

資料 1

3月30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

- ・イソフェタミド（新規の国内登録申請＋インポート
トレランス申請） 1～4
- ・シクラニプロール（新規の国内登録申請） 5～7
- ・フェナザキン（インポートトレランス申請） 8～11
- ・メタミホップ（適用拡大申請（食用作物としては新規））
. 12～15

②農薬等の告示試験法の設定について

- ・2, 4, 5-T試験法 16～22
- ・酢酸メレンゲステロール試験法 23～27
- ・ダミノジッド試験法 28～34
- ・マラカイトグリーン試験法 35～40

イソフェタミド (Isofetamid)

審議の対象	農薬の食品中の残留基準の設定										
経緯	農薬取締法に基づく新規の農薬登録申請に伴う基準値設定の要請及び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を受け、残留基準を設定する。										
構造式											
用途	農薬/殺菌剤										
作用機構	フェナシルアミド系の殺菌剤である。ミトコンドリア電子伝達系複合体IIを阻害することにより殺菌効果を示すと考えられている。										
適用作物/適用病害虫等	ぶどう/灰色かび病 等										
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 における毒性評価が行われ、2016 年に ADI 及び ARfD が設定されている。国際基準は設定されていない。 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、米国においてベリー類、ぶどう等に、カナダにおいてリーフレタス、アーモンド等に、EU においてぶどう、いちご等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	<p>ADI: 0.053 mg/kg 体重/day [設定根拠] 1年間 慢性毒性試験 (雄イヌ・混餌) 無毒性量 5.34 mg/kg 体重/day 安全係数 100</p> <p>ARfD: 3 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 300 mg/kg 体重/day 安全係数 100</p>										
基準値案	別紙1のとおり。 残留の規制対象物質：イソフェタミドとする。										
暴露評価	<p>①長期暴露評価 TMDI/ADI 比は、以下のとおり。</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>TMDI/ADI (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>一般 (1歳以上)</td> <td>12.4</td> </tr> <tr> <td>幼小児 (1~6歳)</td> <td>25.9</td> </tr> <tr> <td>妊婦</td> <td>15.3</td> </tr> <tr> <td>高齢者 (65歳以上)</td> <td>12.8</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)</p>		TMDI/ADI (%)	一般 (1歳以上)	12.4	幼小児 (1~6歳)	25.9	妊婦	15.3	高齢者 (65歳以上)	12.8
	TMDI/ADI (%)										
一般 (1歳以上)	12.4										
幼小児 (1~6歳)	25.9										
妊婦	15.3										
高齢者 (65歳以上)	12.8										

	<p>及び幼小児（1～6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17～19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>
意見聴取の状況	<p>平成29年1月24日に在京大使館への説明を実施</p> <p>平成29年3月1日～3月30日にパブリックコメントを実施（WTO通報は対象外）</p>
答申案	別紙2のとおり。

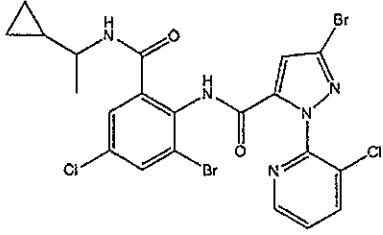
食品名	基準値 案 ppm	基準値 現行 ppm	登録 有無	参考基準値		作物残留試験成績等 ppm
				国際 基準 ppm	外国 基準値 ppm	
大豆	0.05		申			<0.01, <0.01
小豆類	0.05		申			<0.01, <0.01(あずき)
えんどう	0.05		申			(大豆、小豆類参照)
そら豆	0.05		申			(大豆、小豆類参照)
その他の豆類	0.05		申			(大豆、小豆類参照)
レタス(サラダ菜及びちしゃを含む。)	20		申			0.25, 12.4(\$)(サラダ菜)
たまねぎ	0.05		申			<0.01, <0.01
きゅうり(ガーキンを含む。)	1		申			0.39, 0.45
未成熟えんどう	20		申			1.46, 11.2(\$)(さやえんどう)
いちご	4		IT	4.0	米国	【0.16-2.7(#)(n=11)(米国)】
ブルーベリー	4		IT	4.0	米国	【米国いちご参照】
クランベリー	4		IT	4.0	米国	【米国いちご参照】
その他のベリー類果実	4		IT	4.0	米国	【米国いちご参照】
ぶどう	10		申			0.96, 4.93(\$)

