

技術レポート

2 愛玩動物用飼料等の検査法収載法のスナック製品等への適用のための妥当性確認

～ カドミウム，水銀，鉛，ヒ素，エトキシキン，ジブチルヒドロキシトルエン，ブチルヒドロキシアニソール及び亜硝酸ナトリウムについて ～

杉村 靖^{*1}，森口 里美^{*1}，浪越 充司^{*2}，
山西 正将^{*3}，若宮 洋市^{*4}，永原 貴子^{*5}

Application to Snack Type Pet Food of Analytical Methods of Cadmium, Mercury, Lead, Arsenic, Ethoxyquin, Dibutylhydroxytoluene, Butylhydroxyanisol and Sodium Nitrite

Yasushi SUGIMURA^{*1}, Satomi MORIGUCHI^{*1}, Atsushi NAMIKOSHI^{*2}, Masayuki YAMANISHI^{*3},
Youichi WAKAMIYA^{*4} and Takako NAGAHARA^{*5}

^{*1} Food and Agricultural Materials Inspection Center, Nagoya Regional Center

^{*2} Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center
(Now Fukuoka Regional Center)

^{*3} Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center
(Now Sendai Regional Center)

^{*4} Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fukuoka Regional Center

^{*5} Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department
(Now Planning and Coordination Department))

1 緒 言

「愛玩動物用飼料等の検査法」（以下「検査法」という。）¹⁾は、これまで総合栄養食（ドライ、セミドライ及びウェット製品）を適用範囲対象としてきた。しかし、平成 25 年 10 月、米国 FDA において、中国産ジャーキーに起因すると推測される原因不明の犬猫への健康被害が発生しているとの公表²⁾があり、これを受け、我が国においてもジャーキー等のスナック製品（以下「スナック製品」という。）に混入する可能性のある有害物質等のリスク管理体制を確立するために、農林水産省からスナック製品を検査法の適用範囲対象とするための検討を要請された。

平成 25 年度は、検査法に既収載のメラミンの分析法について、スナック製品への適用範囲拡大の可否を検討し、平成 26 年 6 月 11 日付けで検査法の一部改正したところである。

平成 26 年度は、検査法に既収載の重金属等（カドミウム，水銀，鉛及びヒ素）及び添加物（エトキシキン，ジブチルヒドロキシトルエン（以下「BHT」という。）），ブチルヒドロキシアニソール

^{*1} 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

^{*2} 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

^{*3} 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 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福岡センター

^{*5} 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部，現 企画調整部

ル（以下「BHA」という。）及び亜硝酸ナトリウム）の分析法について、同様に検討した。また、総合栄養食（ウェット製品）への適用性を確認していない BHT 及び BHA の分析法についても併せて検討したので、これらの概要を報告する。

なお、農薬（メタミドホス、有機リン系農薬（25種）及び含リンアミノ酸系農薬（3種））の分析法については、平成 26 年度の農林水産省が実施した事業³⁾において一般財団法人日本冷凍食品検査協会が、同様に検討を行い、事業報告書で報告している。

今回検討した成分のうち、成分規格⁴⁾において基準値が定められているものを参考までに表 1 に示した。

表 1 成分規格が定められている成分

重金属等		添加物	
成分名	基準値 ($\mu\text{g/g}$)	成分名	基準値 (g/t)
カドミウム	1	エトキシキン(犬用のみ)	75
鉛	3	エトキシキン, BHT 及び BHA の総和	150
砒素	15	亜硝酸ナトリウム	100

2 実験方法

2.1 試料

市販のスナック製品及び総合栄養食（ウェット製品）を試料に用い、検査法に準じて分析用試料を調製した。すなわち、スナック製品は、粉砕機を用いて、1 mm の網ふるいを通過するまで粉砕（粒度が 1 mm 以下であった粉ミルクを除く。）し、混合した。また、総合栄養食（ウェット製品）は、フードプロセッサを用い、ペースト状にした。

検討に用いた試料の分類、種類及びその原材料名を表 2-1~2-4 に示した。なお、原材料名は、各試料に用いた製品の表記名称に準拠した。

表 2-1 検討に用いた試料の分類、種類及びその原材料名
(カドミウム、鉛及びヒ素の分析法の検討)

分類	種類	原材料名
成型ジャーキー (水分20～35%程度)	猫用成型ジャーキー	肉類(鶏肉, 牛肉), 大豆たん白, 小麦粉, 魚肉, 牛脂, またたび, グリセリン, 増粘安定剤(加工澱粉), ソルビトール, ミネラル類(カルシウム, リン, ナトリウム), 保存料(ソルビン酸, デヒドロ酢酸ナトリウム), 調味料, 発色剤(亜硝酸ナトリウム), 消臭剤(ポリアクリル酸ナトリウム), 食用色素(カラメル, 赤106), ビタミンE
素材乾燥ジャーキー (ハードタイプ. 水分10～15%程度)	犬用素材乾燥ジャーキー(ハードタイプ)	肉類(鶏ササミ等), でん粉類, 豆類, 糖類, ミネラル類(塩化ナトリウム), 増粘安定剤(ソルビトール, グァーガム), 保存料(ソルビン酸カリウム, デヒドロ酢酸ナトリウム), pH調整剤
素材乾燥ジャーキー (ソフトタイプ. 水分25%程度)	犬用素材乾燥ジャーキー(ソフトタイプ)	鶏ササミ, 食塩, グリセリン, プロピレングリコール, 保存料(ソルビン酸カリウム), リン酸塩(Na), 酸化防止剤(亜硫酸ナトリウム), 発色剤(亜硝酸ナトリウム)
菓子類	犬用ビスケット	小麦粉, 砂糖, ショートニング, タピオカ澱粉, ミルクパウダー, 膨張剤, ミネラル類(カルシウム, ナトリウム), 香料
粉ミルク	犬用粉ミルク	乳たん白質, デキストリン, 動物性脂肪, 脱脂粉乳, 植物油脂, 食物繊維, ブドウ糖, 動物用ビフィズス菌, 乾燥酵母, コンドロイチン硫酸, グルコサミン, メチオニン, L-アルギニン, L-シスチン, L-カルニチン, ミルクオリゴ糖, pH調整剤, 乳化剤, ビタミン類(A, D, E, B1, B2, B6, B12, C, パントテン酸, ナイアシン, 葉酸, ビオチン, コリン, カロテン), ミネラル類(Ca, P, K, Cl, Mg, Fe, Cu, Mn, Zn, I, Se), イノシトール, ヌクレオチド, 香料(バター, ミルククリーム)

表 2-2 検討に用いた試料の分類、種類及びその原材料名
(水銀の分析法の検討)

