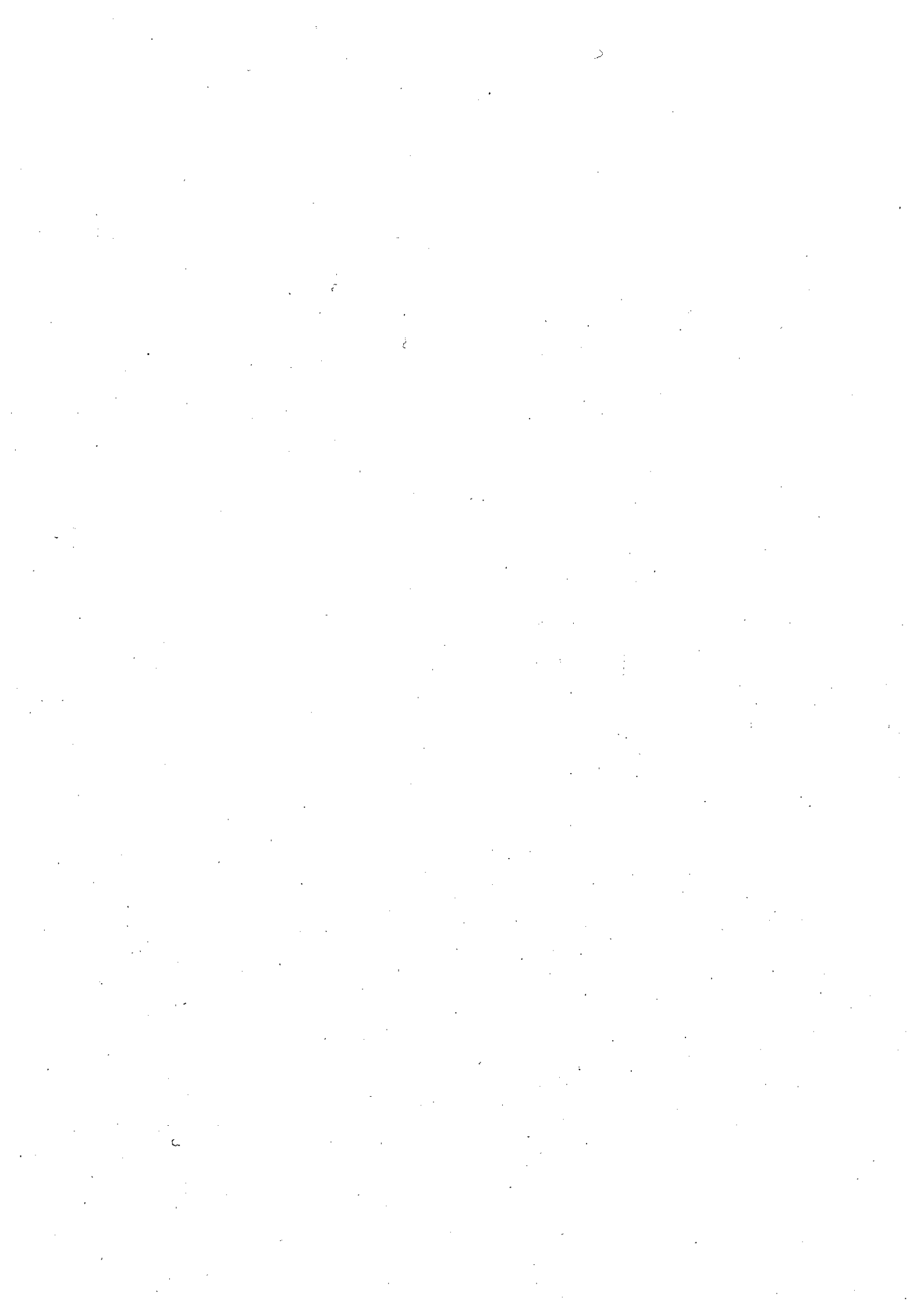


資料 1

6月15日 食品衛生分科会

審議事項に関する資料



(1) 審議事項

①食品中の農薬等の残留基準設定について

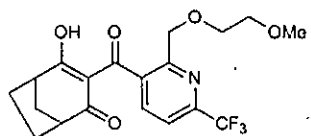
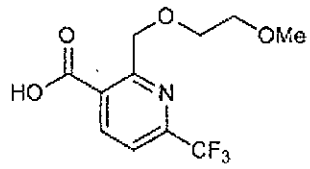
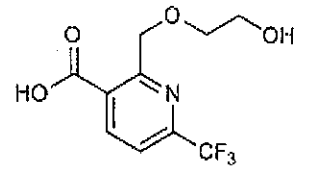
- ・ビシクロピロン（インポートトレランス申請）・・・ 1～4

②農薬等の告示試験法の設定について

- ・イプロニダゾール、ジメトリダゾール、メトロニダゾール
及びロニダゾール試験法・・・ 5～13
- ・クロラムフェニコール試験法・・・ 14～19
- ・カプタホール試験法（畜水産物）・・・ 20～24



ビスクロピロン (Bicyclopyrone)

