

**技術レポート****1 飼料中の粗たん白質の燃焼法による定量法の妥当性確認**

八木 寿治<sup>\*1</sup>, 榊原 良成<sup>\*2</sup>, 吉永 晋<sup>\*3</sup>, 福本 裕二<sup>\*2</sup>, 石黒 瑛一<sup>\*4</sup>, 安井 明美<sup>\*5</sup>

**Method Validation for Determination of Crude Protein in Feeds by Combustion Method**

Toshiharu YAGI<sup>\*1</sup>, Yoshinari SAKAKIBARA<sup>\*2</sup>, Susumu YOSHINAGA<sup>\*3</sup>, Yuji FUKUMOTO<sup>\*2</sup>,  
Eiichi ISHIKURO<sup>\*4</sup> and Akemi YASUI<sup>\*5</sup>

(<sup>\*1</sup> I.A.A. Fertilizer and Feed Inspection Service, Headquarters

(Now Food and Agricultural Materials Inspection Center, Nagoya Regional Center),

<sup>\*2</sup> I.A.A. Fertilizer and Feed Inspection Service, Headquarters

(Now Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center Osaka Office),

<sup>\*3</sup> I.A.A. Fertilizer and Feed Inspection Service, Headquarters

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

<sup>\*4</sup> I.A.A. Fertilizer and Feed Inspection Service, Headquarters (Now Japan Food Research Laboratories),

<sup>\*5</sup> I.A.A. National Agriculture and Food Research Organization National Food Research Institute)

The combustion method was compared with the Kjeldahl method for determination of crude protein in feeds. Three formula feeds and six feed ingredients were analyzed by the combustion method (using two instruments) and the Kjeldahl method (manually and using instruments). The results were subjected to t-test of Welch. A significant difference was observed between the results obtained by the combustion method and those obtained by the Kjeldahl method except for the results obtained for cattle formula feed and poultry formula feed. The mean values on all samples were 32.2% for the combustion method and 31.7% for the Kjeldahl method, indicating the combustion method tends to produce a result slightly higher than the Kjeldahl method. A collaborative study was performed in eleven laboratories to evaluate the reproducibility of the combustion method. The participant laboratories analyzed the aforementioned nine materials combined with hydrochloric acid L-lysine. The relative standard deviations of repeatability and reproducibility ( $RSD_r$  and  $RSD_R$ ) were from 0.4 to 1.0%, and from 0.5 to 1.6%, respectively. HorRat was from 0.2 to 0.5.

Key words: 飼料 feed ; 粗たん白質 crude protein ; 燃焼法 combustion method ; ケルダール法 Kjeldahl method ; 共同試験 collaborative study ; 妥当性確認 validation

<sup>\*1</sup> 独立行政法人肥飼料検査所本部, 現 (独) 農林水産消費安全技術センター名古屋センター

<sup>\*2</sup> (独) 肥飼料検査所本部, 現 (独) 農林水産消費安全技術センター神戸センター大阪事務所

<sup>\*3</sup> (独) 肥飼料検査所本部, 現 (独) 農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

<sup>\*4</sup> (独) 肥飼料検査所本部, 現 財団法人日本食品分析センター

<sup>\*5</sup> (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

## 1 緒 言

現在、飼料中の粗たん白質の定量法として、ケルダール法が広く用いられている。ケルダール法の歴史は古く、100年以上前に開発されて改良が重ねられ、現在ではケルダール法による分解装置と自動蒸留・滴定装置を組み合わせた自動分析装置を使用する方法が一般的である。

燃焼法である Dumas 法は AOAC 11<sup>th</sup> ed<sup>1)</sup>に初めて採用された。AOAC 16<sup>th</sup> ed<sup>2)</sup>では Dumas 法から Combustion 法に名称が変更されるとともに内容も改良され、AOAC 18<sup>th</sup> ed<sup>3)</sup>においては適用範囲は飼料のほか穀類及び油糧種子、肉及び肉製品にも採用されている。また、ISO 法でも Dumas 法に基づく燃焼法が穀類、豆類、粉碎した穀類、油糧種子及び飼料で採用されている<sup>4)</sup>。燃焼法はケルダール法と比較して試料の分解処理時に濃硫酸や硫酸銅等を使用しないため環境への負担が少ない点、装置が使いやすくメンテナンスが容易な点、分析時間が通常 5~10 分と大幅に短縮される点等、優れている点が多い。