分類	種類	原材料名
成型ジャーキー (水分20～35%程度)	犬用成型ジャーキー	肉類(鶏肉, 鶏ササミ), 小麦粉, 植物性たん白, パン粉, 糖類, 植物性油脂, 脱脂大豆, ビール酵母, にんじん, ほうれん草, ソルビトール, ミネラル類(カルシウム, ナトリウム, 亜鉛, ヨウ素), プロピレングリコール, ビタミン類(A, B1, B2, B6, B12, D3, E, ナイアシン, パトテン酸), 食用色素(赤106, 黄4, 青1, 二酸化チタン), 保存料(ソルビン酸, デヒドロ酢酸ナトリウム), 膨張剤, ポリリン酸ナトリウム, pH調整剤, くん液, 発色剤(亜硝酸ナトリウム)
	猫用成型ジャーキー	マグロ, 鶏肉, 脱脂大豆, 牛肉, でん粉類, 小麦たん白, 豚脂, 酵母, 食塩, オリゴ糖, ソルビトール, 膨張剤, 調味料, ミネラル類(Ca, P), リン酸塩(Na, K), 乳酸Na, 酸化防止剤(ビタミンC), 保存料(ソルビン酸), ビタミン類(E, A), 乳酸Ca, 発色剤(亜硝酸Na)
素材乾燥ジャーキー (ハードタイプ. 水分10～15%程度)	犬用素材乾燥ジャーキー(ハードタイプ)	肉類(鶏ササミ等), でん粉類, 豆類, 糖類, ミネラル類(塩化ナトリウム), 増粘安定剤(ソルビトール, グァーガム), 保存料(ソルビン酸カリウム, デヒドロ酢酸ナトリウム), pH調整剤
素材乾燥ジャーキー (ソフトタイプ. 水分25%程度)	犬用素材乾燥ジャーキー(ソフトタイプ)	鶏ササミ, 食塩, グリセリン, 保存料(ソルビン酸K), 酸化防止剤(エリソルビン酸Na)
菓子類	犬用ビスケット	小麦粉, 砂糖, 植物油脂, タピオカでん粉, ミルクパウダー, チコリ抽出物(植物繊維, オリゴ糖含有), ミネラル類(カルシウム, ナトリウム), 膨張剤, 香料, 乳化剤, ヌッカエキス
粉ミルク	犬用粉ミルク	ミルクプロテイン, 動物性脂肪, 乳清タンパク, 大豆油, コブラ油, 魚油(DHA源), フルクトオリゴ糖, 大豆レシチン, 香料, アミノ酸類(L-アルギニン, DL-メチオニン, タウリン), ミネラル類(Ca, P, Zn, Fe, Mn, Cu, I, Se), ビタミン類(A, コリン, D3, E, ナイアシン, C, パトテン酸カルシウム, B2, B1, B6, ビオチン, 葉酸, B12, K1), 酸化防止剤(BHA, 没食子酸プロピル)

表 2-3 検討に用いた試料の分類, 種類及びその原材料名
(エトキシキン, BHT 及び BHA の分析法の検討)

分類	種類	原材料名
成型ジャーキー (水分20~35%程度)	犬用成型ジャーキー	肉類(牛肉), 生ゼラチン, 大豆たん白, パン粉, 小麦粉, 糖類, 植物性油脂, グリセリン, ソルビトール, プロピレングリコール, ミネラル類(ナトリウム), 保存料(ソルビン酸, テロドロ酢酸ナトリウム), くん液, ポリリン酸ナトリウム, 発色剤(亜硝酸ナトリウム), 酸化防止剤(ビタミンE), 食用色素(赤106)
	猫用成型ジャーキー	肉類(鶏肉, 牛肉), 大豆たん白, 小麦粉, 魚肉, 牛脂, またたび, グリセリン, 増粘安定剤(加工澱粉), ソルビトール, ミネラル類(カルシウム, リン, ナトリウム), 保存料(ソルビン酸, テロドロ酢酸ナトリウム), 調味料, 発色剤(亜硝酸ナトリウム), 消臭剤(ポリアクリル酸ナトリウム), 食用色素(カラメル, 赤106), ビタミンE
素材乾燥ジャーキー (ハードタイプ. 水分10~15%程度)	犬用素材乾燥ジャーキー(ハードタイプ)	鶏ササミ, ミネラル類(ナトリウム, カルシウム), 澱粉類, 卵白
	犬用素材乾燥ジャーキー(ソフトタイプ)1	鶏肉, 保湿剤(プロピレングレコール), 乳化剤(グリセリン), pH調整剤(トリポリリン酸Na, 保存料(ソルビン酸K, テロドロ酢酸Na))
	犬用素材乾燥ジャーキー(ソフトタイプ)2	子牛アバラ肉, 大豆たん白, グリセリン, プロピレングリコール, ソルビトール, 食塩, 発色剤(亜硝酸ナトリウム), 酸化防止剤, リン酸塩(Na), 保存料(ソルビン酸ナトリウム), ビタミンE
素材乾燥ジャーキー (ソフトタイプ. 水分25%程度)	犬用素材乾燥ジャーキー(ソフトタイプ)3	牛レバー, 水飴, 玄米麴粉末, ソルビトール, グリセリン, 酸化防止剤(エリソルビン酸Na), 増粘安定剤(キサンタンガム), 発色剤(亜硝酸Na), 保存料(ソルビン酸K), pH調整剤, 香料
	犬用ビスケット	小麦粉, 砂糖, でん粉, 食用油脂, 野菜(キャベツ, さつまいも, にんじん, カボチャ, トマト), ミルクパウダー, チョリ抽出物(植物繊維, オリゴ糖含有), 膨張剤, ミネラル類(ナトリウム, カルシウム), 香料, ユッカエキス, 食用色素(黄4, 黄5, 青1)
粉ミルク	猫用粉ミルク	乳たん白質, 動物性油脂, 植物性油脂, 脱脂粉乳, 卵黄粉末, ミルクオリゴ糖, 乾燥酵母, pH調整剤, 乳化剤, タウリン, L-アルギニン, L-シスチン, DHA, ビタミン類(A, D, E, K, B1, B2, パントテン酸, ナイアシン, B6, 葉酸, カロテン, ビオチン, B12, C, コリン), ミネラル類(Ca, P, K, Na, Cl, Mg, Fe, Cu, Mn, Zn, I, Se), ヌクレオチド, 香料(ミルククリーム)
総合栄養食(ウェット製品. 水分75%程度)	犬用ウェット製品1	肉類(チキン, ビーフ等), 野菜類(にんじん, ほうれんそう), 植物性タンパク, コーンスターチ, 小麦, 食物繊維, キシロース, ビタミン類(B1, E), ミネラル類(Ca, Cl, K, Mn, Se, Zn), アミノ酸(グリシン), 増粘多糖類, 増粘安定剤(アルギン酸Na), 着色料(カラメル, 酸化鉄, 二酸化チタン), pH調整剤, EDTA-Ca, Na, 発色剤(亜硝酸Na)
	犬用ウェット製品2	チキン, オオムギ, トウモロコシ, ホエー, ポーク, ビートバルブ, コーングルテン, チキンエキス, 植物性油脂, フィッシュ, ミネラル類(カルシウム, カリウム, 銅, 鉄, マンガン, セレン, 亜鉛, ヨウ素), ビタミン類(B1, B2, B6, B12, D3, E, ナイアシン, パントテン酸, 葉酸, ビオチン, コリン), アミノ酸類(タウリン), 着色料(酸化鉄)
	猫用ウェット製品1	魚介類(カツオ, かつお節等), オリゴ糖, ミネラル類, ビタミン類
	猫用ウェット製品2	魚介類(かつお, まぐろ, フィッシュエキス等), 油脂類(鶏脂, 大豆油), 穀類(小麦グルテン), 肉類(チキン), 豆類(大豆タンパク), 卵類(卵パウダー), 調味料, 増粘多糖類, ミネラル類(Ca, Cl, Cu, Fe, I, K, Mn, Na, Se, Zn), リン酸塩(Na), ビタミン類(A, B1, B2, B6, B12, D, E, K, コリン, ナイアシン, パンテト酸, ビオチン, 葉酸), アミノ酸類(タウリン), 着色料(二酸化チタン)

表 2-4 検討に用いた試料の分類、種類及びその原材料名
(亜硝酸ナトリウムの分析法の検討)