審議の対象	農薬の食品中の残留基準の設定
経緯	インポートトレランス (IT) 制度に基づく基準値設定の要請があったもの。
構造式	
用途	農薬/除草剤
作用機構	トリケトン系の除草剤である。プラストキノン生合成経路に関与する4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼの阻害により、殺草効果を示すものと考えられている。
適用作物/適用雑草	とうもろこし/雑草
我が国の登録状況	農薬登録されていない。
諸外国の状況	JMPR における毒性評価は行われておらず、国際基準も設定されていない。 米国、カナダ、EU、豪州及びニュージーランドについて調査した結果、米国及びカナダにおいてとうもろこしに基準値が設定されている。
食品安全委員会における食品健康影響評価結果	ADI : 0.00028 mg/kg 体重/day [設定根拠] 2年間 慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット・混餌) 最小毒性量 0.28 mg/kg 体重/day 安全係数 1000 (最小毒性量を用いたことによる追加の係数 10) 発がん性試験において、雄ラットで角膜における扁平上皮癌及び扁平上皮乳頭腫の増加が認められたが、腫瘍発生機序は遺伝毒性メカニズムによるものとは考え難く、評価に当たり閾値を設定することは可能であると考えられた。 ARfD : 一般 (1歳以上) 及び幼小児 (1~6歳) : 2 mg/kg 体重 [設定根拠] 急性神経毒性試験 (ラット・強制経口) 無毒性量 200 mg/kg 体重/day 安全係数 100 妊婦又は妊娠している可能性のある女性 : 0.01 mg/kg 体重 [設定根拠] 発生毒性試験 (ウサギ・強制経口) 無毒性量 1 mg/kg 体重/day 安全係数 100
基準値案	別紙1のとおり。 残留の規制対象物質 : ビシクロピロン、2-(2-メトキシエトキシメチル)-6-トリフルオロメチルニコチン酸 (代謝物 B) (加水分解により代謝物 B に変換される代謝物を含む) 及び 2-(2-ヒドロキシエトキシメチル)-6-トリフルオロメチルニコチン酸 (代謝物 K) (加水分解により代謝物 K に変換される代謝物を含む) とする。  代謝物 B  代謝物 K

<p>暴露評価</p>	<p>①長期暴露評価 TMDI/ADI 比は、以下のとおり。</p> <table border="1" data-bbox="584 253 1434 481"> <thead> <tr> <th></th> <th>TMDI/ADI (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>一般 (1 歳以上)</td> <td>0.9</td> </tr> <tr> <td>幼小児 (1~6 歳)</td> <td>3.5</td> </tr> <tr> <td>妊婦</td> <td>1.1</td> </tr> <tr> <td>高齢者 (65 歳以上)</td> <td>0.8</td> </tr> </tbody> </table> <p>TMDI：理論最大一日摂取量 (Theoretical Maximum Daily Intake)</p> <p>②短期暴露評価 各食品の短期推定摂取量 (ESTI) を推定したところ、一般 (1 歳以上)、幼小児 (1~6 歳) 及び妊産婦又は妊娠している可能性のある女性 (14~50 歳) のそれぞれにおける摂取量は、急性参照用量 (ARfD) を超えていない^{注)}。</p> <p>注) 基準値案を用い、平成 17 年~19 年度の食品摂取頻度・摂取量調査及び平成 22 年度の厚生労働科学研究の結果に基づき ESTI を推定した。</p>		TMDI/ADI (%)	一般 (1 歳以上)	0.9	幼小児 (1~6 歳)	3.5	妊婦	1.1	高齢者 (65 歳以上)	0.8
	TMDI/ADI (%)										
一般 (1 歳以上)	0.9										
幼小児 (1~6 歳)	3.5										
妊婦	1.1										
高齢者 (65 歳以上)	0.8										
<p>意見聴取の状況</p>	<p>平成 28 年 6 月 17 日に在京大使館への説明を実施予定 今後、パブリックコメントを実施する予定 (WTO 通報は対象外)</p>										
<p>答申案</p>	<p>別紙 2 のとおり。</p>										

食品名	基準値 案 ppm	基準値 現行 ppm	登録 有無	参考基準値		作物残留試験成績等 ppm
				国際 基準 ppm	外国 基準値 ppm	
とうもろこし	0.03		IT		0.03; 米国	【0.01-0.0356(#)(n=14)(米国)】

IT:海外で設定されている基準値を参照するよう申請されたもの
 (#)申請の範囲内で試験が行われていないデータを含む。

ビシクロピロン

食品名	残留基準値 ppm
どうもろこし	0.03

※今回基準値を設定するビシクロピロンとは、ビシクロピロン、代謝物B【2-(2-メトキシ-エトキシメチル)-6-トリフルオロメチル-ニコチン酸】(加水分解により代謝物Bに変換される代謝物を含む)をビシクロピロンに換算したものと及び代謝物K【2-(2-ヒドロキシ-エトキシメチル)-6-トリフルオロメチル-ニコチン酸】(加水分解により代謝物Kに変換される代謝物を含む)をビシクロピロンに換算したものの和をいう。

