flask)

- add 20 mL of water and allow to stand for 30 min
- add 5 mL of HCl (4 mol/L) and 100 mL of acetone and shake for 30 min
- filtrate with suction filter (No.5B)
- wash with 50 mL of acetone
- top up to 200 mL with acetone
- 8 mL of sample solution

## Liquid liquid extraction I (300 mL separatory funnel)

- add 100 mL of sodium chloride solution (10 w/v%)
- add hexane-ethyl acetate (1:1) and shake for 5 min (twice: 100 mL and 50 mL)
- put hexane-ethyl acetate layer into 300 mL of Erlenmeyer flask
- add sodium sulfate
- filtrate (5A)
- evaporate to dryness under 40 °C
- dissolve in 2 mL of methanol

## Hydrolysis reaction

- add 1 mL of NaOH (1.5 mol/L)
- reflux in water bath (80 °C) for 30 min
- adjust pH to 7.5~8.0 with HCl (1.5 mol/L)
- add 16 mL of sodium bicarbonate solution (0.1 w/v%)

## Mega Bond Elut C18 cartridge

- prewash with 10 mL of methanol and 10 mL of water
- apply sample solution
- elute with 20 mL of sodium bicarbonate solution (0.1 w/v%) - methanol (1:1)

## Liquid liquid extraction II (300 mL separatory funnel)

- add 5 mL of HCl (4 mol/L) and 100 mL of sodium chloride solution (10 w/v%)
- apply sample solution
- add diethylether and shake for 5 min (twice: 50 mL)
- put diethylether layer into 200 mL Erlenmeyer flask
- add sodium sulfate
- filtrate (5A)
- evaporate to dryness under 40 °C
- dissolve in 5 mL of acetonitrile - toluene (3:1)

## InertSep GC/PSA cartridge

- prewash with 10 mL of acetonitrile - toluene (3:1)
- apply sample solution
- wash with 5 mL of acetonitrile - toluene (3:1)
- elute with 30 mL of acetonitrile - toluene - formic acid (75:25:1)
- evaporate to dryness under 40 °C
- dissolve in 1.0 mL of methanol - formic acid (1000:1)

## LC-MS/MS

Scheme 1 Analytical procedure for 2,4-D and related compounds in feed

### 3 結果及び考察

#### 3.1 LC-MS/MS 測定条件の検討

JFRL 法<sup>8)</sup>ではイオン化法としてエレクトロスプレーイオン化法（以下「ESI 法」という）を用いていることから、本法においても ESI 法を用いて検討を行った。

標準液について、本法の測定条件によりオートチューン機能を使用して、感度の高いプリカーサーイオン及びプロダクトイオンの最適なコーン電圧及びコリジョンエネルギーを確認したところ、Table 1 及び Table 2 に示した条件が最適であった。

#### 3.2 検量線

2.2 の 2) に従って調製した 2,4-D として各 0.004, 0.008, 0.02, 0.04, 0.08, 0.2 及び 0.4  $\mu\text{g/mL}$  相当量の各標準液各 5  $\mu\text{L}$  を LC-MS/MS に注入し、得られた SRM 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。得られた検量線は、Fig. 2 のとおりであり、2,4-D で各 0.004~0.4  $\mu\text{g/mL}$  相当量（注入量として 0.02~2 ng 相当量）の範囲で直線性を示した。

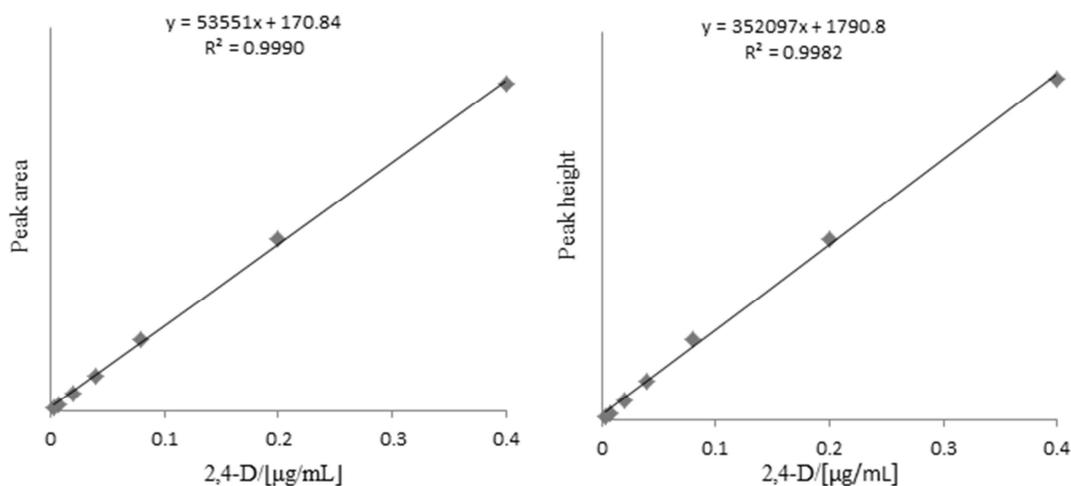


Fig. 2 Calibration curves of 2,4-D by peak area (Left) and peak height (Right)

#### 3.3 乾牧草を対象とした JFRL 法の適用について

飼料中の 2,4-D の残留基準値は、主要穀類において 0.5 mg/kg 以下であるのに対し、乾牧草では 260 mg/kg となっている。本法を基準値相当量に汚染された乾牧草に適用するためには、試料溶液の希釈が必要となる。

JFRL 法では、最終的に得られた試料溶液を希釈し、LC-MS/MS に供している。そこで、2.6 のとおり試料溶液を調製し、回収率の比較を行った。その結果、Table 3 のとおり両者間で回収率に有意差は認められなかったが、高濃度の試料を分析に供することによるガラス器具等への汚染及びミニカラムからの溶出画分の変動を防止することを考慮し、乾牧草については抽出液をアセトンで 500 倍希釈した後、2.4 の 2) 以降の操作を行うこととした。

Table 3 Comparison of recoveries of 2,4-D in grass hay by dilution of sample solution

Pesticide	Spiked level (mg/kg)	Run No.	diluted after extraction	diluted after InertSep GC/PSA
			Recovery (%)	Recovery (%)
2,4-D	260	1	76.1	75.6
		2	76.9	78.1
		3	77.5	77.2

### 3.4 妨害物質の検討

えん麦, 大麦, マイロ, 小麦, とうもろこし (2 種類), ライ麦及び乾牧草 (アルファルファ乾草, チモシー乾草及びライグラス乾草) を用い, 本法により調製した試料溶液を LC-MS/MS に注入し, 定量を妨げるピークの有無を確認した. 大麦において 2,4-D と同じ保持時間に検出下限相当のピークが認められたが, 確認イオンにおいても同様に検出されていることから, 2,4-D による残留と判断し, その結果, 定量を妨げる妨害ピークは認められなかった.

なお, 当該大麦の SRM クロマトグラムを Fig. 3 の B) に示した.

### 3.5 添加回収試験

JFRL 法<sup>8)</sup> では, 2,4-D 関連物質のうち, 最も極性の低い 2,4-D ブトキシエチルについて, 加水分解率の検討が行われ, 良好な結果が得られていることから, 本法では全ての 2,4-D 関連物質に適用可能であると考え, 本検討では, 2,4-D との含量として残留基準値に含まれるエステル体の 2,4-D 関連物質の代表として 2,4-D エチルを選定して検討した.

2,4-D として, 小麦及びライ麦に 0.5 及び 0.05 mg/kg 相当量 (最終試料溶液中で各 0.2 及び 0.02 µg/mL 相当量), とうもろこしに 0.05 及び 0.01 mg/kg 相当量 (最終試料溶液中で各 0.02 及び 0.004 µg/mL 相当量), ライグラス乾草に 260 及び 10 mg/kg 相当量 (最終試料溶液中で各 0.208 及び 0.008 µg/mL 相当量) を添加し, 本法により 3 点併行で定量し, 回収率及び繰返し精度を検討した.

また, 2,4-D エチルは, 加水分解により 2,4-D に変換されることから, 両者が共存している場合には定量値は 2,4-D 及び 2,4-D エチルの含量として算出される. このことから 2,4-D エチルの添加回収試験による試験の際には 2,4-D エチルのみを添加して評価を行うこととした. 2,4-D エチルとして, 小麦及びライ麦に 0.5 及び 0.05 mg/kg 相当量 (最終試料溶液中で 2,4-D として各 0.18 及び 0.018 µg/mL 相当量), とうもろこしに 0.05 及び 0.01 mg/kg 相当量 (最終試料溶液中で 2,4-D として各 0.018 及び 0.0035 µg/mL 相当量), ライグラス乾草に 260 及び 10 mg/kg 相当量 (最終試料溶液中で 2,4-D として各 0.185 及び 0.0071 µg/mL 相当量) を添加し, 本法により 3 点併行で定量し, 回収率及び繰返し精度を検討した.

これらの結果を Table 4 及び Table 5 に示した. 2,4-D については, 小麦では平均回収率 86.0~90.2 %, その繰返し精度は, 相対標準偏差 (RSD<sub>r</sub>) として 5.0 % 以下, 同様にライ麦では 84.8~93.6 % 及び 4.7 % 以下, とうもろこしでは 78.7~91.3 % 及び 5.7 % 以下, ライグラス乾草では 78.3~87.0 % 及び 8.5 % 以下であった. また, 2,4-D エチルについては, 小麦では平均回収率 91.3~94.7 %, その繰返し精度は, RSD<sub>r</sub> として 1.9 % 以下, 同様にライ麦では 92.1~96.2 % 及び 6.8 % 以下, とうもろこしでは 84.0~103 % 及び 2.7 % 以下, ライグラス乾草では 88.8~96.9 % 及び

3.0 %以下であった。

なお、添加回収試験で得られた SRM クロマトグラムの一例を Fig. 3 に示した。

Table 4 Recoveries for 2,4-D

Spiked level (mg/kg)	Feed types							
	Wheat		Rye		Corn		Ryegrass hay	
	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)
260	-	-	-	-	-	-	78.3	8.5
10	-	-	-	-	-	-	87.0	7.0
0.5	86.0	5.0	93.6	1.9	-	-	-	-
0.05	90.2	1.7	84.8	4.7	78.7	2.9	-	-
0.01	-	-	-	-	91.3	5.7	-	-

a) Mean ( $n = 3$ )

b) Relative standard deviation of repeatability

Table 5 Recoveries for 2,4-D ethyl ester

Spiked level (mg/kg)	Feed types							
	Wheat		Rye		Corn		Ryegrass hay	
	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)
260	-	-	-	-	-	-	88.8	3.0
10	-	-	-	-	-	-	96.9	0.9
0.5	91.3	1.8	92.1	6.8	-	-	-	-
0.05	94.7	1.9	96.2	1.7	84.0	2.4	-	-
0.01	-	-	-	-	103	2.7	-	-

a) Mean ( $n = 3$ )

b) Relative standard deviation of repeatability

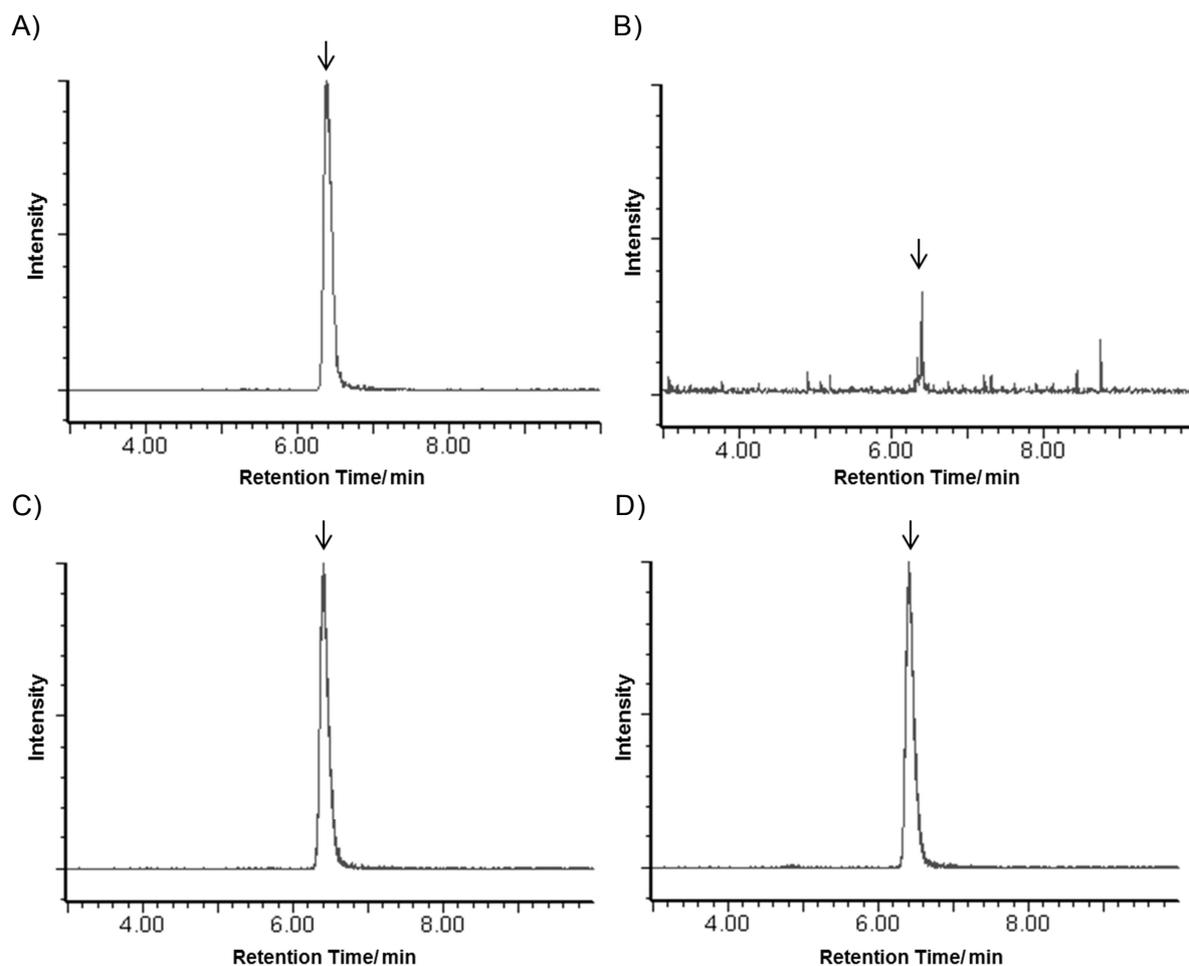


Fig. 3 SRM chromatograms

(Arrows indicate the peak of 2,4-D and each peak is shown as 100 % in each segment except B), in which the peak of 2,4-D in the lowest standard solution (0.004  $\mu\text{g/mL}$ ) is to be shown as 100 %.)

- A) Standard solution (The concentration is 0.2  $\mu\text{g/mL}$  for 2,4-D.)
- B) Sample solution of barley (not spiked with 2,4-D)
- C) Sample solution of wheat (spiked at 0.5 mg/kg of 2,4-D)
- D) Sample solution of wheat (spiked at 0.5 mg/kg of 2,4-D ethyl ester)

### 3.6 定量下限及び検出下限

本法の定量下限及び検出下限を確認するため、とうもろこし及びライグラス乾草に2,4-D又は2,4-D エチルを添加した試料について、添加回収試験により得られる2,4-DのピークのSN比が10及び3となる濃度を求めた。

その結果、得られたピークのSN比が10以上となる濃度は、とうもろこしで0.01 mg/kg、ライグラス乾草で10 mg/kgであった。また、Table 4及びTable 5に示したとおり、当該濃度における添加回収試験結果は良好であった。

また、SN比が3となる濃度は、とうもろこしで0.003 mg/kg、ライグラス乾草で3 mg/kgであった。

以上の結果から、本法における2,4-Dの定量下限は0.01 mg/kg（乾牧草は10 mg/kg）、検出下限は0.003 mg/kg（乾牧草は3 mg/kg）であった。

### 3.7 共同試験

本法の室間再現精度を確認するため、共通試料による共同試験を濃度非通知、かつ非明示の 2 点反復（計 8 点）で実施した。

共通試料として、小麦に 2,4-D 及び 2,4-D エチルとしてそれぞれ 0.5 mg/kg 相当量（それぞれ 10 g に対して 1 mL 中に各 5 µg を含有する各標準液 1 mL 添加）及びライグラス乾草に 2,4-D 及び 2,4-D エチルとしてそれぞれ 260 mg/kg 相当量（それぞれ 10 g に対して 1 mL 中に各 2600 µg を含有する各標準液 1 mL）を、各試験室にて分析開始の前日にそれぞれ添加して調製した試料を用いた。参加試験室は、一般財団法人日本食品分析センター多摩研究所、一般社団法人日本科学飼料協会科学飼料研究センター、全国農業協同組合連合会飼料畜産中央研究所品質管理研究室、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（計 9 試験室）であった。結果の解析については国際的にハーモナイズされた共同試験に関する手順<sup>9), 10)</sup>を参考に、Cochran 検定、外れ値 1 個の Grubbs 検定及び外れ値 2 個の Grubbs 検定を行い、外れ値の有無を確認した上で平均回収率、繰返し精度 ( $RSD_f$ ) 及び室間再現精度 ( $RSD_R$ ) を算出し、得られた  $RSD_R$  から、修正 Horwitz 式を用いて HorRat を求めた。

結果は Table 6 及び Table 7 のとおりであった。

小麦においては 2,4-D 及び 2,4-D エチルについて、平均回収率は 84.5 及び 95.5 %、 $RSD_f$  はそれぞれ 7.1 及び 6.5 %、 $RSD_R$  はそれぞれ 12 及び 8.7 %、HorRat はそれぞれ 0.63 及び 0.48 であり、いずれも良好な室間再現精度が得られた。一方、ライグラス乾草においては 2,4-D 及び 2,4-D エチルについて、平均回収率は 81.9 及び 82.9 %、 $RSD_f$  はそれぞれ 13 及び 6.2 %、 $RSD_R$  はそれぞれ 33 及び 21 %、HorRat はそれぞれ 4.6 及び 2.9 であった。ライグラス乾草における HorRat がいずれも目標とする 2 以下に収まらなかったため、これらについては良好な室間再現精度が得られなかった。

ライグラス乾草の室間再現精度が小麦と比べて大きくなった原因として、加水分解後の中和操作における終点の見極めが非常に困難（小麦では中性に達した時点で試料溶液が白濁するが、ライグラス乾草では不変）であり、pH が酸性に行き過ぎた際に何らかの理由で損失が起こった可能性等が考えられた。このことから、乾牧草の定量については、手順の省略の可否等について更なる検討が必要であると考えられた。

参考のため、各試験室で使用した LC-MS/MS の機種等を Table 8 に示した。

Table 6 Collaborative study results of 2,4-D

Lab. No.	Feed types			
	Wheat (mg/kg)		Ryegrass hay (mg/kg)	
1	0.385	0.395	211	249
2	0.452	0.436	226	231
3	0.389	0.371	231	216
4	0.408	0.389	198	210
5	0.441	0.425	260	237
6	0.440	0.520	225	134
7	0.386	0.319	150	194
8	0.483	0.421	327	352
9	0.474	0.468	96.8	87.0
Spiked level ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	0.5		260	
Mean value <sup>a)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	0.422		213	
Recovery <sup>a)</sup> (%)	84.5		81.9	
RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	7.1		13	
RSD <sub>R</sub> <sup>c)</sup> (%)	12		33	
PRSD <sub>R</sub> <sup>d)</sup> (%)	18		7.1	
HorRat	0.63		4.6	

a)  $n=18$ 

b) Relative standard deviation of repeatability within laboratory

c) Relative standard deviation of reproducibility between laboratories

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

Table 7 Collaborative study results of 2,4-D ethyl ester

Lab. No.	Feed types			
	Wheat (mg/kg)		Ryegrass hay (mg/kg)	
1	0.442	0.440	184	189
2	0.448	0.460	182	178
3	0.434	0.453	196	206
4	0.394	0.399	179	180
5	0.421	0.435	225	214
6	0.413	0.395	245	241
7	0.409 <sup>a)</sup>	0.324 <sup>b)</sup>	128	170
8	0.908 <sup>a)</sup>	0.766 <sup>a)</sup>	231	251
9	0.467	0.450	130	119
Spiked level ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	0.5		260	
Spiked level as 2,4-D ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	0.444		231	
Mean value <sup>c)</sup> (mg/kg)	0.424		192	
Recovery <sup>c)</sup> (%)	95.5		82.9	
RSD <sub>r</sub> <sup>d)</sup> (%)	6.5		6.2	
RSD <sub>R</sub> <sup>e)</sup> (%)	8.7		21	
PRSD <sub>R</sub> <sup>f)</sup> (%)	18		7.3	
HorRat	0.48		2.9	

- a) Data excluded by the 1st Cochran test
- b) These data were included although it was an outlier by the 2nd Cochran test, since the results of RSD<sub>r</sub> and RSD<sub>R</sub> were good.
- c) Wheat:  $n=16$ ; Ryegrass hay:  $n=18$
- d) Relative standard deviation of repeatability within laboratory
- e) Relative standard deviation of reproducibility between laboratories
- f) Predicted relative standard deviation of reproducibility between laboratories calculated from the modified Horwitz equation

Table 8 Instruments used in the collaborative study

Lab. No.	LC-MS/MS	LC column (i.d.×length, particle size)
1	LC: Waters ACQUITY UPLC	Agilent Technologies
	MS/MS: Waters	ZORBAX Eclipse XDB-C18
	ACQUITY TQD	(2.1 mm×150 mm, 5 µm)
2	LC: Waters ACQUITY UPLC	Agilent Technologies
	MS/MS: Waters	ZORBAX Eclipse XDB-C18
	ACQUITY TQD	(2.1 mm×150 mm, 5 µm)
3	LC: Waters ACQUITY UPLC	Waters
	MS/MS: Waters	Atlantis T3
	ACQUITY Xevo TQD LC/MS/MS System	(2.1 mm×150 mm, 3 µm)
4	LC: Waters ACQUITY UPLC	Waters
	MS/MS: Waters	ACQUITY UPLC® BEH C18
	ACQUITY TQD	(2.1 mm×150 mm, 1.7 µm)
5	LC: Waters MassLynx	Kanto Chemical
	MS/MS: Waters	Mightysil RP-18GP
	ACQUITY TQD	(2.0 mm×150 mm, 3 µm)
6	LC: Waters ACQUITY UPLC	Agilent Technologies
	MS/MS: Waters	ZORBAX Eclipse XDB-C18
	Quattro premier XE	(2.1 mm×150 mm, 5 µm)
7	LC: Shimadzu Mexera X2	Waters
	MS/MS: Shimadzu	Atlantis T3
	LC-MS 8040	(2.1 mm×150 mm, 3 µm)
8	LC: Agilent Technologies 1200	GL Sciences
	MS/MS: Agilent Technologies	Inertsil ODS-SP
	6410 Triple Quad LC/MS	(2.1 mm×150 mm, 5 µm)
9	LC: Agilent Technologies 1200	Kanto Chemical
	MS/MS: AB SCIEX	Mightysil RP-18GP
	API-3200 Q Trap	(2.0 mm×150 mm, 5 µm)

#### 4 まとめ

穀類及び乾牧草中に残留する 2,4-D 及びその関連物質について、JFRL 法を基に、LC-MS/MS を用いた定量法の飼料分析基準への適用の可否について検討したところ、以下の結果が得られ、穀類においては適用が可能であった。

- 1) 検量線は、0.004~0.4 ng/mL (注入量として 0.02~2 ng) の範囲で直線性を示した。
- 2) 2,4-D 関連物質のうち、2,4-D エチルを選定し、検討したところ良好な結果が得られたこと及び最も極性の低い 2,4-D ブトキシエチルについて、本法の条件で良好に加水分解が行われていることから、本法は全ての 2,4-D 関連物質に適用可能であると考えられた。
- 3) 本法に従って得られた SRM クロマトグラムでは、10 種類の飼料原料において定量を妨げるピークは認められなかった。
- 4) 2,4-D として、小麦及びライ麦に 0.5 及び 0.05 mg/kg 相当量、とうもろこしに 0.05 及び 0.01 mg/kg 相当量を添加した試料並びに 2,4-D エチルとして、小麦及びライ麦に 0.5 及び 0.05 mg/kg

相当量，とうもろこしに 0.05 及び 0.01 mg/kg 相当量，ライグラス乾草に 260 及び 10 mg/kg 相当量を添加した試料を用いて，本法により 3 点併行で定量し，回収率及び繰返し精度を検討したところ，良好な結果を得た．

- 5) 本法による定量下限は試料中で 0.01 mg/kg（乾牧草は 10 mg/kg），検出下限は 0.003 mg/kg（乾牧草は 3 mg/kg）であった．
- 6) 小麦及びライグラス乾草に 2,4-D 及び 2,4-D エチルを添加（試料中に 2,4-D 及び 2,4-D エチルとして 0.5 及び 260 mg/kg 相当量）した試料を用いて，9 試験室において本法に従い共同試験を実施した．その結果，小麦においては良好な室間再現精度が得られたが，ライグラス乾草においては良好な室間再現精度が得られなかった．

## 謝 辞

共同試験に参加していただいた一般財団法人日本食品分析センター多摩研究所，一般社団法人日本科学飼料協会科学飼料研究センター及び全国農業共同組合連合会飼料畜産中央研究所品質管理研究室における関係者各位に感謝の意を表します．

## 文 献

- 1) 農薬残留分析法研究班編集：最新農薬の残留分析法，24 (1995).(中央法規出版株式会社).
- 2) 農林省令：飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令，昭和 51 年 7 月 24 日，農林省令第 35 号 (1976).
- 3) 農林水産省畜産局長通知：飼料の有害物質の指導基準の制定について，昭和 63 年 10 月 14 日，63 畜 B 第 2050 号(1988).
- 4) 厚生省告示：食品，添加物等の基準規格，昭和 34 年 12 月 28 日，厚生省告示第 370 号(1959).
- 5) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：食品に残留する農薬，飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について，平成 17 年 1 月 24 日，食安発第 0124001 号 (2005).
- 6) 農林水産省消費・安全局長通知：飼料分析基準の制定について，平成 20 年 4 月 1 日，19 消安第 14729 号 (2008).
- 7) 古賀龍二：飼料中の 2,4-D 及び 2,4,5-T の定量法の分析精度の検討，飼料研究報告，21，69-79 (1996).
- 8) 財団法人日本食品分析センター：平成 22 年度飼料中の有害物質等分析法開発事業 (2011).
- 9) Horwitz, W., Protocol for Design, Conduct and Interpretation of Method - Performance Studies, Pure & appl. Chem., 67(2), 331-343 (1995).
- 10) AOAC Int. (2012). Appendix D: Guidelines for Collaborative Study Procedures to Validate Characteristics of a Method of Analysis. In Official Methods of Analysis of AOAC Int. 19 ed. volume II, Gaithersburg, MD, USA

## 2 飼料中のキャプタンのガスクロマトグラフによる定量法

齊木 雅一\*

### Determination of Captan in Feed by GC-ECD

Masakazu SAIKI\*

(\* Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sapporo Regional Center)

An analytical method was developed to determine the level of captan in feed using gas chromatograph equipped with electron capture detector (GC-ECD).

After adding phosphoric acid (1:11) to the samples, captan was extracted with acetone and resulting solutions were filtered. The filtrate was then diluted with acetone to a final volume of 200 mL. The sample solution was purified with a porous-diatomite cartridge (Chem Elut from Agilent Technologies Inc.; Santa Clara, CA, U.S.), gel permeation chromatography (GPC) and a graphite carbon mini column (Envi-Carb cartridge from Supelco Inc.; Bellefonte, PA, U.S.), followed by GC-ECD analysis for determination of captan. GC separation was carried out on a fused silica capillary column (DB-17 ; 0.25 mm i.d. × 30 m, film thickness 0.25 μm from Agilent Technologies).

Spike tests were conducted on corn spiked with 10 or 0.1 mg/kg of captan. Formula feed, wheat, corn gluten feed and alfalfa hay were also spiked with 1 or 0.1 mg/kg of captan. The resulting mean recoveries ranged from 78.4 to 116 %, and repeatability in terms of relative standard deviations (RSD<sub>r</sub>) was not more than 16 %.

A collaborative study was conducted in eight laboratories using corn, wheat and formula feed spiked with 10 mg/kg, 0.5 mg/kg and 0.5 mg/kg of captan respectively. The mean recovery, repeatability and reproducibility in terms of relative standard deviations (RSD<sub>r</sub> and RSD<sub>R</sub>) and HorRat, respectively, were 88.5 %, 7.7 %, 17 % and 1.5 for corn, 93.4 %, 6.4 %, 21 % and 1.2 for wheat and 98.8 %, 6.2 %, 21 % and 1.2 for formula feed.

This method was validated and established for use in the inspection of captan in feed.

Key words: feed ; gas chromatograph equipped with electron capture detector (GC-ECD) ; gel permeation chromatography ; captan ; collaborative study

キーワード：飼料；電子捕獲検出器付きガスクロマトグラフ；ゲル浸透クロマトグラフィー；キャプタン；共同試験

## 1 緒 言

キャプタンは、フタルイミド系の殺菌剤であり、日本では 1953 年に農薬登録がされている。現

---

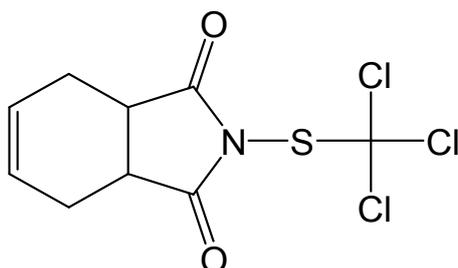
\* 独立行政法人農林水産消費安全技術センター札幌センター

在も野菜，果物，花卉などへ広く使用されており，飼料中のキャプタンの基準値は，農林水産省令<sup>1)</sup>によりとうもろこしで 10 mg/kg と定められている．また，厚生労働省の食品，添加物等の規格基準における残留農薬基準値は，米（玄米）で 5 ppm，とうもろこしで 10 ppm と定められている<sup>2)</sup>．また，諸外国においても果物，トマト，ジャガイモ，豆類等を主に多く適用されており，牧草を含む飼料作物の種子消毒等にも使用されている．

飼料中のキャプタンの定量法については，松崎の報告<sup>3)</sup>があり，既に飼料分析基準<sup>4)</sup>に記載されている．しかし，この方法は操作が煩雑であることから，より簡便な分析法を検討することとした．

今回，一般財団法人日本食品分析センターが開発した分析法<sup>5)</sup>（以下「JFRL 法」という．）を基に，飼料分析基準<sup>4)</sup>への適用の可否について検討したので，その概要を報告する．

なお，キャプタンの構造式等を Fig. 1 に示した．



*N*-(trichloromethylthio)cyclohex-4-ene-1,2-dicarboximide

$C_9H_8Cl_3NO_2S$  MW: 300.59

CAS No.: 133-06-2

Fig. 1 Chemical structure of captan

## 2 実験方法

### 2.1 試料

配合飼料（成鶏飼育用及び乳用牛飼育用），小麦，とうもろこし，コーングルテンフィード及びアルファルファ乾草をそれぞれ 1 mm の網ふるいを通過するまで粉碎して用いた．

なお，検討に用いた配合飼料の配合割合等を Table 1 に示した．

Table 1 Composition of the formula feed

Kind of formula feed	Group of ingredients	Proportion (%)	Ingredients
For layer	Grains	64	Corn, milo
	Oil meals	26	Soybean meal, corn gulten meal, rapeseed meal
	Others	10	Calcium carbonate, calcium phosphate, seaweed powder, salt, animal fat, paprika extract, silicic acid, grass bacillus, lactobacillus, glucose, feed yeast
For cattle	Grains	53	Corn, wheat
	Oil meals	23	Soybean meal, rapeseed meal
	Brans	21	Wheat bran, distiller's dried grains with solubles
	Others	3	Molasses, calcium carbonate, salt

### 2.2 試薬等

1) アセトン，ヘキサン，シクロヘキサン及びジエチルエーテルは残留農薬分析用を用いた．リ

ン酸は特級を用いた。水は高速液体クロマトグラフ用を用いた。

## 2) キャプタン標準液

キャプタン標準品（和光純薬工業製，純度 98.0 %）25 mg を正確に量って 50 mL の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キャプタン標準原液を調製した（この液 1 mL は，キャプタンとして 0.5 mg ( $f=0.980$ ) を含有する。）。

使用に際して，標準原液の一定量をヘキサンで正確に希釈し，1 mL 中にキャプタンとして 0.05, 0.075, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75 及び 1.0  $\mu\text{g}$  を含有する標準液を調製した。

## 2.3 装置及び器具

- 1) 粉碎機： Retsch 製 ZM100
- 2) 振とう機：タイテック製 レシプロシェーカー SR-2W（使用時振動数 300 rpm）
- 3) ロータリーエバポレーター：東京理化学器械製 NAJ-160
- 4) 多孔性ケイソウ土カラム：Agilent Technologies 製 Chem Elut, 20 mL 保持用
- 5) メンブランフィルター：東洋濾紙製 DISMIC-25HP（孔径 0.45  $\mu\text{m}$ ，直径 25 mm，親水性）
- 6) ゲル浸透クロマトグラフ：日本分光製 GPC システム  
ポンプ：PU-2080  
オートサンプラー：AS-2050  
フラクションコレクター：SF-212N
- 7) グラファイトカーボンミニカラム：Supelco 製 Envi-Carb（充てん剤量 500 mg）
- 8) ガスクロマトグラフ：Agilent Technologies 製 6890N

## 2.4 定量方法

### 1) 抽出

分析試料 10.0 g を量って 300 mL の共栓三角フラスコに入れ，リン酸（1+11）20 mL（乾牧草は 30 mL）を加え，30 分間静置後，更にアセトン 100 mL（乾牧草は 120 mL）を加え，30 分間振り混ぜて（300 rpm）抽出した。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，同様に吸引ろ過した。更に全量フラスコの標線までアセトンを加えた。この液 40 mL を 200 mL のなす形フラスコに正確に入れ，40  $^{\circ}\text{C}$  以下の水浴で約 4 mL（乾牧草は 6 mL）まで減圧濃縮し，カラム処理 I に供する試料溶液とした。

### 2) カラム処理 I

試料溶液にリン酸（1+11）5 mL を加えて混合した後，多孔性ケイソウ土カラムに入れ，10 分間静置した。300 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き，試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン 10 mL ずつで 3 回洗浄し，洗液を順次カラムに加え，液面が充てん剤の上端に達するまで流下してキャプタンを溶出させた。更に同溶媒 70 mL をカラムに加えて同様に溶出させた。溶出液を 40  $^{\circ}\text{C}$  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。

シクロヘキサン-アセトン（4+1）10 mL を正確に加えて残留物を溶かし，メンブランフィルターでろ過し，ゲル浸透クロマトグラフィーに供する試料溶液とした。

### 3) ゲル浸透クロマトグラフィー

試料溶液 5.0 mL をゲル浸透クロマトグラフに注入し，キャプタンが溶出する画分を 100 mL

のなす形フラスコに分取し、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。なお、ゲル浸透クロマトグラフィーの条件を Table 2 に示した。

ヘキサン-ジエチルエーテル (1+1) 5 mL を加えて残留物を溶かし、カラム処理 II に供する試料溶液とした。

Table 2 Operating condition of GPC for analyzing captan

Column	Shodex CLNpak EV-2000 AC (20 mm i.d. × 300 mm, 15 μm)
Guard column	Shodex CLNpak EV-G AC (20 mm i.d. × 100 mm, 15 μm)
Eluent	Cyclohexane-acetone (4:1)
Flow rate	5 mL/min
Fraction volume	100~120 mL

#### 4) カラム処理 II

グラファイトカーボンミニカラムをヘキサン-ジエチルエーテル (1+1) 5 mL で洗浄した。100 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、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下してキャプタンを流出させた。次に試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン-ジエチルエーテル (1+1) 5 mL ずつで 2 回洗浄し、洗液を順次ミニカラムに加え、同様に流出させた。更にヘキサン-ジエチルエーテル (1+1) 10 mL をミニカラムに加えて同様に流出させ、流出液を 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した。

ヘキサン 1 mL を正確に加えて残留物を溶かし、ガスクロマトグラフィーに供する試料溶液とした。

#### 5) ガスクロマトグラフィー

試料溶液及び各キャプタン標準液各 1 μL をガスクロマトグラフに注入し、クロマトグラムを得た。なお、測定条件を Table 3 に示した。

Table 3 Operating condition of GC-ECD for analyzing captan

Column	Agilent Technologies DB-17 (0.25 mm i.d. × 30 m, 0.25 μm film thickness)
Column temperature	60 °C (1 min)→30 °C/min→190 °C→10 °C/min→280 °C (10 min)
Injection mode	Pulsed splitless (345 kPa , 60 s)
Injectionport temperature	140 °C
Carrier gas	He 1.5 mL/min
Make-up gas	N <sub>2</sub> 60 mL/min
Detector	Electron capture detector
Detector temperature	300 °C
Injection volume	1 μL

#### 6) 計 算

得られたクロマトグラムからピーク高さ及び面積を求めて検量線を作成し、試料中のキャプタン量を算出した。

なお、定量法の概要を Scheme 1 に示した。

- Sample 10.0 g (300 mL Erlenmeyer flask)
- add 20 mL of phosphoric acid (1:11) ( grass hay: 30 mL) and allow to stand for 30 min
  - add 100 mL of acetone (grass hay: 120 mL) and shake for 30 min
  - filtrate with suction filter (No.5B)
  - wash flask with 50 mL of acetone
  - top up to 200 mL with acetone
  - 40 mL of sample solution
  - evaporate to the volume of 4 mL (grass hay: 6 mL) under 40 °C
  - add 5 mL of phosphoric acid (1:11)
- Chem Elut cartridge
- apply sample solution and allow to stand for 10 min
  - wash flask with 10 mL of hexane (three times)
  - elute with 70 mL of hexane
  - evaporate to dryness under 40 °C and dry up with nitrogen gas
  - dissolve in 10 mL of cyclohexane-acetone (4:1) and filtrate with membrane filter (0.45 µm)
- GPC
- apply 5 mL of sample solution
  - collect the fraction of 100~120 mL
  - evaporate to dryness under 40 °C and dry up with nitrogen gas
  - dissolve in 5 mL of hexane-diethylether (1:1)
- Envi-Carb cartridge
- prewash with 5 mL of hexane-diethylether (1:1)
  - apply sample solution
  - wash flask with 5 mL of hexane-diethylether (1:1) (twice)
  - elute with 10 mL of hexane-diethylether (1:1)
  - evaporate to dryness under 40 °C and dry up with nitrogen gas
  - dissolve in 1 mL of hexane
- GC-ECD

Scheme 1 Analytical procedure for captan

## 2.5 ガスクロマトグラフ試料導入部温度条件の検討方法

グラスウール無しのライナーを用い、導入部温度を 250 °C から 120 °C まで 10 °C ずつ温度を低くした条件で、キャプタンとして 1 mL 中に 0.05, 0.075, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75 及び 1.0 µg を含有する標準液を注入し、検量線を作成した。

## 2.6 カラム処理 I の溶出画分の検討方法

とうもろこしを用い、2.4 の 1)により得られた抽出液にキャプタンとして 1 mg/kg 相当量を添加し、2.4 の 2)のカラム処理 I に供する試料溶液を調製した。その後、本法により操作した後、各溶出画分における回収率を確認した。

## 2.7 ゲル浸透クロマトグラフィーの溶出画分の検討方法

とうもろこしを用い、2.4 の 1)及び 2)により得られた抽出精製液にキャプタンとして 1 mg/kg 相当量を添加し、2.4 の 3)のゲル浸透クロマトグラフィーに供する試料溶液を調製した。その後、本法により操作し、各溶出画分における回収率を確認した。

## 2.8 カラム処理 II の溶出画分の検討方法

とうもろこしを用い、2.4 の 1)~3)により得られた抽出精製液にキャプタンとして 1 mg/kg 相当量を添加し、2.4 の 4)のカラム処理 II に供する試料溶液を調製した。その後、本法により操作した後、各溶出画分における回収率を確認した。

## 3 結果及び考察

### 3.1 ガスクロマトグラフ試料導入部温度条件及び検量線

JFRL 法ではガスクロマトグラフの試料導入部温度を 250 °C としているが、この条件下で検量線を作成したところ相関係数及び傾きが低く定量が困難であった。これについて原因と改善を検討した。

キャプタンはガスクロマトグラフに注入後、検出器に至るまでの間にその一部が分解し、テトラヒドロフタルイミドに変化することが知られている<sup>6)</sup>。JFRL 法においてはキャプタンの分解による損失が大きいことが定量困難の原因と考えられた。また、テトラヒドロフタルイミドは他の農薬の代謝物でもあり、キャプタンそのものの定量では、分解を抑制する必要性があった。

キャプタンは大部分が試料導入部（ライナー）内で分解すると推定し、導入部温度を低く設定することで分解が抑制できないかを検討した。なおライナー内のグラスウールが分解を助長する原因となる可能性があったことから、検討はグラスウール無しのライナーを用いた。

2.5 により検量線を作成したところ温度を低くするに従い相関係数及び傾きが良好となった。Fig. 2-1 に 200 °C 及び Fig. 2-2 に 140 °C の条件下で得られた検量線の例を示した。これらの結果から、試料導入部温度を低くすることによってキャプタンの分解が抑制されたと考えられた。また、試料導入部 140 °C の条件下で最も高い相関係数と傾きが得られた。導入部温度 120 °C まで検討したが 140 °C 以下からは相関係数及び傾きは一定となった。このことから本法では試料導入部温度を 140 °C とすることとした。

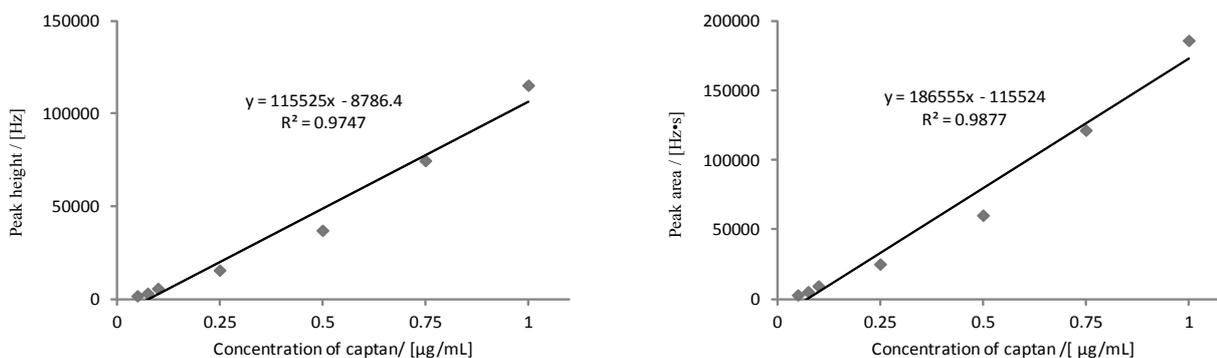


Fig. 2-1 Calibration curves of captan using injector at 200 degrees centigrade  
(left : height, right : area)

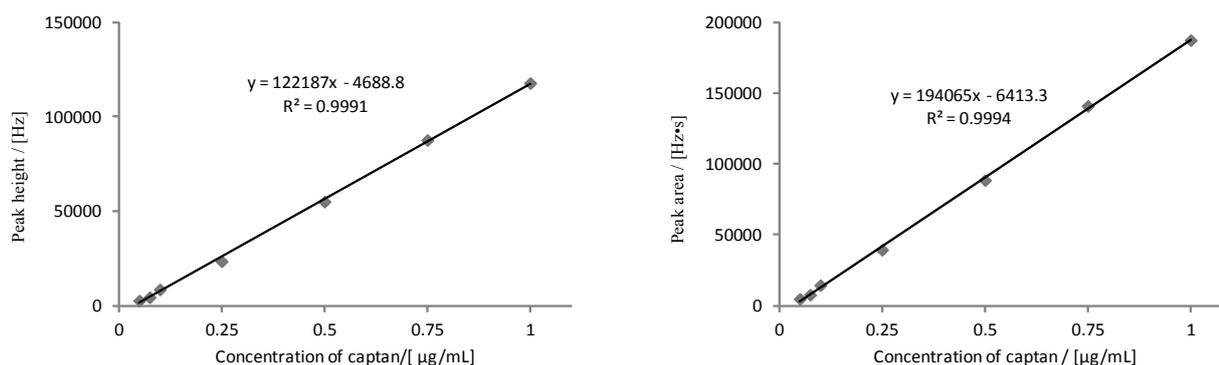


Fig. 2-2 Calibration curves of captan using injector at 140 degrees centigrade  
(left : height, right : area)

### 3.2 カラム処理 I の溶出画分の検討

2.6 によりカラム処理 I の溶出画分を確認した結果は Table 4 のとおりであり、キャプタンは 0~100 mL の画分で溶出し、100 mL 以後の画分には溶出は認められなかった。

以上の結果から、JFRL 法ではヘキサン 80 mL を溶出溶媒としているが、本法ではヘキサン 100 mL を用いることとした。

Table 4 Elution pattern from Chem Elut

Fraction volume(mL)	Hexane				Total
	0-60	60-80	80-100	100-120	
Recovery of captan (%) <sup>a)</sup>	95	16	5	0	116

a) Mean ( $n = 3$ )

### 3.3 ゲル浸透クロマトグラフィーの溶出画分の検討

2.7 によりゲル浸透クロマトグラフィーの溶出画分を確認した結果は Table 5 のとおりであり、キャプタンは 100~120 mL に溶出し、100 mL 以前及び 120 mL 以後の画分には溶出は認められなかった。

以上の結果から、JFRL 法では 105~125 mL を分取することとしているが、今回の検討で用いた機種では 100~120 mL を分取することとした。

Table 5 Elution pattern from GPC

Fraction volume(mL)	Cyclohexane-acetone (4:1)				Total
	90-100	100-110	110-120	120-130	
Recovery of captan (%) <sup>a)</sup>	0	61	31	0	92

a) Mean ( $n = 3$ )

### 3.4 カラム処理 II の溶出画分の検討

2.8 によりカラム処理 II の溶出画分を確認した結果は Table 6 のとおりであり、キャプタンは 0~20 mL に溶出し、20 mL 以後の画分には溶出は認められなかった。

以上の結果から、JFRL 法ではヘキサージエチルエーテル (1+1) 25 mL を溶出溶媒に用いることとしているが、本法では 20 mL を用いることとした。

Table 6 Elution pattern from Envi-Carb

Fraction volume(mL)	Hexane-diethylether (1:1)				Total
	0-15	15-20	20-25	25-30	
Recovery of captan (%) <sup>a)</sup>	93	1	0	0	94

a) Mean ( $n = 3$ )

### 3.5 妨害物質の検討

配合飼料 3 種類 (成鶏飼育用, 肉豚肥育用及び乳用牛飼育用), 小麦, とうもろこし, コーングルテンフィード, 大豆油かす及びアルファルファ乾草をについて本法に従って分析を行い, 妨害ピークの有無を確認した。

その結果, いずれの試料においても定量を妨害するピークは認められなかった。

得られたクロマトグラムの一例 (成鶏飼育用配合飼料) を Fig. 3 に示した。

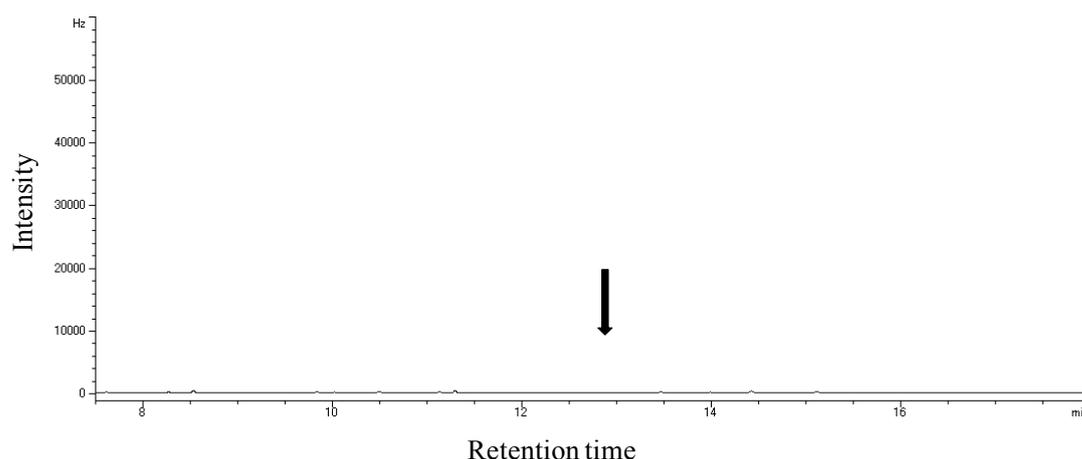


Fig. 3 Chromatogram of formula feed for layer (non-spiked)  
(Arrow indicates the retention time of captan)

### 3.6 添加回収試験

配合飼料 2 種類 (成鶏飼育用及び乳用牛飼育用), 小麦, とうもろこし, コーングルテンフィード及びアルファルファ乾草にキャプタンとして 10, 1 及び 0.1 mg/kg 相当量 (最終試料溶液中で 10, 1 及び 0.1 µg/mL 相当量) を添加し, 本法により 3 点併行で定量して回収率及び繰返し精度を検討した。なお, キャプタンを 10 mg/kg 相当量添加したとうもろこしについては, 最終試料溶液をヘキササンで 20 倍希釈, 1 mg/kg 相当量添加した配合飼料, 小麦, コーングルテンフィード及びアルファルファ乾草については, 最終試料溶液をヘキササンで 2 倍希釈してからガスクロマトグラフに供した。

その結果, Table 7 のとおり, 配合飼料では平均回収率 88.1~103 %, その繰返し精度は相対標準偏差 ( $RSD_r$ ) として 16 %以下, 小麦では平均回収率 78.4 及び 88.9 %, その繰返し精度は 9.6 %以下, とうもろこしでは平均回収率 101 及び 111 %, その繰返し精度は 5.2 %以下, コーン

グルテンフィードでは平均回収率 93.1 及び 107 %, その繰返し精度は 8.8 %以下, アルファルファ乾草では平均回収率 95.7 及び 116 %, その繰返し精度は 13 %以下であった。

添加回収試験の検討で得られたクロマトグラムの一例を Fig. 4 に示した。

Spiked level (mg/kg)	Formula feed for layer		Formula feed for cattle		Wheat	
	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)
10	-	-	-	-	-	-
1	97.6	11	103	16	78.4	9.6
0.1	88.1	3.4	95.1	2.6	88.9	2.6

Spiked level (mg/kg)	Corn		Corn gulten feed		Alfalfa hay	
	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)
10	101	5.2	-	-	-	-
1	-	-	93.1	8.8	95.7	13
0.1	111	3.4	107	6.9	116	8.5

a) Mean recovery ( $n = 3$ )

b) Relative standard deviation of repeatability

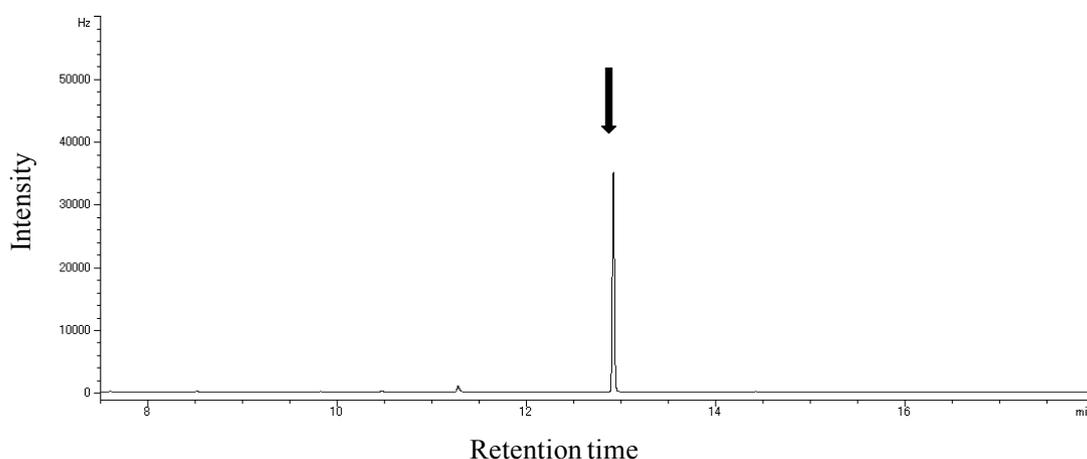


Fig. 4 Chromatogram of formula feed for layer (spiked with captan at 1 mg/kg)  
(Arrow indicates the peak of captan)

### 3.7 定量下限及び検出下限の検討

本法の定量下限及び検出下限を確認するため, 成鶏飼育用配合飼料にキャプタンを添加し, 添加回収試験により得られるピークの  $SN$  比が 10 及び 3 となる濃度を求めた。

その結果,  $SN$  比が 10 となる濃度は 0.1 mg/kg,  $SN$  比が 3 となる濃度は 0.03 mg/kg であったことから, 定量下限は 0.1 mg/kg, 検出下限は 0.03 mg/kg であった。

なお、Table 7 で示したとおり、当該定量下限濃度における添加回収試験は良好であった。

### 3.8 共同試験

本法の室間再現精度を確認するため、濃度非通知、かつ非明示の 2 点反復で共通試料による共同試験を実施した。

共通試料として、成鶏飼育用配合飼料及び小麦にキャプタンとして 0.5 mg/kg 相当量（10 g に対して 1 mL 中に 5 mg を含有するキャプタン標準液 1 mL 添加）及びとうもろこしにキャプタンとして 10 mg/kg 相当量（10 g に対して 1 mL 中に 100 mg を含有するキャプタン標準液 1 mL 添加）を、各試験室にて添加調製した試料を用いた。また、キャプタンは分解しやすいため分析の直前に添加した。

参加試験室は、一般財団法人日本食品分析センター多摩研究所、一般財団法人食品環境検査協会、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（計 8 試験室）であった。結果の解析については国際的にハーモナイズされた共同試験に関する手順<sup>7), 8)</sup>を参考に、Cochran 検定、外れ値 1 個の Grubbs 検定及び外れ値 2 個の Grubbs 検定を行い、外れ値の有無を確認した上で平均回収率、繰返し精度 ( $RSD_r$ ) 及び室間再現精度 ( $RSD_R$ ) を算出し、得られた  $RSD_R$  から、修正 Horwitz 式を用いて HorRat を求めた。

結果は Table 8 のとおりであった。

成鶏飼育用配合飼料、小麦及びとうもろこしについて、平均回収率はそれぞれ 98.8、93.4 及び 88.5 %、 $RSD_r$  はそれぞれ 6.2、6.4 及び 7.7 %、 $RSD_R$  はそれぞれ 21、21 及び 17 %、HorRat はそれぞれ 1.2、1.2 及び 1.5 であった。

参考のため、各試験室で使用したガスクロマトグラフの種類等を Table 9 に示した。

Table 8 Results of collaborative study

Lab. No.	Feed types					
	Formula feed for layer		Wheat		Corn	
	(mg/kg)		(mg/kg)		(mg/kg)	
1	0.385	0.389	0.374	0.419	8.08	7.62
2	0.347	0.336	0.316	0.317	5.97	6.38
3	0.416	0.467	0.474	0.421	9.82	8.50
4	0.551	0.609	0.580	0.613	9.53	9.24
5	0.629	0.650	0.539	0.572	9.68	10.9
6	0.523	0.471	0.423	0.498	10.7	10.7
7	0.491	0.558	0.426	0.402	9.18	8.57
8	0.560	0.524	0.532	0.566	9.27	7.43
Spiked level (mg/kg)	0.5		0.5		10	
Mean value <sup>a)</sup> (mg/kg)	0.494		0.467		8.85	
Recovery <sup>a)</sup> (%)	98.8		93.4		88.5	
RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	6.2		6.4		7.7	
RSD <sub>R</sub> <sup>c)</sup> (%)	21		21		17	
PRSD <sub>R</sub> <sup>d)</sup> (%)	18		18		11	
HorRat	1.2		1.2		1.5	

a)  $n=16$

b) Relative standard deviation of repeatability within laboratory

c) Relative standard deviation of reproducibility between laboratories

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

Table 9 Instruments used in the collaborative study

Lab.No.	GC	GC column ( i.d. × length, film thickness)
1	Agilent Technologies 6890	Agilent Technologies DB-17 (0.25 mm × 30 m, 0.25 μm)
2	Agilent Technologies 6890N	Agilent Technologies DB-17 (0.25 mm × 30 m, 0.25 μm)
3	Agilent Technologies 6890N	Agilent Technologies DB-17 (0.25 mm × 30 m, 0.25 μm)
4	Shimadzu GC-2010 Plus	Agilent Technologies DB-17 (0.32 mm × 30 m, 0.25 μm)
5	Shimadzu GC-2010 Plus	Agilent Technologies DB-17 (0.25 mm × 30 m, 0.25 μm)
6	Agilent Technologies 6890A	Agilent Technologies DB-17 (0.25 mm × 30 m, 0.25 μm)
7	Agilent Technologies 6890N	Agilent Technologies DB-17MS (0.25 mm × 30 m, 0.25 μm)
8	Agilent Technologies 6890N	Agilent Technologies DB-17 (0.25 mm × 30 m, 0.25 μm)

#### 4 まとめ

飼料中のキャプタンについて、JFRL 法を基に、電子捕獲検出器付きガスクロマトグラフを用いた定量法の飼料分析基準への適用の可否について検討したところ、ガラスウールなしのインサートを使用してガスクロマトグラフの試料導入部温度を 250 °C から 140 °C とし、多孔性ケイソウ土カラムにおける溶出溶媒量を 80 mL から 100 mL とし、グラファイトカーボンミニカラムにおける溶出溶媒量を 25 mL から 20 mL に変更することで、以下の結果が得られ、適用が可能であると考えられた。

- 1) 検量線は、0.05 ~ 1.0 μg/mL (注入量として 0.05 ~ 1.0 ng) の範囲で直線性を示した。
- 2) ゲル浸透クロマトグラフィーの溶出を確認したところ、JFRL 法では 105 ~ 125 mL を分取することとしているが、今回の検討で用いた機種では 100 ~ 120 mL を分取することとした。
- 3) 配合飼料 3 種類 (成鶏飼育用, 肉豚肥育用及び乳用牛飼育用), 小麦, とうもろこし, コーングルテンフィード, 大豆油かす及びアルファルファ乾草について, 本法に従って得られたクロマトグラムからは, キャプタンの定量を妨げるピークは認められなかった。
- 4) 配合飼料 2 種類 (成鶏飼育用及び乳用牛飼育用), 小麦, とうもろこし, コーングルテンフィード及びアルファルファ乾草について, キャプタンとして 10, 1, 及び 0.1 mg/kg 相当量 (最終試料溶液中で 10, 1 及び 0.1 ng/mL 相当量) を添加し, 本法にて添加回収試験を実施したところ, 平均回収率は, 78.4 ~ 116 %, その繰返し精度は相対標準偏差として 16 %以下と良好な結果であった。
- 5) 本法によるキャプタンの定量下限は 0.1 mg/kg, 検出下限は 0.03 mg/kg であった。

- 6) 成鶏飼育用配合飼料，小麦及びとうもろこしにキャプタンを添加（試料中キャプタンとして 10 及び 0.5 mg/kg 相当量）した試料を用いて 8 試験室において本法に従い共同試験を実施した。その結果，平均回収率は 88.5～98.8%，その繰返し精度及び室間再現精度は相対標準偏差として 7.7%以下及び 21%以下，HorRat は 1.5 以下であった。

## 謝 辞

共同試験に参加していただいた一般財団法人日本食品分析センター多摩研究所及び一般財団法人食品環境検査協会における関係者各位に感謝の意を表します。

## 文 献

- 1) 農林省令：飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令，昭和 51 年 7 月 24 日，省令第 35 号 (1976).
- 2) 厚生省告示：食品，添加物等の基準規格，昭和 34 年 12 月 28 日，告示第 370 号(1959).
- 3) 松崎 学：飼料研究報告，21，1 (1996).
- 4) 農林水産省消費・安全局長通知：飼料分析基準の制定について，平成 20 年 4 月 1 日，19 消安第 14729 号 (2008).
- 5) 財団法人日本食品分析センター：平成 20 年度飼料中の有害物質等分析法委託事業 飼料中の有害物質等の分析法の開発 (2009).
- 6) 外海 泰秀，津村 ゆかり，中村 優美子，松木 宏晃，伊藤 誉志男：定量操作中に分解し易いキャプタン，カプタホール等 12 種殺菌剤の一斉分析法の検討，生化学，38，270 (1992).
- 7) Horwitz, W., Protocol for Design, Conduct and Interpretation of Method - Performance Studies, Pure & appl. Chem., 67(2), 331-343 (1995).
- 8) AOAC Int. (2012). Appendix D: Guidelines for Collaborative Study Procedures to Validate Characteristics of a Method of Analysis. In Official Methods of Analysis of AOAC Int. 19 ed. volume II, Gaithersburg, MD, USA

### 3 穀類, 稲わら及び稲発酵粗飼料中のグリホサートの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による定量法

牧野 大作<sup>\*1</sup>, 若宮 洋市<sup>\*2</sup>, 榊原 良成<sup>\*3</sup>, 船木 紀夫<sup>\*3</sup>

#### Determination of Glyphosate in Grains, Rice Straw and Whole-crop Rice Silage for Feed by LC-MS/MS

Daisaku MAKINO<sup>\*1</sup>, Youichi WAKAMIYA<sup>\*2</sup>, Yoshinari SAKAKIBARA<sup>\*3</sup> and Norio FUNAKI<sup>\*3</sup>

(<sup>\*1</sup> Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center  
(Now Nagoya Regional Center)

<sup>\*2</sup> Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center  
(Now Fukuoka Regional Center)

<sup>\*3</sup> Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center)

An analytical method was developed to determine the level of glyphosate in grains, rice straw and whole-crop rice silage for feed using liquid chromatograph-tandem mass spectrometer (LC-MS/MS).

