

第 5 章

DDGS のための推奨ラボ分析手順

はじめに

原材料が保証された仕様を満たしていることを確認し、動物飼料設計に用いるための栄養成分を明らかにし、汚染物質が存在する可能性の有無や濃度を見極めるため、飼料業界では飼料原材料のラボ分析（ラボ分析）が一般的に行われている。そのため、DDGS を含む飼料原材料の様々な化合物の正確な測定が何より重要である。

分析手順は特定のラボで採用されている方法のバリデーション（妥当性確認）のレベルに基づいて分類することができる (Thiex, 2012)。単一ラボバリデーションは特定の 1 箇所のラボ、1 人の技術者および 1 台の装置に適用されるが、複数ラボバリデーションではある方法で得られた結果が当該ラボ以外のラボで間違いなく再現できるか否かという情報を提供する目的で、2~7 箇所のラボにおいて手順の妥当性の確認が行われる。同一の手順を用いて 8 箇所以上のラボが問題のないデータを提出した場合には、完全な整合性を有するプロトコルによる共同研究バリデーションとなる。DDGS のための推奨分析手順についての優れた要約書が Thiex (2012) によって発表されており、本章ではそのキーポイントを取り上げる。

DDGS 取り引き規格適合のための推奨手順 (AFIA, 2007)

水分	NFTA 2.2.2.5 ラボ乾物 (105°C/3hr)
粗タンパク質	AOAC 990.03 動物飼料中の (粗) タンパク質 AOAC 2001.11 動物飼料およびペットフード中の (粗) タンパク質、銅触媒ベース
粗脂肪	AOAC 945.16 穀物類由来産物中の油分 (石油エーテル)
粗繊維	AOAC 978.10 動物飼料およびペットフード中の (粗) 繊維 (F.G.Crucible)

飼料設計を目的とした DDGS 栄養分析のための推奨手順

酸性デタージェント繊維 – AOAC 973.18 動物飼料中の酸性デタージェント繊維およびリグニン。硫酸ベース。ISO2008 に相当。

酸性デタージェントリグニン – AOAC 973.18 動物飼料中の酸性デタージェント繊維およびリグニン。硫酸ベース。ISO 13906:2008 に相当。

アミラーゼ処理中性デタージェント繊維 – AOAC 2002.04 飼料中のアミラーゼ処理中性デタージェント繊維。ISO 16472:2006 に相当。

灰分 – AOAC 942.05 は ISO 5984:2002 に相当。

注：灰分に非酸化炭素が含まれている場合、サンプルは再灰化しなければならない。

微量ミネラル - 可溶化には酸に溶解させたドライアッシュまたは測定対象元素に応じて様々な酸に溶解したウエットアッシュのいずれかを用いる。検出には重量測定法、可視分光光度法、蛍光分析および黒鉛炉原子吸光分析 (AOAC 968.08 ; ISO 6869:2000)、または原子質量分光検出(ICP-MS ; ISO 27085:2009)が用いられる。

硫黄 – AOAC 923.01 植物中の硫黄は ISO 27085:2009 に相当する。

リン – AOAC 965.17 動物試料中のリン、光度測定法、ISO 6491:1998

総リン含有率の確定方法– 分光光度法、および ISO 27085:2009 を使用することができる。

セレン – AOAC 996.16 飼料およびプレミックス中のセレン、蛍光法、ならびに AOAC 996.17 飼料およびプレミックス中のセレン、連続水素化物生成原子吸光分析の使用が認められる。

塩素 – AOAC 969.10 電位差測定法、AOAC 943.01 ウォルハルト法、および ISO 6495:1999

クロム– 公式方法なし。いずれの方法もバリデーションが行われていない。

フッ素 – 微量拡散技術 (動物のミネラル許容量、2005)。いずれの方法もバリデーションが行われていない。

ヨウ素 – ICP-MS 技術(動物のミネラル許容量、2005)。いずれの方法もバリデーションが行われていない。

アミノ酸 – AOAC 994.12 チロシンとトリプトファンを除くすべてのアミノ酸向け、ISO 13903:2005

トリプトファン – AOAC 988.15

デンプン – 公的方法なし。この解析法に必要とされる酵素の製造が打ち切られたため、AOAC 920.40 は現在では無効となっている。AOAC 996.11 が最も一般的に使用されているが、欠陥が存在する。

DDGS に想定され得る汚染物質を測定するための推奨手順(Caupert ら、2012)

マイコトキシン

推奨される GIPSA 承認マイコトキシン簡易試験キットについては第 10 章を参照のこと。

推奨マイコトキシン試験法

アフラトキシン– AOAC 994.08

デオキシニバレノール – MacDonald ら (2005a)

フモニシン – AOAC 2001.04 および Rottinghaus ら (1992)

T-2 – RomerLabs (2010)

ゼアラレノン – AOAC 994.01 および McDonald ら (2005b)
 アフラトキシン、デオキシニバレノール、フモニシン、T-2 およびゼアラレノン- (Sulyok ら、2007)