イプロニダゾール、ジメトリダゾール、 メトロニダゾール及びロニダゾール試験法（案）

イプロニダゾールは、一律基準で規制されているところであるが、食品安全委員会による食品健康影響評価において「イプロニダゾールについては、遺伝毒性を示す可能性を否定することができず、発がん性が示唆されたことから、ADIを設定すべきではないと判断した。」と評価された。

ジメトリダゾール、メトロニダゾール及びロニダゾールは、ポジティブリスト制度導入時に、食品中に「不検出」とする農薬等の成分である物質として新たに定められ、その後、平成26～27年に見直しが行われた。これより食品安全委員会による食品健康影響評価において「ジメトリダゾールについては、DNAとの共有結合残留物が生成される可能性があること、遺伝毒性を示す可能性を判断することはできず、発がん性が示唆されたこと及びADIの設定に適切なNOAEL等が得られなかったことから、ADIを設定できなかった。」「メトロニダゾールは遺伝毒性発がん物質であることが否定できず、ADIを設定することは適当でない。」及び「ロニダゾールの遺伝毒性を判断できず、発がん性が示唆されたことから、ADIを設定すべきでない」と判断した。」と評価された。

この評価結果をふまえ、イプロニダゾール、ジメトリダゾール、メトロニダゾール及びロニダゾールは、平成28年3月に、薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会において、「食品に含有されるものであってはならない」（以下「不検出基準」という。）と改定することとされた。

従来、不検出基準を含む農薬等については、試験法の検出限界により規制が行われることから、規格基準の改正と同時に試験法を告示し、併せてその検出限界が別途通知されているところである。

既存試験法はジメトリダゾール、メトロニダゾール及びロニダゾールのみを分析対象として開発されたものであり、イプロニダゾール及びその他の規制対象物質を分析対象としてその試験法の性能が評価されたものではない。そのため、イプロニダゾール、ジメトリダゾール、メトロニダゾール及びロニダゾールの試験法について開発が進められてきたところ、今般、その開発が終了したため、同試験法について審議するものである。

1. 概要

(1) 分析対象の化合物

イプロニダゾール：イプロニダゾール、1-メチル-2-(2'-ヒドロキシイソプロピル)-5-ニトロイミダゾール（以下「イプロニダゾール代謝物B」という。）

ジメトリダゾール：ジメトリダゾール、2-ヒドロキシメチル-1-メチル-5-ニトロイミダゾール（以下「HMMNI」という。）

メトロニダゾール：メトロニダゾール、1-(2-ヒドロキシエチル)-2-ヒドロキシメチ

ル-5-ニトロイミダゾール（以下「メトロニダゾール代謝物A」という。）

ロニダゾール：ロニダゾール、HMMNI

(2) 分析対象食品

畜水産物

(3) 試験法の概要

各分析対象化合物を試料から酢酸酸性下アセトンで抽出する。アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂した後、強酸性陽イオン交換樹脂ミニカラムで精製し、液体クロマトグラム・タンデム型質量分析計で定量及び確認する方法である。

(4) 検出限界

イプロニダゾール：0.0001 mg/kg

イプロニダゾール代謝物B：0.0001 mg/kg

ジメトリダゾール：0.0002 mg/kg

メトロニダゾール：0.0001 mg/kg

メトロニダゾール代謝物A：0.0001 mg/kg

ロニダゾール：0.0002 mg/kg

HMMNI：0.0002 mg/kg

2. 真度及び精度の評価

以下の食品を対象として真度及び併行精度の確認を実施した。

牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、牛乳、鶏の筋肉、鶏卵、さけ、うなぎ、しじみ及びはちみつ

表 検討結果の真度及び併行精度

		検討結果	目標値
真度	イプロニダゾール	82～92%	70～120%
	イプロニダゾール代謝物 B	88～94%	
	ジメトリダゾール	89～94%	
	メトロニダゾール	82～99%	
	メトロニダゾール代謝物 A	75～86%	
	ロニダゾール	87～95%	
	HMMNI	85～111%	
併行精度	イプロニダゾール	1～3%	30%未満
	イプロニダゾール代謝物 B	1～3%	
	ジメトリダゾール	0.5～3%	
	メトロニダゾール	1～5%	
	メトロニダゾール代謝物 A	2～6%	
	ロニダゾール	2～6%	
	HMMNI	1～8%	

3. 答申案
別紙のとおり。

(参考) これまでの経緯

【イプロニダゾール】

- 平成27年 1月 8日 厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請
- 平成27年10月27日 食品安全委員会から委員長から厚生労働大臣あてに食品健康影響評価について通知
- 平成27年12月15日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会
- 平成28年 3月 1日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
- 平成28年 3月10日 残留農薬等公示分析法検討会で検討
- 平成28年 5月17日 薬事・食品衛生審議会へ諮問
- 平成28年 5月18日 厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに告示試験法改定に係る食品健康影響評価について照会
- 平成28年 5月24日 食品安全委員会委員長から厚生労働大臣あてに回答について通知
- 平成28年 5月27日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