諸外国では飼料の分野でも、この燃焼法の普及が進んでおり、国際的な商取引の場においても、この燃焼法のデータを使用することが多くなっている。しかしながら、わが国では燃焼法は上記のような利点を持ちながらも、公定分析法に採用されていなかった。今回、公定分析法として飼料分析基準<sup>5)</sup>への採用の要望が多数寄せられたため、飼料への適用時の燃焼法とケルダール法、両分析法の差異について検討し、同時に、燃焼法による粗たん白質の定量法の妥当性確認も行ったので報告する。

## 2 実験方法

### 2.1 試 料

市販の配合飼料（牛用配合飼料，豚用配合飼料，鶏用配合飼料）及び飼料原料（ふすま，マイロ，大豆油かす，調整魚粉，輸入魚粉，アルファルファヘイ）をそれぞれ全量が 0.5 mm の網ふるいを通過するまで粉碎して用いた。

### 2.2 装 置

Sweeney<sup>6)</sup>によると、燃焼法による粗たん白質定量のための自動分析装置としては次の 1 から 4 の能力を有するものが必要であるとしており、AOAC 18<sup>th</sup> ed<sup>3)</sup>にも同様の記載がされている。

- 1 純粋な（純度 99.9%の）酸素ガス中で試料を熱分解するため、最低 950°C の操作温度を保持できる燃焼炉をもつこと。
- 2 熱伝導検出器による窒素ガスの測定のために、遊離された窒素ガスを他の燃焼生成物から分離できるシステムをもつこと。
- 3 窒素酸化物 (NO<sub>x</sub>) を窒素ガス (N<sub>2</sub>) に変換する機構、あるいは窒素を NO<sub>2</sub> として測定できる機構をもつこと。
- 4 正確さ検定用標準品を用いて繰返し測定したときの窒素量の平均値及び標準偏差が一定 (0.15%以下) の範囲内であること。

そのため、筆者らは、上記の能力を満たす自動分析装置 2 機種 (NC-1000 及び NC-220F, 住化分析センター製) を使用して検討を行った。

一方、ケルダール法による分析については飼料分析基準<sup>5)</sup>のマクロケルダール法の他に、ケルダール自動分析装置 1 機種 (ブロック加熱装置: DK20 型, VELP 製) (蒸留・滴定装置: 1300 型スーパーケル, アクタック製) を使用して検討を行った。

## 2.3 分析方法

燃焼法では、窒素含量に応じて分析試料 100~500 mg を正確に量り、窒素（たん白質）分析装置に入れ、分析装置を作動させ窒素ガスの検出ピークを得た。同時に、検量線作成用試薬として EDTA または DL-アスパラギン酸を正確に量り、装置に入れ、窒素ガスの検出ピークを得た。得られた検出ピークから面積を求めて検量線を作成し、試料中の窒素含量を算出した後、窒素含量に 6.25 を乗じて粗たん白質量（%）を求めた。

マクロケルダール法では分析試料 2 g を、ケルダール自動分析装置では分析試料 1 g をそれぞれ正確に量り分析を行った。

## 3 結果及び考察

### 3.1 燃焼法及びケルダール法による粗たん白質の定量結果

燃焼法による粗たん白質の定量を、自動分析装置 2 機種を用い、各々の試料に対して 10 回繰り返し分析を行った。得られた定量値に対して Grubbs の検定によって外れ値を除外した後、平均値及び繰り返し精度を求めた（Table 1）。燃焼法の繰り返し精度は相対標準偏差（ $RSD_r$ ）として 0.07~0.79%であった。

