

資料 1
------

2022年9月28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の設定について

- ・ 酢酸トレンボロン試験法…………… 3
- ・ ニタルソン及びロキササルソン試験法…………… 9
- ・ ニフルスチレン酸ナトリウム試験法…………… 15

## 酢酸トレンボロン試験法

酢酸トレンボロンについて、食品安全委員会が食品健康影響評価を行い、許容一日摂取量として0.00002 mg/kg 体重/日を設定した。

この評価結果を踏まえ、令和3年1月22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、ポジティブリスト制度導入時に設定された基準値（いわゆる暫定基準）の見直しを行い、海外で使用が認められている牛の食用組織に基準値を設定するとともに、残留基準値を設定しない畜産物、魚介類及びはちみつについては「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。）とされた。

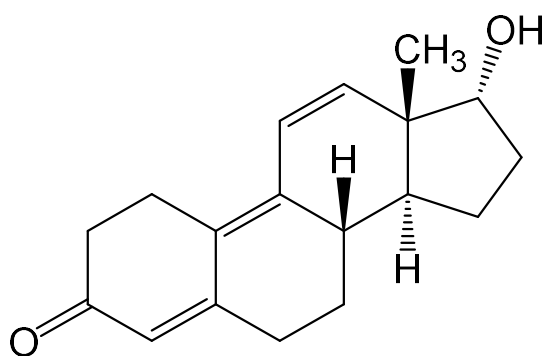
不検出基準を含む動物用医薬品等については、試験法の検出限界により規制が行われることから、規格基準の改正と同時に試験法を告示し、併せてその検出限界が別途通知されているところである。（ここでいう検出限界とは、適切な精確さをもって定量できることが確認された分析対象化合物の最低量又は濃度と定義している（平成27年2月20日付け食安発0220第1号食品衛生法施行規則の一部を改正する省令及び食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件について））。

酢酸トレンボロンについては、すでに規格基準及び試験法の告示がされているが、既存の試験法において有害性の高い試薬（ジクロロメタン及びベンゼン）が使用されていることから、当該試薬を使用しない試験法について開発を進めていたところ、今般その開発が終了したため、当該試験法について審議するものである。

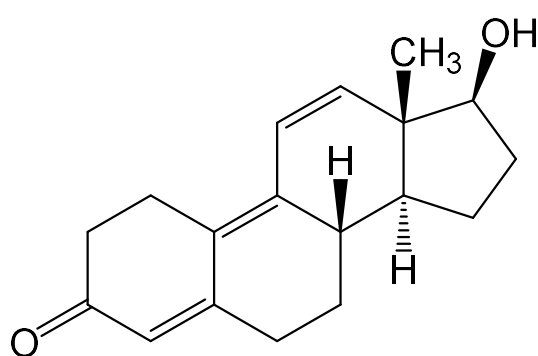
### 1. 概要

#### (1) 分析対象の化合物

$\alpha$ -トレンボロン及び $\beta$ -トレンボロン



$\alpha$ -トレンボロン



$\beta$ -トレンボロン

(2) 分析対象食品  
畜産物

(3) 試験法の概要

$\alpha$ -トレンボロン及び $\beta$ -トレンボロンを、*n*-ヘキサン及び無水硫酸ナトリウム存在下、アセトニトリルで抽出する。酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：4）混液に転溶した後、シリカゲルミニカラムで精製し、2-フルオロ-1-メチルピリジニウムで誘導体化後、液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計で定量及び確認する方法である。

(4) 検出限界 各化合物 0.001 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0.001～0.01 ppm）を行い、真度及び併行精度の確認を実施した。

表 1.  $\alpha$ -トレンボロン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 <sup>注1)</sup> (%)	併行精度 <sup>注2)</sup> (RSD%)
牛の筋肉	0.002	0.002	81.3	0.6
		0.001	83.7	1.6
牛の脂肪	0.002	0.002	78.4	0.7
		0.001	78.9	2.5
牛の肝臓	0.01	0.01	78.7	1.5
		0.001	81.2	1.5
牛乳	不検出	0.001	78.4	0.4
豚の筋肉	不検出	0.001	78.6	1.4
豚の脂肪	不検出	0.001	80.8	1.1
豚の肝臓	不検出	0.001	79.6	0.4

