ケ　保存上の注意事項

注

1　保存上の注意事項には、当該飼料添加物について定められた保存の方法の基準に従い保存するべき旨記載すること。

2　飼料又は飼料添加物の製造業者のみに販売する場合には、農林水産大臣の承認を受けて「製造業者専用」の文字を表示し、上記の表示すべき事項の一部の表示を省略することができる。

⑶　表示は、法第32条第１項の規定に基づく表示の基準に従い行う表示に準じて行うものとする。

6　飼料添加物一般の試験法

一般試験法は、共通の試験法及びこれに関連する事項をまとめたものである。別に規定する場合を除き、液体クロマトグラフ法、塩化物試験法、炎色反応試験法、ガスクロマトグラフ法、乾燥減量試験法、吸光度測定法、凝固点測定法、強熱減量試験法、強熱残分試験法、屈折率測定法、原子吸光光度法、抗菌活性試験法、抗生物質の力価試験法、酵素力試験法、１，４-ジオキサン試験法、重金属試験法、水分定量法、生菌剤試験法、生菌剤定量法、赤外吸収スペクトル測定法、旋光度測定法、粗脂肪定量法、粗繊維定量法、窒素定量法、定性反応、鉛試験法、バイオオートグラフ法、薄層クロマトグラフ法、pH測定法、比重測定法、ヒ素試験法、ビタミンA定量法、ビタミンD定量法、沸点測定法及び蒸留試験法、融点測定法、硫酸塩試験法、硫酸呈色物試験法並びにろ紙クロマトグラフ法は、それぞれ規定するところにより行う。

⑴　液体クロマトグラフ法

液体クロマトグラフ法は、固定相として適当な充塡剤を詰めたカラム中に、移動相として液体をポンプ等で加圧して流すことにより、カラムに注入された混合物を固定相に対する保持力の差を利用してそれぞれの成分に分離し、分析する方法であって、液体試料又は溶液にできる試料に適用でき、物質の確認、純度の試験又は定量等に用いる。

カラムに注入された混合物は、各成分に固有の比率で、移動相と固定相とに分布する。この比を質量分布比k′という。

$$k' = \frac{\text{固定相に存在する量}}{\text{移動相に存在する量}}$$

質量分布比と保持時間t_R（試料注入時からピークの頂点が溶出されるまでの時間）との間には、次の関係があるので、同一カラムについては、温度と移動相の組成及び流量が一定の場合、保持時間は物質に固有の値となる。

$t_R = (1 + k')\, t_0$

t_0：k′＝0の物質の試料注入時からピークの頂点までの時間

装置

通例、移動相送液用ポンプ、試料導入部、カラム、検出器及び記録装置からなり、必要に応じてカラムは、恒温槽により恒温に保たれる。ポンプは、カラム及び連結チューブの中を一定量で移動相を送液できるものとする。カラムは、液体クロマトグラフ法用に調製した粒径が３～50μmの一定の大きさに揃った充塡剤を、内径２～８mm、長さ10～100cmの管に均一に充塡したものとする。なお、別に規定するものを除き、次式で定義される分離度R_Sを各条に規定する。

$$R_S = \frac{2\,(t_{R1} - t_{R2})}{1.67\,(Wh_1 + Wh_2)}$$

t_{R1}，t_{R2}：分離度測定を用いる２つの物質の保持時間

Wh_1，Wh_2：各ピークのピーク高さの中点におけるピーク幅

検出器は、通例、紫外及び可視の吸光光度計、示差屈折計、蛍光光度計等移動相とは異なる試料の性質を検出するものであり、数μg以下の試料に対して濃度に比例した信号を出すものとする。検出器により得られる信号の強さは記録装置により記録される。

操作法

装置をあらかじめ調整した後、各条に規定する条件で検出器、カラム及び移動相を用い、移動相を一定流量で流してカラムを規定の温度で平衡にした後、各条に規定する方法で調製した試料溶液をマイクロシリンジ又は試料バルブを用いて試料注入部から注入する。分離された成分を検出器により検出し、記録装置を用いてクロマトグラムとして記録する。試料の確認は、保持時間が一致すること又は標準試料を添加してピークの幅が広がらないことにより行う。定量は、通例、内部標準法によるが、適当な内部標準物質が得られない場合は、絶対検量線法によるものとする。

①　内部標準法

被検成分にできる限り近い保持時間を有し、いずれのピークとも完全に分離する化学的に安定な物質を内部標準物質として選び、その一定量に対して標準被検成分を段階的に加えた標準液を数種類調製する。この一定量ずつを注入して得られたクロマトグラムから、被検物質のピーク高さ又はピーク面積と内部標準物質のピーク高さ又はピーク面積との比を求める。この比を縦軸に、標準被検成分の量を横軸にとり、検量線を作成する。この検量線は、通例、原点を通る直線となる。次に、同量の内部標準物質を加えた試料溶液を調製し、検量線を作成したときと同一条件でクロマトグラムを記録し、被検成分のピーク高さ又はピーク面積と、内部標準物質のピーク高さ又はピーク面積との比を求め、検量線を用いて定量を行う。

②　絶対検量線法

標準被検成分を段階的にとり、標準液を調製し、この一定量ずつを正確に注入する。得られたクロマトグラムから縦軸に標準被検成分のピーク高さ又はピーク面積、横軸に標準被検成分量をとり、検量線を作成する。この検量線は、通例、原点を通る直線となる。次に、各条に規定する方法で試料溶液を調製し、検量線を作成したときと同一条件でクロマトグラムを記録し、被検成分のピーク高さ又はピーク面積を測定し、検量線を用いて定量を行う。

ピーク測定は、通例、次のいずれかの方法によるものとする。

①　ピーク高さ法

ピークの頂点からベースラインへ下ろした垂線とピークの両すそを結ぶ接線との交点から頂点までの長さを測定する。

②　ピーク面積法

⑴　半値幅法　ピーク高さの中点におけるピーク幅にピーク高さを乗じる。

⑵　自動面積測定法　デジタルインテグレーター等を用いて面積を測定する。

⑵　塩化物試験法

塩化物試験法は、試料中に混在する塩化物の限度試験とする。

各条には、塩化物（Clとして）の限度を（　）内に付記する。

操作法

別に規定する場合を除き、次の方法によるものとする。

各条に規定する量の試料をネスラー管に入れ、適量の水を加えて溶かし、40mLとする。これに希硝酸６mL及び水を加え、50mLとし、試料溶液とする。別に、各条に規定する量の0.01mol/L塩酸を量り、希硝酸６mL及び水を加え、50mLとし、比較液とする。この場合、試料溶液が澄明でないときは、両液を同条件でろ過する。

試料溶液及び比較液にそれぞれ硝酸銀試液１mLを加え、混和し、直射日光を避け、５分間放置した後、黒色の背景を用い、ネスラー管の上方又は側方から観察して混濁を比較する。

試料溶液の呈する混濁は、比較液の呈する混濁より濃くてはならない。