**Table 1 Quantitative values of crude protein by combustion method**

Sample	Instrument A <sup>a)</sup>					Instrument B <sup>b)</sup>				
	N <sup>c)</sup>	Outliers	Estd. protein (%)	SD (%)	$RSD_r$ (%)	N <sup>c)</sup>	Outliers	Estd. protein (%)	SD (%)	$RSD_r$ (%)
Formula feed for cattle	9	1	13.07	(0.06)	(0.46)	10	0	13.28	(0.04)	(0.31)
Formula feed for swine	10	0	18.81	(0.10)	(0.53)	10	0	18.88	(0.15)	(0.79)
Formula feed for poultry	10	0	18.92	(0.08)	(0.43)	10	0	19.31	(0.10)	(0.50)
Wheat bran	10	0	16.09	(0.06)	(0.40)	8	2	15.97	(0.08)	(0.47)
Grain sorghum	10	0	9.13	(0.06)	(0.62)	9	1	9.16	(0.03)	(0.38)
Soybean meal	10	0	50.27	(0.11)	(0.22)	10	0	49.74	(0.12)	(0.24)
Fish meal (domestic)	10	0	63.45	(0.13)	(0.21)	10	0	62.77	(0.12)	(0.19)
Fish meal (imported)	10	0	68.65	(0.16)	(0.24)	10	0	67.41	(0.04)	(0.07)
Alfalfa hay	10	0	17.97	(0.12)	(0.69)	-	-	-	-	-

a) Model NC-1000

b) Model NC-220F

c) Number of determinations

ケルダール法による粗たん白質の定量は、マクロケルダール法及びケルダール自動分析装置を用い、各々の試料に対して 10 回繰り返し分析を行った。得られた定量値に対して Grubbs の検定によって外れ値を除外した後、平均値及び繰り返し精度を求めた（Table 2）。ケルダール法の繰り返し精度は相対標準偏差（ $RSD_r$ ）として 0.18~1.24%であった。

**Table 2 Quantitative values of crude protein by Kjeldahl method**

Sample	Analysis method C <sup>a)</sup>					Instrument D <sup>b)</sup>				
	N <sup>c)</sup>	Outliers	Estd. protein (%)	SD (%)	RSD <sub>r</sub> (%)	N <sup>c)</sup>	Outliers	Estd. protein (%)	SD (%)	RSD <sub>r</sub> (%)
Formula feed for cattle	10	0	13.15	(0.10)	(0.78)	10	0	13.23	(0.07)	(0.52)
Formula feed for swine	10	0	18.57	(0.07)	(0.37)	9	1	18.76	(0.03)	(0.18)
Formula feed for poultry	10	0	19.12	(0.12)	(0.64)	10	0	19.09	(0.06)	(0.34)
Wheat bran	10	0	15.82	(0.15)	(0.95)	10	0	15.74	(0.07)	(0.42)
Grain sorghum	10	0	8.97	(0.11)	(1.24)	10	0	9.12	(0.07)	(0.78)
Soybean meal	10	0	48.93	(0.30)	(0.61)	10	0	49.73	(0.16)	(0.32)
Fish meal (domestic)	10	0	61.95	(0.48)	(0.78)	10	0	62.16	(0.26)	(0.42)
Fish meal (imported)	10	0	65.89	(0.66)	(1.00)	10	0	66.57	(0.24)	(0.36)
Alfalfa hay	10	0	17.67	(0.10)	(0.58)	-	-	-	-	-

a) Macro-Kjeldahl method (manual)

b) Model DK20 and 1300 Super Kjel

c) Number of determinations

両方法の繰返し精度の相対標準偏差 (RSD<sub>r</sub>) を比較したところ、分析精度はほぼ同等であった。

### 3.2 両方法間の比較

Table 1 及び Table 2 の各装置又は方法による定量値をそれぞれプールし、燃焼法及びケルダール法としての平均値を求めて両方法の比較を行った。その結果を Table 3 に示した。

**Table 3 Comparison between the Kjeldahl and combustion methods**

Sample	Combustion	Kjeldahl	Difference
	Mean protein (%)	Mean protein (%)	Comb.-Kjel.(%)
Formula feed for cattle	13.17	13.17	0.00
Formula feed for swine	18.85	18.66	0.19
Formula feed for poultry	19.12	19.10	0.02
Wheat bran	16.04	15.78	0.26
Grain sorghum	9.14	9.07	0.07
Soybean meal	50.00	49.33	0.67
Fish meal (domestic)	63.11	62.05	1.06
Fish meal (imported)	68.03	66.23	1.80
All mean protein (%)	32.18	31.67	0.51

各試料について Welch の *t* 検定を有意水準 5%で行ったところ、牛用配合飼料と鶏用配合飼料以外では両方法間では有意差が認められた。これは主として、通常のケルダール法では試料中の硝酸態窒素分の完全回収ができないが、燃焼法では窒素として定量できるため、その差が現れたものと考えられた。

