

(別紙)

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

(下線部分は改正部分)

改正後	改正前
<p style="text-align: center;">目 次</p> <p style="text-align: center;">第 1 章～第 4 章 (略)</p> <p style="text-align: center;">第 5 章 かび毒</p> <p>第 1 節・第 2 節 (略)</p> <p>第 3 節 多成分分析法</p> <p>1～11 (略)</p> <p><u>12 ゼアラレノン及びデオキシニバレノールの液体クロマトグラフタ ンデム型質量分析計による系統的分析法</u></p> <p>第 4 節 (略)</p> <p style="text-align: center;">第 6 章 (略)</p> <p style="text-align: center;">第 7 章 有害物質</p> <p>1～7 (略)</p> <p>8 <u>シアヌル酸</u></p> <p style="text-align: center;">第 8 章～第 20 章 (略)</p> <p>別表 1～別表 4 (略)</p>	<p style="text-align: center;">目 次</p> <p style="text-align: center;">第 1 章～第 4 章 (略)</p> <p style="text-align: center;">第 5 章 かび毒</p> <p>第 1 節・第 2 節 (略)</p> <p>第 3 節 多成分分析法</p> <p>1～11 (略)</p> <p>(新設)</p> <p>第 4 節 (略)</p> <p style="text-align: center;">第 6 章 (略)</p> <p style="text-align: center;">第 7 章 有害物質</p> <p>1～7 (略)</p> <p>(新設)</p> <p style="text-align: center;">第 8 章～第 20 章 (略)</p> <p>別表 1～別表 4 (略)</p>

改正後	改正前
<p style="text-align: center;">第5章 かび毒</p> <p>第1節 かび毒各条</p> <p>1～5 (略)</p> <p>6 ゼアラレノン</p> <p>6.1 (略)</p> <p><u>6.2 ゼアラレノン及びデオキシニバレノールの液体クロマトグラフ タンデム型質量分析計による系統的分析法</u> (適用範囲：稲発酵粗飼料、とうもろこしサイレージ) <u>第3節12による。</u></p> <p><u>6.3・6.4</u> (略)</p> <p>7～12 (略)</p> <p>13 デオキシニバレノール</p> <p>13.1～13.5 (略)</p> <p><u>13.6 ゼアラレノン及びデオキシニバレノールの液体クロマトグラフ タンデム型質量分析計による系統的分析法</u> (適用範囲：稲発酵粗飼料、とうもろこしサイレージ) <u>第3節12による。</u></p> <p>14～26 (略)</p> <p>第2節 (略)</p> <p>第3節 多成分分析法</p> <p>1～11 (略)</p> <p><u>12 ゼアラレノン及びデオキシニバレノールの液体クロマトグラフタン デム型質量分析計による系統的分析法</u></p> <p>(1) <u>分析対象化合物</u> <u>ゼアラレノン及びデオキシニバレノール</u> (2 成分)</p> <p>(2) <u>適用範囲</u> <u>稲発酵粗飼料、とうもろこしサイレージ</u></p> <p>(3) <u>分析法</u></p>	<p style="text-align: center;">第5章 かび毒</p> <p>第1節 かび毒各条</p> <p>1～5 (略)</p> <p>6 ゼアラレノン</p> <p>6.1 (略) (新設)</p> <p><u>6.2・6.3</u> (略)</p> <p>7～12 (略)</p> <p>13 デオキシニバレノール</p> <p>13.1～13.5 (略) (新設)</p> <p>14～26 (略)</p> <p>第2節 (略)</p> <p>第3節 多成分分析法</p> <p>1～11 (略) (新設)</p>