Glyphosate was extracted with water. The extract was purified with two types of SPE mini-columns (Oasis HLB and plus MCX from Waters; Milford, MA, U.S.). Glyphosate was then derivatized with trimethyl orthoacetate. The sample solution was further purified with two other types of SPE mini-columns (Sep-pak Plus NH<sub>2</sub> and Silica from Waters) and injected into the LC-MS/MS. LC separation was carried out on an ODS column (ZORBAX Eclipse XDB-C18, 2.1 mm i.d. × 150 mm, 5 μm from Agilent Technologies Inc.; Santa Clara, CA, U.S.) using 0.01 v/v% formic acid solution-acetonitrile (93:7 v/v) as a mobile phase. In the MS/MS analysis, positive mode electrospray ionization (ESI+) was used.

Spike tests were conducted on feed ingredients spiked with glyphosate at the levels of 20, 2, or 0.04 mg/kg (barley), 5 or 0.5 mg/kg (wheat), 1 or 0.1 mg/kg (corn), 0.2 or 0.04 mg/kg (rice straw), and 0.2 or 0.04 mg/kg (whole-crop rice silage). The resulting mean recoveries ranged from 74.2 to 102 % and the repeatability in terms of relative standard deviations (RSD<sub>r</sub>) was not more than 13 %.

A collaborative study was conducted in ten laboratories using corn and rice straw spiked with 1 and 0.2 mg/kg of glyphosate, respectively. The mean recovery, repeatability and reproducibility in terms of relative standard deviations (RSD<sub>r</sub> and RSD<sub>R</sub>) and HorRat, respectively, were 98.1 %, 9.2 %, 13 % and 0.79 for corn and 92.5 %, 7.5 %, 13 % and 0.61 for rice straw

This method was validated and established for use in the inspection of glyphosate in grains, rice straw and whole-crop rice silage for feed.

---

<sup>\*1</sup> 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, 現 名古屋センター

<sup>\*2</sup> 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, 現 福岡センター

<sup>\*3</sup> 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

Key words: glyphosate ; liquid chromatograph-tandem mass spectrometer (LC-MS/MS) ; electro spray ionization (ESI) ; feed ; collaborative study

キーワード：グリホサート；液体クロマトグラフタンデム型質量分析計；エレクトロスプレーイオン化法；飼料；共同試験

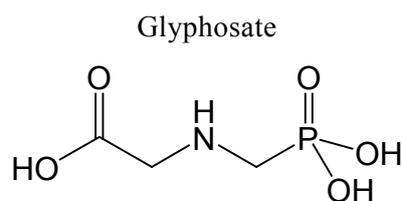
## 1 緒 言

グリホサートはモンサント社が開発した非選択性茎葉処理型のアミノ酸系除草剤であり、たん白質合成に必須の芳香族アミノ酸の合成を阻害することにより殺草活性を発現する<sup>1)</sup>。

飼料中のグリホサートの残留基準値は、農林省令<sup>2)</sup>において、大麦、えん麦及びマイロが 20 mg/kg, 小麦で 5 mg/kg, とうもろこしで 1 mg/kg, ライ麦で 0.2 mg/kg 並びに牧草で 120 mg/kg, また、飼料の有害物質の指導基準<sup>3)</sup>において、稲わら及び稲発酵粗飼料が 0.2 mg/kg と定められている。

飼料中のグリホサート等の定量法としては、一般財団法人日本食品分析センターが「平成 20 年度飼料中の有害物質等残留基準を設定するための分析法開発及び家畜等への移行調査委託事業」において、液体クロマトグラフタンデム型質量分析計（以下「LC-MS/MS」という。）によるグルホシネートとの同時定量法<sup>4)</sup>（以下「JFRL 法」という。）を検討している。筆者らはこの JFRL 法を基に、穀類、乾牧草及び稲わら中のグルホシネート、3-メチルホスフィニコプロピオン酸及び *N*-アセチルグルホシネートの LC-MS/MS による同時定量法（以下「グルホシネート法」という。）を既に報告し<sup>5)</sup>、飼料分析基準<sup>6)</sup>が一部改正された。今回、穀類、稲わら及び稲発酵粗飼料を対象としたグリホサートの定量法を、グルホシネート法及び山多らが愛玩動物用飼料を対象として検討したグリホサート及びグルホシネート等の定量法（以下「ペット法」という。）<sup>7), 8)</sup>を基に検討したので、その概要を報告する。

参考にグリホサートの構造式等を Fig. 1 に示した。



*N*-(phosphonomethyl)glycine

$C_3H_8NO_3P$  MW: 169.1 CAS No.: 1071-83-6

Fig. 1 Chemical structure of glyphosate

## 2 実験方法

### 2.1 試 料

大麦、小麦、とうもろこし、アルファルファ乾草、稲わら及び稲発酵粗飼料は粉砕機でそれぞれ 1 mm の網ふるいを通過するまで粉砕した。

なお、稲発酵粗飼料は粉砕に先立ち、60 °C で 10 時間乾燥した後、粉砕した。

## 2.2 試薬

- 1) 水は超純水 (JIS K 0211 に定める 5218 の超純水) を用いた。アセトニトリル及びメタノールは、液体クロマトグラフ用を用いた。アセトン及び酢酸エチルは、残留農薬・PCB 試験用を用いた。酢酸は、試薬特級を用いた。オルト酢酸トリメチルは、東京化成工業製 (純度 98.0 %以上) のものを用いた。
- 2) グリホサート標準原液  
グリホサート標準品 (和光純薬工業製, 純度 99.3 %) 25 mg を正確に量って 25 mL の全量フラスコに入れ, 水を加えて溶かし, 更に標線まで水を加えてグリホサート標準原液を調製した (この液 1 mL は, グリホサートとして 1 mg を含有する ( $f=0.993$ ) . . ) .
- 3) 検量線作成用標準原液  
グリホサート標準原液の一定量を水で正確に希釈し, 1 mL 中にグリホサートとして 100  $\mu\text{g}$  を含有する検量線作成用標準原液を調製した。
- 4) 小麦添加用標準液  
グリホサート標準原液の一定量をメタノール-水 (19+1) で正確に希釈し, 1 mL 中にグリホサートとして 50 及び 5  $\mu\text{g}$  を含有する小麦添加用標準液を調製した。
- 5) 0.01 v/v%ギ酸溶液  
ギ酸 (試薬特級, 98.0 %以上のもの) 1 mL に水を加えて 1 L とし, 更にこの液 100 mL に水を加えて 1 L とした。

## 2.3 装置及び器具

- 1) 恒温乾燥機 : いすゞ製作所製 SNH-215S
- 2) 粉碎機 : Retsch 製 SM-2000
- 3) 乾牧草用粉碎機 : Retsch 製 ZM-200
- 4) 振とう機 : 宮本理研工業製 理研式シェーカー MW-DRV
- 5) 遠心分離器 : 久保田製作所製 テーブルトップ遠心機 4000
- 6) ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム (500 mg) : Waters 製 Oasis<sup>®</sup> HLB カートリッジ (リザーバー容量 6 mL)
- 7) スルホン酸修飾ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム (225 mg) : Waters 製 Oasis<sup>®</sup> Plus MCX カートリッジ
- 8) 吸引マニホールド : Waters 製 Extraction manifold
- 9) ロータリーエバポレーター : BÜCHI Labortechnik 製 Rotavapor R-200
- 10) アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム (360 mg) : Waters 製 Sep-Pak<sup>®</sup> Plus NH<sub>2</sub> カートリッジにリザーバー (10 mL) を連結したもの
- 11) シリカゲルミニカラム (690 mg) : Waters 製 Sep-Pak<sup>®</sup> Plus Silica カートリッジ
- 12) 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計 :  
LC 部 : Waters 製 ACQUITY UPLC System  
MS 部 : Waters 製 ACQUITY TQ Detector

## 2.4 定量方法

- 1) 抽出  
分析試料 10.0 g を量って 300 mL の共栓三角フラスコに入れ, 水 200 mL を加えて 30 分間振

り混ぜて (300 rpm) 抽出した。抽出液を共栓遠心沈殿管に入れ、 $1500\times g$  (3000 rpm) で10分間遠心分離し、上澄み液の一定量を水で正確に2.5倍に希釈し、カラム処理 I に供する試料溶液とした。

## 2) カラム処理 I

ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム (500 mg) の下にスルホン酸修飾ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム (225 mg) を連結し、メタノール 6 mL 及び水 12 mL で順次洗浄した (吸引マニホールドを使用し、流速 2~3 mL/min とした。以下同じ。)。50 mL のなす形フラスコ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た。更に水 18 mL をミニカラムに加え、同様に流出させた。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した。

## 3) 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した。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、この容器を密栓して 100 °C で2時間加熱した後、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した。酢酸エチル 4 mL を正確に加えて残留物を溶かし、カラム処理 II に供する試料溶液とした。

## 4) カラム処理 II

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 で洗浄した (吸引マニホールドを使用し、流速 2~3 mL/min とした。以下同じ。)。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た。更に酢酸エチル 18 mL をミニカラムに加え、同様に流出させた。

50 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、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、グリホサート誘導体を溶出させた。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、グリホサート誘導体を溶出させた。溶出液を 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した。0.01 v/v%ギ酸溶液 1 mL を正確に加えて残留物を溶かし、LC-MS/MS による測定に供する試料溶液とした。

## 5) 標準液の誘導体化

検量線作成用標準原液 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した。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、なす形フラスコを密栓して 100 °C で2時間加熱した後、放冷した。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した。0.01 v/v%ギ酸溶液 10 mL を正確に加えて残留物を溶かし、更に同溶媒で正確に希釈し、1 mL 中にグリホサートとして 0.3, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10, 25, 50, 75, 100 及び 300 ng 相当量を含む標準液を調製した。

## 6) LC-MS/MS による測定

試料溶液及び各標準液各 5 µL を LC-MS/MS に注入し、選択反応検出 (SRM) クロマトグラ

ムを得た. 測定条件を Table 1 及び 2 に示した.

**Table 1 Operating conditions of LC-MS/MS**

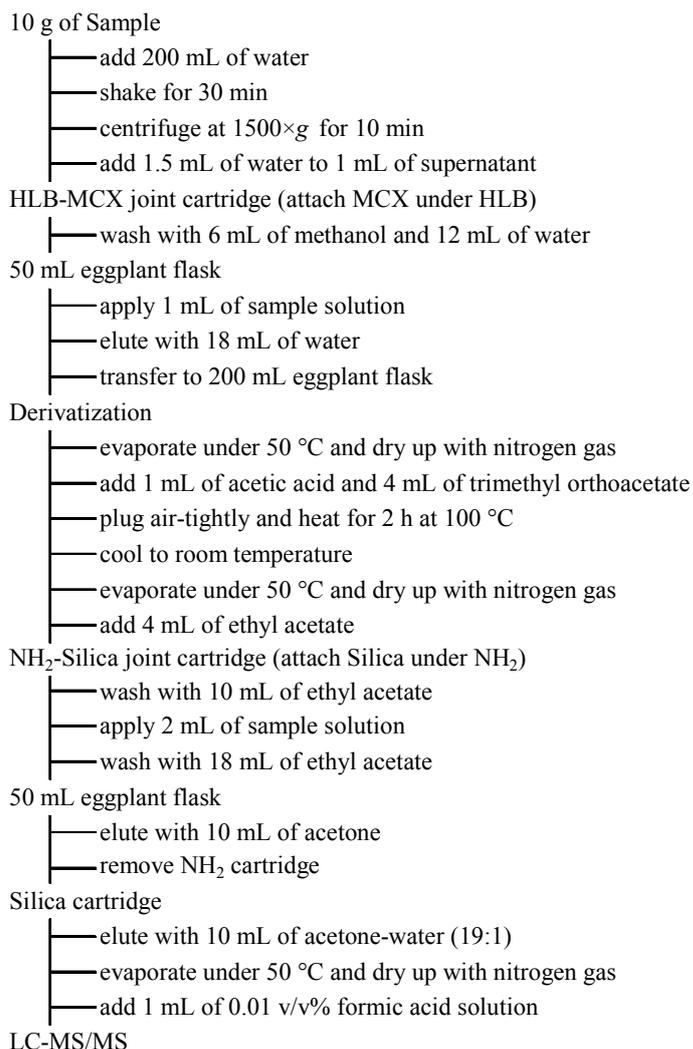
Column	Agilent Technologies, ZORBAX Eclipse XDB-C18 (2.1 mm i.d. × 150 mm, 5 μm)
Mobile phase	0.01 v/v% Formic acid solution - acetonitrile (93:7) (12 min) → 3 min → (5:95) (10 min) → 6 min → (93:7) (8 min)
Flow rate	0.2 mL/min
Column temperature	40 °C
Ionization	Electrospray ionization (ESI)
Mode	Positive
Desolvation gas	N <sub>2</sub> , 400 °C, 800 L/h
Cone gas	N <sub>2</sub> , 50 L/h
Ion source temperature	120 °C
Capillary voltage	3 kV

**Table 2 MS/MS parameters**

Target	Precursor ion ( <i>m/z</i> )	Product ion ( <i>m/z</i> )	Qualifier ion ( <i>m/z</i> )	Cone voltage (V)	Collision energy (eV)
glyphosate derivative	254	102	152	22	17

## 7) 計 算

得られた SRM クロマトグラムからグリホサート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 glyphosate

## 2.5 乾牧草への適用性の検討

2.4に記載の方法が乾牧草に適用できるか、次の方法により確認を行った。

### 1) 抽出

分析試料 10.0 g を量って 300 mL の共栓三角フラスコに入れ、水 200 mL を加えて 30 分間振り混ぜて抽出した。抽出液を共栓遠心沈殿管に入れ、1500×g (3000 rpm) で 10 分間遠心分離し、上澄み液の一定量を水で正確に 25 倍に希釈し、カラム処理 I に供する試料溶液とした。

以下 2.4 の 2) から 7) に従い、定量した。

## 2.6 グルホシネート法の適用性の検討

グルホシネート法がグリホサートに適用できるか、次の方法により確認を行った。

### 1) 抽出

2.4 の 1) で遠心分離した後、得られた上澄み液を希釈せず誘導体化に供する試料溶液とした。

### 2) 誘導体化

試料溶液 2 mL (乾牧草では、更に水で正確に 10 倍希釈した後の 2 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した。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、密栓して 100 °C で 2 時間加熱した後、放冷した。これを、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した。酢酸エチル 4 mL を正確に加えて残留物を溶かし、カラム処理 II に供する試料溶液とした。

以下 2.4 の 4) から 7) に従い、定量した。

## 2.7 ペット法を参考とした検討

ペット法は、内標準物質による補正を行っているが、グリホサートの内標準物質は非常に高額であること、愛玩動物用飼料ほどマトリックスが複雑でないことから、今回内標準物質の使用は採用せず、以下「1) 抽出」に記載した操作を用いて検討した。

大麦及びアルファルファ乾草を用い、グリホサートとしてそれぞれ 20 及び 120 mg/kg 相当量（最終試料溶液でそれぞれ 200 及び 60 ng/mL 相当量）を添加し、2.4（アルファルファ乾草は 2.5）に記載した方法及び以下「1) 抽出」に記載したペット法を参考にした方法により分析を実施し、グリホサートの回収率をそれぞれ求めた。また、アルファルファ乾草は、最終試料溶液の容量を 2 mL とした。

### 1) 抽出

分析試料 10.0 g を量って 300 mL の共栓三角フラスコに入れ、水 200 mL を加えて 60 °C で 2 時間静置した後、30 分間振り混ぜて抽出した。抽出液を共栓遠心沈殿管に入れ 1500×g (3000 rpm) で 10 分間遠心分離し、上澄み液の一定量を水で正確に 2.5 倍（乾牧草では、25 倍）に希釈し、カラム処理 I に供する試料溶液とした。

以下 2.4 の 2) から 7) に従い、定量した。

## 3 結果及び考察

### 3.1 検量線

液体クロマトグラフの条件は、グルホシネート法を、質量分析計の条件は、ペット法を採用した。

2.4 の 5) に従って調製したグリホサートとして 0.3, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10, 25, 50, 75, 100 及び 300 ng 相当量の各標準液各 5 µL を LC-MS/MS に注入し、得られた SRM クロマトグラムからピーク面積を用いて検量線を作成した。得られた検量線は、Fig. 2 のとおり、グリホサートで 0.3 ~ 300 ng/mL 相当量（注入量として 0.0015 ~ 1.5 ng 相当量）の範囲で直線性を示した。

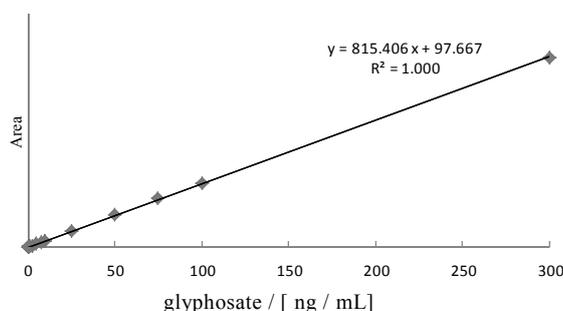


Fig. 2 Calibration curve of glyphosate by peak area

### 3.2 グルホシネート法の適用性の検討

グルホシネート法がグリホサートに適用できるか検討した。

ともろこし、大麦、アルファルファ乾草及び稲わらにグリホサートとしてそれぞれ 1, 20, 120 及び 0.2 mg/kg 相当量（基準値相当量，最終試料溶液でそれぞれ 50, 1000, 600 及び 10 ng/mL 相当量）を添加し，2.6 に従い，3 点併行で定量し，回収率及び繰返し精度を検討した。

その結果は Table 3 のとおり，大麦及びアルファルファ乾草において，平均回収率が 44.5 及び 60.4 % と低くなり，グリホサートに対してグルホシネート法を適用することは難しいと考えられた。

Table 3 Recovery test for glyphosate by using glufosinate method

Pesticide	Corn		Barley		Alfalfa hay		Rice straw	
	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)						
glyphosate	77.4	1.4	44.5	12	60.4	5.2	93.8	3.2

a) Mean ( $n = 3$ )

b) Relative standard deviation of repeatability

### 3.3 ペット法を参考とした検討

山多ら<sup>7)</sup>はペット法の検討に際し，低回収率を改良するために，抽出前に 60 °C で 2 時間加温して抽出率を改良し，誘導体化前に更に 2.5 倍希釈した後，ミニカラム処理を追加して精製不足を改良している。そこで，グルホシネート法の試料液を更に精製するため山多らの検討の誘導体化前の希釈操作及びミニカラム処理を追加した本法及びペット法で内標準を使用しない方法を比較検討した。3.2 で低回収率となった大麦及びアルファルファ乾草を用い，2.7 に従って定量した。その結果は Table 4 のとおり，アルファルファ乾草は，いずれも良好な結果が得られなかったが，大麦はほぼ同等の良好な回収率が得られた。なお，抽出前に 60 °C で 2 時間加温する操作は効果がなかったことから，本法は，グルホシネート法に誘導体化前の 2.5 倍希釈操作及びミニカラム処理を追加した方法とした。

Table 4 Comparison of two methods

	Barley	Alfalfa hay
	Recovery <sup>a)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)
This method	84.5	60.7
Method for pet food	84.6	67.7

a)  $n = 1$

確認のため，大麦及びアルファルファ乾草を用い，グリホサートとしてそれぞれ 20 及び 120 mg/kg 相当量（最終試料溶液中で 200 及び 120 ng/mL 相当量）を添加し，本法（乾牧草については 2.5 に記載の方法）により，3 点併行で定量し，回収率及び繰返し精度を検討した。その結果，アルファルファ乾草は，平均回収率が 67.3 %，その繰返し精度は RSD<sub>r</sub> として 10 % と良好な結果が得られなかったことから，乾牧草は，やはり本法の適用対象外とした。なお，大麦は，Table 6 のとおり，良好な結果が得られたことから，本法の適用対象と判断した。

### 3.4 小麦に対する添加回収試験の手法の検討

筆者らが検討したグルホシネート法では、小麦の添加回収試験において、試料が固結して抽出に問題があったため、小麦を適用対象から除外した<sup>5)</sup>。グリホサートを対象とした本法でも同様のことが予想されたことから、次の検討を実施した。

試料が固結する原因が、グルホシネート法では、標準原液を水で調製したことから、小麦に添加する標準液も水で調製していたことにあると考えられた。そこで、水を用いて調製した添加用標準液及び2.2の4)に従い調製した小麦添加用標準液を用い、小麦に添加する標準液組成の比較検討を実施した。

小麦に対し、これらの添加用標準液をそれぞれグリホサートとして5 mg/kg 相当量（最終試料溶液中で50 ng/mL 相当量）添加し、本法によるグリホサートの回収率を比較した。その結果、Table 5 のとおり回収率の改善が認められた。よって、本法は、小麦にも適用可能であると考えられた。なお、以下の検討においても、小麦に添加する標準液はメタノール水（19+1）で調製したものをを用いた。

Table 5 Examination of suitability for wheat

Kind of the solvent	Recovery <sup>a)</sup> (%)
Water	50.1
Methanol-water (19:1)	95.6

a)  $n = 1$

### 3.5 妨害物質の検討

とうもろこし（2種類）、マイロ、大麦（3種類）、小麦（2種類）、えん麦、稲わら（2種類）、稲発酵粗飼料（2種類）及び粳米を用い、本法により調製した試料溶液をLC-MS/MSに注入し、定量を妨げるピークの有無を確認したが、妨害となるピークは認められなかった。

なお、大麦（1種類）及びマイロにおいてグリホサートと同じ保持時間にピークが確認されたため、定量イオンだけでなく、確認イオンでも定量を行ったところ、両方で定量値が一致したことからグリホサート使用による残留ピークと判断した。

### 3.6 添加回収試験

グリホサートとして、大麦に20、2及び0.04 mg/kg 相当量（最終試料溶液中で200、20及び0.4 ng/mL 相当量）、小麦に5及び0.5 mg/kg 相当量（同50及び5 ng/mL 相当量）、とうもろこしに1及び0.1 mg/kg 相当量（同10及び1 ng/mL 相当量）、稲わらに0.2及び0.04 mg/kg 相当量（同2及び0.4 ng/mL 相当量）、稲発酵粗飼料に0.2及び0.04 mg/kg 相当量（同2及び0.4 ng/mL 相当量）を添加し、本法に従い、3点併行で定量し、回収率及び繰返し精度を検討した。

その結果は、Table 6 のとおり、平均回収率及びその繰返し精度は相対標準偏差（RSD<sub>r</sub>）として、大麦では74.2~99.0%及び7.1%以下、小麦では80.9~92.8%及び8.0%以下、とうもろこしでは79.1~102%及び9.7%以下、稲わらでは89.0~98.7%及び13%以下、稲発酵粗飼料では88.2~93.3%及び10%以下であった。

なお、添加回収試験で得られたSRMクロマトグラムの一例をFig. 3に示した。

Table 6 Recovery test for glyphosate

Spiked level (mg/kg)	Feed types									
	Barley		Wheat		Corn		Rice straw		Whole-crop rice silage	
	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)
20	74.2	6.8	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	80.9	7.7	-	-	-	-	-	-
2	77.5	1.1	-	-	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	79.1	7.6	-	-	-	-
0.5	-	-	92.8	8.0	-	-	-	-	-	-
0.2	-	-	-	-	-	-	98.7	11	93.3	8.2
0.1	-	-	-	-	102	9.7	-	-	-	-
0.04	99.0	7.1	-	-	-	-	89.0	13	88.2	10

a) Mean ( $n = 3$ )

b) Relative standard deviation of repeatability

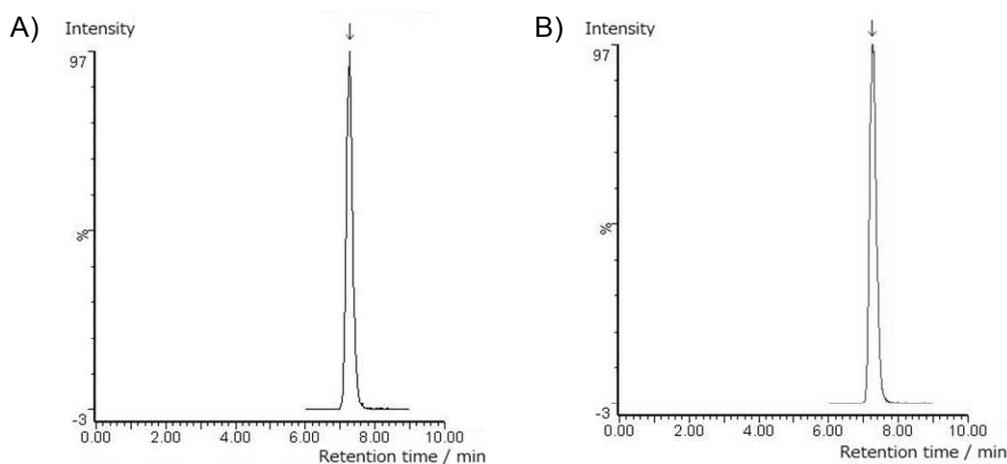


Fig. 3 Selected reaction monitoring chromatograms of glyphosate derivative

(Arrows indicate the peaks of glyphosate derivative and each peak is shown as 100 % in each segment.)

A) Standard solution (The concentration is 100 ng/mL as glyphosate .)

B) Sample solution of barley (Spiked at 20 mg/kg of glyphosate )

### 3.7 定量下限及び検出下限の検討

本法の定量下限及び検出下限を確認するため、大麦、稲わら及び稲発酵粗飼料にグリホサートを添加した添加回収試験により得られたピークの  $SN$  比が 10 及び 3 となる濃度を求めた。

その結果、得られたピークの  $SN$  比が 10 以上となる濃度は 0.04 mg/kg となった。また、 $SN$  比が 3 となる濃度は 0.01 mg/kg となった。

なお、この定量下限濃度における回収率及び繰返し精度は、先に Table 6 に示したとおり良好であった。

以上の結果から、本法の定量下限は 0.04 mg/kg、検出下限は 0.01 mg/kg であった。

### 3.8 共同試験

本法の室間再現精度を確認するため、濃度非通知、かつ非明示の 2 点反復で共通試料による共同試験を実施した。

共通試料としては、とうもろこしにグリホサートとして 1 mg/kg 相当量（10 g に対して 1 mL 中に 10  $\mu$ g を含有する標準液 1 mL 添加）及び稲わらにグリホサートとして 0.2 mg/kg 相当量（10 g に対して 1 mL 中に 2  $\mu$ g を含有する標準液 1 mL 添加）を、各試験室にて分析開始の前日に添加して調製した試料を用いた。参加試験室は、協同飼料株式会社研究所、全国農業協同組合連合会飼料畜産中央研究所、一般財団法人日本食品分析センター多摩研究所、一般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（計 10 試験室）であった。結果の解析については国際的にハーモナイズされた共同試験に関する手順<sup>9), 10)</sup>を参考に、Cochran 検定、外れ値 1 個の Grubbs 検定及び外れ値 2 個の Grubbs 検定を行い、外れ値の有無を確認した上で平均回収率、繰返し精度（ $RSD_r$ ）及び室間再現精度（ $RSD_R$ ）を算出し、得られた  $RSD_R$  から、修正 Horwitz 式を用いて HorRat を求めた。

結果は Table 7 のとおりであった。

とうもろこし及び稲わらについて、平均回収率は 98.1 及び 92.5 %、 $RSD_r$  は 9.2 及び 7.5 %、 $RSD_R$  は 13 及び 13 %、HorRat は 0.79 及び 0.61 であった。

参考のため、各試験室で使用した LC-MS/MS の機種等を Table 8 に示した。

Table 7 Collaborative study results of glyphosate

Lab. No.	Feed types			
	Corn		Rice straw	
	(mg/kg)		(mg/kg)	
1	0.729	1.05	0.194	0.216
2	0.837	0.819	0.144	0.167
3	1.05	1.04	0.188	0.190
4	0.972	0.941	0.172	0.155
5	1.01	0.902	0.186	0.156
6	0.953	0.905	1.26 <sup>b)</sup>	0.247 <sup>b)</sup>
7	0.983	0.998	0.184	0.196
8	1.14	1.24	0.199	0.174
9	1.08	1.13	0.224	0.215
10	1.01	0.831	0.524 <sup>a)</sup>	3.32 <sup>a)</sup>
Spiked level (mg/kg)	1		0.2	
Mean value <sup>c)</sup> (mg/kg)	0.981		0.185	
Recovery <sup>c)</sup> (%)	98.1		92.5	
RSD <sub>r</sub> <sup>d)</sup> (%)	9.2		7.5	
RSD <sub>R</sub> <sup>e)</sup> (%)	13		13	
PRSD <sub>R</sub> <sup>f)</sup> (%)	16		21	
HorRat	0.79		0.61	

a) Data excluded by Cochran test.

b) Data excluded by single Grubbs test.

c) Corn :  $n=20$  ; Rice straw :  $n=16$

d) Relative standard deviation of repeatability within laboratory

e) Relative standard deviation of reproducibility between laboratories

f) Predicted relative standard deviation of reproducibility between laboratories calculated from the modified Horwitz equation

Table 8 Instruments used in the collaborative study

Lab.No.	LC-MS/MS	LC column (i.d.×length, particle size)
1	LC: Waters ACQUITY UPLC	Agilent Technologies
	MS/MS: Waters Quattro premier XE	ZORBAX Eclipse XDB-C18 (2.1 mm×150 mm, 5 µm)
2	LC: Waters ACQUITY UPLC	Agilent Technologies
	MS/MS: Waters ACQUITY TQD	ZORBAX Eclipse XDB-C18 (2.1 mm×150 mm, 5 µm)
3	LC: Waters ACQUITY UPLC	Agilent Technologies
	MS/MS: Waters ACQUITY TQD	ZORBAX Eclipse XDB-C18 (2.1 mm×150 mm, 5 µm)
4	LC: Waters ACQUITY UPLC	Agilent Technologies
	MS/MS: Waters ACQUITY TQD	ZORBAX Eclipse XDB-C18 (2.1 mm×150 mm, 5 µm)
5	LC: Waters 2695	Agilent Technologies
	MS/MS: Waters Quattro micro API	ZORBAX Eclipse XDB-C18 (2.1 mm×150 mm, 3.5 µm)
6	LC: Agilent Technologies 1200	Agilent Technologies
	MS/MS: Agilent Technologies 6410 Triple Quad LC/MS	ZORBAX Eclipse XDB-C18 (2.1 mm×150 mm, 5 µm)
7	LC: Shimadzu LC-20A	GL Sciences
	MS/MS: Thermo Scientific TSQ Quantum Ultra	Inertsil ODS-SP (2.1 mm×150 mm, 5 µm)
8	LC: Agilent Technologies 1200	Agilent Technologies
	MS/MS: Agilent Technologies 6410 Triple Quad LC/MS	ZORBAX Eclipse XDB-C18 (2.1 mm×150 mm, 5 µm)
9	LC: Agilent Technologies 1200	Kanto Chemical
	MS/MS: AB Sciex API-3200 Q TRAP	Mightysil RP-18 GP (2.0 mm×150 mm, 5 µm)
10	LC: Waters ACQUITY UPLC	Waters
	MS/MS: Waters ACQUITY TQD	ACQUITY UPLC® BEH C18 (2.1 mm×150 mm, 1.7 µm)

#### 4 まとめ

穀類、稲わら及び稲発酵粗飼料中に残留するグリホサートについて、グルホシネート法及びペット法を基に、LC-MS/MSを用いた定量法の飼料分析基準への適用の可否を検討したところ、グルホシネート法にペット法の誘導体化処理前の希釈及びミニカラム処理操作を追加することで、以下の結果が得られ、適用が可能であると考えられた。

- 1) 検量線は、0.3 ~ 300 ng/mL 相当量（注入量として 0.0015 ~ 1.5 ng 相当量）の範囲で直線性を示した。
- 2) 穀類、稲わら及び稲発酵粗飼料については良好な結果が得られた。乾牧草については良好な結果が得られず本法の適用除外とすることにした。
- 3) 本法に従って得られた SRM クロマトグラムでは、14 種類の飼料原料において定量を妨げるピ

ークは認められなかった。

- 4) 大麦にグリホサートとして 20, 2 及び 0.04 mg/kg 相当量, 小麦に 5 及び 0.5 mg/kg 相当量, とうもろこしに 1 及び 0.1 mg/kg 相当量, 稲わらに 0.2 及び 0.04 mg/kg 相当量, 稲発酵粗飼料に 0.2 及び 0.04 mg/kg 相当量を添加し, 本法に従い, 3 点併行で定量し, 回収率及び繰返し精度を検討したところ, 良好な結果が得られた。
- 5) 本法による定量下限は試料中で 0.04 mg/kg, 検出下限は 0.01 mg/kg であった。
- 6) とうもろこし及び稲わらにグリホサートとしてそれぞれ 1 及び 0.2 mg/kg 相当量を添加した試料を用いて 10 試験室において本法に従い共同試験を実施したところ, 良好な結果が得られた。

## 謝 辞

共同試験に参加していただいた協同飼料株式会社研究所, 全国農業協同組合連合会飼料畜産中央研究所, 一般財団法人日本食品分析センター多摩研究所及び一般財団法人マイコトキシン検査協会における関係者各位に感謝の意を表します。

## 文 献

- 1) 社団法人日本植物防疫協会, 農薬ハンドブック 2005 年度版編集委員会編集: 農薬ハンドブック 2005 年度版.
- 2) 農林省令: 飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令, 昭和 51 年 7 月 24 日, 省令第 35 号 (1976).
- 3) 農林水産省畜産局長通知: 飼料の有害物質の指導基準の制定について, 昭和 63 年 10 月 14 日, 63 畜 B 第 2050 号 (1988).
- 4) 財団法人日本食品分析センター: 平成 20 年度飼料中の有害物質等残留基準を設定するための分析法開発及び家畜等への移行調査委託事業 (飼料中の有害物質等の分析法の開発) (2009).
- 5) 牧野 大作, 若宮 洋市, 榊原 良成, 上野山 智洋: 穀類, 乾牧草及び稲わら中のグルホシネート, 3-メチルホスフィニコプロピオン酸及び N-アセチルグルホシネート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定量法, 飼料研究報告, **38**, 89-107 (2013).
- 6) 農林水産省消費・安全局長通知: 飼料分析基準の制定について, 平成 20 年 4 月 1 日, 19 消安第 14729 号 (2008).
- 7) 山多 利秋, 吉村 哲史: 愛玩動物用飼料中の含リンアミノ酸系農薬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定量法, 飼料研究報告, **37**, 115-146 (2012).
- 8) 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).
- 9) Horwitz, W., Protocol for Design, Conduct and Interpretation of Method - Performance Studies, *Pure & appl. Chem.*, **67**(2), 331-343 (1995).
- 10) AOAC Int. (2012). Appendix D: Guidelines for Collaborative Study Procedures to Validate Characteristics of a Method of Analysis. In *Official Methods of Analysis of AOAC Int.* 19 ed. volume II, Gaithersburg, MD, USA

## 4 飼料用イネ中のピメトロジンの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による定量法

武田 然也\*

### Determination of Pymetrozine in Rice Straw, Whole-crop Rice Silage and Paddy Rice for Feed by LC-MS/MS

Zenya TAKEDA\*

(\* Food and Agricultural Materials Inspection Center, Nagoya Regional Center  
(Now Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries of Japan))

An analytical method was developed to determine the level of pymetrozine in rice straw, whole-crop rice silage and paddy rice for feed using liquid chromatograph-tandem mass spectrometer (LC-MS/MS).

After adding water to the samples, pymetrozine was extracted with methanol and the resulting solutions were filtered. The filtrate was then diluted with methanol to a final volume of 200 mL. The sample solution was purified with an octadecylsilylated silica gel mini column (InertSep Slim-J C18-B from GL sciences Inc.; Tokyo, Japan) and injected into the LC-MS/MS for determination of the pymetrozine level. LC separation was carried out on an ODS column (Inertsil ODS-SP, 2.1 mm i.d. × 150 mm, 5 μm from GL Sciences Inc.) using a gradient with 2 mmol/L ammonium acetate solution and methanol as the mobile phase. In the MS/MS analysis, positive mode electrospray ionization (ESI+) was used.

Spike tests were conducted on rice straw, whole-crop rice silage, and paddy rice spiked with 1, 0.1 or 0.01 mg/kg of pymetrozine. The resulting mean recoveries ranged from 87.1 to 97.0 %, and the repeatability in terms of relative standard deviations (RSD<sub>r</sub>) was not more than 9.8 %.

A collaborative study was conducted in nine laboratories using rice straw and paddy rice spiked with 0.1 mg/kg of pymetrozine. The mean recovery, repeatability and reproducibility in terms of relative standard deviations (RSD<sub>r</sub> and RSD<sub>R</sub>) and HorRat, respectively, were 90.7 %, 1.8 %, 6.6 % and 0.30 for rice straw and 92.6 %, 2.9 %, 6.8 % and 0.31 for paddy rice.

This method was validated and established for use in the inspection of pymetrozine in rice straw, whole-crop rice silage and paddy rice for feed.

Key words: pymetrozine ; liquid chromatograph-tandem mass spectrometer (LC-MS/MS) ; electrospray ionization (ESI) ; feed, rice straw, whole-crop rice silage, paddy rice

キーワード：ピメトロジン；液体クロマトグラフタンデム型質量分析計；エレクトロスプレーイオン化法；飼料；稲わら；稲発酵粗飼料；粃米

---

\* 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 農林水産省消費・安全局畜水産安全管理課

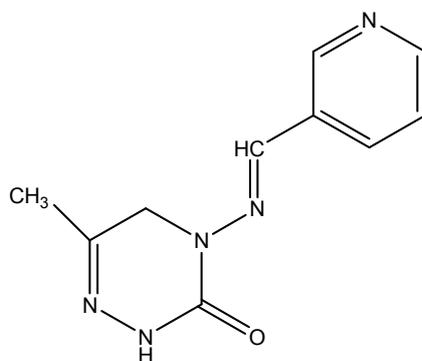
## 1 緒 言

ピメトロジンは1986年にチバガイギー社（現 シンジェンタ社）により開発されたピリジンアゾメチン系殺虫剤であり，半翅目昆虫（アブラムシ類，コナジラミ類，ウンカ類，ヨコバイ類等）にのみ選択的な殺虫活性を発現する<sup>1)</sup>。

我が国では，飼料の有害物質の指導基準において，稲わら中でその指導基準は1 mg/kgと設定されている<sup>2)</sup>。定量法としては，厚生労働省通知<sup>3)</sup>により，紫外吸光光度型検出器付き高速液体クロマトグラフ及び液体クロマトグラフ質量分析計（以下「LC-MS」という。）を用いた個別試験法，並びにLC-MSを用いた農薬等の一斉試験法が示されているが，飼料に適用できる定量法はない。

今回，一般財団法人日本食品分析センターが「平成22年度飼料中の有害物質等残留基準を設定するための分析法開発及び家畜等への移行調査委託事業」において開発した液体クロマトグラフタンデム型質量分析計（以下「LC-MS/MS」という。）を用いた定量法<sup>4)</sup>（以下「JFRL法」という。）を基に，飼料分析基準<sup>5)</sup>への適用の可否を検討したので，その概要を報告する。

参考にピメトロジンの構造式等をFig. 1に示した。



Pymetrozine

(*E*)-4,5-dihydro-6-methyl-4-(3-pyridylmethyleneamino)-1,2,4-triazin-3(2*H*)-one  
C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>N<sub>5</sub>O MW: 217.2 CAS No.: 123312-89-0

Fig. 1 Chemical structure of pymetrozine

## 2 実験方法

### 2.1 試料

稲わら及び籾米はそれぞれ1 mmの網ふるいを通過するまで粉碎した。稲発酵粗飼料は60 °Cで5時間乾燥後，同様に粉碎した。

### 2.2 試薬

1) メタノールは液体クロマトグラフ用を用いた。水は超純水（JIS K 0211に定める5218の超純水）を用いた。酢酸アンモニウム及び炭酸カリウムは試薬特級を用いた。

2) ピメトロジン標準液

ピメトロジン標準品（和光純薬工業製，純度100.0%）25 mgを正確に量って50 mLの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てピメトロジン標準原液を調製した（この液1 mLは，ピメトロジンとして0.5 mg ( $f=1.00$ )を含有する。）。

使用に際して，ピメトロジン標準原液5 mLを50 mLの全量フラスコに正確に入れ，更に標

線までメタノールを加えて、1 mL 中にピメトロジンとして 50  $\mu\text{g}$  を含有する液を調製した。この液の一定量を、水-メタノール (7+3) で正確に希釈し、1 mL 中にピメトロジンとしてそれぞれ 0.1, 1, 5, 10, 15 及び 20 ng を含有する各標準液を調製した。

### 2.3 装置及び器具

- 1) 乾燥器：ADVANTEC 製 DRM420DB
- 2) 粉碎機：Retsch 製 ZM-100
- 3) 乾牧草用粉碎機：Retsch 製 SM-100
- 4) 振とう機：タイテック製 レシプロシェーカーSR-2W
- 5) ブフナー漏斗：桐山製作所製 SU-95
- 6) オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム：ジューエルサイエンス製 InertSep Slim-J C18-B (充てん剤量 500 mg) にリザーバーを連結したもの
- 7) 吸引マニホールド：ジューエルサイエンス製 GL-SPE 吸引マニホールド
- 8) LC-MS/MS :  
LC 部：Waters 製 ACQUITY UPLC System  
MS 部：Waters 製 ACQUITY TQ Detector

### 2.4 定量方法

#### 1) 抽出

分析試料 10.0 g を量って 300 mL の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、更に炭酸カリウム溶液 (7 w/v%) 5 mL 及びメタノール 120 mL (粃米は 100 mL) を加え、30 分間振り混ぜて (250 rpm) 抽出した。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メタノール 50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過した。更に全量フラスコの標線までメタノールを加えた。この液 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した。

#### 2) カラム処理

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムをメタノール 5 mL 及び水 5 mL で順次洗浄した。試料溶液をミニカラムに入れ、流速 1 mL/min 程度で吸引して液面が充てん剤の上端に達するまで流出させた。10 mL の全量フラスコをミニカラムの下に置き、試料溶液の入っていたなす形フラスコを水-メタノール (7+3) 4 mL ずつで 2 回洗浄し、洗液を順次ミニカラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流下してピメトロジンを溶出させた。全量フラスコの標線まで同溶媒を加え、LC-MS/MS による測定に供する試料溶液とした。

#### 3) LC-MS/MS による測定

試料溶液及び各ピメトロジン標準液各 5  $\mu\text{L}$  を LC-MS/MS に注入し、選択反応検出 (SRM) クロマトグラムを得た。測定条件を Table 1 及び 2 に示した。

Table 1 Operating conditions of LC-MS/MS

Column	Inertsil ODS-SP (2.1 mm i.d. × 150 mm, 5 μm)
Mobile phase	2 mmol/L ammonium acetate solution-methanol (4:1) → 15 min → (1:1) (5 min)
Flow rate	0.2 mL/min
Column temperature	40 °C
Ionization	Electrospray ionization (ESI)
Mode	Positive
Ion source temperature	110 °C
Desolvation gas	N <sub>2</sub> (800 L/h, 400 °C)
Cone gas	N <sub>2</sub> (50 L/h)
Capillary voltage	1 kV

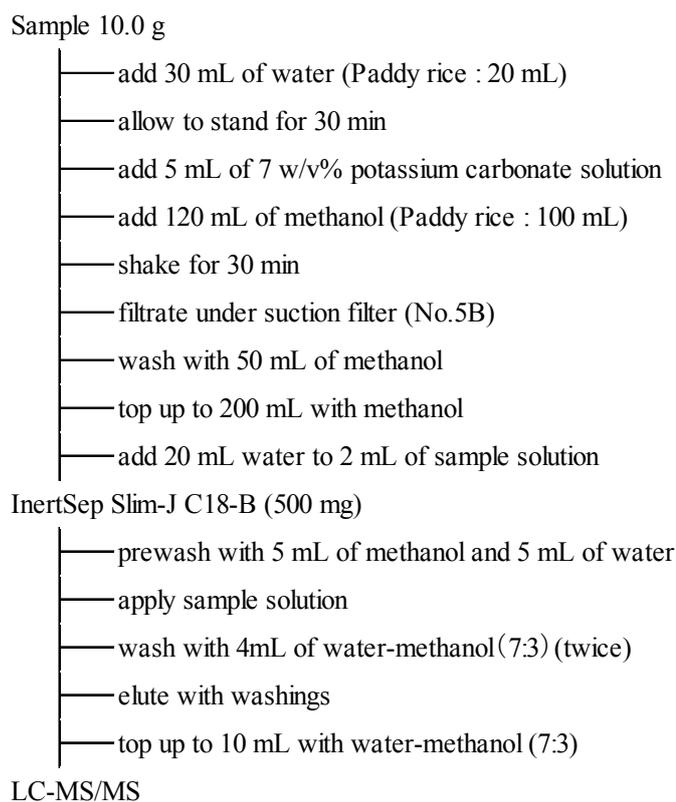
Table 2 MS/MS parameters

Target	Precursor ion ( <i>m/z</i> )	Product ion ( <i>m/z</i> )	Qualifier ion ( <i>m/z</i> )	Cone voltage (V)	Collision energy (eV)
Pymetrozine	218	105	-	35	20
		-	78	35	40

## 4) 計 算

得られた SRM 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、試料中のピメトロジン量を算出した。

なお、定量法の概要を Scheme 1 に示した。



Scheme 1 Analytical procedure for pymetrozine

### 3 結果及び考察

#### 3.1 検量線

2.2 の 2) に従って調製したピメトロジン標準液各 5  $\mu$ L を LC-MS/MS に注入し、得られた SRM 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、ピメトロジンは各 0.1~20 ng/mL 相当量（注入量として 0.0005~0.1 ng 相当量）の範囲で直線性を示した。

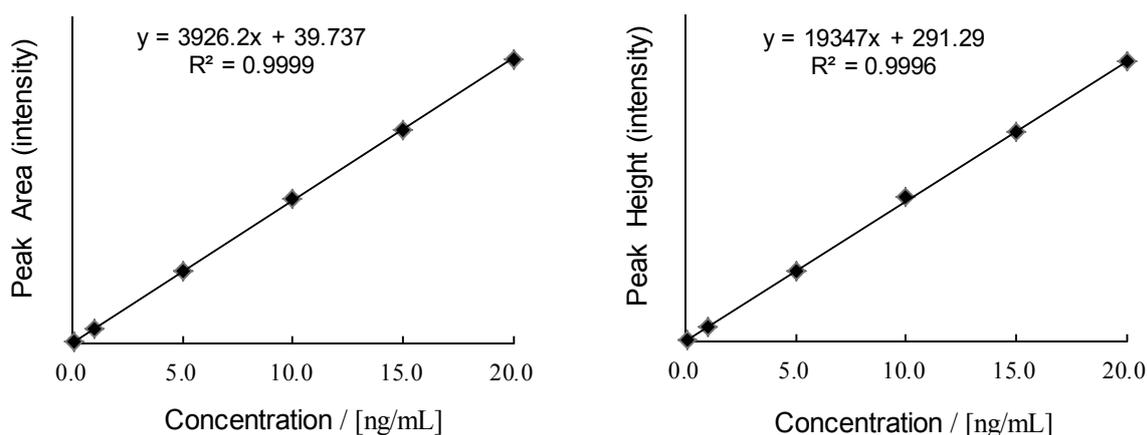


Fig. 2 Calibration curves of pymetrozine by peak area (Left) and peak height (Right)

### 3.2 カラム処理における溶出画分の確認

2.4 の 1)により調製したカラム処理に供する試料溶液にピメトロジンとして 1 mg/kg 相当量を添加（最終試料溶液中で 10 ng/mL 相当量）し，オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムからの溶出画分を確認した．その結果は Table 3 のとおりであり，ピメトロジンは水-メタノール（7+3）6 mL で全量溶出していた．JFRL 法<sup>4)</sup>では 10 mL で溶出させているが，溶出液を受ける容器が 10 mL 全量フラスコであり標線を越える恐れがあることから，本法では，カラム処理に供する試料溶液が入っていたなす形フラスコを水-メタノール（7+3）4 mL ずつで 2 回洗浄し，その洗液を順次ミニカラムに加えてピメトロジンを溶出させた後，全量フラスコの標線まで同溶媒を加え LC-MS/MS による測定に供する試料溶液とした．

Table 3 Elution pattern of pymetrozine from InertSep Slim-J C18-B

Feed types	Recovery <sup>a)</sup> (%)					Total
	Water-methanol (7:3)					
	0~4 mL	4~6 mL	6~8 mL	8~10 mL	10~12 mL	
Rice straw	93	5	0	0	0	98
Whole-crop rice silage	101	4	0	0	0	105
Paddy rice	99	0	0	0	0	99

a) Mean ( $n=2$ )

### 3.3 妨害物質の検討

稲わら 2 検体，稲発酵粗飼料 2 検体及び粃米 2 検体を試料として，2.4 により調製した試料溶液を LC-MS/MS に注入し，得られた SRM クロマトグラムを確認したところ，いずれの試料においても定量を妨げるピークは認められなかった．

### 3.4 添加回収試験

飼料用イネ（稲わら，稲発酵粗飼料及び粃米）にピメトロジンとして各 1, 0.1 及び 0.01 mg/kg 相当量を添加した試料（最終試料溶液中で各 10, 1.0 及び 0.1 ng/mL 相当量）を用いて 3 点併行による添加回収試験を実施し，回収率及び繰返し精度を求めた。

その結果は Table 4 のとおり，ピメトロジンの平均回収率は 87.1~97.0 %，その繰返し精度は相対標準偏差（RSD<sub>r</sub>）として 9.8 %以下であり，良好な成績が得られた。

なお，得られた SRM クロマトグラムの一例を Fig. 3 に示した。

Spiked level (mg/kg)	Rice straw		Whole-crop rice silage		Paddy rice	
	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)
1	87.1	0.7	88.0	2.3	97.0	1.0
0.1	90.0	1.2	91.2	8.5	96.8	3.7
0.01	89.3	3.0	88.4	9.8	94.2	6.1

a) Mean ( $n=3$ )

b) Relative standard deviation of repeatability

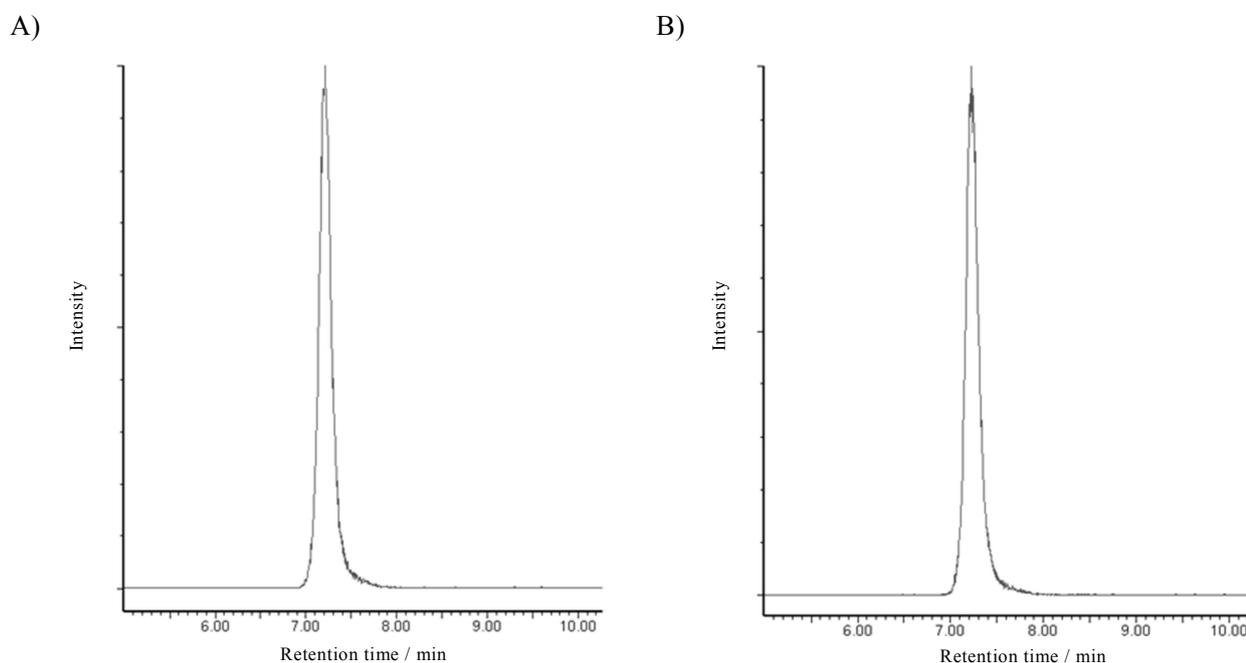


Fig. 3 Selected reaction monitoring chromatograms

LC-MS/MS conditions are shown in Table 1 and 2.