【ジメトリダゾール】

- 平成17年11月29日 残留基準告示
- 平成24年 2月22日 厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請
- 平成27年 4月14日 食品安全委員会から委員長から厚生労働大臣あてに食品健康影響評価について通知
- 平成27年12月15日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会
- 平成28年 3月 1日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
- 平成28年 3月10日 残留農薬等公示分析法検討会で検討
- 平成28年 5月17日 薬事・食品衛生審議会へ諮問
- 平成28年 5月18日 厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに告示試験法改定に係る食品健康影響評価について照会
- 平成28年 5月24日 食品安全委員会委員長から厚生労働大臣あてに回答について通知
- 平成28年 5月27日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

【メトロニダゾール】

- 平成17年11月29日 残留基準告示
- 平成24年 2月22日 厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請
- 平成26年 5月20日 食品安全委員会から委員長から厚生労働大臣あてに食品健康影響評価について通知

平成27年12月15日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会
 平成28年 3月 1日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
 平成28年 3月10日 残留農薬等公示分析法検討会で検討
 平成28年 5月17日 薬事・食品衛生審議会へ諮問
 平成28年 5月18日 厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに告示試験法改定に係る食品健康影響評価について照会
 平成28年 5月24日 食品安全委員会委員長から厚生労働大臣あてに回答について通知
 平成28年 5月27日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

【ロニダゾール】

平成17年11月29日 残留基準告示
 平成24年 2月24日 厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請
 平成26年 7月29日 食品安全委員会から委員長から厚生労働大臣あてに食品健康影響評価について通知
 平成27年12月15日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会
 平成28年 3月 1日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
 平成28年 3月10日 残留農薬等公示分析法検討会で検討
 平成28年 5月17日 薬事・食品衛生審議会へ諮問
 平成28年 5月18日 厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに告示試験法改定に係る食品健康影響評価について照会
 平成28年 5月24日 食品安全委員会委員長から厚生労働大臣あてに回答について通知
 平成28年 5月27日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

● 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

[委員]

穂山 浩	国立医薬品食品衛生研究所食品部長
石井 里枝	埼玉県衛生研究所化学検査室長
○大野 泰雄	公益財団法人木原記念横浜生命科学振興財団理事長
尾崎 博	東京大学大学院農学生命科学研究科獣医薬理学教室教授
斉藤 貢一	星薬科大学薬品分析化学教室教授
佐々木 一昭	東京農工大学大学院農学研究院動物生命科学部門准教授
佐藤 清	一般財団法人残留農薬研究所技術顧問
佐野 元彦	東京海洋大学海洋生物資源学部門教授
永山 敏廣	明治薬科大学薬学部薬学教育研究センター基礎薬学部門教授
根本 了	国立医薬品食品衛生研究所食品部第一室長
二村 睦子	日本生活協同組合連合会組織推進本部組合員活動部部長
宮井 俊一	一般社団法人日本植物防疫協会技術顧問
由田 克士	大阪市立大学大学院生活科学研究科公衆栄養学教授
吉成 浩一	静岡県立大学薬学部衛生分子毒性学分野教授
鰐淵 英機	大阪市立大学大学院医学研究科分子病理学教授

(○：部会長)

答申(案)

イプロニダゾール, ジメトリダゾール, メトロニダゾール及びロニダゾール試験法

分析対象化合物

農薬等の成分である物質	分析対象化合物
イプロニダゾール	イプロニダゾール, 1-メチル-2-(2-ヒドロキシイソプロピル)-5-ニトロイミダゾール (以下「イプロニダゾール代謝物B」という。)
ジメトリダゾール	ジメトリダゾール, 2-ヒドロキシメチル-1-メチル-5-ニトロイミダゾール (以下「HMMN I」という。)
メトロニダゾール	メトロニダゾール, 1-(2-ヒドロキシアチル)-2-ヒドロキシメチル-5-ニトロイミダゾール (以下「メトロニダゾール代謝物A」という。)
ロニダゾール	ロニダゾール, HMMN I

1. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計

2. 試薬, 試液

次に示すもの以外は, 第2添加物の部C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

アセトニトリル 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

アセトン 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

ギ酸 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

強酸性陽イオン交換樹脂ミニカラム (500mg) 内径12~13mm のポリエチレン製のカラム管に, 強酸性陽イオン交換樹脂500mgを充填したもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

n-ヘキサン 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

水 蒸留水, 精製水, 純水等の化学分析に適したものを用いる。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には, n-ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。
無水硫酸ナトリウム 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

メタノール 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

3. 標準品

イプロニダゾール標準品 本品はイプロニダゾール98%以上を含む。

イプロニダゾール代謝物B標準品 本品はイプロニダゾール代謝物B 98%以上を含む。

ジメトリダゾール標準品 本品はジメトリダゾール98%以上を含む。

- メトロニダゾール標準品 本品はメトロニダゾール98%以上を含む。
メトロニダゾール代謝物A標準品 本品はメトロニダゾール代謝物A98%以上を含む。
ロニダゾール標準品 本品はロニダゾール98%以上を含む。
HMMN I 標準品 本品はHMMN I 98%以上を含む。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法

試料10.0g（はちみつの場合は試料10.0gに水10mlを加えて溶解したもの）に酢酸1ml及びアセトン50mlを加えてホモジナイズし、毎分3,000回転で5分間遠心分離する。上澄液を採り、残留物（はちみつの場合は水5mlを加えて溶解したもの）にアセトン30mlを加えてホモジナイズし、上記と同様の条件で遠心分離する。上澄液を採り、先の上澄液と合わせ、アセトンを加えて正確に100mlとする。