残留抗生物質

FDA CVM はジステラーズ・グレインに含まれる、以下のリストを含む 13 種の抗生物質を見極めるために、液体クロマトグラフィーとイオントラップタンデム質量分析法を用いてきた(Heller、2009)。

アンピシリン	モネンシン
バシトラシン A	オイシテトラサイクリン
クロラムフェニコール	ペニシリン G
クオルテトラサイクリン	ストレプトマイシン
クラリスロマイシン	チロシン
エリスロマイシン	バージニアマイシン 7 M1

上記の方法による抽出効率は 65% ~ 97%の範囲で、定量限界は 0.1 ~ 1.0 µg/g である。精度範囲は 88 ~ 111%で、変動係数は 4 ~ 30%である。FDA の承認を受けている残留バージニアマイシン検出法はバイオアッセイによる Phibro (QA@Phibro.com)のみであるが、バージニアマイシンの 2 種のサブユニットのうち 1 種しか測定することのできない Heller (2009) による LC-MS 法より推奨できる。

References

- AFIA. 2007. Evaluation of Analytical Methods for Analysis of Distillers Grain with Solubles: AFIA Sub Working Group Final Report. American Feed Industry Association. Available online: www.afia.org/Afia/Files/BAMN-%20BSE-%20DDGS-%20Biosecurity%20Awareness/DDGS%20FINAL%20Report%20and%20Recommendations2-07.pdf. Accessed May 30, 2012.
- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis of AOAC International (OMA). AOAC International, Gaithersburg, MD.
- Caupert, J., Y. Zhang, P. Imerman, J.L. Richard, and G.C. Shurson. 2012. Mycotoxin Occurrence in DDGS. In: Distillers Grain Production, Properties, and Utilization, ed. K. Liu and K.A. Rosentrater, CRC Press, Boca Raton, FL, p. 219-234.
- Heller, D.N. 2009. Analysis of Antibiotics in Distillers Grains Using Liquid Chromatography and Ion Trap Tandem Mass Spectroscopy, ed. C.V.M Food and Drug Administration, Office of Research. Department of Health and Human Services. Rockville, MD.
- ISO. 1998. ISO 6491:1998, Animal Feeding Stuffs – Determination of Phosphorus Content – Spectrometric Method. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- ISO. 1999. ISO 6495:1999, Animal Feeding Stuffs – Determination of Water-Soluble Chloride Content. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- ISO. 2000. ISO 6491:1998, Animal Feeding Stuffs – Determination of the Contents of Calcium, Copper, Iron, Magnesium, Manganese, Potassium, Sodium, and Zinc – Method Using Atomic Absorption Spectrometry. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- ISO. 2005. ISO 13903:2005, Animal Feeding Stuffs – Determination of Amino Acid Content. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- ISO. 2006. ISO 16472:2006, Animal Feeding Stuffs – Determination of Amylase-Treated Detergent Fiber Content (aNDF). International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

- ISO. 2008. ISO 13906:2008, Animal Feeding Stuffs – Determination of Acid Detergent Fiber (ADF) and Acid Detergent Lignin (ADL) Content. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- ISO. 2009. ISO 27085:2009, Animal Feeding Stuffs – Determination of Calcium, Sodium, Phosphorus, Magnesium, Potassium, Iron, Zinc, Copper, Manganese, Cobalt, Molybdenum, Arsenic, Lead, and Cadmium by ICP-AES. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- MacDonald, S.J., D. Chan, P. Brereton, A. Damant, and R. Wood. 2005a. Determination of deoxynivalenol in cereals and cereal products by immunoaffinity column cleanup with liquid chromatography: Interlaboratory study. *J. of AOAC International* 88:1197-1204.
- MacDonald, S.J., S. Anderson, P. Brereton, R. Wood, and A. Damant. 2005b. Determination of zearalenone in barley, maize and wheat flour, polenta, and maize-based baby food by immunoaffinity column cleanup with liquid chromatography: Interlaboratory study. *J. of AOAC International* 88:1733-1740.
- Mineral Tolerances of Animals. 2005. National Academy Press, Washington, DC.
- RomerLabs, Inc. 2010. T-2 Toxin. Romer Labs, Inc., Union, MO. Available online: www.romerlabs.com/downloads/Mycotoxins/T2-Toxin.pdf.
- Rottinghaus, G.E., C.E. Coatney, and C.H. Minor. 1992. A rapid, sensitive, thin layer chromatography procedure for the detection of fumonisin B₁ and B₂. *J. Vet Diag. Invest.* 4:326-329.
- Sulyok, M., R. Krska, and R. Schuhmacher. 2007. A liquid chromatography/tandem mass spectrometric multi-mycotoxin method for quantification of 87 analytes and its application to semi-quantitative screening of moldy food samples. *Analytical and Bioanalytical. Chem.* 389:1505-1523.
- Thiex, N. 2012. Analytical Methodology for Quality Standards and Other Attributes of DDGS In: *Distillers Grain Production, Properties, and Utilization*, ed. K. Liu and K.A. Rosentrater, CRC Press, Boca Raton, FL, p. 193-217.