- A) Sample solution of rice straw spiked at 1 mg/kg pymetrozine.  
 B) Standard solution (The amount of pymetrozine is 0.05 ng.)

### 3.5 定量下限及び検出下限

本法の定量下限及び検出下限を確認するため、飼料用イネにピメトロジンを添加し、添加回収試験により得られるピークの  $SN$  比が 10 及び 3 となる濃度を求めた。

その結果、得られたピークの  $SN$  比が 10 以上となる濃度は 0.01 mg/kg であり、また、 $SN$  比が 3 となる濃度は 0.003 mg/kg であったことから、定量下限は 0.01 mg/kg、検出下限は 0.003 mg/kg であった。

なお、Table 4 に示したとおり、当該定量下限濃度における添加回収試験結果は良好であった。

### 3.6 共同試験

本法の室間再現精度を確認するため、濃度非通知、かつ非明示の 2 点反復で共通試料による共同試験を実施した。

共通試料としては、稲わら及び籾米にピメトロジンとして 0.1 mg/kg 相当量（分析用試料 10 g に対して 1 mL 中に 1  $\mu$ g を含有する標準液 1 mL 添加）を、各試験室にて分析開始の前日に添加して調製した試料を用いた。参加試験室は、一般社団法人日本科学飼料協会科学飼料研究センター、一般財団法人食品環境検査協会、協同飼料株式会社研究所、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（計 9 試験室）であった。結果の解析については、国際的にハーモナイズされた共同試験に関する手順<sup>6), 7)</sup>を参考に、Cochran 検定、外れ値 1 個の Grubbs 検定及び外れ値 2 個の Grubbs 検定を行い、外れ値の有無を確認した上で平均回収率、平均回収率、繰返し精度 ( $RSD_r$ ) 及び室間再現精度 ( $RSD_R$ ) を算出し、得られた  $RSD_R$  から、修正 Horwitz 式を用いて HorRat を求めた。

結果は Table 5 のとおりであった。稲わら及び籾米について、平均回収率はそれぞれ 90.7 及び 92.6 %、 $RSD_r$  はそれぞれ 1.8 及び 2.9 %、 $RSD_R$  はそれぞれ 6.6 及び 6.8 %、HorRat はそれぞれ 0.30 及び 0.31 であった。

参考のため、各試験室で使用した LC-MS/MS の機種等を Table 6 に示した。

Table 5 Collaborative study results of pymetrozine

Lab.No.	Feed types			
	Rice straw (mg/kg)		Paddy rice (mg/kg)	
1	0.100 <sup>a)</sup>	0.0797 <sup>a)</sup>	0.0866	0.0855
2	0.0905	0.0894	0.0951	0.0962
3	0.0819	0.0836	0.0844	0.0898
4	0.0919	0.0939	0.100	0.109
5	0.0906	0.0873	0.0914	0.0920
6	0.0959	0.0944	0.0939	0.0932
7	0.0858	0.0834	0.0899	0.0930
8	0.0894	0.0911	0.0873	0.0852
9	0.103	0.0994	0.0969	0.0972
Spiked level (mg/kg)	0.1		0.1	
Mean value <sup>b)</sup> (mg/kg)	0.0907		0.0926	
Recovery <sup>b)</sup> (%)	90.7		92.6	
RSD <sub>F</sub> <sup>c)</sup> (%)	1.8		2.9	
RSD <sub>R</sub> <sup>d)</sup> (%)	6.6		6.8	
PRSD <sub>R</sub> <sup>e)</sup> (%)	22		22	
HorRat	0.30		0.31	

a) Data excluded by Cochran test

b) Rice straw:  $n=16$  ; Paddy rice:  $n=18$

c) Relative standard deviation of repeatability within laboratory

d) Relative standard deviation of reproducibility between laboratories

e) Predicted relative standard deviation of reproducibility between laboratories  
calculated from the modified Horwitz equation

Table 6 Instruments used in the collaborative study

Lab. No.	LC-MS/MS	LC column (i.d.×length, particle size)
1	LC: Agilent Technologies 1200 Series MS/MS: Agilent Technologies 6410	GL Sciences Inertsil ODS-SP (2.1 mm ×150 mm, 5 μm)
2	LC: Shimadzu LC-20A MS/MS: AB SCIEX API-4000	GL Sciences Inertsil ODS-SP (2.1 mm ×150 mm, 5 μm)
3	LC: Agilent Technologies 1200 Series MS/MS: Agilent Technologies 6410	GL Sciences Inertsil ODS-SP (2.1 mm ×150 mm, 5 μm)
4	LC: Waters ACQUITY UPLC MS/MS: Waters Quattro Premier XE	GL Sciences Inertsil ODS-SP (2.1 mm ×150 mm, 5 μm)
5	LC: Waters 2695 MS/MS: Micromass Quattro micro API	Agilent Technologies ZORBAX Eclipse XDB-C18 (2.1 mm ×150 mm, 3.5 μm)
6	LC: Waters ACQUITY UPLC MS/MS: Waters Xevo TQD	Agilent Technologies ZORBAX Eclipse XDB-C18 (2.1 mm ×150 mm, 5 μm)
7	LC: Waters ACQUITY UPLC MS/MS: Waters TQD	GL Sciences Inertsil ODS-SP (2.1 mm ×150 mm, 5 μm)
8	LC: Waters ACQUITY UPLC MS/MS: Waters TQD	GL Sciences Inertsil ODS-SP (2.1 mm ×150 mm, 5 μm)
9	LC: Waters ACQUITY UPLC MS/MS: Waters TQD	Agilent Technologies ZORBAX Eclipse XDB-C18 (2.1 mm ×150 mm, 5 μm)

#### 4 まとめ

飼料用イネに残留するピメトロジンについて、JFRL 法を基に、LC-MS/MS を用いた定量法の飼料分析基準への適用の可否について検討したところ、カラム処理における溶出溶媒量を 10 mL から 8 mL に変更することで、以下の結果が得られ、適用が可能であると考えられた。

- 1) 検量線は、0.1~20 ng/mL (注入量として 0.0005~0.1 ng) の範囲で直線性を示した。
- 2) 飼料用イネについて、本法に従って得られたクロマトグラムには、定量を妨げるピークは認められなかった。
- 3) 飼料用イネにピメトロジンとして 1, 0.1 及び 0.01 mg/kg 相当量 (最終試料溶液中で 10, 1 及び 0.1 ng/mL 相当量) を添加し、本法に従って 3 点併行分析を実施し、回収率及び繰返し精度を求めたところ良好な結果が得られた。
- 4) 本法のピメトロジンの定量下限は試料中で 0.01 mg/kg, 検出下限は 0.003 mg/kg であった。
- 5) 稲わら及び粳米にピメトロジンとしてそれぞれ 0.1 mg/kg 相当量を添加した試料を用いて 9 試験室において本法に従い共同試験を実施したところ、良好な結果が得られた。

## 謝 辞

共同試験に参加していただいた一般社団法人日本科学飼料協会科学飼料研究センター，一般財団法人食品環境検査協会及び協同飼料株式会社研究所における関係者各位に感謝の意を表します。

## 文 献

- 1) 食品安全委員会：ピメトロジン農薬評価書，平成 22 年 9 月 (2010).
- 2) 農林水産省畜産局長通知：飼料の有害物質の指導基準の制定について，昭和 63 年 10 月 14 日，63 畜 B 第 2050 号(1988).
- 3) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：食品に残留する農薬，飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について，平成 17 年 1 月 24 日，食安発 0124001 号 (2005).
- 4) 財団法人日本食品分析センター：平成 20 年度飼料中の有害物質等残留基準を設定するための分析法開発及び家畜等への移行調査委託事業（飼料中の有害物質等の分析法の開発）(2009).
- 5) 農林水産省消費・安全局長通知：飼料分析基準の制定について，平成 20 年 4 月 1 日，19 消安第 14729 号 (2008).
- 6) Horwitz, W., Protocol for Design, Conduct and Interpretation of Method - Performance Studies, *Pure & appl. Chem.*, **67**(2), 331-343 (1995).
- 7) AOAC Int. (2012). Appendix D: Guidelines for Collaborative Study Procedures to Validate Characteristics of a Method of Analysis. In *Official Methods of Analysis of AOAC Int.* 19 ed. volume II, Gaithersburg, MD, USA

**技術レポート**

# 1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法の妥当性確認 ～乾牧草及び稲わら中のペンディメタリンについて～

船木 紀夫<sup>\*1</sup>, 設楽 賢治<sup>\*1</sup>, 牧野 大作<sup>\*2</sup>

## Validation of the Simultaneous Determination Method of Pesticides by GC-MS ～ Pendimethalin in Grass Hay and Rice Straw ~

Norio FUNAKI<sup>\*1</sup>, Kenji SHIDARA<sup>\*1</sup> and Daisaku MAKINO<sup>\*2</sup>(\*<sup>1</sup> Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center\*<sup>2</sup> Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center  
(Now Nagoya Regional Center))

### 1 緒 言

ペンディメタリンは、アメリカン・サイアナミッド社（現 BASF アグロ社）が開発したジニトロアニリン系除草剤であり、一年生雑草に効果がある<sup>1)</sup>。

飼料中のペンディメタリンの残留基準値は、農林水産省令<sup>2)</sup>においてえん麦、マイロ及び牧草で 0.1 mg/kg 並びに大麦、小麦、とうもろこし及びライ麦で 0.2 mg/kg と定められている。平成 25 年 6 月 10 日に開催された第 34 回農業資材審議会飼料分科会において、ペンディメタリンの牧草の基準値について 0.1 mg/kg から 15 mg/kg に改正することが適当と答申された<sup>3)</sup>。

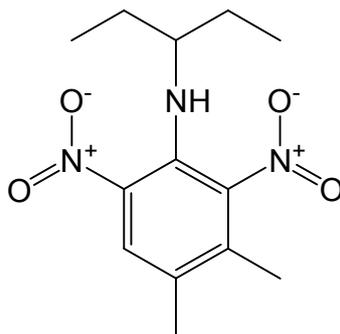
飼料中のペンディメタリンは、既に飼料分析基準<sup>4)</sup>に収載済みの野崎らが開発したガスクロマトグラフ質量分析計（以下「GC-MS」という。）による一斉分析法<sup>5)</sup>による定量が可能である。しかし、改正予定の乾牧草中のペンディメタリンの基準値 15 mg/kg 近辺では分析法の妥当性は確認されていないことから、今回、改正予定の基準値及びその 1/10 の 2 濃度にて添加回収試験を実施し、分析法の妥当性を確認した。

また、飼料の有害物質の指導基準<sup>6)</sup>においては、平成 22 年 9 月 8 日の改正により、稲わらに対するペンディメタリンの指導基準値が 0.02 mg/kg と設定されている<sup>7)</sup>が、現行の飼料分析基準における、フィプロニル、デルタメトリン及びトラロメトリンを除く 136 農薬の定量下限は一律 0.050 mg/kg としていることから、定量下限及び検出下限を再確認するとともに、基準値相当量を添加した飼料を用いて添加回収試験を実施した。

なお、参考までにペンディメタリンの構造式等を Fig. 1 に示した。

\*<sup>1</sup> 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

\*<sup>2</sup> 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、現 名古屋センター



*N*-(1-ethylpropyl)-2,6-dinitro-3,4-xylidine  
 $C_{13}H_{19}N_3O_4$  MW: 281.3 CAS No.: 40487-42-1

Fig. 1 Chemical structure of pendimethalin

## 2 実験方法

### 2.1 試料

アルファルファ乾草，スーダングラス乾草及び稲わらはは，粉砕機でそれぞれ 1 mm の網ふるいを通すまで粉砕した。

### 2.2 試薬

1) 2,2,4-トリメチルペンタンは液体クロマトグラフ用を用いた。アセトニトリル，シクロヘキサン，アセトン，酢酸エチル及びヘキサンは残留農薬・PCB 試験用を用いた。その他，特記している以外の試薬は特級を用いた。

#### 2) ペンディメタリン標準液

ペンディメタリン標準品（林純薬工業製，純度 99.3 %）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 10 mL を加えて溶かし，更に標線まで 2,2,4-トリメチルペンタンを加えてペンディメタリン標準原液を調製した（この液 1 mL は，ペンディメタリンとして 1 mg ( $f=0.979$ ) を含有する。）。

使用に際して，標準原液の一定量を 2,2,4-トリメチルペンタン-アセトン（4+1）で正確に希釈し，1 mL 中にペンディメタリンとしてそれぞれ 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2 及び 0.5  $\mu$ g を含有する各標準液を調製した。

### 2.3 装置及び器具

1) 粉砕機：Retsch 製 SM-2000

2) 振とう機：宮本理研工業製 理研式シェーカー MW-DRV（300 rpm で使用）

3) ロータリーエバポレーター：

BÜCHI Labortechnik 製 Rotavapor R-200（真空コントローラ V-800 付き）

4) 多孔性ケイソウ土カラム（20 mL 保持用）：Agilent Technologies 製 Chem Elut, 20 mL

5) 遠心分離器：久保田製作所製 テーブルトップ遠心機 4000

6) メンブランフィルター：東洋濾紙製 DISMIC-25HP（孔径 0.45  $\mu$ m，直径 25 mm，PTFE）

7) ゲル浸透クロマトグラフ（以下「GPC」という。）：ジーエルサイエンス製 GPC システム

ポンプ：G-Prep GPC 8100

オートサンプラー：G-Prep AS

フラクションコレクターシステム：G-Prep GPC 8100 FC/Pump

8) グラファイトカーボン／アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム：

Supelco 製 ENVI-Carb/LC-NH2 (500 mg/500 mg)

9) 合成ケイ酸マグネシウムミニカラム：Waters 製 Sep-Pak Plus Florisil Cartridge (充てん剤量 910 mg) にリザーバーを連結したもの

10) ガスクロマトグラフ質量分析計：

GC 部：島津製作所製 GC-2010

MS 部：島津製作所製 GCMS-QP2010nc

## 2.4 定量方法

飼料分析基準第 6 章第 3 節 1 農薬の GC-MS による一斉分析法に従って定量した。ただし、乾牧草は、得られた試料溶液を、更に 2,2,4-トリメチルペンタン-アセトン (4+1) で正確に 100 倍 (15 mg/kg 相当量添加) 又は 10 倍 (1.5 mg/kg 相当量添加) 希釈したものを測定に供した。

また、GPC 及び GC-MS 測定条件を Table 1 及び 2 に、定量法の概要を Scheme 1 にそれぞれ示した。

Table 1 Operating conditions of GPC

Column	Shodex CLNpak EV-2000 AC (20 mm i.d.×300 mm, 15 µm)
Guard column	Shodex CLNpak EV-G AC (20 mm i.d.×100 mm, 15 µm)
Eluent	Cyclohexane-acetone (4:1)
Flow rate	5 mL/min
Fraction volume	60~150 mL

Table 2 Operating conditions of GC-MS

Column	Agilent Technologies Rtx-5MS (0.25 mm i.d.×30 m, 0.25 µm film thickness)
Column temperature	70 °C (1 min) → 25 °C/min → 150 °C → 3 °C/min → 200 °C → 8 °C/min → 280 °C (10 min)
Injection mode	Splitless (60 s)
Injection port temperature	280 °C
Carrier gas	He 1.0 mL/min
Transferline temperature	250 °C
Ion source temperature	230 °C
Ionization	Electron ionization
Ionization energy	70 eV
Monitor ion	<i>m/z</i> 252 (for quantification), 281 (for confirmation)

- Sample (grass hay 5.0 g, others 10.0 g)
- add 15 mL of water and allow to stand 30 min
  - add 100 mL acetonitrile and shake (300 rpm) for 30 min
  - filtrate under suction filter (No.5B)
  - wash with 50 mL of acetonitrile
  - evaporate to the volume of 15 mL under 40 °C
- Chem Elut Cartridge
- apply sample solution and allow to stand for 5 min
  - wash with 100 mL of hexane-ethyl acetate (1:1)
  - add 1 mL of acetone-diethylene glycol (49:1)
  - evaporate to dryness under 40 °C
  - dissolve in 10 mL of cyclohexane-acetone (4:1)
  - filtrate with membrane filter (< 0.5 µm)
- GPC
- apply 5 mL of sample solution
  - collect 60 ~ 150 mL fraction
  - add a drop of acetone-diethylene glycol (49:1)
  - evaporate to dryness under 40 °C
  - dissolve in 2 mL of ethyl acetate
- ENVI-Carb/NH<sub>2</sub> Cartridge (prewashed with 10 mL of ethyl acetate)
- apply sample solution
  - elute with 8 mL of ethyl acetate
  - add a drop of acetone-diethylene glycol (49:1)
  - evaporate to dryness under 40 °C
  - dissolve in hexane-acetone (7:3) (grass hay 5.0 mL, others 10.0 mL)
- Sep-Pak Plus Florisil Cartridge (prewashed with 5 mL of acetone and 5 mL of hexane)
- apply 4.0 mL of sample solution
  - elute with 6 mL of hexane-acetone (7:3)
  - add a drop of acetone-diethylene glycol (49:1)
  - evaporate to dryness under 40 °C
  - dissolve in 2.0 mL of 2,2,4-trimethylpentane-acetone (4:1)
  - dilute one hundred-fold or ten-fold with 2,2,4-trimethylpentane-acetone (4:1) in grass hay
- GC-MS

Scheme 1 Analytical procedure for pesticide in feeds by using GC-MS

### 3 結果及び考察

#### 3.1 検量線の作成

2.2 の 1) に従って調製した 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2 及び 0.5 µg/mL 相当量のペンディメタリン標準液各 1 µL を GC-MS に注入し、得られた選択イオン検出 (以下「SIM」という。) クロマトグラムのピーク高さから検量線を作成した。

その結果、Fig. 2 のとおり、検量線は 0.01 ~ 0.5 µg/mL (注入量として 0.01 ~ 0.5 ng) の範囲で直線性を示した。

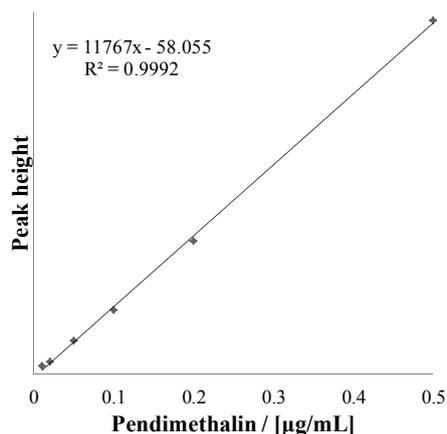


Fig. 2 Calibration curve of pendimethalin by peak height

### 3.2 妨害物質の検討

添加回収試験に用いたアルファルファ乾草，スーダングラス乾草及び稲わら各 1 点について，本法に従って SIM クロマトグラムを作成し，ペンディメタリンの定量を妨げるピークの有無を検討した。

その結果，ペンディメタリンの定量を妨げるピークは認められなかった。

### 3.3 添加回収試験

アルファルファ乾草及びスーダングラス乾草に対しては，ペンディメタリンをそれぞれ 15 及び 1.5 mg/kg 相当量（最終試料溶液中で共に 0.15 µg/mL 相当量），稲わらに対しては 0.02 mg/kg 相当量（最終試料溶液中で 0.02 µg/mL 相当量）を添加した試料を用い，本法により 3 点併行で定量し，回収率及び繰返し精度を求めた。

その結果は，Table 3 のとおり，アルファルファ乾草では平均回収率が 97.8 及び 111 %，その繰返し精度は相対標準偏差（RSD<sub>r</sub>）として 7.9 %以下，スーダングラス乾草では平均回収率が 104 及び 103 %，その繰返し精度は RSD<sub>r</sub>として 4.9 %以下，稲わらでは平均回収率が 115 %，その繰返し精度は RSD<sub>r</sub>として 8.7 %であった。

なお，添加回収試験で得られた SIM クロマトグラムの一例を Fig. 3 に示した。

Table 3 Recoveries of pendimethalin

Spiked level (mg/kg)	Feed types					
	Alfalfa hay		Sudan grass hay		Rice straw	
	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)
15	97.8	7.7	104	4.6	-	-
1.5	111	7.9	103	4.9	-	-
0.02	-	-	-	-	115	8.7

a) Mean (n=3)

b) Relative standard deviation of repeatability

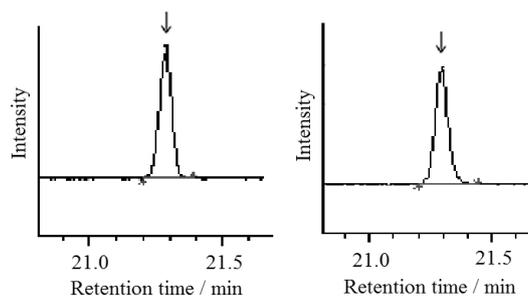


Fig. 3 Selected ion monitoring chromatograms of pendimethalin

(Arrows indicate the peak of pendimethalin.)

(Left) Standard solution (The concentration is 0.2  $\mu\text{g/mL}$ .)

(Right) Sample solution (100-fold diluted) of alfalfa hay (spiked at 15 mg/kg)

### 3.4 定量下限及び検出下限

現行の飼料分析基準におけるペンディメタリンの定量下限は、0.050 mg/kg としている。

この定量下限では、稲わら中のペンディメタリンの指導基準値 0.02 mg/kg を上回ることから、改めて稲わら中のペンディメタリンについて添加回収試験を実施し、得られたピークから SN 比が 10 及び 3 となる濃度を求め、定量下限および検出下限を再確認した。その結果、得られたピークの SN 比が 10 以上となる濃度は 0.02 mg/kg、また、SN 比が 3 となる濃度は 0.006 mg/kg となったことから、本法による稲わら中のペンディメタリンの定量下限を 0.02 mg/kg、検出下限を 0.006 mg/kg と確認した。

なお、Table 3 に示したとおり、当該定量下限濃度における添加回収試験は良好であった。

## 4 まとめ

牧草及び稲わらに対するペンディメタリンの残留基準値等が変更又は新設されたことから、飼料分析基準に収載済みのペンディメタリンの定量法について、改めて妥当性を確認したところ、以下の結果が得られた。

- 1) 検量線は、0.01 ~ 0.5  $\mu\text{g/mL}$  (注入量として 0.01 ~ 0.5 ng) の範囲で直線性を示した。
- 2) 添加回収試験に用いたアルファルファ乾草、スーダングラス乾草及び稲わらについて、本法に従って得られたクロマトグラムには、ペンディメタリンの定量を妨げるピークは認められなかった。
- 3) アルファルファ乾草及びスーダングラス乾草にペンディメタリンとして 15 及び 1.5 mg/kg 相当量 (最終試料溶液中で 0.15  $\mu\text{g/mL}$  相当量)、稲わらにペンディメタリンとして 0.02 mg/kg 相当量 (最終試料溶液中で 0.02  $\mu\text{g/mL}$  相当量) をそれぞれ添加し、本法に従って 3 点併行分析を実施し、回収率及び繰返し精度を求めたところ、良好な結果が得られた。
- 4) 本法による稲わら中のペンディメタリンの定量下限及び検出下限は、それぞれ 0.02 及び 0.006 mg/kg であった。

## 文 献

- 1) 食品安全委員会：ペンディメタリン農薬評価書 (第 2 版)，平成 24 年 8 月 (2012)。
- 2) 農林省令：飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令，昭和 51 年 7 月 24 日，省令第 35

号 (1976).

- 3) 農業資材審議会長答申：飼料の規格の改正に関する諮問について（答申），平成 25 年 6 月 10 日，25 資審第 4 号 (2013).
- 4) 農林水産省消費・安全局長通知：飼料分析基準の制定について，平成 20 年 4 月 1 日，19 消安第 14729 号 (2008).
- 5) 野崎 友春，堀米 明日香，渡部 千会：飼料研究報告，31，39 (2006).
- 6) 農林水産省畜産局長通知：飼料の有害物質の指導基準の制定について，昭和 63 年 10 月 14 日，63 畜 B 第 2050 号 (1988).
- 7) 農林水産省消費・安全局長通知：飼料の有害物質の指導基準の一部改正について，平成 22 年 9 月 8 日，22 消安第 5163 号 (2010).

**技術レポート****2 共通試料による飼料中の動物由来たん白質（牛）の検出法の共同試験**武田 然也<sup>\*1</sup>, 橋本 仁康<sup>\*2</sup>, 山本 貴之<sup>\*3</sup>**Collaborative Study on the Detection of Bovine Protein in Feed**Zenya TAKEDA<sup>\*1</sup>, Yoshiyasu HASHIMOTO<sup>\*2</sup> and Takayuki YAMAMOTO<sup>\*3</sup>

(<sup>\*1</sup> Food and Agricultural Materials Inspection Center, Nagoya Regional Center (Now Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries of Japan), <sup>\*2</sup> Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department, <sup>\*3</sup> Morinaga Institute of Biological Science, Inc.)

**1 緒 言**

我が国では、牛海綿状脳症（BSE）発生防止のために、飼料への牛由来たん白質の使用は禁止されている<sup>1)</sup>。牛由来たん白質の飼料への混入や交差汚染の有無を確認する方法の1つとして、ELISA法が用いられており、飼料分析基準<sup>2)</sup>には数種の市販の動物種別たん白質検出キットが定められている。ただしこれらのキットは、反応性の違いから、検査の対象飼料の適用範囲が限られており、適用範囲の拡大が求められていた。キットの利便性を高めるために、森永生科学研究所では、「モリナガ加熱処理牛由来タンパク質検出キット Ver.2」（以下「モリナガキット Ver.2」という。）を開発した。当該キットを用いた牛由来たん白質検出法は、各種飼料への適用が可能であることが示され<sup>3)</sup>、2011年に飼料分析基準に追加されたところである。

今回、モリナガキット Ver.2 を用いた飼料中の牛由来たん白質検出法の再現性を確認するための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**

肉用牛肥育用配合飼料、脱脂粉乳として20%相当量を混合した肉用牛肥育用配合飼料、魚粉、原料混合肉骨粉2種類及び豚肉骨粉に、それぞれ肉骨粉を0.05%及び0.1%添加した試料を調製し、共同試験に供した。調製に用いた各飼料原料及び配合飼料は、各々の国内製造業者製造のものを用いた。試料の調製にあたって、配合飼料はあらかじめ粒径1mm程度になるまで粉碎し、その他の試料は粉碎せずに用いた。更に、豚肉骨粉等は、反すう動物由来DNAが含まれていないこと、それ以外の試料は、牛由来DNAが含まれていないことを、PCR法により確認した。各試料はそれぞれ300g程度調製し、およそ50個に小分けした。小分けした試料については、ランダムに10点ずつ分析を行い、試料が均質であり、試験に使用することに問題が無いことを確認した。

<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 農林水産省消費・安全局畜水産安全管理課

<sup>\*2</sup> 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

<sup>\*3</sup> 株式会社森永生科学研究所

## 2.2 試薬

森永生科学研究所製「モリナガ加熱処理牛由来タンパク質検出キット Ver.2」

## 2.3 装置及び器具

- 1) 粉砕器：岩谷産業製 IFM-300DG
- 2) 振とう機：Scientific Industries 製 VORTEX-GENIE2
- 3) 遠心分離器：BECKMAN 製 Allegra 6 centrifuge
- 4) マイクロプレートリーダー：TECAN 製 Sunrise Rainbow Thermo
- 5) プレートウォッシャー：ファスマック製 簡易型 96 穴プレート洗浄器
- 6) シングルチャンネルマイクロピペット：BIOHIT 製 m1000 (100~1000  $\mu$ L)
- 7) 8チャンネルマイクロピペット：Eppendorf 製 Research M (30~300  $\mu$ L)

## 2.4 試験方法

共同試験（その 1）においては飼料研究報告第 36 号技術レポート 2<sup>3)</sup>に記載の方法によった。

共同試験（その 2）においては飼料分析基準第 17 章第 2 節 1.1(3)<sup>2)</sup>に規定された方法によった。

## 2.5 結果の解析

各試験室の結果から、それぞれの試料についての偽陽性率及び偽陰性率を算出した。更に分析法の室間再現精度を推定するために、accordance, concordance 及び COR を求めた。

定性分析法の性能指標として accordance, concordance 及び COR (concordance odds ratio) がある<sup>4)</sup>。それらの指標は以下の式で定義される。

$$\text{accordance (\%)} = \frac{\text{同一試験室内で同じ結果 (++) または (--)} \text{を示したペア数の全試験室の合計}}{\text{全ペア数}} \times 100$$

$$\text{concordance (\%)} = \frac{\text{試験室間で同じ結果 (++) または (--)} \text{を示したペア数の全試験室の合計}}{\text{全ペア数}} \times 100$$

$$\text{COR} = \frac{\text{accordance (\%)} \times \{100 - \text{concordance (\%)}\}}{\text{concordance (\%)} \times \{100 - \text{accordance (\%)}\}}$$

Accordance 及び concordance は、それぞれ定量分析法の併行精度及び室間再現精度に対応する<sup>5)</sup>。COR が大きいほど、試験室間の結果の違いが大きいことを意味する。Accordance が 100 % のとき COR は無限大になるが、accordance と concordance が両方とも 100 % のときは試験室内も試験室間も同じ結果が得られる確率は等しいので COR は 1 とする。

## 3 参加試験室

### 3.1 共同試験（その 1）

一般団法人日本食品分析センター多摩研究所，一般社団法人日本科学飼料協会科学飼料研究センター，全国酪農業協同組合連合会分析センター，JA 東日本くみあい飼料株式会社品質安全部分析センター，農林水産省動物検疫所精密検査部，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（計 11 試験室）

### 3.2 共同試験（その2）

一般財団法人日本食品分析センター多摩研究所，一般社団法人日本科学飼料協会科学飼料研究センター，全国酪農業協同組合連合会分析センター，JA 東日本くみあい飼料株式会社品質安全部分分析センター，農林水産省動物検疫所精密検査部，株式会社森永生科学研究所，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，同名古屋センター，同神戸センター及び同福岡センター（計 11 試験室）

## 4 結果及び考察

### 4.1 共同試験（その1）

2.1 に示した試料を用い，3.1 に示した 11 試験室において，2.4 に従い共同試験（その1）を実施した．その結果は Table 1 のとおりである．なお，1 試験室については，全体的に吸光度が低く分析結果に疑義があったため，この試験室の結果は棄却することとし，残りの 10 試験室の結果を示した．牛肉骨粉無添加試料では，豚肉骨粉及び原料混合肉骨粉 2 について，偽陽性率がそれぞれ 30 %及び 10 %であった．牛肉骨粉 0.05 %添加試料では，偽陰性率が 25~65 %と高く，COR も 4.4 から無限大と高い値を示した．牛肉骨粉 0.1 %添加試料では，全ての試料において，偽陰性率は 0 %，accordance 及び concordance はそれぞれ 100 %，COR は 1 であった．

Table 1 Collaborative study (part1) results of Morinaga Ver.2 assay

(+/- : Detected/Not detected)

Lab. No.	Contamination level of bovine MBM								
	Formula feed			Formula feed containing 20 % dried skim milk			Fish meal		
	0 (%)	0.05 (%)	0.1 (%)	0 (%)	0.05 (%)	0.1 (%)	0 (%)	0.05 (%)	0.1 (%)
1	-,-	-,-	+,+	-,-	-,-	+,+	-,-	-,-	+,+
2	-,-	+,+	+,+	-,-	+,+	+,+	-,-	+,+	+,+
3	-,-	+,+	+,+	-,-	+,+	+,+	-,-	+,+	+,+
4	-,-	+,-	+,+	-,-	-,-	+,+	-,-	-,-	+,+
5	-,-	-,-	+,+	-,-	-,-	+,+	-,-	-,-	+,+
6	-,-	-,-	+,+	-,-	-,-	+,+	-,-	-,-	+,+
7	-,-	+,+	+,+	-,-	+,+	+,+	-,-	+,+	+,+
8	-,-	+,+	+,+	-,-	+,-	+,+	-,-	+,+	+,+
9	-,-	+,+	+,+	-,-	-,-	+,+	-,-	-,-	+,+
10	-,-	+,+	+,+	-,-	-,-	+,+	-,-	-,-	+,+
False positive rate (%)	0	—	—	0	—	—	0	—	—
False negative rate (%)	—	35	0	—	65	0	—	60	0
Accordance (%)	100	90	100	100	90	100	100	100	100
Concordance (%)	100	50	100	100	50	100	100	47	100
COR	1.0	9.0	1.0	1.0	9.0	1.0	1.0	∞	1.0

Lab. No.	Contamination level of bovine MBM								
	Porcine and chicken MBM 1			Porcine and chicken MBM 2			Porcine MBM		
	0 (%)	0.05 (%)	0.1 (%)	0 (%)	0.05 (%)	0.1 (%)	0 (%)	0.05 (%)	0.1 (%)
1	-,-	+,-	+,+	-,-	-,-	+,+	-,-	-,-	+,+
2	-,-	+,+	+,+	-,-	+,+	+,+	+,+	+,+	+,+
3	-,-	+,+	+,+	-,-	+,+	+,+	+,-	+,+	+,+
4	-,-	+,+	+,+	-,-	+,-	+,+	-,-	+,+	+,+
5	-,-	-,-	+,+	-,-	-,-	+,+	-,-	-,-	+,+
6	-,-	-,-	+,+	-,-	-,-	+,+	-,-	-,-	+,+
7	-,-	+,+	+,+	-,-	+,+	+,+	+,-	+,+	+,+
8	-,-	+,+	+,+	+,+	+,+	+,+	+,+	+,+	+,+
9	-,-	+,+	+,+	-,-	+,+	+,+	-,-	+,+	+,+
10	-,-	+,+	+,+	-,-	+,-	+,+	-,-	+,+	+,+
False positive rate (%)	0	—	—	10	—	—	30	—	—
False negative rate (%)	—	25	0	—	40	0	—	30	0
Accordance (%)	100	90	100	100	80	100	80	100	100
Concordance (%)	100	59	100	80	48	100	54	53	100
COR	1.0	6.3	1.0	∞	4.4	1.0	3.3	∞	1.0

#### 4.2 共同試験（その2）

共同試験（その1）により、配合飼料や魚粉では良好な結果が得られたが、豚肉骨粉については偽陽性が多数検出されたため、分析法の改良が必要とされた。そこで、ELISA 反応時に外気による反応液への影響を防ぐため、プレートをシールで密封し、25 °C で反応を行うことを

ELISA 操作に加えた方法により、共同試験（その 2）を実施した。試料は、共同試験（その 1）で偽陽性の認められた豚鶏混合肉骨粉 2 及び豚肉骨粉、並びに対照として共同試験（その 1）で良好な結果が得られている肉用牛肥育用配合飼料を用いた。

共同試験（その 2）は、3.2 に示した 11 試験室において、2.4 に従い実施した。その結果は Table 2 のとおりである。牛肉骨粉無添加試料及び牛肉骨粉 0.1 % 添加試料では、全ての試料において偽陰性率及び偽陽性率はそれぞれ 0 %，accordance 及び concordance はそれぞれ 100 %，COR は 1 であった。牛肉骨粉 0.05 % 添加試料では、偽陰性率が 18~32 %，COR は 1.3~9.0 であった。

以上より、共同試験（その 2）では、良好な結果が得られ、全試験室において偽陽性がなく、また、0.1 % 添加された牛肉骨粉を検出可能であった。

Table 2 Collaborative study (part2) results of Morinaga Ver.2 assay

(+/- : Detected/Not detected)

Lab. No.	Contamination level of bovine MBM								
	Formula feed			Porcine and chicken MBM 2			Porcine MBM		
	0 (%)	0.05 (%)	0.1 (%)	0 (%)	0.05 (%)	0.1 (%)	0 (%)	0.05 (%)	0.1 (%)
1	-,-	+,+	+,+	-,-	+,+	+,+	-,-	+,+	+,+
2	-,-	+,+	+,+	-,-	-,-	+,+	-,-	+,+	+,+
3	-,-	+,+	+,+	-,-	+,+	+,+	-,-	+,+	+,+
4	-,-	+,+	+,+	-,-	+,+	+,+	-,-	+,+	+,+
5	-,-	+,+	+,+	-,-	+,+	+,+	-,-	+,+	+,+
6	-,-	+,+	+,+	-,-	+,+	+,+	-,-	+,+	+,+
7	-,-	+,+	+,+	-,-	-,-	+,+	-,-	+,+	+,+
8	-,-	-,-	+,+	-,-	+,+	+,+	-,-	-,-	+,+
9	-,-	+,+	+,+	-,-	-,-	+,+	-,-	+,+	+,+
10	-,-	+,+	+,+	-,-	+,+	+,+	-,-	+,+	+,+
11	-,-	+,+	+,+	-,-	+,+	+,+	-,-	+,+	+,+
False positive rate (%)	0	—	—	0	—	—	0	—	—
False negative rate (%)	—	18	0	—	32	0	—	27	0
Accordance (%)	100	82	100	100	91	100	100	64	100
Concordance (%)	100	68	100	100	53	100	100	58	100
COR	1.0	2.1	1.0	1.0	9.0	1.0	1.0	1.3	1.0

## 5 まとめ

飼料中の動物由来たん白質（牛）の検出法について共同試験を行い、以下の結果を得た。

- 1) 共同試験（その 1）では、豚肉骨粉等で一部偽陽性を認めたが、ELISA 反応時にプレートをシールで密閉し 25 °C で保温することにより、良好な結果が得られた。
- 2) モリナガキット Ver.2 は、飼料中に 0.1 % 以上混入した牛肉骨粉を検出可能であった。

## 謝 辞

共同試験に参加していただいた一般団法人日本食品分析センター多摩研究所、一般社団法人日本科学飼料協会科学飼料研究センター、全国酪農業協同組合連合会分析センター、JA 東日本くみあい飼料株式会社品質安全部分析センター、農林水産省動物検疫所精密検査部、株式会社森永生科学

研究所における関係者各位に感謝の意を表します。

また、本検討に際して試料の提供をいただいた明治飼糧株式会社鹿島工場，北海道道南畜産事業協同組合，株式会社群馬県化成産業，富士化学株式会社の関係各位にお礼申し上げます。

## 文 献

- 1) 農林水産省消費・安全局長通知：飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令の一部を改正する省令の施行について，平成 17 年 3 月 11 日，16 消安第 9573 号 (2005).
- 2) 農林水産省消費・安全局長通知：飼料分析基準の制定について，平成 20 年 4 月 1 日，19 消安第 14729 号 (2008).
- 3) 武田 然也，橋本 仁康，山本 貴之：飼料中の牛由来たん白質検出法における「モリナガ加熱処理牛由来タンパク質検出キット Ver.2」の検討，飼料研究報告，**36**，91-100 (2011).
- 4) Langton S.D., et al., Analysing collaborative trials for qualitative microbiological methods: accordance and concordance. *Int J. Food Microbiol.*, **79**, 175-181 (2002)
- 5) 安井明美ら：食品分析法の妥当性確認ハンドブック，サイエンスフォーラム，95-97 (2010).

**技術レポート****3 遺伝子組換え小麦 (MON71800) の 1 %混入判定試験法の検討**

橋本 仁康\*, 笠原 正輝\*, 會田 紀雄\*

Study of Detection Test for Contamination of Genetically Modified Wheat (MON71800)

Yoshiyasu HASHIMOTO\*, Masaki KASAHARA\* and Norio AITA\*

(\* Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department)

**1 緒 言**

日本では安全性未確認である除草剤耐性遺伝子組換え小麦 MON71800 が、平成 25 年 5 月米国で自生していることが確認され、飼料安全法<sup>1)</sup>に基づくリスク管理手法として、モンサント・カンパニーから提供された定性試験法を参考に、定性試験法の通知<sup>2)</sup>が発出された。

MON71800 は、日本で飼料としての安全性が確認されていないが、日本と同等以上の安全性確認審査制度を有する米国において、商業化はされなかったが食品及び飼料としての安全性が確認されているため、飼料安全法に基づく告示<sup>3)</sup>に基づき、1 %の混入基準が適用されることとなっている。

1 %の混入基準に基づくリスク管理を実地で行うためには、MON71800 の混入率が 1 % を上回るかどうか判定するための試験法が必要である。今回、MON71800 由来の DNA 濃度を 1 % に調製した DNA 試料液 (1 %陽性試料液) を用いた 1 % 混入判定試験法について検討したので、その概要を報告する。なお、当分析法は、平成 25 年 9 月 9 日付けで定性試験法の通知に追加収載された<sup>4)</sup>。

**2 実験方法****2.1 試 薬**

- 1) DNA 抽出キット : QIAGEN 製 QIAGEN DNeasy Plant Maxi kit 及び QIAGEN DNeasy Plant Mini kit
- 2) PCR 反応用酵素 : Roch Diagnostics 製 FastStart Universal Probe Master (ROX).
- 3) プライマー及びプローブ : Life Technologies 製 MON71800 検知用プライマー (SQ0718 & SQ0719) 及びプローブ (PB0101)<sup>2)</sup>, 小麦陽性対照試験用プライマー (PRP8F & PRPds6R) 及びプローブ (PRP-Taq5)<sup>2)</sup>
- 4) エタノール及びイソプロパノールは、特級を用いた。
- 5) TE バッファー : ニッポンジーン製 TE (pH8.0)
- 6) 水は、滅菌した超純水 (電気伝導率 5.6  $\mu$ S/m 以下 (比抵抗 18  $M\Omega \cdot cm$  以上)) を用いた。

---

\*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

## 2.2 装置及び器具

- 1) 分光光度計： Thermo Fisher Scientific 製 NanoDrop 1000
- 2) リアルタイム PCR 装置： Life Technologies 製 ABI7900HT

## 2.3 試料

### 1) 陰性試料液の調製

平成 23 年産の国産小麦（非遺伝子組換え）を 1 mm の網ふるいを通すまで粉砕したものを、通知<sup>2)</sup>に従って QIAGEN DNeasy Plant Maxi kit を用いて DNA を抽出した。抽出した DNA 溶液は、分光光度計で 280, 260, 230 nm の波長における吸光度を測定することにより DNA の濃度及び純度を確認した後、水で 10 ng/ $\mu$ L に調製したものを陰性試料液とした。

### 2) 陽性試料液の調製

モンサント・カンパニーより提供された陽性試料（MON71800 の種子 1 粒に対し 14 粒の非遺伝子組換え小麦を混合したものから DNA を抽出し、乾燥させたもの）は、粗精製した DNA を乾燥したものであり、1 %混入判定試験の陽性試料液としてそのまま用いるには不十分と考えられたため以下の方法により再精製を行い、陽性試料液とした。

#### i) 溶解

陽性試料として提供された乾燥 DNA に 200  $\mu$ L の TE バッファーを添加し、攪拌して十分混和した後、室温で 24 時間静置し、DNA を溶解した。

#### ii) 精製

溶解した DNA を QIAGEN DNeasy Plant Mini kit を用いて（操作方法はキット添付のマニュアルから改良した方法）精製した。手順は、以下のとおりである。なお、水以外の試薬は、キット付属のものを使用した。

1. 溶解した DNA に 100 mg/mL の RNase A 8  $\mu$ L 及び Buffer AP1 800  $\mu$ L を添加し、ボルテックスミキサーで攪拌した後、65 °C で 10 分間保温した（この間チューブを 2~3 回ボルテックスミキサーで攪拌した。）。
2. Proteinase K 20  $\mu$ L を添加し、ボルテックスミキサーで攪拌した後、65 °C で 10 分間保温した（その間、チューブを 2~3 回ボルテックスミキサーで攪拌した。）。
3. Buffer P3 260  $\mu$ L を添加し、ボルテックスミキサーで攪拌した後、氷中に 5 分間放置した。
4. 遠心分離（20000 $\times$ g, 5 分間, 室温）後、上澄みを QIA shredder Mini Spin Column に負荷し、遠心分離（20000 $\times$ g, 5 分間, 室温）後、カラムのろ液を 50 mL チューブに移した（液がなくなるまで繰り返した。）。
5. ろ液の 1.5 倍量の Buffer AW1 を添加し、攪拌した。
6. DNeasy Mini spin column に混合液を負荷し、遠心分離（6000 $\times$ g 以上, 室温, 1 分間）し、ろ液を廃棄した（混合液がなくなるまで繰り返した。）。
7. Buffer AW2 を 500  $\mu$ L 負荷後、遠心分離（6000 $\times$ g 以上, 室温, 1 分間）し、ろ液を廃棄した。
8. カラムを新しい 1.5 mL チューブに移し、水を 50  $\mu$ L を負荷し、室温で 5 分間放置した。
9. 遠心分離（6000 $\times$ g 以上, 室温, 1 分間）後、そのろ液を DNA 溶液とした。

精製した DNA 溶液は、分光光度計にて 280, 260, 230 nm の波長における吸光度を測定することにより DNA の濃度及び純度を確認した後、水で希釈して 10 ng/ $\mu$ L に調製したものを

6.67 % MON71800 含有陽性試料液（以下「6.67 %陽性試料液」とする）とした。

### 3) 1 %標準液の調製

6.67 %陽性試料液を陰性試料液で希釈して1 %陽性試料液（以下「1 %標準液」とする）を調製した。調製した1 %標準液は、30  $\mu$ L ずつ290本に分注した。

## 2.4 試験方法

### 1) PCR 反応

PCR 反応液は25  $\mu$ L/well として調製した。その組成は次のとおりである。FastStart Universal Probe Master (Rox) 12.5  $\mu$ L, 各対象プライマー溶液（各50  $\mu$ mol/L）各0.25  $\mu$ L, 対象プローブ溶液（10  $\mu$ mol/L）0.5  $\mu$ L を混合し、水で全量20  $\mu$ L に調製後、DNA 試料液5  $\mu$ L（10 ng/ $\mu$ L）を添加した。

試料溶液の入ったPCR プレートを実タイム PCR 装置に入れ、50  $^{\circ}$ C で2分間保持した後、95  $^{\circ}$ C で10分間加温し、ホットスタート法で反応を開始した。その後、95  $^{\circ}$ C で15秒間、60  $^{\circ}$ C で1分間を1サイクルとして、45サイクルの増幅反応を行った。なお、PCR 反応は、試料液1点につきMON71800 検知試験用及び陽性対照試験用について各2 well 並行で行った。

### 2) PCR 反応による増幅の判定

結果の判定は Amplification plot 上で指数関数的な増幅曲線と Ct 値の確認、及び multicomponent 上での対象蛍光色素由来の蛍光強度（FAM）の指数関数的な明確な増加の確認をもって行った。ベースラインを3サイクルから15サイクルで設定し、 $\Delta$ Rn のノイズ幅の最大値の上側で、安定した指数関数的な増幅曲線上で交わる Threshold line (Th. line) として0.2 に設定した。その Th. line から Ct 値が得られるか否かを解析し、43未満の Ct 値が得られた場合にPCR 反応による増幅があったと判定した。

## 2.5 測定値の確定方法

リアルタイム PCR より得られた結果については、以下の2つの方法で測定値を確定した。

#### ①Ct 比率法

MON71800 検知試験の Ct 値と小麦陽性対照試験の Ct 値を求め、(MON71800 検知試験の Ct 値) / (小麦陽性対照試験の Ct 値) を算出した (Ct 値比率)。なお、この方法で測定値を求めると、MON71800 濃度が高いほど Ct 値比率は小さくなる。

#### ②比較 Ct 法

MON71800 検知試験の Ct 値と小麦陽性対照試験の Ct 値との差 ( $\Delta$ Ct 値) を算出した。なお、この方法で測定値を求めると、MON71800 濃度が高いほど  $\Delta$ Ct 値が小さくなる。

## 3 結果及び考察

### 3.1 1 %標準液の均質性確認

2.3 3)で調製した1 %標準液の均質性を確認するため、分注したチューブからランダムに20本選択し、リアルタイム PCR を行った。PCR 反応は、試料液10点ずつを2回行った。測定した結果から①Ct 比率法及び②比較 Ct 法の2つの判定方法で測定値を算出し、その値について Cochran 検定により外れ値検定を行った後、一元配置分散分析にて確認した。

その結果、均質性に問題は認められなかった。また、①及び②の判定方法で得られた相対標準偏差は、それぞれ1.1%、6.1%であった。

この結果より、1%標準液の均質性に問題がないことが確認されたので、今回調製した1%標準液を今後、1%混入判定の基準とすることとした。なお、1%標準液は-20℃で保管し、使用毎に融解して使用し、再凍結等を行わないこととした。

3.2 1%標準液を用いた混入率の判定

6.67%陽性試料液を陰性試料液で希釈して、MON71800濃度として3%、2%、1.5%及び0.5%濃度の試料液を各濃度38本ずつ調製し、ランダムに20本選択し、1%標準液を判定基準としたリアルタイムPCRを行った。リアルタイムPCRは、各濃度の試料液を2点ずつ10回行い、毎回、1%標準液も反応を行った。測定した結果は、①及び②の測定値決定法により各試料の測定値を求め、1%標準液の測定値と比較した。なお、結果の判定において、測定値判定法①では、1%標準のCt値比よりもCt値比が小さい場合が1%以上の混入となり、②では、1%標準のΔCt値よりもΔCt値が小さい場合が1%以上の混入と判定される。

その結果は、表1及び2のとおりである。①及び②のどちらの測定値決定法を用いても、全てのサンプルで1%より混入濃度が高いかどうかの判定を正確に行うことができた。

表1：定性判定【Ct比率法】（1%以上を+、1%未満を-と判定）

反応	1%標準	0.50%*		1.50%*		2.00%*		3.00%*	
	Ct値の比**	Ct値の比**	判定	Ct値の比**	判定	Ct値の比**	判定	Ct値の比**	判定
1回目	1.208	1.256	-	1.191	+	1.181	+	1.144	+
		1.245	-	1.170	+	1.172	+	1.135	+
2回目	1.187	1.261	-	1.181	+	1.166	+	1.129	+
		1.222	-	1.178	+	1.167	+	1.124	+
3回目	1.196	1.234	-	1.179	+	1.171	+	1.123	+
		1.216	-	1.164	+	1.146	+	1.113	+
4回目	1.201	1.251	-	1.164	+	1.159	+	1.118	+
		1.257	-	1.180	+	1.157	+	1.113	+
5回目	1.189	1.224	-	1.167	+	1.180	+	1.117	+
		1.213	-	1.173	+	1.160	+	1.126	+
6回目	1.212	1.241	-	1.175	+	1.146	+	1.123	+
		1.277	-	1.178	+	1.154	+	1.124	+
7回目	1.196	1.209	-	1.167	+	1.161	+	1.129	+
		1.245	-	1.178	+	1.169	+	1.123	+
8回目	1.207	1.237	-	1.175	+	1.162	+	1.120	+
		1.255	-	1.188	+	1.165	+	1.124	+
9回目	1.218	1.249	-	1.165	+	1.151	+	1.117	+
		1.228	-	1.188	+	1.163	+	1.116	+
10回目	1.198	1.228	-	1.174	+	1.146	+	1.117	+
		1.229	-	1.165	+	1.150	+	1.134	+

\*濃度はMON71800の混入濃度を示している

\*\*MON71800検知試験のCt値/小麦陽性対照試験のCt値

表 2：定性判定【比較 Ct 法】（1%以上を+, 1%未満を-と判定）

反応	1%標準	0.50%*		1.50%*		2.00%*		3.00%*	
	Ct値の差**	Ct値の差**	判定	Ct値の差**	判定	Ct値の差**	判定	Ct値の差**	判定
1回目	6.072	7.567	-	5.647	+	5.332	+	4.309	+
		7.246	-	5.053	+	5.087	+	4.033	+
2回目	5.499	7.622	-	5.328	+	4.884	+	3.869	+
		6.490	-	5.249	+	4.939	+	3.701	+
3回目	5.813	6.882	-	5.286	+	5.109	+	3.705	+
		6.344	-	4.873	+	4.374	+	3.420	+
4回目	5.964	7.371	-	4.861	+	4.711	+	3.542	+
		7.547	-	5.309	+	4.669	+	3.403	+
5回目	5.564	6.577	-	4.946	+	5.322	+	3.533	+
		6.303	-	5.136	+	4.733	+	3.778	+
6回目	6.240	7.083	-	5.204	+	4.367	+	3.713	+
		8.145	-	5.260	+	4.613	+	3.738	+
7回目	5.801	6.137	-	4.975	+	4.779	+	3.854	+
		7.177	-	5.266	+	5.040	+	3.706	+
8回目	6.113	6.983	-	5.174	+	4.800	+	3.625	+
		7.492	-	5.565	+	4.919	+	3.742	+
9回目	6.438	7.305	-	4.898	+	4.524	+	3.537	+
		6.708	-	5.573	+	4.828	+	3.505	+
10回目	5.847	6.701	-	5.145	+	4.349	+	3.513	+
		6.742	-	4.910	+	4.486	+	4.026	+

\*濃度はMON71800の混入濃度を示している

\*\*MON71800検知試験のCt値と小麦陽性対照試験のCt値との差(ΔCt値)

#### 4 まとめ

遺伝子組換え小麦 MON71800 について 1%混入判定法の検討を行い、次の結果を得た。

- 1) モンサント・カンパニーより提供された MON71800 混入 DNA 抽出液より 1%混入判定法における基準として用いる 1%標準液を調製した。これについて、均質性確認試験を行い、均質であることを確認した。
- 2) 6.67%陽性試料液を用いて調製した MON71800 濃度として 3, 2, 1.5 及び 0.5%濃度の試料液について、1%標準液を用いての混入判定試験を行ったところ、Ct 比率法及び比較 Ct 法のどちらの方法においても全ての濃度で正確に 1%より濃度が高いか低いかの判定をすることができた。
- 3) Ct 比率法及び比較 Ct 法のいずれの方法でも正確に 1%混入判定可能であることを確認できたが、比較 Ct 法の方が Ct 比率法よりも測定値が大きく判定をより明確にでき、判定法として望ましいと考えられたため、比較 Ct 法が通知には採用された<sup>4)</sup>。

#### 謝 辞

本分析法の開発にあたりご助言を頂きました独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所の内藤成弘博士、橘田和美博士、真野潤一博士に感謝の意を表します。また、試料の提供を頂きましたモンサント・カンパニーにお礼申し上げます。

※本レポートは情報提供のみを目的としたものです。「遺伝子組換え小麦 (MON71800) の 1%混入判定試験法の検討」と題されたこの公表文書はモンサント・カンパニーの所有する知的財産及び情報を含んでおり一件又はそれ以上の特許により保護されるもので、MON71800 系統特異的な検知法の公表によってその内容に関し農林水産省、独立行政法人農林水産消費安全技術センター及び公的試験機関以外による目的外の使用、応用を許諾するものではありません。またこの公表によってここに含まれ、引用される情報、材料、あるいは知的財産に関するいかなる使用権を

許諾するものでもありません。

## 文 献

- 1) 法律：飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律，昭和 28 年 4 月 11 日，法律第 35 号 (1953).
- 2) 農林水産省消費・安全局畜水産安全課長通知：遺伝子組換え小麦 (MON71800) の暫定検査法，平成 25 年 7 月 3 日，25 消安第 1707 号 (2013).
- 3) 農林水産省告示：飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和 51 年農林省令第 35 号）別表第 1 の 1 の (1) のシただし書の規定に基づき，組換え DNA 技術によって得られた生物を含む飼料の安全性の確保に支障がないものとして農林水産大臣が定める基準を定める件，平成 23 年 9 月 1 日，農林水産省告示第 1674 号 (2011).
- 4) 農林水産省消費・安全局畜水産安全課長通知：遺伝子組換え小麦 (MON71800) の暫定検査法（追加），平成 25 年 9 月 9 日，25 消安第 1707-1 号 (2013).