分類	種類	原材料名
成型ジャーキー (水分20～35%程度)	犬用成型ジャーキー	すり身(たら), 米粉, ソルビトール, 保存料(ソルビン酸K), 増粘安定剤(カドラン), グリセリン, リン酸塩(Na)
素材乾燥ジャーキー (ハードタイプ. 水分10～15%程度)	犬用素材乾燥ジャーキー(ハードタイプ)	肉類(鶏ササミ等), でん粉類, 豆類, 糖類, ミネラル類(塩化ナトリウム), 増粘安定剤(ソルビトール, グァーガム), 保存料(ソルビン酸カリウム, デヒドロ酢酸ナトリウム), pH調整剤
素材乾燥ジャーキー (ソフトタイプ. 水分25%程度)	犬用素材乾燥ジャーキー(ソフトタイプ)1	鶏ササミ, 食塩, グリセリン, 保存料(ソルビン酸K), 酸化防止剤(エリソルビン酸Na)
	犬用素材乾燥ジャーキー(ソフトタイプ)2	鶏ささみ, でん粉, 植物たんぱく, グリセリン, ソルビトール, プロピレングリコール, 塩化Na, 乳化剤
菓子類	犬用ビスケット	小麦粉, 砂糖, 植物油脂, タピオカでん粉, ミルクパウダー, チョコ抽出物(植物繊維, オリゴ糖含有), ミネラル類(カルシウム, ナトリウム), 膨張剤, 香料, 乳化剤, ユッカエキス
粉ミルク	犬用粉ミルク	ミルクプロテイン, 動物性脂肪, 乳清タンパク, 大豆油, コブラ油, 魚油(DHA源), フルクトオリゴ糖, 大豆レシチン, 香料, アミノ酸類(L-アルギニン, DL-メチオニン, タウリン), ミネラル類(Ca, P, Zn, Fe, Mn, Cu, I, Se), ビタミン類(A, コリン, D ₃ , E, ナイアシン, C, パトテン酸カルシウム, B ₂ , B ₁ , B ₆ , ビオチン, 葉酸, B ₁₂ , K ₁), 酸化防止剤(BHA, 没食子酸プロピル)

2.2 試薬

以下に示した L(+)-アスコルビン酸液のほかは、検査法に既収載の各分析法に規定されている試薬を用いた。

なお、検査法に既収載の各分析法の該当する章・節を表3に示した。

L(+)-アスコルビン酸液

L(+)-アスコルビン酸(試薬特級) 1.0 g を正確に量って 10 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 L(+)-アスコルビン酸原液を調製した(この液 1 mL は、L(+)-アスコルビン酸として 0.1 g を含有する。)

使用に際して、この原液の一定量を、水で正確に希釈し、1 mL 中に L(+)-アスコルビン酸として 0.02 及び 0.004 g を含有する各 L(+)-アスコルビン酸液を調製した。

表 3 愛玩動物用スナック製品等の検討対象とした各成分の検査法収載法

成分	検討対象とした検査法収載法
カドミウム	検査法第4章1の方法 (以下「カドミウム収載法」という。)
水銀	検査法第4章2の方法 (以下「水銀収載法」という。)
鉛	検査法第4章3の方法 (以下「鉛収載法」という。)
ヒ素	検査法第4章4の方法 (以下「ヒ素収載法」という。)
エトキシキン	検査法第7章1の方法 (以下「エトキシキン収載法」という。)
BHT	検査法第7章2の方法 (以下「BHT収載法」という。)
BHA	検査法第7章3の方法 (以下「BHA収載法」という。)
亜硝酸ナトリウム	検査法第7章4の方法 (以下「亜硝酸ナトリウム収載法」という。)

2.3 装置及び器具

各分析法の検討に用いた装置及び器具を表4に示した。

表 4 検討に用いた装置及び器具

成分	装置及び機器
カドミウム, 鉛 及びヒ素	1) 粉碎機: ZM-100, Retsch製(1 mmスクリーン, 回転数 14000 rpm) 2) 乾燥器: DRM420DB, ADVANTEC製 3) 電気炉: FP301, Yamato製 又は KBF828N, Koyo製 4) ホットプレート: HTP552AA, ADVANTEC製 又は AHS-500, アサヒ理化製作所製 5) 振とう機: レシプロシェーカーSR-2W(使用時振動数300 rpm), タイテック製 6) 偏光ゼーマン方式原子吸光度計: Z-2310, 日立製作所製 7) 水素化物発生付属装置: HFS-3, 日立製作所製
水銀	1) 粉碎機: ZM-200, Retsch製(1 mmスクリーン, 回転数 10000 rpm) 2) ホットプレート: EC-1200N, アズワン製 3) 水銀分析装置: マーキュリーRA-3, 日本インスツルメンツ製
エトキシキン, BHT 及びBHA	1) 乾燥器: WFO-600ND, 東京理化工機製 2) 粉碎機(ウェット製品以外): ZM-100, Retsch製(1 mmスクリーン, 回転数14000 rpm) 3) フードプロセッサ: MK-M80, National製 4) マグネチックスターラー: TMS-6, アズワン製 5) 液体クロマトグラフ: 1100 Series (FL(エトキシキン), UV(BHT及びBHA)), Agilent Technologies製
亜硝酸ナトリウム	1) 粉碎機: ZM-200, Retsch製 (1 mmスクリーン, 回転数 10000 rpm) 2) ウォーターバス: ラボヴェュー, アズワン製 3) 分光光度計: UV-1800, 島津製作所製

2.4 定量方法

定量方法は、検査法に既記載の各分析法(表3)に規定されているものに準拠した。

3 結果及び考察

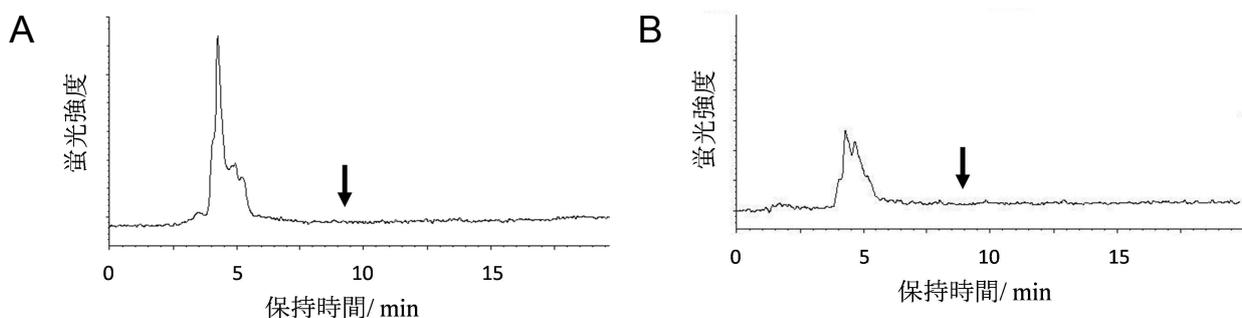
3.1 妨害物質の検討

各成分に係る妨害物質の検討結果を以下の1)~3)に示した。重金属等(カドミウム, 水銀, 鉛及びヒ素)及び亜硝酸ナトリウムは、ブランク値を差し引いた上で定量値を算出するために、検討不要とした。

1) エトキシキン

表2-3に示した試料各1点を用い、エトキシキン収載法により調製した試料溶液を蛍光検出器付き液体クロマトグラフに注入し、得られた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。