申：農薬の登録申請等に伴い基準値設定依頼がなされたもの
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
(#)：使用方法を逸脱して実施された試験成績
(\$)：ばらつきを考慮し、基準値設定の根拠とした値を示す

インフェタミド

食品名	残留基準値	
	ppm	
大豆	0.05	
小豆類 ^{注1)}	0.05	注1)いんげん、ささげ、サルタニ豆、サルタピア豆、バター豆、ペギア豆、ホホワイト豆、ライマ豆及びレンズを含む。
えんどう	0.05	
そら豆	0.05	
その他の豆類 ^{注2)}	0.05	
レタス(サラダ菜及びちしゃを含む。)	20	
たまねぎ	0.05	
きゅうり(ガーキンを含む。)	1	
未成熟えんどう	20	
いちご	4	注3)「その他のベリー類果実」とは、ベリー類果実のうち、いちご、ラズベリー、ブラックベリー、ブルーベリー、クランベリー及びハックルベリー以外のものをいう。
ブルーベリー	4	
クランベリー	4	
その他のベリー類果実 ^{注3)}	4	
ぶどう	10	

シクラニプロール (Cyclaniliprole)

審議の対象	農薬の食品中の残留基準の設定										
経緯	農薬取締法に基づく新規の農薬登録申請に伴う基準値設定の要請を受け、残留基準を設定する。										
構造式											
用途	農薬/殺虫剤										
作用機構	アントラニルアミド系の殺虫剤である。昆虫の筋細胞に存在するリアノジン受容体を活性化し、筋小胞体のカルシウムイオンを細胞質に異常放出させ、筋肉の痙攣や萎縮を引き起こすことで、殺虫効果を示すと考えられている。										
適用作物/適用病害虫等	りんご/シンクイムシ類 等										
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なされておらず、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、いずれの国及び地域においても基準値が設定されていない。										
食品安全委員会における食品健康影響評価結果	<p>ADI: 0.012 mg/kg 体重/day</p> <p>[設定根拠] 1年間 慢性毒性試験 (雄イヌ・混餌) 無毒性量 1.29 mg/kg 体重/day 安全係数 100</p> <p>ARfD: 設定の必要なし</p> <p>シクラニプロールの単回経口投与等により生ずる可能性のある毒性影響は認められなかったため、急性参照用量 (ARfD) の設定は必要ないと判断した。</p>										
基準値案	別紙1のとおり。 残留の規制対象物質：シクラニプロールとする。										
暴露評価	<p>TMDI/ADI 比は、以下のとおり。</p> <table border="1" data-bbox="560 1630 1406 1861"> <thead> <tr> <th></th> <th>TMDI/ADI (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>一般 (1歳以上)</td> <td>42.8</td> </tr> <tr> <td>幼小児 (1~6歳)</td> <td>30.1</td> </tr> <tr> <td>妊婦</td> <td>25.2</td> </tr> <tr> <td>高齢者 (65歳以上)</td> <td>59.1</td> </tr> </tbody> </table> <p>TMDI：理論最大一日摂取量 (Theoretical Maximum Daily Intake)</p>		TMDI/ADI (%)	一般 (1歳以上)	42.8	幼小児 (1~6歳)	30.1	妊婦	25.2	高齢者 (65歳以上)	59.1
	TMDI/ADI (%)										
一般 (1歳以上)	42.8										
幼小児 (1~6歳)	30.1										
妊婦	25.2										
高齢者 (65歳以上)	59.1										
意見聴取の状況	平成29年3月9日に在京大使館への説明を実施 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)										
答申案	別紙2のとおり。										

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	
りんご	0.3		申			0.06-0.12(\$)(n=6)
日本なし	0.3		申			0.06-0.16(\$)(n=6)
西洋なし	0.3		申			(日本なし参照)
もも	0.05		申			<0.01, <0.01, <0.01
ネクタリン	0.5		申			0.09, 0.12
すもも(プルーンを含む。)	0.3		申			0.08, 0.09
おうとう(チェリーを含む。)	1		申			0.16, 0.36(\$)
ぶどう	1		申			0.46, 0.49(小粒)
茶	40		申			4.83-28.0(\$)(n=6)(荒茶)