また、3 種類の配合飼料の中で有意差が認められた豚用配合飼料は、硝酸態窒素を多く含有していると言われている魚粉を多く配合していたためであると考えられた。

次に、燃焼法による粗たん白質の総平均値とケルダール法による総平均値を比較したところ

燃焼法による粗たん白質の総平均値が平均 0.51%高い値が得られた。今回、筆者らが検討に用いた試料の種類と若干異なるので単純な比較はできないが、他の比較検討結果と比較してみると、Sweeney<sup>6)</sup>による結果は平均 0.24%、Sweeney ら<sup>7)</sup>による結果は平均 0.19%、Bicsak<sup>8)</sup>による結果は平均 0.05%といずれも今回の検討結果と同様に燃焼法による定量値がケルダール法による定量値より高い結果となっていた。

以上より、試料の種類にもよるが、燃焼法を用いて粗たん白質の定量値を求めた場合には概して、ケルダール法による定量値よりも大きくなる傾向があるため、別途、硝酸態窒素等の非たん白窒素を差し引く等の対応が必要であることが考えられた。

### 3.3 共同試験

燃焼法による定量法の妥当性を確認するため、共通試料による共同試験を実施した。11 試験室において、国内で販売されている自動分析装置 8 機種を用い、試料は先の検討で用いたものと同じものに、塩酸 L-リジンを加えた計 10 試料を非明示反復して総計 20 試料について、各 3 回測定を行った。得られた試験結果から IUPAC の共同試験のプロトコル<sup>9)</sup>を参考にし、Cochran 及び Grubbs の検定によって外れ値を除外した。結果を Table 4 に示した。

その後、総平均値と繰返し精度及び室間再現精度の相対標準偏差を算出し、修正 Horwitz 式<sup>10)</sup>から HorRat を求めた。これらを試料別に Table 5 にまとめた。

**Table 4 Interlaboratory study results for determination of crude protein in feeds by combustion method**

(%)												
Lab. No.	Formula feed for cattle						Formula feed for swine					
	1	13.2	13.2	13.2	13.2	13.4	13.4	18.8	18.9	19.0	19.1	19.1
2	13.3	13.3	13.4	13.3	13.4	13.3	18.9	19.0	19.0	18.8	19.0	18.8
3	13.3	13.4	13.3	13.3	13.4	13.4	19.0	19.2	19.0	19.2	19.1	19.1
4	13.3	13.4	13.3	13.3	13.3	13.4	19.2	19.0	19.2	18.9	19.2	19.2
5	13.8 <sup>b)</sup>	13.6 <sup>b)</sup>	13.7 <sup>b)</sup>	13.9 <sup>b)</sup>	13.9 <sup>b)</sup>	13.7 <sup>b)</sup>	19.5	19.9	19.7	19.8	19.6	19.7
6	13.7	13.3	13.4	13.4	13.4	13.6	19.3 <sup>a)</sup>	19.0 <sup>a)</sup>	19.9 <sup>a)</sup>	19.6 <sup>a)</sup>	19.5 <sup>a)</sup>	20.0 <sup>a)</sup>
7	13.8	13.8	13.9	13.5	13.4	13.7	19.5 <sup>b)</sup>	20.2 <sup>b)</sup>	20.3 <sup>b)</sup>	20.0 <sup>b)</sup>	20.0 <sup>b)</sup>	20.1 <sup>b)</sup>
8	13.2	13.4	13.3	13.2	13.3	13.3	19.1	19.2	19.0	18.9	19.1	19.2
9	13.2 <sup>a)</sup>	13.4 <sup>a)</sup>	13.5 <sup>a)</sup>	15.9 <sup>a)</sup>	13.5 <sup>a)</sup>	13.5 <sup>a)</sup>	18.8	19.1	18.8	19.2	19.2	19.1
10	13.2	13.3	13.4	13.2	13.2	13.4	19.0	19.1	19.1	18.9	19.0	19.1
11	13.6	13.6	13.6	13.4	13.5	13.5	19.4	19.3	19.2	19.1	19.2	19.4

  

