

令和3年6月28日

薬事・食品衛生審議会
食品衛生分科会長 村田 勝敬 殿

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
農薬・動物用医薬品部会長 穂山 浩

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
農薬・動物用医薬品部会報告について

令和3年5月25日付け厚生労働省発生食0525第9号をもって諮問された、食品衛生法（昭和22年法律第233号）第13条第1項の規定に基づくゲンチアナバイオレット試験法に係る規格基準の設定について、当部会で審議を行った結果を別添のとおり取りまとめたので、これを報告する。

ゲンチアナバイオレット試験法

ゲンチアナバイオレットは、食品安全委員会による食品健康影響評価において、ゲンチアナバイオレットが生体にとって問題となる遺伝毒性を示す可能性を否定できず、ロイコゲンチアナバイオレットが発がん性を有する可能性を否定できないことから、ADIを設定すべきでないとして評価された。

この評価結果を踏まえ、令和2年12月4日に開催された薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会において、食品において「不検出」とされる農薬等の成分である物質とすることとされ、規制対象はゲンチアナバイオレット及びロイコゲンチアナバイオレットとされた。

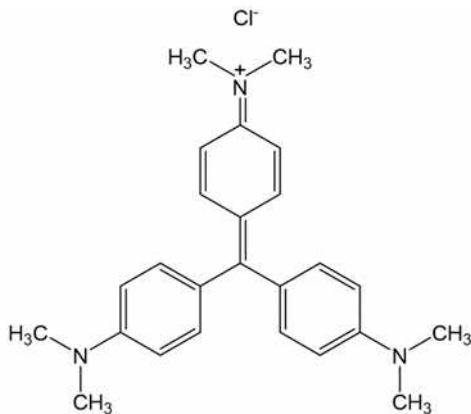
食品において「不検出」とされる農薬等の成分である物質にかかる規格基準の適否は、規定された試験法で試験した場合の検出の有無により判断されることから、規格基準の改正と同時に試験法も告示し、併せてその検出限界が別途通知されているところである。

そのため、ゲンチアナバイオレット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。

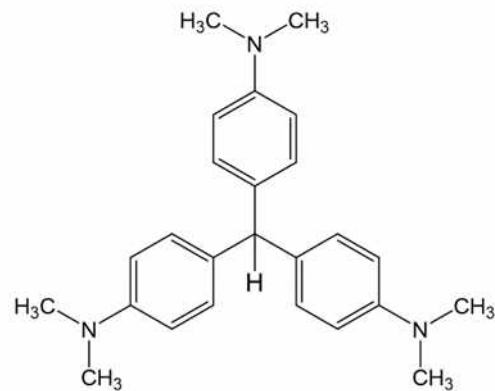
1. 概要

(1) 分析対象の化合物

ゲンチアナバイオレット及びロイコゲンチアナバイオレット



ゲンチアナバイオレット



ロイコゲンチアナバイオレット

(2) 分析対象食品

畜水産物

(3) 試験法の概要

ゲンチアナバイオレット及びロイコゲンチアナバイオレットをジブチルヒドロキソトルエン・エタノール溶液及びクエン酸溶液を加えて磨砕均一化した試料からアセトン

で抽出する。スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム及び4級アンモニウム塩修飾ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムで精製し、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 0.002 mg/kg

2. 真度及び精度の評価

以下の食品を対象として添加回収試験（添加濃度 0.002 ppm）を行い、真度及び併行精度の確認を実施した。

表1 ゲンチアナバイオレットの検討結果の真度及び併行精度（試行数5で実施）

食品	残留基準 (ppm)	添加濃度 (ppm)	真度 ^{注1)} (%)	併行精度 ^{注2)} (RSD%)
どじょう	不検出	0.002	90	7
なまず	不検出	0.002	92	8
うなぎ	不検出	0.002	75	6
しじみ	不検出	0.002	74	3
さけ	不検出	0.002	84	4
えび	不検出	0.002	77	5
牛の筋肉	不検出	0.002	77	6
牛の脂肪	不検出	0.002	76	5
牛の肝臓	不検出	0.002	84	10

注1) 目標値は70~120%

注2) 目標値は25%未満

表2 ロイコゲンチアナバイオレットの検討結果の真度及び併行精度（試行数5で実施）

食品	残留基準 (ppm)	添加濃度 (ppm)	真度 ^{注1)} (%)	併行精度 ^{注2)} (RSD%)
どじょう	不検出	0.002	83	7
なまず	不検出	0.002	90	6
うなぎ	不検出	0.002	93	4
しじみ	不検出	0.002	82	6
さけ	不検出	0.002	77	7
えび	不検出	0.002	81	5
牛の筋肉	不検出	0.002	79	14
牛の脂肪	不検出	0.002	76	4
牛の肝臓	不検出	0.002	99	11

注 1) 目標値は 70～120%

注 2) 目標値は 25%未満

3. 答申案

別紙のとおり。

(参考)これまでの経緯

【ゲンチアナバイオレット】

- 平成25年 1月30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30年11月27日 食品安全委員会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
- 令和 2年10月26日 薬事・食品衛生審議会へ諮問
- 令和 2年12月 4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

【ゲンチアナバイオレット試験法】

- 令和 2年 7月22日 残留農薬等試験法評価会議で検討
- 令和 3年 5月25日 薬事・食品衛生審議会へ諮問
- 令和 3年 5月18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
- 令和 3年 5月19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
- 令和 3年 5月25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