**精度管理****1 飼料中の粗たん白質，カルシウム及びりんの分析値に係る不確かさについて**小塚 健志<sup>\*</sup>，永原 貴子<sup>\*</sup>**Measurement Uncertainty for the Analyses of Crude Protein, Calcium and Phosphorus in Feed**Kenji KOZUKA<sup>\*</sup> and Takako NAGAHARA<sup>\*</sup>

(\*Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department)

**1 目 的**

飼料の粗たん白質等の栄養成分量は，行政検査や民間取引において，飼料分析基準によりその含量を測定し，その表示値や取引規格値に対する過不足を判定しているが，現行の飼料分析基準には分析上避けられない不確かさが設定されていない。

今回，飼料における栄養成分量に関する公正な取引を確保する観点から，粗たん白質，カルシウム及びりんの分析値に対する不確かさについて検討を行ったので，その概要を報告する。

**2 不確かさの検討方法**

不確かさの検討にあたっては，毎年，飼料検査指導機関，飼料・飼料添加物製造等業者，民間分析機関等を対象に実施されている共通試料による分析の結果を用いた。共通試料による分析の各年度の結果から室間再現標準偏差（以下「 $S_R$ 」という。）に包含係数  $k=2$  を乗じて当該年度の平均値に対する拡張不確かさ（ $S_R \times 2$ ）を求め，これらの分布から各成分の分析値に対する不確かさを検討した。このとき，低濃度側と高濃度側の不確かさを絶対値で設定し，中間濃度領域は高濃度及び低濃度の絶対値をつなぎ原点を通る直線の傾きから相対不確かさで設定した。なお，不確かさを設定する各成分の分析値の上限は，今回の検討に用いた共通試料の分析値の上限を踏まえて設定した。

<sup>\*</sup> 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

### 3 分析値に対する不確かさの検討

#### 3.1 粗たん白質

粗たん白質の不確かさの設定に用いた共通試料による分析データを表 1 に示した。また、表 1 の平均値と拡張不確かさの関係を「2 不確かさの検討方法」に従い図 1 に示した。不確かさを設定する分析値の上限は、検討に用いたデータのうち最も高い値である 70.44 %を踏まえ 71 %未満とした。

図 1 で検討した結果は表 2 に示したとおりであり、粗たん白質の分析値に対する不確かさは、9.0 %以上 20.0 %未満で絶対値 0.5 %、20.0 %以上 64.0 %未満で相対値 2.5 %、64.0 %以上 71.0 %未満で絶対値 1.6 %とした。また、用いたデータのマトリックスから、今回検討した不確かさは、配合飼料（窒素量に乗じる係数を 6.38 とする乳製品の配合割合が 50 %以上のほ乳期子牛育成用代用乳用配合飼料を除く。）、大豆油かす及び魚粉に適用可能と考えられた。

表 1 粗たん白質の共通試料による分析データ

飼料の種類	実施年度	データ数	平均値 (%)	S <sub>R</sub> (%)	S <sub>R</sub> ×2 (%)	
配合飼料	ブロイラー肥育後期用配合飼料	H17	260	18.35	0.22	0.44
	ブロイラー肥育前期用配合飼料	H18	256	24.30	0.29	0.58
	中すう育成用配合飼料	H19	251	18.43	0.21	0.42
	幼すう育成用配合飼料	H20	244	22.32	0.20	0.40
	幼令肉用牛育成用・肉用牛肥育用配合飼料	H21	245	18.98	0.23	0.46
	中すう育成用配合飼料	H22	260	17.13	0.25	0.50
	中すう育成用配合飼料	H23	237	18.06	0.23	0.46
	幼令肉用牛育成用・肉用牛肥育用配合飼料	H24	237	17.55	0.21	0.42
	幼すう育成用配合飼料	H25	231	19.53	0.26	0.52
	大豆油かす	H25	217	44.08	0.45	0.90
魚粉	H17	254	68.37	0.56	1.12	
魚粉	H18	247	63.38	0.57	1.14	
魚粉	H19	248	61.00	0.56	1.12	
魚粉	H20	245	68.20	0.60	1.20	
魚粉	H21	242	70.44	0.68	1.36	
魚粉	H22	243	63.84	0.68	1.36	
魚粉	H23	235	56.98	0.69	1.38	
魚粉	H24	234	66.12	0.71	1.42	
魚粉	H25	230	68.07	0.82	1.64	

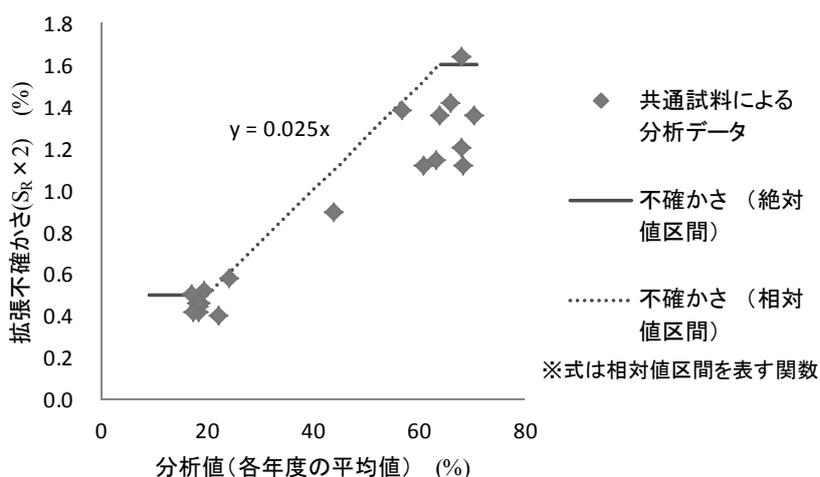


図 1 粗たん白質における分析値と不確かさの関係

表 2 粗たん白質の不確かさ

分析値 (%)	不確かさ	
	絶対値 (%)	相対値 (%)
9.0 以上 20.0 未満	0.5	—
20.0 以上 64.0 未満	—	2.5
64.0 以上 71.0 未満	1.6	—

### 3.2 カルシウム

カルシウムの不確かさの設定に用いた共通試料による分析データを表 3 に示した。なお、配合飼料のうち、魚粉を主原料としているためカルシウム含有量が最も高いと考えられる養魚用配合飼料は共通試料のデータがないため、魚粉を用いた共通試料の分析結果を、高濃度側のデータとして用いて検討した。また、表 3 の平均値と拡張不確かさの関係を「2 不確かさの検討方法」に従い図 2 に示した。不確かさを設定する分析値の上限は、検討に用いたデータのうち最も高い値である 4.245 %を踏まえ 4.3%未満とした。

図 2 で検討した結果は表 4 に示したとおりであり、カルシウムの分析値に対する不確かさは 0.30 %以上 0.60 %未満で絶対値 0.05 %，0.60 %以上 3.50 %未満で相対値 8.4 %，3.50 %以上 4.30 %未満で絶対値 0.30 %とした。また、用いたデータのマトリックスから、今回検討した不確かさは配合飼料に適用可能と考えられた。

表 3 カルシウムの共通試料による分析データ

飼料の種類	実施年度	データ数	平均値 (%)	S <sub>R</sub> (%)	S <sub>R</sub> ×2 (%)	
肉用牛肥育用配合飼料	H16	199	0.382	0.021	0.042	
ブロイラー肥育後期用配合飼料	H17	191	1.031	0.042	0.084	
ブロイラー肥育前期用配合飼料	H18	182	0.821	0.037	0.074	
中すう育成用配合飼料	H19	176	1.386	0.052	0.104	
配合飼料	幼すう育成用配合飼料	H20	171	0.999	0.042	0.084
	幼令肉用牛育成用・肉用牛肥育用配合飼料	H21	164	0.963	0.037	0.074
	中すう育成用配合飼料	H22	164	0.843	0.031	0.062
	中すう育成用配合飼料	H23	163	1.031	0.044	0.088
	幼令肉用牛育成用・肉用牛肥育用配合飼料	H24	165	0.817	0.037	0.074
幼すう育成用配合飼料	H25	167	1.119	0.060	0.120	
魚粉	S63	51	3.473	0.108	0.216	
魚粉	H1	51	3.524	0.098	0.196	
魚粉	H2	50	4.080	0.124	0.248	
魚粉	H3	49	2.741	0.115	0.230	
魚粉	H4	49	3.221	0.133	0.266	
魚粉	H5	51	4.197	0.105	0.210	
魚粉	H6	49	2.577	0.089	0.178	
魚粉	H7	49	3.734	0.148	0.296	
魚粉	H8	44	4.245	0.141	0.282	
魚粉	H9	43	3.929	0.138	0.276	

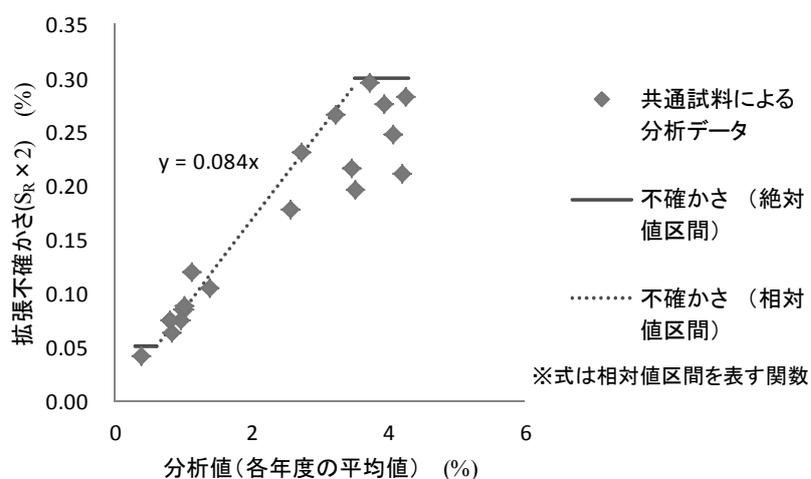


図 2 カルシウムにおける分析値と不確かさの関係

表 4 カルシウムの不確かさ

分析値 (%)	不確かさ	
	絶対値 (%)	相対値 (%)
0.30 以上 0.60 未満	0.05	—
0.60 以上 3.50 未満	—	8.4
3.50 以上 4.30 未満	0.30	—

### 3.3 りん

りんの不確かさの設定に用いた共通試料による分析データを表 5 に示した。なお、配合飼料のうち、魚粉を主原料としているためりんの含有量が最も高いと考えられる養魚用配合飼料は共通試料のデータがないため、魚粉を用いた共通試料の分析結果を、高濃度側のデータとして用いて検討した。また、表 5 の平均値と拡張不確かさの関係を「2 不確かさの検討方法」に従い図 3 に示した。不確かさを設定する分析値の上限は、検討に用いたデータのうち最も高い値である 2.757 %を踏まえ 2.8 %未満とした。なお、実施年度が H5 の魚粉のデータは異常値と判断し検討データから除外した。

図 3 で検討した結果は表 6 に示したとおりであり、りんの分析値に対する不確かさは 0.30 % 以上 0.50 %未満で絶対値 0.03 %，0.50 %以上 2.50 %未満で相対値 6.4 %，2.50 %以上 2.80 %未満で絶対値 0.16 %とした。また、用いたデータのマトリックスから、今回検討した不確かさは配合飼料に適用可能と考えられた。

表 5 リンの共通試料による分析データ

飼料の種類	実施年度	データ数	平均値 (%)	S <sub>R</sub> (%)	S <sub>R</sub> ×2 (%)	
肉用牛肥育用配合飼料	H16	199	0.380	0.013	0.026	
ブロイラー肥育後期用配合飼料	H17	190	0.586	0.015	0.030	
ブロイラー肥育前期用配合飼料	H18	182	0.582	0.015	0.030	
中すう育成用配合飼料	H19	177	0.700	0.015	0.030	
配合飼料	幼すう育成用配合飼料	H20	172	0.710	0.014	0.028
	幼令肉用牛育成用・肉用牛肥育用配合飼料	H21	170	0.572	0.012	0.024
	中すう育成用配合飼料	H22	170	0.596	0.013	0.026
	中すう育成用配合飼料	H23	166	0.678	0.015	0.030
	幼令肉用牛育成用・肉用牛肥育用配合飼料	H24	162	0.661	0.014	0.028
幼すう育成用配合飼料	H25	155	0.860	0.018	0.036	
魚粉	S63	51	2.426	0.053	0.106	
魚粉	H1	50	2.533	0.081	0.162	
魚粉	H2	49	2.757	0.068	0.136	
魚粉	H3	49	2.076	0.047	0.094	
魚粉	H4	46	2.338	0.070	0.140	
魚粉 <sup>a)</sup>	H5	51	2.742	0.126	0.252	
魚粉	H6	46	2.003	0.043	0.086	
魚粉	H7	50	2.453	0.060	0.120	
魚粉	H8	42	2.677	0.051	0.102	
魚粉	H9	44	2.558	0.052	0.104	

a) 検討データから除外

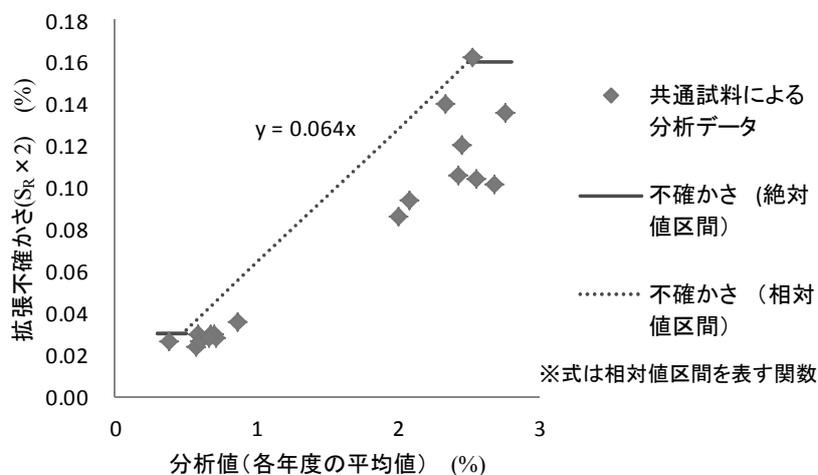


図 3 リンにおける分析値と不確かさの関係

表 6 リンの不確かさ

分析値 (%)	不確かさ	
	絶対値 (%)	相対値 (%)
0.30 以上 0.50 未満	0.03	—
0.50 以上 2.50 未満	—	6.4
2.50 以上 2.80 未満	0.16	—

## 4 まとめ

飼料中の粗たん白質，カルシウム及びりんの分析値に係る不確かさについて検討した．その結果，粗たん白質，カルシウム及びりんの分析値に係る不確かさ及び適用範囲は表 7 のとおりであった．

表 7 粗たん白質，カルシウム及びりんの分析値に係る不確かさ

成分名	適用範囲	分析値 (%)	不確かさ	
			絶対値 (%)	相対値 (%)
粗たん白質	魚粉、大豆油かす及び配合飼料 (乳製品の配合割合が50%以上の のほ乳期子牛育成用代用乳用配 合飼料を除く.)	9.0 以上 20.0 未満	0.5	—
		20.0 以上 64.0 未満	—	2.5
		64.0 以上 71.0 未満	1.6	—
		0.30 以上 0.60 未満	0.05	—
カルシウム	配合飼料	0.60 以上 3.50 未満	—	8.4
		3.50 以上 4.30 未満	0.30	—
		0.30 以上 0.50 未満	0.03	—
		0.50 以上 2.50 未満	—	6.4
りん	配合飼料	2.50 以上 2.80 未満	0.16	—

**精度管理****2 平成 25 年度飼料等の共通試料による分析鑑定について**

Proficiency Test (in the Fiscal Year 2013)

小塚 健志<sup>\*1</sup>, 藤田 敏文<sup>\*2</sup>, 風間 鈴子<sup>\*3</sup>,  
三井 友紀子<sup>\*4</sup>, 山西 正将<sup>\*5</sup>, 佐古 理恵<sup>\*6</sup>**1 目 的**

飼料検査指導機関, 飼料・飼料添加物製造等業者, 民間分析機関等を対象に, 飼料等の共通試料による分析鑑定を行うことにより, 分析及び鑑定技術の維持向上を図り, 併せて分析誤差を把握し, 飼料等の適正な製造及び品質管理の実施に資する.

**2 共通試料の内容**

A 試料	幼すう育成用配合飼料
B 試料	魚 粉
C 試料	鑑定用飼料原料混合試料
D 試料	ほ乳期子豚育成用プレミックス
E 試料	大豆油かす

**3 共通試料の調製**

## 3.1 調製年月日

平成 25 年 6 月 21 日及び 6 月 28 日

## 3.2 調製場所

JA 東日本くみあい飼料株式会社鹿島工場

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

## 3.3 調製方法

## 1) A 試料

粉碎した後, 1 mm のふるい目を通過させた幼すう育成用配合飼料 100 kg を用い, 以下の手順により試料を調製した.

試料をよく混合した後, 9 等分した. その中の 4 区画を一つに合わせてよく混合した後, 4 等分して元に戻した. この操作を表 1 の混合区画表により 7 回繰り返した後, 各区画より一定

---

\*1 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

\*2 独立行政法人農林水産消費安全技術センター札幌センター

\*3 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター

\*4 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

\*5 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

\*6 独立行政法人農林水産消費安全技術センター福岡センター

量 (約 20 g) ずつとり、1 袋当たり約 180 g 入りの試料 450 個を調製した。

表 1 混合区画表

回数	I	II	III	IV	V	VI	VII
	8	6	8	4	4	1	9
区画番号	4	7	7	9	1	7	6
	9	1	2	2	3	2	3
	5	5	3	6	5	5	8

2) B 試料

粉碎した後、1 mm のふるい目を通過させた魚粉 100 kg を用い、A 試料と同様に試料 450 個を調製した。

3) C 試料

各原料中の夾雑物を除去した後、必要に応じて粉碎し、表 2 に示した 11 種類の原料(総量 100 kg )を同表の混合割合で混ぜ合わせた試料を用い、A 試料と同様に試料 450 個を調製した。

表 2 C 試料の原料及びその混合割合

原料名	混合割合 (%)	原料名	混合割合 (%)
とうもろこし	27	やし油かす	8
マイロ	17	魚粉	3
大麦	10	アルファルファミール	3
ふすま	10	炭酸カルシウム	3
コーングルテンミール	9	食塩	2
大豆油かす	8		

4) D 試料

ほ乳期子豚育成用プレミックス 100 kg を用い、A 試料と同様に試料 450 個を調製した。

5) E 試料

粉碎した後、1 mm のふるい目を通過させた大豆油かす 100 kg を用い、A 試料と同様に試料 450 個を調製した。

## 4 分析鑑定項目及び実施要領

### 4.1 分析鑑定項目

A 試料・・・水分、粗たん白質、粗脂肪、粗繊維、粗灰分、カルシウム、リン及びサリノマイシンナトリウム

B 試料・・・水分、粗たん白質、粗灰分、カドミウム及びエトキシキン

C 試料・・・飼料原料の検出及びその混合割合の推定

D 試料・・・銅、亜鉛及びクエン酸モランテル

E 試料・・・粗たん白質

### 4.2 実施要領

「平成 25 年度 飼料等の共通試料による分析鑑定実施要領」(106 ページ)による。

## 5 共通試料の均質性確認

A 及び B 試料では粗たん白質及び粗灰分，D 試料では銅及び亜鉛，E 試料では粗たん白質の分析によって，Thompson らの harmonized protocol<sup>1)</sup>に基づき，各試料の均質性を確認した。

ランダムに抜き取った 10 袋で各 2 点併行分析した結果を表 3 に，また，その結果に基づく一元配置の分散分析結果を表 4 に示した。

いずれの試料においても，分散比  $F_0$  は  $F$  境界値を下回り，有意水準 5 %において試料間に有意な差は認められず，試料の均質性に問題はないと判断した。

表 3 A, B, D 及び E 試料の分析結果

試料	A試料 粗たん白質 (%)		A試料 粗灰分 (%)		B試料 粗たん白質 (%)		B試料 粗灰分 (%)		D試料 銅 (g/kg)		D試料 亜鉛 (g/kg)		E試料 粗たん白質 (%)	
	run1	run2	run1	run2	run1	run2	run1	run2	run1	run2	run1	run2	run1	run2
No. 1	19.50	19.60	6.25	6.28	68.14	68.31	15.64	15.61	25.82	25.87	20.69	20.87	43.52	43.52
2	19.58	19.65	6.26	6.19	68.27	68.38	15.48	15.51	25.82	25.68	20.56	20.96	43.65	43.84
3	19.44	19.64	6.23	6.27	67.71	68.14	15.56	15.56	25.92	25.36	21.30	20.97	43.44	43.20
4	19.64	19.42	6.30	6.24	68.21	67.78	15.38	15.56	25.66	25.50	20.59	20.43	43.36	43.91
5	19.53	19.54	6.25	6.31	67.65	68.08	15.48	15.46	25.87	25.88	20.77	20.94	43.68	43.44
6	19.47	19.53	6.26	6.21	67.97	68.22	15.61	15.52	25.68	25.89	20.74	20.58	43.50	44.01
7	19.63	19.52	6.22	6.20	68.71	68.13	15.48	15.54	25.83	25.56	20.90	20.47	43.18	43.81
8	19.49	19.53	6.28	6.24	68.01	68.06	15.51	15.69	25.89	25.74	20.84	20.96	43.48	43.28
9	19.48	19.48	6.20	6.23	68.51	68.49	15.44	15.59	25.18	25.72	20.49	21.01	43.67	43.78
10	19.64	19.65	6.28 <sup>a)</sup>	5.68 <sup>a)</sup>	68.41	68.18	15.59	15.56	25.40	25.66	20.72	20.78	43.34	43.64

a)コクラン検定による外れ値

表 4 A, B, D 及び E 試料の分散分析結果

成分名	要因	偏差平方和	自由度	不偏分散	分散比	F境界値
		$S$	$\phi$	$V$	$F_0$	$F(\alpha=0.05)$
A試料	試料間 $A$	0.0471	9	0.0052	0.87	3.02
	粗たん白質 分析誤差 $E$	0.0604	10	0.0060		
	総計 $T$	0.1075	19			
	粗灰分					
	$A$	0.0102	8	0.0013	1.15	3.23
	$E$	0.0100	9	0.0011		
	$T$	0.0202	17			
B試料	粗たん白質					
	$A$	0.8431	9	0.0937	1.78	3.02
	$E$	0.5252	10	0.0525		
	$T$	1.3683	19			
D試料	粗灰分					
	$A$	0.0528	9	0.0059	1.15	3.02
	$E$	0.0510	10	0.0051		
	$T$	0.1039	19			
E試料	銅					
	$A$	0.3678	9	0.0409	0.95	3.02
	$E$	0.4301	10	0.0430		
	$T$	0.7979	19			
E試料	亜鉛					
	$A$	0.4891	9	0.0543	1.27	3.02
	$E$	0.4274	10	0.0427		
	$T$	0.9165	19			
E試料	粗たん白質					
	$A$	0.4115	9	0.0457	0.73	3.02
	$E$	0.6264	10	0.0626		
	$T$	1.0380	19			

## 6 参加試験室

- 6.1 総数 249
- うち 飼料検査指導機関…47
  - 飼料製造業者関係…160
  - 飼料添加物製造業者関係…15
  - 民間分析機関等…27
- 6.2 試料別参加試験室数
- A 試料…246
  - B 試料…240
  - C 試料…129
  - D 試料…106
  - E 試料…213

## 7 分析成績及び解析結果並びに鑑定成績

### 7.1 分析成績及び解析結果

A, B, D 及び E 試料について, その分析成績を表 5 及び 6 に, ヒストグラムを図 1 に, また, 解析結果を表 7~10 に示した.

分析値の解析は, ロバスト法に基づき以下の手順により行った.

式 1 により頑健な標準偏差の推定量として NIQR (Normalised inter quartile range; 標準四分位範囲) を求めた後, 式 2 により各分析値の  $z$ -スコアを求めた.

$$\text{NIQR} = \frac{(c-a)}{1.349} \dots\dots\dots \text{式 1}$$

$a$  : 第 1 四分位数

$c$  : 第 3 四分位数

$$z\text{-スコア} = \frac{(x-b)}{\text{NIQR}} \dots\dots\dots \text{式 2}$$

$x$  : 各試験室の分析値

$b$  : 中央値

また、 $z$ -スコアの絶対値が 3 以上の分析値を異常値と判断し、これを棄却した後、平均値の 95 %信頼区間を求めた。

## 7.2 鑑定成績

C 試料について、その鑑定成績を表 11 及び 12 に示した。

表5 A 試料の分析成績 (1)

試料 番号	水分		粗たん白質		粗脂肪		粗繊維		粗灰分		カルシウム		リン		SL(管理分析法)		SL(飼料分析基準)	
	分析値 (%)	No. z-score	分析値 (g(力価)/t)	No. z-score	分析値 (g(力価)/t)	No. z-score												
1	11.05	1 -0.53	19.09	2 -1.54	7.17	1 0.00	2.26	2 -1.51	6.24	1 1.19	1.113	2 -0.15	0.863	1 0.11				
2	10.87	1 -1.36	19.63	4 0.35	7.05	2 -1.01			6.17	1 0.35	1.220	2 1.78						
3	11.11	1 -0.25	19.74	3 0.73	7.13	2 -0.33			6.11	1 -0.35	1.140	1 0.33	0.864	1 0.16	47.3	2 0.70		
4	11.12	1 -0.20	19.25	2 -0.98	7.15	1 -0.16	2.82	3 0.00	6.16	1 0.23	1.100	2 -0.38	0.850	1 -0.61	45.9	1 0.06		
5	11.27	1 0.48	19.55	4 0.07	7.22	2 0.42	2.82	3 0.00	6.21	1 0.83	1.209	1 1.58	0.862	1 0.05			43.1	3 -0.03
6	11.23	1 0.29	19.48	4 -0.17	7.19	1 0.16	2.97	2 0.40	6.22	1 0.95	1.158	2 0.66	0.843	1 -1.01				
7	11.26	1 0.43	19.55	4 0.07	7.22	2 0.42			6.22	1 0.95								
8	11.17	1 0.02	19.29	4 -0.84	7.25	1 0.67	3.59	2 2.07	6.02	1 -1.43	1.180	2 1.05	0.870	1 0.50			42.6	3 -0.20
9	11.52	1 1.63	19.39	3 -0.49					6.15	1 0.11	1.107	2 -0.26	0.854	1 -0.39				
10	11.28	1 0.53	19.23	2 -1.05	7.30	1 1.09	3.24	2 1.13	6.18	1 0.47	1.215	2 1.69	0.856	1 -0.28				
13	11.28	1 0.53	19.32	4 -0.73	7.76	1 4.97	3.04	2 0.59	6.19	1 0.59	1.120	2 -0.02	0.850	1 -0.61				
14	10.86	1 -1.40	19.90	3 1.29	7.08	2 -0.75			6.06	1 -0.95	1.144	2 0.40	0.863	1 0.11			47.1	3 1.34
15	11.15	1 -0.06	19.45	3 -0.28	7.01	1 -1.34	2.59	2 -0.62	6.10	1 -0.47	1.250	2 2.32	0.850	1 -0.61				
16	11.18	1 0.06	19.43	4 -0.35	7.11	2 -0.50	2.48	3 -0.91	6.20	1 0.71	1.122	1 0.00	0.841	1 -1.12				
17	11.04	1 -0.57	19.74	4 0.73	7.26	1 0.75	2.78	3 -0.10	6.15	1 0.11	1.161	2 0.71	0.835	1 -1.46				
18	10.98	1 -0.85	19.26	4 -0.94	7.30	1 1.09	3.07	2 0.67	6.27	1 1.55	1.130	2 0.15	0.850	1 -0.61				
21	11.17	1 0.02	19.62	4 0.31	7.11	1 -0.50			6.10	1 -0.47								
22	11.17	1 0.02	19.53	4 0.00	7.22	1 0.42			6.10	1 -0.47								
23	11.20	1 0.16	19.47	4 -0.21	7.24	1 0.59			5.98	1 -1.91								
24																		
30	11.00	1 -0.76	19.32	1 -0.73	7.20	1 0.25	2.64	2 -0.48	6.06	1 -0.95	1.123	2 0.02	0.894	1 1.85			47.1	3 1.34
32	11.03	1 -0.62	19.75	1 0.77	7.18	1 0.08			6.28	1 1.67								
33	11.15	1 -0.06	19.55	4 0.07	7.11	2 -0.50			6.01	1 -1.55					43.5	1 -1.02		
34	10.85	1 -1.45	19.60	3 0.24	7.23	2 0.50	2.81	2 -0.02	6.30	1 1.91	1.087	2 -0.62	0.901	1 2.24	46.5	1 0.34		
35	11.34	1 0.80	19.51	2 -0.07	7.20	1 0.25			6.25	1 1.31	0.962	2 -2.88	0.836	1 -1.40	42.2	1 -1.62		
36	11.36	1 0.89	19.51	4 -0.07	7.31	1 1.18			5.97	1 -2.03								
37	10.70	1 -2.14	19.29	4 -0.84	7.41	2 2.02	3.45	3 1.69	6.19	1 0.59	1.118	2 -0.06	0.877	1 0.89			43.2	3 0.00
38	11.28	1 0.53	19.67	2 0.49	7.47	2 2.52	2.82	2 0.00	6.08	1 -0.71	1.033	2 -1.60	0.847	1 -0.78				
40	11.18	1 0.06	19.30	4 -0.80	7.06	2 -0.92	4.44	3 4.37	6.05	1 -1.07	0.978	3 -2.59	0.855	1 -0.33	43.0	1 -1.25		
41			19.22	2 -1.08														
42	10.74	1 -1.96	19.74	4 0.73	7.12	2 -0.42	3.11	3 0.78	6.25	1 1.31	1.152	2 0.55	0.870	1 0.50			39.9	3 -1.14
47	11.06	1 -0.48							6.64	1 5.99	1.196	2 1.34	1.002	2 7.92				
50	11.18	1 0.06	19.42	1 -0.38	7.19	2 0.16	3.07	3 0.67	6.02	1 -1.43	1.136	2 0.26	0.854	1 -0.39			41.9	3 -0.44
51	11.08	1 -0.39	19.23	4 -1.05	7.07	2 -0.84	3.58	3 2.05	6.23	1 1.07	1.130	2 0.15	0.876	1 0.84			42.0	3 -0.41
52	9.75	1 -6.52	20.03	2 1.75	7.18	1 0.08			6.30	1 1.91								
53	11.16	1 -0.02	19.62	3 0.31	7.09	1 -0.67			6.21	1 0.83								
55	11.25	1 0.39	19.70	3 0.59	7.20	2 0.25	2.96	3 0.37	6.13	1 -0.11	1.091	2 -0.55	0.889	1 1.57				
56			19.80	3 0.94	7.21	2 0.33	2.65	3 -0.45										
57	11.01	1 -0.71	19.92	3 1.36	7.21	1 0.33			6.10	1 -0.47	1.044	2 -1.40	0.876	1 0.84			44.1	3 0.31
58	11.04	1 -0.57	19.66	4 0.45	6.86	2 -2.61	2.90	2 0.21	6.15	1 0.11	1.395	1 4.95	0.993	1 7.41			43.8	3 0.20
59	11.10	1 -0.29	19.47	4 -0.21	7.25	2 0.67			5.95	1 -2.27								
60	10.81	1 -1.63	19.03	1 -1.75					6.13	1 -0.11								
61	11.23	1 0.29	20.91	1 4.83	8.84	1 14.08	3.60	1 2.10	5.92	1 -2.63	0.878	3 4.40	0.760	2 5.67				
66	11.30	2 0.62	19.59	3 0.21					5.99	2 -1.79								
68			18.88	1 -2.27														
78	11.06	1 -0.48	19.18	4 -1.22	7.01	2 -1.34	3.20	3 1.02	5.92	1 -2.63	1.182	2 1.09	0.637	1 -12.59				
79	9.65	1 -6.98	19.14	4 -1.36	6.98	2 -1.60	2.95	3 0.35	6.19	1 0.59								
81	10.98	1 -0.85	17.53	4 -7.00	3.84	1 -28.07	3.16	3 0.91	6.17	1 0.35	1.094	2 -0.49	0.819	1 -2.36				
82	11.19	1 0.11	19.08	1 -1.57	7.10	1 -0.59	2.11	2 -1.91	6.12	1 -0.23	1.055	2 -1.20	0.865	1 0.22				
83	9.56	1 -7.40	19.70	2 0.59	7.12	1 -0.42	3.14	3 0.86	6.15	1 0.11	1.115	2 -0.11	0.844	1 -0.95				
84	11.23	1 0.29	19.15	4 -1.33	7.15	1 -0.16	7.60	3 12.89	6.22	1 0.95	1.176	2 0.98	0.963	1 5.73				
85	11.18	1 0.06	19.27	1 -0.91	7.10	1 -0.59	2.66	2 -0.43	6.22	1 0.95	1.061	2 -1.09	0.861	1 0.00			43.8	4 0.20
86	11.29	1 0.57	19.35	3 -0.63	7.11	1 -0.50	3.15	1 0.89	6.04	1 -1.19	1.095	2 -0.47	0.855	1 -0.33				
87	11.26	1 0.43	19.66	3 0.45	7.05	1 -1.01	2.67	3 -0.40	6.10	1 -0.47	1.081	2 -0.73	0.869	1 0.44	46.6	1 0.38		
88	11.07	1 -0.43	19.53	3 0.00			2.92	3 0.26	6.07	1 -0.83	1.081	2 -0.73	0.846	1 -0.84	47.0	1 0.57		
89	11.16	1 -0.02	19.73	3 0.70					6.00	1 -1.67	1.082	2 -0.71	0.848	1 -0.73			46.5	3 1.14
90			19.80	3 0.94	7.21	2 0.33	2.65	3 -0.45										
92	11.22	1 0.25	20.15	3 2.17	6.93	2 -2.02	3.16	3 0.91	6.19	1 0.59	1.255	2 2.41	0.866	1 0.28				
92			19.29	4 -0.84														
93			19.46	3 -0.24														
93			19.45	4 -0.28														
94			19.70	1 0.59	7.08	1 -0.75	2.66	2 -0.43	5.99	1 -1.79	1.120	2 -0.02	0.781	1 -4.49				
95	11.15	1 -0.06	19.88	2 1.22					6.06	1 -0.95	1.288	2 3.01	0.868	1 0.39				
96	11.11	1 -0.25	19.66	3 0.45	7.13	1 -0.33			6.27	1 1.55	1.155	2 0.60	0.867	1 0.33	46.5	2 0.34		
98	10.99	1 -0.80	19.43	3 -0.35	7.13	1 -0.33	2.45	2 -0.99	6.29	1 1.79	1.073	1 -0.87	0.869	1 0.44	45.7	1 -0.02		
99	11.27	1 0.48	19.28	3 -0.87	7.22	2 0.42	2.72	2 -0.26	6.15	1 0.11	1.170	2 0.87	0.871	1 0.56				
99			19.24	4 -1.01			3.40	3 1.56										
100	11.27	1 0.48	19.74	3 0.73	7.30	1 1.09	2.70	2 -0.32	6.09	1 -0.59	1.113	2 -0.15	0.870	1 0.50	43.0	1 -1.25	45.6	3 0.83
100			19.60	4 0.24														
101	10.79	1 -1.72													52.8	1 3.22		
102	11.40	2 1.08	19.62	3 0.31					5.97	2 -2.03								
103																		
105	11.00	1 -0.76	19.55	1 0.07	7.28	1 0.92	2.71	1 -0.29	6.13	1 -0.11	1.107	2 -0.26	0.873	1 0.67			42.0	3 -0.41
105			19.69	3 0.56			2.34	2 -1.29										
105			19.45	4 -0.28														
106	11.33	1 0.76	19.14	3 -1.36	7.05	2 -1.01			6.31	1 2.03	1.055	2 -1.20	0.854	1 -0.39	42.7	2 -1.39		
107	10.97	1 -0.89	19.17	1 -1.26	6.89	1 -2.36	2.57	2 -0.67	6.19	1 0.59	1.116	2 -0.09	0.874	1 0.73				
108	11.19	1 0.11	19.71	3 0.63	7.29	1 1.01	2.86	2 0.10										

表 6 B, D 及び E 試料の分析成績 (1)

試料 番号	B試料				D試料				E試料									
	水分		粗たん白質		粗灰分		ガドミウム		エトキシキン		銅		亜鉛		クエン酸モランテル		粗たん白質	
	分析値 (%)	No. z-score	分析値 (%)	No. z-score	分析値 (%)	No. z-score	分析値 (g/トン)	No. z-score	分析値 (g/トン)	No. z-score	分析値 (g/kg)	No. z-score	分析値 (g/kg)	No. z-score	分析値 (g/kg)	No. z-score	分析値 (%)	No. z-score
1	9.38	1 0.05	67.05	2 -1.27	15.66	1 0.67	1.50	2 0.41			24.60	1 -0.06	20.30	1 -0.05			43.37	2 -1.62
2	9.04	1 -1.67	68.33	4 0.27	15.85	1 2.27											44.55	4 1.05
3	9.35	1 -0.10	68.94	3 1.01	15.57	1 -0.08											44.28	3 0.44
4	9.05	1 -1.62	67.64	4 -0.55	15.87	1 2.44											45.90	4 4.11
5	9.30	1 -0.35	67.88	4 -0.26	15.68	1 0.84											44.03	4 -0.12
6	9.37	1 0.00	67.65	4 -0.54	15.68	1 0.84											43.94	4 -0.32
7	9.53	1 0.81	67.67	4 -0.52	15.68	1 0.84											44.09	4 0.01
8	9.26	1 -0.55	67.64	4 -0.55	15.50	1 -0.67					24.56	1 -0.13	22.93	1 2.51			44.22	4 0.30
9	9.81	1 2.23	68.77	3 0.81	15.63	1 0.42					24.92	1 0.48	21.45	1 1.06			44.55	3 1.05
10	9.42	1 0.25	67.28	2 -0.99	15.58	1 0.00											43.60	2 -1.09
13	9.36	1 -0.05	67.43	4 -0.81	15.76	1 1.51					24.39	1 -0.42	20.10	1 -0.25			43.97	3 -0.26
14	9.06	1 -1.57	69.12	3 1.23	15.72	1 1.18					24.60	1 -0.06	25.80	1 5.31			44.50	3 0.94
15	9.15	1 -1.11	68.62	3 0.62	15.71	1 1.09											44.38	3 0.66
16	9.29	1 -0.40	67.67	4 -0.52	15.53	1 -0.42											43.77	4 -0.71
17	9.55	1 0.91	69.12	4 1.23	15.73	1 1.26											44.38	4 0.66
18	9.42	1 0.25	67.43	4 -0.81	15.85	1 2.27					23.80	1 -1.44	21.30	1 0.91			43.67	4 -0.94
21	9.25	1 -0.61	67.71	4 -0.47	15.55	1 -0.25											44.30	4 0.48
22	9.34	1 -0.15	68.05	4 -0.06	15.54	1 -0.33											44.18	4 0.21
23	9.40	1 0.15	68.03	4 -0.08	15.54	1 -0.33											44.40	4 0.71
24	9.87	1 2.54	68.02	1 -0.09	16.25	1 5.64											44.25	1 0.37
30	9.19	1 -0.91	67.50	1 -0.72	15.47	1 -0.92	1.54	2 0.83	242.2	1 -1.00	24.77	1 0.22	19.15	1 -1.18	5.7	1 -2.02	44.73	1 1.46
32	9.21	1 -0.81	66.72	1 -1.66	15.62	1 0.33											43.85	1 -0.53
33	9.43	1 0.30	67.75	4 -0.42	15.50	1 -0.67											43.85	4 -0.53
34	9.05	1 -1.62	68.60	3 0.60	15.64	1 0.50											43.93	3 -0.35
35	9.53	1 0.81	68.05	2 -0.06	15.53	1 -0.42											44.23	2 0.32
36	9.39	1 0.10	68.38	4 0.33	15.42	1 -1.34												
37	9.07	1 -1.52	67.62	4 -0.58	15.67	1 0.75											43.68	4 -0.91
38	9.36	1 -0.05	67.17	2 -1.12	15.61	1 0.25									5.8	1 -1.34	43.61	2 -1.07
40	9.32	1 -0.25	67.83	4 -0.32	15.59	1 0.08											44.32	4 0.53
41			68.06	2 -0.04													43.97	2 -0.26
42	9.04	1 -1.67	69.32	4 1.47	15.75	1 1.43											44.82	4 1.66
47	9.09	1 -1.42			16.22	1 5.39	1.59	1 1.34			22.02	1 4.50	24.05	1 3.60				
50	9.34	1 -0.15	67.77	1 -0.39	15.79	1 1.77	1.40	2 -0.62			24.14	1 -0.85	19.37	1 -0.96			43.48	1 -1.37
51	9.24	1 -0.66	67.42	4 -0.82	15.70	1 1.01											43.63	4 -1.03
52	8.27	1 5.59	67.14	2 -1.16	15.73	1 1.26									6.0	1 0.00	43.81	2 -0.62
53	9.74	1 1.88	68.53	3 0.52	15.40	1 -1.51											44.57	3 1.09
55	9.41	1 0.20	69.39	3 1.56	15.48	1 -0.84											44.62	3 1.21
56			68.91	3 0.97													44.49	3 0.91
57	9.36	1 -0.05	70.05	3 2.35	15.63	1 0.42					24.61	1 -0.05					45.29	3 2.73
58	9.28	1 -0.45	68.60	4 0.60	15.46	1 -1.01									6.0	1 0.00	44.13	4 0.10
59	9.52	1 0.76	67.37	4 -0.88	15.40	1 -1.51											43.68	4 -0.91
60	9.16	1 -1.06	66.76	1 -1.62	15.39	1 -1.60											42.92	1 -2.64
61	9.42	1 0.25	67.45	1 -0.78	15.09	1 4.13	0.02	3 -14.94			15.60	2 -15.53	6.25	2 -13.79			44.26	1 0.39
66	9.54	2 0.86	68.55	3 0.54	15.96	2 3.20											44.28	3 0.44
68			67.01	1 -1.31													43.23	1 -1.93
78	9.44	1 0.35	67.75	4 -0.42	15.40	1 -1.51	1.44	2 -0.20			25.70	1 1.82	21.06	1 0.68			43.72	4 -0.82
79	8.71	1 3.35	67.55	4 -0.66	15.63	1 0.42											43.52	4 -1.28
81	9.30	1 -0.35	66.92	4 -1.42	15.40	1 -1.51	1.39	1 -0.72			27.39	1 4.72	24.77	1 4.31				
82	9.43	1 0.30	67.06	1 -1.25	15.68	1 0.84	1.60	1 1.45			48.35	1 40.74	49.79	1 28.76			43.27	1 -1.84
83	7.80	1 7.99	68.30	2 0.24	15.58	1 0.00					24.59	1 -0.08	25.23	1 4.76			44.15	2 0.14
84	9.37	1 0.00	64.78	4 4.01	15.54	1 -0.33											43.04	4 -2.36
85	9.46	1 0.45	66.99	1 -1.34	15.55	1 -0.25	1.50	2 0.41	258.8	1 -0.06	24.60	1 -0.06	19.95	1 -0.40	6.0	1 0.00	44.22	1 0.30
86	9.45	1 0.40	68.54	3 0.53	15.57	1 -0.08	1.50	2 0.41			24.49	1 -0.25	20.58	1 0.21			44.11	3 0.05
87	9.56	1 0.96	68.67	3 0.68	15.59	1 0.08	1.44	2 -0.20			25.57	1 1.59	20.81	1 0.43			44.41	3 0.73
88	9.18	1 -0.96	68.43	3 0.39	15.66	1 0.67	1.49	2 0.31			25.16	1 0.89	20.36	1 0.00			44.11	3 0.05
89	9.45	1 0.40	68.21	3 0.13	15.28	1 -2.52					24.50	1 -0.24	22.00	1 1.60	6.3	1 2.02	43.83	3 -0.57
90			68.91	3 0.97													44.49	3 0.91
92	9.44	1 0.35	66.57	3 -1.85	15.64	1 0.50	1.41	3 -0.51			24.16	1 -0.82	18.94	1 -1.38			43.46	3 -1.41
92			67.77	4 -0.39													43.64	4 -1.00
93			68.70	3 0.72													39.30	3 -10.84
93			67.46	4 -0.77													38.96	4 -11.61
94																		
95	9.40	1 0.15	68.82	2 0.87	15.39	1 -1.60	1.42	2 -0.41			24.55	1 -0.15	20.87	1 0.49			44.71	2 1.41
96	9.52	1 0.76	68.35	3 0.30	15.53	1 -0.42											44.37	3 0.64
98	9.47	1 0.50	68.14	3 0.04	15.54	1 -0.33											44.09	3 0.01
99	9.41	1 0.20	68.72	3 0.75	15.71	1 1.09											43.96	3 -0.28
99			67.23	4 -1.05													43.25	4 -1.89
100	9.45	1 0.40	69.85	3 2.11	15.70	1 1.01	1.45	2 -0.10	256.4	1 -0.19	26.23	1 2.73	21.29	1 0.90	6.3	1 2.02	44.63	3 1.23
100			68.54	4 0.53													44.10	4 0.03
101	9.10	1 -1.37																
102	9.59	2 1.11	68.54	3 0.53	15.92	2 2.86											44.28	3 0.44
103																		
105	9.30	1 -0.35	68.29	1 0.22	15.56	1 -0.16	1.50	1 0.41			24.72	1 0.13					43.95	1 -0.30
105			68.20	3 0.12													44.00	3 -0.19
105			68.25	4 0.18													44.07	4 -0.03
106	9.56	1 0.96	66.67	3 -1.73	15.58	1 0.00	1.39	2 -0.72			23.74	1 -1.54	19.20	1 -1.13			42.62	3 -3.32
107	9.22	1 -0.76	67.78	1 -0.38	15.56	1 -0.16	1.60	2 1.45			25.10	1 0.79	23.38	1 2.95			44.54	1 1.03
108	9.35	1 -0.10	68.76	3 0.79	15.63	1 0.42											44.41	3 0.73
109	9.92	1 2.79	68.30	4 0.24	15.68	1 0.84	1.42	2 -0.41			24.53	1 -0.18	20.16	1 -0.19			44.09	4 0.01
111	9.60	1 1.17	68.48	3 0.45	15.53	1 -0.42											45.02	3 2.11

表5 A 試料の分析成績 (2)

試料番号	水分			粗たん白質			粗脂肪			粗繊維			粗灰分			カルシウム			リン			SL(管理分析法)		SL(飼料分析基準)	
	分析値 (%)	No.	z-score	分析値 (g(力価)/t)	No.	z-score	分析値 (g(力価)/t)	No.	z-score																
112	11.10	1	-0.29	19.85	1	1.12	7.22	1	0.42	2.85	2	0.08	6.12	1	-0.23	1.144	2	0.40	0.859	1	-0.11				
113	11.35	1	0.85	19.41	4	-0.42	7.42	1	2.10	3.00	3	0.48	6.12	1	-0.23	1.101	1	-0.37	0.863	1	0.11	41.5	1	-1.94	
115	11.28	1	0.53	19.76	3	0.80	7.17	1	0.00	2.93	1	0.29	6.21	1	0.83	1.103	2	-0.33	0.869	1	0.44				
115				19.52	4	-0.03																			
116	11.41	1	1.12	19.43	4	-0.35	7.31	1	1.18	3.08	3	0.70	6.00	1	-1.67	1.085	2	-0.66	0.855	1	-0.33	48.0	1	1.02	
117	11.20	1	0.16	19.89	3	1.26	7.32	2	1.26	2.81	4	-0.02	6.02	1	-1.43	1.159	2	0.67	0.871	1	0.56				
117				19.92	4	1.36																			
118				19.80	3	0.94																			
120	11.48	1	1.45	19.40	4	-0.45	7.28	1	0.92	3.05	2	0.62	6.05	1	-1.07	1.089	2	-0.58	0.857	1	-0.22	46.5	1	0.34	
121	11.17	1	0.02	19.57	3	0.14	7.17	1	0.00	2.82	3	0.00	5.97	1	-2.03	1.082	2	-0.71	0.837	1	-1.34	43.0	3	-0.06	
122	11.25	1	0.39	19.40	3	-0.45	7.12	2	-0.42	2.85	3	0.08	6.15	1	0.11	1.056	2	-1.18	0.890	1	1.63				
123	11.16	1	-0.02	19.77	3	0.84	7.06	2	-0.92	2.69	2	-0.35	6.13	1	-0.11	1.123	2	0.02	0.858	1	-0.16	43.2	3	0.00	
124	11.15	1	-0.06	19.17	2	-1.26	7.21	1	0.33	3.08	2	0.70	5.90	1	-2.87										
124				19.19	3	-1.19																			
125	10.10	1	-4.91																			50.5	1	2.17	
127	10.48	1	-3.15	19.27	4	-0.91	7.08	2	-0.75	2.47	3	-0.94	6.05	1	-1.07	1.064	1	-1.04	0.860	1	-0.05				
128	11.32	1	0.71	19.37	1	-0.56	7.08	1	-0.75	2.36	2	-1.24	6.11	1	-0.35	1.121	2	0.00	0.874	1	0.73				
128				20.18	3	2.27																			
129	10.87	1	-1.36	19.78	3	0.87	7.17	1	0.00	2.51	2	-0.83	6.12	1	-0.23	1.183	1	1.11	0.814	1	-2.64	43.0	1	-1.25	
130	10.84	1	-1.49	19.57	3	0.14	7.20	1	0.25	2.83	3	0.02	6.09	1	-0.59	1.105	2	-0.29	0.853	1	-0.44	44.3	3	0.38	
130				19.38	4	-0.52																			
131	11.37	1	0.94	19.31	2	-0.67	7.09	2	-0.67	2.84	2	0.05	6.26	1	1.43	1.118	2	-0.06	0.840	1	-1.18				
132	11.21	1	0.20	19.66	4	0.77	7.13	1	-0.33	7.13	1	-0.33	6.11	1	-0.35	1.160	2	0.69	0.859	1	-0.11	48.2	3	1.72	
133	11.30	1	0.62	19.84	3	1.08	7.07	1	-0.84	2.79	2	-0.08	6.19	1	0.59										
134	11.40	1	1.08	18.74	2	-2.76							5.93	1	-2.51										
135	11.21	1	0.20	19.60	4	0.24	7.13	1	-0.33	2.78	3	-0.10	6.11	1	-0.35	1.115	2	-0.11	0.855	1	-0.33				
136	10.88	1	-1.31	19.32	1	-0.73	7.00	1	-1.43	2.67	2	-0.40	6.05	1	-1.07	1.110	2	-0.20	0.899	1	2.13				
137	10.98	1	-0.85	19.67	3	0.49	7.09	2	-0.67	3.79	3	0.61	6.26	1	1.43	1.248	2	2.29	0.843	1	-1.01				
138	11.25	1	0.39	19.19	2	-1.19	7.45	1	2.36	3.24	3	1.13	6.25	1	1.31	1.036	2	-1.54	0.877	1	0.89	43.0	1	-1.25	
139	10.88	1	-1.31										6.34	1	2.39										
140	11.09	1	-0.34	19.58	4	0.17	7.04	2	-1.09				6.17	1	0.35	1.137	1	0.28	0.839	1	-1.23				
141				19.37	1	-0.56	7.16	1	-0.08							1.152	2	0.55	0.861	1	0.00				
143	9.44	1	-7.95	19.57	1	0.14	7.06	1	-0.92	1.64	1	-3.18	6.07	1	-0.83	1.156	2	0.62	0.864	1	0.16				
144	11.23	1	0.29	19.43	4	-0.35	7.20	2	0.25	3.06	3	0.64	6.22	1	0.95	1.058	3	-1.14	0.876	1	0.84	40.6	3	-0.89	
145	11.11	1	-0.25	19.68	3	0.52	7.15	1	-0.16	2.54	2	-0.75	6.26	1	1.43										
154	11.17	1	0.02	17.07	1	-8.61	7.07	1	-0.84	2.86	2	0.10	6.28	1	1.67										
166	11.23	1	0.29	19.41	4	-0.42	7.00	1	-1.43	3.35	1	1.42	5.96	1	-2.15	1.122	3	0.00	0.891	1	1.68				
168	11.24	1	0.34	19.98	3	1.57	7.15	1	-0.16	2.96	3	0.37	6.21	1	0.83	1.143	2	0.38	0.834	1	-1.51				
170	11.22	1	0.25	19.77	3	0.84	7.11	1	-0.50	2.58	3	-0.64	6.23	1	1.07	1.016	2	-1.91	0.835	1	-1.46				
171	11.13	1	-0.16	19.45	4	-0.28	7.28	2	0.92	2.60	3	-0.59	6.19	1	0.59	1.250	1	2.32	0.870	1	0.50	43.4	3	0.06	
172	11.22	1	0.25	20.17	3	2.24	7.09	2	-0.67				5.97	1	-2.03				0.865	2	0.22				
173	11.64	1	2.19	19.26	4	-0.94	7.24	1	0.59	3.04	2	0.59	6.16	1	0.23	1.074	2	-0.86	0.860	1	-0.05				
174	11.27	1	0.48	19.79	1	0.91	7.27	1	0.84	2.72	1	-0.26	6.14	1	0.00										
175	11.23	1	0.29	19.53	4	0.00	7.16	2	-0.08	7.16	2	-0.08	6.24	1	1.19	1.157	2	0.64	0.872	1	0.61	46.1	2	0.16	
176	11.57	1	1.86				7.00	1	-1.43				6.01	1	-1.55										
177	10.95	1	-0.99	19.20	4	-1.15	7.17	2	0.00	3.21	2	1.05	6.16	1	0.23	1.114	2	-0.13	0.859	1	-0.11				
178	11.33	1	0.76	19.68	3	0.52							6.10	1	-0.47										
179	11.50	1	1.54	19.41	4	-0.42	7.15	2	-0.16	2.85	2	0.08	6.05	1	-1.07	1.160	3	0.69	0.870	1	0.50	47.2	1	0.66	
180	10.75	1	-1.91	19.31	1	-0.77	2.41	2	-1.10	2.41	2	-1.10	6.10	1	-0.47										
181	11.35	1	0.85	18.86	2	-2.34	7.11	1	-0.59	2.83	1	0.02	5.89	1	-2.99	1.243	1	2.20	0.386	1	-26.69				
182	11.24	1	0.34	21.13	1	5.60	7.67	1	4.21				6.08	1	-0.71				0.823	1	-2.13				
183	11.31	1	0.66	19.59	3	0.21	7.24	2	0.59	3.68	3	2.32	6.14	1	0.09	1.127	2	0.09	0.852	1	-0.50				
184	11.43	1	1.22	19.49	3	-0.14	7.33	1	1.34	2.56	2	-0.70	6.13	1	-0.11										
185	11.34	1	0.80	19.96	4	1.50	7.30	1	1.09	2.81	1	-0.02	6.14	1	0.00	1.135	2	0.24	0.863	1	0.11				
186	11.17	1	0.02	19.16	4	-1.29	7.27	1	0.84	2.21	2	-1.64	6.12	1	-0.23	1.179	2	1.04	0.942	1	4.55				
187	11.43	1	1.22	19.41	4	-0.42	7.19	1	0.16	2.35	2	-1.26	6.02	1	-1.43	1.132	2	0.19	0.861	1	0.00	39.9	3	-1.14	
188	11.28	1	0.53										6.13	2	-0.11	2.094	1	17.60	0.789	1	-4.04				
189	11.29	1	0.57	19.50	2	-0.10	7.16	1	-0.08	3.74	2	2.48	6.17	1	0.35	1.134	2	0.22	0.864	1	0.16				
190	11.35	1	0.85	19.47	3	-0.21	7.24	1	0.59	2.84	2	0.05	6.19	1	0.59	1.075	1	-0.84	0.855	1	-0.33	41.5	3	-0.58	
191	11.23	1	0.29	20.21	3	2.38	7.02	1	-1.26	3.10	2	0.75	6.16	1	0.23	1.081	2	-0.73	0.794	1	-3.76	45.2	3	0.69	
192	10.87	1	-1.36	19.63	2	0.35	7.13	1	-0.33	3.18	2	0.97	5.96	1	-2.15	1.251	2	2.34	0.922	1	3.42				
193	11.47	1	1.40	19.73	3	0.70	7.12	1	-0.42				6.03	1	-1.31	1.152	3	0.55	0.749	2	-6.29				
194	10.85	1	-1.45										6.15	1	0.11										
195	11.54	1	1.72	19.60	4	0.24	7.12	1	-0.42	2.21	2	-1.64	6.16	1	0.23	0.990	1	-2.38	0.870	1	0.50	40.9	3	-0.79	
196	11.18	1	0.06	19.19	4	-1.19	7.20	1	0.25	2.89	2	0.18	7.44	1	15.58	1.310	1	3.41	0.806	1	-3.09				

表 6 B, D 及び E 試料の分析成績 (2)