注1) 目標値は70～120%

注2) 目標値は、添加濃度0.01及び0.002 ppmにあつては25%未満、添加濃度0.001 ppmにあつては30%未満

表 2.  $\beta$ -トレンボロン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 <sup>注1)</sup> (%)	併行精度 <sup>注2)</sup> (RSD%)
牛の筋肉	0.002	0.002	81.6	0.7
		0.001	83.9	0.8
牛の脂肪	0.002	0.002	74.5	0.9
		0.001	76.6	3.0
牛の肝臓	0.01	0.01	81.4	1.5
		0.001	83.1	1.4
牛乳	不検出	0.001	76.4	0.6
豚の筋肉	不検出	0.001	80.7	1.2
豚の脂肪	不検出	0.001	83.9	1.2
豚の肝臓	不検出	0.001	80.9	0.4

注1) 目標値は70~120%

注2) 目標値は、添加濃度0.01及び0.002 ppmにあつては25%未満、添加濃度0.001 ppmにあつては30%未満

### 3. 答申案

別紙のとおり。

答申（案）

## 酢酸トレンボロン試験法

$\alpha$ -トレンボロン及び $\beta$ -トレンボロンを分析対象とする。

### 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。

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。

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。

シリカゲルミニカラム (500mg) 内径8～9mmのポリエチレン製のカラム管に、シリカゲル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。

トリエチルアミン トリエチルアミン (特級)

2-フルオロ-1-メチルピリジニウム p-トルエンスルホン酸塩 純度98%以上の試薬を用いる。

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

$\alpha$ -トレンボロン標準品 本品は $\alpha$ -トレンボロン95%以上を含む。

$\beta$ -トレンボロン標準品 本品は $\beta$ -トレンボロン95%以上を含む。

### 4. 試験溶液の調製

#### a 抽出法

試料10.0gにn-ヘキサン飽和アセトニトリル50mL及びn-ヘキサン50mLを加えてホモジナイズした後、無水硫酸ナトリウム20gを加えて更にホモジナイズする。毎分3,000回転で5分間遠心分離した後、n-ヘキサン層を捨て、アセトニトリル層を採る。残留物にアセトニトリル50mL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。アセトニトリル層を採り、先のアセトニトリル層に合わせ、アセトニトリルを加えて正確に100mLとする。この溶液から正確に10mLを分取し、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に水20mLを加え、酢酸エチル及びn-ヘキサンの混液(1:4)20mLずつで2回振とう抽出する。酢酸エチル及びn-ヘキサン混液層を採り、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に酢酸エチル及びn-ヘキサンの混液(1:4)2mLを加えて溶かす。

#### b 精製法

シリカゲルミニカラム(500mg)に酢酸エチル及びn-ヘキサンの混液(1:4)5mLを注入し、

流出液は捨てる。このカラムに、a 抽出法で得られた溶液を注入した後、酢酸エチル及びn-ヘキサンの混液（1：4）10mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、酢酸エチル及びn-ヘキサンの混液（1：1）10mLを注入し、溶出液を採り、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。

c 誘導体化

b 精製法で得られた残留物に、20mg/mL 2-フルオロ-1-メチルピリジニウム p-トルエンスルホン酸塩・アセトニトリル溶液 1mL、アセトニトリル及びトリエチルアミンの混液（9：1）0.05mLを加えてかくはんした後、室温で90分間放置する。誘導体化反応後の溶液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を0.1vol%ギ酸及び0.1vol%ギ酸・アセトニトリル溶液の混液（3：1）に溶かし、正確に1mLとしたものを試験溶液とする。