この溶液から正確に10mlを分取し、40℃以下で約2mlに濃縮する。これにn-ヘキサン飽和アセトニトリル10ml及びn-ヘキサン10mlを加えて振とう後、毎分3,000回転で5分間遠心分離する。アセトニトリル層を採り、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物に2vol%ギ酸5mlを加えて溶かす。

b 精製法

強酸性陽イオン交換樹脂ミニカラム（500mg）にアセトニトリル5ml、2 vol%ギ酸5mlを注入し、流出液は捨てる。このカラムにa 抽出法で得られた溶液を注入した後、更に2vol%ギ酸5ml、メタノール5ml、0.5%アンモニア水5mlを順次注入し、流出液は捨てる。次いでアセトニトリル及び水（1：3）混液10mlを注入し、溶出液を採る。

この溶出液に、硫酸アンモニウム2gを加えて溶解した後、酢酸エチル10mlずつで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を0.1vol%ギ酸に溶かし、正確に1mlとしたものを試験溶液とする。

5. 操作方法

a 検量線の作成

各標準品の0.1vol%ギ酸の溶液を数点調製し、それぞれ液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。なお、本法に従って試験溶液を調製した場合、イプロニダゾール、イプロニダゾール代謝物B、メトロニダゾール及びメトロニダゾール代謝物Aにあっては、試料中0.0001mg/kgに相当する試験溶液中濃度は0.0001mg/lである。同様に、ジメトリダゾール、ロニダゾール及びHMMN Iにあっては、試料中0.0002mg/kgに相当する試験溶液中濃度は0.0002mg/lである。

b 定量

試験溶液を液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計に注入し、a 検量線の作成により各分析対象化合物の定量を行う。

c 確認試験

液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計により確認する。

d 測定条件

(例)

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル 内径3mm, 長さ150mm, 粒子径3 μ m

カラム温度：40℃

移動相：0.1vol%ギ酸（A液）及び0.1vol%ギ酸・アセトニトリル溶液（B液）を、下表の濃度勾配で送液する。

時間 (分)	A液 (%)	B液 (%)
0	98	2
5	90	10
15	5	95
20	5	95

イオン化モード：エレクトロスプレーイオン化法 ポジティブイオンモード

主なイオン (m/z)

イプロニダゾール：プリカーサーイオン 170, プロダクトイオン 124, 109

イプロニダゾール代謝物B：プリカーサーイオン 186, プロダクトイオン 168, 122

ジメトリダゾール：プリカーサーイオン 142, プロダクトイオン 96, 95

メトロニダゾール：プリカーサーイオン 172, プロダクトイオン 128, 82

メトロニダゾール代謝物A：プリカーサーイオン 188, プロダクトイオン 126, 123

ロニダゾール：プリカーサーイオン 201, プロダクトイオン 140, 55

HMMN I：プリカーサーイオン 158, プロダクトイオン 94, 55

注入量：5 μ l

保持時間の目安

イプロニダゾール：15分

イプロニダゾール代謝物B：13分

ジメトリダゾール：12分

メトロニダゾール：11分

メトロニダゾール代謝物A：11分

ロニダゾール：12分

HMMN I：11分

クロラムフェニコール試験法（案）

クロラムフェニコールは、ポジティブリスト制度導入時に、食品中に「不検出」とする農薬等の成分である物質として新たに定められた。この見直しが平成 26 年に行われ、食品安全委員会による食品健康影響評価において「遺伝毒性を有しているものと考えられること、発がん性を有する可能性が否定できないこと及びヒトでは用量相関性のない再生不良性貧血に関連していると考えられることから、一日摂取許容量を設定することは適当でない。」と評価された。

この評価結果をふまえ、平成 26 年 10 月に、薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会において、引き続き「食品に含有されるものであってはならない」（以下「不検出基準」という。）とすることとされ、規制対象がクロラムフェニコール及びクロラムフェニコールグルクロン酸抱合体に変更となった。

従来、不検出基準を含む農薬等については、試験法の検出限界により規制が行われることから、規格基準の改正と同時に試験法を告示し、併せてその検出限界が別途通知されているところである。

既存試験法はクロラムフェニコールのみを分析対象として開発されたものであり、クロラムフェニコールグルクロン酸抱合体を分析対象としてその試験法の性能が評価されたものではない。そのため、試験法について開発が進められてきたが、今般、その開発が終了したため、同試験法について審議するものである。

1. 概要

(1) 分析対象の化合物

クロラムフェニコール及びクロラムフェニコールグルクロン酸抱合体

(2) 分析対象食品

畜水産物

(3) 試験法の概要

クロラムフェニコール及びクロラムフェニコールグルクロン酸抱合体を試料からメタノールで抽出する。クロラムフェニコールグルクロン酸抱合体を β -グルクロニダーゼで加水分解してクロラムフェニコールに変換した後、酢酸エチルに転溶する。ジビニルベンゼン-*g*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムで精製した後、液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計で定量及び確認する方法である。