なお、得られたクロマトグラムの一例を図1に示した。



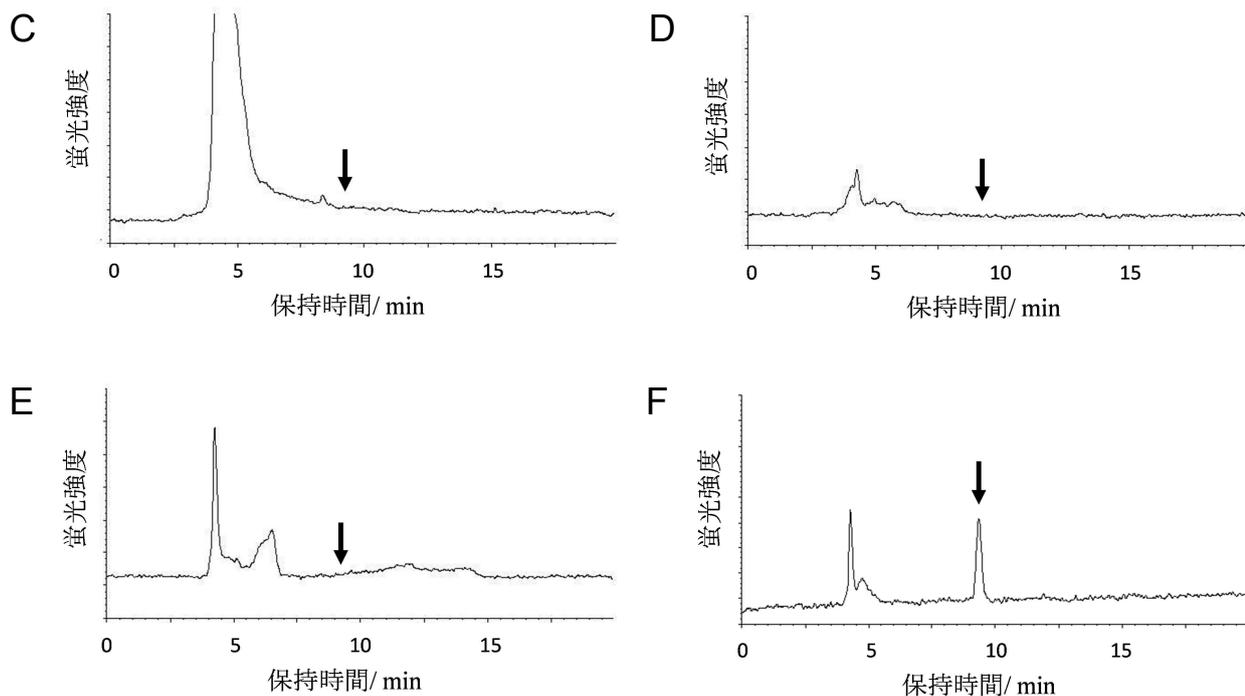


図 1 エトキシキン収載法の妨害物質の検討時に得られたクロマトグラム の例

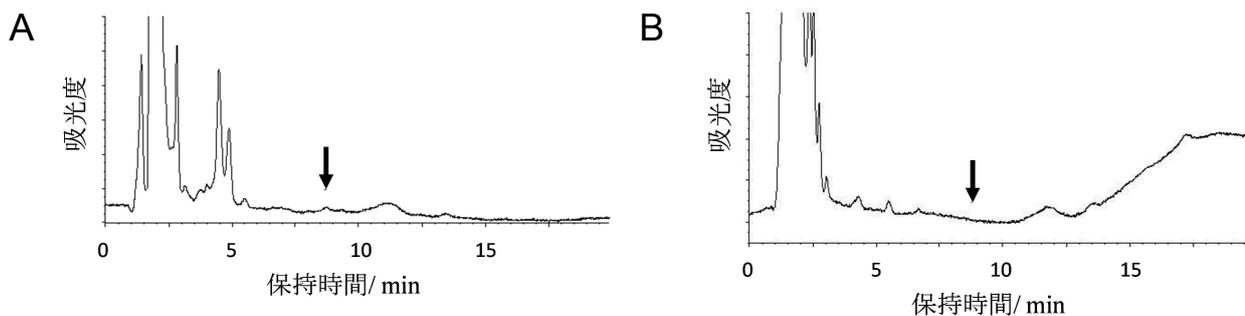
(↓: エトキシキンの保持時間を示す. スケールは全図共通.)

- A: 成型ジャーキー (猫用)
- B: 素材乾燥ジャーキー (ハードタイプ) (犬用)
- C: 素材乾燥ジャーキー (ソフトタイプ) (犬用)
- D: ビスケット (犬用)
- E: 粉ミルク (猫用)
- F: 標準液 (10 ng/mL)

2) BHT

表 2-3 に示した試料各 1 点を用い, BHT 収載法により調製した試料溶液を紫外吸光度検出器付き液体クロマトグラフに注入し, 得られた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.

なお, 得られたクロマトグラムの一例を図 2 に示した.



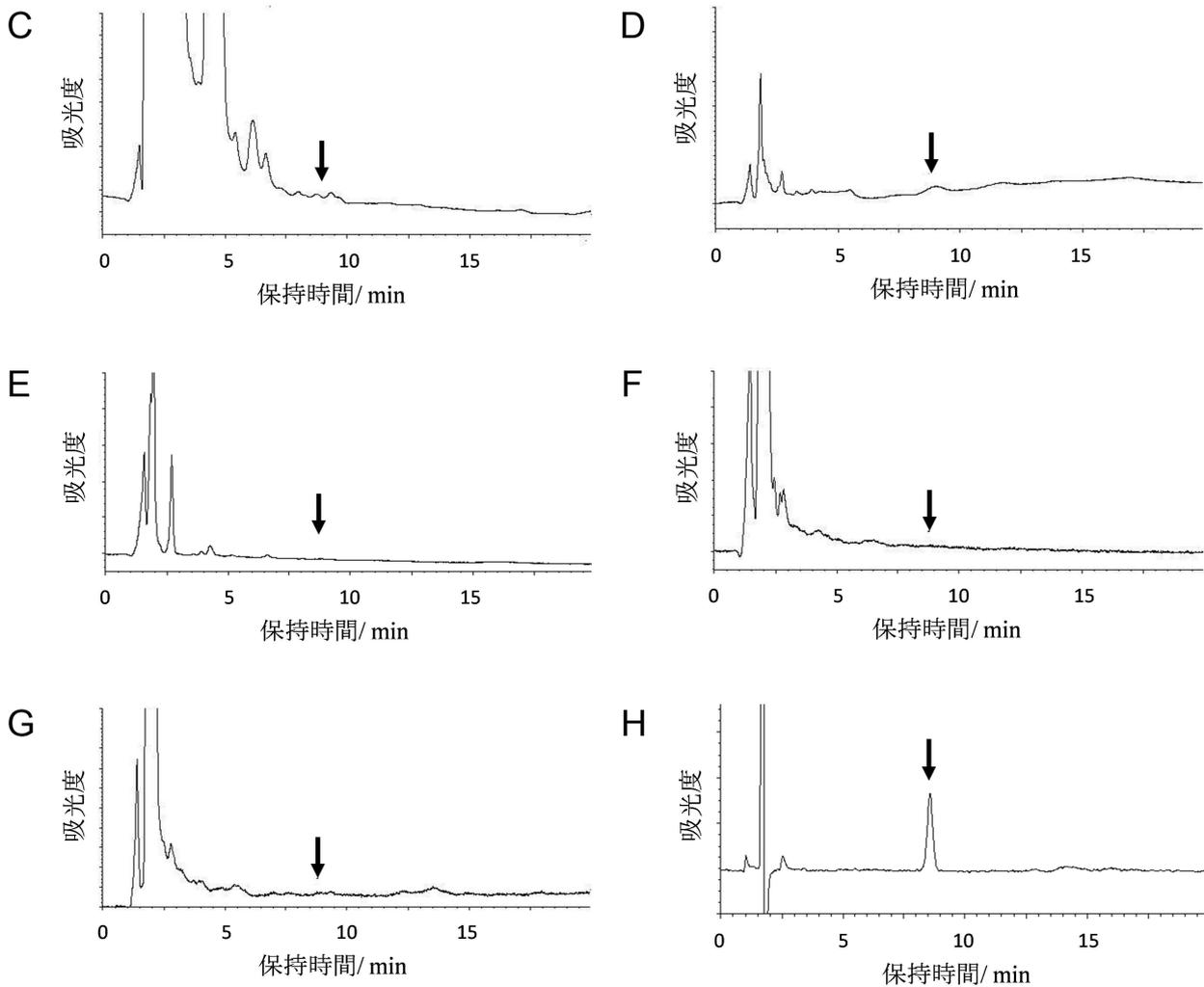


図2 BHT 収載法の妨害物質の検討時に得られたクロマトグラムの例

(↓: BHT の保持時間を示す. スケールは全図共通.)

- A: 成型ジャーキー (猫用)
- B: 素材乾燥ジャーキー (ハードタイプ) (犬用)
- C: 素材乾燥ジャーキー (ソフトタイプ) (犬用)
- D: ビスケット (犬用)
- E: 粉ミルク (猫用)
- F: 総合栄養食 (ウェット製品) (犬用)
- G: 総合栄養食 (ウェット製品) (猫用)
- H: 標準液 (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

3) BHA

表 2-3 に示した試料各 1 点を用い, BHA 収載法により調製した試料溶液を紫外吸光度検出器付き液体クロマトグラフに注入し, 得られた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.