申:農薬の登録申請等に伴い基準値設定依頼がなされたもの
 (\$):ばらつきの理由を考慮し、基準値設定の根拠とした値を示す

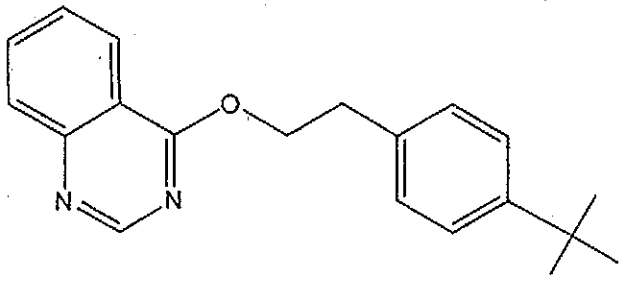
答申(案)

(別紙2)

シクラニプロール

食品名	残留基準値 ppm
りんご	0.3
日本なし	0.3
西洋なし	0.3
もも	0.05
ネクタリン	0.5
すもも(プルーンを含む。)	0.3
おうとう(チェリーを含む。)	1
ぶどう	1
茶	40

フェナザキン (Fenazaquin)

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を受け、残留基準を設定する。										
構造式											
用途	農薬/殺虫・殺ダニ剤										
作用機構	キナゾリン系の殺虫・殺ダニ剤である。ミトコンドリア電子伝達系複合体 I の阻害作用により、殺虫効果を示すと考えられている。										
適用作物/適用病害虫等	アーモンド/ニセクロバーピラハダニ 等										
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、米国においてアーモンド、かんきつ等に、EU において仁果類、茶等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	<p>ADI: 0.0046mg/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) 無毒性量 0.46 mg/kg 体重/day 安全係数 100</p> <p>ARfD: 0.1mg/kg 体重 [設定根拠] 発生毒性試験 (ラット・強制経口) 無毒性量 10 mg/kg 体重/day 安全係数 100</p>										
基準値案	別紙1のとおり。 残留の規制対象物質：フェナザキンとする。										
暴露評価	<p>①長期暴露評価 TMDI/ADI 比は、以下のとおり。</p> <table border="1" data-bbox="558 1646 1412 1881"> <thead> <tr> <th></th> <th>TMDI/ADI (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>一般 (1歳以上)</td> <td>26.4</td> </tr> <tr> <td>幼小児 (1~6歳)</td> <td>15.0</td> </tr> <tr> <td>妊婦</td> <td>13.8</td> </tr> <tr> <td>高齢者 (65歳以上)</td> <td>36.7</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) 及び幼小児 (1~6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17~19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</p>		TMDI/ADI (%)	一般 (1歳以上)	26.4	幼小児 (1~6歳)	15.0	妊婦	13.8	高齢者 (65歳以上)	36.7
	TMDI/ADI (%)										
一般 (1歳以上)	26.4										
幼小児 (1~6歳)	15.0										
妊婦	13.8										
高齢者 (65歳以上)	36.7										

	定した。
意見聴取の状況	平成 29 年 2 月 10 日に在京大使館への説明を実施。 平成 29 年 3 月 1 日～3 月 30 日にパブリックコメントを実施。 (WTO 通報は対象外)
答申案	別紙 2 のとおり。

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	
おうとう(チェリーを含む。)	2		IT		2.0 米国	【0.255-0.914(n=6)(米国)】
アーモンド	0.02		IT		0.02 米国	【<0.01-0.011(n=5)(米国)】
茶	10		IT		10 EU	【2.76-4.97(n=4)(荒茶)(EU)】

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

答申(案)

(別紙2)

フェナザキン

食品名	残留基準値 ppm
おうとう(チェリーを含む。)	2
アーモンド	0.02
茶	10

メタミホップ (Metamifop)

