

有害な試薬等を使用する試験法の見直しの検討状況（報告）

1. 背景

飼料添加物の成分規格を確認する一部の試験法は、次の①又は②に該当する有害な試薬を使用する試験法であり、現在、試験の実施が困難な状況である。

① モントリオール議定書の規制対象物質（オゾン層破壊物質）
（四塩化炭素等）

② 発がん性を有する物質（ベンゼン、クロロホルム等）

このため、農林水産省の委託事業により、ベンゼンを使用する試験法から順次見直しを進めることとした。

2. 現在の状況

飼料添加物の成分規格において、ベンゼンを使用する試験法が定められており、そのうちの(1)から(3)について、委託事業によりベンゼンを用いない試験法の開発を行った。

- (1) ビタミン D 定量法 …R3 委託事業にて開発
- (2) ビタミン A 定量法（第 1 法） …R3 委託事業にて開発
- (3) ニコチン酸アミド定量法 …R5 委託事業にて開発

他方、業界から、ベンゼン以外の有害な試薬等を使用する以下(4)から(7)の試験法について早期見直しの要望があったことから、これらの試験法について、優先的に試験法の開発を行った。

- (4) 塩酸チアミン定量法（臭化シアン）
- (5) 硝酸チアミン定量法及び確認試験法（臭化シアン、クロロホルム）
- (6) 塩酸ピリドキシン定量法及び確認試験法（酢酸第二水銀、クロロホルム）
- (7) 1,4-ジオキサン試験法（試験が実施できない）

ビタミンA 定量法について、飼料添加物規格小委員会において議論され、了承を得た。

【審議経過】

令和5年 7月21日 飼料添加物規格小委員会

令和6年 11月27日 飼料添加物規格小委員会

3. 今後の予定

- 1) 飼料添加物規格小委員会において了承された改正案について、所要の手続きを行う。
- 2) 見直しが必要な試験法については、今後も順次試験法の検討を行う。

(参考)

ビタミン A 定量法 (抜粋)

- ① 第 1 法 試料約 0.5 g を 0.001 g の桁まで量り、その数値を記録し、イソプロパノールを加えて溶かし、250 mL の全量フラスコに入れ、更にイソプロパノールを標線まで加えて 250 mL とする。この溶液を、層長 10 mm で 326 nm における吸光度が約 0.5 となるように、イソプロパノールで正確に薄めて試料溶液とし、吸収極大の波長を測定する。また、層長 10 mm で 300 nm、310 nm、320 nm、326 nm、330 nm、340 nm 及び 350 nm における吸光度を測定し、326 nm の吸光度を 1.000 としたときの各波長における吸光度の比を求める。吸収極大の波長が 325～328 nm の間にあり、かつ、得られた各波長における吸光度の比が、それぞれ表の値の±0.030 の範囲内にあれば、326 nm の吸光度 A から試料 1 g 中のビタミン A 単位を算出する。

1 g 中のビタミン A 単位数 = (326 nm) × 1,900

$$E_{1\text{cm}}^{1\%}(326\text{nm}) = \frac{A}{W} \times \frac{V}{100}$$

V : 試料溶液の総 mL 数

W : 試料溶液 VmL 中の試料の g 数

酢酸レチノール及びパルミチン酸レチノールの確認のため、次の確認試験を行う。

試料、薄層クロマトグラフ用酢酸レチノール標準品及び薄層クロマトグラフ用パルミチン酸レチノール標準品についてそれぞれ 15,000 ビタミン A 単位を含む量を量り、それぞれ石油エーテル 5 mL に溶かし、試料溶液及び標準液とする。この溶液につき、薄層クロマトグラフ法により試験を行う。試料溶液及び標準液 5 μL ずつを薄層クロマトグラフ用シリカゲルを用いて調製した薄層板にスポットする。次に、ベンゼンを展開溶媒として約 10 cm 展開した後、薄層板を風乾する。これに三塩化アンチモン試液を噴霧し、試料及び標準品の青色に呈色した主なスポットの位置を比較して確認する。

第 1 法により吸光度を測定し、吸収極大の波長が 325～328 nm の間にないとき又は吸光度の比が表示した値の±0.030 の範囲内にないときは、第 2 法を用いる。

(参考)

λ (nm)	酢酸レチノール	パルミチン酸レチノール
300	0.578	0.590
310	0.815	0.825
320	0.948	0.950
326	1.000	1.000
330	0.972	0.981
340	0.786	0.795
350	0.523	0.527