なお, 得られたクロマトグラムの一例を図 3 に示した.

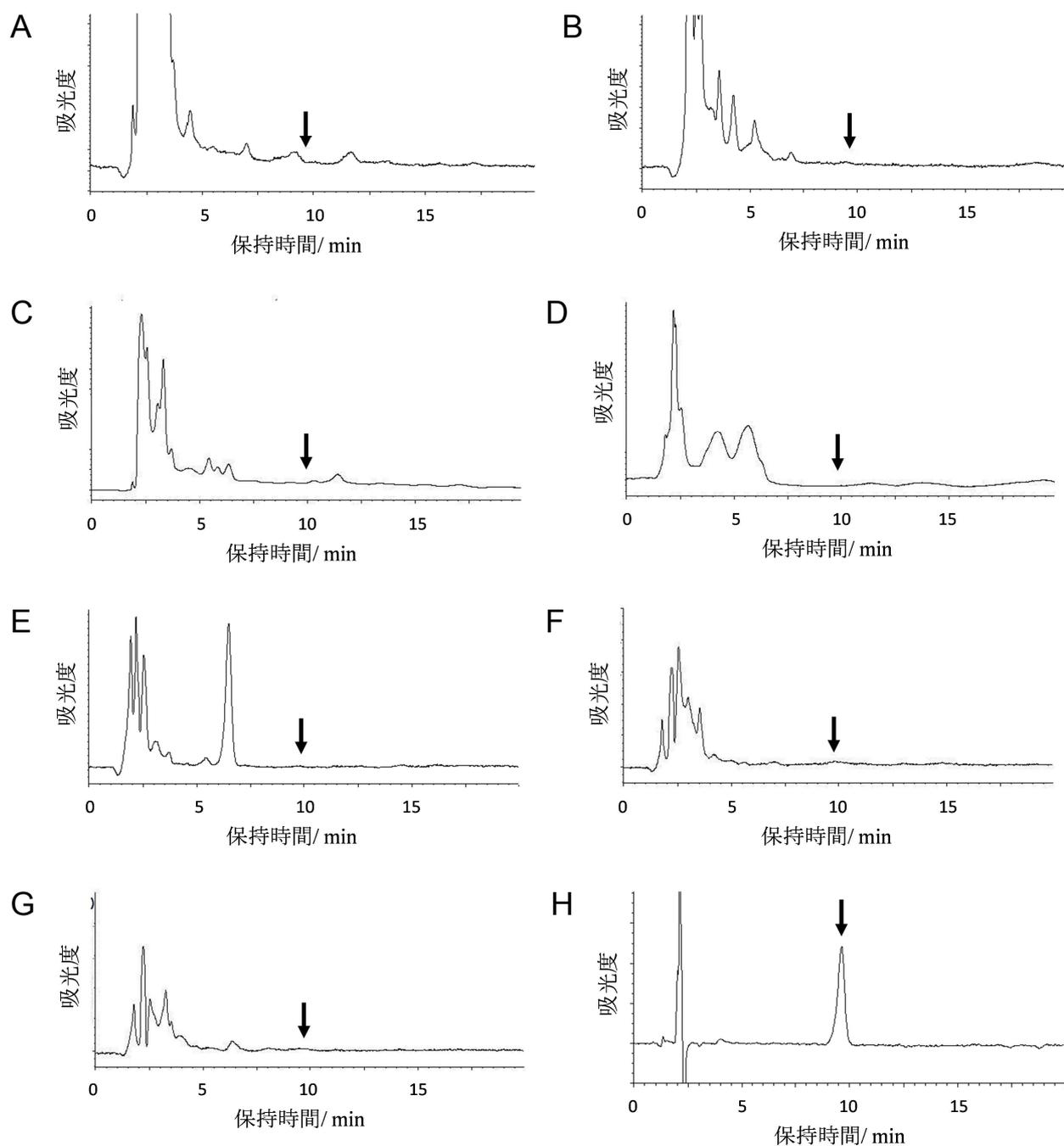


図3 BHA 収載法の妨害物質の検討時に得られたクロマトグラム例

(↓: BHA の保持時間を示す. スケールは全図共通.)

- A: 成型ジャーキー (猫用)
- B: 素材乾燥ジャーキー (ハードタイプ) (犬用)
- C: 素材乾燥ジャーキー (ソフトタイプ) (犬用)
- D: ビスケット (犬用)
- E: 粉ミルク (猫用)
- F: 総合栄養食 (ウェット製品) (犬用)
- G: 総合栄養食 (ウェット製品) (猫用)
- H: 標準液 (0.5 $\mu\text{g/mL}$)

3.2 添加回収試験

各成分に係る添加回収試験の検討結果を以下の 1)~8)に示した。

1) カドミウム

表 2-1 に示した成型ジャーキー（猫用），素材乾燥ジャーキー（ハードタイプ）（犬用），素材乾燥ジャーキー（ソフトタイプ）（犬用），菓子類（犬用）及び粉ミルク（犬用）にカドミウムとして各 1.0 及び 0.1 mg/kg 相当量（最終試料溶液中で各 100 及び 10 ng/mL 相当量）を添加した試料を用い，カドミウム収載法により 5 点併行で定量し，回収率及び繰返し精度を求めた。

その結果は表 5-1 のとおり，カドミウムの平均回収率は 84.9~97.8 %，その繰返し精度は相対標準偏差（RSD_r）として 2.0 %以下であった。また，試験に供した試料のブランク値の測定結果は，いずれの試料もカドミウム収載法の検出限界以下であった。

表 5-1 カドミウムの添加回収試験結果

添加濃度 (mg/kg)	試料	繰返し数	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)
1.0	成型ジャーキー(猫用)	5	94.3	0.4
	素材乾燥ジャーキー(ハードタイプ)(犬用)	5	96.8	0.6
	素材乾燥ジャーキー(ソフトタイプ)(犬用)	5	94.9	1.6
	菓子類(犬用)	5	97.8	0.6
	粉ミルク(犬用)	5	96.8	0.3
0.1	成型ジャーキー(猫用)	5	95.2	2.0
	素材乾燥ジャーキー(ハードタイプ)(犬用)	5	93.8	1.2
	素材乾燥ジャーキー(ソフトタイプ)(犬用)	5	84.9	1.6
	菓子類(犬用)	5	94.0	1.6
	粉ミルク(犬用)	5	90.8	1.3

2) 水銀

表 2-2 に示した成型ジャーキー2種（犬用及び猫用），素材乾燥ジャーキー（ハードタイプ）（犬用），素材乾燥ジャーキー（ソフトタイプ）（犬用），菓子類（犬用）及び粉ミルク（犬用）に水銀として各 1 及び 0.05 mg/kg 相当量（最終試料溶液中で各 10 及び 0.5 ng/mL 相当量）を添加した試料を用い，水銀収載法により 5 点併行で定量し，回収率及び繰返し精度を求めた。

その結果は表 5-2 のとおり，水銀の平均回収率は 85.6~106 %，その繰返し精度は RSD_rとして 4.7 %以下であった。また，試験に供した試料のブランク値の測定結果は，成型ジャーキー（猫用）で 0.40 mg/kg となった以外は，水銀収載法の検出限界以下であった。

表 5-2 水銀の添加回収試験結果

添加濃度 (mg/kg)	試料	繰返し数	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)
1	成型ジャーキー(犬用)	5	85.8	1.1
	成型ジャーキー(猫用)	5	86.0	1.9
	素材乾燥ジャーキー(ハードタイプ)(犬用)	5	92.1	1.0
	素材乾燥ジャーキー(ソフトタイプ)(犬用)	5	95.2	0.9
	菓子類(犬用)	5	95.6	1.5
	粉ミルク(犬用)	5	89.3	1.9
0.05	成型ジャーキー(犬用)	5	85.6	2.1
	成型ジャーキー(猫用)	5	106	0.9
	素材乾燥ジャーキー(ハードタイプ)(犬用)	5	94.9	1.6
	素材乾燥ジャーキー(ソフトタイプ)(犬用)	5	92.7	4.7
	菓子類(犬用)	5	92.4	1.7
	粉ミルク(犬用)	5	90.7	4.0