5. 操作法

a 検量線の作成

$\alpha$ -トレンボロン標準品及び $\beta$ -トレンボロン標準品をそれぞれアセトニトリルに溶かして標準原液を調製する。各標準原液を適宜混合し、アセトニトリルで希釈した溶液を調製する。この溶液から適量を分取し、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に20mg/mL 2-フルオロ-1-メチルピリジニウム p-トルエンスルホン酸塩・アセトニトリル溶液 1mL、アセトニトリル及びトリエチルアミンの混液（9：1）0.05mLを加えてかくはんした後、室温で90分間放置する。誘導体化反応後の溶液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を0.1vol%ギ酸及び0.1vol%ギ酸・アセトニトリル溶液の混液（3：1）に溶かし、更に0.1vol%ギ酸及び0.1vol%ギ酸・アセトニトリル溶液の混液（3：1）で希釈した溶液を数点調製する。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には、試料中0.001mg/kgに相当する試験溶液中の濃度は0.001mg/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 $\alpha$ -トレンボロン及び $\beta$ -トレンボロンの定量を行う。

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：アダマンチル基化学結合型シリカゲル 内径2.1mm、長さ150mm、粒子径3 $\mu$ m

カラム温度：40℃に保持する。

移動相：0.1vol%ギ酸及び0.1vol%ギ酸・アセトニトリル溶液の混液（3：1）で5分間保持した後、（3：1）から（11：9）までの濃度勾配を5分間で行う。

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）：

$\alpha$ -トレンボロン-1-メチルピリジニウム誘導体化物 プリカーサーイオン 362、プロダクトイオン 253、197

$\beta$ -トレンボロン-1-メチルピリジニウム誘導体化物 プリカーサーイオン 362、プロダク

トイオン 253、197

注入量：5  $\mu$ L

保持時間の目安：

$\alpha$ -トレンボロン-1-メチルピリジニウム誘導体化物 8分

$\beta$ -トレンボロン-1-メチルピリジニウム誘導体化物 9分



## ニタルソン及びロキササルソン試験法

ニタルソン及びロキササルソンについてはいずれも、食品安全委員会が食品健康影響評価を行い、「これまで国内外においてADIの設定が行われておらず、遺伝毒性発がん物質であることが否定できず、毒性学的な閾値の設定はできないことから、「暫定基準が設定された動物用医薬品及び飼料添加物に係る食品健康影響評価の考え方について」（令和2年5月18日内閣府食品安全委員会動物用医薬品専門調査会及び令和2年6月15日内閣府食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会決定）の3の（2）に該当する。本成分は、規格基準において「食品に含有されるものであってはならない。」とは規定されておらず、不検出として管理されていないことから、その食品健康影響は無視できる程度と考えることはできない。」とされた。

この評価結果を踏まえ、令和4年7月28日の薬事・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、ポジティブリスト制度導入時に設定された基準値（いわゆる暫定基準）の見直しを行い、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して定めることが審議された。

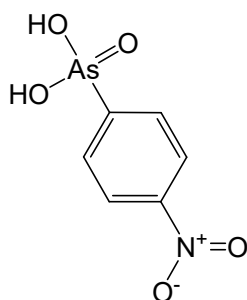
食品において「不検出」とされる農薬等の成分である物質にかかる規格基準の適否は、試験法の検出限界<sup>注)</sup>により規制が行われることから、規格基準の改正と同時に試験法を告示し、併せてその検出限界が別途通知されているところである。そのため、試験法の開発が進められてきたところ、今般その開発が終了したため、当該試験法について審議するものである。

注) ここでいう検出限界とは、適切な精確さをもって定量できることが確認された分析対象化合物の最低量又は濃度と定義している（平成27年2月20日付け食安発0220第1号食品衛生法施行規則の一部を改正する省令及び食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件について）。

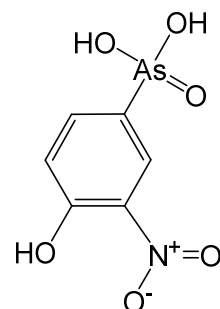
### 1. 概要

#### (1) 分析対象の化合物

ニタルソン及びロキササルソン



ニタルソン



ロキササルソン

## (2) 分析対象食品

畜産物

## (3) 試験法の概要

ニタルソン及びロキサルソンを試料からアンモニア水及びメタノールの混液で抽出する。トリメチルアンモニウム塩修飾メタクリレート重合体ミニカラム、ベンゼンスルホンプロピルシリル化シリカゲルミニカラム及びジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムで精製した後、液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計で定量及び確認する方法である。