審議の対象	農薬の食品中の残留基準の設定										
経緯	農薬取締法に基づく適用拡大申請に伴う基準値設定の要請を受け、残留基準を設定する。										
構造式											
用途	農薬／除草剤										
作用機構	アリールオキシフェノキシプロピオン酸系の除草剤である。アセチル CoA カルボキシラーゼ阻害作用により、細胞膜合成を阻害して雑草を枯死させると考えられている。										
適用作物／適用雑草	移植水稻／ノビエ										
我が国の登録状況	農薬：食用作物としては登録されていない。										
諸外国の状況	JMPR における毒性評価はなされておらず、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、いずれの国及び地域においても基準値が設定されていない。										
食品安全委員会における食品健康影響評価結果	<p>ADI: 0.0042 mg/kg 体重/day</p> <p>[設定根拠] 2年間 慢性毒性試験／発がん性併合試験 (ラット・混餌)</p> <p>無毒性量 0.42 mg/kg 体重/day</p> <p>安全係数 100</p> <p>ARfD: 1.2 mg/kg 体重</p> <p>[設定根拠] 発生毒性試験 (ラット・強制経口)</p> <p>無毒性量 120 mg/kg 体重</p> <p>安全係数 100</p>										
基準値案	別紙1のとおり。 残留の規制対象物質：メタミホップとする。										
暴露評価	<p>①長期暴露評価</p> <p>TMDI/ADI 比は、以下のとおり。</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>TMDI/ADI (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>一般 (1歳以上)</td> <td>1.4</td> </tr> <tr> <td>幼小児 (1~6歳)</td> <td>2.5</td> </tr> <tr> <td>妊婦</td> <td>0.9</td> </tr> <tr> <td>高齢者 (65歳以上)</td> <td>1.5</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</p> <p>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) 及び幼小児 (1~6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17~19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)	1.4	幼小児 (1~6歳)	2.5	妊婦	0.9	高齢者 (65歳以上)	1.5
	TMDI/ADI (%)										
一般 (1歳以上)	1.4										
幼小児 (1~6歳)	2.5										
妊婦	0.9										
高齢者 (65歳以上)	1.5										

意見聴取の状況	平成 29 年 2 月 10 日に在京大使館への説明を実施 平成 29 年 3 月 1 日～3 月 30 日にパブリックコメントを実施 (WTO 通報は対象外)
答申案	別紙 2 のとおり。

農薬名

メタミホップ

(別紙2)

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	
米(玄米をいう。)	0.02		申			<0.005,<0.005

申：農薬の登録申請等に伴い基準値設定依頼がなされたもの

答申(案)

(別紙2)

メタミホップ

食品名	残留基準値
米(玄米をいう。)	ppm 0.02

2, 4, 5-T試験法

2, 4, 5-T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。

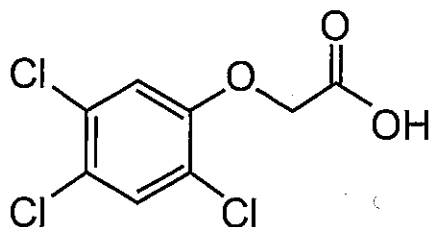
従来、不検出基準を含む農薬等については、試験法の検出限界により規制が行われることから、規格基準の改正と同時に試験法を告示し、併せてその検出限界が別途通知されているところである。当該成分の試験法については、厚生省告示第370号において示されているが、この試験法は畜水産物について、その試験法の性能が評価されたものではなかった。

そのため、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

2, 4, 5-T



(2) 分析対象食品

農産物

畜水産物

(3) 試験法の概要

2, 4, 5-Tを試料から塩酸酸性下アセトンで抽出し、酢酸エチル及び*n*-ヘキサンの混液に転溶する。脂質等が多い試料についてはアセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂する。加水分解した後、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム及びグラファイトカーボン/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 0.01 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 0.01 ppm）を行い、真度及び併行精

度の確認を実施した。

農産物：玄米、大豆、らっかせい、ほうれんそう、キャベツ、ばれいしょ、オレンジ、りんご、茶及びコーヒー豆

畜水産物：牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、鶏の筋肉、鶏卵、牛乳、はちみつ、うなぎ、さけ及びしじみ

表 検討結果の真度及び併行精度（試行数5で実施）

	対象食品	検討結果	目標値
真度	農産物	80～112%	70～120%
	畜水産物	79～107%	
併行精度	農産物	3～13%	25%未満
	畜水産物	0.4～13%	

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28年 9月16日 残留農薬等公示分析法検討会で検討
平成28年12月20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12月20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12月21日 薬事・食品衛生審議会へ諮問
平成28年12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)

2, 4, 5-T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。

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。

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (1,000mg) 内径12~13mmのポリエチレン製のカラム管に、オクタデシルシリル化シリカゲル1,000mg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。

グラファイトカーボン/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 (500mg/500mg) 内径約12~13mmのポリエチレン製のカラム管に、上層にグラファイトカーボンを、下層にエチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲル各500mg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。

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。

トルエン 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。

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

2, 4, 5-T標準品 本品は2, 4, 5-T98%以上を含む。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法

① 穀類、豆類及び種実類の場合

試料10.0gに水20mlを加え、30分間放置する。これに4mol/l塩酸5ml及びアセトン100mlを加え、細切均一化した後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50mlを加えて細切均一化した後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンで正確に200mlとする。

