

○愛玩動物用飼料等の検査法（平成 21 年 9 月 1 日付け 21 消技第 1764 号）一部改正 新旧対照表

（下線部は改正箇所）

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 各条</p> <p style="padding-left: 2em;">1~10 （略）</p> <p style="padding-left: 2em;"><u>11 ニバレノール</u></p> <p>第 2 節・第 3 節 （略）</p> <p style="text-align: center;">第 6 章~第 11 章 （略）</p> <p>別表 1~別表 3 （略）</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 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 各条</p> <p style="padding-left: 2em;">1~10 （略）</p> <p style="padding-left: 2em;">（新設）</p> <p>第 2 節・第 3 節 （略）</p> <p style="text-align: center;">第 6 章~第 11 章 （略）</p> <p>別表 1~別表 3 （略）</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>

改正後	改正前
<p>第1節 各条</p> <p>1~4 (略)</p> <p>5 デオキシニバレノール</p> <p>5.1 (略)</p> <p>5.2 <u>デオキシニバレノール及び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同時分析法</u> <u>(適用範囲：ドライ製品、セミドライ製品、ウェット製品、成 型ジャーキー、素材乾燥ジャーキー(ハードタイプ及びソフ トタイプ)、菓子類及び粉ミルク)</u> <u>第2節4による。</u></p> <p>6~10 (略)</p> <p>11 <u>ニバレノール</u></p> <p>11.1 <u>デオキシニバレノール及び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同時分析法</u> <u>(適用範囲：ドライ製品、セミドライ製品、ウェット製品、成型 ジャーキー、素材乾燥ジャーキー(ハードタイプ及びソフトタ イプ)、菓子類及び粉ミルク)</u> <u>第2節4による。</u></p> <p>第2節 多成分分析法</p> <p>1~3 (略)</p> <p>4 デオキシニバレノール及び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同時分析法 <u>(適用範囲：ドライ製品、セミドライ製品、ウェット製品、成型 ジャーキー、素材乾燥ジャーキー(ハードタイプ及びソフトタ イプ)、菓子類及び粉ミルク)</u></p> <p style="text-align: center;">A 試薬等の調製</p>	<p>第1節 各条</p> <p>1~4 (略)</p> <p>5 デオキシニバレノール</p> <p>5.1 (略) (新設)</p> <p>6~10 (略) (新設)</p> <p>第2節 多成分分析法</p> <p>1~3 (略) (新設)</p>

改正後	改正前
<p><u>かび毒混合標準液</u> <u>デオキシニバレノール [C₁₅H₂₀O₆] 及びニバレノール [C₁₅H₂₀O₇] 各 1 mg を正確に量り、アセトニトリル 10 mL を正確に加えて溶かし、各かび毒標準原液を調製する^{注1} (この液 1 mL は、各かび毒としてそれぞれ 0.1 mg を含有する。)</u>。更に各標準原液の一定量を混合し、アセトニトリルで正確に希釈し、1 mL 中に各かび毒として 10 µg を含有するかび毒混合標準原液を調製する。</p> <p><u>使用に際して、標準原液の一定量を水-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及びニバレノールとしてそれぞれ 0.5~1,000 ng を含有する数点のかび毒混合標準液を調製する。</u></p> <p style="text-align: center;"><u>B 定 量</u></p>	

改正後	改正前
<p><u>抽出</u></p> <p>1) <u>ウェット製品以外の試料</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、アセトニトリルー水 (21+4) 200 mL を加え、密栓して 60 °C で 60 分間静置した後、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、1,000×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液をカラム処理に供する試料溶液とする。</p> <p>2) <u>ウェット製品</u> 分析試料 25.0 g を量って 200 mL の共栓三角フラスコに入れ、アセトニトリルー水 (21+4) 70 mL を加え、30 分間振り混ぜて抽出した後、10 分間静置する。抽出液を 100 mL の共栓遠心沈殿管に入れ、1,600×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液を 200 mL の全量フラスコに入れる。共栓遠心沈殿管をアセトニトリルー水 (21+4) 70 mL で洗浄し、洗液を順次先の共栓三角フラスコに移し、同様に 30 分間振り混ぜて抽出する。内容物を先の共栓遠心沈殿管に入れ、1,600×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液を先の全量フラスコに加え、更に全量フラスコの標線までアセトニトリルー水 (21+4) を加え、カラム処理に供する試料溶液とする。</p>	