(4) 検出限界 0.0005 mg/kg（ローヤルゼリーは0.005 mg/kg）

2. 真度及び精度の評価

以下の食品を対象として真度及び併行精度の確認を実施した。

牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、牛乳、鶏卵、うなぎ、しじみ、はちみつ及び
ローヤルゼリー（生及び乾燥）

表 検討結果の真度及び併行精度

		検討結果	目標値
真度	親化合物	84～109%	70～120%
	抱合体	79～104%	
併行精度	親化合物	2～5%	30%未満
	抱合体	3～6%	

3. 答申案

別紙のとおり。

(参考) これまでの経緯

- 平成17年11月29日 残留基準告示
- 平成23年 1月24日 厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請
- 平成26年 3月 3日 食品安全委員会から委員長から厚生労働大臣あてに食品健康影響評価について通知
- 平成26年 7月31日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会
- 平成26年10月21日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
- 平成28年 3月10日 残留農薬等公示分析法検討会で検討
- 平成28年 5月17日 薬事・食品衛生審議会へ諮問
- 平成28年 5月18日 厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに告示試験法改定に係る食品健康影響評価について照会
- 平成28年 5月24日 食品安全委員会委員長から厚生労働大臣あてに回答について通知
- 平成28年 5月27日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

● 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

[委員]

- 穂山 浩 国立医薬品食品衛生研究所食品部長
- 石井 里枝 埼玉県衛生研究所化学検査室長
- 大野 泰雄 公益財団法人木原記念横浜生命科学振興財団理事長
- 尾崎 博 東京大学大学院農学生命科学研究科獣医薬理学教室教授
- 斉藤 貢一 星薬科大学薬品分析化学教室教授
- 佐々木 一昭 東京農工大学大学院農学研究院動物生命科学部門准教授
- 佐藤 清 一般財団法人残留農薬研究所技術顧問
- 佐野 元彦 東京海洋大学海洋生物資源学部門教授
- 永山 敏廣 明治薬科大学薬学部薬学教育研究センター基礎薬学部門教授
- 根本 了 国立医薬品食品衛生研究所食品部第一室長
- 二村 睦子 日本生活協同組合連合会組織推進本部組合員活動部部长
- 宮井 俊一 一般社団法人日本植物防疫協会技術顧問
- 由田 克士 大阪市立大学大学院生活科学研究科公衆栄養学教授
- 吉成 浩一 静岡県立大学薬学部衛生分子毒性学分野教授
- 鰐淵 英機 大阪市立大学大学院医学研究科分子病理学教授

(○：部会長)

答申(案)

クロラムフェニコール試験法

クロラムフェニコール及びクロラムフェニコールグルクロン酸抱合体を分析対象とする。

1. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計

2. 試薬、試液

次に示すもの以外は、第2 添加物の部 C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

アセトニトリル 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害となる物質を含まないものを用いる。

酢酸エチル 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害となる物質を含まないものを用いる。
ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム (500mg) 内径12~13mm
のポリエチレン製のカラム管に、ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体
500mgを充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

メタノール 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害となる物質を含まないものを用いる。

水 蒸留水、精製水あるいは純水などの化学分析に適したものを用いる。当該農薬等の成分
である物質の分析の妨害物質を含む場合には、n-ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用
いる。

β -グルクロニダーゼ (タイプ I X-A) *Escherichia coli* 由来の β -グルクロニダーゼ
タイプ I X-Aを用いる。本品の1単位は、フェノールフタレイン β -D-グルクロニ
ドを基質として、pH6.8, 37°Cにおいて1時間に1.0 μ gのフェノールフタレインを生成する
酵素量とする。

β -グルクロニダーゼ溶液 β -グルクロニダーゼ (タイプ I X-A) を0.1mol/l リン酸緩
衝液 (pH6.8) に溶解して、1,500単位/mlとなるように調製する。用時調製する。

0.1mol/l リン酸緩衝液 (pH6.8) 第1液: リン酸二水素カリウム1.36gを量り、水を加えて
溶かし正確に100mlとする。第2液: リン酸水素二ナトリウム1.42gを量り、水を加えて溶
かし正確に100mlとする。第1液に第2液を加えて混和し、pHを6.8に調整する。

3. 標準品

クロラムフェニコール標準品 本品はクロラムフェニコール98%以上を含む。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法

筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び魚介類等の場合は、検体を細切均一化した後、試料 10.0g を
量り採る。乳、卵、はちみつ及びローヤルゼリーの場合は、検体をよく混合して均一化した
後、試料 10.0g を量り採る。ローヤルゼリー (乾燥) は、検体をよく混合して均一化した後、
試料 5.00g を量り採り、水 10ml を加えて 30 分間放置する。

これにメタノール 50ml を加え、ホモジナイズした後、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離

