

生食基発 0223 第 4 号
平成 29 年 2 月 23 日

各 検疫所長 殿

厚生労働省医薬・生活衛生局
生活衛生・食品全部基準審査課長
(公 印 省 略)

食品、添加物等の規格基準に定められた食品に
残留する農薬等の試験法における留意事項について

食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件（平成 28 年厚生労働省告示第 196 号及び平成 29 年厚生労働省告示第 49 号）が昨年 4 月 4 日及び本日公布されたことから、試験を実施するに際しての留意事項を別添のとおり通知します。

試験実施に際しての留意事項

1. プロチゾラム試験法

(1) 分析対象化合物

プロチゾラム

(2) 分析対象食品

畜水産物

(3) 留意事項

1) 試験法の概要

プロチゾラムを試料からアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液で抽出 (乳、卵及びはちみつの場合はアセトニトリルで抽出) し、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム及びトリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲル/エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムで精製し (筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び魚介類の場合は精製前に酢酸エチルへの転溶及びアセトニトリル/*n*-ヘキサン分配での脱脂を追加する)、液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計 (LC-MS/MS) で定量及び確認する方法である。

2) 注意点

- ① プロチゾラムの LC-MS/MS 測定で、試験法開発時に使用したイオンを以下に示す。

定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン 395、プロダクトイオン 314

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 395、プロダクトイオン 316

- ② 試験法開発時に検討した食品 : 牛の筋肉・脂肪・肝臓・乳、しじみ、豚の筋肉、鶏卵、さけ、はちみつ (百花蜜)、うなぎ

2. 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

(1) 分析対象化合物

イプロニダゾール : イプロニダゾール及び 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 : ジメトリダゾール及び 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 : メトロニダゾール及び 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 : ロニダゾール及び HMMNI

(2) 分析対象食品

畜水産物

(3) 留意事項

1) 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、LC-MS/MS で定量及び確認する方法である。

2) 注意点

- ① 各分析対象化合物の LC-MS/MS 測定で、試験法開発時に使用したイオンを以下に示す。

イプロニダゾール

定量イオン (m/z): プリカーサーイオン 170、プロダクトイオン 124

定性イオン (m/z): プリカーサーイオン 170、プロダクトイオン 109

イプロニダゾール代謝物 B

定量イオン (m/z): プリカーサーイオン 186、プロダクトイオン 122

定性イオン (m/z): プリカーサーイオン 186、プロダクトイオン 168

ジメトリダゾール

定量イオン (m/z): プリカーサーイオン 142、プロダクトイオン 95

定性イオン (m/z): プリカーサーイオン 142、プロダクトイオン 96

メトロニダゾール

定量イオン (m/z): プリカーサーイオン 172、プロダクトイオン 82

定性イオン (m/z): プリカーサーイオン 172、プロダクトイオン 128

メトロニダゾール代謝物 A

定量イオン (m/z): プリカーサーイオン 188、プロダクトイオン 123

定性イオン (m/z): プリカーサーイオン 188、プロダクトイオン 126

ロニダゾール

定量イオン (m/z): プリカーサーイオン 201、プロダクトイオン 140

定性イオン (m/z): プリカーサーイオン 201、プロダクトイオン 55

HMMNI

定量イオン (m/z): プリカーサーイオン 158、プロダクトイオン 94

定性イオン (m/z): プリカーサーイオン 158、プロダクトイオン 55

- ② 試験法開発時に検討した食品: 牛の筋肉・脂肪・肝臓・乳、鶏の筋肉・卵、さけ、うなぎ、しじみ及びはちみつ (そばはちみつ)

3. カプタホール試験法

(1) 分析対象化合物

カプタホール

(2) 分析対象食品

畜水産物

(3) 留意事項

1) 試験法の概要

キャプタン及びクロロタロニルも同時に分析可能な方法である。

カプタホール、キャプタン及びクロロタロニルを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/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。カプタホール及びキャプタンについては、更にグラファイトカーボンミニカラムで精製する。カプタホール及びキャプタンについては電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ (GC-ECD) で定量及び確認し、クロロタロニルについてはガスクロマトグラフ・質量分析計 (GC-MS) で定量及び確認する方法である。

2) 注意点

- ① カプタホール、キャプタン及びクロロタロニルは、試料中で分解されるため、リン酸酸性条件下で抽出を行う必要がある。
- ② 試料調製中の分解をできるだけ避けるために、検体を包丁などで細切したものを試料として用いる。
- ③ 試験法開発時に検討した食品：牛の筋肉・脂肪・肝臓・乳、鶏卵、さけ、うなぎ、えび、しじみ及びはちみつ
- ④ キャプタン及びクロロタロニル試験法については、平成 28 年 4 月 4 日付け生食発第 0404 第 5 号医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部長通知「キャプタン及びクロロタロニル試験法 (畜水産物)」を参照すること。

4. クロラムフェニコール試験法

(1) 分析対象化合物

クロラムフェニコール

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) 留意事項

1) 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-*N*-ビリルピロリドン共重合体ミニカラムで精製した後、LC-MS/MS で定量及び確認する方法である。

2) 注意点

- ① 試験溶液の調製の a 抽出法の項により得られる溶液は、食品の種類によっては、完全に溶解せずに白濁する場合がある。このため、超音波処理により十分に懸濁させてから加水分解の操作を行う。
- ② 試験溶液の調製の b 加水分解の項により得られる溶液は、食品の種類によっては、完全に溶解せずに白濁する場合がある。このため、超音波処理により十分に懸濁させてからミニカラムに負荷する。
- ③ β -グルクロニダーゼは、試験実施前に次の手順で定量を妨害するピークがないことを確認すること。

150 単位/mL となるように水で調製した β -グルクロニダーゼ溶液 10mL に酢酸エチル 10 mL を加えて振とう抽出する。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 10 mL 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°C 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 2 mL としたものを試験溶液とする。

- ④ 試験法開発時に使用した β -グルクロニダーゼでは、pH6.8 (0.1 mol/L リン酸緩衝液、37°C で加水分解を行った。使用する β -グルクロニダーゼの至適 pH 又は至適温度が上記と異なる場合には、加水分解を行う pH (緩衝液の種類の変更を含む) 及び温度を適宜変更しても良い。
- ⑤ 加水分解操作については、クロラムフェニコールグルクロン酸抱合体標準品を用いて、加水分解が十分に行われていることを確認する。また、加水分解に用いる酵素濃度及び加温時間は、適宜変更しても良い。
- ⑥ 加水分解反応は、振とう機等を用いて、水浴中で緩やかに振とうしながら行う。
- ⑦ クロラムフェニコールの LC-MS/MS 測定で、試験法開発時に使用したイオンを以下に示す。
定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン 321、プロダクトイオン 152
定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 323、プロダクトイオン 152
- ⑧ 試験法開発時に検討した食品 : 牛の筋肉・脂肪・肝臓・乳、鶏卵、はちみつ (そばはちみつ)、うなぎ、しじみ、ローヤルゼリー及びローヤルゼリー (乾燥)

※ 検体から試験に用いる試料を採取するに当たっては、別に規定する場合を除き、「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について」(平成 17 年 1 月 24 日付け食安発第 0124001 号医薬食品局食品安全部長通知) の第 1 章総則の 4. 試料採取に従うこととする。