改正後	改正前
<p style="text-align: center;">A 試薬の調製</p> <p>1) <u>ゼアラレノン標準液</u> <u>ゼアラレノン [C₁₈H₂₂O₅] 2 mg を正確に量って 20 mL の全量フラスコに入れ、アセトニトリルを加えて溶かし、更に標線まで同溶媒を加えてゼアラレノン標準原液を調製する（この液 1 mL は、ゼアラレノンとして 100 µg を含有する。）。</u> <u>使用に際して、この標準原液の一定量を、アセトニトリル－水 (21+4) で正確に希釈し、1 mL 中にゼアラレノンとしてそれぞれ 0.1~50 ng を含有する数点のゼアラレノン標準液を調製する。</u></p> <p>2) <u>デオキシニバレノール標準液</u> <u>デオキシニバレノール [C₁₅H₂₀O₆] 2 mg を正確に量って 20 mL の全量フラスコに入れ、アセトニトリルを加えて溶かし、更に標線まで同溶媒を加えてデオキシニバレノール標準原液を調製する（この液 1 mL は、デオキシニバレノールとして 100 µg を含有する。）。</u> <u>使用に際して、デオキシニバレノール標準原液 1 mL を 50 mL の全量フラスコに正確に入れ、更に標線までアセトニトリル－水 (21+4) を加えて、1 mL 中にデオキシニバレノールとして 2 µg を含有する標準液を調製する。この標準液の一定量を、水－メタノール－アセトニトリル (18+1+1) で正確に希釈し、1 mL 中にデオキシニバレノールとしてそれぞれ 4~100 ng を含有する数点のデオキシニバレノール標準液を調製する。</u></p> <p style="text-align: center;">B 定 量</p> <p><u>抽 出</u> <u>分析試料 25.0 g を量って 500 mL の共栓三角フラスコに入れ、アセトニトリル－水 (21+4) 250 mL を加え、60 分間振り混ぜて抽出する。抽出液を 50 mL の共栓遠心沈殿管に入れ、1,600×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液 1 mL を 20 mL の全量フラスコに正確に入れる。全量フラスコの標線までアセトニトリル－水 (21+4) を加え、カラム処理に供する試料溶液とする。</u></p>	

改正後	改正前
<p><u>カラム処理</u> 試料溶液を多機能カラム^{注1}に入れ、初めの流出液 1 mL を捨てる。10 mL の試験管をカラムの下に置き、その後の流出液 1 mL を受け、液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定（ゼアラレノン）に供する試料溶液とする。更に、別の 10 mL の試験管をカラムの下に置き、その後の流出液 3 mL を受け、精製に供する試料溶液とする。</p> <p><u>精製</u> 試料溶液をあらかじめグラファイトカーボン 200 mg^{注2}を入れた 15 mL の遠心チューブに入れ、1 分間振り混ぜる。1,600×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液 2 mL を 10 mL の試験管に正確に入れ、窒素ガスを送って乾固する。水-メタノール-アセトニトリル (18+1+1) 0.5 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（孔径 0.20 μm）でろ過し、液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定（デオキシニバレノール）に供する試料溶液とする。</p> <p><u>液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定（ゼアラレノン）</u> 試料溶液及び各ゼアラレノン標準液 5 μL を液体クロマトグラフタンデム型質量分析計に注入し、選択反応検出クロマトグラムを得る。</p> <p><u>測定条件 例</u> <u>(液体クロマトグラフ部)</u></p> <p><u>カラム</u> : オクタデシルシリル化シリカゲルカラム（内径 3.0 mm、長さ 50 mm、粒径 2 μm）^{注3}</p> <p><u>溶離液</u> : 2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液-アセトニトリル (7+3) (1 min 保持) → 4 min → (1+19) (7 min 保持) → 0.1 min → (7+3) (4.9 min 保持)</p>	

改正後

改正前

流速：0.2 mL/min
カラム槽温度：40 °C
(タンデム型質量分析計部^{注4})
イオン化法：大気圧化学イオン化 (APCI) 法
(負イオンモード)
ネブライザーガス：空気 (4 L/min)
乾燥ガス：N₂ (5 L/min)
インターフェース温度：350 °C
ヒートブロック温度：200 °C
D L 温度：250 °C
コリジョンガス：Ar (230 kPa)
コリジョンエネルギー：下表のとおり
モニターイオン：下表のとおり
表 ゼアラレノンのモニターイオン条件

測定対象物質	プリカーサー	プロダクトイオン		コリジョン
	イオン	定量用	確認用	エネルギー
	(m/z)	(m/z)	(m/z)	(eV)
ゼアラレノン	317	131	二	29
		二	175	23

液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定 (デオキシニ
バレノール) 試料溶液及び各デオキシニバレノール標準液 5
μL を液体クロマトグラフタンデム型質量分析計に注入し、選択
反応検出クロマトグラムを得る。

測定条件 例

(液体クロマトグラフ部)

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル
カラム (内径 3.0 mm、長さ 50

改正後

改正前

mm、粒径 2 μm) 注3
溶 離 液：2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液ー
2 mmol/L 酢酸アンモニウム含有メ
タノール溶液 (19+1) (1 min 保
持) → 9 min → (1+19) (5.5
min 保持) → 0.1 min → (19+1)
(4.4 min 保持)

流 速：0.2 mL/min

カ ラ ム 槽 温 度：40 °C

(タンデム型質量分析計部注4)