改 正 後	改 正 前
<p>カラム処理 試料溶液を多機能カラム（トリコテセン系かび毒前処理用）^{注2}に入れ、初めの流出液 3 mL を捨て、その後の流出液 3 mL（ウェット製品では 5 mL）を 10 mL の試験管に受ける。流出液 2 mL（ウェット製品では 4 mL）を 50 mL のなす形フラスコに正確に入れ、50 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。水-メタノール-アセトニトリル（18+1+1）1 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^{注3}を用いてろ過し、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^{注4}とする。</p> <p>液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定 試料溶液及び各かび毒混合標準液 10 µL を液体クロマトグラフタンデム型質量分析計に注入し、選択反応検出クロマトグラムを得る。</p> <p>測定条件 例 （液体クロマトグラフ部）</p> <p>カ ラ ム：オクタデシルシリル化シリカゲルカラム（内径 3.0 mm、長さ 150 mm、粒径 5 µm）^{注5}</p> <p>溶 離 液：10 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液-アセトニトリル（19+1）（1 min 保持）→ 14 min →（1+19）（10 min 保持）→ 1 min →（19+1）（9 min 保持）</p> <p>流 速：0.2 mL/min</p> <p>カ ラ ム 槽 温 度：40 °C</p>	

改正後		改正前		
<u>(タンデム型質量分析計部^{注6})</u>				
<u>イオン化法：エレクトロスプレーイオン化法</u>				
<u>(負イオンモード)</u>				
<u>イオン源温度：120 °C</u>				
<u>デソルベーションガス：N₂ (800 L/h、400 °C)</u>				
<u>キャピラリー電圧：1.5 kV</u>				
<u>コーン電圧：10 V</u>				
<u>コーンガス：N₂ (50 L/h)</u>				
<u>コリジョンエネルギー：下表のとおり</u>				
<u>コリジョンガス：Ar (0.25 mL/min)</u>				
<u>モニターイオン：下表のとおり</u>				
<u>表 各物質のモニターイオン条件</u>				
		プロダクトイオン		コリジョン
測定対象物質	プリカー サーイオン (<i>m/z</i>)	定量用 (<i>m/z</i>)	定性用 (<i>m/z</i>)	エネルギー (eV)
デオキシニバレノール	355	265	—	10
		—	295	10
ニバレノール	371	281	—	15
		—	311	10
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を求めて検量線を作成し、試料中のデオキシニバレノール及びニバレノール量を算出する。				
注 1 市販の標準品 (Trilogy 製 (アヅマックス販売) 等) を用いてもよい。				
2 MultiSep 227 Trich+ (Romer Labs 製) 又はこれと同等				

改正後	改正前
<p><u>のもの</u></p> <p>3 <u>DISMIC-13HP（東洋濾紙製）又はこれと同等のもの</u></p> <p>4 <u>粉ミルクでは試料溶液の一定量を水-メタノール-アセトニトリル（18+1+1）で正確に5倍希釈し、ニバレノール測定用に供する。</u></p> <p>5 <u>ZORBAX Eclipse XDB-C18（Agilent Technologies 製）又はこれと同等のもの</u></p> <p>6 <u>ACQUITY TQ Detector（Waters 製）による条件例</u></p>	