Lab. No.	Formula feed for poultry						Wheat bran					
	1	19.3	19.4	19.4	19.3	19.4	19.4	15.9	15.9	16.0	15.7	16.0
2	19.3	19.4	19.3	19.3	19.3	19.3	15.9	16.1	16.1	16.0	16.0	15.9
3	19.4	19.4	19.4	19.5	19.5	19.4	16.1	16.1	16.2	16.2	16.1	16.3
4	19.7	19.5	19.4	19.4	19.4	19.6	16.0	16.0	16.2	16.0	16.2	16.1
5	19.9 <sup>b)</sup>	20.2 <sup>b)</sup>	20.0 <sup>b)</sup>	20.0 <sup>b)</sup>	20.0 <sup>b)</sup>	19.9 <sup>b)</sup>	16.8 <sup>b)</sup>	16.7 <sup>b)</sup>	16.7 <sup>b)</sup>	16.5 <sup>b)</sup>	16.6 <sup>b)</sup>	16.5 <sup>b)</sup>
6	19.7	19.4	19.8	19.7	19.8	19.6	16.5	16.2	16.6	16.4	16.3	16.3
7	20.2 <sup>b)</sup>	20.4 <sup>b)</sup>	20.2 <sup>b)</sup>	20.4 <sup>b)</sup>	20.1 <sup>b)</sup>	20.6 <sup>b)</sup>	17.4 <sup>a)</sup>	16.6 <sup>a)</sup>	17.3 <sup>a)</sup>	17.5 <sup>a)</sup>	18.1 <sup>a)</sup>	17.5 <sup>a)</sup>
8	19.2	19.2	19.2	18.8	19.2	19.2	16.1	15.7	15.7	15.8	15.8	15.4
9	19.5	19.4	19.5	19.9	19.2	19.6	16.1	16.2	16.2	16.0	16.3	16.3
10	19.4	19.3	19.4	19.4	19.3	19.5	15.9	16.0	16.1	16.0	16.0	16.2
11	19.4	19.6	19.6	19.5	19.6	19.6	16.2	16.2	16.3	16.1	16.1	16.2

  

Lab. No.	Grain sorghum						Soybean meal					
	1	9.2	9.1	9.3	9.2	9.3	9.3	50.2	50.0	50.0	49.7	50.0
2	9.1	9.3	9.2	9.2	9.2	9.2	49.9	50.3	50.1	49.9	49.9	50.0
3	9.3	9.3	9.4	9.4	9.4	9.3	50.0	49.9	50.0	49.8	50.2	49.9
4	9.2	9.1	9.2	9.3	9.3	9.3	50.4	50.4	50.4	50.4	50.3	50.2
5	9.6 <sup>b)</sup>	9.8 <sup>b)</sup>	9.8 <sup>b)</sup>	9.7 <sup>b)</sup>	9.7 <sup>b)</sup>	9.4 <sup>b)</sup>	50.7 <sup>b)</sup>	51.1 <sup>b)</sup>	50.9 <sup>b)</sup>	51.1 <sup>b)</sup>	51.0 <sup>b)</sup>	50.6 <sup>b)</sup>
6	9.5	9.3	9.3	9.4	9.4	9.6	50.3	49.8	50.6	50.1	49.7	50.1
7	9.8 <sup>a)</sup>	10.4 <sup>a)</sup>	10.6 <sup>a)</sup>	10.1 <sup>a)</sup>	10.1 <sup>a)</sup>	10.3 <sup>a)</sup>	51.2 <sup>b)</sup>	50.7 <sup>b)</sup>	50.6 <sup>b)</sup>	51.0 <sup>b)</sup>	50.9 <sup>b)</sup>	50.8 <sup>b)</sup>
8	9.1	9.1	9.2	8.9	9.2	9.2	50.2	50.2	49.7	50.0	50.4	49.7
9	9.3	9.1	9.3	9.3	9.3	9.4	50.5	50.4	50.7	50.5	50.3	50.4
10	9.2	9.1	9.3	9.1	9.1	9.3	49.8	50.1	50.4	50.0	49.9	50.5
11	9.7	9.8	9.8	9.4	9.4	9.4	50.2	49.8	50.0	49.8	49.8	50.0

  