イ オ ン 化 法：大気圧化学イオン化 (APCI) 法
(負イオンモード)

ネブライザーガス：空気 (2.5 L/min)

乾 燥 ガ ス：N₂ (6 L/min)

インターフェース温度：400 °C

ヒートブロック温度：200 °C

D L 温 度：250 °C

コ リ ジ ョ ン ガ ス：Ar (230 kPa)

コ リ ジ ョ ン エ ネ ル ギ ー：下表のとおり

モ ニ タ ー イ オ ン：下表のとおり

表 デオキシニバレノールのモニターイオン条件

測定対象物質	プリカーサー	プロダクトイオン		コリジョン
	イオン	定量用	確認用	エネルギー
	(m/z)	(m/z)	(m/z)	(eV)
デオキシニバレノール	295	265	二	11
	355	二	265	15

計 算 得られた選択反応検出クロマトグラムからピーク面
積又は高さを求めて検量線を作成し、試料中のゼアラレノン量

改正後

改正前

及びデオキシニバレノール量を算出する。

注 1 InertSep VRA-3 (リザーバー容量 6 mL、ジーエルサイエンス製) 又はこれと同等のもの

2 Supelclean ENVI-Carb SPE Bulk Packing (Sigma-Aldrich 製) 又はこれと同等のもの

3 InertSustain C18 (ジーエルサイエンス製) 又はこれと同等のもの

4 LCMS-8040 (島津製作所製) による条件例

(参考) 分析法バリデーション

・ 添加回収率及び繰返し精度

(ゼアラレノン)

試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)
稲発酵粗飼料 1	0.04	5	100	12
	1	5	108	2.7
稲発酵粗飼料 2	0.04	5	107	9.9
	1	5	110	4.2
とうもろこしサイレージ 3	0.02	5	110	8.7
とうもろこしサイレージ 5	0.02	5	112	12
とうもろこしサイレージ 1	1	5	101	4.0
とうもろこしサイレージ 2	1	5	106	4.2

(デオキシニバレノール)

試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)
稲発酵粗飼料 1	0.2	5	105	3.9
	4	5	97.9	2.8
稲発酵粗飼料 2	0.2	5	107	1.8
	4	5	98.0	2.6
とうもろこしサイレージ 3	0.2	5	114	7.9
とうもろこしサイレージ 4	0.2	5	116	6.0
とうもろこしサイレージ 1	4	5	89.3	5.9
とうもろこしサイレージ 2	4	5	89.4	8.7

・ 共同試験

(ゼアラレノン)

改正後

改正前

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _d (%)	室間再現精度 RSD _g (%)	HorRat
とうもろこしサイレージ 1	8	0	2.2	106	6.1	7.4	0.53
とうもろこしサイレージ 2	8	0	1.1	105	5.0	5.0	0.32
とうもろこしサイレージ 3	8	0	0.2	111	5.5	8.8	0.44
稲発酵粗飼料 1	8	0	2.6	104	2.0	4.9	0.36
稲発酵粗飼料 2	8	0	1.8	105	4.5	5.3	0.36
稲発酵粗飼料 3	8	0	0.48	108	5.8	7.7	0.44

(デオキシニバレノール)

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _d (%)	室間再現精度 RSD _g (%)	HorRat
とうもろこしサイレージ 1	8	0	14	99.8	5.8	8.7	0.81
とうもろこしサイレージ 2	8	0	7.0	99.3	4.1	13	1.1
とうもろこしサイレージ 3	8	0	1.2	107	6.7	19	1.2
稲発酵粗飼料 1	8	0	10	97.9	8.3	13	1.1
稲発酵粗飼料 2	8	0	2.2	102	7.0	9.5	0.67
稲発酵粗飼料 3	8	0	0.8	104	4.4	13	0.80

- ・ 定量下限 ゼアラレノン：稲発酵粗飼料（風乾物）中 0.08 mg/kg、とうもろこしサイレージ（風乾物）中 0.04 mg/kg、デオキシニバレノール：稲発酵粗飼料（風乾物）中 0.4 mg/kg、とうもろこしサイレージ（風乾物）中 0.4 mg/kg
- ・ 検出下限 ゼアラレノン：稲発酵粗飼料（風乾物）中 0.04 mg/kg、とうもろこしサイレージ（風乾物）中 0.01 mg/kg、デオキシニバレノール：稲発酵粗飼料（風乾物）中 0.1 mg/kg、とうもろこしサイレージ（風乾物）中 0.1 mg/kg