試料 番号	B試料				D試料				E試料							
	水分		粗たん白質		粗灰分		カドミウム		エトキシキン		亜鉛		クエン酸モランテル			
	分析値 (%)	No. z-score	分析値 (%)	No. z-score	分析値 (%)	No. z-score	分析値 (g/トン)	No. z-score	分析値 (g/トン)	No. z-score	分析値 (g/kg)	No. z-score	分析値 (g/kg)	No. z-score		
112	9.28	1 -0.45	68.29	1 0.22	15.62	1 0.33	1.49	2 0.31			24.47	1 -0.29	21.48	1 1.09		
113	9.69	1 1.62	68.11	4 0.01	15.65	1 0.59							6.4	1 2.69		
115	9.44	1 0.35	68.66	3 0.67	15.59	1 0.08	1.57	2 1.14	271.4	1 0.65	24.94	1 0.51	21.38	1 0.99		
115			67.82	4 -0.33												
116	9.61	1 1.22	67.89	4 -0.25	15.46	1 -1.01	1.46	2 0.00			24.69	1 0.08	20.25	1 -0.10		
117	9.35	1 -0.10	68.41	3 0.37	15.60	1 0.16			289.4	1 1.67	24.86	1 0.37	20.28	1 -0.07		
117			68.84	4 0.89									6.0	1 0.00		
118			68.64	3 0.65									6.0	1 0.00		
120	9.65	1 1.42	67.71	4 -0.47	15.59	1 0.08	1.50	2 0.41			24.65	1 0.01	21.27	1 0.88		
121	9.53	1 0.81	68.30	3 0.24	15.54	1 -0.33	1.41	2 -0.51	257.0	1 -0.16	24.06	1 -0.99	20.36	1 0.00		
122	9.40	1 0.15	68.55	3 0.54	15.74	1 1.34										
123	9.50	1 0.66	68.32	3 0.26	15.47	1 -0.92	1.36	2 -1.03	265.3	1 0.30	23.66	1 -1.68	20.13	1 -0.22		
124	9.24	1 -0.66	67.59	2 -0.61	15.47	1 -0.92							6.0	1 0.00		
124			69.53	3 1.73												
125	9.15	1 -1.11									24.99	1 0.60	19.59	1 -0.75		
127	8.98	1 -1.98	67.92	4 -0.21	15.38	1 -1.68							6.9	1 6.07		
128	9.46	1 0.45	68.30	1 0.24	15.63	1 0.42	1.45	2 -0.10			23.90	1 -1.27	19.71	1 -0.63		
128			69.58	3 1.79												
129	9.13	1 -1.22	68.93	3 1.00	15.58	1 0.00										
130	9.34	1 -0.15	68.72	3 0.75	15.68	1 0.84			271.0	1 0.63	25.80	1 1.99	20.70	1 0.33		
130			67.60	4 -0.60												
131	9.27	1 -0.50	67.62	2 -0.58	15.65	1 0.59							6.2	1 1.34		
132	9.49	1 0.61	67.84	4 -0.31	15.58	1 0.00	1.57	1 1.14	268.9	1 0.51	24.68	1 0.06	20.23	1 -0.12		
133	9.53	1 0.81	68.89	3 0.95	15.67	1 0.75										
134	9.46	1 0.45	65.45	2 -3.20	15.55	1 -0.25										
135	9.43	1 0.30	68.16	4 0.07	15.58	1 0.00	1.54	1 0.83	256.2	1 -0.21	24.60	1 -0.06	20.10	1 -0.25		
136	9.12	1 -1.27	68.04	1 -0.07	15.41	1 -1.43	1.48	2 0.20			23.49	1 -1.97	20.11	1 -0.24		
137	9.29	1 -0.40	68.80	3 0.84	15.76	1 1.51										
138	9.48	1 0.55	67.68	2 -0.50	15.61	1 0.25										
139	9.12	1 -1.27			15.73	1 1.26										
140	9.24	1 -0.66	68.37	4 0.32	15.65	1 0.59			200.4	1 -3.37						
141			66.55	1 -1.87												
143	8.32	1 -5.34	66.76	1 -1.62	15.55	1 -0.25					24.83	2 0.32	20.17	2 -0.18		
144	9.48	1 0.55	67.86	4 -0.29	15.64	1 0.50	1.41	2 -0.51	237.5	1 -1.27	24.80	1 0.27	19.80	1 -0.54		
145	9.32	1 -0.25	68.92	3 0.99	15.67	1 0.75							5.9	1 -0.67		
154	9.27	1 -0.50	65.63	1 -2.98	15.73	1 1.26										
166																
168	9.42	1 0.25	69.69	3 1.92	15.63	1 0.42			225.5	1 -1.95	24.57	1 -0.12	20.15	1 -0.20		
170	9.49	1 0.61	68.81	4 0.85	15.62	1 0.33										
171	9.11	1 -1.32	68.00	4 -0.12	15.59	1 0.08			276.1	1 0.92			5.9	1 -0.67		
172																
173	9.87	1 2.54	67.25	4 -1.02	15.53	1 -0.42										
174	9.57	1 1.01	67.56	1 -0.65	15.51	1 -0.59								43.58	1 -1.14	
175	9.43	1 0.30	68.04	4 -0.07	15.61	1 0.25								44.07	4 -0.03	
176	9.50	1 0.66			15.63	1 0.42										
177	9.32	1 -0.25	67.52	4 -0.70	15.58	1 0.00								40.26	4 -8.67	
178														43.97	3 -0.26	
179	9.50	1 0.66	66.89	4 -1.46	15.40	1 -1.51								44.10	4 0.03	
180	8.95	1 -2.13	66.48	1 -1.95	8.95	1 -55.89								43.64	1 -1.00	
181																
182	9.37	1 0.00	70.38	1 2.75	15.44	1 -1.18								44.56	1 1.07	
183	9.40	1 0.15	68.48	3 0.45	15.72	1 1.18	1.45	2 -0.10			25.12	1 0.82	19.82	1 -0.52	44.21	3 0.28
184	9.63	1 1.32	68.30	3 0.24	15.61	1 0.25									43.90	3 -0.41
185	9.46	1 0.45	68.70	4 0.72	15.73	1 1.26									40.84	4 -7.35
186	9.30	1 -0.35	67.31	4 -0.95	15.57	1 -0.08					16.93	1 -13.24	18.20	1 -2.11	44.12	4 0.07
187	9.49	1 0.61	67.59	4 -0.61	15.46	1 -1.01	1.53	2 0.72	273.7	1 0.78	24.57	1 -0.12	20.63	1 0.26	43.74	4 -0.78
188	10.17	1 4.07			15.37	2 -1.77										
189	9.58	1 1.06	67.19	2 -1.10	15.47	1 -0.92									43.41	2 -1.53
190	9.49	1 0.61	68.49	3 0.47	15.61	1 0.25									44.02	3 -0.14
191	9.41	1 0.20	68.97	3 1.05	15.44	1 -1.18			243.1	1 -0.95	24.56	1 -0.13	19.45	1 -0.88	44.80	3 1.62
192	9.02	1 -1.78	69.16	2 1.28	15.39	1 -1.60									44.58	2 1.12
193	9.30	1 -0.35	69.28	3 1.42	15.67	1 0.75										
194	9.14	1 -1.17			15.61	1 0.25										
195	9.66	1 1.47	68.00	4 -0.12	15.51	1 -0.59							6.0	1 0.00	43.93	4 -0.35
196	9.46	1 0.45	66.78	4 -1.59	17.04	1 12.30									43.46	4 -1.41
197	9.55	1 0.91	68.97	4 1.05	15.61	1 0.25										
198	7.91	1 -7.43	68.64	4 0.65	15.59	1 0.08										
199	9.33	1 -0.20	68.54	1 0.53	15.58	1 0.00	1.44	2 -0.20	264.6	1 0.26	25.08	1 0.75	20.22	1 -0.13	6.1	1 0.67
215	8.79	1 -2.95	66.09	2 -2.43	15.36	1 -1.85									43.86	1 -0.51
216	8.09	1 -6.51	69.12	4 1.23	15.56	1 -0.16									43.22	2 -1.96
217	9.22	1 -0.76	66.82	2 -1.54	15.69	1 0.92	1.34	2 -1.24	211.1	1 -2.77	25.49	1 1.46	21.44	1 1.05	44.69	4 1.37
218	9.13	1 -1.22	67.91	2 -0.22	15.43	1 -1.26	1.57	1 1.14			24.40	1 -0.41	21.28	1 0.89	44.13	2 0.10
219															44.04	2 -0.10
220	9.43	1 0.30	68.20	1 0.12	15.56	1 -0.16									43.37	2 -1.62
221	9.56	1 0.96	69.31	3 1.46	15.42	1 -1.34									44.10	1 0.03
222	9.35	1 -0.10	67.50	2 -0.72	15.67	1 0.75									44.87	3 1.77
223	9.53	1 0.81	68.05	4 -0.06	15.58	1 0.00									43.20	2 -2.00
224	9.35	1 -0.10	68.30	3 0.24	15.48	1 -0.84									44.08	4 -0.01
225	9.51	1 0.71	67.42	4 -0.82	15.53	1 -0.42									43.78	3 -0.69
226	8.39	1 -4.98	55.42	3 -15.34	15.49	1 -0.75									43.77	4 -0.71
															35.60	3 -19.23

表5 A 試料の分析成績 (3)

試料番号	水分			粗たん白質			粗脂肪			粗繊維			粗灰分			カルシウム			リン			SL(管理分析法)		SL(飼料分析基準)			
	分析値 (%)	No.	z-score	分析値 (g(力価)/t)	No.	z-score	分析値 (g(力価)/t)	No.	z-score																		
227	11.14	1	-0.11	19.86	3	1.15	7.35	2	1.51				6.21	1	0.83	1.115	2	-0.11	0.861	1	0.00			48.7	3	1.90	
228	11.16	1	-0.02	18.38	3	-0.02	7.52	2	2.95																		
229	10.86	1	-1.40	19.68	2	0.52	7.24	1	0.59				6.25	1	1.31												
230	11.29	1	0.57	19.34	4	-0.66	7.04	1	-1.09				6.12	1	-0.23												
231	10.61	1	-2.55	19.80	2	0.94	7.00	1	-1.43																		
232	10.87	1	-1.36	19.59	3	0.21	6.94	2	-1.93				6.14	1	0.00												
233	10.68	1	-2.23	19.11	4	-1.47	7.54	1	3.11	3.42	3	1.61	5.95	1	-2.27	1.013	2	-1.96	0.869	1	0.44						
234	11.38	1	0.99	19.63	3	0.35	7.18	1	0.08	2.53	2	-0.78	6.16	1	0.23	1.123	2	0.02	0.838	1	-1.29	47.1	1	0.61			
235	11.33	1	0.76	19.63	2	0.35	7.19	1	0.16	2.85	2	0.08	6.15	1	0.11				0.859	1	-0.11						
236	10.83	1	-1.54	20.03	3	1.75	7.31	1	1.18				5.93	1	-2.51	0.959	2	-2.94	0.753	1	-6.07			42.4	3	-0.27	
237	11.12	1	-0.20	19.73	4	0.70	7.14	2	-0.25	2.38	2	-1.18	6.16	1	0.23	1.170	2	0.87	1.002	1	7.92	45.5	1	-0.11			
238	11.15	1	-0.06	19.84	3	1.08	7.22	2	0.42	2.97	1	0.40	6.15	1	0.11	1.125	2	0.06	0.840	1	-1.18			48.1	3	1.69	
238				19.49	4	-0.14																					
239	11.24	1	0.34							2.23	2	-1.59	6.22	1	0.95							39.9	1	-2.67			
240	11.02	1	-0.66	19.43	2	-0.35	7.21	1	0.33				6.25	1	1.31												
241	11.27	1	0.48	19.05	2	-1.68	6.92	1	-2.10	2.62	2	-0.53	6.17	1	0.35												
242	11.32	1	0.71	19.88	3	1.22	7.29	1	1.01	2.93	1	0.29	6.17	1	0.35	1.111	1	-0.19	0.860	1	-0.05						
243	11.14	1	-0.11	19.81	3	0.98	7.21	1	0.33	3.08	2	0.70	6.08	1	-0.71												
244	11.29	1	0.57	19.31	4	-0.77	7.21	1	0.33	2.67	2	-0.40	6.20	1	0.71	1.000	2	-2.20	0.812	1	-2.75			49.3	3	2.10	
245	10.82	1	-1.59	19.64	2	0.38	7.23	1	0.50	2.37	2	-1.21	6.17	1	0.35	1.120	1	-0.02	0.869	1	0.44	48.8	1	1.39			
246																									41.5	3	-0.58
247																											
248	11.06	1	-0.48	19.67	3	0.49	6.96	2	-1.77				6.17	1	0.35												
249	10.65	1	-2.37	19.60	4	0.24	6.76	2	-3.45	2.89	3	0.18	6.10	1	-0.47	1.191	2	1.25	0.874	1	0.73						
250	11.04	1	-0.57	19.36	2	-0.59	7.11	1	-0.50	2.54	2	-0.75	6.18	1	0.47	1.079	2	-0.76	0.854	1	-0.39			45.2	4	0.69	
251	10.39	1	-3.57	19.13	2	-1.40	7.08	1	-0.75	2.55	2	-0.72	6.12	1	-0.23	1.089	2	-0.58	0.865	1	0.22						
252	11.22	1	0.25	19.56	4	0.10	7.10	2	-0.59	2.84	1	0.05	6.33	1	2.27	1.171	2	0.89	0.867	1	0.33			40.5	3	-0.92	
253	10.80	1	-1.68	19.28	4	-0.87	7.34	1	1.43	2.59	1	-0.62	6.25	1	1.31												
254	11.20	1	0.16	19.34	4	-0.66	7.07	2	-0.84	2.61	4	-0.56	6.21	1	0.83	1.354	1	4.20	0.863	1	0.11			48.9	3	1.97	
255	11.29	1	0.57	19.53	4	0.00	7.29	1	1.01	2.43	2	-1.05	6.12	1	-0.23	1.114	2	-0.13	0.827	1	-1.91						
256	11.11	1	-0.25	19.68	1	0.52	7.20	1	0.25	2.79	1	-0.08	6.10	1	-0.47	1.026	2	-1.72	0.867	1	0.33						
257	10.91	1	-1.17				7.13	1	-0.33	2.57	2	-0.67	5.91	1	-2.75	1.130	2	0.15	0.860	1	-0.05	47.7	1	0.89			
258	11.29	1	0.57	19.24	2	-1.01	7.45	1	2.36	2.30	2	-1.40	6.13	1	-0.11	1.134	3	0.22	0.870	1	0.50						
259	11.12	1	-0.20	19.35	4	-0.63	7.11	1	-0.50	1.99	2	-2.23	6.14	1	0.00	1.384	1	4.75	0.852	1	-0.50	45.0	2	-0.34			
260	11.65	1	2.23	19.38	1	-0.52	7.23	1	0.50	3.37	2	1.48	6.16	1	0.23	0.983	2	-2.50	0.763	1	-5.50						
261	11.02	1	-0.66	19.79	3	0.91	6.97	2	-1.68				6.21	1	0.83												
276	11.22	1	0.25	19.01	2	-1.82	7.33	1	1.34	2.96	2	0.37	5.96	1	-2.15												
277	11.14	1	-0.11	19.04	4	-1.71	7.28	1	0.92	2.95	1	0.35	6.07	1	-0.83	1.092	2	-0.53	0.887	1	1.46						
278	10.18	1	-4.54	19.86	3	1.15	7.05	1	-1.01				6.08	1	-0.71	1.082	2	-0.71	0.821	1	-2.24						
282	10.93	1	-1.08	19.35	4	-0.63	7.79	1	5.22	2.82	2	0.00	6.18	1	0.47	1.111	2	-0.19	0.867	1	0.33			40.7	3	-0.86	
283	11.22	1	0.25	19.43	3	-0.35	7.15	1	-0.16				6.10	1	-0.47	1.084	1	-0.67	0.840	1	-1.18	44.2	2	-0.70			
284	11.36	1	0.89	19.92	1	1.36	7.17	1	0.00	2.56	2	-0.70	6.27	1	1.55	1.063	2	-1.05	0.864	1	0.16			42.0	4	-0.41	
285	11.14	1	-0.11	19.26	3	-0.94				6.05	1	-1.07										43.4	2	-1.07			
287	10.89	1	-1.26	19.75	2	0.77	7.28	1	0.92				5.95	1	-2.27												
289	11.42	1	1.17	19.48	3	-0.17	7.20	2	0.25	3.82	3	2.69	6.11	1	-0.35	1.164	2	0.76	0.862	1	0.05			39.6	3	-1.24	
290	10.78	1	-1.77	19.13	4	-1.40	7.23	1	0.50	2.75	1	-0.18	6.17	1	0.35	1.126	2	0.08	0.874	1	0.73						
291																											
292	10.94	1	-1.03							6.01	1	-1.55	1.190	1	1.24				0.864	1	0.16						
293	11.41	1	1.12	19.45	4	-0.28				6.11	1	-0.35									41.1	1	-2.14				
294	10.59	1	-2.65	19.68	3	0.52	6.75	1	-3.54	2.54	2	-0.75	5.99	1	-1.79	1.109	2	-0.22	0.826	1	-1.96	45.6	1	-0.06			
295	11.15	1	-0.06	19.47	2	-0.21	7.03	2	-1.18	3.16	2	0.91	6.20	1	0.71	1.116	2	-0.09	0.865	1	0.22	53.6	1	3.58			
296	10.88	1	-1.31	17.94	1	-5.57	7.16	1	-0.08				6.18	1	0.47				0.711	1	-8.43						
297	10.63	1	-2.46	19.38	2	-0.52	7.37	2	1.68				6.30	1	1.91	1.043	2	-1.42	0.862	1	0.05						
298	11.22	1	0.25	19.38	4	-0.52	7.13	1	-0.33	3.03	2	0.56	6.15	1	0.11	1.078	2	-0.78	0.894	1	1.85						
300	11.33	1	0.76	19.74	3	0.73	7.26	1	0.75				6.10	1	-0.47	1.166	2	0.80	0.854	1	-0.39			45.3	3	0.72	
301	11.37	1	0.94	19.68	3	0.52	7.18	2	0.08	2.92	1	0.26	6.10	1	-0.47	1.161	2	0.71	0.859	1	-0.11	44.9	2	-0.38	41.1	3	-0.72
303	11.26	1	0.43	19.85	3	1.12	7.11	2	-0.50	2.65	2	-0.45	6.40	1	3.11	1.180	2	1.05	0.860	1	-0.05	46.3	1	0.25			
305	11.22	1	0.25	19.68	3	0.52	7.12	2	-0.42				6.03	1	-1.31	1.153	2	0.57	0.866	1	0.28	44.8	2	-0.43			
306	10.83	1	-1.54	19.84	2	1.08	7.22	2	0.42	2.52	3	-0.80	6.21	1	0.83	1.187	1	1.18	0.890	1	1.63	45.8	1	0.02			
307	11.28	1	0.53	19.81	3	0.98	7.46	1	2.44				6.13	1	-0.11	1.104	2	-0.31	0.852	1	-0.50	45.2	1	-0.25			
308	11.32	1	0.71	19.39	4	-0.49	7.08	2	-0.75	2.98	2	0.43	6.18	1	0.47	1.065	2	-1.02	0.887	1	1.46						
309	11.16	1	-0.02	19.30	4	-0.80	7.09	2	-0.67	4.32	2	4.04	6.15	1	0.11	1.247	1	2.27									

表 6 B, D 及び E 試料の分析成績 (3)

試料 番号	B試料				D試料				E試料					
	水分		粗たん白質		粗灰分		ガドミウム		エトキシキン		亜鉛		クエン酸モランテル	
	分析値 (%)	No. z-score	分析値 (%)	No. z-score	分析値 (%)	No. z-score	分析値 (g/トン)	No. z-score	分析値 (g/kg)	No. z-score	分析値 (g/kg)	No. z-score	分析値 (%)	No. z-score
227	9.29	1 -0.40	69.29	3 1.43	15.69	1 0.92			25.42	1 1.34	21.93	1 1.53		
228	9.12	1 -1.27	65.94	3 -2.61									44.70	3 1.39
229	9.50	1 0.66	67.88	2 -0.26	15.51	1 -0.59	1.25	2 -2.17					43.74	2 -0.78
230	9.63	1 1.32	67.60	4 -0.60	15.70	1 1.01							43.92	4 -0.37
231	9.01	1 -1.83	68.35	2 0.30									44.36	2 0.62
232	9.37	1 0.00	68.91	3 0.97	15.58	1 0.00							44.57	3 1.09
233	8.84	1 -2.69	66.35	4 -2.11	15.41	1 -1.43							43.76	4 -0.73
234	9.53	1 0.81	68.47	3 0.44	15.64	1 0.50			24.66	1 0.03	20.75	1 0.38	5.9	1 -0.67
235	9.48	1 0.55	67.74	2 -0.43	15.61	1 0.25			265.3	1 0.30			44.08	3 -0.01
236	9.27	1 -0.50	69.00	3 1.08	15.31	1 -2.27					19.67	1 -0.67	43.79	2 -0.66
237	9.39	1 0.10	68.65	4 0.66	15.60	1 0.16			22.91	1 -2.97			44.72	3 1.43
238	9.37	1 0.00	68.85	3 0.90	15.43	1 -1.26							44.71	4 1.41
238			67.95	4 -0.18					207.3	1 -2.98	23.84	1 -1.37	44.12	3 0.07
239	9.31	1 -0.30			15.62	1 0.33			259.2	1 -0.03	19.94	1 -0.41	6.0	1 0.00
240	9.15	1 -1.11	67.86	2 -0.29	15.56	1 -0.16	1.27	2 -1.97					43.20	2 -2.00
241	9.39	1 0.10	66.88	2 -1.47	15.55	1 -0.25			301.0	1 2.33				
242													44.31	3 0.51
243	9.30	1 -0.35	72.21	3 4.92	15.48	1 -0.84							45.07	3 2.23
244	9.54	1 0.86	67.63	4 -0.56	15.58	1 0.00			25.35	1 1.22	20.61	1 0.24	5.8	1 -1.34
245	9.25	1 -0.61	68.52	2 0.50	15.60	1 0.16	1.55	1 0.93	24.22	1 -0.72	20.23	1 -0.12	6.1	1 0.67
246									252.9	1 -0.39	20.23	1 -0.12	44.11	2 0.05
247	9.27	1 -0.50			15.48	1 -0.84			260.6	1 0.03	24.98	1 0.58	6.1	1 0.67
248	9.30	1 -0.35	68.55	3 0.54	15.47	1 -0.92			255.4	1 -0.25				
249	8.91	1 -2.34	68.55	4 0.54	15.86	1 2.36							43.97	3 -0.26
250	9.25	1 -0.61	67.92	2 -0.21	15.57	1 -0.08	1.48	2 0.20	257.8	1 -0.11	24.92	1 0.48	20.34	1 -0.01
251	8.83	1 -2.74	66.83	2 -1.53	15.51	1 -0.59							6.4	1 2.69
252	9.45	1 0.40	68.51	4 0.49	15.66	1 0.67			228.4	1 -1.78	25.01	1 0.63	22.76	1 2.34
253	9.34	1 -0.15	66.97	4 -1.36	16.04	1 3.87							44.15	4 0.14
254	9.45	1 0.40	67.29	4 -0.97	15.62	1 0.33			271.1	1 0.63			5.4	1 -4.04
255	9.47	1 0.50	68.10	4 0.00	15.52	1 -0.50							43.66	4 -0.96
256	9.35	1 -0.10	67.89	1 -0.25	15.60	1 0.16	1.43	2 -0.31					44.20	4 0.26
257	9.26	1 -0.55			15.34	1 -2.02	1.54	1 0.83	256.3	1 -0.20	25.33	1 1.18	6.9	1 6.07
258	9.46	1 0.45	67.26	2 -1.01	15.46	1 -1.01	1.19	3 -2.80			23.74	2 -1.54	19.70	2 -0.64
259	9.26	1 -0.55	67.58	4 -0.62	15.48	1 -0.84							5.5	1 -3.37
260	9.76	1 1.98	67.46	1 -0.77	15.39	1 -1.60							43.73	1 -0.80
261	9.19	1 -0.91	68.55	3 0.54	15.51	1 -0.59							44.03	3 -0.12
276	9.38	1 0.05	66.95	2 -1.39	15.42	1 -1.34							42.86	2 -2.77
277	9.15	1 -1.11	67.22	4 -1.06	15.42	1 -1.34							43.27	4 -1.84
278	8.61	1 -3.86	68.94	3 1.01	15.74	1 1.34							44.82	3 1.66
282	9.45	1 0.40	66.92	4 -1.42	15.77	1 1.60			25.03	1 0.67	23.40	1 2.97	43.26	4 -1.87
283	9.64	1 1.37	68.93	3 1.00	15.60	1 0.16							44.16	3 0.17
284	9.47	1 0.50	69.12	1 1.23	15.63	1 0.42	1.46	2 0.00	258.4	1 -0.08	24.70	1 0.10	22.20	1 1.79
285	9.13	1 -1.22	67.99	3 -0.13	15.59	1 0.08							6.2	1 1.34
287	9.01	1 -1.83	68.60	2 0.60	15.42	1 -1.34							44.05	3 -0.07
289	9.59	1 1.11	68.38	3 0.33	15.61	1 0.25							44.47	2 0.87
290	9.13	1 -1.22	67.77	4 -0.39	15.52	1 -0.50							44.11	3 0.05
291									277.0	1 0.97			43.84	4 -0.55
292	9.39	1 0.10			15.44	1 -1.18	1.42	1 -0.41			24.27	1 -0.63	20.24	1 -0.11
293	9.63	1 1.32	68.06	4 -0.04	15.54	1 -0.33							43.88	4 -0.46
294	8.94	1 -2.18	68.85	3 0.90	15.56	1 -0.16			24.49	1 -0.25	19.78	1 -0.56	44.64	3 1.25
295	9.37	1 0.00	68.32	2 0.26	15.72	1 1.18			25.03	1 0.67	19.89	1 -0.45	6.0	1 0.00
296	9.11	1 -1.32	65.65	1 -2.96	15.57	1 -0.08							44.48	2 0.89
297	9.01	1 -1.83	67.44	2 -0.79	15.62	1 0.33			24.11	1 -0.91	22.53	1 2.12	42.12	1 -4.45
298	9.43	1 0.30	67.17	4 -1.12	15.49	1 -0.75							43.92	2 -0.35
300	9.63	1 1.32	69.43	3 1.60	15.52	1 -0.50			25.26	1 1.06	25.13	1 0.84	43.55	4 -1.21
301	9.43	1 0.30	68.67	3 0.68	15.45	1 -1.09					20.18	1 -0.17	44.19	3 0.23
303	9.48	1 0.55	69.05	3 1.14	15.88	1 2.52			23.81	1 -1.42	19.65	1 -0.69	5.6	1 -2.69
305	9.34	1 -0.15	68.52	3 0.50	15.61	1 0.25							44.92	3 1.89
306	9.21	1 -0.81	68.21	2 0.13	15.74	1 1.34			24.71	1 0.12	20.31	1 -0.04	44.23	3 0.32
307	9.41	1 0.20	69.27	3 1.41	15.63	1 0.42			24.96	1 0.54			44.17	2 0.19
308	9.33	1 -0.20	67.32	4 -0.94	15.61	1 0.25			24.07	1 -0.97	23.84	1 3.40	44.45	3 0.82
309	9.38	1 0.05	67.37	4 -0.88	15.68	1 0.84			290.0	1 1.70			44.11	4 0.05
312	9.39	1 0.10	68.54	2 0.53	15.65	1 0.59							43.87	4 -0.48
313	9.55	1 0.91	68.78	3 0.82	15.48	1 -0.84	1.32	2 -1.45	28.44	1 6.53	23.45	1 3.02	44.49	2 0.91
314			68.91	3 0.97									44.18	3 0.21
315	9.33	1 -0.20	68.15	4 0.06	15.66	1 0.67							44.49	3 0.91
316	9.17	1 -1.01	68.63	4 0.64	15.51	1 -0.59							44.17	4 0.19
317	9.42	1 0.25	67.39	4 -0.85	15.53	1 -0.42							44.16	4 0.17
318	9.06	1 -1.57	72.62	3 5.46	15.30	1 -2.36					5.9	1 -0.67	43.93	4 -0.35
319	8.80	1 -2.90	65.90	2 -2.66	15.53	1 -0.42							47.18	3 7.01
320	9.33	1 -0.20	67.64	2 -0.55	15.44	1 -1.18							43.20	2 -2.00
321	9.48	1 0.55	67.88	2 -0.26	15.64	1 0.50	1.33	2 -1.34	277.2	1 0.98	25.09	1 0.77	20.57	1 0.20
326	9.52	1 0.76	68.25	4 0.18	15.68	1 0.84	1.58	1 1.24	236.3	1 -1.34			43.82	2 -0.60
327	9.20	1 -0.86	70.20	3 2.54	15.50	1 -0.67					25.02	1 0.65	19.72	1 -0.62
328									263.9	1 0.22	24.85	1 0.36	20.40	1 0.03
329	8.90	1 -2.39	67.52	4 -0.70	15.69	1 0.92	1.39	1 -0.72	291.7	1 1.80	25.39	1 1.28	21.14	1 0.76
330	9.48	1 0.55	68.48	2 0.45	15.42	1 -1.34					22.85	1 -3.07	6.1	1 0.67
331	9.46	1 0.45	68.49	3 0.47	15.54	1 -0.33			294.7	1 1.97	23.34	1 -2.23	20.74	1 0.37
333	9.29	1 -0.40	67.23	2 -1.05	15.79	1 1.77	1.42	1 -0.41			25.42	1 1.34	17.98	1 -2.32
334	9.48	1 0.55	68.80	3 0.84	15.64	1 0.50							44.52	2 0.98
													44.28	3 0.44

表5 A 試料の分析成績 (4)

試料 番号	水分		粗たん白質		粗脂肪		粗繊維		粗灰分		カルシウム		リン		SL(管理分析法)		SL(飼料分析基準)										
	分析値 (%)	No. z-score	分析値 (g(力価)/t)	No. z-score	分析値 (g(力価)/t)	No. z-score																					
335	11.15	1	-0.06	19.32	4	-0.73	7.16	1	-0.08	6.30	1	1.91															
336	11.29	1	0.57	19.01	2	-1.82	7.90	1	6.15	2.68	2	-0.37	6.00	1	-1.67	1.244	2	2.21	0.875	1	0.78						
337	10.17	1	-4.58							6.18	1	0.47	1.131	2	0.17							40.6	3	-0.89			
338	11.08	1	-0.39	19.81	2	0.98	7.13	1	-0.33	4.10	2	3.45	6.14	1	0.00	1.204	2	1.49	0.866	1	0.28						
339	11.17	1	0.02	19.63	3	0.35	7.27	2	0.84	3.02	2	0.53	6.18	1	0.47	1.091	2	-0.55	0.824	1	-2.07						
340	11.10	1	-0.29	20.11	3	2.03	7.10	1	-0.59	2.48	3	-0.91	6.18	1	0.47	1.055	2	-1.20	0.809	1	-2.92						
341	11.10	1	-0.29	19.62	1	0.31	7.09	1	-0.67	6.19	1	0.59															
342	10.97	1	-0.89	19.31	3	-0.77	7.25	1	0.67	3.67	2	2.29	6.09	1	-0.59	0.985	2	-2.47	0.815	1	-2.58	44.2	3	0.34			
343	11.46	1	1.36	19.67	3	0.49	7.40	2	1.93	2.57	2	-0.67	6.19	1	0.59	1.129	2	0.13	0.873	1	0.67						
346													1.124	1	0.04	0.857	1	-0.22									
347	11.01	1	-0.71							6.07	1	-0.83	1.156	2	0.62	0.729	1	-7.41				49.9	4	2.31			
348	10.73	1	-2.00															45.7	1	-0.02							
350	11.15	1	-0.06	19.40	2	-0.45	7.07	1	-0.84	2.73	2	-0.24	6.14	1	0.00	1.149	2	0.49	0.858	1	-0.16						
351				19.49	3	-0.14																					
356	11.30	1	0.62	19.45	4	-0.28	7.10	2	-0.59	2.33	3	-1.32	6.14	1	0.00	1.095	2	-0.47	0.864	1	0.16						
357	11.30	1	0.62	19.85	3	1.12	7.02	2	-1.26	3.27	3	1.21	6.23	1	1.07	1.187	2	1.18	0.880	1	1.06						
357				19.48	4	-0.17																					
358	11.32	1	0.71	19.59	4	0.21	7.16	1	-0.08	2.78	2	-0.10	6.13	1	-0.11	1.123	2	0.02	0.870	1	0.50						
359	9.92	1	-5.74	19.41	2	-0.42	7.15	1	-0.16	2.16	2	-1.78	6.18	1	0.47	1.013	2	-1.96	0.826	1	-1.96						
360	12.04	1	4.03	18.17	2	-4.76	7.22	1	0.42	4.19	2	3.69	6.07	1	-0.83												
361	9.76	1	-6.47	19.71	2	0.63	7.95	2	6.57	3.33	1	1.37	6.21	1	0.83	1.126	2	0.08	0.670	1	-10.73						
369	11.20	1	0.16	19.35	4	-0.63	7.27	1	0.84	2.70	2	-0.32	6.11	1	-0.35	1.123	2	0.02	0.858	1	-0.16	44.0	1	-0.80	42.4	3	-0.27
369																						41.7	4	-0.51			

注1: z-scoreの欄に下線を付したものは、絶対値が3以上のものである。  
 注2: 各試料のNo.欄は、分析法を示す。対応は以下のとおりである。

水分	粗たん白質	粗脂肪	粗繊維	粗灰分	カルシウム	リン
No. 分析法	No. 分析法	No. 分析法	No. 分析法	No. 分析法	No. 分析法	No. 分析法
1 飼料分析基準	1 硫酸標準液吸収法	1 飼料分析基準	1 静置法	1 飼料分析基準	1 シュウ酸アンモニウム法	1 飼料分析基準
2 その他	2 ホウ酸溶液吸収法	2 自動分析機	2 ろ過法	2 その他	2 原子吸光度法	2 その他
	3 燃焼法	3 その他	3 自動分析機		3 その他	
	4 自動分析機		4 その他			
	5 その他					

サリノマイシンナトリウム (SL)

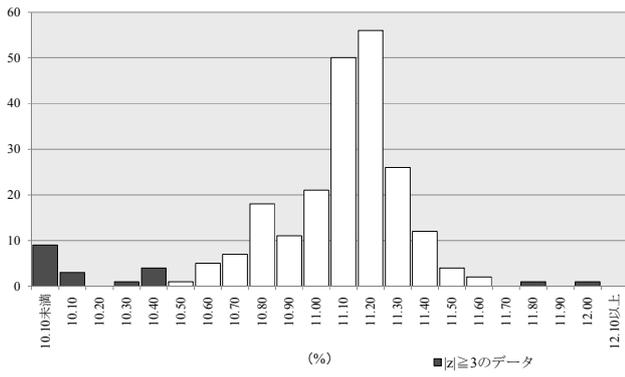
- No. 分析法
- 1 迅速定量法
  - 2 フローインジェクション法
  - 3 液体クロマトグラフ法
  - 4 微生物学的定量法

表 6 B, D 及び E 試料の分析成績 (4)

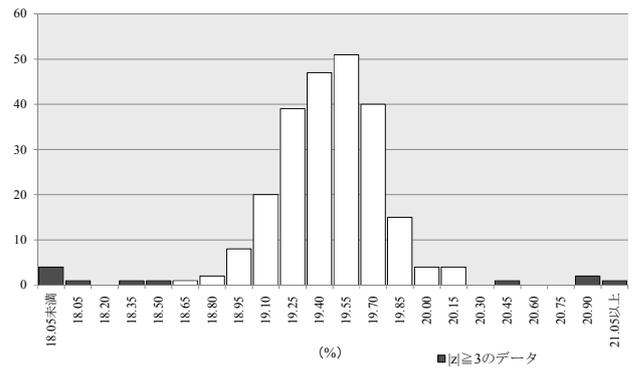
試料 番号	B試料						D試料						E試料					
	水分		粗たん白質		粗灰分		カドミウム		エトキシキン		銅		亜鉛		クエン酸モランテル		粗たん白質	
	分析値 (%)	No. z-score	分析値 (%)	No. z-score	分析値 (%)	No. z-score	分析値 (g/トン)	No. z-score	分析値 (g/トン)	No. z-score	分析値 (g/kg)	No. z-score	分析値 (g/kg)	No. z-score	分析値 (g/kg)	No. z-score	分析値 (%)	No. z-score
335	9.55	1 0.91	67.99	4 -0.13	15.55	1 -0.25											43.72	4 -0.82
336	9.61	1 1.22	66.59	2 -1.82	15.49	1 -0.75					25.29	1 1.11	23.91	1 3.47	6.0	1 0.00		
337	8.49	1 -4.47			15.88	1 2.52	1.65	2 1.97									43.69	2 -0.89
338	9.18	1 -0.96	68.17	2 0.08	15.57	1 -0.08											44.41	3 0.73
339	9.38	1 0.05	68.83	3 0.88	15.86	1 2.36					23.73	1 -1.56	20.42	1 0.05	6.0	1 0.00	44.15	3 0.73
340	9.37	1 0.00	69.68	3 1.91	15.67	1 0.75											45.08	3 2.25
341	9.26	1 -0.55	68.40	1 0.36	15.48	1 -0.84												
342	9.40	1 0.15	68.43	3 0.39	15.51	1 -0.59			242.2	1 -1.00					6.3	1 2.02	44.15	3 0.14
343	9.56	1 0.96	68.29	3 0.22	15.65	1 0.59					24.75	1 0.18	20.28	1 -0.07			44.25	3 0.37
346																		
347	9.31	1 -0.30			15.54	1 -0.33	1.88	2 4.35			21.37	1 -3.61	20.86	1 0.48	5.2	1 -5.39		
348	8.97	1 -2.03							248.2	1 -0.66	24.31	1 -0.56	19.97	1 -0.38	6.0	1 0.00		
350	9.41	1 0.20	67.73	2 -0.44	15.57	1 -0.08	1.60	1 1.45			24.69	1 0.08	20.38	1 0.01			43.90	2 -0.41
351			67.43	3 -0.81													43.81	3 -0.62
356	9.52	1 0.76	67.30	4 -0.96	15.49	1 -0.75					24.32	1 -0.54	19.54	1 -0.80			43.89	4 -0.44
357	9.48	1 0.55	69.25	3 1.39	15.64	1 0.50	1.55	2 0.93									44.10	3 0.03
357			68.29	4 0.22													44.02	4 -0.14
358	9.62	1 1.27	68.67	4 0.68	15.46	1 -1.01	1.46	2 0.00									44.24	4 0.35
359	8.36	1 -5.14	67.87	2 -0.27	15.55	1 -0.25					22.69	1 -3.33	18.39	1 -1.92			43.93	2 -0.35
360																		
361	8.12	1 -6.36	68.03	2 -0.08	15.75	1 1.43	1.57	2 1.14			23.82	1 -1.40	23.44	1 3.01				
369	9.42	1 0.25	67.75	4 -0.42	15.44	1 -1.18	1.44	2 -0.20	275.8	1 0.90	25.75	1 1.90	21.54	1 1.15	6.2	1 1.34	44.16	4 0.17
369																		

注1: z-scoreの欄に下線を付したものは、絶対値が3以上のものである。  
 注2: 各試料のNo.欄は、分析法を示す。対応は以下のとおりである

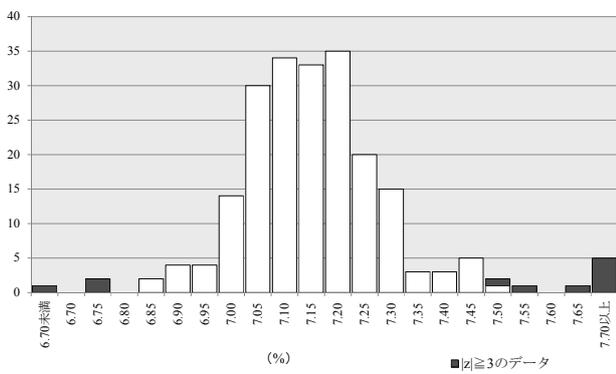
水分	粗たん白質	粗灰分	カドミウム	エトキシキン	銅	亜鉛
No. 分析法	No. 分析法	No. 分析法	No. 分析法	No. 分析法	No. 分析法	No. 分析法
1 飼料分析基準	1 硫酸標準液吸収法	1 飼料分析基準	1 溶媒抽出法	1 飼料分析基準	1 飼料分析基準	1 飼料分析基準
2 その他	2 ホウ酸溶液吸収法	2 その他	2 簡易法	2 その他	2 その他	2 その他
	3 燃焼法		3 その他			
	4 自動分析機					
	5 その他					
クエン酸モランテル						
No. 分析法						
1 飼料分析基準						
2 その他						



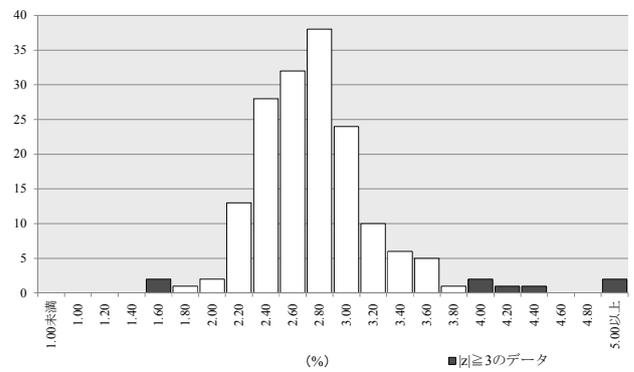
水分 (A 試料)



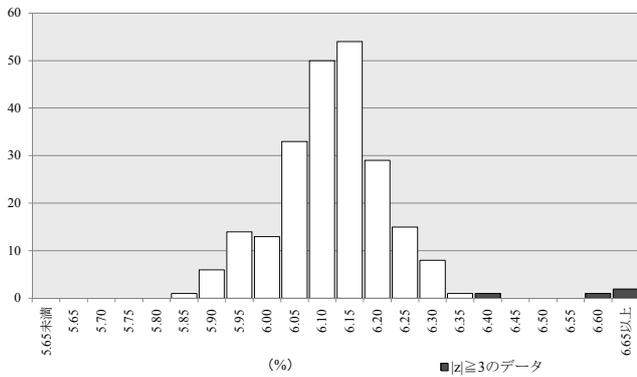
粗たん白質 (A 試料)



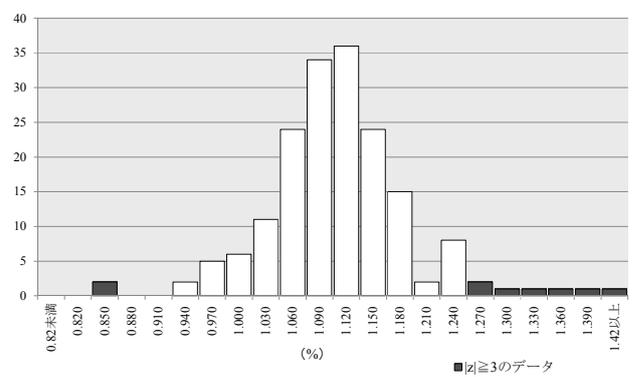
粗脂肪 (A 試料)



粗繊維 (A 試料)

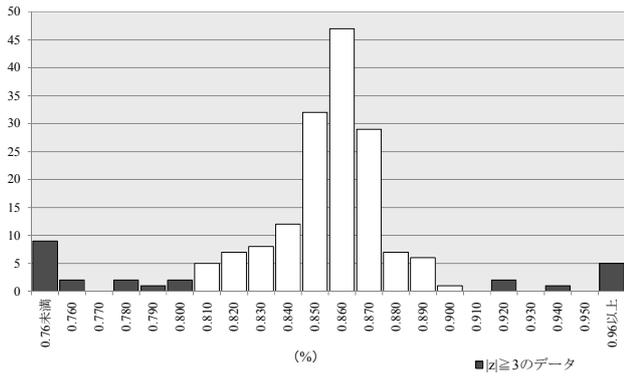


粗灰分 (A 試料)

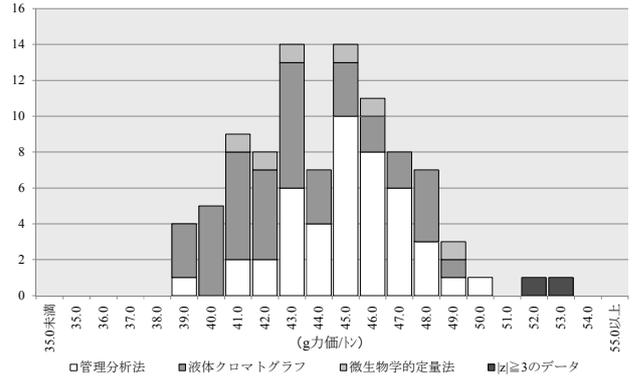


カルシウム (A 試料)

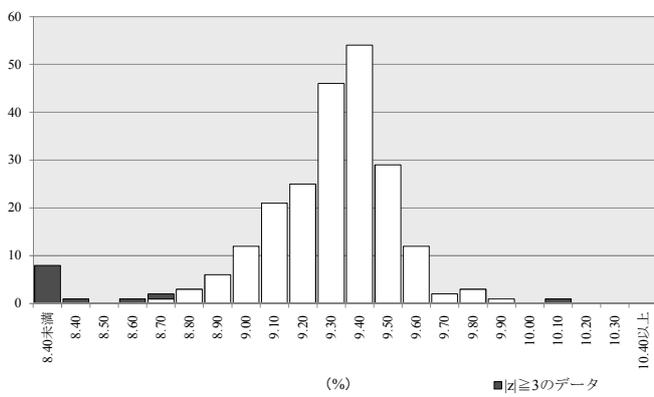
図1 分析成績のヒストグラム (1)



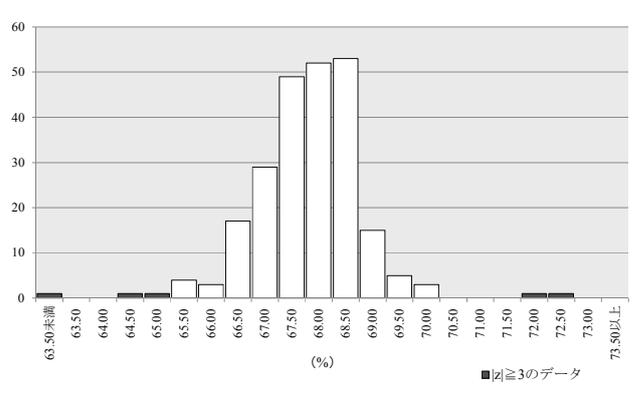
リン (A 試料)



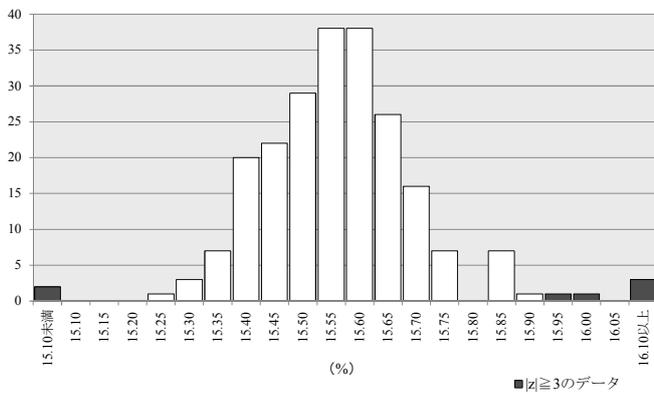
サリノマイシンナトリウム (A 試料)



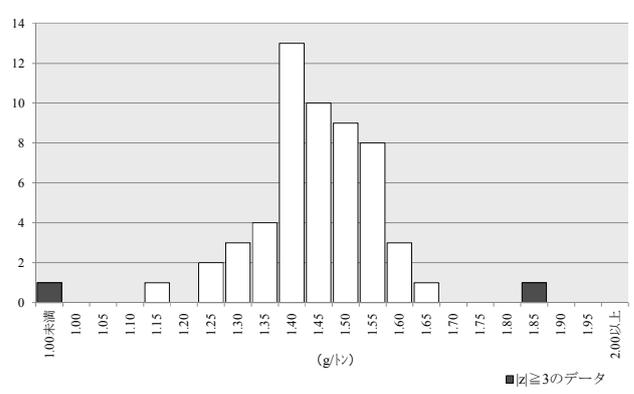
水分 (B 試料)



粗たん白質 (B 試料)

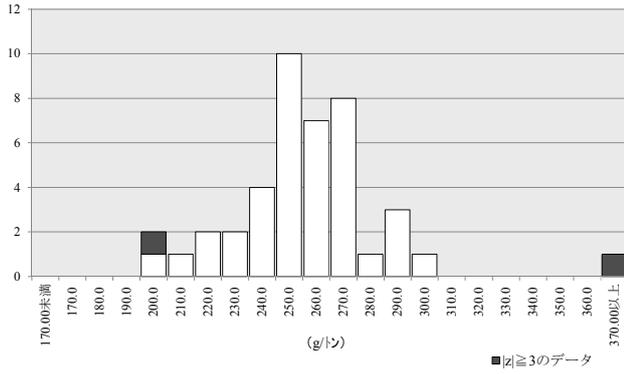


粗灰分 (B 試料)

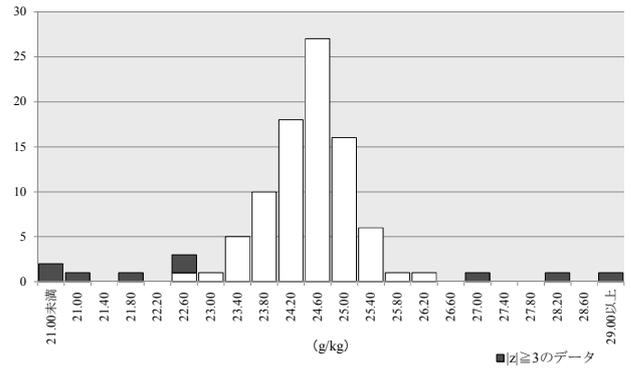


カドミウム (B 試料)

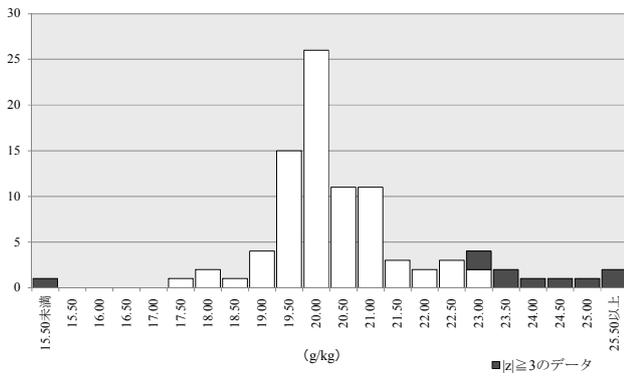
図 1 分析成績のヒストグラム (2)



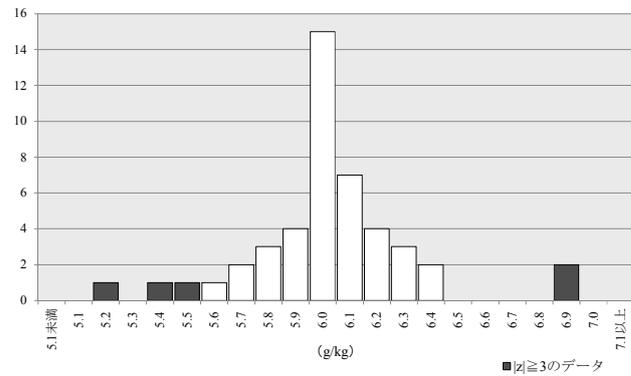
エトキシキン (B 試料)



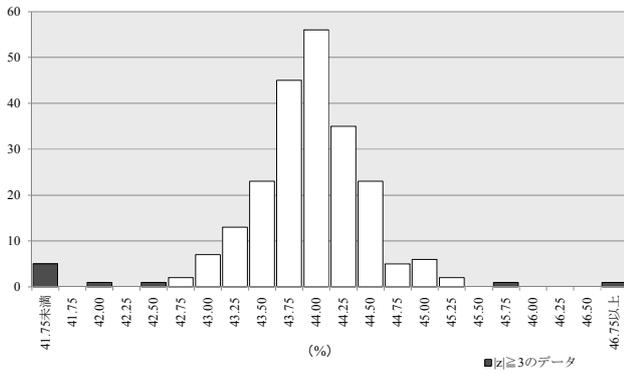
銅 (D 試料)



亜鉛 (D 試料)



クエン酸モランテル (D 試料)



粗たん白質 (E 試料)

図1 分析成績のヒストグラム (3)

表 7 A 試料の解析結果

区 分 <sup>注1</sup>	水分 (%)	粗たん白質 (%)	粗脂肪 (%)	粗繊維 (%)	粗灰分 (%)
データ数	232	242	214	168	228
1 中央値	11.17	19.53	7.17	2.82	6.14
1 下限境界値 <sup>注2</sup>	10.51	18.67	6.81	1.71	5.89
1 上限境界値	11.82	20.39	7.53	3.93	6.39
2 平均値	11.15	19.53	7.17	2.83	6.13
2 95%信頼区間	11.12~11.18	19.50~19.56	7.15~7.18	2.77~2.88	6.12~6.14

区 分	カルシウム (%)	リン (%)	SL(管理分析法) <sup>注3</sup> (g(力価)/トン)	SL(飼料分析基準) <sup>注4</sup> (g(力価)/トン)
データ数	176	178	46	47
1 中央値	1.122	0.861	45.8	43.2
1 下限境界値 <sup>注2</sup>	0.956	0.808	39.2	34.5
1 上限境界値	1.287	0.914	52.3	51.9
2 平均値	1.119	0.860	45.4	43.7
2 95%信頼区間	1.110~1.128	0.857~0.862	44.8~46.1	42.9~44.5

注 1 区分 1 の数値は報告された分析値から算出した結果であり、区分 2 は区分 1 で算出した z-スコアの絶対値が 3 以上の異常値を除外して算出した結果である。

2 z-スコアの絶対値が 3 の境界値である。

3 SL (管理分析法) は、サリノマイシンナトリウムの迅速定量法及びフローインジェクション法を集計した結果である。

4 SL (飼料分析基準) は、サリノマイシンナトリウムの液体クロマトグラフ法及び微生物学的定量法を集計した結果である。

表 8 B 試料の解析結果

区 分 <sup>注1</sup>	水分 (%)	粗たん白質 (%)	粗灰分 (%)	カドミウム (g/トン)	エトキシキン (g/トン)
データ数	227	235	222	56	42
1 中央値	9.37	68.10	15.58	1.46	259.9
1 下限境界値 <sup>注2</sup>	8.78	65.62	15.22	1.17	207.1
1 上限境界値	9.96	70.58	15.94	1.75	312.7
2 平均値	9.36	68.07	15.58	1.46	260.0
2 95%信頼区間	9.33~9.38	67.96~68.18	15.56~15.59	1.44~1.49	253.5~266.5

注 1 区分 1 の数値は報告された分析値から算出した結果であり、区分 2 は区分 1 で算出した z-スコアの絶対値が 3 以上の異常値を除外して算出した結果である。

2 z-スコアの絶対値が 3 の境界値である。

表 9 D 試料の解析結果

区 分 <sup>注1</sup>	銅 (g/kg)	亜鉛 (g/kg)	クエン酸モランテル (g/kg)
データ数	95	91	46
1 中央値	24.64	20.36	6.0
1 下限境界値 <sup>注2</sup>	22.89	17.29	5.6
1 上限境界値	26.39	23.43	6.4
2 平均值	24.66	20.50	6.0
2 95%信頼区間	24.54~24.78	20.27~20.72	6.0~6.1

注 1 区分 1 の数値は報告された分析値から算出した結果であり、区分 2 は区分 1 で算出した z-スコアの絶対値が 3 以上の異常値を除外して算出した結果である。

2 z-スコアの絶対値が 3 の境界値である。

表 10 E 試料の解析結果

区 分 <sup>注1</sup>	粗たん白質 (%)
データ数	226
1 中央値	44.09
1 下限境界値 <sup>注2</sup>	42.76
1 上限境界値	45.41
2 平均值	44.08
2 95%信頼区間	44.02~44.14

注 1 区分 1 の数値は報告された分析値から算出した結果であり、区分 2 は区分 1 で算出した z-スコアの絶対値が 3 以上の異常値を除外して算出した結果である。

2 z-スコアの絶対値が 3 の境界値である。

表 11 混合した原料の鑑定成績

原 料 名	混合割合 (%)	報 告 件 数					検出率 (%)	
		検 出				不検出		
		多量 <sup>注1</sup>	中量 <sup>注2</sup>	少量 <sup>注3</sup>	検出 <sup>注4</sup>			
とうもろこし	27	125	3	0	1	129	0	100
マ イ ロ	17	65	63	0	1	129	0	100
大 麦	10	29	80	7	1	117	12	91
ふ す ま	10	18	95	5	2	120	9	93
コーングルテンミール	9	0	61	42	1	104	25	81
大 豆 油 か す	8	5	92	15	1	113	16	88
や し 油 か す	8	0	30	18	0	48	81	37
魚 粉	3	0	11	94	1	106	23	82
アルファルファミール	3	0	30	77	1	108	21	84
炭酸カルシウム	3	0	1	116	2	119	10	92
食 塩	2	0	0	117	2	119	10	92

- 注 1 検出した原料の推定される混合割合が 15 %以上と報告されたもの。  
 2 検出した原料の推定される混合割合が 5 %以上~15 %未満と報告されたもの。  
 3 検出した原料の推定される混合割合が 1 %以上~5 %未満と報告されたもの。  
 4 検出原料名は報告されていたが、混合割合が未回答であったもの。