し、上澄液を採る。残留物にメタノール 30ml を加えてホモジナイズした後、上記と同様に遠心分離する。得られた上澄液を合わせ、メタノールで正確に 100ml とする。この溶液から正確に 4ml を分取し、40℃以下で溶媒を除去する。この残留物に 0.1mol/l リン酸緩衝液 (pH6.8) 9ml を加えて、超音波処理を行いよく混合する。

b 加水分解

a で得られた溶液にβ-グルクロニダーゼ溶液1mlを加え、37℃で60分間加温する。加水分解後の溶液に酢酸エチル10mlを加え振とう抽出する。毎分3,000回転で5分間遠心分離し、酢酸エチル層を採る。水層に酢酸エチル10mlを加えて振とう抽出した後、上記と同様に遠心分離する。得られた酢酸エチル層を合わせ、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に水及びメタノール (1:1) 混液5mlを加え、超音波処理を行いよく混合する。

c 精製法

ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム (500 mg) にメタノール 5ml, 水及びメタノール (1:1) 混液5mlを順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに b で得られた溶液5mlを注入した後、水及びメタノール (1:1) 混液5mlを注入し、流出液は捨てる。次いで、水及びメタノール (1:4) 混液10mlを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトニトリル及び水 (3:7) 混液に溶かし、正確に 2mlとし、ローヤルゼリー (乾燥) にあっては正確に1mlとしたものを試験溶液とする。

5. 操作方法

a 検量線の作成

クロラムフェニコール標準品のアセトニトリル及び水 (3:7) 混液の溶液を数点調製し、それぞれ液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。なお、本法に従って試験溶液を調製した場合、試料中0.0005mg/kg に相当する試験溶液の濃度は、0.0001mg/l である。

b 定量

試験溶液を液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計に注入し、a 検量線の作成によりクロラムフェニコールの定量を行う。

c 確認試験

液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計により確認する。

d 測定条件

(例)

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル 内径2.1mm, 長さ150mm, 粒子径3µm

カラム温度：40℃

移動相：アセトニトリル及び10 mmol/l 酢酸アンモニウム溶液 (3:7) 混液

イオン化モード：エレクトロスプレーイオン化法 ネガティブイオンモード

主なイオン (m/z)

プリカーサーイオン321, プロダクトイオン152

プリカーサーイオン323, プロダクトイオン152
注入量：5 μ l
保持時間の目安：4分

カプタホール試験法（案）

カプタホールは、ポジティブリスト制度導入時に、食品中に「不検出」とする農薬等の成分である物質として新たに定められた。

従来、不検出基準を含む農薬等については、試験法の検出限界により規制が行われることから、規格基準の改正と同時に試験法を告示し、併せてその検出限界が別途通知されているところである。当該成分の試験法については、厚生省告示第370号において示されているが、この試験法は農産物に特化して開発されたものであり、畜水産物の全般に渡ってその試験法の性能が評価されたものではなかった。

そのため、畜水産物を対象としたカプタホールの試験法について開発が進められてきたところ、今般、その開発が終了したため、同試験法について審議するものである。

1. 概要

(1) 分析対象の化合物

カプタホール

(2) 分析対象食品

畜水産物

(3) 試験法の概要

試料からリン酸酸性下アセトンで抽出し、*n*-ヘキサンに転溶する。アセトニトリル/*n*-ヘキサン分配で脱脂した後、合成ケイ酸マグネシウムミニカラムで精製する。さらにグラファイトカーボンミニカラムで精製後、電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフで定量及び確認する方法である。

(4) 検出限界 0.01 mg/kg

2. 真度及び精度の評価

以下の食品を対象として真度及び併行精度の確認を実施した。

牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、えび、さけ、うなぎ、しじみ、牛乳、鶏卵及びはちみつ

表 検討結果の真度及び併行精度

	検討結果	目標値
真度	89~112%	70~120%
併行精度	2~6%	15%未満

3. 答申案

別紙のとおり。

(参考) これまでの経緯

平成17年11月29日 残留基準告示

平成27年 3月

～平成27年12月 残留農薬等公示分析法検討会で随時検討

平成28年 5月17日 薬事・食品衛生審議会へ諮問

平成28年 5月18日 厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに告示試験法改定に係る食品健康影響評価について照会

平成28年 5月24日 食品安全委員会委員長から厚生労働大臣あてに回答について通知

平成28年 5月27日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

● 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

[委員]

穂山 浩	国立医薬品食品衛生研究所食品部長
石井 里枝	埼玉県衛生研究所化学検査室長
○大野 泰雄	公益財団法人木原記念横浜生命科学振興財団理事長
尾崎 博	東京大学大学院農学生命科学研究科獣医薬理学教室教授
斉藤 貢一	星薬科大学薬品分析化学教室教授
佐々木 一昭	東京農工大学大学院農学研究院動物生命科学部門准教授
佐藤 清	一般財団法人残留農薬研究所技術顧問
佐野 元彦	東京海洋大学海洋生物資源学部門教授
永山 敏廣	明治薬科大学薬学部薬学教育研究センター基礎薬学部門教授
根本 了	国立医薬品食品衛生研究所食品部第一室長
二村 睦子	日本生活協同組合連合会組織推進本部組合員活動部部長
宮井 俊一	一般社団法人日本植物防疫協会技術顧問
由田 克士	大阪市立大学大学院生活科学研究科公衆栄養学教授
吉成 浩一	静岡県立大学薬学部衛生分子毒性学分野教授
鰐淵 英機	大阪市立大学大学院医学研究科分子病理学教授