第4節 (略)

第4節 (略)

第6章 農薬

第6章 農薬

第1節 各条

第1節 各条

1~44 (略)

1~44 (略)

45 カルタップ（カルタップ、チオシクロラム及びベンスルタップ）

45 カルタップ（カルタップ、チオシクロラム及びベンスルタップ）

45.1 カルタップ、チオシクロラム及びベンスルタップの液体クロマトグラフ質量分析計による分析法^{注1}

45.1 カルタップ、チオシクロラム及びベンスルタップの液体クロマトグラフ質量分析計による分析法^{注1}

改正後	改正前												
<p>(適用範囲：乾牧草、とうもろこし、イアコーンサイレージ)</p> <p style="text-align: center;">A 試薬の調製 (略)</p> <p style="text-align: center;">B 定 量</p> <p>抽出 (略)</p> <p>アルカリ加水分解 (略)</p> <p>カラム処理 試料溶液を多孔性ケイソウ土カラム (50 mL 保持用) に入れ 10 分間静置する。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三角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る。液面が充てん剤の上端に達するまで自然流下させてネライストキシンを溶出させ、更にヘキサン 120 mL をカラムに加えて同様に溶出させた後、溶出液にアセトン-ジエチレングリコール (49+1) 0.5 mL^{注2}を加える。</p> <p>溶出液を 37 °C 以下の水浴で約 2 mL まで減圧濃縮した後、乾固するまで静置する^{注3}。ヘプタフルオロ酪酸溶液-メタノール (4+1) 4 mL を正確に加えて残留物を溶かし、5,000×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液を液体クロマトグラフ質量分析計による測定に供する試料溶液とする。</p> <p>液体クロマトグラフ質量分析計による測定 試料溶液及び各ネライストキシン標準液各 2 µL を液体クロマトグラフ質量分析計に注入し、選択イオン検出クロマトグラムを得る。</p> <p>測定条件 例</p> <table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 10%;">カ</td> <td style="width: 10%;">ラ</td> <td>ム：オクタデシルシリル化シリカゲルカラム (内径 3.0 mm、長さ 250 mm、粒径 5 µm)^{注4}</td> </tr> <tr> <td>溶</td> <td>離</td> <td>液：ヘプタフルオロ酪酸溶液-メタノール (4+1)</td> </tr> </table>	カ	ラ	ム：オクタデシルシリル化シリカゲルカラム (内径 3.0 mm、長さ 250 mm、粒径 5 µm) ^{注4}	溶	離	液：ヘプタフルオロ酪酸溶液-メタノール (4+1)	<p style="text-align: center;">A 試薬の調製 (略)</p> <p style="text-align: center;">B 定 量</p> <p>抽出 (略)</p> <p>アルカリ加水分解 (略)</p> <p>カラム処理 試料溶液を多孔性ケイソウ土カラム (50 mL 保持用) に入れ 10 分間静置する。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三角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る。液面が充てん剤の上端に達するまで自然流下させてネライストキシンを溶出させ、更にヘキサン 120 mL をカラムに加えて同様に溶出させた後、溶出液にアセトン-ジエチレングリコール (49+1) 0.5 mL を加える。</p> <p>溶出液を 37 °C 以下の水浴で約 2 mL まで減圧濃縮した後、乾固するまで静置する^{注2}。ヘプタフルオロ酪酸溶液-メタノール (4+1) 4 mL を正確に加えて残留物を溶かし、5,000×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液を液体クロマトグラフ質量分析計による測定に供する試料溶液とする。</p> <p>液体クロマトグラフ質量分析計による測定 試料溶液及び各ネライストキシン標準液各 2 µL を液体クロマトグラフ質量分析計に注入し、選択イオン検出クロマトグラムを得る。</p> <p>測定条件 例</p> <table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 10%;">カ</td> <td style="width: 10%;">ラ</td> <td>ム：オクタデシルシリル化シリカゲルカラム (内径 3.0 mm、長さ 250 mm、粒径 5 µm)^{注3}</td> </tr> <tr> <td>溶</td> <td>離</td> <td>液：ヘプタフルオロ酪酸溶液-メタノール (4+1)</td> </tr> </table>	カ	ラ	ム：オクタデシルシリル化シリカゲルカラム (内径 3.0 mm、長さ 250 mm、粒径 5 µm) ^{注3}	溶	離	液：ヘプタフルオロ酪酸溶液-メタノール (4+1)
カ	ラ	ム：オクタデシルシリル化シリカゲルカラム (内径 3.0 mm、長さ 250 mm、粒径 5 µm) ^{注4}											
溶	離	液：ヘプタフルオロ酪酸溶液-メタノール (4+1)											
カ	ラ	ム：オクタデシルシリル化シリカゲルカラム (内径 3.0 mm、長さ 250 mm、粒径 5 µm) ^{注3}											
溶	離	液：ヘプタフルオロ酪酸溶液-メタノール (4+1)											