## (4) 検出限界 各化合物 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 mg/kg）を行い、真度及び併行精度の確認を実施した。

表1. ニタルソン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 (mg/kg)	真度 <sup>注1)</sup> (%)	併行精度 <sup>注2)</sup> (RSD%)
牛の筋肉	不検出	0.002	83	0.5
牛の脂肪	不検出	0.002	86	3.5
牛の肝臓	不検出	0.002	76	2.1
牛乳	不検出	0.002	101	2.0
鶏の筋肉	不検出	0.002	87	4.0
鶏の脂肪	不検出	0.002	88	2.5
鶏の肝臓	不検出	0.002	83	2.0
鶏卵	不検出	0.002	80	5.1

注1) 目標値は70~120%

注2) 目標値は25%未満

表2. ロキサルソン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 (mg/kg)	真度 <sup>注1)</sup> (%)	併行精度 <sup>注2)</sup> (RSD%)
牛の筋肉	不検出	0.002	81	2.8
牛の脂肪	不検出	0.002	78	3.6
牛の肝臓	不検出	0.002	71	2.6
牛乳	不検出	0.002	80	4.4

表2. ロキササルソンの検討結果の真度及び併行精度（試行数5で実施）（つづき）

食品	残留基準 (ppm)	添加濃度 (mg/kg)	真度 <sup>注1)</sup> (%)	併行精度 <sup>注2)</sup> (RSD%)
鶏の筋肉	不検出	0.002	81	3.1
鶏の脂肪	不検出	0.002	81	1.5
鶏の肝臓	不検出	0.002	72	2.9
鶏卵	不検出	0.002	76	2.3

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。

答申（案）  
ニタルソン及びロキササルソン試験法

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。

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。

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。

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。

ジヘキシルアンモニウム酢酸塩試液 約 0.5mol/L ジヘキシルアンモニウム酢酸塩溶液を水で 100 倍希釈する。

トリメチルアンモニウム塩修飾メタクリレート重合体ミニカラム (500mg) 内径 12~13mm のポリエチレン製のカラム管に、トリメチルアンモニウム塩修飾メタクリレート重合体 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。

ベンゼンスルホニルプロピルシリル化シリカゲルミニカラム (500mg) 内径 8~9mm のポリエチレン製のカラム管に、ベンゼンスルホニルプロピルシリル化シリカゲル 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。

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。

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

ニタルソン標準品 本品はニタルソン 97%以上を含む。

ロキササルソン標準品 本品はロキササルソン 98%以上を含む。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法

① 筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び乳の場合

試料 10.0 g にアンモニア水、水及びメタノールの混液 (1 : 3 : 16) 50mL を加え、ホモジナイズした後、毎分 3,500 回転で 10 分間遠心分離する。上澄液を採り、残留物にアンモニア水、水及びメタノールの混液 (1 : 3 : 16) 40mL 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。上澄液を採り、先の上澄液と合わせ、メタノールを加えて正確に 100mL とする。この溶液から正確に 10mL を分取し、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアンモニア水及び水の混液 (1 : 19) 5 mL を加えて溶かす。

② 卵の場合

試料 10.0 g にアンモニア水、水及びメタノールの混液 (1 : 1 : 18) 50mL を加え、ホモジナイズした後、毎分 3,500 回転で 10 分間遠心分離する。上澄液を採り、残留物にアンモニア水、水及

びメタノールの混液（1：1：18）40mL 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。上澄液を採り、先の上澄液と合わせ、メタノールを加えて正確に 100mL とする。この溶液から正確に 10mL を分取し、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアンモニア水及び水の混液（1：19）5 mL を加えて溶かす。