3) 鉛

表 2-1 に示した成型ジャーキー（猫用），素材乾燥ジャーキー（ハードタイプ）（犬用），素材乾燥ジャーキー（ソフトタイプ）（犬用），菓子類（犬用）及び粉ミルク（犬用）に鉛として各 3.0 及び 0.5 mg/kg 相当量（最終試料溶液中で各 300 及び 50 ng/mL 相当量）を添加した試料を用い，鉛収載法により 5 点併行で定量し，回収率及び繰返し精度を求めた。

その結果は表 5-3 のとおり，鉛の平均回収率は 81.9~99.1 %，その繰返し精度は RSD_r として 5.3 %以下であった。また，試験に供した試料のブランク値の測定結果はいずれの試料も鉛収載法の検出限界以下であった。

表 5-3 鉛の添加回収試験結果

添加濃度 (mg/kg)	試料	繰返し数	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)
3.0	成型ジャーキー(猫用)	5	93.7	0.9
	素材乾燥ジャーキー(ハードタイプ)(犬用)	5	98.3	0.8
	素材乾燥ジャーキー(ソフトタイプ)(犬用)	5	92.6	1.1
	菓子類(犬用)	5	99.1	2.8
	粉ミルク(犬用)	5	96.2	0.8
	0.5	成型ジャーキー(猫用)	5	96.1
素材乾燥ジャーキー(ハードタイプ)(犬用)		5	95.7	3.4
素材乾燥ジャーキー(ソフトタイプ)(犬用)		5	96.5	2.4
菓子類(犬用)		5	92.9	5.3
粉ミルク(犬用)		5	81.9	3.7

4) ヒ素

表 2-1 に示した成型ジャーキー（猫用），素材乾燥ジャーキー（ハードタイプ，犬用），素材乾燥ジャーキー（ソフトタイプ，犬用），菓子類（犬用）及び粉ミルク（犬用）にヒ素として各 15 及び 0.2 mg/kg 相当量（最終試料溶液中で各 300 及び 4 ng/mL 相当量）を添加した試料

を用い、ヒ素収載法により5点併行で定量し、回収率及び繰返し精度を求めた。

その結果は表5-4のとおり、ヒ素の平均回収率は89.5~112%，その繰返し精度はRSD_rとして4.4%以下であった。また、試験に供した試料のブランク値の測定結果はいずれの試料もヒ素収載法の検出限界以下であった。

表5-4 ヒ素の添加回収試験結果

添加濃度 (mg/kg)	試料	繰返し数	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)
15	成型ジャーキー(猫用)	5	104	1.3
	素材乾燥ジャーキー(ハードタイプ)(犬用)	5	103	0.8
	素材乾燥ジャーキー(ソフトタイプ)(犬用)	5	103	0.3
	菓子類(犬用)	5	103	1.6
	粉ミルク(犬用)	5	101	2.9
0.2	成型ジャーキー(猫用)	5	107	4.4
	素材乾燥ジャーキー(ハードタイプ)(犬用)	5	112	2.4
	素材乾燥ジャーキー(ソフトタイプ)(犬用)	5	112	2.0
	菓子類(犬用)	5	89.5	0.6
	粉ミルク(犬用)	5	91.2	0.3

5) エトキシキン

表2-3に示した成型ジャーキー(猫用)及び粉ミルク(猫用)にエトキシキンとして各150及び1 mg/kg相当量(最終試料溶液中で各1500及び10 ng/mL相当量)を素材乾燥ジャーキー(ハードタイプ)(犬用)、素材乾燥ジャーキー(ソフトタイプ)(犬用)及び菓子類(犬用)にエトキシキンとして各75及び1 mg/kg相当量(最終試料溶液中で各750及び10 ng/mL相当量)を添加した試料を用い、エトキシキン収載法により5点併行で定量し、回収率及び繰返し精度を求めた。

その結果は表5-5のとおり、エトキシキンの平均回収率は92.8~103%，その繰返し精度はRSD_rとして5.3%以下であった。

なお、得られたクロマトグラムの一例を図4に示した。

表5-5 エトキシキンの添加回収試験結果

添加濃度 (mg/kg)	試料	繰返し数	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)
150	成型ジャーキー(猫用)	5	99.4	1.4
	粉ミルク(猫用)	5	94.6	0.7
75	素材乾燥ジャーキー(ハードタイプ)(犬用)	5	92.8	1.2
	素材乾燥ジャーキー(ソフトタイプ)(犬用)	5	94.9	2.0
	菓子類(犬用)	5	93.5	2.5
1	成型ジャーキー(猫用)	5	100	3.7
	素材乾燥ジャーキー(ハードタイプ)(犬用)	5	99.3	2.3
	素材乾燥ジャーキー(ソフトタイプ)(犬用)	5	98.6	2.9
	菓子類(犬用)	5	98.4	5.3
	粉ミルク(猫用)	5	103	3.6

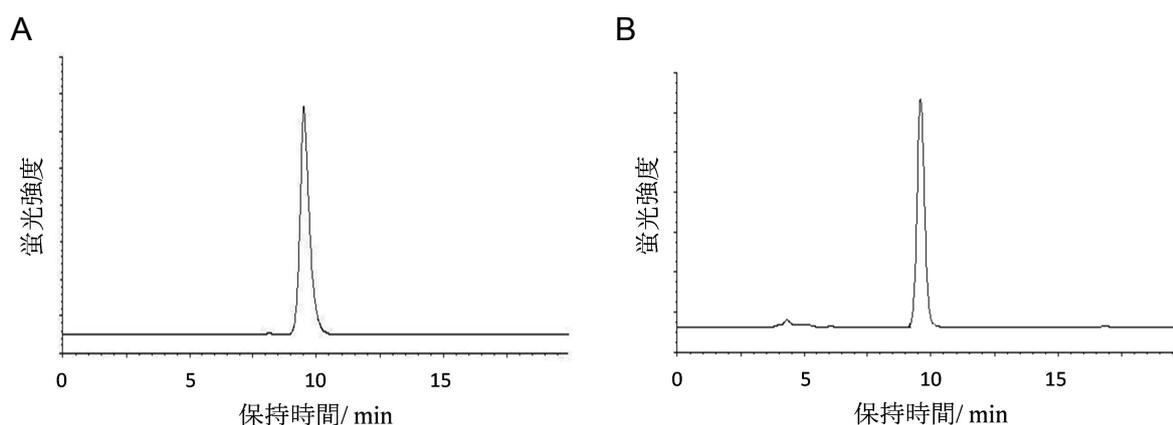


図4 エトキシキンの添加回収試験で得られたクロマトグラム の例
(スケールは各ピークがそれぞれの縦軸で100%となるように設定.)

A: 標準液 (1.5 µg/mL)

B: 成型ジャーキー (猫用) (150 mg/kg 相当量添加)

6) BHT

表 2-3 に示した成型ジャーキー (猫用), 素材乾燥ジャーキー (ハードタイプ) (犬用), 素材乾燥ジャーキー (ソフトタイプ) (犬用), 菓子類 (犬用), 粉ミルク (犬用), 総合栄養食 (ウェット製品) (犬用) 及び総合栄養食 (ウェット製品) (猫用) に BHT として各 150 及び 10 mg/kg 相当量 (最終試料溶液中で各 15 及び 1 µg/mL 相当量) を添加した試料を用い, BHT 収載法により 5 点併行で定量し, 回収率及び繰返し精度を求めた.

その結果は表 5-6 のとおり, BHT の平均回収率は 90.0~99.7 %, その繰返し精度は RSD_r として 5.0 %以下であった.

なお, 得られたクロマトグラムの一例を図 5 に示した.