表 12 混合した原料以外に検出と報告されたもの

検出原料名	多量 <sup>注1</sup>	中量 <sup>注2</sup>	少量 <sup>注3</sup>	検出 <sup>注4</sup>	計
なたね油かす	0	20	20	1	41
小麦	4	27	5	0	36
米ぬか	0	11	12	1	24
リン酸カルシウム	0	0	22	0	22
ごま油かす	0	10	9	0	19
精白米	0	3	6	0	9
ビートパルプ	0	3	6	0	9
あまに油かす	0	1	7	0	8
チキンミール	0	1	7	0	8
コーングルテンフィード	0	1	5	0	6
ライ麦	0	3	1	0	4
カボック油かす	0	0	3	0	3
肉骨粉	0	0	3	0	3
サフラワー油かす	0	0	2	0	2
スクリーニングペレット	0	0	2	0	2
麦ぬか	0	2	0	0	2
えん麦	0	1	0	0	1
玄米	0	0	1	0	1
フェザーミール	0	0	1	0	1
ポークチキンミール	0	0	1	0	1
綿実油かす	0	1	0	0	1

- 注 1 検出した原料の推定される混合割合が 15 %以上と報告されたもの。  
 2 検出した原料の推定される混合割合が 5 %以上~15 %未満と報告されたもの。  
 3 検出した原料の推定される混合割合が 1 %以上~5 %未満と報告されたもの。  
 4 検出原料名は報告されていたが、混合割合が未回答であったもの。

## 8 各試料の解析結果及び鑑定成績

以下、分析法別の解析結果では、分析法別に分けたデータでロバスト法に基づく  $z$ -スコアを求め、その絶対値が 3 以上の分析値を異常値として棄却し、平均値、標準偏差及び相対標準偏差を求めた。

### 8.1 A 試料（幼すう育成用配合飼料）の解析結果

#### 1) 水分

分析値は 232 件の報告があり、ロバスト法による  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 19 件であった。これらを除いた平均値は 11.15 %で、この 95 %信頼区間は 11.12~11.18 %であった。分析法別の解析結果は、以下のとおりであった。

飼料分析基準では、230 件（うち  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 19 件）の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 11.15 %、0.20 %及び 1.8 %であった。

その他の方法では、定温乾燥機以外の機器を用いた場合等の 2 件の報告があった。

## 2) 粗たん白質

分析値は 242 件の報告があり、ロバスト法による  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 11 件であった。これらを除いた平均値は 19.53 %で、この 95 %信頼区間は 19.50~19.56 %であった。分析法別の解析結果は、以下のとおりであった。

飼料分析基準・硫酸標準液吸収法では、27 件（うち  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 4 件）の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 19.44 %、0.27 %及び 1.4 %であった。

飼料分析基準・ホウ酸溶液吸収法では、47 件（うち  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 2 件）の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 19.42 %、0.32 %及び 1.7 %であった。

飼料分析基準・燃焼法では、83 件（うち  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 3 件）の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 19.69 %、0.23 %及び 1.2 %であった。

自動分析機による方法では、85 件（うち  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 1 件）の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 19.45 %、0.19 %及び 1.0 %であった。

## 3) 粗脂肪

分析値は 214 件の報告があり、ロバスト法による  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 11 件であった。これらを除いた平均値は 7.17 %で、この 95 %信頼区間は 7.15~7.18 %であった。

分析法別の解析結果は、以下のとおりであった。

飼料分析基準では、144 件（うち  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 8 件）の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 7.19 %、0.11 %及び 1.6 %であった。

自動分析機による方法では、70 件（うち  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 3 件）の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 7.13 %、0.12 %及び 1.7 %であった。

## 4) 粗繊維

分析値は 168 件の報告があり、ロバスト法による  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 8 件であった。これらを除いた平均値は 2.83 %で、この 95 %信頼区間は 2.77~2.88 %であった。

分析法別の解析結果は、以下のとおりであった。

飼料分析基準・静置法では、20 件（うち  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 1 件）の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 2.97 %、0.26 %及び 8.7 %であった。

飼料分析基準・ろ過法では、96 件（うち  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 4 件）の報告

があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 2.71 %、0.32 %及び 11.9 %であった。

自動分析機による方法では、50 件（うち  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 4 件）の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 2.98 %、0.36 %及び 12.1 %であった。

その他の方法では、自動分析ではない粗繊維測定用機器を用いた方法等の 2 件の報告があった。

#### 5) 粗灰分

分析値は 228 件の報告があり、ロバスト法による  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 4 件であった。これらを除いた平均値は 6.13 %で、この 95 %信頼区間は 6.12~6.14 %であった。

分析法別の解析結果は、以下のとおりであった。

飼料分析基準では、225 件（うち  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 3 件）の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 6.13 %、0.09 %及び 1.5 %であった。

その他の方法では、自動分析装置による測定等の 3 件の報告があった。

#### 6) カルシウム

分析値は 176 件の報告があり、ロバスト法による  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 9 件であった。これらを除いた平均値は 1.119 %で、この 95 %信頼区間は 1.110~1.128 %であった。

分析法別の解析結果は、以下のとおりであった。

飼料分析基準・シュウ酸アンモニウム法では、30 件（うち  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 1 件）の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 1.176 %、0.101 %及び 8.6 %であった。

飼料分析基準・原子吸光光度法では、139 件（うち  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 2 件）の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 1.116 %、0.058 %及び 5.2 %であった。

その他の方法では、ICP による測定、キレート滴定法等の 7 件の報告があった。

#### 7) リン

分析値は 178 件の報告があり、ロバスト法による  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 23 件であった。これらを除いた平均値は 0.860 %で、この 95 %信頼区間は 0.857~0.862 %であった。

分析法別の解析結果は、以下のとおりであった。

飼料分析基準では、174 件（うち  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 20 件）の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 0.860 %、0.018 %及び 2.1 %であった。

その他の方法では、ICP による測定、モリブデン青吸光光度法等の 4 件の報告があった。

#### 8) サリノマイシンナトリウム

管理分析法では、分析値はサリノマイシンナトリウム無添加試料（未配布）のブランク値による補正が必要であるが、今回は補正されない分析値の報告であるため、飼料分析基準による分析値との間に差が生じる可能性があったことから、これらを分離して集計した。

管理分析法（迅速定量法及びフローインジェクション法）では、分析値は 46 件の報告があり、ロバスト法による  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 2 件であった。これらを除いた平均値は 45.4 g(力価)/トンで、この 95 %信頼区間が 44.8~46.1 g(力価)/トンであった。

飼料分析基準（液体クロマトグラフ法及び微生物学的定量法）では、分析値は 47 件の報告があり、ロバスト法による  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものはなかった。その平均値は 43.7 g(力価)/トンで、この 95 %信頼区間は 42.9~44.5 g(力価)/トンであった。

分析法別の解析結果は、以下のとおりであった。

管理分析法・迅速定量法では、36 件（うち  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 1 件）の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 45.7 g(力価)/トン、2.7 g(力価)/トン及び 5.9 %であった。

管理分析法・フローインジェクション法では、10 件の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 45.1 g(力価)/トン、1.4 g(力価)/トン及び 3.2 %であった。

飼料分析基準・液体クロマトグラフ法では、41 件の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 43.5 g(力価)/トン、2.8 g(力価)/トン及び 6.3 %であった。

飼料分析基準・微生物学的定量法では、6 件の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 44.8 g(力価)/トン、3.0 g(力価)/トン及び 6.8 %であった。

## 8.2 B 試料（魚粉）の解析結果

### 1) 水分

分析値は 227 件の報告があり、ロバスト法による  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 12 件であった。これらを除いた平均値は 9.36 %で、この 95 %信頼区間は 9.33~9.38 %であった。

分析法別の解析結果は、以下のとおりであった。

飼料分析基準では、225 件（うち  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 12 件）の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 9.36 %、0.20 %及び 2.1 %であった。

その他の方法では、定温乾燥機以外の機器を用いた場合等の 2 件の報告があった。

### 2) 粗たん白質

分析値は 235 件の報告があり、ロバスト法による  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 5 件であった。これらを除いた平均値は 68.07 %で、この 95 %信頼区間は 67.96~68.18 %であった。

分析法別の解析結果は、以下のとおりであった。

飼料分析基準・硫酸標準液吸収法では、27 件の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 67.58 %、1.02 %及び 1.5 %であった。

飼料分析基準・ホウ酸溶液吸収法では、43 件（うち  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 1 件）の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 67.67 %、0.70 %及び 1.0 %であった。

飼料分析基準・燃焼法では、79 件（うち  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 10 件）の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 68.76 %、0.38 %及び 0.6 %であった。

自動分析機による方法では、86 件（うち  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 1 件）の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 67.86 %、0.58 %及び 0.9 %であった。

### 3) 粗灰分

分析値は 222 件の報告があり、ロバスト法による  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 7 件であった。これらを除いた平均値は 15.58 %で、この 95 %信頼区間は 15.56~15.59 %であった。

分析法別の解析結果は、以下のとおりであった。

飼料分析基準では、219 件（うち  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 6 件）の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 15.58 %、0.12 %及び 0.7 %であった。

その他の方法では、自動分析装置による測定等の 3 件の報告があった。

### 4) カドミウム

分析値は 56 件の報告があり、ロバスト法による  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 2 件であった。これらを除いた平均値は 1.46 g/トンで、この 95 %信頼区間は 1.44~1.49 g/トンであった。

分析法別の解析結果は、以下のとおりであった。

飼料分析基準・溶媒抽出法では、14 件の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 1.52 g/トン、0.08 g/トン及び 5.2 %であった。

飼料分析基準・簡易法では、39 件（うち  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 3 件）の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 1.45 g/トン、0.07 g/トン及び 5.0 %であった。

その他の方法では、ICP による測定等の 3 件の報告があった。

### 5) エトキシキン

分析値は 42 件の報告があり、ロバスト法による  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 2 件であった。これらを除いた平均値は 260.0 g/トンで、この 95 %信頼区間は 253.5~266.5 g/トンであった。

分析値はすべて飼料分析基準による報告であり、その標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 20.9 g/トン及び 8.1 %であった。

## 8.3 D 試料（ほ乳期子豚育成用プレミックス）の解析結果

### 1) 銅

分析値は 95 件の報告があり、ロバスト法による  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 9 件であった。これらを除いた平均値は 24.66 g/kg で、この 95 %信頼区間は 24.54~24.78 g/kg であった。

分析法別の解析結果は、以下のとおりであった。

飼料分析基準では、92 件（うち  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 9 件）の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 24.69 g/kg、0.55 g/kg 及び 2.2 %であった。

その他の方法では、ICP による測定等の 3 件の報告があった。

## 2) 亜鉛

分析値は 91 件の報告があり、ロバスト法による  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 10 件であった。これらを除いた平均値は 20.50 g/kg で、この 95 %信頼区間は 20.27~20.72 g/kg であった。

分析法別の解析結果は、以下のとおりであった。

飼料分析基準では、88 件（うち  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 7 件）の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 20.58 g/kg, 1.12 g/kg 及び 5.4 %であった。

その他の方法では、ICP による測定等の 3 件の報告があった。

## 3) クエン酸モランテル

分析値は 46 件の報告があり、ロバスト法による  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 5 件であった。これらを除いた平均値は 6.0 g/kg で、この 95 %信頼区間は 6.0~6.1 g/kg であった。

分析値はすべて飼料分析基準による報告であり、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 0.2 g/kg 及び 3.0 %であった。

## 8.4 E 試料（大豆油かす）の解析結果

### 1) 粗たん白質

分析値は 226 件の報告があり、ロバスト法による  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 9 件であった。これらを除いた平均値は 44.08 %で、この 95 %信頼区間は 44.02~44.14 %であった。

分析法別の解析結果は、以下のとおりであった。

飼料分析基準・硫酸標準液吸収法では、26 件（うち  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 1 件）の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 43.90 %, 0.44 %及び 1.0 %であった。

飼料分析基準・ホウ酸溶液吸収法では、40 件の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 43.87 %, 0.51 %及び 1.2 %であった。

飼料分析基準・燃焼法では、80 件（うち  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 4 件）の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 44.37 %, 0.38 %及び 0.9 %であった。

自動分析機による方法では、80 件（うち  $z$ -スコアの絶対値が 3 以上のものは 5 件）の報告があり、その平均値、標準偏差及び相対標準偏差はそれぞれ 43.97 %, 0.32 %及び 0.7 %であった。

## 8.5 C 試料（鑑定用試料）の鑑定成績

混合した 11 種類の原料の検出とその混合割合の推定を行った。原料混合割合の推定は、15 %以上を多量、5 %以上~15 %未満を中量、1 %以上~5 %未満を少量として報告を求めた。

129 件の報告があり、混合した原料以外に検出と報告があった原料は 21 種類であった。

混合した原料について、とうもろこし（混合割合 27 %）は、129 件（検出率 100 %）の報告があり、原料混合割合の推定の内訳は多量が 125 件、中量が 3 件、未回答が 1 件であった。

マイロ（混合割合 17 %）は、129 件（検出率 100 %）の報告があり、その内訳は多量が 65

件、中量が 63 件、未回答が 1 件であった。

大麦（混合割合 10 %）は、117 件（検出率 91 %）の報告があり、その内訳は多量が 29 件、中量が 80 件、少量が 7 件、未回答が 1 件であった。

ふすま（混合割合 10 %）は、120 件（検出率 93 %）の報告があり、その内訳は多量が 18 件、中量が 95 件、少量が 5 件、未回答が 2 件であった。

コーングルテンミール（混合割合 9 %）は、104 件（検出率 81 %）の報告があり、その内訳は中量が 61 件、少量が 42 件、未回答が 1 件であった。

大豆油かす（混合割合 8 %）は、113 件（検出率 88 %）の報告があり、その内訳は多量が 5 件、中量が 92 件、少量が 15 件、未回答が 1 件であった。

やし油かす（混合割合 8 %）は、48 件（検出率 37 %）の報告があり、その内訳は中量が 30 件、少量が 18 件であった。

魚粉（混合割合 3 %）は、106 件（検出率 82 %）の報告があり、その内訳は中量が 11 件、少量が 94 件、未回答が 1 件であった。

アルファルファミール（混合割合 3 %）は、108 件（検出率 84 %）の報告があり、その内訳は中量が 30 件、少量が 77 件、未回答が 1 件であった。

炭酸カルシウム（配合割合 3 %）は、119 件（検出率 92 %）の報告があり、その内訳は中量が 1 件、少量が 116 件、未回答が 2 件であった。

食塩（混合割合 2 %）は、119 件（検出率 92 %）の報告があり、その内訳は少量が 117 件、未回答が 2 件であった。

誤って検出された原料としては、なたね油かすが最も多く、41 件の報告があった。次いで、小麦が 36 件、米ぬかが 24 件、りん酸カルシウムが 22 件、ごま油かすが 19 件と続いた。

## 文 献

- 1) Michael Thompson, Stephen L.R.Ellison, Roger Wood: The international harmonized protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories, Pure Appl. Chem., 78(1), 145-196 (2006).

(参考)

## 平成25年度 飼料等の共通試料による分析鑑定実施要領

### 1. 目的

飼料検査指導機関、飼料・飼料添加物製造等業者、民間分析機関等を対象に、飼料等の共通試料による分析鑑定を行うことにより、分析及び鑑定技術の維持向上を図り、併せて分析誤差を把握し、飼料等の適正な製造及び品質管理の実施に資する。

### 2. 共通試料の内容

- A 試料…幼すう育成用配合飼料
- B 試料…魚粉
- C 試料…鑑定用飼料原料混合試料
- D 試料…ほ乳期子豚育成用プレミックス
- E 試料…大豆油かす

### 3. 分析鑑定項目

- A 試料・・・水分、粗たん白質、粗脂肪、粗繊維、粗灰分、カルシウム、リン及びサリノマイシンナトリウム
- B 試料・・・水分、粗たん白質、粗灰分、カドミウム及びエトキシキン
- C 試料・・・飼料原料の検出及び混合割合の推定
- D 試料・・・銅、亜鉛及びクエン酸モランテル
- E 試料・・・粗たん白質

### 4. 分析鑑定要領

- (1) 試料の分析鑑定方法は、「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)に定める方法及び「飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令の一部を改正する省令等の施行について」(昭和53年9月5日付け53畜B第2173号、53水振第464号農林水産省畜産局長・水産庁長官連名通知)の別記にあるサリノマイシンナトリウム又はモネンシンナトリウムを含む飼料の管理方法に準拠してください。

なお、参考までにこれらの分析法の抜粋(飼料分析基準等(抜粋))を添付します。

また、各分析法の末尾に、試料採取量等の一例を記載しましたので、参考として下さい。

- (2) 上記3に示した分析鑑定項目のうち、各試験室において実施可能な項目(全項目でなくても可)について分析及び鑑定を行い、報告してください。
- (3) B試料のエトキシキンの分析に用いる標準品は、今回配布したものを使用してください。(当該標準品は冷蔵庫に保管してください。)

- (4) 共通試料は冷蔵庫に保管し、使用する際には、常温に戻してください。
- (5) 複数の分析法（例えば、粗たん白質におけるケルダール法及び燃焼法）によって分析した場合は、それぞれの分析値を報告してください。

#### 5. 分析鑑定成績の報告

- (1) 各分析値及び鑑定結果については、別添の「第 38 回飼料等の共通試料による分析鑑定結果報告書」に記入し、報告してください。
- (2) 分析値は、水分、粗たん白質、粗脂肪、粗繊維、粗灰分、カルシウム及びリンについては％で、サリノマイシンナトリウムについては g(力価)/トンで、銅、亜鉛及びクエン酸モランテルについては g/kg で、カドミウム、エトキシキンについては g/トンの単位で表記してください。

水分、粗たん白質、粗脂肪、粗繊維、粗灰分、カドミウム、銅及び亜鉛の分析値は、小数点以下第 3 位を四捨五入して同第 2 位まで、カルシウム及びリンの分析値は小数点以下第 4 位を四捨五入して同第 3 位まで、サリノマイシンナトリウム、エトキシキン及びクエン酸モランテルの分析値は小数点以下第 2 位を四捨五入して同第 1 位まで記入してください。

分析法及び用いた分析機器等は、備考欄の該当番号に○印を付し、その詳細を報告書様式に従い、記入してください。

また、分析上の特記事項等があれば、その旨も記入してください。

水分について、定温乾燥機を用いて飼料分析基準の条件により測定した場合には、「1. 飼料分析基準」を選択してください。定温乾燥機以外の機器を用いた場合や、定温乾燥機を用いたが、加熱温度、時間が飼料分析基準の条件と異なる場合は、「2. その他の方法」を選択し、用いた機器のメーカー、測定条件等の詳細を記入してください。

なお、クエン酸モランテル、エトキシキン及びサリノマイシンナトリウム（液体クロマトグラフ法）を分析した場合には、標準液及び試料溶液のクロマトグラム各 1 葉を添付してください。

- (3) 鑑定結果は、検出した原料名を報告書（5）の下欄の検出原料名の選択肢から選んで検出原料名欄に記入し、推定される混合割合は、多量（15％以上）、中量（5％以上15％未満）及び少量（1％以上5％未満）の欄に○印を付してください。1％未満と推定される検出物は、検出原料名欄には記入しないでください。なお、C 試料には 11 種類の原料を混合しています。

検出方法は、該当する番号に○印を付してください。（複数回答可）

- (4) 分析の一部を別の試験室等で実施した場合は、その試験室名を備考欄に記入してください。
- (5) 報告書の提出期限及び送付先

各地方管轄の独立行政法人農林水産省安全技術センターにお問い合わせください。

## 飼料等の共通試料による分析鑑定結果報告書 (様式)

試験室名 \_\_\_\_\_

担当者 \_\_\_\_\_

TEL \_\_\_\_\_

## (1) A 試料 分析結果

試料番号 \_\_\_\_\_

分析成分名	分析値	備 考
水分	(%)	1. 飼料分析基準 2. その他の方法 ( )
粗たん白質	(%)	1. 飼料分析基準 (ケルダール法 (硫酸標準液吸収法)) 2. 飼料分析基準 (ケルダール法 (ホウ酸溶液吸収法)) 3. 飼料分析基準 (燃焼法) (メーカー) (型式) 4. 自動分析機 (メーカー) (型式) 5. その他の方法 ( )
粗脂肪	(%)	1. 飼料分析基準 2. 自動分析機 (メーカー) (型式) 3. その他の方法 ( )
粗繊維	(%)	1. 飼料分析基準 (静置法) 2. 飼料分析基準 (ろ過法) 3. 自動分析機 (メーカー) (型式) 4. その他の方法 ( )
粗灰分	(%)	1. 飼料分析基準 2. その他の方法 ( )
カルシウム	(%)	1. 飼料分析基準 (シュウ酸アンモニウム法) 2. 飼料分析基準 (原子吸光光度法) 3. その他の方法 ( )
リン	(%)	1. 飼料分析基準 2. その他の方法 ( )
サリノマイ シンナトリ ウム	(g(カ匁)/トン)	1. 迅速定量法 2. 迅速定量法 (フローインジェクション法) 3. 液体クロマトグラフ法 (g(カ匁)/トン) LC (メーカー名) (型式) 検出器 (メーカー名) (型式) カラム (メーカー名) (型式) (内径 mm, 長さ mm, 粒度 $\mu$ m) 4. 微生物学的定量法 (g(カ匁)/トン)

## (2) B 試料 分析結果

試料番号 \_\_\_\_\_

分析成分名	分析値	備 考
水分	(%)	1. 飼料分析基準 2. その他の方法 ( )
粗たん白質	(%)	1. 飼料分析基準 (ケルダール法 (硫酸標準液吸収法)) 2. 飼料分析基準 (ケルダール法 (ホウ酸溶液吸収法)) 3. 飼料分析基準 (燃焼法) (メーカー) (型式) 4. 自動分析装置 (メーカー) (型式) 5. その他の方法 ( )
粗灰分	(%)	1. 飼料分析基準 2. その他の方法 ( )
カドミウム	(g/ト)	1. 飼料分析基準 (溶媒抽出法) 2. 飼料分析基準 (簡易法) 3. その他の方法 ( )
エトキシキン	(g/ト)	1. 飼料分析基準 測定条件 LC (メーカー名) (型式) 検出器 (メーカー名) (型式) カラム (メーカー名) (型式) (内径 mm, 長さ mm, 粒度 $\mu\text{m}$ ) 2. その他の方法 ( )

## (3) D 試料 分析結果

試料番号 \_\_\_\_\_

分析成分名	分析値	備 考
銅	(g/kg)	1. 飼料分析基準 2. その他の方法 ( )
亜鉛	(g/kg)	1. 飼料分析基準 2. その他の方法 ( )
クエン酸 モランテル	(g/kg)	1. 飼料分析基準 測定条件 LC (メーカー名) (型式) 検出器 (メーカー名) (型式) カラム (メーカー名) (型式) (内径 mm, 長さ mm, 粒度 $\mu\text{m}$ ) 2. その他の方法 ( )

## (4) E 試料 分析結果

分析成分名	分析値	備 考
粗たん白質	(%)	1. 飼料分析基準（ケルダール法（硫酸標準液吸収法）） 2. 飼料分析基準（ケルダール法（ホウ酸溶液吸収法）） 3. 飼料分析基準（燃焼法）（メーカー）（型式） 4. 自動分析装置（メーカー）（型式） 5. その他の方法（ ）

## (5) C 試料 鑑定結果

試料番号 \_\_\_\_\_

検出原料名	混合割合	検出方法
	多量 中量 少量	1:肉眼 2:酸処理 3:アルカリ処理 4:その他( )
	多量 中量 少量	1:肉眼 2:酸処理 3:アルカリ処理 4:その他( )
	多量 中量 少量	1:肉眼 2:酸処理 3:アルカリ処理 4:その他( )
	多量 中量 少量	1:肉眼 2:酸処理 3:アルカリ処理 4:その他( )
	多量 中量 少量	1:肉眼 2:酸処理 3:アルカリ処理 4:その他( )
	多量 中量 少量	1:肉眼 2:酸処理 3:アルカリ処理 4:その他( )
	多量 中量 少量	1:肉眼 2:酸処理 3:アルカリ処理 4:その他( )
	多量 中量 少量	1:肉眼 2:酸処理 3:アルカリ処理 4:その他( )
	多量 中量 少量	1:肉眼 2:酸処理 3:アルカリ処理 4:その他( )
	多量 中量 少量	1:肉眼 2:酸処理 3:アルカリ処理 4:その他( )
	多量 中量 少量	1:肉眼 2:酸処理 3:アルカリ処理 4:その他( )
	多量 中量 少量	1:肉眼 2:酸処理 3:アルカリ処理 4:その他( )

多量…15%以上、中量…5%以上 15%未満、少量…1%以上 5%未満

注) 11 種類の原料を混合しています。

## 検出原料名の選択肢

大麦	えん麦	ライ麦	小麦	小麦粉
とうもろこし	マイロ	玄米	精白米	キャッサバ
ふすま	麦ぬか	米ぬか	ビールかす	コーングルテンフィード
スクリーニングペレット	ホミニーフード	コーングルテンミール	あまに油かす	サフラワー油かす
なたね油かす	綿実油かす	やし油かす	ごま油かす	大豆油かす
カポック油かす	肉骨粉	フェザーミール	チキンミール	魚粉
アルファルファミール	ビートパルプ	かに殻粉末	かき殻	ゼオライト
食塩	炭酸カルシウム	りん酸カルシウム		

- 
- (6) 来年度の実施項目等「飼料等の共通試料による分析鑑定」に関して、意見、質問、要望等があれば記入してください。(別紙でも可)

**調査資料****1 飼料中の有害物質等のモニタリング等の結果について（平成 25 年度）****Monitoring Results of Undesirable Substances in Feeds (in the Fiscal Year 2013)**

肥飼料安全検査部 飼料鑑定第一課  
飼料鑑定第二課

**1 目 的**

飼料等の使用が原因となって、有害畜産物（家畜等の肉、乳、その他の食用に供される生産物で人の健康をそこなうおそれがあるもの）が生産され、又は家畜等に被害が生じることにより畜産物の生産が阻害されることを防止する見地から、飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律<sup>1)</sup>（以下「飼料安全法」という。）第3条第1項の規定に基づき、飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令<sup>2)</sup>（以下「成分規格等省令」という。）並びに飼料の有害物質の指導基準<sup>3)</sup>、ゼアラレノン<sup>4)</sup>及びデオキシニバレノール<sup>5)</sup>に係る通知（以下「指導基準等通知」という。）において、成分規格等省令で規定されている飼料中の有害物質等の成分規格（以下「省令基準値」という。）及び指導基準等通知で規定されている飼料中の有害物質等の指導基準値及び暫定許容値（以下「指導基準値等」という。）が定められている。

（独）農林水産消費安全技術センター（以下「FAMIC」という。）では、飼料分析基準<sup>6)</sup>等に規定された方法を用いて、省令基準値及び指導基準値等の適合状況のモニタリング及び省令基準値、指導基準値等が設定されていない有害物質等の含有実態を把握するためのサーベイランス（以下「モニタリング等」という。）を実施している。今回、平成 25 年度のモニタリング等の結果を取りまとめたので報告する。

**2 方 法****2.1 モニタリング等の対象試料**

平成 25 年 4 月から平成 26 年 3 月までの間に、FAMIC 肥飼料安全検査部、札幌センター、仙台センター、名古屋センター、神戸センター及び福岡センターが、飼料安全法第 57 条の規定に基づき、単体飼料工場、配混合飼料工場、港湾サイロ等に対して立入検査を実施した際に採取した飼料等を対象とした。

モニタリング等の対象とした試料及び点数を表 1 に示した。

**2.2 モニタリング等の対象成分**

モニタリング等の対象成分の選定にあたっては、飼料の原産国、過去の検出実態等を勘案するとともに、配混合飼料の対象家畜等、使用されている原料等にも留意した。

## 1) 有害物質

## i かび毒及びエンドファイト産生毒素（19 成分）

## ア 指導基準値等が定められているもの（3 成分）

① アフラトキシン B<sub>1</sub>

指導基準値が定められている配混合飼料及びこれに汚染されている可能性がある単体飼料を対象とした。

## ② デオキシニバレノール

暫定許容値が定められている家畜等用飼料及びこれに汚染されている可能性がある単体飼料を対象とした。

## ③ ゼアラレノン

暫定許容値が定められている家畜用飼料及びこれに汚染されている可能性のある単体飼料を対象とした。

## イ ア以外のかび毒等（16 成分）

飼料分析基準に方法が規定されている以下のかび毒 14 成分及びエンドファイト産生毒素 2 成分を対象とした。

かび毒：アフラトキシン B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> 及び G<sub>2</sub>, ステリグマトシスチン, T-2 トキシン, HT-2 トキシン, ネオソラニオール, ニバレノール, フザレノン-X, フモニシン B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> 及び B<sub>3</sub>, オクラトキシン A 並びにシトリニン

エンドファイト産生毒素：エルゴバリン及びロリトレム B

## ii 重金属（4 成分）

指導基準値が定められている飼料中のカドミウム, 鉛, 水銀及びヒ素を対象とした。

## iii 農薬（142 成分）

## ア 省令基準値が定められているもの（39 成分）

成分規格等省令別表第 1 の 1 の (1) に省令基準値が定められている農薬（60 成分）のうちの 39 成分を対象とした。

## イ ア以外の農薬（103 成分）

飼料分析基準に方法が規定されている農薬のうちの 103 成分を対象とした。

## iv その他の有害物質（4 成分）

指導基準値が定められているメラミンのほか, 指導基準値等が定められていないが, 飼料中に含まれて問題となった以下の有害物質 3 成分を対象とした。

## ア 硝酸態窒素

## イ 亜硝酸態窒素

## ウ ヒスタミン

## 2) BSE 発生防止に係る成分

## i 動物由来たん白質

成分規格等省令別表第 1 の 2 に規定された牛等を対象とする飼料, 動物由来たん白質又は動物由来たん白質を原料とする飼料中のほ乳動物等由来たん白質を対象とした。

## ii 不溶性不純物

成分規格等省令別表第 1 の 5 の (1) に規定された動物性油脂及び特定動物性油脂を対象とした。



表 1 モニタリング等を実施した試料及び点数（続き）

モニタリング等の対象試料	種 類	点数	項目別の試料点数										
			有 害 物 質			BSE発生防止に係る試験			病原微生物				
			かび毒	重金属	農薬	硝酸態窒素・亜硝酸態窒素	ヒスタミン	メラミン	動物由来たん白質				
						顕微鏡鑑定	ELISA試験	PCR試験	不溶性不純物	サルモネラ			
動物 質性 飼料	魚粉	80		26			11	18	77	77	77		63
	チキンミール	27		2					27	27	27		19
	フェザーミール	15							15	15	15		13
	豚肉骨粉	2		2						2	2		2
	原料混合肉骨粉	24		1						24	24		16
	豚血しょうたん白	1							1	1	1		1
	蒸製骨粉	1								1	1		
	カニ殻粉末	1							1	1	1		
	イカ内臓溶解液	2							2	2	2		
	サケ頭部残滓凍結乾燥物	1							1	1	1		
魚すり身	1							1	1	1			
小 計	155		31				11	18	125	152	152		114
乾 牧 草	アルファルファ	10			10	7							
	スーダングラス	11			11	8							
	チモシー	6			6								
	オーツヘイ	5			5								
	クレイングラス	2			2								
	パミューダグラス	2			2								
	ライグラス	2	1		2								
	稲わら	2		2									
	大麦わら	1			1								
	フェスク	1			1								
小 計	42	1	2	40	15								
そ の 他	海藻ミール	1							1	1	1		
	菓子くず												
	小麦グルテン酵素分解物	1			1								1
	飼料用酵母	1							1	1	1		
	パイナップルかす	1			1								
	ビートバルブ	3	1		3								
	フミン酸	1							1	1	1		
	綿実	2			2								
	やし中果皮	1	1										
	複合製剤	1							1	1	1		
動物性油脂	76											76	
特定動物性油脂	1											1	
小 計	89	3		7					4	4	4		77
合 計	1,124	505	192	514	15	11	32	365	368	368		77	306

## 2.3 サンプルング方法等

## 1) 有害物質及び病原微生物の分析用試料

試料は、飼料等検査実施要領<sup>7)</sup>により、採取、保管した。とうもろこし及び牧草は、飼料中の農薬の検査に係る通知<sup>8)</sup>により、採取した。

分析用試料は、飼料分析基準第2章の規定により調製した。

## 2) 動物由来たん白質等の分析用試料

試料は、飼料分析基準第16章第1節の規定により、採取、保管及び調製した。

## 3) 不溶性不純物の分析用試料

基準油脂分析試験法<sup>9)</sup>の試料採取方法に準拠した次の方法<sup>10)</sup>により採取した。

動物性油脂を積み込んだタンクローリー車の上部のふたを開け、ポンプサンプラー（容量約 300 mL）を用いてハッチの上部、中部及び下部の3箇所から動物性油脂を採取し、これらを混合、かくはんして試料とした。

## 2.4 試験方法

## 1) 有害物質

## i かび毒及びエンドファイト産生毒素

飼料分析基準第 5 章に規定された方法により実施した。

ii 重金属

飼料分析基準第 4 章第 1 節に規定された方法により実施した。

iii 農薬

飼料分析基準第 6 章に規定された方法により実施した。

iv 硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素

飼料分析基準第 4 章第 2 節 3 に規定された方法により実施した。

v メラミン

飼料分析基準第 7 章 7.1 に規定された方法により実施した。

vi ヒスタミン

飼料分析基準第 7 章 5.1 に規定された方法により実施した。

2) 飼料への動物由来たん白質等の混入確認

以下の 3 法を併用して実施した。なお、混入確認の結果は、牛を対象とする飼料の抽出検査の取扱いに係る事務連絡<sup>11)</sup>の判定手順（例）（以下「混入確認判定手順」という。）に基づき、総合的に判定した。

i 顕微鏡鑑定

反すう動物用飼料への反すう動物等由来たん白質の混入防止に関するガイドラインに係る通知<sup>12)</sup>の別紙「配合飼料工場における肉骨粉等の鑑定方法について」に基づき、図 1 の方法により、肉骨粉由来組織断片の有無を確認した。

ii ELISA 試験

飼料分析基準第 17 章第 2 節 1.1 の(3)に規定された方法により実施した。

iii PCR 試験

魚粉等及び牛用配混合飼料は、飼料分析基準第 16 章第 2 節 1.1 に規定された方法により、ほ乳動物由来 DNA を対象に混入の有無を確認した。チキンミール等、ポークミール等及び輸入飼料の一部は、飼料分析基準第 16 章第 2 節 1.2 に規定された方法により、反すう動物由来 DNA を対象に混入の有無を確認した。なお、乳製品等が原料として使用又は混入の可能性のある試料は、飼料分析基準第 16 章第 2 節 1.1 付記に規定された方法により、乳製品等除去処理を行った後、上記試験を実施した。

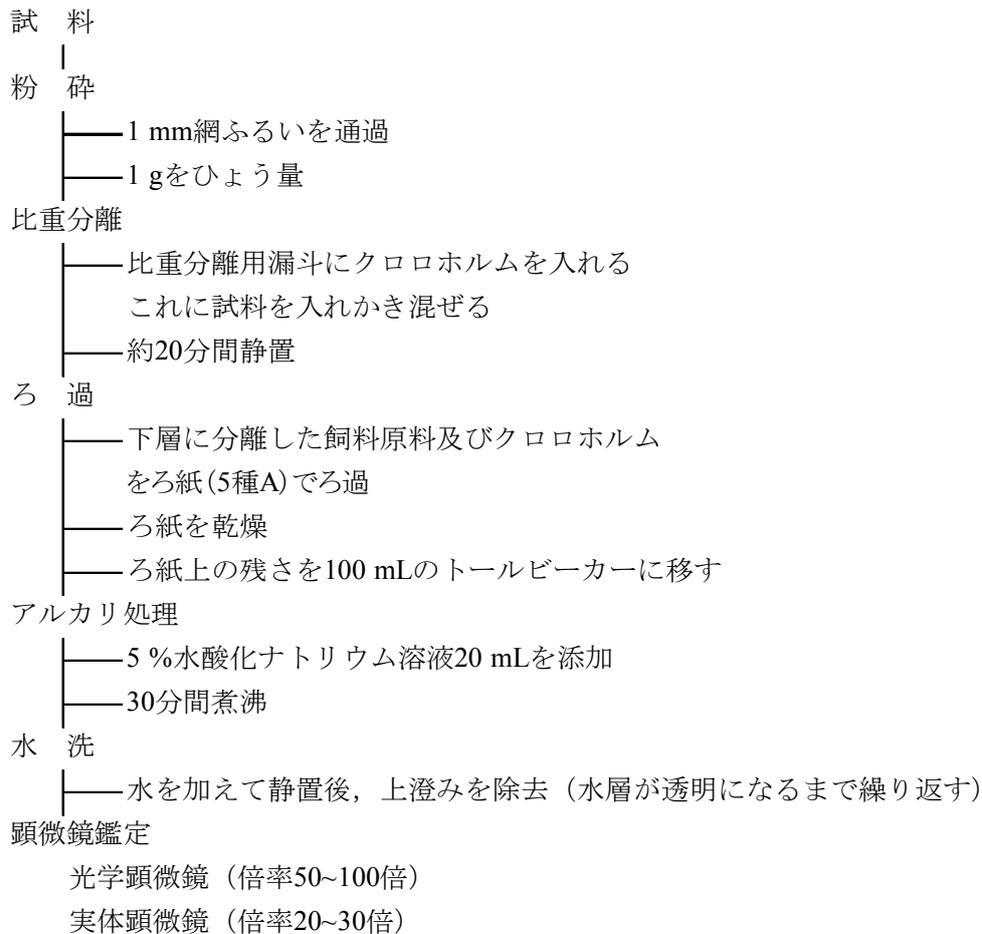


図 1 試料中の肉骨粉等の顕微鏡鑑定方法

## 3) 不溶性不純物

成分規格等省令別表第 1 の 5 の (1) のアに規定された方法により実施した。

## 4) サルモネラ

飼料分析基準第 18 章 1 に規定された方法により実施した。なお、分離したサルモネラは、血清型別を実施した。

## 3 結 果

## 3.1 有害物質

## 1) かび毒及びエンドファイト産生毒素

指導基準値等が定められているアフラトキシン B<sub>1</sub>、ゼアラレノン及びデオキシニバレノールを含む計 19 成分について、5,491 点のモニタリング等を実施した。

指導基準値等が定められている 3 成分のモニタリング等の結果を表 2-1 に、指導基準値等が定められていないかび毒及びエンドファイト産生毒素のモニタリング等の結果を表 2-2 に示した。主な各かび毒の結果は、以下のとおりであった。

i アフラトキシン B<sub>1</sub>

配混合飼料 230 点中 148 点（検出率 64.3 %）から検出され、検出されたものの最大値は、0.014 mg/kg、平均値は 0.0016 mg/kg であり、指導基準値（幼すう用、ブロイラー前期

用、ほ乳期子豚用、ほ乳期子牛用及び乳用牛用は 0.01 mg/kg、それ以外の配混合試料は 0.02 mg/kg) を超えるものはなかった。

単体飼料の指導基準値等は定められていないが、とうもろこし 58 点中 26 点 (検出率 44.8 %) から検出され、検出されたものの最大値は 0.016 mg/kg、平均値は 0.0026 mg/kg であった。

また、とうもろこしを原料とする副産飼料 72 点中 54 点 (検出率 75.0 %) から検出され、検出されたものの最大値は 0.014 mg/kg、平均値は 0.0034 mg/kg であった。

#### ii デオキシニバレノール

家畜等用配混合飼料 230 点中 185 点 (検出率 80.4 %) から検出され、検出されたものの最大値が 1.4 mg/kg、平均値は 0.16 mg/kg であり、暫定許容値 (生後 3 ヶ月以上の牛を除く家畜等用飼料は 1 mg/kg、生後 3 ヶ月以上の牛用飼料は 4 mg/kg) を超えるものはなかった。

単体飼料の指導基準値等は定められていないが、とうもろこし 58 点中 46 点 (検出率 79.3 %) から検出され、検出されたものの最大値は 1.1 mg/kg、平均値は 0.16 mg/kg であった。とうもろこしを原料とする副産飼料の一部では定量値の高いものがあり、配混合飼料の暫定許容値 (1 mg/kg) を超えて検出されたものがコーングルテンフィード 18 点 (最大値 3.6 mg/kg)、DDGS2 点 (最大値 7.4 mg/kg)、DDG1 点 (最大値 1.9 mg/kg) があった。

上記以外では、小麦 4 点中 4 点 (検出率 100 %) から検出され、検出されたものの最大値は 0.77 mg/kg、平均値は 0.42 mg/kg であった。またその副産飼料のふすま 15 点中 14 点 (検出率が 93.3 %) から検出され、検出されたものの最大値は 0.59 mg/kg、平均値は 0.22 mg/kg であった。

#### iii ゼアラレノン

家畜用配混合飼料 230 点中 219 点 (検出率 95.2 %) から検出され、最大値は 0.21 mg/kg、平均値は 0.020 mg/kg であり、暫定許容値 (家畜用飼料で 1 mg/kg) を超えるものはなかった。

単体飼料の指導基準値等は定められていないが、とうもろこし及びその副産飼料 129 点中 123 点 (検出率 95.3 %) から検出され、検出されたものの最大値は 0.98 mg/kg、平均値は 0.083 mg/kg であった。

表2-1 指導基準値等が定められているかび毒のモニタリング等の結果

モニタリング等の対象試料	アフラトキシンB <sub>1</sub> (検出下限 0.0002 mg/kg)				デオキシニバレノール (検出下限 0.01 mg/kg)				ゼアラレノン (検出下限 0.0003 mg/kg)									
	指導基準値 (mg/kg)	試験点数	検出率 (%)	うち検出されたもの 最大値 (mg/kg) 平均値 (mg/kg)	試験点数	検出率 (%)	うち検出されたもの 最大値 (mg/kg) 平均値 (mg/kg)	試験点数	検出率 (%)	うち検出されたもの 最大値 (mg/kg) 平均値 (mg/kg)								
配混合飼料 (表外に示す飼料 <sup>1)</sup> )	0.01	72	49	68.1	0.014	0.0018	1	162	123	75.9	0.46	0.12	1	148	141	95.3	0.21	0.019
配混合飼料 (上記以外の飼料)	0.02	158	99	62.7	0.016	0.0016	4	68	62	91.2	1.4	0.22	—	82	78	95.1	0.090	0.021
とうもろこし	—	58	26	44.8	0.016	0.0026	—	58	46	79.3	1.1	0.16	—	57	52	91.2	0.36	0.038
コーングルテンフィード	—	31	22	71.0	0.014	0.0037	—	31	28	90.3	3.6	1.6	—	31	31	100	0.94	0.13
DDG	—	2	2	100	0.002	0.0014	—	2	2	100	1.9	1.0	—	2	2	100	0.096	0.062
DDGS	—	23	18	78.3	0.006	0.0022	—	23	15	65.2	7.4	0.90	—	23	23	100	0.16	0.040
コーングルテンミール	—	14	11	78.6	0.008	0.0045	—	14	8	57.1	0.34	0.14	—	14	14	100	0.98	0.21
コーンジャムミール	—	1	1	100	0.007	0.0070	—	1	1	100	0.15	0.15	—	1	1	100	0.012	0.012
ホミニーフイード	—	5	1	20.0	0.0005	0.0005	—	5	2	40.0	0.035	0.030	—	5	5	100	0.17	0.043
マイロ	—	4	4	100	0.77	0.42	—	4	4	100	0.77	0.42	—	4	3	75.0	0.025	0.013
小麦 (小麦粉、米粉含む)	—	15	1	6.7	0.0009	0.0009	—	15	14	93.3	0.59	0.22	—	15	9	60.0	0.016	0.0046
ふすま	—	14	2	14.3	0.011	0.0059	—	14	6	42.9	0.26	0.16	—	14	7	50.0	0.021	0.0043
大麦 (圧べん大麦含む)	—	1	1	100	0.025	0.025	—	1	1	100	0.025	0.025	—	1	1	100	0.008	0.0080
麦ぬか	—	1	1	100	0.007	0.0070	—	1	1	100	0.15	0.15	—	1	1	100	0.012	0.012
えん麦	—	39	16	41.0	0.005	0.0010	—	39	4	10.3	0.035	0.020	—	39	31	79.5	0.012	0.0035
大豆油かす	—	1	1	100	0.001	0.0010	—	1	1	100	0.001	0.0010	—	1	1	100	0.008	0.0080
大豆皮	—	3	3	100	0.041	0.032	—	3	2	66.7	0.041	0.032	—	3	2	66.7	0.013	0.011
米ぬか	—	4	4	100	0.068	0.068	—	4	4	100	0.006	0.0065	—	4	4	100	0.006	0.0035
脱脂ぬか	—	15	15	100	0.002	0.0015	—	15	2	13.3	0.12	0.068	—	15	2	13.3	0.002	0.0015
なたね油かす	—	1	1	100	0.006	0.0006	—	1	1	100	0.077	0.077	—	1	1	100	0.009	0.0090
綿実	—	1	1	100	0.006	0.0006	—	1	1	100	0.077	0.077	—	1	1	100	0.005	0.0050
キャッサバ	—	2	2	100	0.007	0.0070	—	2	2	100	0.007	0.0070	—	2	2	100	0.007	0.0070
ごま油かす	—	1	1	100	0.007	0.0070	—	1	1	100	0.084	0.084	—	1	1	100	0.019	0.019
やし中果皮	—	1	1	100	0.007	0.0070	—	1	1	100	0.084	0.084	—	1	1	100	0.075	0.075
ビートバルブ	—	468	251	53.6	—	—	—	468	322	68.8	—	—	—	467	411	88.0	—	—
計	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

1) 該当する配混合飼料の種類は以下のとおり。  
 アフラトキシンB<sub>1</sub>：幼すう用、プロイラー前期用、は乳期子豚用、は乳期子牛用、は乳期子豚用、は乳期子牛用、乳用牛用  
 デオキシニバレノール：家畜等 (鶏用、豚用、牛用 (生後3ヶ月以上の牛を除く))  
 ゼアラレノン：家畜 (豚用、牛用)

表 2-2 指導基準値等が定められていないかび毒及びエンドファイト産生毒素の  
モニタリング等の結果

モニタリング等の 対象成分	(検出下限)	試料 点数	うち検出されたもの			
			点数	検出率 (%)	最大値 (mg/kg)	平均値 (mg/kg)
アフラトキシンB <sub>2</sub>	( 0.0002 mg/kg)	468	69	14.7	0.003	0.0009
アフラトキシンG <sub>1</sub>	( 0.0002 mg/kg)	468	17	3.6	0.002	0.0007
アフラトキシンG <sub>2</sub>	( 0.0002 mg/kg)	468	1	0.2	0.0004	0.0004
ステリグマトシスチン	( 0.0003 mg/kg)	467	166	35.5	0.0090	0.0010
T-2トキシン	( 0.002 mg/kg)	468	162	34.6	0.090	0.010
HT-2トキシン	( 0.005 mg/kg)	40	12	30.0	0.070	0.039
ネオソラニオール	( 0.002 mg/kg)	467	18	3.9	0.31	0.022
フザレノン-X	( 0.02 mg/kg)	467	15	3.2	0.18	0.072
ニバレノール	( 0.02 mg/kg)	468	116	24.8	1.4	0.14
フモニシンB <sub>1</sub>	( 0.0006 mg/kg)	77	74	96.1	2.7	0.53
フモニシンB <sub>2</sub>	( 0.0006 mg/kg)	77	73	94.8	0.89	0.16
フモニシンB <sub>3</sub>	( 0.0006 mg/kg)	77	71	92.2	0.42	0.074
オクラトキシンA	( 0.002 mg/kg)	60	5	8.3	0.20	0.064
シトリニン	( 0.007 mg/kg)	14	2	14.3	0.092	0.075
エルゴバリン	( 0.01 mg/kg)	1	1	100.0	0.12	0.12
ロリトレムB	( 0.01 mg/kg)	1	1	100.0	0.71	0.71

## 2) 重金属

指導基準値が定められているカドミウム、鉛、水銀及びび素について、配混合飼料 156 点、魚粉 26 点、チキンミール等（チキンミール、豚肉骨粉、原料混合肉骨粉）5 点、稲わら 2 点のモニタリング等を実施し、その結果を表 3 に示した。

各重金属の結果は、以下のとおりであった。

### i) カドミウム

配混合飼料 156 点中 69 点（検出率 44.2 %）から検出され、検出されたものの最大値は 0.28 mg/kg、平均値は 0.08 mg/kg であり、指導基準値（1 mg/kg）を超えるものはなかった。

単体飼料は、魚粉 26 点中 26 点（検出率 100 %）から検出され、検出されたものの最大値は 1.9 mg/kg、平均値は 0.90 mg/kg であり、指導基準値（3 mg/kg）を超えるものはなかった。チキンミール等は 5 点中 1 点（検出率 20.0 %）から検出され、検出されたものの最大値は 0.07 mg/kg、平均値は 0.07 mg/kg であり、指導基準値（3 mg/kg）を超えるものはなかった。

### ii) 鉛

配混合飼料 156 点中 13 点（検出率 8.3 %）から検出され、検出されたものの最大値は 1.3 mg/kg、平均値は 0.57 mg/kg であり、指導基準値（3 mg/kg）を超えるものはなかった。

単体飼料は、魚粉 26 点中 15 点（検出率 57.7 %）から検出され、検出されたものの最大値は 3.8 mg/kg、平均値は 0.76 mg/kg であり、指導基準値（7 mg/kg）を超えるものはなかった。チキンミール等からは検出されなかった。

### iii) 水銀

配混合飼料 156 点中 71 点（検出率 45.5 %）から検出され、検出されたものの最大値は 0.18 mg/kg、平均値は 0.04 mg/kg であり、指導基準値（0.4 mg/kg）を超えるものはなかった。

単体飼料は、魚粉 26 点中 26 点（検出率 100 %）から検出され、検出されたものの最大値

は 1.2 mg/kg, 平均値は 0.40 mg/kg であり指導基準値（1 mg/kg）を超えたものはなかった。チキンミール等 5 点中 3 点（検出率 60 %）から検出され、検出されたものの最大値は 0.14 mg/kg, 平均値は 0.087 mg/kg であり、指導基準値を超えるものはなかった。

## iv ひ素

配混合飼料 14 点中 8 点（検出率 57.1 %）から検出され、検出されたものの最大値は 0.88 mg/kg, 平均値は 0.25 mg/kg であり指導基準値（2 mg/kg）を超えるものはなかった。

単体飼料は、稲わら 2 点中 2 点（検出率 100 %）から検出され、検出されたものの最大値は 2.3 mg/kg, 平均値は 2.1 mg/kg であり、指導基準値（7 mg/kg）を超えるものはなかった。

表 3 重金属のモニタリング等の結果

モニタリング等の対象成分	指導基準値 (mg/kg)	モニタリング等の対象試料	試料点数	うち検出されたもの			検出下限 (mg/kg)	
				点数	検出率 (%)	最大値 (mg/kg)		平均値 (mg/kg)
カドミウム	1	配合飼料	156	69	44.2	0.28	0.03	
		稲わら	1	0				
		小計	157	69	43.9	0.28		0.08
	3	魚粉	26	26	100	1.9		0.90
		チキンミール	2	0				
		原料混合肉骨粉	1	0				
		豚肉骨粉	2	1	50.0	0.07		0.07
		小計	31	27	87.1	1.9		0.87
	カドミウム 計		188	96	51.1			
	鉛	3	配合飼料	156	13	8.3		1.3
稲わら			1	0				
小計			157	13	8.3	1.3	0.57	
7		魚粉	26	15	57.7	3.8	0.76	
		チキンミール	2	0				
		原料混合肉骨粉	1	0				
		豚肉骨粉	2	0				
		小計	31	15	48.4	3.8	0.76	
鉛 計			188	28	14.9			
水銀		0.4	配合飼料	156	71	45.5	0.18	0.01
	稲わら		1	1	100	0.02	0.02	
	小計		157	72	45.9	0.22	0.04	
	1	魚粉	26	26	100	1.2	0.40	
		チキンミール	2	1	50.0	0.14	0.14	
		原料混合肉骨粉	1	1	100	0.05	0.05	
		豚肉骨粉	2	1	50.0	0.07	0.07	
		小計	31	29	93.5	1.2	0.37	
	水銀 計		188	101	53.7			
	ひ素	2	配合飼料	14	8	57.1	0.88	
稲わら			2	2	100	2.3	2.1	
ひ素 計			16	10	62.5			

### 3) 農薬

飼料等 514 点に対し、省令基準値が定められている 39 成分及省令基準値が定められていない農薬 103 成分の計 142 成分について、59,704 点のモニタリング等を実施した。その結果を表 4 及び表 5 に示した。

省令基準値を超過したものはなかった。

主な農薬の結果は、以下のとおりであった。

#### i マラチオン

省令基準値が定められている穀類 3 種類 24 点及び牧草 40 点について、モニタリング等を実施した結果、いずれも検出されなかった。

また、配混合飼料を中心に省令基準値が定められていない飼料 410 点について、モニタリング等を実施した結果、19 点から検出された。その内訳は、ふすま 28 点中 9 点（検出率 32.1 %，最大値 0.15 mg/kg），ホミニーフード 1 点中 1 点（検出率 100 %，最大値 0.06 mg/kg），ふすま（小麦）を主原料とする牛用配混合飼料 103 点中 8 点（検出率 7.8 %，最大値 0.055 mg/kg），その他の配混合飼料 140 点中 1 点（検出率 0.7 %，最大値 0.092 mg/kg）であった。

#### ii クロルピリホスメチル

省令基準値が定められている穀類 3 種類 23 点について、モニタリング等を実施した結果、とうもろこし 17 点中 3 点（検出率 17.6 %，最大値 1.0 mg/kg）から検出されたが、省令基準値を超えるものはなかった。

また、配混合飼料を中心に省令基準値が定められていない飼料 450 点について、モニタリング等を実施した結果、44 点から検出された。その内訳は、原料ではふすま 28 点中 12 点（検出率 42.9 %，最大値 0.12 mg/kg），米ぬか 8 点中 1 点（検出率 12.5 %，最大値 0.026 mg/kg）であった。配混合飼料は 243 点中 31 点（検出率 12.8 %）から検出され、最大値は成鶏飼育用で 0.74 mg/kg であった。

#### iii ピリミホスメチル

省令基準値が定められている穀類 3 種類 24 点について、モニタリング等を実施した結果、とうもろこし 18 点中 6 点（検出率 33.3 %，最大値 1.2 mg/kg），マイロ 5 点中 2 点（検出率 40.0 %，最大値 0.052 mg/kg）から検出されたが、省令基準値を超えるものはなかった。

また、配混合飼料を中心に省令基準値が定められていない飼料 450 点について、モニタリング等を実施した結果、120 点から検出された。その内訳は、ふすま 28 点中 1 点（検出率 3.6 %，最大値 0.041 mg/kg），コーングルテンフィード 14 点中 2 点（検出率 14.3 %，最大値 0.055 mg/kg），コーングルテンミール 6 点中 2 点（検出率 33.3 %，最大値 0.066 mg/kg），DDGS 8 点中 1 点（検出率 12.5 %，最大値 0.23 mg/kg），大豆油かす 48 点中 1 点（検出率 2.1 %，最大値 0.22 mg/kg），小麦グルテン酵素分解物 1 点中 1 点（検出率 100 %，最大値 0.24 mg/kg），配混合飼料 243 点中 112 点（検出率 46.1 %）から検出され、最大値は肉豚肥育用で 0.52 mg/kg であった。

#### iv フェニトロチオン

省令基準値が定められている穀類 3 種類 24 点及び牧草 40 点について、モニタリング等を実施した結果、いずれも検出されなかった。

また、配混合飼料を中心に基準値等のない飼料についても 410 点のモニタリング等を実施した結果、8 点から検出された。その内訳は、米ぬか 8 点中 1 点（検出率 12.5 %，最大値 0.045 mg/kg），配混合飼料 243 点中 7 点（検出率 2.9 %）から検出され，最大値は肉用牛肥育用で 0.21 mg/kg であった。

v その他の農薬

① 配混合飼料から検出されたもの

クロルピリホス，クロルプロファム，ジフェノコナゾール，ビフェントリン及びフェンブコナゾール

② 原料から検出されたもの

アセフェート（えん麦，大豆皮），イソフェンホス（ふすま），カズサホス（アルファルファ，チモシー，スーダングラス），グルホシネート（とうもろこし），クロルピリホス（とうもろこし），シハロトリン（マイロ，チモシー，スーダングラス），テブコナゾール（オーツヘイ，フェスクストロー），デルタメトリン及びトラロメトリン（コーングルテンフィード），トルクロホスメチル（ふすま），ビフェントリン（とうもろこし，マイロ），フェンスルホチオン（えん麦），フェンバレレート（ふすま），フェンブコナゾール（チモシー，オーツヘイ），フルシトリネート（DDGS），フルトラニル（米ぬか油かす），プロピコナゾール（ライグラス，大麦わら），ペンディメタリン（バミューダグラス）及びメトミノストロビン（米ぬか油かす）