改正後	改正前
<p>(参考) 分析法バリデーション</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 添加回収率及び繰返し精度 <u>別表 3 の 30 のとおり</u> ・ 共同試験 <u>別表 3 の 30 のとおり</u> ・ 定量限界 (下限) _____ <p><u>デオキシニバレノール ウェット製品以外の試料：試料中</u> <u>0.1 mg/kg (繰返し精度及び SN 比)、ウェット製品：試料</u> <u>(原物) 中 0.02 mg/kg (繰返し精度及び SN 比)</u></p> <p><u>ニバレノール 粉ミルク及びウェット製品以外の試料：試料</u> <u>中 0.1 mg/kg (繰返し精度及び SN 比)、ウェット製品：試料</u> <u>(原物) 中 0.02 mg/kg (繰返し精度及び SN 比)、粉ミ</u> <u>ルク：試料中 0.5 mg/kg (繰返し精度及び SN 比)</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 検出限界 _____ <p><u>デオキシニバレノール ウェット製品以外の試料：試料中</u> <u>0.03 mg/kg (繰返し精度及び SN 比)、ウェット製品：試料</u> <u>(原物) 中 0.01 mg/kg (繰返し精度及び SN 比)</u></p> <p><u>ニバレノール 粉ミルク及びウェット製品以外の試料：試料</u> <u>中 0.05 mg/kg (繰返し精度及び SN 比)、ウェット製品：</u> <u>試料 (原物) 中 0.008 mg/kg (繰返し精度及び SN 比)、</u> <u>粉ミルク：0.2 mg/kg (繰返し精度及び SN 比)</u></p> <p style="text-align: center;">第 6 章~第 11 章 (略)</p> <p>別表 1</p> <p>試薬で特級とあるのは、産業標準化法 (昭和 24 年法律第 185 号) に基づく日本産業規格の一般試薬の特級の規格に該当するものを、ま</p>	<p style="text-align: center;">第 6 章~第 11 章 (略)</p> <p>別表 1</p> <p>試薬で特級とあるのは、産業標準化法 (昭和 24 年法律第 185 号) に基づく日本産業規格の一般試薬の特級の規格に該当するものを、ま</p>

改正後	改正前
<p>た、日局とあるのは、医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（昭和 35 年法律第 145 号）に基づく日本薬局方の規格に該当するものを示す。</p> <p>また、CAS とあるのは、アメリカ化学会発行の Chemical Abstracts 誌で使用される化合物登録番号を示す。</p> <p>（中略）</p> <p><u>ニバレノール</u> <u>C₁₅H₂₀O₇ (CAS : 23282-20-4)</u> <u>純度が明らかなもの</u></p> <p><u>の</u></p> <p>（以下略）</p> <p>別表 2 （略）</p> <p>別表 3</p>	<p>た、日局とあるのは、医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（昭和 35 年法律第 145 号）に基づく日本薬局方の規格に該当するものを示す。</p> <p>また、CAS とあるのは、アメリカ化学会発行の Chemical Abstracts 誌で使用される化合物登録番号を示す。</p> <p>（中略）</p> <p>（新設）</p> <p>（以下略）</p> <p>別表 2 （略）</p> <p>別表 3</p> <p>1~29 （略）</p> <p>（新設）</p>

1~29 (略)

30 デオキシニバレノール及びニバレノール (第5章第2節4)

・添加回収率及び繰返し精度

添加成分名	添加濃度 (mg/kg)	試料の種類	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _t (%)		
デオキシ ニバレノール	0.02	ウェット製品 (犬用)	5	89.8	14		
		ドライ製品 (猫用)	5	106	6.2		
		セミドライ製品 (犬用)	5	106	4.2		
		ウェット製品 (犬用)	5	101	1.5		
		成型ジャーキー (犬用)	5	108	5.0		
		素材乾燥ジャーキー (ハードタイプ) (犬用)	5	83.7	4.7		
		素材乾燥ジャーキー (ソフトタイプ) (犬用)	5	82.1	2.2		
		菓子類 (犬用)	5	88.4	5.5		
		粉ミルク (猫用)	5	104	3.4		
	0.1	ドライ製品 (猫用)	5	89.2	2.2		
		セミドライ製品 (犬用)	5	100	15		
		成型ジャーキー (犬用)	5	80.2	8.7		
		素材乾燥ジャーキー (ハードタイプ) (犬用)	5	100	1.9		
		素材乾燥ジャーキー (ソフトタイプ) (犬用)	5	98.0	1.2		
		菓子類 (犬用)	5	102	0.4		
		粉ミルク (猫用)	5	89.3	2.8		
		ニバレノール	0.02	ウェット製品 (犬用)	5	85.5	11
				0.05	ウェット製品 (犬用)	5	87.9
0.1	ドライ製品 (猫用)			5	97.1	11	
	セミドライ製品 (犬用)		5	102	3.0		
	成型ジャーキー (犬用)		5	92.7	1.1		
	素材乾燥ジャーキー (ハードタイプ) (犬用)		5	90.9	11		
	素材乾燥ジャーキー (ソフトタイプ) (犬用)		5	91.9	3.2		
	菓子類 (犬用)		5	85.9	14		
0.5	ドライ製品 (猫用)		5	90.7	3.7		
	セミドライ製品 (犬用)		5	89.1	17		
	成型ジャーキー (犬用)		5	94.9	13		
	素材乾燥ジャーキー (ハードタイプ) (犬用)		5	99.4	1.6		
	素材乾燥ジャーキー (ソフトタイプ) (犬用)		5	92.3	2.7		
	菓子類 (犬用)		5	95.8	2.3		
	粉ミルク (猫用)		5	88.6	9.1		
	1		粉ミルク (猫用)	5	89.9	2.6	