表 5-6 BHT の添加回収試験結果

添加濃度 (mg/kg)	試料	繰返し数	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD_r (%)
150	成型ジャーキー(猫用)	5	92.3	0.9
	素材乾燥ジャーキー(ハードタイプ)(犬用)	5	93.4	1.5
	素材乾燥ジャーキー(ソフトタイプ)(犬用)	5	93.9	2.9
	菓子類(犬用)	5	91.5	1.7
	粉ミルク(猫用)	5	90.0	2.0
	総合栄養食(ウェット)(犬用)	5	91.4	3.6
	総合栄養食(ウェット)(猫用)	5	92.7	2.5
10	成型ジャーキー(猫用)	5	94.1	2.1
	素材乾燥ジャーキー(ハードタイプ)(犬用)	5	93.9	2.0
	素材乾燥ジャーキー(ソフトタイプ)(犬用)	5	94.1	2.9
	菓子類(犬用)	5	91.0	1.7
	粉ミルク(猫用)	5	93.7	0.6
	総合栄養食(ウェット)(犬用)	5	99.7	5.0
	総合栄養食(ウェット)(猫用)	5	96.6	4.3

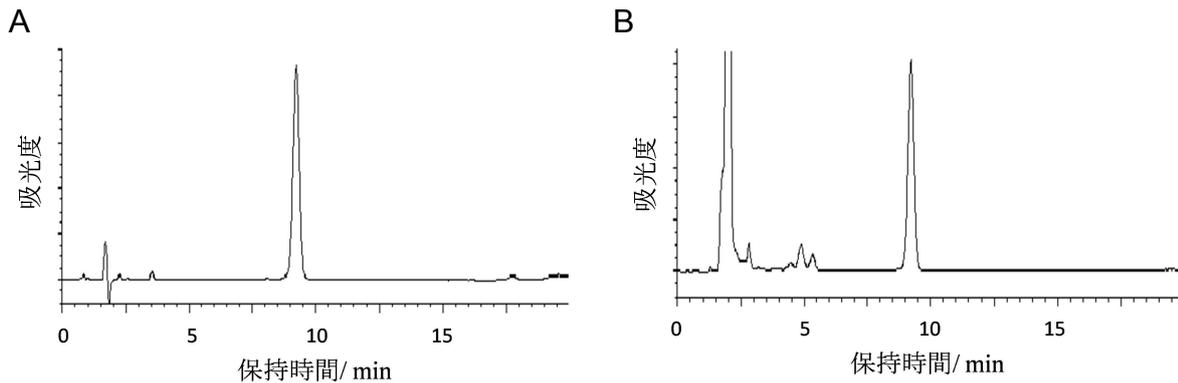


図5 BHTの添加回収試験で得られたクロマトグラム一例
(スケールは各ピークがそれぞれの縦軸で100%となるように設定。)

A: 標準液 (15 µg/mL)

B: 成型ジャーキー (猫用) (150 mg/kg 相当量添加)

7) BHA

表 2-3 に示した成型ジャーキー (猫用), 素材乾燥ジャーキー (ハードタイプ) (犬用), 素材乾燥ジャーキー (ソフトタイプ) (犬用), 菓子類 (犬用), 粉ミルク (犬用), 総合栄養食 (ウエット製品) (犬用) 及び総合栄養食 (ウエット製品) (猫用) に BHA として各 150 及び 5 mg/kg 相当量 (最終試料溶液中で各 15 及び 0.5 µg/mL 相当量) を添加した試料を用い, BHA 収載法により 5 点併行で定量し, 回収率及び繰返し精度を求めた。

その結果は表 5-7 のとおり, BHA の平均回収率は 93.9~104 %, その繰返し精度は RSD_r として 6.5 % 以下であった。

なお, 得られたクロマトグラムの一例を図 6 に示した。

表 5-7 BHA の添加回収試験結果

添加濃度 (mg/kg)	試料	繰返し数	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD_r (%)
150	成型ジャーキー(猫用)	5	98.7	2.1
	素材乾燥ジャーキー(ハードタイプ)(犬用)	5	100	1.0
	素材乾燥ジャーキー(ソフトタイプ)(犬用)	5	95.0	2.3
	菓子類(犬用)	5	99.7	0.7
	粉ミルク(猫用)	5	96.2	3.8
	総合栄養食(ウエット)(犬用)	5	95.7	0.6
	総合栄養食(ウエット)(猫用)	5	93.9	0.2
5	成型ジャーキー(猫用)	5	94.0	6.5
	素材乾燥ジャーキー(ハードタイプ)(犬用)	5	96.2	2.5
	素材乾燥ジャーキー(ソフトタイプ)(犬用)	5	95.9	4.6
	菓子類(犬用)	5	96.3	5.1
	粉ミルク(猫用)	5	97.1	6.2
	総合栄養食(ウエット)(犬用)	5	100	4.4
	総合栄養食(ウエット)(猫用)	5	104	2.7

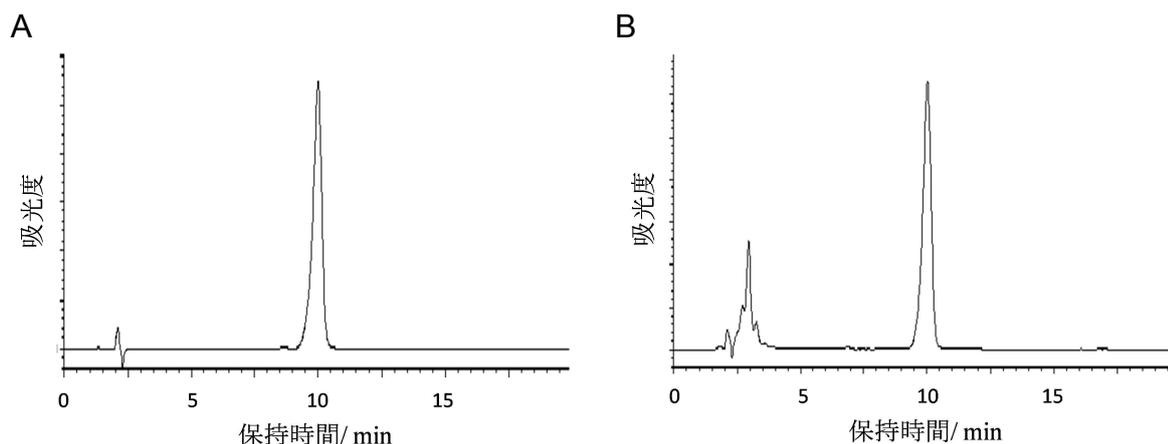


図6 BHAの添加回収試験で得られたクロマトグラム
の例
(スケールは各ピークがそれぞれの縦軸で100%となるように設定。)

A: 標準液 (15 µg/mL)

B: 成型ジャーキー (猫用) (150 mg/kg 相当量添加)

8) 亜硝酸ナトリウム

表 2-4 に示した成型ジャーキー (犬用), 素材乾燥ジャーキー (ハードタイプ) (犬用), 素材乾燥ジャーキー (ソフトタイプ) (犬用) 2 種, 菓子類 (犬用), 素材乾燥ジャーキー (ソフトタイプ) 2 及び粉ミルク (犬用) に亜硝酸ナトリウムとして各 100 及び 20, 4 又は 2 mg/kg 相当量 (最終試料溶液中で各 2500 及び 500, 100 又は 50 ng/mL 相当量) を添加した試料を用い, 亜硝酸ナトリウム収載法により 5 点併行で定量し, 回収率及び繰返し精度を求めた。