改正後	改正前																																																																																																																				
<p>流速：0.2 mL/min カラム槽温度：40 °C 検出器：四重極型質量分析計^{注5} イオン化法：エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法 (正イオンモード) ネブライザーガス：N₂ (2.5 L/min) 乾燥ガス：N₂ (10 L/min) ヒートブロック温度：200 °C C D L 温度：250 °C モニターイオン：m/z 150 計算 (略)</p> <p>注 1 (略) 2 <u>共存物質の影響により回収率が低下する場合がある。この影響が確認された場合は、液量を 0.03 mL まで減らすことにより改善することがある。</u> 3~5 (略)</p> <p>(参考) 分析法バリデーション ・添加回収率^注及び繰返し精度</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>添加成分名</th> <th>試料の種類</th> <th>添加濃度 (mg/kg)</th> <th>繰返し</th> <th>添加回収率 (%)</th> <th>繰返し精度 RSD_r(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="5">カルタップ</td> <td rowspan="2">ともろこし</td> <td>0.02</td> <td>3</td> <td>90.4</td> <td>4.0</td> </tr> <tr> <td>0.2</td> <td>3</td> <td>84.6</td> <td>4.3</td> </tr> <tr> <td rowspan="3">ライグラス</td> <td>0.04</td> <td>3</td> <td>86.5</td> <td>5.1</td> </tr> <tr> <td>0.6</td> <td>3</td> <td>67.7</td> <td>0.55</td> </tr> <tr> <td>0.0175</td> <td>6</td> <td>79.7</td> <td>5.3</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>0.614</td> <td>5</td> <td>83.7</td> <td>6.9</td> </tr> <tr> <td rowspan="4">チオシクロム</td> <td rowspan="2">ともろこし</td> <td>0.02</td> <td>3</td> <td>88.2</td> <td>4.7</td> </tr> <tr> <td>0.2</td> <td>3</td> <td>80.1</td> <td>5.8</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">ライグラス</td> <td>0.04</td> <td>3</td> <td>92.4</td> <td>9.4</td> </tr> <tr> <td>0.6</td> <td>3</td> <td>85.1</td> <td>4.9</td> </tr> <tr> <td rowspan="4">ベンスルタップ</td> <td rowspan="2">ともろこし</td> <td>0.06</td> <td>3</td> <td>61.2</td> <td>1.3</td> </tr> <tr> <td>0.3</td> <td>3</td> <td>64.8</td> <td>6.5</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">ライグラス</td> <td>0.12</td> <td>3</td> <td>57.5</td> <td>2.8</td> </tr> <tr> <td>0.9</td> <td>3</td> <td>57.5</td> <td>3.1</td> </tr> </tbody> </table> <p>・共同試験</p>	添加成分名	試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)	カルタップ	ともろこし	0.02	3	90.4	4.0	0.2	3	84.6	4.3	ライグラス	0.04	3	86.5	5.1	0.6	3	67.7	0.55	0.0175	6	79.7	5.3			0.614	5	83.7	6.9	チオシクロム	ともろこし	0.02	3	88.2	4.7	0.2	3	80.1	5.8	ライグラス	0.04	3	92.4	9.4	0.6	3	85.1	4.9	ベンスルタップ	ともろこし	0.06	3	61.2	1.3	0.3	3	64.8	6.5	ライグラス	0.12	3	57.5	2.8	0.9	3	57.5	3.1	<p>流速：0.2 mL/min カラム槽温度：40 °C 検出器：四重極型質量分析計^{注4} イオン化法：エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法 (正イオンモード) ネブライザーガス：N₂ (2.5 L/min) 乾燥ガス：N₂ (10 L/min) ヒートブロック温度：200 °C C D L 温度：250 °C モニターイオン：m/z 150 計算 (略)</p> <p>注 1 (略) (新設) 2~4 (略)</p> <p>(参考) 分析法バリデーション ・添加回収率^注及び繰返し精度</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>添加成分</th> <th>試料の種類</th> <th>繰返し</th> <th>添加濃度 (µg/kg)</th> <th>添加回収率 (%)</th> <th>繰返し精度 RSD_r(%以下)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="3">カルタップ</td> <td rowspan="2">ともろこし</td> <td>3</td> <td>20~200</td> <td>84.6~90.4</td> <td>4.3</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>40~600</td> <td>67.7~86.5</td> <td>5.1</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>(新設)</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">チオシクロム</td> <td>ともろこし</td> <td>3</td> <td>20~200</td> <td>80.1~88.2</td> <td>5.8</td> </tr> <tr> <td>ライグラス</td> <td>3</td> <td>40~600</td> <td>85.1~92.4</td> <td>9.4</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">ベンスルタップ</td> <td>ともろこし</td> <td>3</td> <td>60~300</td> <td>61.2~64.8</td> <td>6.5</td> </tr> <tr> <td>ライグラス</td> <td>3</td> <td>120~900</td> <td>57.5~57.5</td> <td>3.1</td> </tr> </tbody> </table> <p>・共同試験</p>	添加成分	試料の種類	繰返し	添加濃度 (µg/kg)	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%以下)	カルタップ	ともろこし	3	20~200	84.6~90.4	4.3	3	40~600	67.7~86.5	5.1					(新設)	チオシクロム	ともろこし	3	20~200	80.1~88.2	5.8	ライグラス	3	40~600	85.1~92.4	9.4	ベンスルタップ	ともろこし	3	60~300	61.2~64.8	6.5	ライグラス	3	120~900	57.5~57.5	3.1