Lab. No.	Fish meal (domestic)						Fish meal (imported)					
	1	62.6	63.0	62.8	63.2	63.0	62.9	67.8	67.7	67.9	67.8	67.9
2	63.1	63.0	63.3	63.1	63.1	62.9	67.9	68.0	67.9	67.7	67.6	67.7
3	63.4	63.3	63.5	63.5	63.6	63.3	68.0	68.1	68.1	68.3	68.4	68.1
4	64.1	63.6	63.6	63.4	63.6	63.6	68.4	68.3	67.9	68.1	68.1	68.2
5	63.0	63.8	62.9	63.1	63.1	63.4	67.1	68.0	67.0	67.8	67.8	67.6
6	63.0	62.7	63.4	63.1	62.8	63.9	67.5	67.3	67.6	68.2	67.6	68.5
7	63.4	63.2	63.1	63.2	62.9	62.7	68.4	67.4	68.3	69.1	68.8	68.7
8	62.6 <sup>b)</sup>	62.5 <sup>b)</sup>	62.3 <sup>b)</sup>	62.2 <sup>b)</sup>	62.9 <sup>b)</sup>	62.0 <sup>b)</sup>	66.4 <sup>a)</sup>	66.3 <sup>a)</sup>	66.3 <sup>a)</sup>	68.0 <sup>a)</sup>	68.5 <sup>a)</sup>	67.9 <sup>a)</sup>
9	63.4	63.3	63.5	63.9	63.5	63.5	68.4	67.8	68.1	68.3	68.0	68.6
10	63.0	63.2	63.7	63.0	63.0	63.5	67.8	67.6	68.1	67.5	67.6	68.0
11	62.7	62.8	62.4	62.9	62.6	62.9	67.8	67.8	67.8	67.6	67.3	67.2

  

Lab. No.	Alfalfa hay						L-lysine-HCl					
	1	18.2	18.1	18.2	17.7	18.1	18.0	95.9	95.9	95.9	95.9	95.8
2	17.8	18.0	18.0	18.1	17.9	17.6	96.1	95.0	94.8	96.0	94.9	94.8
3	18.1	18.0	18.1	18.0	18.0	18.1	96.5	96.5	96.7	96.6	96.5	96.4
4	18.2	18.1	18.0	18.1	18.2	18.0	96.3	95.9	95.8	95.8	95.8	95.9
5	18.3	18.8	18.5	18.7	18.9	18.7	95.2	96.0	96.2	96.2	96.0	96.2
6	18.1	18.1	18.4	18.1	18.0	18.2	94.1	93.5	92.8	93.4	93.4	92.9
7	19.4 <sup>b)</sup>	19.7 <sup>b)</sup>	19.6 <sup>b)</sup>	19.2 <sup>b)</sup>	19.7 <sup>b)</sup>	19.7 <sup>b)</sup>	93.0	92.6	93.1	93.6	92.9	92.8
8	17.0	17.8	17.4	17.8	18.1	17.5	93.3	93.7	93.7	93.3	93.5	93.7
9	19.1 <sup>a)</sup>	18.0 <sup>a)</sup>	18.0 <sup>a)</sup>	18.1 <sup>a)</sup>	18.2 <sup>a)</sup>	18.1 <sup>a)</sup>	95.5	95.7	95.0	95.6	95.7	96.2
10	18.2	18.1	18.2	18.1	18.1	18.3	95.4	95.4	96.1	95.4	95.2	96.2
11	18.2	18.3	18.3	18.2	18.3	18.3	95.8	94.9	94.9	95.4	94.6	94.7

a) Outlier by Cochran test

b) Outlier by Grubbs test

**Table 5 Results of collaborative study**

Sample	Number of valid labs	Number of outlying labs	All average estd. protein (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>R</sub> <sup>b)</sup> (%)	HorRat <sup>c)</sup>
Formula feed for cattle	9	2	13.4	0.7	1.1	0.3
Formula feed for swine	9	2	19.1	0.7	1.2	0.4
Formula feed for poultry	9	2	19.4	0.7	0.9	0.3
Wheat bran	9	2	16.1	0.8	1.2	0.3
Grain sorghum	9	2	9.3	0.9	1.5	0.4
Soybean meal	9	2	50.1	0.4	0.5	0.2
Fish meal (domestic)	10	1	63.2	0.4	0.5	0.2
Fish meal (imported)	10	1	67.9	0.4	0.5	0.2
Alfalfa hay	9	2	18.1	1.0	1.6	0.5
L-lysine-HCl	11	0	95.1	0.4	1.2	0.5

a) Repeatability (relative standard deviation)

b) Reproducibility (relative standard deviation)

c) HorRat is calculated from modified Horwitz formula

Table 5 のとおり、各試料の繰返し精度及び室間再現精度は相対標準偏差 (RSD<sub>r</sub> 及び RSD<sub>R</sub>) として 0.4~1.0%及び 0.5~1.6%, 全窒素含量に基づく HorRat は 0.2~0.5 の範囲にあり、分析法の妥当性が確認された。なお、塩酸 L-リジンの理論定量値は 95.88%で、外れ値を報告する試験室はなかったが 11 試験室の中で 3 試験室はやや低い定量値を示した。