#### b 精製法

トリメチルアンモニウム塩修飾メタクリレート重合体ミニカラム（500mg）にメタノール 5 mL、アンモニア水及び水の混液（1：19）5 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。ベンゼンスルホンプロピルシリル化シリカゲルミニカラム（500mg）にメタノール 5 mL、ギ酸及び水の混液（1：9）5 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。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）にメタノール 5 mL、ギ酸及び水の混液（1：9）5 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。トリメチルアンモニウム塩修飾メタクリレート重合体ミニカラムに、a 抽出法で得られた溶液を注入した後、メタノール 5 mL、水 5 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。トリメチルアンモニウム塩修飾メタクリレート重合体ミニカラムの下部にベンゼンスルホンプロピルシリル化シリカゲルミニカラムを接続し、更にその下部にジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムを接続した後、ギ酸及び水の混液（1：9）15mL を注入し、流出液は捨てる。トリメチルアンモニウム塩修飾メタクリレート重合体ミニカラムを取り外した後、ベンゼンスルホンプロピルシリル化シリカゲルミニカラムにギ酸及び水の混液（1：9）2 mL を注入し、流出液は捨てる。ベンゼンスルホンプロピルシリル化シリカゲルミニカラムを取り外した後、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水 10mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、メタノール 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、ギ酸及びジヘキシルアンモニウム酢酸塩試液の混液（1：2：7）に溶かし、正確に 1 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

ニタルゾン及びロキササルソンをそれぞれメタノールに溶かして標準原液を調製する。各標準原液を適宜混合し、アセトニトリル、ギ酸及びジヘキシルアンモニウム酢酸塩試液の混液（1：2：7）で希釈した溶液を数点調製する。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には、試料中 0.002mg/kg に相当する試験溶液中の濃度は 0.002mg/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ニタルゾン及びロキササルソンの定量を行う。

#### 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 mm、長さ 150mm、粒子径 3 μm

カラム温度：40℃に保持する。

移動相：0.02vol%酢酸・アセトニトリル及びジヘキシルアンモニウム酢酸塩試液の混液（1：9）

で5分間保持した後、（1：9）から（1：1）までの濃度勾配を10分間で行う。

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）：

ニタルソン プリカーサーイオン 246、プロダクトイオン 138、108

ロキササルソン プリカーサーイオン 262、プロダクトイオン 153、123

注入量：5  $\mu$ L

保持時間の目安：

ニタルソン 11分

ロキササルソン 12分

## ニフルスチレン酸ナトリウム試験法

ニフルスチレン酸ナトリウムについて、食品安全委員会が食品健康影響評価を行い、「これまで国内外においてADIの設定が行われておらず、遺伝毒性発がん物質であることが否定できず、毒性学的な閾値の設定はできないことから、「暫定基準が設定された動物用医薬品及び飼料添加物に係る食品健康影響評価の考え方について」（令和2年5月18日内閣府食品安全委員会動物用医薬品専門調査会及び令和2年6月15日内閣府食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会決定）の3の（2）に該当する。本成分は、規格基準において「食品に含有されるものであってはならない。」とは規定されておらず、不検出として管理されていないことから、その食品健康影響は無視できる程度と考えることはできない。」とされた。

この評価結果を踏まえ、令和4年7月28日の薬事・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、ポジティブリスト制度導入時に設定された基準値（いわゆる暫定基準）の見直しを行い、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して定めることが審議された。

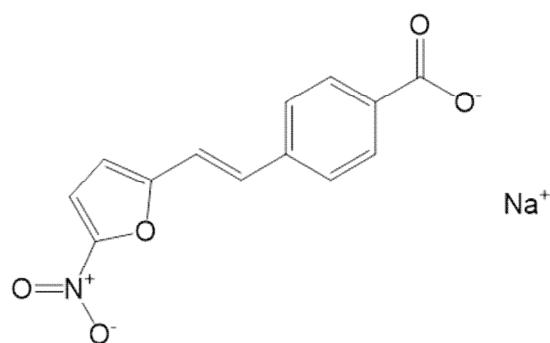
食品において「不検出」とされる農薬等の成分である物質にかかる規格基準の適否は、試験法の検出限界<sup>注</sup>により規制が行われることから、規格基準の改正と同時に試験法を告示し、併せてその検出限界が別途通知されているところである。そのため、試験法の開発が進められてきたところ、今般その開発が終了したため、当該試験法について審議するものである。