この溶液から正確に10mlを採り、10w/v%塩化ナトリウム溶液100mlを加え、酢酸エチル及

びn-ヘキサン(1:1)混液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、アセトニトリル及び水(99:1)混液30mlずつで3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。

② 果実及び野菜の場合

試料20.0gに4mol/l塩酸5ml及びアセトン100mlを加え、細切均一化した後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50mlを加えて細切均一化した後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンで正確に200mlとする。

この溶液から正確に5mlを分取し、10w/v%塩化ナトリウム溶液100mlを加え、酢酸エチル及びn-ヘキサン(1:1)混液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。

③ 茶及びホップの場合

試料5.00gに水20mlを加え、30分間放置する。これに4mol/l塩酸5ml及びアセトン100mlを加え、細切均一化した後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50mlを加えて細切均一化した後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンで正確に200mlとする。

この溶液から正確に10mlを採り、10w/v%塩化ナトリウム溶液100mlを加え、酢酸エチル及びn-ヘキサン(1:1)混液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、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、アセトニトリル及び水(99:1)混液30mlずつで3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。

④ 筋肉、肝臓、腎臓、乳及び卵並びに魚介類の場合

試料10.0gに4mol/l塩酸5ml及びアセトン100mlを加え、細切均一化した後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50mlを加えて細切均一化した後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンで正確に200mlとする。

この溶液から正確に10mlを採り、10w/v%塩化ナトリウム溶液100mlを加え、酢酸エチル及びn-ヘキサン(1:1)混液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、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、アセトニトリル及び水(99:1)混液30mlずつで3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。

⑤ 脂肪の場合

試料5.00gに4mol/l塩酸5ml及びアセトン100mlを加え、細切均一化した後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50mlを加えて細切均一化した後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンで正確に200mlとする。

この溶液から正確に20mlを採り、10w/v%塩化ナトリウム溶液100mlを加え、酢酸エチル及

びn-ヘキサン(1:1)混液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、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、アセトニトリル及び水(99:1)混液30mlずつで3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。

⑥ はちみつの場合

試料10.0gに水20mlを加えて溶かす。これに4mol/l塩酸5ml及びアセトン100mlを加え、細切均一化した後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50mlを加えて細切均一化した後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンで正確に200mlとする。

この溶液から正確に10mlを採り、10w/v%塩化ナトリウム溶液100mlを加え、酢酸エチル及びn-ヘキサン(1:1)混液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、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。

b 加水分解

a 抽出法で得られた残留物にメタノール2mlを加えて溶かし、1.5mol/l水酸化ナトリウム溶液1mlを加える。これに還流冷却器を取り付けて、80℃の水浴中で30分間加熱した後、放冷する。これに、1.5mol/l塩酸を加えてpH7.5~8.0に調整し、0.1w/v%炭酸水素ナトリウム溶液16mlを加える。

c 精製法

① オクタデシルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム(1,000mg)にメタノール及び水各10mlを順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムにb加水分解で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。次いで、0.1w/v%炭酸水素ナトリウム溶液及びメタノール(1:1)混液20mlを注入し、溶出液に4mol/l塩酸5mlを加えてpH1以下に調整する。これに10w/v%塩化ナトリウム溶液100mlを加え、エーテル50ml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。この残留物にアセトニトリル及びトルエン(3:1)混液3mlを加えて溶かす。

② グラファイトカーボン/エチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲル積層カラムクロマトグラフィー

グラファイトカーボン/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(500mg/500mg)にアセトニトリル及びトルエン(3:1)混液10mlを注入し、流出液は捨てる。このカラムに①で得られた溶液を注入した後、さらにアセトニトリル及びトルエン(3:1)混液7mlを注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトニトリル、ギ酸及びトルエン(75:1:25)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。この残留物をメタノールに溶解し、抹茶及びホップ以外の場合は正確に1ml、抹茶及びホップの場合は正確に0.5mlとしたものを試験溶液とする。

5. 操作法

a 検量線の作成

2, 4, 5-T 標準品のメタノール溶液を数点調製し、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、本法に従って試験溶液を調製した場合、試料中 0.01mg/kg に相当する試験溶液中の濃度は 0.005mg/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 の検量線で 2, 4, 5-T の含量を求める。

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 2.1mm、長さ 150mm、粒子径 3 μm

カラム温度：40℃

移動相：5 mmol/l 酢酸アンモニウム溶液及び 5 mmol/l 酢酸アンモニウム・メタノール溶液（7 : 3）から（1 : 9）までの濃度勾配を 20 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：