添加成分名	試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)																																																																																																																
カルタップ	ともろこし	0.02	3	90.4	4.0																																																																																																																
		0.2	3	84.6	4.3																																																																																																																
	ライグラス	0.04	3	86.5	5.1																																																																																																																
		0.6	3	67.7	0.55																																																																																																																
		0.0175	6	79.7	5.3																																																																																																																
		0.614	5	83.7	6.9																																																																																																																
チオシクロム	ともろこし	0.02	3	88.2	4.7																																																																																																																
		0.2	3	80.1	5.8																																																																																																																
	ライグラス	0.04	3	92.4	9.4																																																																																																																
		0.6	3	85.1	4.9																																																																																																																
ベンスルタップ	ともろこし	0.06	3	61.2	1.3																																																																																																																
		0.3	3	64.8	6.5																																																																																																																
	ライグラス	0.12	3	57.5	2.8																																																																																																																
		0.9	3	57.5	3.1																																																																																																																
添加成分	試料の種類	繰返し	添加濃度 (µg/kg)	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%以下)																																																																																																																
カルタップ	ともろこし	3	20~200	84.6~90.4	4.3																																																																																																																
		3	40~600	67.7~86.5	5.1																																																																																																																
					(新設)																																																																																																																
チオシクロム	ともろこし	3	20~200	80.1~88.2	5.8																																																																																																																
	ライグラス	3	40~600	85.1~92.4	9.4																																																																																																																
ベンスルタップ	ともろこし	3	60~300	61.2~64.8	6.5																																																																																																																
	ライグラス	3	120~900	57.5~57.5	3.1																																																																																																																