注）ここでいう検出限界とは、適切な精確さをもって定量できることが確認された分析対象化合物の最低量又は濃度と定義している（平成27年2月20日付け食安発0220第1号食品衛生法施行規則の一部を改正する省令及び食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件について）。

### 1. 概要

#### （1）分析対象の化合物

ニフルスチレン酸ナトリウム



#### （2）分析対象食品

畜水産物

### (3) 試験法の概要

ニフスチレン酸ナトリウムを、ギ酸、n-ヘキサン及び無水硫酸ナトリウム存在下、アセトニトリルで抽出する。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で精製後、液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計で定量及び確認する方法である。

### (4) 検出限界 0.001 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0.001 mg/kg）を行い、真度及び併行精度の確認を実施した。

表1. 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 (mg/kg)	真度 <sup>注1)</sup> (%)	併行精度 <sup>注2)</sup> (RSD%)
どじょう	不検出	0.001	94	4.9
うなぎ	不検出	0.001	80	4.0
さけ	不検出	0.001	87	1.3
かれい	不検出	0.001	84	1.9
えび	不検出	0.001	81	5.7
しじみ	不検出	0.001	92	6.6
牛の筋肉	不検出	0.001	91	1.8
牛の脂肪	不検出	0.001	85	2.7
牛の肝臓	不検出	0.001	86	4.6

注1) 目標値は70～120%

注2) 目標値は30%未満

## 3. 答申案

別紙のとおり。



答申（案）

## ニフルスチレン酸ナトリウム試験法

### 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。

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。

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。

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 (500mg) 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 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。

### 3. 標準品

ニフルスチレン酸ナトリウム標準品 本品はニフルスチレン酸ナトリウム 95%以上を含む。

### 4. 試験溶液の調製

#### a 抽出法

試料 10.0 g に n-ヘキサン飽和アセトニトリル 50mL、n-ヘキサン 50mL 及びギ酸 1 mL を加え、ホモジナイズした後、無水硫酸ナトリウム 20 g を加えて更にホモジナイズする。毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離した後、n-ヘキサン層を捨て、アセトニトリル層を採る。残留物にアセトニトリル 50mL 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。アセトニトリル層を採り、先のアセトニトリル層と合わせ、アセトニトリルを加えて正確に 100mL とする。この溶液から正確に 10mL を分取し、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアンモニア水及び水の混液 (1 : 19) 5 mL を加えて溶かす。

#### b 精製法

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 (500mg) にメタノール 5 mL、アンモニア水及び水の混液 (1 : 19) 5 mL を注入し、各流出液は捨てる。このカラムに、a 抽出法で得られた溶液を注入した後、水 5 mL、ギ酸、水及びメタノールの混液 (1 : 2 : 7) 5 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。次いで、アセトニトリル及びギ酸の混液 (9 : 1) 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 0.1vol%ギ酸及び 0.1vol%ギ酸・アセトニトリル溶液の混液 (1 : 1) に溶かし、正確に 1 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

ニフルスチレン酸ナトリウムをメタノールに溶かして標準原液を調製する。標準原液を 0.1vol%ギ酸及び 0.1vol%ギ酸・アセトニトリル溶液の混液（1：1）で希釈した溶液を数点調製する。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には、試料中 0.001mg/kg に相当する試験溶液中の濃度は 0.001mg/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ニフルスチレン酸ナトリウムの定量を行う。

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 3mm、長さ 150mm、粒子径 3  $\mu$ m

カラム温度：40℃に保持する。

移動相：0.1vol%ギ酸及び 0.1vol%ギ酸・アセトニトリル溶液の混液（1：1）

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 258、プロダクトイオン 214、114

注入量：5  $\mu$ L

保持時間の目安：5分