プリカーサーイオン 253、プロダクトイオン 195

プリカーサーイオン 255、プロダクトイオン 197

注入量：5 μl

保持時間の目安：12 分

酢酸メレンゲステロール試験法（案）

酢酸メレンゲステロールについて、食品安全委員会が食品健康影響評価を行い、一日摂取許容量として0.025 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日を設定した。

この評価結果を踏まえ、平成29年2月1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新たな基準値を設定するとともに、一部の食品（豚の食用組織等）について「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。）とすることとされた。

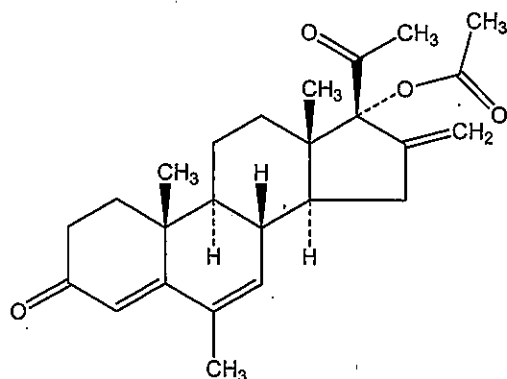
従来、不検出基準を含む動物用医薬品等については、試験法の検出限界により規制が行われることから、規格基準の改正と同時に試験法を告示し、併せてその検出限界が別途通知されているところである。

そのため、酢酸メレンゲステロ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

酢酸メレンゲステロール



(2) 分析対象食品

牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、牛の腎臓、豚の筋肉

(3) 試験法の概要

酢酸メレンゲステロールを試料から酢酸酸性下、*n*-ヘキサン及び無水硫酸ナトリウム存在下で、アセトニトリルで抽出する。オクタデシルシリル化シリカゲル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

2. 真度及び精度等の評価

以下の食品を対象として添加回収試験（添加濃度 0.0005～0.02 ppm）を行い、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、牛の腎臓、豚の筋肉

表 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 (RSD%)	併行精度の 目標値 (RSD%)
牛の筋肉 ^{注2)}	0.001	0.001	100	6	30>
		0.0005	95	4	
牛の脂肪	0.02	0.02	97	0.5	15>
牛の肝臓	0.01	0.01	84	4	25>
牛の腎臓	0.002	0.002	82	4	25>
豚の筋肉	不検出	0.0005	94	2	30>

注1) 真度の目標値は、全ての濃度において 70～120%。

注2) 牛の筋肉での添加濃度 0.0005 ppm での検討は、試行数 10 で実施。

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19年1月12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28年度	試験法開発・残留農薬等公示分析法検討会で随時検討
平成29年1月31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29年1月31日	薬事・食品衛生審議会へ諮問
平成29年2月1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29年2月13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29年2月14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29年2月21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	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
井之上 浩一	立命館大学薬学部薬学科臨床分析化学研究室准教授
折戸 謙介	麻布大学獣医生理学教授
魏 民	大阪市立大学大学院医学研究科分子病理学准教授
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

(○：部会長)

答申(案)

酢酸メレンゲステロール試験法

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。

3. 標準品

酢酸メレンゲステロール標準品 本品は酢酸メレンゲステロール98%以上を含む。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法

① 筋肉、脂肪、肝臓及び腎臓の場合

試料 10.0 g を量り採る。これにn-ヘキサン飽和アセトニトリル 50ml、n-ヘキサン 50ml 及び酢酸 1 ml を加えて1分間細切均一化した後、無水硫酸ナトリウム 20 g を加えて2分間細切均一化する。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2分間細切均一化した後、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、アセトニトリルで正確に 100ml とする。この溶液から正確に 5 ml を採り、40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に 0.1vol%ギ酸及びメタノール(1:4)混液 1 ml を加えて溶かす。

② ①に掲げる食品以外の場合

①の場合に準じて抽出を行う。

b 精製法

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム(1,000mg)にメタノール 5 ml、0.1vol%ギ酸及びメタノール(1:4)混液 5 ml を順次注入し、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 0.1vol%ギ酸及びメタノール(1:4)混液 15ml を注入する。全溶出液を採り、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0.1vol%ギ酸(1:3)混液に溶かし、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

酢酸メレンゲステロール標準品のアセトニトリル及び 0.1vol%ギ酸 (1 : 3) 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中の濃度は 0.00025mg/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酢酸メレンゲステロールの定量を行う。

c 確認試験

液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計により確認する。

d 測定条件

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°C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 : 3) から (1 : 9) までの濃度勾配を 5 分間で行い、(1 : 99) で 5 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)：プリカーサーイオン 397、プロダクトイオン 337、279