農薬は，とうもろこし，麦類及びその副産飼料を中心に有機リン系農薬の検出率が高く，牧草では，検出率は低いものの多種類の農薬が検出されている。

表 4 農薬のモニタリング等の結果（省令基準値が定められている成分）

モニタリング等の対象成分	モニタリング等の対象試料	省令基準値 (mg/kg)	試料点数	うち検出されたもの			検出下限 (mg/kg)	
				点数	検出率 (%)	最大値 (mg/kg)		平均値 (mg/kg)
BHC	配混合飼料	0.005	246	0			0.005	
	牧草	0.02	40	0				
	基準値のない飼料	—	203	0				
	計	—	489	0				
DDT	配混合飼料	0.1	246	0			0.02	
	牧草	0.1	40	0				
	基準値のない飼料	—	203	0				
	計	—	489	0				
アセフェート	基準値のない飼料	—	7	2	28.6	0.23	0.22	0.007
アトラジン	とうもろこし	0.2	17	0			0.02	
	マイロ	0.02	5	0				
	牧草	15	40	0				
	基準値のない飼料	—	405	0				
	計	—	467	0				
アラクロール	とうもろこし	0.2	17	0			0.02	
	マイロ	0.1	5	0				
	牧草	3	40	0				
	基準値のない飼料	—	411	0				
	計	—	473	0				

表4 農薬のモニタリング等の結果（省令基準値が定められている成分，続き）

モニタリング等の対象成分	モニタリング等の対象試料	省令基準値(mg/kg)	試料点数	うち検出されたもの				検出下限(mg/kg)
				点数	検出率(%)	最大値(mg/kg)	平均値(mg/kg)	
アルドリン及びディルドリン	配混合飼料	0.02	246	0				0.02
	牧草	0.02	40	0				
	基準値のない飼料	—	203	0				
	計	—	489	0				
イソフェンホス	とうもろこし	0.02	17	0				0.02
	基準値のない飼料	—	476	1	0.2	0.102	0.102	
	計	—	493	1	0.2			
エチオン	牧草	20	40	0				0.02
	基準値のない飼料	—	454	0				
	計	—	494	0				
エンドリン	配混合飼料	0.01	246	0				0.02
	牧草	0.01	40	0				
	基準値のない飼料	—	203	0				
	計	—	489	0				
グルホシネート	とうもろこし	0.1	10	3	30.0	0.061	0.050	0.02
	基準値のない飼料	—	1	0				
	計	—	11	3	27.3			
クロルピリホス	とうもろこし	0.1	17	1	5.9	0.055	0.055	0.01
	マイロ	0.75	5	0				
	えん麦	0.75	1	0				
	牧草	13	40	0				
	基準値のない飼料	—	410	3	0.7	0.013	0.012	
計	—	473	4	0.8				
クロルピリホスメチル	とうもろこし	7	17	3	17.6	1.0	0.46	0.02
	マイロ	10	5	0				
	えん麦	10	1	0				
	基準値のない飼料	—	450	44	9.8	0.74	0.069	
	計	—	473	47	9.9			
クロルフェンビンホス	とうもろこし	0.05	18	0				0.02
	基準値のない飼料	—	466	0				
	計	—	484	0				
クロルプロファム	とうもろこし	0.05	17	0				0.02
	基準値のない飼料	—	450	2	0.4	0.20	0.133	
	計	—	467	2	0.4			
クロルベンジレート	とうもろこし	0.02	17	0				0.02
	基準値のない飼料	—	472	0				
	計	—	489	0				
ジクロルボス	えん麦	0.2	1	0				0.007
	基準値のない飼料	—	5	0				
	計	—	6	0				
シハロトリン	とうもろこし	0.04	17	0				0.02
	マイロ	0.2	5	1	20.0	0.055	0.055	
	牧草	0.6	40	2	5.0	0.10	0.064	
	基準値のない飼料	—	405	0				
	計	—	467	3	0.6			
ジメトエート	とうもろこし	1	17	0				0.02
	マイロ	0.2	5	0				
	えん麦	0.2	1	0				
	牧草	2	40	0				
	基準値のない飼料	—	410	0				
計	—	473	0					
ダイアジノン	とうもろこし	0.02	18	0				0.02
	マイロ	0.1	5	0				
	えん麦	0.1	1	0				
	牧草	10	40	0				
	基準値のない飼料	—	410	0				
計	—	474	0					

表 4 農薬のモニタリング等の結果（省令基準値が定められている成分，続き）

モニタリング等の対象成分	モニタリング等の対象試料	省令基準値 (mg/kg)	試料点数	うち検出されたもの				検出下限 (mg/kg)
				点数	検出率 (%)	最大値 (mg/kg)	平均値 (mg/kg)	
チアベンダゾール	とうもろこし	0.05	7	0				0.003
	牧草	10	1	0				
	計	—	8	0				
デルタメトリン 及び トラロメトリン	とうもろこし	1	17	0				0.03
	マイロ	1	5	0				0.03
	牧草	5	40	0				0.045
	基準値のない飼料	—	405	1	0.2	0.17	0.17	0.03
	計	—	467	1	0.2			
テルブホス	とうもろこし	0.01	18	0				0.005
	マイロ	0.05	5	0				
	えん麦	0.05	1	0				
	牧草	1	40	0				
	基準値のない飼料	—	410	0				
計	—	474	0					
バラチオン	とうもろこし	0.3	17	0				0.02
	マイロ	0.08	5	0				
	えん麦	0.08	1	0				
	牧草	5	40	0				
	基準値のない飼料	—	410	0				
計	—	473	0					
ピリミホスメチル	とうもろこし	1	18	6	33.3	1.2	0.34	0.02
	マイロ	1	5	2	40.0	0.052	0.039	
	えん麦	1	1	0				
	基準値のない飼料	—	450	120	26.7	0.52	0.13	
	計	—	474	128	27.0			
フィプロニル	配混合飼料（鶏・うずら用）	0.01	71	0				0.003
	配混合飼料（豚・牛等用）	0.02	172	0				
	牧草	0.2	40	0				
	基準値のない飼料	—	203	0				
	計	—	486	0				
フェニトロチオン	とうもろこし	1	18	0				0.02
	マイロ	1	5	0				
	えん麦	1	1	0				
	牧草	10	40	0				
	基準値のない飼料	—	410	8	2.0	0.21	0.069	
計	—	474	8	1.7				
フェンチオン	とうもろこし	5	18	0				0.02
	基準値のない飼料	—	476	0				
	計	—	494	0				
フェントエート	とうもろこし	0.4	18	0				0.02
	マイロ	0.4	5	0				
	えん麦	0.4	1	0				
	基準値のない飼料	—	450	0				
	計	—	474	0				
フェンバレレート	配混合飼料（鶏・うずら用）	0.5	71	0				0.02
	配混合飼料（豚用）	4	68	0				
	配混合飼料（牛等用）	8	104	0				
	牧草	13	40	0				
	基準値のない飼料	—	203	1	0.5	0.021	0.021	
	計	—	486	1	0.2			
フェンプロパトリン	牧草	20	40	0				0.02
	基準値のない飼料	—	446	0				
	計	—	486	0				
ヘプタクロル	配混合飼料	0.02	246	0				0.02
	牧草	0.02	40	0				
	基準値のない飼料	—	203	0				
	計	—	489	0				

表4 農薬のモニタリング等の結果（省令基準値が定められている成分，続き）

モニタリング等の対象成分	モニタリング等の対象試料	省令基準値 (mg/kg)	試料点数	うち検出されたもの			検出下限 (mg/kg)	
				点数	検出率 (%)	最大値 (mg/kg)		平均値 (mg/kg)
ベルメトリン	とうもろこし	2	17	0			0.02	
	マイロ	2	5	0				
	牧草	55	40	0				
	基準値のない飼料	—	405	0				
	計	—	467	0				
ペンディメタリン	とうもろこし	0.2	17	0			0.02	
	マイロ	0.1	5	0				
	牧草	0.1	40	1	2.5	0.082		0.082
	基準値のない飼料	—	405	0				
	計	—	467	1	0.2			
ホスメット	とうもろこし	0.05	18	0			0.02	
	マイロ	0.05	5	0				
	えん麦	0.05	1	0				
	牧草	40	40	0				
	基準値のない飼料	—	410	0				
計	—	474	0					
ホレート	とうもろこし	0.05	18	0			0.02	
	マイロ	0.05	5	0				
	えん麦	0.05	1	0				
	牧草	1.5	40	0				
	基準値のない飼料	—	410	0				
計	—	474	0					
マラチオン	とうもろこし	2	18	0			0.02	
	マイロ	2	5	0				
	えん麦	2	1	0				
	牧草	135	40	0				
	基準値のない飼料	—	410	19	4.6	0.15		0.060
計	—	474	19	4.0				
メチダチオン	とうもろこし	0.1	18	0			0.02	
	マイロ	0.2	5	0				
	えん麦	0.2	1	0				
	牧草	12	40	0				
	基準値のない飼料	—	410	0				
計	—	474	0					
メトプレン	とうもろこし	5	3	0			0.02	
	計	—	3	0				
リンデン (γ-BHC)	配混合飼料 (鶏・うずら, 豚用)	0.05	141	0			0.005	
	配混合飼料 (牛等用)	0.4	105	0				
	牧草	0.4	40	0				
	基準値のない飼料	—	203	0				
	計	—	489	0				

表5 農薬のモニタリング等の結果 (省令基準値が定められていない成分)

モニタリング等の対象成分	うち検出されたもの				うち検出されなかったもの				検出下限 (mg/kg)
	試験点数	検出率 (%)	最大値 (mg/kg)	平均値 (mg/kg)	試験点数	検出率 (%)	最大値 (mg/kg)	平均値 (mg/kg)	
EPN	494	0			486	0			0.02
アセトクロール	486	0			486	0			0.02
アエロホス	486	0			486	0			0.02
アマトリン	486	0			486	0			0.02
アリドクロール	486	0			486	0			0.02
アレスリン	486	0			486	2	0.4	0.80	0.02
イサゾホス	486	0			486	0			0.02
イソプロチオラン	486	0			486	0			0.02
イプロベンホス	494	0			486	0			0.02
エジフェンホス	494	0			486	0			0.02
エタルフルラリン	486	0			486	0			0.02
エトフェンプロックス	486	0			486	0			0.02
エトフメセート	486	0			486	0			0.02
エトプロホス	493	0			486	0			0.02
エトリジアゾール	486	0			8	1	12.5	0.091	0.007
エトリムホス	494	0			486	0			0.02
エンドスルファン	3	0			3	0			0.0007
オキサジアゾン	486	0			3	0			0.02
カズサホス	486	3	0.6	0.096	493	0			0.047
カルフェントランエチル	486	0			486	0			0.02
カルボフェノチオン	8	0			486	7	1.4	0.089	0.007
キナルホス	7	0			486	0			0.007
キントゼン	486	0			486	0			0.02
クレンキシムメチル	486	0			486	0			0.02
クロルタルジメチル	486	0			486	0			0.02
クロルデン	3	0			486	0			0.0007
クロルフェナピル	486	0			486	0			0.02
ジクロホップメチル	486	0			486	0			0.02
ジクロラン	489	0			486	0			0.02
ジフェナミド	486	0			7	1	14.3	0.057	0.007
ジフェノナゾール	486	2	0.4	0.050	486	6	1.2	0.046	0.047
ジメチナミド	486	0			3	0			0.02
ジメピレレート	486	0			486	0			0.02
シラフルオフェン	486	0			486	0			0.02
ターバシル	486	0			486	1	0.2	0.033	0.02
チオベンカルブ	486	0			486	0			0.02
テクナゼン	486	0			486	0			0.02
テトラクロルピホス	486	0			486	0			0.02
テトラコナゾール	486	0			486	0			0.02
テトラジホス	486	0			486	0			0.02
テブコナゾール	486	2	0.4	1.20	486	2	0.4	0.80	0.02
テブフェンピラト	486	0			486	0			0.02
テフルトリン	486	0			486	0			0.02
テルブトリン	486	0			486	0			0.02
トリアジメホス	486	0			486	0			0.02
トリアレート	486	0			486	0			0.02
トリフルラリン	486	0			486	0			0.02
トリプロキシストロピン	486	0			486	0			0.02
トリフルアルニド	486	0			486	0			0.02
トルクロホスメチル	8	1	12.5	0.091	486	0			0.007
ナプロバミド	486	0			486	0			0.02
ニトロフェン	3	0			3	0			0.0007
ノナクロール	3	0			3	0			0.0007
パラチオンメチル	493	0			486	0			0.02
ハルフェンプロックス	486	0			486	0			0.02
ピフェントリン	486	7	1.4	0.089	486	7	1.4	0.089	0.037
ピペロホス	486	0			486	0			0.02
ピリダフェンチオン	486	0			486	0			0.02
ピリダベン	486	0			486	0			0.02
ピリプロキシフェン	486	0			486	0			0.02
ピンクロゾリン	486	0			486	0			0.0007
フェナリモル	486	0			486	0			0.02
フェノチオカルブ	486	0			486	0			0.02
フェノトリン	486	0			486	0			0.02
フェンホルチオン	7	1	14.3	0.057	486	6	1.2	0.046	0.007
フェンコナゾール	486	6	1.2	0.046	486	6	1.2	0.046	0.030
ブタクロール	3	0			3	0			0.003
ブタミホス	486	0			486	0			0.02
ブラムプロップメチル	486	0			486	0			0.02
フルシトリネート	486	1	0.2	0.033	486	1	0.2	0.033	0.033
フルトラニル	486	2	0.4	0.033	486	2	0.4	0.033	0.02
フルトリアホール	486	0			486	0			0.02
フルバリネート	486	0			486	0			0.02
フルミオキサジン	486	0			486	0			0.02
フルミクロラクソペンチル	486	0			486	0			0.02
プレチラクロール	3	0			3	0			0.003
プロシミド	486	0			486	0			0.02
プロチオホス	8	0			486	0			0.007
プロバクロール	486	0			486	0			0.02
プロバジン	486	0			486	0			0.02
プロパニル	486	0			486	0			0.02
プロパルギット	486	0			486	0			0.02
プロピコナゾール	486	3	0.6	2.8	486	3	0.6	2.8	1.70
プロフアム	486	0			486	0			0.02
プロフェノホス	486	0			486	0			0.02
プロベタンホス	486	0			486	0			0.02
プロモプロチド	486	0			486	0			0.02
プロモプロピレート	486	0			486	0			0.02
プロモホス	486	0			486	0			0.02
ヘキサクロロベンゼン	3	0			3	0			0.0007
ヘキサコナゾール	486	0			486	0			0.02
ペノキサコール	486	0			486	0			0.02
ペンコナゾール	486	0			486	0			0.02
ペンフルラリン	486	0			486	0			0.02
ホサロン	494	0			486	0			0.02
ホスチアゼート	486	0			486	0			0.02
メカルバム	7	0			7	0			0.007
メタクリホス	486	0			486	0			0.02
メトキシクロル	489	0			489	0			0.02
メトミノストロピン	486	1	0.2	0.027	486	1	0.2	0.027	0.02
メトラクロール	489	0			489	0			0.02
メビンホス	486	0			486	0			0.02
モノクロトホス	7	0			7	0			0.003

## 4) その他の有害物質

指導基準値が定められているメラミンのほか、指導基準値等が定められていないが、飼料中に含まれて問題となった他の有害物質 3 成分について、計 73 点のモニタリング等を実施した。

各成分の結果は、以下のとおりであった。

## i メラミン

養魚用飼料及び魚粉のモニタリング等を実施した結果、養魚用配合飼料 14 点中 7 点（検出率 50.0 %，最大値 0.18 mg/kg），魚粉 18 点中 4 点（検出率 22.2 %，最大値 0.13 mg/kg）から検出され、指導基準値（2.5 mg/kg）を超えた飼料はなかった。

## ii 硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素

牧草 15 点（アルファルファ 7 点，スーダングラス 8 点）のモニタリング等を実施した結果、全ての試料から硝酸態窒素が検出され、最大値は、アルファルファが 860 mg/kg，スーダングラスが 1,600 mg/kg であった。亜硝酸態窒素は検出されなかった。

中毒が発生するとされる目安（2,000 mg/kg）を超える牧草はなかった。

## iii ヒスタミン

魚粉のモニタリング等を実施した結果、11 点中 10 点から検出（検出率 90.9 %，最大値 1,200 mg/kg）されたが中毒水準を超える魚粉はなかった。

表 6 その他の有害物質のモニタリング等の結果

モニタリング等の対象成分	指導基準値 (mg/kg)	モニタリング等の対象試料	試料点数	うち検出されたもの			検出下限 (mg/kg)	
				点数	検出率 (%)	最大値 (mg/kg)		平均値 (mg/kg)
メラミン	2.5	養魚用配合飼料	14	7	50.0	0.18	0.11	
		魚粉	18	4	22.2	0.13		
		計	32	11	34.4	0.10		
硝酸態窒素		アルファルファ	7	7	100	860	530	
		スーダングラス	8	8	100	1,600		
		計	15	15	100	1,600		430
亜硝酸態窒素		アルファルファ	7	0			10	
		スーダングラス	8	0				
		計	15	0				
ヒスタミン		魚粉	11	10	90.9	1,200	340	3

## 3.2 飼料への動物由来たん白質等の混入確認

国内で製造された魚粉 77 点及びその他の魚介類由来たん白質 5 点、並びにチキンミール 27 点、フェザーミール 15 点及び豚血しょうたん白 1 点について、顕微鏡鑑定、ELISA 試験及び PCR 試験を実施した結果、牛由来たん白質は検出されなかった。なお、ELISA 試験において魚粉 1 点から牛由来たん白質が検出されたが、PCR 試験のほ乳動物由来 DNA が検出されなかったことから総合的に不検出と判定した。豚肉骨粉 2 点、原料混合肉骨粉 24 点及び豚・鶏混合蒸製骨粉については、ELISA 試験及び PCR 試験を実施した結果、牛由来たん白質は検出されなかった。これらのモニタリング等の結果を表 7 及び表 8 に示した。

表 7 動物由来たん白質モニタリング等の結果（魚粉等）

	顕微鏡鑑定			ELISA試験			PCR試験			総合判定 検出 点数
	獣骨，獣毛			牛由来たん白質			ほ乳動物由来DNA			
	試料 点数	検出 点数	検出率 (%)	試料 点数	検出 点数	検出率 (%)	試料 点数	検出 点数	検出率 (%)	
魚粉	77	0	0.0	77	1	1.3	77	0	0.0	0
カニ殻粉末	1	0	0.0	1	0	0.0	1	0	0.0	0
イカ内臓溶解液	2	0	0.0	2	0	0.0	2	0	0.0	0
サケ頭部残滓凍結乾燥物	1	0	0.0	1	0	0.0	1	0	0.0	0
魚すり身	1	0	0.0	1	0	0.0	1	0	0.0	0

表 8 動物由来たん白質のモニタリング等の結果（チキンミール，豚肉骨粉等）

	顕微鏡鑑定			ELISA試験			PCR試験			総合判定 検出 点数
	獣骨，獣毛			牛由来たん白質			反すう動物由来DNA			
	試料 点数	検出 点数	検出率 (%)	試料 点数	検出 点数	検出率 (%)	試料 点数	検出 点数	検出率 (%)	
チキンミール	27	0	0.0	27	0	0.0	27	0	0.0	0
フェザーミール	15	0	0.0	15	0	0.0	15	0	5.3	0
豚血しょうたん白	1	0	0.0	1	0	0.0	1	0	0.0	0
豚肉骨粉				2	0	0.0	2	0	0.0	0
原料混合肉骨粉				24	0	0.0	24	0	0.0	0
蒸製骨粉				1	0	0.0	1	0	0.0	0

国内で製造されたほ乳期子牛育成用代用乳用配合飼料 5 点、ほ乳期子牛育成用配合飼料 6 点、若令牛育成用配合飼料 11 点、乳用牛飼育用配合飼料 46 点、幼令肉用牛育成用配合飼料 4 点、肉用牛肥育用配合飼料 67 点、肉牛繁殖用配合飼料 11 点、種牛飼育用配合飼料 1 点、牛数種用配合飼料 23 点、牛用混合飼料 22 点及び糖蜜吸着飼料 1 点について、顕微鏡鑑定、ELISA 及び PCR を実施した結果、牛由来たん白質は検出されなかった。また、動物由来たん白質を含む混合飼料 11 点について、顕微鏡鑑定、ELISA 試験及び PCR 試験を実施した結果、牛由来たん白質は検出されなかった。これらのモニタリング等の結果を表 9 に示した。

輸入の牛用混合飼料 28 点、飼料用酵母 1 点、海藻ミール 1 点、フミン酸 1 点及び複合製剤 1 点について、顕微鏡鑑定、ELISA 試験及び PCR 試験を実施した結果、牛由来たん白質は検出されなかった。そのモニタリング等の結果を表 10 に示した。

表9 動物由来たん白質のモニタリング等の結果（国内製造牛用飼料等）

	顕微鏡鑑定			ELISA試験			PCR試験						総合判定 検出 点数		
	獣骨, 獣毛			牛由来たん白質			ほ乳動物由来DNA			反すう動物由来DNA					
	試料 点数	検出 点数	検出率 (%)	試料 点数	検出 点数	検出率 (%)	試料 点数	検出 点数	検出率 (%)	試料 点数	検出 点数	検出率 (%)			
牛用飼料等															
ほ乳期子牛育成用代用乳用配合飼料	5	0	0.0				5	0	0.0						0
ほ乳期子牛育成用配合飼料	6	0	0.0	5	0	0.0	5	0	0.0						0
若令牛育成用配合飼料	11	0	0.0	10	0	0.0	10	0	0.0						0
乳用牛飼育用配合飼料	46	0	0.0	44	0	0.0	44	0	0.0						0
幼令肉用牛育成用配合飼料	4	0	0.0	3	0	0.0	3	0	0.0						0
肉用牛肥育用配合飼料	67	0	0.0	58	0	0.0	58	0	0.0						0
肉牛繁殖用配合飼料	11	0	0.0	11	0	0.0	11	0	0.0						0
種牛飼育用配合飼料	1	0	0.0	1	0	0.0	1	0	0.0						0
牛数種用飼料	23	0	0.0	18	0	0.0	18	0	0.0						0
その他の混合飼料	22	0	0.0	22	0	0.0	21	0	0.0						0
糖蜜吸着飼料	1	0	0.0	1	0	0.0	1	0	0.0						0
その他の畜種向け飼料 (動物質原料を含むもの)															
混合飼料等	11	0	0.0	11	0	0.0	10	0	0.0	2	0	0.0			0

表10 動物由来たん白質のモニタリング等の結果（輸入飼料等）

	顕微鏡鑑定			ELISA試験			PCR試験						総合判定 検出 点数		
	獣骨, 獣毛			牛由来たん白質			ほ乳動物由来DNA			反すう動物由来DNA					
	試料 点数	検出 点数	検出率 (%)	試料 点数	検出 点数	検出率 (%)	試料 点数	検出 点数	検出率 (%)	試料 点数	検出 点数	検出率 (%)			
牛用混合飼料															
大韓民国	1	0	0.0	1	0	0.0				1	0	0.0			0
中華人民共和国	3	0	0.0	3	0	0.0				3	0	0.0			0
台湾	2	0	0.0	2	0	0.0				2	0	0.0			0
タイ	1	0	0.0	1	0	0.0				1	0	0.0			0
シンガポール	1	0	0.0	1	0	0.0				1	0	0.0			0
デンマーク	1	0	0.0	1	0	0.0				1	0	0.0			0
フランス	4	0	0.0	4	0	0.0				4	0	0.0			0
スペイン	1	0	0.0	1	0	0.0				1	0	0.0			0
アメリカ合衆国	14	0	0.0	14	0	0.0	1	0	0.0	13	0	0.0			0
飼料用酵母															
イタリア	1	0	0.0	1	0	0.0				1	0	0.0			0
海藻ミール															
カナダ	1	0	0.0	1	0	0.0				1	0	0.0			0
フミン酸															
カナダ	1	0	0.0	1	0	0.0				1	0	0.0			0
複合製剤															
アメリカ合衆国	1	0	0.0	1	0	0.0				1	0	0.0			0

## 3.3 不溶性不純物

飼料用として出荷、流通している動物性油脂（確認済動物性油脂、回収食用油、混合油脂等）76点及び特定動物性油脂1点について、不溶性不純物の含有量を測定した結果、不溶性不純物の成分規格を超えるものはなかった。そのモニタリング等の結果を表11に示した。

表11 不溶性不純物のモニタリング等の結果

モニタリング等の 対象試料	成分規格	試料点数	最大値 (%)	平均値 (%)
動物性油脂	0.15%以下	76	0.15	0.023
特定動物性油脂	0.02%以下	1	0.006	0.006

### 3.4 サルモネラ

飼料原料 150 点及び配混合飼料 156 点について、モニタリング等を実施した結果、飼料原料 150 点のうち 2 点が陽性（陽性率 1.3 %）であった。なお、前年度及び前々年度の陽性率は、それぞれ 0.7 %及び 1.4 %であった。区分別にみると、動物質性飼料 114 点中 1 点が陽性（陽性率 0.9 %（前年度 1.8 %，前々年度 1.8 %））であった。また、植物性油かす類 18 点中 1 点が陽性（陽性率 5.6 %（前年度 0 %，前々年度 0 %））であった。一方、そうこう類（前年度 0 %，前々年度 0 %）は、全て陰性であった。そのモニタリング等の結果を表 12 に示した。

原産国別では、国内製造品 142 点中 1 点が陽性（陽性率 0.7 %（前年度 0.7 %，前々年度 1.5 %））であった。また、輸入品 8 点中 1 点が陽性（陽性率 12.5 %（前年度 0 %，前々年度 0 %））であった。そのモニタリング等の結果を表 13 に示した。

配混合飼料 156 点のうち 4 点が陽性（陽性率 2.6 %）であり、平成 10 年度（陽性率 2.6 %）以来の高い水準であった。なお、前年度及び前々年度の陽性率は、それぞれ 0.7 %及び 0 %であった。そのモニタリング等の結果を表 14 に示した。

サルモネラ陽性となった大豆油かす，魚粉及び配混合飼料から分離された血清型は、各 1 種類であった。その結果を表 15 に示した。これらの血清型は、いずれも過去 5 年以内に飼料から分離された事例があり、*S. Agona* は平成 21 年度に国内産チキンミール 1 点から、*S. Havana* は平成 22 年度に国内産魚粉 1 点から、*S. Mbandaka* は平成 23 年度に国内産魚粉 1 点から及び平成 22 年度に配混合飼料 1 点から、*S. Rissen* は平成 21 年度に国内産魚粉 1 点から、*S. Schwarzengrund* は平成 20 年度に国内産フェザーミール 1 点からそれぞれ検出されている。

また、病原微生物検出情報<sup>13)</sup>によると、飼料から分離されたこれら 5 種の血清型は、国内で発生したサルモネラ食中毒の原因菌としてヒトからも分離されており、特に *S. Schwarzengrund* は、食中毒原因菌としてここ数年上位 15 血清型に入っている。平成 25 年度は配混合飼料の陽性率が上昇したことから、今後の動向を注視する必要がある。

表 12 サルモネラのモニタリング等の結果（飼料原料の種類別）

モニタリング等の対象試料	試料点数	陽性点数	陽性率 (%)
動物質性飼料			
魚粉	63	1	1.6
チキンミール	19	0	0
フェザーミール	13	0	0
原料混合肉骨粉	16	0	0
豚肉骨粉	2	0	0
豚血しょうたん白	1	0	0
小 計	114	1	0.9
植物性油かす類			
大豆油かす	11	1	9.1
なたね油かす	3	0	0
ごま油かす	2	0	0
コーングルテンミール	2	0	0
小 計	18	1	5.6
そうこう類			
ふすま	8	0	0
米ぬか	1	0	0
脱脂ぬか	3	0	0
コーングルテンフィード	5	0	0
小 計	17	0	0
その他			
小麦グルテン酵素分解物	1	0	0
合 計	150	2	1.3

表 13 サルモネラのモニタリング等の結果（原産国及び飼料原料の種類別）

原産国	動物質性飼料		植物性油かす類		そうこう類		その他	合計 (陽性率)
	魚粉	その他	大豆油かす	その他	コーングルテン フィード	その他	小麦グルテン酵 素分解物	
国産 (陽性率)	1/60 (1.6%)	0/51 (0%)	0/8 (0%)	0/7 (0%)	0/4 (0%)	0/12 (0%)		1/142 (0.7%)
輸入								
インド	0/1		1/1					1/2 (50%)
ニュージーランド	0/1							0/1 (0%)
ペルー	0/1							0/1 (0%)
中国			0/1		0/1			0/2 (0%)
アルゼンチン			0/1					0/1 (0%)
イタリア							0/1	0/1 (0%)
小計 (陽性率)	0/3 (0%)		1/3 (33.3%)		0/1 (0%)		0/1 (0%)	1/8 (12.5%)
合計 (陽性率)	1/63 (1.6%)	0/51 (0%)	1/11 (9.1%)	0/7 (0%)	0/5 (0%)	0/12 (0%)	0/1 (0%)	2/150 (1.3%)

表 14 サルモネラのモニタリング等の結果（配混合飼料の種類別）

モニタリング等の対象試料	試料点数	陽性点数	陽性率 (%)
鶏用配合飼料	54	1	1.9
豚用配合飼料	40	1	2.5
牛用配合飼料	53	2	3.8
動物質性たん白質混合飼料	4	0	0
その他の混合飼料	5	0	0
合計	156	4	2.6

表 15 陽性試料から検出されたサルモネラの血清型

血清型	検出された飼料の種類		
	大豆油かす	魚粉	配合飼料
S. Agona			1
S. Havana		1	
S. Mbandaka			2
S. Rissen	1		
S. Schwarzengrund			1
合計	1	1	4

## 文 献

- 1) 飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律（昭和 28 年法律第 35 号）
- 2) 飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和 51 年 7 月 24 日付け農林省令第 35 号）
- 3) 「飼料の有害物質の指導基準の制定について」（昭和 63 年 10 月 14 日付け 63 畜 B 第 2050 号農林水産省畜産局長通知）
- 4) 「飼料中のデオキシニバレノールについて」（平成 14 年 7 月 5 日付け 14 生畜第 2267 号農林水産省生産局畜産部飼料課長通知）
- 5) 「ゼアラレノンの検出について」（平成 14 年 3 月 25 日付け 13 生畜第 7269 号農林水産省生産局畜産部飼料課長通知）
- 6) 「飼料分析基準の制定について」（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）
- 7) 「飼料等検査実施要領の制定について」（昭和 52 年 5 月 10 日付け 52 畜 B 第 793 号農林省畜産局長通知）
- 8) 「飼料中の農薬の検査について」（平成 18 年 5 月 26 日付け 18 消安第 2322 号農林水産省消費・安全局畜水産安全管理課長通知）
- 9) 公益社団法人日本油化学会編：基準油脂分析試験法 2013 年版，2.1.1 試料採取方法(2013).
- 10) 泉和夫，石橋隆幸，青山幸二，石黒瑛一：飼料研究報告，27，233 (2002).
- 11) 「牛を対象とする飼料の抽出検査の取扱いについて」（平成 14 年 11 月 8 日付け農林水産省生産局畜産部飼料課課長補佐（検査指導班担当）事務連絡）
- 12) 「反すう動物用飼料への反すう動物等由来たん白質の混入防止に関するガイドラインの制定について」（平成 13 年 6 月 1 日付け 13 生畜第 1366 号）
- 13) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報，<http://idsc.nih.go.jp/iasr/index-j.html>.

## 調査資料

## 2 特定添加物検定結果等について（平成 25 年度）

肥飼料安全検査部 飼料鑑定第二課

## Results of Official Testing of Specified Feed Additives (in the Fiscal Year 2013)

特定添加物とは、飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律（昭和 28 年 4 月 11 日法律第 35 号。以下「飼料安全法」という。）第 3 条第 1 項の規定に基づき規格が定められた飼料添加物で、飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律施行令（昭和 51 年 7 月 16 日政令第 198 号）第 2 条第 2 号に定められた抗菌性物質製剤をいう。飼料安全法第 5 条第 1 項の規定により、特定添加物は、独立行政法人農林水産消費安全技術センター（以下「FAMIC」という。）が飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和 51 年 7 月 24 日農林省令第 35 号）で定める方法により行う検定を受け、検定合格証紙が付されたものでなければ販売してはならないこととされている。ただし、飼料安全法第 7 条第 1 項の登録を受けた特定飼料等製造業者（以下「登録特定飼料等製造業者」という。）が製造し、同法第 16 条第 1 項の表示が付されたもの及び同法第 21 条第 1 項の登録を受けた外国特定飼料等製造業者が製造し、同条第 2 項の表示が付されたものについては、この限りではない。

平成 25 年度に FAMIC に対して検定の申請があった特定添加物について、結果をとりまとめたので、その概要を報告する。また、平成 25 年度の登録特定飼料等製造業者による特定添加物の製造数量等についても併せて報告する。なお、現在のところ、外国特定飼料等製造業者の登録はない。

## 1 特定添加物の検定申請業者及び品名等

平成 25 年度に検定の申請があった業者別の特定添加物の種類及び品名等を表 1 に示した。

申請は 9 業者からあり（前年度 8 業者）、その製造形態等は、①購入した製造用原体から製剤を製造しているのが 4 業者、②購入した製造用原体又は製剤から製剤を製造しているのが 1 業者、③製剤を輸入しているのが 4 業者であった。

平成 25 年度に申請があった特定添加物は 9 種類で、品名にして 15 銘柄であり（前年度 11 種類、16 銘柄）、その全てが製造用原体又は製剤の製造を海外に依存していた。

製造用原体又は製剤の輸入先国は、①亜鉛バシトラシン（製剤）及び硫酸コリスチン（製造用原体）が中国、②アピラマイシン（製剤）がイギリス、③クロルテトラサイクリン（製剤）がシンガポール、④リン酸タイロシン（製剤）及びナラシン（製剤）が米国、⑤フラボフォスフォルポール（製剤）及びモネンシンナトリウム（製造用原体）がブルガリア、⑥サリノマイシンナトリウム（製造用原体）が中国及びブルガリアで、輸入先国は、前年度同様 5 カ国であった。

表 1 検定申請業者及び品名等一覧  
(平成 25 年度)

管内	申請業者名	製造事業場名	特定添加物の種類	飼料級に該当	申請品名	含有力価 (mg(力価)/g)	備考
本部	株式会社ティエヌビー	※	クロルテトラサイクリン	○	CTC F-100	100	
	ニッチク薬品工業株式会社	相模工場	モネンシンナトリウム		モネンシンTZ20	200	
			サリノマイシンナトリウム	○	サリノマイシンTZ100	100	
	日本ニュートリション株式会社	鹿島工場	サリノマイシンナトリウム	○	サックス100	100	
	ミヤリサン製薬株式会社	※	フラボフォスフォリポール	○	フラボマイシン80	80	
ロック化学製品株式会社	御殿場工場	硫酸コリスチン		硫酸コリスチン10%R	100		
神戸	株式会社科学飼料研究所	龍野工場	硫酸コリスチン		コリスチン10%G「明治」	100	
			リン酸タイロシン		タイロン275	275	
	日本イーライリリー株式会社	※	アピラマイシン	○	サーマックス200	200	
			ナラシン	○	モンテバン100	100	
		リン酸タイロシン		タイロン275	275		
福岡	株式会社科学飼料研究所	日向工場	硫酸コリスチン		硫酸コリスチン「科研」10%G	100	
	コーキン化学株式会社	九州工場	サリノマイシンナトリウム	○	コクスタック-100FA	100	
	ゾエティス・ジャパン株式会社	※	亜鉛バシトラシン	○	アエンバシトラシン100FA	100	4,200単位/g
○				アエンバシトラシン150FA	150	6,300単位/g	
計	9業者	10事業場			15銘柄		

※ 輸入業者に該当する。

## 2 特定添加物の種類別の検定合格件数等

平成 25 年度の特定添加物の種類別の検定合格件数、合格数量及び実量力価換算量の結果を平成 23 年度及び平成 24 年度の結果とともに表 2 に示した。なお、セデカマイシンは、平成 26 年 2 月 6 日付けで飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和 51 年農林省令第 35 号）が改正され、飼料添加物としての指定が取り消されている。

平成 25 年度の検定合格件数は 197 件（申請 197 件）で不合格のものはなく、合格数量は 922 トン、実量力価換算量は 108 トン（力価）であった。それぞれの対前年度比は 104 %、97 %、99 % となり、件数は増加したが、数量及び実量力価換算量はわずかに減少した。

特定添加物の種類別の検定合格数量総計に占める割合は、サリノマイシンナトリウムが 33 %（前年度 25 %）で最も多く、次いで硫酸コリスチンが 24 %（前年度 25 %）、ナラシンが 21 %（前年度 31 %）、アピラマイシンが 11 %（前年度 8 %）、亜鉛バシトラシンが 5 %（前年度 6 %）となった。また、実量力価換算量総計に占める割合は、サリノマイシンナトリウムが 29 %（前年度 22 %）で最も多く、次いで硫酸コリスチンが 20 %（前年度 22 %）、アピラマイシンが 19 %（前年度 14 %）、ナラシンが 18 %（前年度 27 %）、亜鉛バシトラシンが 5 %（前年度 6 %）となった。

検定合格数量及び実量力価換算量を前年度と比較すると、クロルテトラサイクリン、リン酸タイロシン、フラボフォスフォリポール、サリノマイシンナトリウム、アピラマイシンは増加し、一方、亜鉛バシトラシン、硫酸コリスチン、モネンシンナトリウム及びナラシンは減少した。

また、前年度検定実績があったノシヘプタイド及びアルキルトリメチルアンモニウムカルシウムオキシテトラサイクリンは実績がなかった。エンラマイシン、センデュラマイシンナトリウム及びラサロドナトリウムは平成 22 年度から、バージニアマイシンは平成 20 年度から、エフロトマイシン及びセデカマイシンは平成 17 年度から、ビコザマイシンは平成 11 年度から検定実績がなく、平成 25 年度も実績がなかった。

なお、エンラマイシン、ノシヘプタイド、センデュラマイシンナトリウム及びピラサロシドナトリウムは検定実績はなかったが、表 5 に示したように、登録特定飼料等製造業者による製造実績があった。

表 2 検定合格件数、合格数量及び実量力価換算量（種類別）  
（平成 23 年度～平成 25 年度）

類 別	特 定 添 加 物 の 種 類	平成23年度					平成24年度					平成25年度				
		合格 件数 (件)	合格数量 (kg)	構成 比 (%)	実量力価 換算量 (kg(力価))	構成 比 (%)	合格 件数 (件)	合格数量 (kg)	構成 比 (%)	実量力価 換算量 (kg(力価))	構成 比 (%)	合格 件数 (件)	合格数量 (kg)	構成 比 (%)	実量力価 換算量 (kg(力価))	構成 比 (%)
ポリペプチド系	亜鉛バシトラン	11	49,880	5	5,984	5	10	54,780	6	6,220	6	8	44,920	5	5,241	5
	エンラマイシン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	硫酸コリスチン	55	220,000	22	22,000	20	60	236,200	25	23,620	22	56	220,320	24	22,032	20
	バージニアマイシン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ノシヘプタイド	22	79,760	8	3,190	3	2	8,000	1	320	0	-	-	-	-	-
	小 計	88	349,640	35	31,174	28	72	298,980	31	30,160	28	64	265,240	29	27,273	25
テトラサイクリン系	クロルテラサイクリン	2	8,000	1	800	1	3	12,000	1	1,200	1	4	16,000	2	1,600	1
	アルキルトリホルアンモニウムカルシウムオキシテラサイクリン	2	4,000	0	1,600	1	1	2,000	0	800	1	-	-	-	-	-
	小 計	4	12,000	1	2,400	2	4	14,000	1	2,000	2	4	16,000	2	1,600	1
マクロライド系	リン酸タイロシン	5	19,609	2	5,393	5	4	19,700	2	5,418	5	4	20,262	2	5,572	5
	セデカマイシン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	小 計	5	19,609	2	5,393	5	4	19,700	2	5,418	5	4	20,262	2	5,572	5
ポリサッカライド系	フラボフォスフォルボール	-	-	-	-	-	1	1,250	0	100	0	1	2,500	0	200	0
	小 計	-	-	-	-	-	1	1,250	0	100	0	1	2,500	0	200	0
ポリエーテル系	モネンシンナトリウム	3	9,260	1	1,852	2	3	10,860	1	2,172	2	2	7,940	1	1,588	1
	サリノマイシンナトリウム	64	250,612	25	25,061	22	58	235,178	25	23,518	22	76	308,122	33	30,812	29
	ラサロシドナトリウム	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	センデュラマイシンナトリウム	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ナラシン	23	251,875	25	25,188	23	27	296,275	31	29,628	27	18	197,625	21	19,763	18
	小 計	90	511,747	51	52,101	47	88	542,313	57	55,317	51	96	513,687	56	52,163	48
その他	アピラマイシン	28	103,975	10	20,795	19	21	77,825	8	15,565	14	28	104,200	11	20,840	19
	ピコザマイシン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	エフロトマイシン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	小 計	28	103,975	10	20,795	19	21	77,825	8	15,565	14	28	104,200	11	20,840	19
総 計		215	996,971	100	111,863	100	190	954,068	100	108,560	100	197	921,889	100	107,648	100
対前年度比 (%)		111	108	108	108	88	96	97	104	97	99	99	99	99	99	99

### 3 特定添加物の精製級及び飼料級別の検定合格件数等

特定添加物は、培養後の製造方法の違いにより、精製級と飼料級に区分される。前者は、抗生物質の有効成分のみを培養液から抽出及び精製した高純度の製造用原体に由来するもので、後者は、抗生物質の有効成分、製造に用いた培地成分及び菌体成分を含む培養液を乾燥した低純度の製造用原体に由来するものである。

平成 25 年度の特定添加物の精製級及び飼料級別の検定合格件数、合格数量及び実量力価換算量を表 3 に示した。

精製級と飼料級の割合を検定合格数量で比較すると、飼料級が全体の 73 %（前年度 72 %）を占めた。また、実量力価換算量で比較しても、同様に飼料級が全体の 73 %（前年度 71 %）を占めた。

ノシヘプタイド、硫酸コリスチン及びサリノマイシンナトリウムは、精製級と飼料級の両規格

がそれぞれ設定されているが、平成 25 年度は、硫酸コリスチンは精製級のみ、クロルテトラサイクリン及びサリノマイシンナトリウムは飼料級のみ検定実績があった。

表 3 検定合格件数、合格数量及び実量力価換算量（精製級・飼料級別）  
（平成 25 年度）

類 別	特定添加物の種類	精 製 級			飼 料 級		
		合格 件数 (件)	合格数量 (kg)	実量力価 換算量 (kg(力価))	合格 件数 (件)	合格数量 (kg)	実量力価 換算量 (kg(力価))
ポリペプチド系	亜鉛バシトラシン	/	/	/	8	44,920	5,241
	エンラマイシン	/	/	/	-	-	-
	ノシヘプチド	-	-	-	-	-	-
	バージニアマイシン	-	-	-	/	/	/
	硫酸コリスチン	56	220,320	22,032	-	-	-
テトラサイクリン系	アルキルトリメチルアンモニウムカルシウムオキシテトラサイクリン	-	-	-	/	/	/
	クロルテトラサイクリン	/	/	/	4	16,000	1,600
マクロライド系	セデカマイシン	-	-	-	/	/	/
	リン酸タイロシン	4	20,262	5,572	/	/	/
ポリサッカライド系	フラボフォスフォリボール	/	/	/	1	2,500	200
ポリエーテル系	サリノマイシンナトリウム	-	-	-	76	308,122	30,812
	センデュラマイシンナトリウム	-	-	-	/	/	/
	ナラシン	/	/	/	18	197,625	19,763
	モネンシンナトリウム	2	7,940	1,588	/	/	/
	ラサロシドナトリウム	-	-	-	/	/	/
その他	アビラマイシン	/	/	/	28	104,200	20,840
	エフロトマイシン	-	-	-	/	/	/
	ピコザマイシン	-	-	-	/	/	/
合 計		62	248,522	29,192	135	673,367	78,456
割 合 (%)		31	27	27	69	73	73

#### 4 特定添加物の類別の検定合格数量等の推移

平成 16 年度から平成 25 年度までの過去 10 年間における特定添加物の類別の検定合格数量及び実量力価換算量の推移をそれぞれ図 1 及び図 2 に示した。

検定合格数量全体では、平成 16 年度から平成 20 年度までは増減を繰り返しながら減少傾向にあったが、平成 21 年度には一部の特定添加物が登録特定飼料等製造業者による製造に移行したため大きく減少し、それ以降はほぼ横ばいである。また、実量力価換算量についても同様の傾向であった。

特定添加物の類別の検定合格数量は、いずれの年度もポリエーテル系が最も多く、全体の 50 %前後を占める割合で推移している。平成 25 年度はポリエーテル系が全体の 56 %（前年度 57 %）、次いでポリペプチド系が 29 %（前年度 31 %）を占めた。

また、実量力価換算量でも同様にポリエーテル系が最も多く、平成 16 年度から平成 20 年度までは全体の 50 %以上を占める割合で推移し、平成 21 年度以降も 40 %以上を維持している。平成 25 年度はポリエーテル系が全体の 48 %（前年度 51 %）、次いでポリペプチド系が 25 %（前年度 28 %）を占めた。

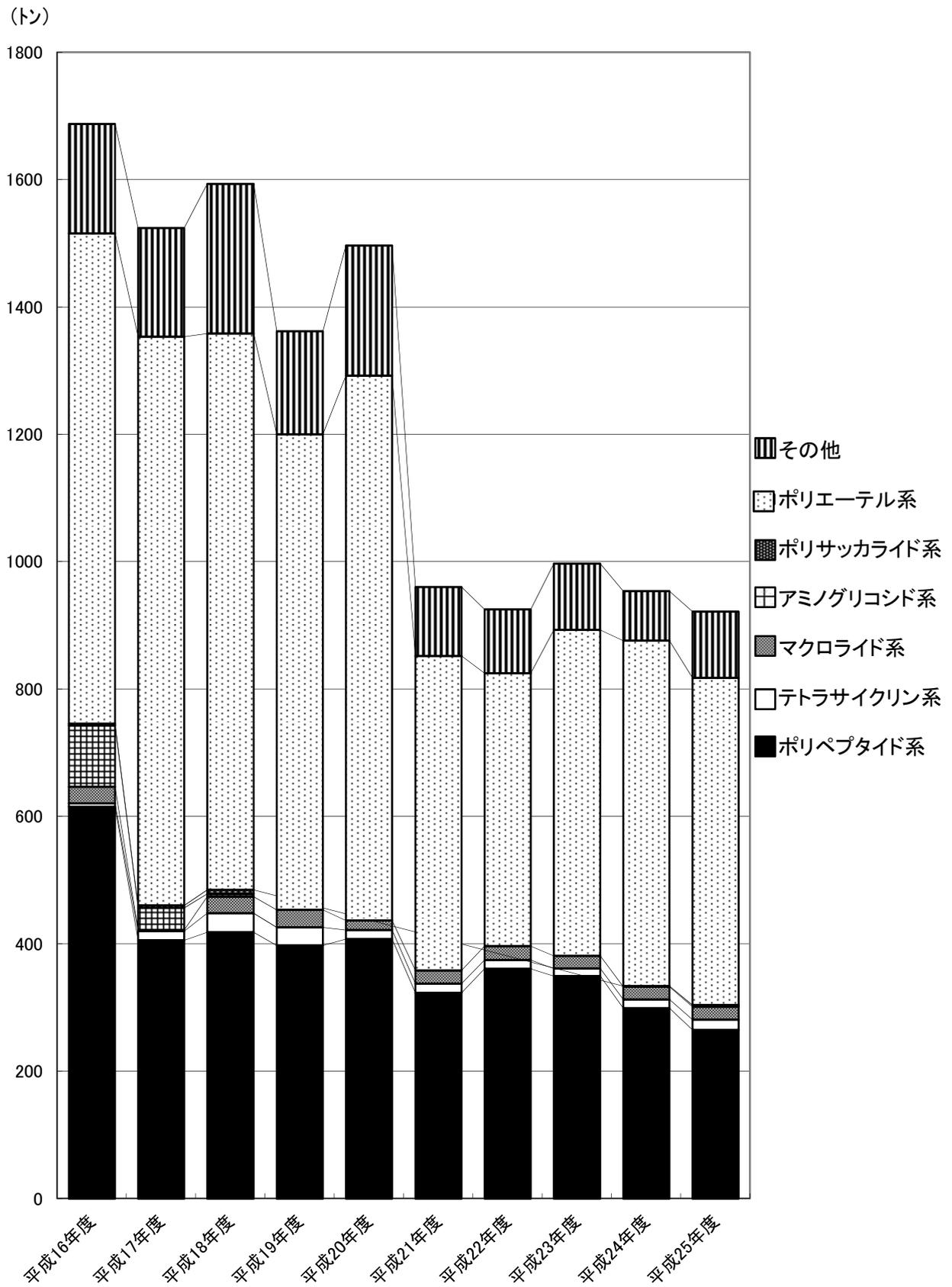


図1 特定添加物の検定合格数量の推移(類別)

(トン(力価))

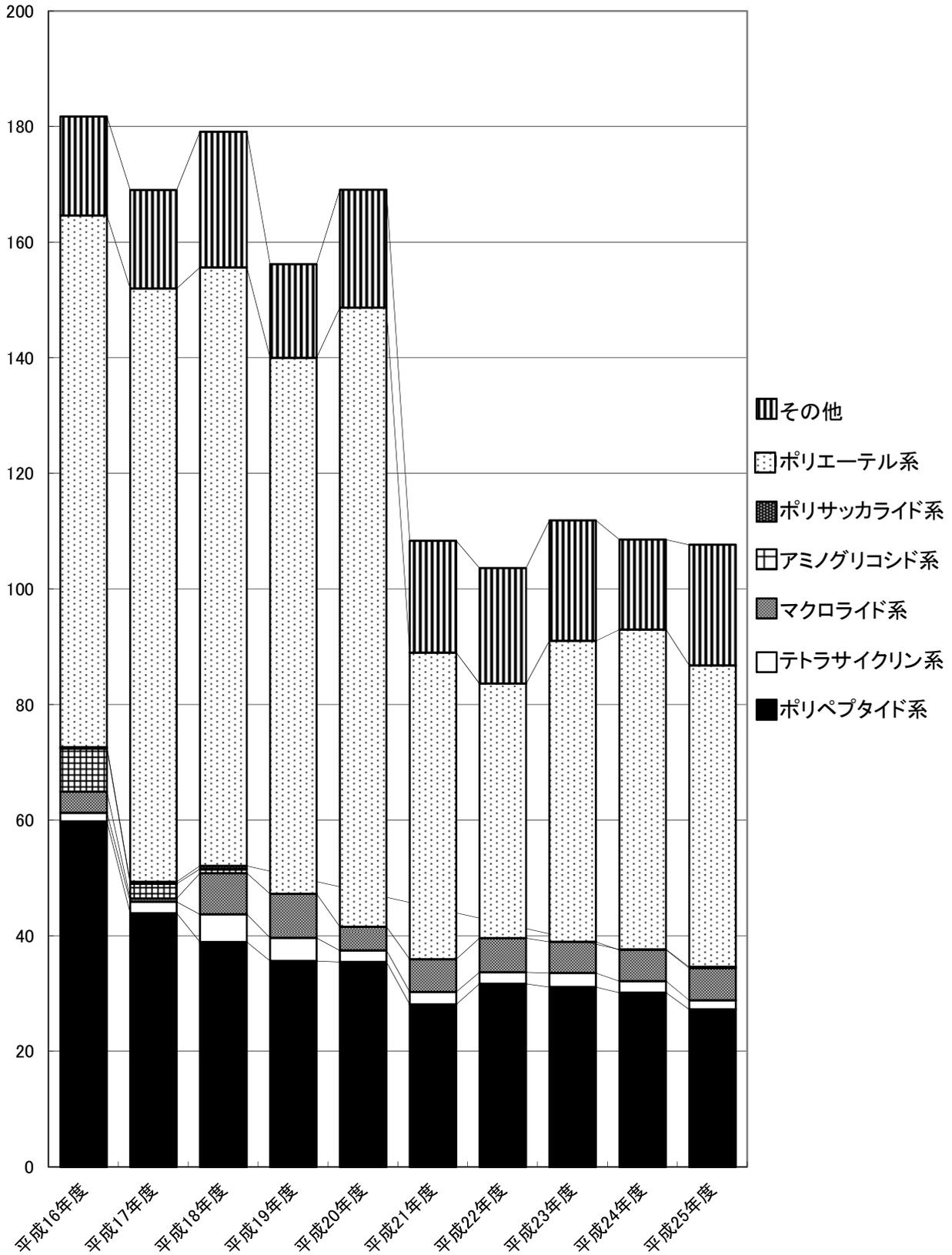


図2 特定添加物の検定合格実量力価換算量の推移(類別)

5 管内別の特定添加物の検定合格件数等

平成 25 年度の FAMIC 本部及び各地域センター管内別の特定添加物の検定合格件数，合格数量及び実量力価換算量を表 4 に示した。

平成 25 年度の合格件数，合格数量及び実量力価換算量は，神戸センター管内が最も多く，次いで福岡センター管内，本部管内の順となった。

合格件数，合格数量及び実量力価換算量は，本部及び福岡センター管内では前年度より増加し，神戸センター管内では減少した。

なお，札幌センター管内は平成 17 年度から，仙台センター管内は平成 7 年度から，名古屋センター管内は平成 19 年度から検定実績がなく，平成 25 年度も実績はなかった。

表 4 検定合格件数,合格数量及び実量力価換算量（管内別）  
（平成 25 年度）

管 内	合格件数 (件)	合格数量 (kg)	実量力価換算量 (kg(力価))
本部	55 (45)	222,042 (179,288)	22,948 (18,990)
札幌	- (-)	- (-)	- (-)
仙台	- (-)	- (-)	- (-)
名古屋	- (-)	- (-)	- (-)
神戸	79 (88)	433,867 (533,800)	57,353 (64,610)
福岡	63 (57)	265,980 (240,980)	27,347 (24,960)
計	197 (190)	921,889 (954,068)	107,648 (108,560)

注：（ ）内の数値は，平成 24 年度を示す。

6 登録特定飼料等製造業者による特定添加物の製造数量等

平成 26 年 3 月末現在，コーキン化学株式会社九州工場第三工場がセンデュラマイシンナトリウム及びノシヘプタイド，株式会社科学飼料研究所龍野工場が，サリノマイシンナトリウム，モネンシンナトリウム，ラサロシドナトリウム，エンラマイシン，硫酸コリスチン及びノシヘプタイドに係る登録特定飼料等製造業者の事業場として登録されている。

平成 25 年度の登録特定飼料等製造業者による特定添加物の製造数量及び実量力価換算量を表 5 に示した。なお，平成 25 年度に特定添加物としての検定実績がないセンデュラマイシンナトリウム，ノシヘプタイド，ラサロシドナトリウム及びエンラマイシンは，登録特定飼料等製造業者による製造実績があった。

平成 25 年度の登録特定飼料等製造業者による特定添加物の製造数量は 685 トン（対前年度比 95 %），実量力価換算量は 92 トン(力価)（対前年度比 103 %）であった。

平成 25 年度の製造数量は，モネンシンナトリウム，サリノマイシンナトリウム（飼料級），

ラサロシドナトリウム、エンラマイシン、ノシヘプタイド（飼料級）、センデュラマイシンナトリウム及び硫酸コリスチン（精製級）の順に多かった。

また、実量力価換算量は、モネンシンナトリウム、ラサロシドナトリウム、サリノマイシンナトリウム（飼料級）、エンラマイシン、ノシヘプタイド（飼料級）、センデュラマイシンナトリウム及び硫酸コリスチン（精製級）の順に多かった。

表 5 登録特定飼料等製造業者による製造数量等  
(平成 25 年度)

類別	特定添加物の種類	製造数量 (kg)	実量力価換算量 (kg(力価))
ポリペプチド系	エンラマイシン	63,120	5,050
	硫酸コリスチン(精製級)	4,100	410
	ノシヘプタイド(飼料級)	57,720	2,309
	小 計	124,940	7,768
ポリエーテル系	サリノマイシンナトリウム(飼料級)	191,700	19,170
	センデュラマイシンナトリウム	17,600	880
	モネンシンナトリウム	222,380	44,476
	ラサロシドナトリウム	128,480	19,272
	小 計	560,160	83,798
総 計		685,100	91,566
対前年度比(%)		95	103

(各登録特定飼料等製造業者より聞き取り)