Bicsak<sup>8)</sup>の報告では大豆油かすの繰返し精度及び室間再現精度は相対標準偏差 (RSD<sub>r</sub> 及び RSD<sub>R</sub>) として 0.77%及び 1.24%, マイロの繰返し精度及び室間再現精度は相対標準偏差 (RSD<sub>r</sub> 及び RSD<sub>R</sub>) として 2.57%及び 2.84%, 塩酸 L-リジンの繰返し精度及び室間再現精度は相対標準偏差 (RSD<sub>r</sub> 及び RSD<sub>R</sub>) として 0.38%及び 0.75%であり、著者らの検討結果とほぼ同様の成績であった。

共同試験で使用された燃焼法による粗たん白質定量のための自動分析装置を Table 6 に示した。

**Table 6 Instruments used the collaborative study**

Model	
Vario MAX	(Elementar)
Rapid NIII Nitrogen-Analyzer	(Elementar)
Flash EA 1112N/P	(THERMO ELECTRON)
JM3000N	(J-SCIENCE LAB)
NC-220F	(Sumika Chemical Analysis Service)
NC-1000	(Sumika Chemical Analysis Service)
Tru Spec N	(LECO)
FP-2000	(LECO)

#### 4 まとめ

飼料中の粗たん白質について燃焼法を用いた定量法を検討したところ次の結果を得た。

- 1) 燃焼法による粗たん白質の定量値の繰返し精度は相対標準偏差 ( $RSD_r$ ) として 0.07~0.79%であり、ケルダール法による粗たん白質の定量値の繰返し精度は相対標準偏差 ( $RSD_r$ ) として 0.18~1.24%であった。
- 2) 燃焼法による粗たん白質の定量値はケルダール法による定量値に対して平均 0.51%高く、燃焼法とケルダール法による繰返し精度は、相対標準偏差 ( $RSD_r$ ) を比較した結果、ほぼ同等であった。
- 3) 各試料について Welch の  $t$  検定を有意水準 5%で行ったところ、牛用配合飼料と鶏用配合飼料以外では両方法間では有意差が認められた。
- 4) 試料の種類にもよるが、燃焼法を用いて粗たん白質の定量値を求めた場合には概して、ケルダール法による定量値よりも大きくなる傾向があるため、別途、硝酸態窒素等の非たん白窒素を差し引く等の対応が必要であることが考えられた。

なお、本報告の一部は日本分析化学会第54年会 (2005) において発表された。また、本法は現行の飼料分析基準<sup>11)</sup>に記載されている。

#### 謝 辞

本試験に際し、助言をいただいた現、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堀田博食品分析研究領域分析ユニット長に感謝の意を表します。また、共同試験にご協力いただいた株式会社アクタック、株式会社アムコ、株式会社ジェイ・サイエンス・ラボ、株式会社住化分析センター、LECOジャパン株式会社、日本シイベルヘグナー株式会社、財団法人日本食品分析センター及び明治飼糧株式会社鹿島工場の試験室の各位に感謝の意を表します。

#### 文 献

- 1) Official Methods of Analysis of AOAC 11ed (1970).
- 2) Official Methods of Analysis of AOAC Int.16ed (1995).
- 3) Official Methods of Analysis of AOAC Int.18ed (2005).
- 4) ISO/FDIS 16634 (2005).
- 5) 農林水産省畜産局長通知：“飼料分析基準の制定について”，平成7年11月15日，7畜B第1660号 (1995).
- 6) Sweeney, R. A.: J. Assoc. Off. Anal. Chem., 72, 770 (1989).
- 7) Sweeney, R. A. & Rexroad, P.R.: J. Assoc. Off. Anal. Chem., 70, 1028 (1987).
- 8) Bicsak, R. C.: J. AOAC Int., 76, 780 (1993).
- 9) Horwitz, W.: IUPAC Protocol for the design, conduct and interpretation of method-performance studies: Revised 1994, Pure and Appl. Chem., 67(2), 331-343 (1995).
- 10) M. Thompson.: Analyst, 125, 385 (2000).
- 11) 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).