その結果は表 5-8 のとおり, 成型ジャーキー, 素材乾燥ジャーキー (ハードタイプ), 素材乾燥ジャーキー (ソフトタイプ) 2 及び菓子類における亜硝酸ナトリウムの平均回収率は 81.7~101 %, その繰返し精度は RSD_r として 2.2 % 以下であった。しかし, 素材乾燥ジャーキー (ソフトタイプ) 1 における亜硝酸ナトリウム 100 mg/kg 相当量を添加した試料について平均回収率は 92.1 %, その繰返し精度は RSD_r として 0.5 % と, 良好な結果であったが, 2 及び 4 mg/kg 相当量添加した試料では平均回収率 12.5 % 及び 16.5 %, その繰返し精度は RSD_r として 11 % と, 回収率が低い結果となった。また, 粉ミルクにおける平均回収率は 25.8~85.7 %, その繰返し精度は RSD_r として 11 % 以下と, 2 及び 4 mg/kg 相当量添加した試料について回収率が低い結果となった。なお, 試験に供した試料のブランク値の測定結果は成型ジャーキー及び素材乾燥ジャーキー (ハードタイプ) で 1.0 mg/kg 及び 3.8 mg/kg であり, その他は亜硝酸ナトリウム収載法の検出限界以下であった。

また, 素材乾燥ジャーキー (ソフトタイプ) 1 が低回収率であった原因は, 食肉等の亜硝酸ナトリウムの分析法において, アスコルビン酸等の還元物質がジアゾ化法による亜硝酸イオンの定量に妨害を与えるとの報告がある^{5) 6)} ことから, 試料とした素材乾燥ジャーキー (ソフトタイプ) 1 に酸化防止目的で添加されているエリソルビン酸ナトリウム (アスコルビン酸の異性体) が亜硝酸ナトリウムの定量を阻害したものと考えられた。このことを確認するために, 表 5-8 で良好な結果が得られているアスコルビン酸等の還元物質を含まない成型ジャーキー (ブランク値 1.0 mg/kg) にアスコルビン酸を添加し, 亜硝酸ナトリウム 2 mg/kg 相当量の添加回収試験を実施したところ, 表 5-9 のとおり, アスコルビン酸の添加量が 0.4 % 及び 2 % で

は、亜硝酸ナトリウムの測定値は収載法の検出限界以下となり、添加回収率を算出すると負の値となった。なお、成型ジャーキーへのアスコルビン酸の添加量は、流通実態を踏まえ 0.08、0.4 及び 2 % となるように、試料 5 g に対して 0.004、0.02 及び 0.1 g/mL のアスコルビン酸液をそれぞれ 1 mL ずつ添加した。

試料中の亜硝酸ナトリウム含有量が低い場合、共存する還元物質の影響が顕著になり、低く定量されることが認められた。

表 5-8 亜硝酸ナトリウムの添加回収試験結果

添加濃度 (mg/kg)	試料	繰返し数	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)
100	成型ジャーキー(犬用)	5	101	0.3
	素材乾燥ジャーキー(ハードタイプ)(犬用)	5	96.1	0.6
	素材乾燥ジャーキー(ソフトタイプ)(犬用)1	5	92.1	0.5
	素材乾燥ジャーキー(ソフトタイプ)(犬用)2	5	97.4	0.4
	菓子類(犬用)	5	97.8	2.0
	粉ミルク(犬用)	5	85.7	1.2
20	素材乾燥ジャーキー(ソフトタイプ)(犬用)1	5	81.5	1.0
	粉ミルク(犬用)	5	71.2	0.9
4	素材乾燥ジャーキー(ソフトタイプ)(犬用)1	5	16.5	11
	粉ミルク(犬用)	5	25.8	7.2
2	成型ジャーキー(犬用)	5	98.4	0.03
	素材乾燥ジャーキー(ハードタイプ)(犬用)	5	81.7	2.2
	素材乾燥ジャーキー(ソフトタイプ)(犬用)1	5	12.5	11
	素材乾燥ジャーキー(ソフトタイプ)(犬用)2	5	90.4	1.6
	菓子類(犬用)	5	85.8	1.8
	粉ミルク(犬用)	5	28.5	11

表 5-9 アスコルビン酸添加による亜硝酸ナトリウムの添加回収率への影響

愛玩動物用スナック製品 の種類	L(+)-アスコルビン酸添加量 (%)					
	0.08		0.4		2	
	添加回収率 ^{a)} (%)	RSD _r ^{b)} (%)	添加回収率 ^{a)} (%)	RSD _r ^{b)} (%)	添加回収率 ^{a)} (%)	RSD _r ^{b)} (%)
成型ジャーキー (犬用)	31.5	5.9	-24.8	0.06	-36.5	14

a) $n=3$ の平均値

b) 相対標準偏差

3.3 定量限界（下限）及び検出限界の検討

各分析法の定量限界（下限）及び検出限界については、今回の添加回収試験における平均回収率及び繰返し精度の標準偏差並びに検査法第 11 章 3（4）から総合的に判断することとした。

その結果、表 6 のとおり、各成分における定量限界（下限）及び検出限界は、検査法収載法に規定された総合栄養食における定量限界（下限）及び検出限界を変更することなく、スナック製品等に適用できると考えられた。

表 6 検討した分析法における愛玩動物用飼料の定量限界（下限）及び検出限界

成分	定量限界 (下限)	検出限界
カドミウム	0.1 mg/ kg	0.03 mg/ kg
水銀	0.05 mg/kg	0.02 mg/kg
鉛	0.5 mg/ kg	0.2 mg/ kg
ヒ素	0.2 mg/ kg	0.05 mg/ kg
エトキシキン	1 mg/ kg	0.2 mg/ kg
BHT	10 mg/ kg	0.1 mg/ kg
BHA	5 mg/ kg	0.1 mg/ kg
亜硝酸ナトリウム	2 mg/kg	1 mg/kg

4 まとめ

重金属等（カドミウム、水銀、鉛及びヒ素）及び添加物（エトキシキン、BHT、BHA 及び亜硝酸ナトリウム）の検査法収載法のスナック製品等への適用範囲の追加について検討した結果、表 7 のとおり、亜硝酸ナトリウムの一部で適用できないものがあつたほかは、すべて適用範囲の追加が可能であつた。

また、定量限界（下限）及び検出限界は、検査法収載法に規定された値を変更することなく、スナック製品等に適用することが可能であつた。

表 7 検討した分析法における愛玩動物用飼料の適用範囲

成分	分析法	追加可能な適用範囲
カドミウム	検査法第4章1のとおり	
水銀	検査法第4章2のとおり	
鉛	検査法第4章3のとおり	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
ヒ素	検査法第4章4のとおり	
エトキシキン	検査法第7章1のとおり	
BHT	検査法第7章2のとおり	総合栄養食（ウェット製品）、成型ジャーキー、素材乾燥ジャーキー
BHA	検査法第7章3のとおり	（ハードタイプ及びソフトタイプ）、菓子類及び粉ミルク
亜硝酸ナトリウム	検査法第7章4のとおり	成型ジャーキー [※] 及び素材乾燥ジャーキー [※] （ハードタイプ及びソフトタイプ）並びに菓子類

※ アスコルビン酸等還元物質が添加されているものでは、亜硝酸ナトリウムの含有量が50 mg/kg程度以下の場合、回収率の低下が認められる。

文 献

- 1) 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).
- 2) U.S. Food and Drug Administration: FDA Releases Progress on Jerky Pet Treat Investigation, <http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/NewsEvents/CVMUpdates/ucm371450.htm>, cited 8 July 2015.
- 3) 一般財団法人日本冷凍食品検査協会：平成 26 年度愛玩動物用飼料の有害物質等分析調査委託事業報告書 (2014).
- 4) 農林水産省令・環境省令：愛玩動物用飼料の成分規格等に関する省令，平成 21 年 4 月 28 日，

農林水産省令・環境省令第1号 (2009).

- 5) 平間 裕志, 西村 一彦, 中野 道晴: ジアゾ化法によるタラコ中の亜硝酸イオンの定量における塩酸の効果, 北海道衛生研究所報, **44**, 69-72 (1994).
- 6) 辻 澄子: 第7章 発色剤 24 亜硝酸ナトリウム, 食品衛生検査指針 食品添加物編 2003, 食品衛生検査指針委員会編, 日本食品衛生協会, 142-148 (2003) (ISBN: 978-4889250053).