改正後

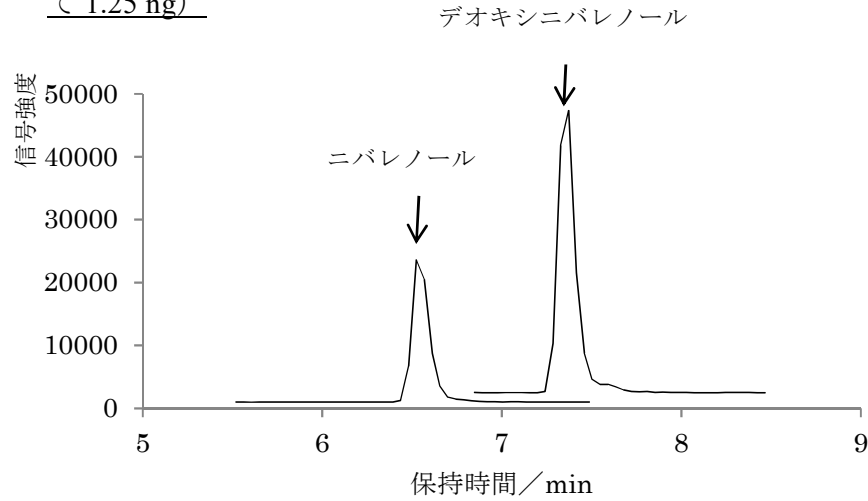
改正前

・共同試験

添加成分	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 _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
デオキシ ニバレノール	ドライ製品 (猫用)	11	0	2	104	2.7	4.7	0.33
	セミドライ製品 (犬用)	11	0	0.5	105	4.8	6.1	0.35
	ウェット製品 (犬用)	10	1	0.2	94.2	3.1	8.6	0.42
	素材乾燥ジャーキー (ソフトタイプ) (猫用)	11	0	1	94.7	3.6	4.9	0.31
	菓子類 (犬用ビスケット)	11	0	2.4	102	4.4	5.6	0.40
	粉ミルク (猫用)	10	0	1.4	103	5.7	7.4	0.49
ニバレノール	ドライ製品 (猫用)	11	0	1	86.9	3.7	7.7	0.47
	セミドライ製品 (犬用)	11	0	0.25	87.4	2.7	10	0.50
	ウェット製品 (犬用)	10	1	0.1	90.5	3.4	15	0.70
	素材乾燥ジャーキー (ソフトタイプ) (猫用)	11	0	0.5	85.0	4.7	8.8	0.48
	菓子類 (犬用ビスケット)	11	0	1.2	77.1	5.5	10	0.63
	粉ミルク (猫用)	11	0	0.7	85.4	7.3	16	0.90

・クロマトグラム例 (カラム ZORBAX Eclipse XDB-C18、Agilent Technologies 製)

標準溶液 (デオキシニバレノールとして 2.5 ng、ニバレノールとして 1.25 ng)



添加試料 (ドライ製品 (猫用)、デオキシニバレノールとして 1 mg/kg、ニバレノールとして 0.5 mg/kg 添加相当量)

