

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る。

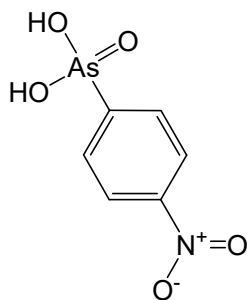
食品において「不検出」とされる農薬等の成分である物質にかかる規格基準の適否は、試験法の検出限界^注により規制が行われることから、規格基準の改正と同時に試験法を告示し、併せてその検出限界が別途通知されているところである。そのため、試験法の開発が進められてきたところ、今般その開発が終了したため、当該試験法について審議するものである。

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）。

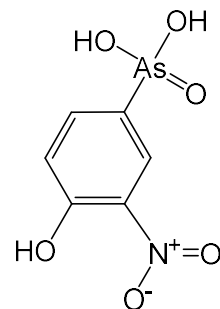
1. 概要

(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、ベンゼンスルホニル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 ^{注1)} (%)	併行精度 ^{注2)} (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 ^{注1)} (%)	併行精度 ^{注2)} (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 ^{注1)} (%)	併行精度 ^{注2)} (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。

ロキサルソン標準品 本品はロキサルソン 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 μ L

保持時間の目安：

ニタルソン 11分

ロキサルソン 12分