改正後

成分名	試料の種類	試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
カルタップ	とうもろこし	7	<u>0.2</u>	74.3	8.1	25.8	1.27
	チモシー	7	<u>0.7</u>	72.3	3.7	21.0	1.25

・定量下限

カルタップ とうもろこし : 試料中 0.02 mg/kg、乾牧草 : 試料中 0.04 mg/kg、イアコーンサイレージ (風乾物) : 試料中 0.02 mg/kg

チオシクラム 試料中 0.02 mg/kg (乾牧草 0.04 mg/kg)

ベンスルタップ 試料中 0.06 mg/kg (乾牧草 0.12 mg/kg)

・検出下限

カルタップ とうもろこし : 試料中 0.006 mg/kg、乾牧草 : 試料中 0.01 mg/kg、イアコーンサイレージ (風乾物) : 試料中 0.003 mg/kg

チオシクラム とうもろこし : 試料中 0.006 mg/kg、乾牧草 : 試料中 0.01 mg/kg

ベンスルタップ 試料中 0.02 mg/kg (乾牧草 0.04 mg/kg)

注 (略)

46~268 (略)

第2節・第3節 (略)

第7章 有害物質

1~7 (略)

8 シアヌル酸

8.1 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による分析法

(適用範囲: 飼料)

A 試薬の調製

改正前

成分名	試料の種類	試験室数	添加濃度 (μg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
カルタップ	とうもろこし	7	<u>200</u>	74.3	8.1	25.8	1.27
	チモシー	7	<u>700</u>	72.3	3.7	21.0	1.25

・定量下限

カルタップ及びチオシクラム 試料中 20 μg/kg (乾牧草 40 μg/kg)

ベンスルタップ 試料中 60 μg/kg (乾牧草 120 μg/kg)

・検出下限

カルタップ及びチオシクラム 試料中 6 μg/kg (乾牧草 10 μg/kg)

ベンスルタップ 試料中 20 μg/kg (乾牧草 40 μg/kg)

注 (略)

46~268 (略)

第2節・第3節 (略)

第7章 有害物質

1~7 (略)

(新設)

改正後	改正前
<p>1) シアヌル酸標準原液 <u>シアヌル酸 [C₃H₃N₃O₃] 10 mg を正確に量って 20 mL の全量フラスコに入れ、水を加えて溶かし^{注1}、更に標線まで水を加えてシアヌル酸標準原液を調製する (この液 1 mL は、シアヌル酸として 500 µg を含有する。)</u>。</p> <p>2) シアヌル酸-¹³C₃内標準原液 <u>安定同位体標識シアヌル酸 (シアヌル酸-¹³C₃) 5 mg を正確に量って 20 mL の全量フラスコに入れ、水を加えて溶かし^{注1}、更に標線まで水を加えてシアヌル酸-¹³C₃内標準原液を調製する (この液 1 mL は、シアヌル酸-¹³C₃として 250 µg を含有する。)</u>。</p> <p>3) 検量線作成用シアヌル酸標準液^{注2} <u>使用に際して、シアヌル酸標準原液及びシアヌル酸-¹³C₃内標準液の一定量をギ酸ーアセトニトリル (1+24) で正確に希釈し、1 mL 中にシアヌル酸として 2.5~200 ng を含有し、かつシアヌル酸-¹³C₃として 10 ng を含有する数点の検量線作成用標準液を調製する。</u></p> <p>4) シアヌル酸-¹³C₃内標準液^{注2} <u>使用に際して、シアヌル酸-¹³C₃内標準原液の一定量を水で正確に希釈し、1 mL 中にシアヌル酸-¹³C₃として 4 µg を含有する内標準液を調製する。</u></p> <p>5) 溶離液</p> <p><u>A 液 : 10 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液 5 mL にアセトニトリルを加えて 100 mL とする。</u></p> <p><u>B 液 : 1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液 10 mL にアセトニトリルー水 (1+1) を加えて 1 L とする。</u></p> <p style="text-align: center;">B 定 量</p> <p><u>抽 出 分析試料 1 g を正確に量って 50 mL の共栓遠心沈殿管に入れ、水 10 mL を加えた後、15 分間超音波処理する。この遠心沈殿管にアセトニトリル 10 mL を加え、更にシアヌル酸-¹³C₃内標準液 250 µL を正確に加えた後、ホモジナイザー^{注3}で 1 分間かき混ぜて抽出する。抽出液を 1,600×g で 10 分間遠心分離し、</u></p>	

改正後	改正前
<p><u>上澄み液 2 mL を 10 mL の全量フラスコに正確に入れる。全量フラスコの標線までアセトニトリル-水 (1+1) を加え、カラム処理に供する試料溶液とする。</u></p> <p><u>カラム処理 強塩基性陰イオン交換体ミニカラム^{注4} をアセトニトリル 5 mL 及びアンモニア水-水 (5+23) 5 mL で順次洗浄する。試料溶液 2 mL をあらかじめアンモニア水 (5+23) 3 mL を入れたミニカラムに加え混和し、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。更にアンモニア水-水 (5+23) 5 mL 及びアセトニトリル 5 mL を順次ミニカラムに加えて洗浄した後、全量を流出^{注5} させる。10 mL の共栓試験管をミニカラムの下に置き、ギ酸-アセトニトリル (1+24) 2 mL をミニカラムに加えてシアヌル酸を溶出させた後、全量を溶出^{注5} させ混合する。</u></p> <p><u>溶出液をメンブランフィルター (孔径 0.45 μm 以下) でろ過し、液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定に供する試料溶液とする。</u></p> <p><u>液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定 試料溶液及び各検量線作成用標準液各 5 μL を液体クロマトグラフタンデム型質量分析計に注入し、選択反応検出クロマトグラムを得る。</u></p> <p><u>測定条件 例</u></p> <p><u>(液体クロマトグラフ部)</u></p> <p><u>カ ラ ム : 親水性相互作用クロマトグラフィ-カラム (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒径 5 μm) ^{注6}</u></p> <p><u>ガ ー ド カ ラ ム : 親水性相互作用クロマトグラフィ-カラム (内径 2.1 mm、長さ 20 mm、粒径 5 μm) ^{注7}</u></p> <p><u>溶 離 液 : A 液-B 液 (19+1) (8 min 保</u></p>	