## 7 特定添加物の総製造数量等

平成 25 年度の特定添加物の検定合格数量と登録特定飼料等製造業者による製造数量を合計した総製造等数量及び総実量力価換算量を表 6 に示した。

平成 25 年度の総製造等数量を類別にみると、ポリエーテル系が最も多く、1,074 トン（検定：514 トン、登録：560 トン）と全体の 67 %を占め、種類別ではサリノマイシンナトリウム（31 %）、モネンシンナトリウム（14 %）、硫酸コリスチン（14 %）の順に多かった。また、総実量力価換算量を類別にみると、同様にポリエーテル系が 136 トン（検定：52 トン、登録：84 トン）と全体の 68 %を占め最も多く、種類別ではサリノマイシンナトリウム（25 %）、モネンシンナトリウム（23 %）、硫酸コリスチン（11 %）の順に多かった。

次に、平成 16 年度から平成 25 年度までの過去 10 年間における特定添加物の総製造等数量及び総実量力価換算量の類別の推移をそれぞれ図 3 及び図 4 に示した。

平成 19 年度から一部の特定添加物が登録特定飼料等製造業者による製造に移行し、平成 21 年度からは大幅に移行している。

総製造等数量は、平成 16 年度から平成 21 年度までは増減を繰り返しながら減少傾向にあった

が、平成 22 年度に増加し、それ以降はほぼ横ばいである。総実量力価換算量も、平成 16 年度から平成 21 年度までは増減を繰り返しながら減少傾向にあったが、平成 22 年度に増加し、それ以降はわずかに増加傾向にある。

また、平成 25 年度において、全体のうち登録特定飼料等製造業者による製造が占める割合は、製造数量では 43 %（前年度 43 %），実量力価換算量では 46 %（前年度 45 %）であった。

表 6 特定添加物の総製造等数量等  
（平成 25 年度）

類別	特定添加物の種類	総製造等数量 <sup>※1</sup>		総実量力価換算量 <sup>※2</sup>	
		(kg)	構成比 (%)	(kg(力価))	構成比 (%)
ポリペプチド系	亜鉛バシトラシン	44,920	3	5,241	3
	エンラマイシン	63,120	4	5,050	3
	硫酸コリスチン	224,420	14	22,442	11
	バージニアマイシン	-	-	-	-
	ノシヘプチド	57,720	4	2,309	1
	小 計	390,180	24	35,041	18
テトラサイクリン系	クロルテトラサイクリン	16,000	1	1,600	1
	アルキルリメチルアンモニウムカルシウムオキシテトラサイクリン	-	-	-	-
	小 計	16,000	1	1,600	1
マクロライド系	リン酸タイロシン	20,262	1	5,572	3
	セデカマイシン	-	-	-	-
	小 計	20,262	1	5,572	3
ポリサッカライド系	フラボフォスフォリポール	2,500	0	200	0
	小 計	2,500	0	200	0
ポリエーテル系	モネンシンナトリウム	230,320	14	46,064	23
	サリノマイシンナトリウム	499,822	31	49,982	25
	ラサロシドナトリウム	128,480	8	19,272	10
	センデュラマイシンナトリウム	17,600	1	880	0
	ナラシン	197,625	12	19,763	10
	小 計	1,073,847	67	135,961	68
その他	アピラマイシン	104,200	6	20,840	10
	ピコザマイシン	-	-	-	-
	エフロトマイシン	-	-	-	-
	小 計	104,200	6	20,840	10
総 計		1,606,989	100	199,214	100

※1 検定合格数量と登録特定飼料等製造業者による製造数量の総計

※2 検定合格数量と登録特定飼料等製造業者による製造の実量力価換算量の総計

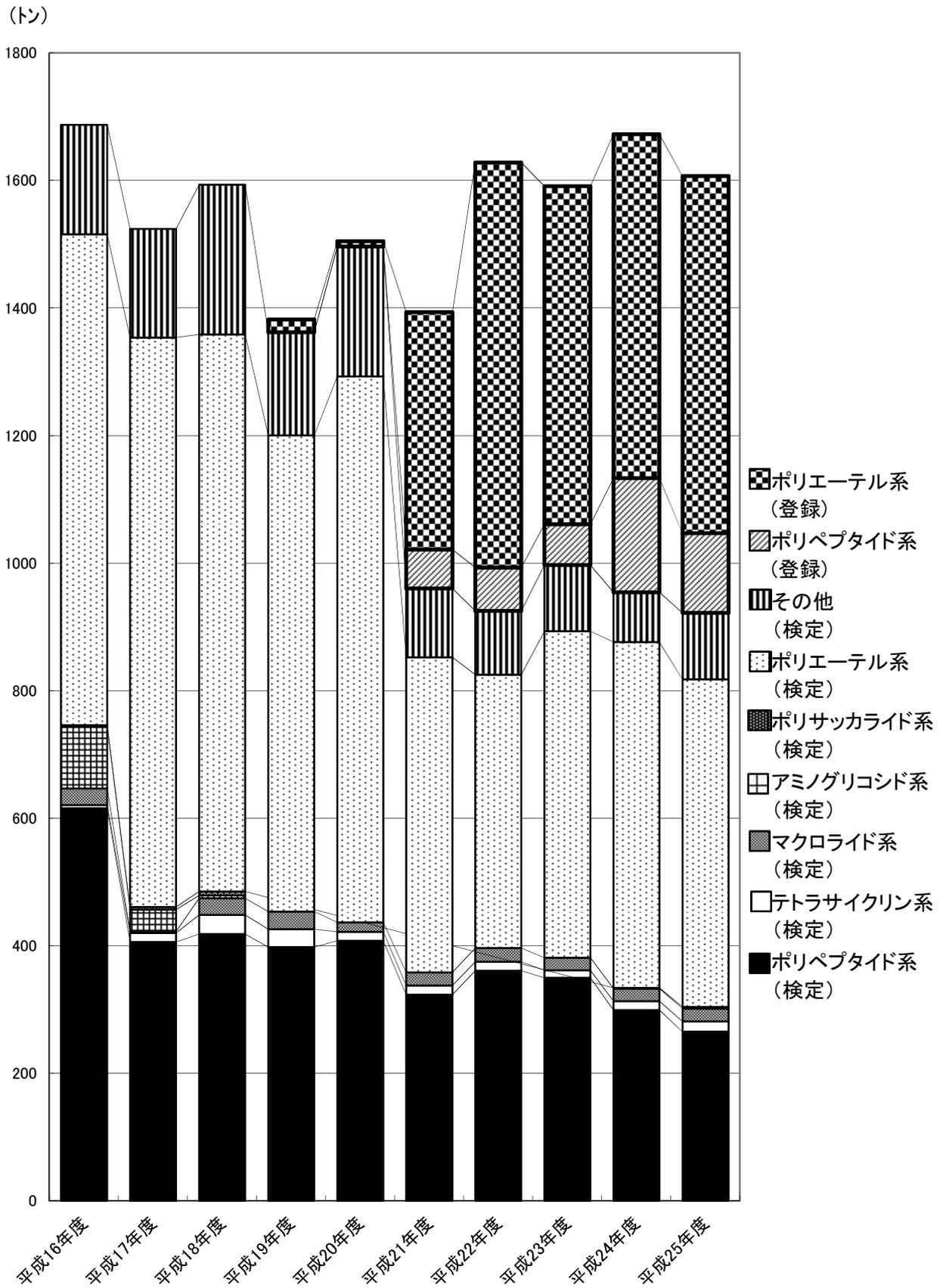


図3 特定添加物の総製造等数量の推移(類別)

(トン(力価))

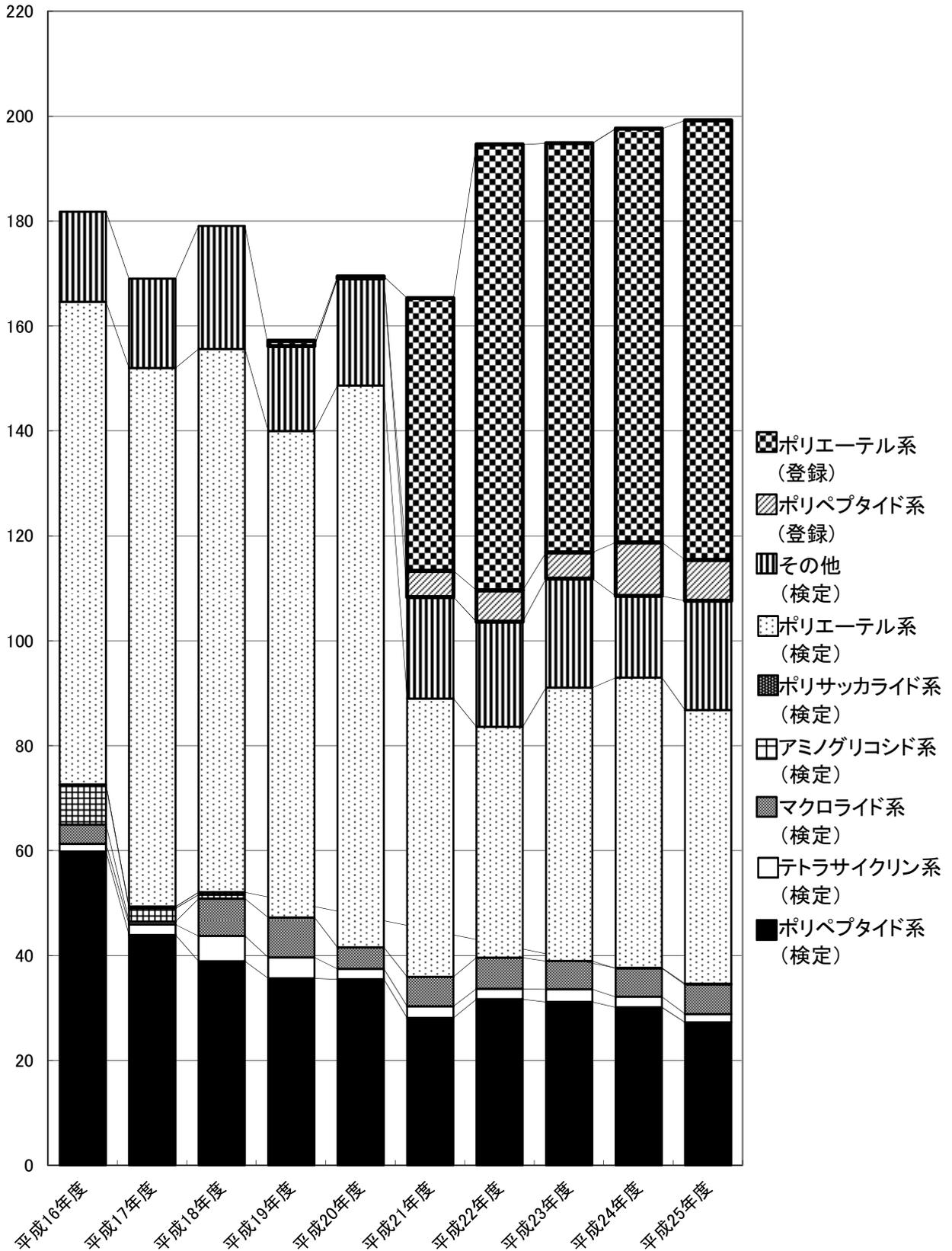


図4 特定添加物の製造等の総実量力価換算量の推移(類別)

## 8 要 約

平成 25 年度の特定添加物の検定及び登録特定飼料等製造業者による製造の結果は、以下のとおりである。

- (1) 特定添加物の検定は、9 業者から、9 種類の特定添加物について、15 銘柄の申請があった。その全てが、製造用原体又は製剤の製造を海外に依存していた。
- (2) 特定添加物の検定合格件数は 197 件（申請 197 件）、合格数量は 922 トン、実量力価換算量は 108 トン（力価）で、前年度に比べて、件数は増加したが、数量及び実量力価換算量は減少した。なお、不合格はなかった。
- (3) 特定添加物の検定合格数量を種類別にみると、サリノマイシンナトリウムが最も多く、硫酸コリスチン、ナラシンがこの順で続いた。
- (4) 検定に合格した特定添加物の実量力価換算量を種類別にみると、サリノマイシンナトリウムが最も多く、硫酸コリスチン、アピラマイシンがこの順で続いた。
- (5) 特定添加物の検定合格数量及び実量力価換算量について、精製級と飼料級の割合を比較すると、共に飼料級が全体の 73 %を占めた。
- (6) 特定添加物の検定合格件数、合格数量及び実量力価換算量を管内別にみると、全て神戸センターが最も多かった。
- (7) 登録特定飼料等製造業者による特定添加物の製造数量を種類別にみると、モネンシンナトリウムが最も多く、サリノマイシンナトリウム、ラサロシドナトリウムがこの順で続いた。
- (8) 登録特定飼料等製造業者により製造された特定添加物の実量力価換算量を種類別にみると、モネンシンナトリウムが最も多く、ラサロシドナトリウム、サリノマイシンナトリウムがこの順で続いた。
- (9) 特定添加物の検定合格数量と登録特定飼料等製造業者による製造数量とを合計した総製造等数量を種類別にみると、サリノマイシンナトリウム、モネンシンナトリウム、硫酸コリスチンの順に多く、総実量力価換算量でも同様であった。

**調査資料**

### 3 アフラトキシン定性用キットについて

#### Assessment of Qualitative Immunoassay Kits for Screening Test of Aflatoxin

肥飼料安全検査部 飼料鑑定第一課

#### 1 はじめに

配混合飼料の主原料として用いられるとうもろこしは、産地における干ばつ等の気象条件の影響等を受け、カビ毒として知られるアフラトキシンに汚染されることがある。飼料の製造業者等においては、「飼料の有害物質の指導基準」<sup>1)</sup>に定められたアフラトキシン B<sub>1</sub>の基準値を超える飼料を販売することがないように、「飼料等への有害物質混入防止のための対応ガイドライン」<sup>2)</sup>に基づき、アフラトキシン簡易検査用キット等を用いた飼料原料等の品質管理に取り組まれることが想定される。

このような状況の下、独立行政法人農林水産消費安全技術センターでは、国内で入手可能であったアフラトキシン定性用キット（以下、「キット」という。）から汎用性及び迅速性を重視するものを選択し、飼料原料であるとうもろこし及びとうもろこし加工副産物（コーングルテンフィード、コーングルテンミール及びとうもろこしジスチラーズグレインソリュブル）を試料に用い、各キットの適用性等を調査したので、その概要を報告する。

なお、今回の調査目的は、各キットの優劣を評価することではなく、飼料の製造業者等がキットの選択にあたり、その一助となることを意図したものである。

#### 2 方 法

##### 2.1 アフラトキシン定性用キット

市販されているキットを調査し、国内で入手できないもの及び専用機器（リーダー等）を必要とするものを除き、以下の5社7種のキットを選択した。調査対象としたキットの概要は表1のとおりであった。

キットA～Bはメンブラン式ELISA法（競合法）、キットC～Gはイムノクロマト法（競合法）の原理に基づくものであった。

キットA AFLACARD B<sub>1</sub> (R-Biopharm Rhône 社)

キットB AFLACARD Total (R-Biopharm Rhône 社)

キットC AflaCHECK<sup>TM</sup> (Vicam 社)

キットD AgraStrip<sup>TM</sup> Afla 10 (Romer Labs 社)

キットE AgraStrip<sup>TM</sup> Afla 20 (Romer Labs 社)

キットF QuickTox<sup>TM</sup> for Aflatoxin (Envirologix 社)

キットG Reveal for Aflatoxin (Neogen 社)

##### 2.2 アフラトキシンの対象成分

キットAはアフラトキシン B<sub>1</sub>、キットFはアフラトキシン B<sub>1</sub>及び B<sub>2</sub>、キットB、C、D、E及

び G はアフラトキシン B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> 及び G<sub>2</sub> の総量 (以下, 「総アフラトキシン」という.) を検出対象成分としている. 今回は, 飼料を調査対象としたことから, 「飼料の有害物質の指導基準」が規制対象とするアフラトキシン B<sub>1</sub> のみを対象成分とした.

なお, 「飼料の有害物質の指導基準」におけるアフラトキシン B<sub>1</sub> の基準値は, ほ乳期子牛用, 乳用牛用, ほ乳期子豚用, 幼すう用及びブロイラー前期用の配合飼料が 0.01 mg/kg, 牛用 (ほ乳期子牛用及び乳用牛用を除く), 豚用 (ほ乳期子豚用を除く), 鶏用 (幼すう用及びブロイラー前期用) 及びうずら用の配合飼料が 0.02 mg/kg である.

### 2.3 対象試料

すべてのキットが適用対象としているとうもろこしのほか, とうもろこし加工副産物 (コーングルテンフィード, コーングルテンミール及びとうもろこしジスチラーズグレインソリュブル) を対象試料とした. 各試料は, 1 mm の網ふるいを通過するまで粉碎した.

アフラトキシンに汚染されていないものをブランク試料, アフラトキシン B<sub>1</sub> に汚染されていた 3 種のとうもろこしを自然汚染とうもろこし A (アフラトキシン B<sub>1</sub> の定量値: 4 µg/kg), B (同: 15 µg/kg) 及び C (同: 33 µg/kg) とした. なお, アフラトキシン B<sub>1</sub> の含量は「飼料分析基準」<sup>3)</sup> の高速液体クロマトグラフ法により確認した.

### 2.4 アフラトキシン標準液

アフラトキシン B<sub>1</sub> 溶液 (マイコトキシン試験用, 2 µg/mL アセトニトリル溶液 (和光純薬工業製)) をアフラトキシン標準液とした.

アフラトキシン標準液はマイクロピペットを用いて適量を抽出用容器に添加し, 窒素ガスを用いて溶媒を除去した後, 抽出操作を実施した.

### 2.5 飼料原料に対する適用性等の確認

各キットの飼料原料に対する適用性等は, 以下 1)~4) に示した方法で確認した. キットの試料溶液の調製方法, 操作手順等は各キットの取扱説明書に準拠した. なお, 2 種類の抽出溶媒が記されたキットは, メタノール系のものを用いた.

キットの個番 (1~5) 毎の結果は, まず判定者 3 名がそれぞれ陽性 (+), 陰性 (-) 又は陽性とも陰性とも判断しにくい (±) と判定した. 次に (±) はキットの取扱説明書に準拠して陰性 (-) とし, 判定者 3 名による判定者別判定結果において優位であった結果をキットの個番別判定結果とした. 更に 5 組の個番別判定結果において優位であった結果をキットの最終判定結果とした. 表 3~5 のキットの信頼性では, 個番別判定結果及び最終判定結果のみを示した. また, 表 6 のキットの目視判定差では, 判定者 3 名による判定者別判定結果とそれから導き出された個番別判定結果及び最終判定結果を示した.

なお, 各キットが検出可能とする最低濃度 (µg/kg) を検出限界, 試料溶液の希釈等によって検出可能となる濃度を閾値濃度 (µg/kg) と表現した.

#### 1) 試料に対する適用性

とうもろこし及びとうもろこし加工副産物のブランク試料を用いて調製した試料溶液 (単回抽出) に対して各キット 5 個を試行し, 各キットの個番別判定結果等から, 試料に対する適用性を確認した.

#### 2) 閾値濃度に対する信頼性

検出限界を 10 µg/kg 以下とするキット A~D は, アフラトキシン B<sub>1</sub> の閾値濃度を 10 µg/kg に想定し, また, 検出限界を 20 µg/kg 以下とするキット A~G は, 閾値濃度を 20 µg/kg に想定

し、試験を実施した。

各キットの閾値濃度（アフラトキシン B<sub>1</sub>として 10 又は 20µg/kg）に対し、その前後の濃度（アフラトキシン B<sub>1</sub>として 8 及び 12 又は 16 及び 24 µg/kg）となるように、ブランク試料にアフラトキシン B<sub>1</sub> 標準液を添加して調製した試料溶液（単回抽出）に対して各キット 5 個を試行し、各キットの閾値濃度前後における個番別判定結果等から、閾値濃度に対する信頼性を確認した。

### 3) 自然汚染とうもろこしに対する信頼性

検出限界を 10 µg/kg 以下とするキット A～D は、自然汚染とうもろこし A 及び B を用いてアフラトキシン B<sub>1</sub> の閾値濃度を 10 µg/kg に想定して調製した試料溶液（反復抽出）に対し、また、検出限界を 20 µg/kg 以下とするキット A～G は、自然汚染とうもろこし B 及び C を用いて閾値濃度 20 µg/kg に想定して調製した試料溶液（反復抽出）に対して各キット 5 個を試行し、各キットの個番別判定結果等から、自然汚染とうもろこしに対する信頼性を確認した。

なお、試料採取量に対する抽出溶媒の液量は、キット A～B が 10 g に対して 20 mL、キット C が閾値濃度 10 µg/kg では 5 g に対して 10 mL、20 µg/kg では 5 g に対して 20 mL としたが、キット D～G は各キットの取扱説明書に準拠した。

### 4) 目視判定差等

2.5 2) 閾値濃度に対する信頼性を確認したとうもろこしの個番別判定結果について、判定者 3 名による判定者別判定結果を詳細に示し、判定者間の目視による判定差、各キット間の判定傾向等を確認した。

## 3 結 果

### 3.1 定性用キットの試料に対する適用性

各ブランク試料に対して各キットを試行し、得られた個番別判定結果を表 2 に示した。

とうもろこしを対象とした場合には、いずれのキットも適用性には問題がなかった。

コーングルテンフィードを対象とした場合には、キット A 及び B はシートがスポット呈色と類似色となる、キット F はテストラインの呈色が不明瞭である等の難点があったが、キット A、B 及び F の適用性には問題がなかった。しかし、キット C 及び G はコントロールラインが呈色しない、キット E (D) は試料溶液がテストラインまでに到達しない等の特異性が認められ、キット C、E (D) 及び G の適用性には問題があった。

コーングルテンミールを対象とした場合には、キット C 及び F はテストラインの呈色が薄い、キット G はコントロールライン及びテストラインの呈色が薄い等の難点があったが、キット A、B、C、F 及び G の適用性には問題がなかった。しかし、キット E (D) は、試料溶液がテストラインまでに到達しない特異性が認められ、適用性には問題があった。

また、とうもろこしジスチラーズグレインソリュブルを対象とした場合には、キット A は試料用スポットの呈色が不明瞭、キット F はテストラインの呈色が薄い等の難点があったが、キット A、B 及び F の適用性には問題はなかった。キット C 及び G はコントロールラインが呈色しない、キット E (D) は試料溶液がテストラインまでに到達しない等の特異性が認められ、キット C、E(D)及び G の適用性には問題があった。

なお、キット D はキット E と製造業者が同一であり、検出限界が異なるのみで適用性は同じと考え、キット E の結果をもって判断した。

### 3.2 定性用キットの閾値濃度に対する信頼性

検出限界を 10 µg/kg 以下とするキット A~D について、アフラトキシン B<sub>1</sub> の閾値濃度を 10 µg/kg に想定し、その前後の濃度において各キットを試行して得られた個番別判定結果を表 3 に示した。また、検出限界を 20 µg/kg 以下とするキット A~G について、閾値濃度を 20 µg/kg に想定し、その前後の濃度において各キットを試行して得られた個番別判定結果を表 4 に示した。

表 3 のとおり、アフラトキシン B<sub>1</sub> の閾値濃度を 10 µg/kg に想定し、とうもろこしを対象とした場合には、試行したキット A~D のうちキット A のみで期待される結果が得られた。しかし、そのほかのキットでは、試料濃度 12 µg/kg において陰性と判定され、期待に反する結果が得られた。

また、表 4 のとおり、閾値濃度を 20 µg/kg に想定し、とうもろこしを対象とした場合には、試行したキット A~G のうちキット A, D 及び E で、コーングルテンミールを対象とした場合には、キット F のみで期待される結果が得られた。しかし、そのほかのキットでは、試料濃度 16 µg/kg において陽性あるいは試料濃度 24 µg/kg において陰性と判定され、期待に反する結果が得られた。

### 3.3 定性用キットの自然汚染とうもろこしに対する信頼性

アフラトキシン B<sub>1</sub> の含量がそれぞれ 4, 15 及び 33 µg/kg の自然汚染とうもろこし A, B 及び C に対して各キットを試行し、得られた個番別判定結果を表 5 に示した。

アフラトキシン B<sub>1</sub> の閾値濃度を 10 µg/kg に想定して調製した試料溶液に対しては、とうもろこし A (4 µg/kg) では、すべてのキットで期待される結果が得られた。また、とうもろこし B (15 µg/kg) では、キット D のみで期待される結果が得られたが、これら以外のキットではすべて陰性と判定され、期待に反する結果が得られた。

また、閾値濃度を 20 µg/kg に想定して調製した試料溶液に対しては、とうもろこし B (15 µg/kg) では、キット F で陽性と判定されたほかは期待される結果が得られた。また、とうもろこし C (33 µg/kg) では、すべてのキットで期待される結果が得られた。

### 3.4 定性用キットの目視判定差等

表 3 及び 4 のとうもろこしの個番別判定結果について、判定者間の目視による判定差等を比較するために、表 6 に判定者 3 名の判定者別判定結果を示した。

判定者 3 名の判定者別判定結果はすべて一致することが多かったが、キット D において試行した試料濃度 12 µg/kg のように、判定者によって全く異なる判定結果となることもあった。また、判定者によって判定に偏りが認められることもあった。

なお、表 6 では、陽性とも陰性とも判断しにくい場合を (±) と表記したが、表 3 及び 4 では、これらをキットの取扱説明書に準拠して陰性 (-) と判定している。

## 4 考 察

調査対象としたキットはすべて、とうもろこしを適用対象としており、とうもろこしの適用性には問題がないと考えられた。しかし、とうもろこし以外のとうもろこし加工副産物を適用対象とした場合には、適用できないキットがあったことから、とうもろこし以外の試料を対象として期待される結果を得るためには、各試料に適したキットを選択し、「トウモロコシ中の総アフラトキシンの試験法について」<sup>4)</sup>に示された総アフラトキシン簡易測定装置の基準等に基づき、真度、選択性、特異性、頑健性、検出限界、定量限界等を改めて確認する必要がある。

各キットの閾値濃度付近での目視判定においては個人差が顕著であり、陽性とも陰性とも判断しにくい場合 (±) には陰性 (-) と判定することが推奨されるが、判定者が (±) の判定を陰性

(一) よりもむしろ陽性 (+) に近似することを意図していた場合には、最終判定結果が覆ることも想定される。したがって、重要な判定の際には、複数者によって判定することも必要と考えられた。

アフラトキシン等のかび毒は試料中に偏在することがあるために、サンプリングは非常に重要である。試料は「飼料等検査実施要領」<sup>5)</sup>、「飼料中の農薬の検査について」<sup>6)</sup>等に基づき、その粒度に応じてそのロットを代表するサンプリング方法で採取、縮分し、更に 1 mm の網ふるいを通すまで粉碎することによって均質性を確保することが重要である。

また、各キットが推奨する試料採取量は、表 1 のとおり、5 g から 50 g とキットによって幅があるが、Aflatoxin Handbook<sup>7)</sup>ではキット D~G の試料採取量を取扱説明書に準拠せず 50g と規定しているように、各キットにおいても「飼料分析基準」の液体クロマトグラフ法等に準拠して試料採取量を 50 g とし、アフラトキシンの検出精度を向上させることも重要と考えられた。

キットを用いるに当たっては、使用期限、判定時間等を厳守すると共に、抗原抗体反応の阻害、検出成分以外の成分との交差反応、物理的な非特異吸着、色素等による判定阻害、試料溶液の粘性等に留意し、試料に応じて、抽出液の pH 調整、クリーンアップ法の改善等も必要と考えられた。

キットの性能の判断基準においては、陰性の試料を陽性と判定すること（偽陽性）が多くても、陽性の試料を確実に陽性と判定し、陰性と判定すること（偽陰性）が少ないものを重視すべきと考えられた。

なお、キット A、D 及び E については、小西ら<sup>8)</sup>が実施した共同試験結果も参考とされたい。

## 文 献

- 1) 農林水産省畜産局長通知：飼料の有害物質の指導基準の制定について、昭和 63 年 10 月 14 日付け 63 畜 B 第 2050 号
- 2) 農林水産省消費・安全局長通知：飼料等への有害物質混入防止のための対応ガイドラインの制定について、平成 20 年 3 月 10 日付け 19 消安第 14006 号
- 3) 農林水産省消費・安全局長通知：飼料分析基準の制定について、平成 20 年 4 月 1 日付け 19 消安第 14729 号
- 4) 医薬食品局食品安全部監視安全課長通知：トウモロコシ中の総アフラトキシンの試験法について、平成 23 年 8 月 16 日付け食安監発 0816 第 7 号
- 5) 農林省畜産局長通知：飼料等検査実施要領の制定について、昭和 52 年 5 月 10 日付け 52 畜 B 第 793 号
- 6) 農林水産省消費・安全局畜産安全管理課長通知：飼料中の農薬の検査について、平成 18 年 5 月 26 日付け 18 消安第 2322 号
- 7) USDA Grain Inspection, Packers & Stockyard Administration : Aflatoxin Handbook, 06/28/2013
- 8) Yoshiko Sugita-Konishi, Shingo Niimi and Kei-ichi Sugiyama : An inter-laboratory study to validate quantitative and qualitative immunoassay kits for screening test of aflatoxin B1 in corn, Mycotoxins, 57, 75-80 (2007)

表 1 調査対象としたアフラトキシン定性用キットの概要

キット	定性用キットの名称 (製造業者名)	検出原理	検出対象とする成分	検出限界 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	操作方法		判定方法	判定条件	
					検出対象試料	抽出溶媒及びその量		陽性	陰性
A	AFLAGARD B1 (R-Biopharm Rhône 社)	メンブラン式 ELISA 法 (競合法)	アフラトキシン B <sub>1</sub>	2	50 g	メタノール-水(4+1) 100 mL	コントロールライン 呈色あり テストライン 呈色なし	コントロールライン 呈色あり テストライン 呈色なし	コントロールライン 呈色あり テストライン 呈色なし
B	AFLAGARD Total (R-Biopharm Rhône 社)	メンブラン式 ELISA 法 (競合法)	総アフラトキシン (B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> , G <sub>2</sub> )	2	50 g	メタノール-水(4+1) 100 mL	コントロールライン 呈色あり テストライン 呈色なし	コントロールライン 呈色あり テストライン 呈色なし	コントロールライン 呈色あり テストライン 呈色なし
C	AflaCHECK™ (Vicam社)	イムノクロマト法 (競合法)	総アフラトキシン (B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> , G <sub>2</sub> )	10	5 g	メタノール-水(7+3) 20 mL	コントロールライン 呈色あり テストライン 呈色なし	コントロールライン 呈色あり テストライン 呈色なし	コントロールライン 呈色あり テストライン 呈色なし
D	AgraStrip™ Afla 10 (Romer Labs社)	イムノクロマト法 (競合法)	総アフラトキシン (B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> , G <sub>2</sub> )	10	10 g	メタノール-水(7+3) or エタノール-水(1+1) 20 mL	コントロールライン 呈色あり テストライン 呈色なし	コントロールライン 呈色あり テストライン 呈色なし	コントロールライン 呈色あり テストライン 呈色なし
E	AgraStrip™ Afla 20 (Romer Labs社)	イムノクロマト法 (競合法)	総アフラトキシン (B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> , G <sub>2</sub> )	20	10 g	メタノール-水(7+3) 20 mL	コントロールライン 呈色あり テストライン 呈色なし	コントロールライン 呈色あり テストライン 呈色なし	コントロールライン 呈色あり テストライン 呈色なし
F	QuickTox™ For Aflatoxin (Envirologix社)	イムノクロマト法 (競合法)	アフラトキシン B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub>	20	10-50 g	メタノール-水(7+3) (or エタノール-水(1+1)) 試料採取量の2倍	コントロールライン 呈色あり テストライン 呈色なし	コントロールライン 呈色あり テストライン 呈色なし	コントロールライン 呈色あり テストライン 呈色なし
G	Reveal For Aflatoxin (Neogen社)	イムノクロマト法 (競合法)	総アフラトキシン (B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> , G <sub>2</sub> )	20	10 g	メタノール-水(7+3) or エタノール-水(1+1) 20 mL	コントロールライン 呈色あり テストライン 呈色なし	コントロールライン 呈色あり テストライン 呈色なし	コントロールライン 呈色あり テストライン 呈色なし

表2 アフラトキシン定性用キットの試料に対する適用性

キット	定性用キットの名称 (製造業者名)	調査対象としたフランク試料の種類															
		どうもろこし				コーングルテンフィード				コーングルテンミール				どうもろこしジスチラスチアーズグレイインソリュエブル			
		個番別判定	試験成立	偽陽性	適用性	個番別判定	試験成立	偽陽性	適用性	個番別判定	試験成立	偽陽性	適用性	個番別判定	試験成立	偽陽性	適用性
A	AFLACARD B1 (R-Biopharm Rhône 社)	-----	○	x	○	-----	○	x	△	-----	○	x	○	± ± ± ± ± ±	○	○	△
シートがスポット呈色と類似色となり、判定に難あり																	
B	AFLACARD Total (R-Biopharm Rhône 社)	-----	○	x	○	-----	○	x	△	-----	○	x	○	-----	○	x	○
シートがスポット呈色と類似色となり、判定に難あり																	
C	AflaCHECK™ (Vicam社)	-----	○	x	○	判定不能	x	-	x	-----	○	x	△	判定不能	x	-	x
コントロールラインが呈色しない																	
D	AgraStrip™ Afla 10 (Romer Labs社)	-----	○	x	○	※											
E	AgraStrip™ Afla 20 (Romer Labs社)	-----	○	x	○	判定不能	x	-	x	判定不能	x	-	x	判定不能	x	-	x
試験溶液がテストラインにまで到達しない																	
F	QuickTox™ for Aflatoxin (Envirologix社)	-----	○	x	○	± ± ± ± ± ±	○	○	△	-----	○	x	△	-----	○	x	△
テストラインの呈色が不明瞭																	
G	Reveal for Aflatoxin (Neogen社)	-----	○	x	○	判定不能	x	-	x	-----	○	x	△	判定不能	x	-	x
コントロールラインが呈色しない																	

判定結果  
 ±: コントロール及び試験用スポット(あるいはテストライン)の呈色が不明瞭  
 ○: 試験用スポット(あるいはテストライン)の呈色が不明瞭  
 試験成立 ○: 問題なし x: 問題あり  
 偽陽性 ○: 偽陽性あり x: 偽陽性なし -: 判定不能  
 適用性 ○: 問題なし x: 問題あり △: ライン等の判定に難があるが、適用性に問題がない  
 ※: Eの結果から適用性に問題があったことから実施していない

表3 アフラトキシン定性用キットの標準液添加による閾値濃度に対する信頼性  
(アフラトキシン B1 の閾値濃度を 10 µg/kg に想定した場合)

キット	定性用キットの名称 (製造業者名)	調査対象とした試料の種類														
		とうもろこし			コーングルテンフィード			コーングルテンミール			とうもろこしジスチラーズ グレイソリュブル					
		想定した閾値濃度(µg/kg)			10			10			10			10		
		適用した試料濃度(µg/kg)	8	10	12	8	10	12	8	10	12	8	10	12		
期待される結果		-	- or +	+	-	- or +	+	-	- or +	+	-	- or +	+			
A	AFLACARD B1 (R-Biopharm Rhône 社)	個番別判定	-----	+++++	+++++	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----			
		最終判定	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
B	AFLACARD Total (R-Biopharm Rhône 社)	個番別判定	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----			
		最終判定	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
C	AflaCHECK™ (Vicam社)	個番別判定	-----	-----	-----	※			-----	-----	-----	※				
		最終判定	-	-	-	※			-	-	-	※				
D	AgraStrip™ Afla 10 (Romer Labs社)	個番別判定	-----	-----	-----	※			※			※				
		最終判定	-	-	-	※			※			※				

+ : 陽性      - : 陰性  
 ※ : 適用性に問題があったことから実施していない  
 : 期待される結果と異なる結果が得られた場合

表4 アフラトキシン定性用キットの標準液添加による閾値濃度に対する信頼性  
(アフラトキシン B1 の閾値濃度を 20 µg/kg に想定した場合)

キット	定性用キットの名称 (製造業者名)	調査対象とした試料											
		とうもろこし			コーングルテンフィード			コーングルテンミール			とうもろこしジスチラーズ グレイソリュブル		
		想定した閾値濃度(µg/kg)			20			20			20		
		適用した試料濃度(µg/kg)	16	20	24	16	20	24	16	20	24	16	20
期待される結果		-	- or +	+	-	- or +	+	-	- or +	+	-	- or +	+
A	AFLACARD B1 (R-Biopharm Rhône 社)	個番別判定	-----	+++++	+++++	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
		最終判定	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
B	AFLACARD Total (R-Biopharm Rhône 社)	個番別判定	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
		最終判定	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C	AflaCHECK™ (Vicam社)	個番別判定	-----	-----	-----	※			-----	-----	-----	※	
		最終判定	-	-	-	※			-	-	-	※	
D	AgraStrip™ Afla 10 (Romer Labs社)	個番別判定	-----	+++++	+++++	※			※			※	
		最終判定	-	+	+	※			※			※	
E	AgraStrip™ Afla 20 (Romer Labs社)	個番別判定	-----	+++++	+++++	※			※			※	
		最終判定	-	+	+	※			※			※	
F	QuickTox™ for Aflatoxin (Envirologix社)	個番別判定	+++++	+++++	+++++	-----	+++++	+++++	-----	+++++	+++++	-----	-----
		最終判定	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-
G	Reveal for Aflatoxin (Neogen社)	個番別判定	-----	-----	-----	※			-----	-----	-----	※	
		最終判定	-	-	-	※			-	-	-	※	

+ : 陽性      - : 陰性  
 ※ : 適用性に問題があったことから実施していない  
 : 期待される結果と異なる結果が得られた場合



表6 アフラトキシン定性用キットの目視判定差

キット	定性用キットの名称 (製造業者名)	調査対象とした試料 : とうもろこし																																				
		想定した閾値濃度(µg/kg)	10					10					10					20					20															
		適用した試料濃度(µg/kg)	8					10					12					16					20					24										
		期待される結果	-					- or +					+					-					- or +					+										
キット内個番		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5		
A	AFLACARD B1 (R-Biopharm Rhône 社)	判定者別判定	判定者 A	-	-	-	-	-	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	±	±	±	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
			判定者 B	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	+	+	+	+	+	±	±	±	±	±
			判定者 C	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		個番別判定 <sup>1)</sup>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
最終判定 <sup>2)</sup>		-					+					+					-					+																
B	AFLACARD Total (R-Biopharm Rhône 社)	判定者別判定	判定者 A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			判定者 B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	±	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			判定者 C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		個番別判定 <sup>1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
最終判定 <sup>2)</sup>		-					-					-					-					-																
C	AflaCHECK™ (Vicam社)	判定者別判定	判定者 A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	±	±	±	-	-	-	-	-	±	±	±	±	±
			判定者 B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			判定者 C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		個番別判定 <sup>1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
最終判定 <sup>2)</sup>		-					-					-					-					-																
D	AgraStrip™ Afla 10 (Romer Labs社)	判定者別判定	判定者 A	-	-	-	-	-	±	±	±	±	±	+	+	+	+	+	±	±	±	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
			判定者 B	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
			判定者 C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		個番別判定 <sup>1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
最終判定 <sup>2)</sup>		-					-					-					+					+																
E	AgraStrip™ Afla 20 (Romer Labs社)	判定者別判定	判定者 A	※															±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
			判定者 B	※															±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
			判定者 C	※															-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		個番別判定 <sup>1)</sup>	※															-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
最終判定 <sup>2)</sup>		-					-					-					+					+																
F	QuickTox™ for Aflatoxin (Envirologix社)	判定者別判定	判定者 A	※															+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
			判定者 B	※															+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
			判定者 C	※															+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		個番別判定 <sup>1)</sup>	※															+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
最終判定 <sup>2)</sup>		-					-					-					+					+																
G	Reveal for Aflatoxin (Neogen社)	判定者別判定	判定者 A	※															±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
			判定者 B	※															±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
			判定者 C	※															-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
		個番別判定 <sup>1)</sup>	※															-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
最終判定 <sup>2)</sup>		-					-					-					-					-																

+ : 陽性      - : 陰性      ± : 陽性とも陰性とも判断しにくい  
 ※ : 適用性に問題があったことから実施していない  
 ■ : 期待される結果と異なる結果が得られた場合  
 1) 判定者A,B,Cの判定結果(±は-と判定)から判断し、優位であった結果  
 2) 個番別判定結果から判断し、優位であった結果

**調査資料**

## 4 NaI(Tl)シンチレーションスペクトロメータによる飼料中の放射性セシウムのスクリーニング法例 —平成24年3月の暫定許容値見直しを受けた再検証—

### Verification of the Screening Test for Radioactive Caesium in Animal Feed by a NaI(Tl) Scintillation Spectrometer

肥飼料安全検査部 飼料鑑定第一課

東京電力株式会社福島第一原子力発電所の事故を受け、平成23年8月に飼料中の放射性セシウムの暫定許容値が設定された<sup>1)</sup>。その後、食品中の放射性セシウムの新基準値が平成24年4月から施行される<sup>2)</sup>ことに対応するため、平成24年3月に飼料中の暫定許容値が見直され、新たに牛及び馬用飼料にあつては100 Bq/kg、豚用飼料にあつては80 Bq/kg、家きん用飼料にあつては160 Bq/kg、養殖魚用飼料にあつては40 Bq/kg（製品重量（粗飼料は水分含有量8割ベース））と通知された<sup>3)</sup>。

飼料中の放射性セシウムのスクリーニング法として、NaI(Tl)シンチレーションスペクトロメータによる方法を適用するためには、豚用配合飼料や養殖魚用配合飼料のように、食品よりも密度が低い試料が多いこと、暫定許容値が低いこと等に留意しなければならない。また、NaI(Tl)シンチレーションスペクトロメータの性能は、測定時間を長くすれば測定下限値等の改善が見込めるが、現実的にはスクリーニング法として重視される迅速性及び効率性を犠牲にすることはできない。一方、測定下限値を確保するために、大型の測定容器及びマリネリ容器が利用できるNaI(Tl)シンチレーションスペクトロメータを選択することも重要となる。

今回、FAMICにおいて、新暫定許容値に対応するため、「食品中の放射性セシウムスクリーニング法」<sup>4)</sup>を参考に、飼料（粗飼料を含む）を対象としたNaI(Tl)シンチレーションスペクトロメータによる放射性セシウムのスクリーニング法を再検証したので、その測定結果例の概要を報告する。また、今回の測定結果例は、特定のNaI(Tl)シンチレーションスペクトロメータを用いて検証したものであり、実測にあたっては、用いる分析機器の性能に留意し、適切な条件下で測定されるようされたい。なお、この測定結果例は、飼料中の放射性セシウム濃度が暫定許容値を確実に上回っていることを示す場合にも、応用可能であることは言うまでもない。

### I 測定機器について

以下に示す性能を有すること。

#### 1) 測定下限値

放射性セシウム(<sup>134</sup>Cs及び<sup>137</sup>Cs)の合計量が暫定許容値の1/4となる値、すなわち、牛及び馬用飼料は25 Bq/kg、豚用飼料20 Bq/kg、家きん用飼料は40 Bq/kg、養魚用飼料は10 Bq/kg（製品重量（粗飼料は水分含有量8割ベース））以下であること。測定下限値の確認方法は、「食品中の放射性セシウムスクリーニング法」<sup>4)</sup>に準拠する。

## 2) 真度 (校正)

適切な標準線源を用いて計数効率が校正されていること。

## 3) スクリーニングレベル

暫定許容値の 1/2 以上で、スクリーニングレベルにおける測定値の 99 % 区間上限が暫定許容値レベルで得られる値、すなわち、牛及び馬用飼料は 100 Bq/kg, 豚用飼料 80 Bq/kg, 家きん用飼料は 160 Bq/kg, 養魚用飼料は 40 Bq/kg (製品重量 (粗飼料は水分含有量 8 割ベース)) 以下であること。

## II 前処理について

「飼料中の放射性セシウムの検査方法について」<sup>5)</sup>に準拠する。

## III 測定の留意点について

- 1) 測定は、放射能測定シリーズ 6 「NaI(Tl)シンチレーションスペクトロメータ機器分析法」<sup>6)</sup>に準拠する。
- 2) 測定下限値は、測定時間の平方根に反比例するため、使用する機器の性能に見合った測定時間を設定する。
- 3) 稲わらなどの密度が低い試料は、細かく粉砕するなどし、測定容器への充填量を増やす工夫が必要である。
- 4) バックグラウンド (BG) 値は定期的に測定し、BG 値の上昇により、測定下限値に影響が出ていないことを確認する。
- 5) 濃度既知の試料を測定し、真度が変化していないことを確認する。
- 6) スクリーニング法として測定する場合には、測定回数は任意であるが、スクリーニングレベル以上の測定値を分析結果とする場合には、3 回以上測定を繰り返し、その平均値を用いる。併せて、ゲルマニウム半導体検出器による測定を実施し、暫定許容値を超えていないことを確認する。
- 7) その他、測定方法に関する詳細は、使用する測定機器の取扱説明書に従う。  
また、「NaI (Tl) シンチレーションスペクトロメータを用いて測定した結果を適切に評価するために (初心者編)」<sup>7)</sup>なども参考にされたい。

## IV 作業環境

- 1) 前処理を実施する部屋と測定を実施する部屋は、交差汚染を防止するために、別にした方がよい。
- 2) 粉じん等からの交差汚染を防止するために、各部屋は日頃から清潔にしておくこと。
- 3) 前処理及び測定に当たり、作業者は測定機器と試料間の汚染防止のために、試料毎に手袋を取り替える等の汚染防止措置を講じること。前処理に用いた器具・機材も同様である。また、作業着も部屋毎に着替えることが望ましい。
- 4) 検出器への汚染を防止するために、試料を詰めた測定容器は、ラップ等で完全に覆うか、ポリエチレン袋等に封入すること。また、測定容器からの汚染が懸念される場合には、試料が直接

容器に触れないように容器内側をラップ等で覆うか、使用後にR I 洗浄液で洗浄する。

- 5) BG 値への影響を最小限とするために、測定が終わった後の試料は速やかに別の部屋に移動させる。

## V 測定結果例について

### A-1 測定条件

測定機器：EMF211 ガンマ線スペクトロメータ放射能濃度測定用システム ver.2 (EMF ジャパン株)

検出器：3 インチ  $\phi$  × 3 インチ NaI(Tl)シンチレーター

遮蔽体：縦型鉛シールド (厚さ 50 mm 鉛, 真鍮内張り 3 mm)

測定容器：ポリ容器(350 mL, 900 mL)及びマリネリ容器(1 L)

試料測定時間：15 分間

BG 値測定時間：2 時間 (密度が  $0.5 \text{ g/cm}^3$  以上の試料に対しては水で,  $0.5 \text{ g/cm}^3$  未満の試料に対しては容器に何も入れない状態で測定した。)

### A-2 測定に用いた試料

牛用配合飼料は汚染ふすまを, その他の配合飼料は汚染米ぬか油かすを一定量加えて放射性セシウム濃度を調整した。牧草 (オーチャードグラス主混播生草) は 1~2 mm に裁断した。稲わらは 1 mm のふるいを通すまで粉碎し, 非汚染試料に汚染試料を一定量加えて放射性セシウム濃度を調整した。ふすま及び米ぬか油かすは, 非汚染試料に汚染試料を一定量加えて放射性セシウム濃度を調整した。

## B 測定結果

## B-1 各測定容器における測定下限値の検証結果

表 1 各測定容器における測定下限値

試料	暫定許容値の		測定下限値(Bq/kg) c)		
	1/4 (Bq/kg)	密度a) (g/cm <sup>3</sup> )	ポリ容器		マリネリ容器 (1L)
			350mL	900mL	
牛用配合飼料	25	0.63	39.2	17.0	7.8
豚用配合飼料	20	0.70	35.4	16.8	6.9
鶏用配合飼料	40	0.73	34.0	14.7	6.0
養魚用配合飼料	10	0.50	49.5	23.6	9.6
牧草	25	0.37	66.7	32.2	13.2
稲わら	113 b)	0.22	113	54.2	22.2
ふすま	-	0.34	72.8	31.9	12.6
米ぬか油かす	-	0.47	52.5	24.8	10.0

a) 測定容器に詰めた試料の重量(g)/測定容器の体積(cm<sup>3</sup>)

b) 稲わらの水分が 10%とした場合の稲わらの暫定許容値は、水分含有量を 8 割ベースで計算する必要があるため、450 Bq/kg と計算することができる。よって、暫定許容値の 1/4 は、概ね 113 Bq/kg となる（この値は、試料中の水分含有量により変動する）。

c) 測定下限値(Bq/kg) ( $k=3$ )

$$k\sigma = \frac{k \times \text{機器換算計数}}{t_s \times \text{試料密度}} \times \left[ \frac{k}{2} + \sqrt{\frac{k^2}{4} + \left[ 1 + \frac{t_s}{t_b} \right] \times n_b \times t_s} \right]$$

$t_s, t_b$  : 試料及び BG の計数時間 s

$n_b$  : BG の計数率 cps

飼料中の放射性セシウムのスクリーニング法として NaI(Tl)シンチレーションスペクトロメータによる方法を検証した結果、350 mL ポリ容器を測定容器に用いた場合には、測定下限値は全ての試料で暫定許容値の 1/4 を超え、スクリーニング法としての適用は難しいと考えられた。しかし、1 L マリネリ容器を測定容器に用いた場合には、測定下限値は全ての試料で暫定許容値の 1/4 を下回り、スクリーニング法として適用は可能であった。また、900 mL ポリ容器を測定容器として用いた場合には、測定下限値は養魚用配合飼料及び牧草で暫定許容値の 1/4 を超え、スクリーニング法としての適用は難しいと考えられた。これら以外の試料では暫定許容値の 1/4 を下回り、スクリーニング法として適用は可能であった。

## B-2 スクリーニングレベルの検証結果

表2 NaI(Tl)シンチレーションスペクトロメータによる測定値の分布の99%信頼区間

○ 900 mL ポリ容器を測定容器に用いた場合

試料	Ge 測定値 a) (Bq/kg)	NaI 測定値 b)				下限値とGe 測定値の割合 (%)d)	上限値とGe 測定値の割合 (%)e)
		平均値 (Bq/kg)	標準偏差 (Bq/kg)	99%区間 c)			
				下限値 (Bq/kg)	上限値 (Bq/kg)		
牛用配合飼料	38.5	47.8	5.3	34	61	89	159
豚用配合飼料	30.8	39.4	4.6	28	51	90	166
鶏用配合飼料	71.5	88.7	5.1	76	102	106	142
養魚用配合飼料	17.0	17.8	4.3	7	29	40	169
牧草	45.8	58.1	6.3	42	74	92	162
稲わら	213	219	14.8	181	257	85	120
ふすま	41.4	46.3	7.8	26	66	64	160
	22.6	27.7	6.4	11	44	51	194
米ぬか油かす	46.1	61.0	5.5	47	75	102	163
	21.1	31.3	5.8	17	46	79	218

○ 1 L マリネリ容器を測定容器に用いた場合

試料	Ge 測定値 a) (Bq/kg)	NaI 測定値 b)				下限値とGe 測定値の割合 (%)d)	上限値とGe 測定値の割合 (%)e)
		平均値 (Bq/kg)	標準偏差 (Bq/kg)	99%区間 c)			
				下限値 (Bq/kg)	上限値 (Bq/kg)		
牛用配合飼料	38.5	40.1	1.9	35	45	92	117
豚用配合飼料	30.8	39.5	1.9	35	44	113	144
鶏用配合飼料	71.5	78.2	4.0	68	88	95	124
養魚用配合飼料	17.0	18.7	1.6	15	23	86	134
牧草	45.8	54.0	3.3	46	62	100	136
稲わら	213	224	8.6	202	246	95	115
ふすま	41.4	50.1	3.7	41	59	98	144
	22.6	28.2	3.7	19	38	83	166
米ぬか油かす	46.1	51.8	4.5	40	63	88	137
	21.1	26.4	3.7	17	36	81	170

- a) ゲルマニウム(Ge)半導体検出器 (CANBERRA 製 GC2020, 測定容器 ; 1 L マリネリ容器, 測定時間 ; 30 分間) による測定値 (n=10)
- b) NaI(Tl)シンチレーションスペクトロメータによる測定値 (n=20)
- c)  $m \pm t_{k-1,0.01} \times s$  で示したもので自由度 19, 危険率 1%の  $t$  値(片側)は 2.539 ( $m$ :平均値,  $s$ :標準偏差,  $k$ :測定数)
- d) 下限値を Ge 半導体検出器による測定値にて除して 100 を掛けた値
- e) 上限値を Ge 半導体検出器による測定値にて除して 100 を掛けた値

NaI(Tl)シンチレーションスペクトロメータによる測定値の 99 %信頼区間の下限値と Ge 半導体検出器による測定値との割合（下限値割合）が 50 %以上の場合、暫定許容値以上の試料を合格とする偽陰性の確率は 1 %以下となる。また、上限値と Ge 半導体検出器による測定値の割合（上限値割合）が 200 %以下の場合、暫定許容値以下の試料を不合格とする偽陽性の確率は 1 %以下となる。このことから、下限値割合が 50 %以上、かつ、上限値割合が 200 %以下の場合には、スクリーニングレベルを暫定許容値の 1/2 以上に設定可能であると判断した。

その結果、900 mL ポリ容器を測定容器に用いた場合には、養殖魚用配合飼料では、下限値割合が 50 %以下となったため、スクリーニングレベルを暫定許容値の 1/2 以上に設定できなかった。一方、1 L マリネリ容器を測定容器として用いた場合には、すべての試料において下限値割合が 50 %以上となり、かつ、上限値割合が 200 %以下となったことから、スクリーニングレベルを暫定許容値の 1/2 以上に設定可能であった。

ふすま及び米ぬか油かすにおいて 900 mL ポリ容器を測定容器として用いた場合には、放射性セシウム濃度を 40~50 Bq/kg に調整した試料では、下限値割合が 50 %以上、かつ、上限値割合が 200 %以下となった。このことから、ふすま及び米ぬか油かすでは 80~100 Bq/kg を許容値に設定し、スクリーニングレベルを 40~50 Bq/kg 以上に設定可能であった。

一方、1 L マリネリ容器を測定容器として用いた場合には、ふすま及び米ぬか油かす中の放射性セシウム濃度を 20~25 Bq/kg に調整した試料でも、下限値割合が 50 %以上、かつ、上限値割合が 200 %以下となった。このことから、ふすま及び米ぬか油かすでは許容値をより厳しく 40~50 Bq/kg に設定しても、スクリーニングレベルを 20~25 Bq/kg 以上に設定可能であり、より厳しい許容値におけるスクリーニング検査にも対応可能であった。ふすま及び米ぬか油かすなどの飼料原料を各飼料の原料に用いる場合には、各飼料の暫定許容値を超えないような配合設計を心掛けると共に、その配合割合に応じた適切な許容値を設定し、スクリーニングする必要がある。

## VI 関連通知等について

- 1) 放射性セシウムを含む肥料・土壌改良資材・培土及び飼料の暫定許容値の設定について、平成 23 年 8 月 1 日付け 23 消安第 2444 号ほか、農林水産省消費・安全局長ほか通知
- 2) 食品、添加物の規格基準、昭和 34 年 12 月 28 日付け厚生省告示 370 号
- 3) 飼料中の放射性セシウムの暫定許容値の見直しについて、平成 24 年 3 月 23 日付け 23 消安第 6608 号ほか、農林水産省消費・安全局長ほか通知
- 4) 食品中の放射性セシウムスクリーニング法の一部改正について、平成 24 年 3 月 1 日付け、厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課事務連絡
- 5) 飼料中の放射性セシウムの検査方法について、平成 23 年 8 月 3 日付け 23 消安第 2489 号、農林水産省消費・安全局畜水産安全管理課長通知
- 6) 放射能測定シリーズ 6「NaI(Tl)シンチレーションスペクトロメータ機器分析法」、文部科学省、昭和 49 年 1 月制定
- 7) NaI(Tl) シンチレーションスペクトロメータを用いて測定した結果を適切に評価するために（初心者編）、平成 23 年 12 月 7 日、農林水産省消費・安全局消費・安全政策課

他誌掲載論文

(抄録)

1 口蹄疫等の防疫における移動式レンダリング装置活用のための技術開発

八木 行雄, 末吉 益雄, 勝田 賢, 宮崎 綾子, 鈴木 亨, 田中 康男,  
池口 厚男, 會田 紀雄, 石田 三佳, 中久保 亮, 上村 涼子, 橋本 仁康,  
弓削 正昭, 大崎 慎人, 犬丸 茂樹

家畜衛生学雑誌, 39(4), 149–156 (2014).



## 飼料研究報告編集委員

委員長	片山 信浩	副委員長	大橋 史郎
	會田 紀雄		千原 哲夫
	天野 忠雄		永原 貴子
	石橋 隆幸		野崎 友春
	小野寺 聖		日比野 洋
	功刀 豊		山多 利秋
	小森谷 敏一		

## 飼料研究報告 第39号

発行 独立行政法人農林水産消費安全技術センター  
埼玉県さいたま市中央区新都心2番地1  
さいたま新都心合同庁舎検査棟  
TEL 050-3797-1857  
FAX 048-601-1179  
<http://www.famic.go.jp/>

平成26年9月

編集 飼料研究報告編集委員会