注入量：5 μ l

保持時間の目安：4分

ダミノジッド試験法

ダミノジッドは、ポジティブリスト制導入時に、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。

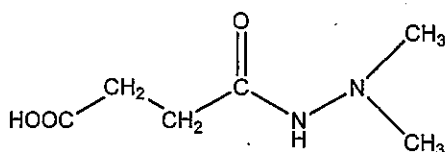
従来、不検出基準を含む農薬等については、試験法の検出限界により規制が行われることから、規格基準の改正と同時に試験法を告示し、併せてその検出限界が別途通知されているところである。当該成分の試験法については、厚生省告示第370号において示されているが、この試験法は畜水産物について、その試験法の性能が評価されたものではなかった。

そのため、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。

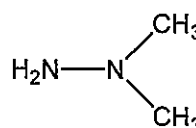
1. 概要

(1) 分析対象の化合物

ダミノジッド及び1, 1-ジメチルヒドラジン



ダミノジッド



1, 1-ジメチルヒドラジン

(2) 分析対象食品

農産物

畜水産物

(3) 試験法の概要

ダミノジッド及び1, 1-ジメチルヒドラジンを試料から農産物は水で、畜水産物は*n*-ヘキサン存在下水で抽出した後、ダミノジッドを塩基性条件下で加水分解して1, 1-ジメチルヒドラジンに変換した後、水蒸気蒸留により1, 1-ジメチルヒドラジンを捕集する。次いで*o*-ニトロベンズアルデヒドで誘導体化して*o*-ニトロジメチルヒドラジンに変換した後、*n*-ヘキサンに転溶する。アルミナ（塩基性）ミニカラムで精製した後、高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフ又はアルカリ熱イオン化検出器付きガスクロマトグラフで定量し、ガスクロマトグラフ・質量分析計で確認する方法である。なお、1, 1-ジメチルヒドラジンの濃度に換算係数2.665を乗じてダミノジッドの濃度に変換して分析値とする。ダミノジッドの分析値には、ダミノジッド及び1, 1-ジメチルヒドラジンが含まれる。

(4) 検出限界 0.1 mg/kg (ダミノジッド換算)

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 0.1 ppm）を行い、真度及び併行精度の確認を実施した。

農産物：玄米、大豆、コーヒ豆、ばれいしょ、ほうれんそう、キャベツ、りんご、オレンジ及びホップ

畜水産物：牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、牛乳、鶏卵、さけ、うなぎ、しじみ、えび及びはちみつ

表 検討結果の真度及び併行精度（試行数5で実施）

	分析対象食品	検討結果*	目標値
真度	農産物	83～110%	70～120%
	畜水産物	71～93%	
併行精度	農産物	3～13%	15%未満
	畜水産物	4～13%	

*高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフの結果

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12日	
～平成28年9月16日	残留農薬等公示分析法検討会で検討
平成28年12月20日	薬事・食品衛生審議会へ諮問
平成28年12月20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12月20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12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]

稲山 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)

ダミノジッド試験法

ダミノジッド及び1, 1-ジメチルヒドラジンを分析対象とする。

1. 装置

アルカリ熱イオン化検出器又は高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフ、ガスクロマトグラフ・質量分析計並びに水蒸気蒸留装置を用いる。水蒸気蒸留装置はガラス製で、その概略は、次の図による。

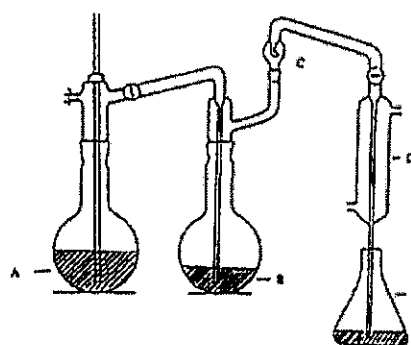
A : 500 ml~1,000ml の丸底フラスコ (水蒸気発生用)

B : 500 ml~1,000ml の丸底フラスコ (蒸留用)

C : 蒸留トラップ

D : 冷却管

E : 100ml の三角フラスコ



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、日本工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。

アセトン 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。

アルミナ(塩基性) ミニカラム (1, 710mg) 内径8~9mm のポリエチレン製のカラム管に、アルミナ(塩基性) 1, 710mg 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。