改正後

改正前

持) →2 min→ (2+3) (10 min
保持) →2 min→ (19+1) (5
min 保持)

流 速 : 0.3 mL/min

カラム槽温度 : 40 °C

(タンデム型質量分析計部^{注8})

イオン化法 : エレクトロスプレーイオン化
(ESI) 法 (負イオンモード)

ネブライザーガス : N₂ (3 L/min)

乾燥ガス : N₂ (15 L/min)

ヒートブロック温度 : 300 °C

D L 温度 : 250 °C

コリジョンガス : Ar (230 kPa)

コリジョンエネルギー : 下表のとおり

モニターイオン : 下表のとおり

表 各物質のモニターイオン条件

物質名	プリカーサー	プロダクトイオン		コリジョン
	イオン	定量用	確認用	エネルギー
	(m/z)	(m/z)	(m/z)	(eV)
シアヌル酸	128	42	—	17
		—	85	10
シアヌル酸- ¹³ C ₃	131	43	—	16
		—	87	11

計 算 得られた選択反応検出クロマトグラムからシアヌル酸及びシアヌル酸-¹³C₃ のピーク面積を求めて内標準法により検量線を作成し、試料中のシアヌル酸量を算出する。

注 1 十分に溶けない場合は、一夜静置又は超音波処理により溶解する。

改正後

改正前

- 2 保存した各標準原液を使用する場合は、超音波処理をした後に使用する。
- 3 POLYTRON PT20SK (KINEMATICA 製) 又はこれと同等のもの
- 4 Oasis MAX (Waters 製、充てん剤量 150 mg、粒径 60 μm、リザーバー容量 6 mL) 又はこれと同等のもの
- 5 流速は 1~2 mL/min 程度とする。必要に応じて吸引マニホールドを使用する。
- 6 SeQuant ZIC-HILIC (Merck Millipore 製、充填剤はシリカゲル基材にスルホベタイン基 (両性イオン型官能基) を化学結合したもの。) 又はこれと同等のもの
- 7 SeQuant ZIC-HILIC Guard (Merck Millipore 製) 又はこれと同等のもの
- 8 LCMS-8040 (島津製作所製) による条件例

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)
成鶏飼育用配合飼料	0.5	5	99.0	7.2
	2.5	5	98.9	1.7
ぶり類育成用配合飼料	0.5	5	93.3	2.5
	2.5	5	95.3	1.0
魚粉	0.5	5	98.1	16
	2.5	5	96.2	2.5
大豆油かす	0.5	5	89.9	5.8
	2.5	5	94.4	1.0
脱脂粉乳	0.5	5	107	9.6
	2.5	5	100	4.8

・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _b (%)
ブロイラー肥育後期用配合飼料	11	0	2.5	99.5	4.1	6.7
ほ乳期子豚育成用配合飼料	10	1	2.0	101	5.5	6.4
ぶり類育成用配合飼料	11	0	1.5	95.9	2.1	6.4

改正後		改正前	
<u>大豆油かす</u>	<u>11</u> <u>0</u> <u>1.0</u> <u>97.5</u> <u>4.8</u> <u>8.9</u>		
<u>魚粉</u>	<u>11</u> <u>0</u> <u>5.0</u> <u>99.4</u> <u>1.9</u> <u>4.0</u>		
<u>脱脂粉乳</u>	<u>10</u> <u>1</u> <u>3.0</u> <u>100</u> <u>3.1</u> <u>8.7</u>		
・ <u>定量下限</u>	<u>試料中</u> <u>0.5 mg/kg</u>		
・ <u>検出下限</u>	<u>試料中</u> <u>0.2 mg/kg</u>		
別表 1 (略) シアナジン C ₉ H ₁₃ CIN ₆ (CAS : 21725-46-2) <u>シアヌル酸</u> <u>C₃H₃N₃O₃</u> <u>(CAS : 108-80-5)</u> (略)		別表 1 (略) シアナジン C ₉ H ₁₃ CIN ₆ (CAS : 21725-46-2) (新設) (略)	