(○：部会長)

答申(案)

カプタホール試験法（畜水産物）

1. 装置

電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフを用いる。

2. 試薬、試液

次に示すもの以外は、第2 添加物の部C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

アセトニトリル 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

アセトン 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

エーテル ジエチルエーテル。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

塩化ナトリウム 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

グラファイトカーボンミニカラム（250mg）内径8～9mmのポリエチレン製のカラム管に、グラファイトカーボン250mgを充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

合成ケイ酸マグネシウムミニカラム（910mg）内径8～9mmのポリエチレン製のカラム管に、合成ケイ酸マグネシウム910mgを充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

酢酸エチル 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

n-ヘキサン 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

水 蒸留水、精製水、純水等の化学分析に適したものを用いる。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、n-ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

無水硫酸ナトリウム 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

3. 標準品

カプタホール標準品 本品はカプタホール 97%以上を含む。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法

① 筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び魚介類の場合

脂肪の場合は、分解をできるだけ避けるために包丁などで検体を細切均一化した後、その5.00gを量り採る。

脂肪以外の場合は、分解をできるだけ避けるために包丁などで検体を細切均一化した

後、その10.0gを量り採る。しじみなどの一固体が小さいものは、検体を正確に量り、重量比で1/2量の10vol%リン酸溶液を加え、磨砕均一化した後、検体10.0gに相当する量を量り採る。

これに3vol%リン酸溶液20ml（しじみなどの場合は水10ml）及びアセトン100mlを加え、細砕した後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50mlを加えて細砕した後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、40℃以下で約20mlまで濃縮する。これに10w/v%塩化ナトリウム溶液100mlを加え、n-ヘキサン100ml及び50mlで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にn-ヘキサン30mlを加え、n-ヘキサン飽和アセトニトリル30mlずつで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン及びn-ヘキサン（1：1）混液を加えて溶かし、正確に20mlとする。この溶液から正確に2ml（脂肪の場合は正確に4ml）を分取し、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にエーテル及びn-ヘキサン（1：4）混液5mlを加えて溶かす。

② 乳、卵及びはちみつの場合

検体を均一化した後、その10.0gを量り採る。これに3vol%リン酸溶液20ml及びアセトン100mlを加え、細砕した後、毎分3,000回転で5分間遠心分離し、上澄液を採る。残留物にアセトン50ml（はちみつの場合は水20ml及びアセトン50ml）を加えて細砕した後、上記と同様に遠心分離し、得られた上澄液を合わせ、40℃以下で約20ml（はちみつの場合は約50ml）まで濃縮する。これに10w/v%塩化ナトリウム溶液100mlを加え、n-ヘキサン100ml及び50mlで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にn-ヘキサン30mlを加え、n-ヘキサン飽和アセトニトリル30mlずつで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン及びn-ヘキサン（1：1）混液を加えて溶かし、正確に20mlとする。この溶液から正確に2mlを分取し、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にエーテル及びn-ヘキサン（1：4）混液5mlを加えて溶かす。

b 精製法

① 合成ケイ酸マグネシウムカラムクロマトグラフィー

合成ケイ酸マグネシウムミニカラム（910mg）にn-ヘキサン5mlを注入し、流出液は捨てる。このカラムにa 抽出法で得られた溶液を注入した後、エーテル及びn-ヘキサンの混液（1：4）5mlを注入し、流出液は捨てる。次いで、酢酸エチル及びn-ヘキサン（1：9）混液30mlを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトニトリル5mlを加えて溶かす。

② グラファイトカーボンカラムクロマトグラフィー

グラファイトカーボンミニカラム（250mg）にアセトニトリル5mlを注入し、流出液は捨てる。このカラムに①合成ケイ酸マグネシウムカラムクロマトグラフィーで得られた

アセトニトリル溶液を注入した後、アセトニトリル15mlを注入し、全溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をn-ヘキサンに溶かし、正確に2mlとしたものを試験溶液とする。

5. 操作方法.

a 検量線の作成

カプタホール標準品をアセトンに溶解して500 mg/lとし標準原液とする。標準原液1mlをアセトンで25mlに定容し、20mg/l溶液（アセトン）を調製する。この溶液をn-ヘキサンで希釈した溶液を数点調製し、それぞれ電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。なお、本法に従って試験溶液を調製した場合、試料中0.01ppmに相当する試験溶液中濃度は0.005mg/lである。

b 定量試験

試験溶液を電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入し、aの検量線の作成によりカプタホールの定量を行う。

c 確認試験

電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフにより確認する。

d 測定条件

(例)

定量用

カラム：5%フェニル-メチルシリコン 内径0.25mm, 長さ30m, 膜厚0.25 μ m

カラム温度：50℃ (1分) -25℃/分-125℃-10℃/分-300℃ (5分)

試験溶液注入口温度：230℃

検出器 300℃

ガス流量 キャリヤーガスとしてヘリウムを用いる。流速を至適条件に調整する。

注入量：1 μ l

保持時間の目安：18分

確認用

カラム：35%フェニル-メチルシリコン 内径0.25mm, 長さ30m, 膜厚0.25 μ m

保持時間の目安：19分

他の条件は定量用と同じ。