● 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 学校法人星薬科大学薬学部薬品分析化学研究室教授
石井 里枝 埼玉県衛生研究所副所長（兼）食品微生物検査室長
井之上 浩一 学校法人立命館立命館大学薬学部薬学科臨床分析化学研究室教授
大山 和俊 一般財団法人残留農薬研究所化学部長
折戸 謙介 学校法人麻布獣医学園理事（兼）麻布大学獣医学部生理学教授
加藤 くみ子 学校法人北里研究所北里大学薬学部分析化学教室教授
魏 民 公立大学法人大阪大阪市立大学大学院医学研究科
環境リスク評価学准教授
佐藤 洋 国立大学法人岩手大学農学部共同獣医学科比較薬理毒性学研究室教授
佐野 元彦 国立大学法人東京海洋大学学術研究院海洋生物資源学部門教授
須恵 雅之 学校法人東京農業大学応用生物科学部農芸化学科
生物有機化学研究室准教授
瀧本 秀美 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所
国立健康・栄養研究所栄養疫学・食育研究部長
中島 美紀 国立大学法人金沢大学ナノ生命科学研究所
薬物代謝安全性学研究室教授
永山 敏廣 学校法人明治薬科大学薬学部特任教授
根本 了 国立医薬品食品衛生研究所食品部第一室長
野田 隆志 一般社団法人日本植物防疫協会信頼性保証室付技術顧問
二村 睦子 日本生活協同組合連合会常務執行役員

(○：部会長)

答申（案）

ゲンチアナバイオレット試験法（畜水産物）

ゲンチアナバイオレット及びロイコゲンチアナバイオレットを分析対象とする。

1. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計を用いる。

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。

なお、「（特級）」と記載したものは、日本産業規格試薬の特級の規格に適合するものであることを示す。

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。

ギ酸アンモニウム ギ酸アンモニウム（特級）

クエン酸（無水） クエン酸（無水）（特級）

スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体カラム（500mg） 内径12~13mmのポリエチレン製のカラム管に、スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体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。

四級アンモニウム塩修飾ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体カラム（150mg） 内径12~13mmのポリエチレン製のカラム管に、四級アンモニウム塩修飾ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体150mg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。

50mmol/Lギ酸アンモニウム緩衝液（pH3.5） ギ酸アンモニウム3.15gを量り、水990mLを加えて溶かし、ギ酸でpH3.5に調整した後、水を加えて1,000mLとする。

3. 標準品

ゲンチアナバイオレット標準品 本品はゲンチアナバイオレット90%以上を含む。

ロイコゲンチアナバイオレット標準品 本品はロイコゲンチアナバイオレット98%以上を含む。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法

試料を正確に量り、重量比で1/2量の15w/w%ジブチルヒドロキシトルエン・エタノール溶液及び重量比で1/2量の50w/w%クエン酸溶液をそれぞれ加え磨砕均一化した後、試料10.0g（脂肪の場合は5.00g）に相当する量を量り採る。アセトン100mLを加え、ホモジナイズした後、ガラス繊維ろ紙を用いて吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンを加えて正確に200mLとする。この溶液から正確に1mL（脂肪の場合は2mL）を分取する。

b 精製法

スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム（500mg）に、アセトニトリル及び2vol%ギ酸各5mLを順次注入し、各流出液は捨てる。四級アンモニウム塩修飾ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム（150mg）に、アセトニトリル及びアン

モニア水（9：1）混液5 mLを注入し、流出液は捨てる。a 抽出法で得られた分取液に2 vol%ギ酸4 mLを加え、スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムに注入した後、アセトニトリル5 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、このカラムの下部に四級アンモニウム塩修飾ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムを接続し、アセトニトリル及びアンモニア水（9：1）混液10 mLを注入し、溶出液を採り、アセトニトリル及びアンモニア水（9：1）混液を加えて正確に10 mLとしたものを試験溶液とする。

5. 操作法

a 検量線の作成

ゲンチアナバイオレット標準品及びロイコゲンチアナバイオレット標準品をそれぞれメタノールに溶かして100 mg/Lとし標準原液とする。各標準原液を適宜混合してアセトニトリル及びアンモニア水（9：1）混液で希釈した溶液を数点調製し、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、4. 試験溶液の調製に従って試験溶液を調製した場合、試料中0.002 mg/kgに相当する試験溶液中濃度は0.00001 mg/Lである。

b 定量試験

試験溶液を液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計に注入し、a 検量線の作成によりゲンチアナバイオレット及びロイコゲンチアナバイオレットの定量を行う。

c 確認試験

液体クロマトグラフ・タンデム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2.1 mm、長さ150 mm、粒子径5 μ m

カラム温度：40°Cに保持する。

移動相：アセトニトリル及び50 mmol/Lギ酸アンモニウム緩衝液（pH3.5）混液（3：7）から（9：1）までの濃度勾配を15分間で行い（9：1）で10分間保持する。

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）：

ゲンチアナバイオレット プリカーサーイオン372、プロダクトイオン356、340

ロイコゲンチアナバイオレット プリカーサーイオン374、プロダクトイオン358、238

注入量：10 μ L

保持時間の目安：

ゲンチアナバイオレット 10分

ロイコゲンチアナバイオレット 15分