液相分離ろ紙 化学分析用ろ紙をシリコン処理したものを用いる。

消泡用シリコン シリコンを消泡用に製造したものを用いる。

o-ニトロベンズアルデヒド o-ニトロベンズアルデヒド(特級)

1 w/v % o-ニトロベンズアルデヒド・メタノール溶液 o-ニトロベンズアルデヒド 100mg にメタノール 10ml を加えて溶かす。用時調製する。

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

水 蒸留水、精製水、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。

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。

リン酸緩衝液(pH5) リン酸一カリウム 13.15 g 及びリン酸二カリウム 0.59 g に水を加えて溶かし、100ml とする。

3. 標準品

1, 1-ジメチルヒドラジン標準品 本品は1, 1-ジメチルヒドラジン 97%以上を含む。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法

① 農産物の場合

穀類、豆類及び種実類の場合は、検体を425 μ mの標準網ふるいを通るように粉砕して均一化した後、その10.0 gを量り採る。ただし、ふるいを通すことが困難な食品の場合は、約2 mm角に細切して均一化した後、その10.0 gを量り採る。

果実及び野菜の場合は、検体約1 kgを精密に量り、必要に応じ適量の水を量って加え、細切均一化した後、検体20.0 gに相当する量を量り採る。

抹茶の場合は、検体5.00 gを量り採る。

茶及びホップの場合は、検体を425 μ mの標準網ふるいを通るように粉砕して均一化した後、その5.00 gを量り採る。

これに水80mlを加え、細砕した後、ガラス繊維ろ紙を用いて吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に水40mlを加え、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、水を加えて正確に200mlとする。この溶液から穀類、豆類、種実類、果実及び野菜の場合は正確に20ml（茶及びホップの場合は正確に40ml）を丸底フラスコ（蒸留用）に分取し、水80mlを加える。

② 畜水産物（乳、卵及びはちみつ以外）の場合

検体を細切均一化した後、その10.0 g（脂肪は5.00 g）を量り採り、水80mlとn-ヘキサン40mlを加え、細砕した後、ガラス繊維ろ紙を用いて吸引ろ過し、水層とn-ヘキサン層をそれぞれ採る。ろ紙上の残留物に先のn-ヘキサン層を加え、さらに水40mlを加えて細砕した後、上記と同様にろ過する。得られた水層を合わせ、水を加えて正確に200mlとする。この溶液から正確に20ml（脂肪は正確に40ml）を丸底フラスコ（蒸留用）に分取し、水80mlを加える。

③ 乳、卵及びはちみつの場合

検体を均一化した後、その10.0 gを直接丸底フラスコ（蒸留用）に量り採り、水80mlを加える。

b 蒸留

a 抽出法の丸底フラスコ（蒸留用）に水酸化ナトリウム60 gを水冷しながら、少量ずつ加えて溶かす。これに消泡用シリコン1~2滴及び沸騰石を加えた後、直ちに蒸留装置に取り付ける。別に、リン酸緩衝液（pH5）5 ml及びフェノールフタレイン試液1滴を入れた100mlの三角フラスコを水蒸気蒸留装置に取り付け、丸底フラスコ（水蒸気発生用）を加熱しておく。留液が45mlになるまで水蒸気蒸留し、留液が着色しないことを確認する。蒸留が約15分間で終了するように加熱強度を調節する。

c 誘導体化

b 蒸留で得られた留液に1 w/v % o-ニトロベンズアルデヒド・メタノール溶液1 mlを加えて振り混ぜた後、40°Cで16時間放置する。これにn-ヘキサン50mlを加えて5分間振とう後、静置し、n-ヘキサン層を採り、液相分離ろ紙を用いてろ過する。水層にn-ヘキサン50mlを加え、上記と同様に操作して、得られたn-ヘキサン層を合わせる。n-ヘキサン10mlを用いてろ紙上の残留物を洗い、洗液を先のn-ヘキサン層に合わせ、40°C以下でn-ヘキサンを除去する。この残留物にアセト

ン及びn-ヘキサン（1：19）混液5mlを加えて溶かす。

d 精製

アルミナ（塩基性）ミニカラム（1,710mg）にアセトン及びn-ヘキサン（1：19）混液10mlを注入し、流出液は捨てる。このカラムにc 誘導体化で得られた溶液を注入し、さらに、アセトン及びn-ヘキサン（1：19）混液10mlを注入し、全溶出液を採り、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトンに溶かし、穀類、豆類、種実類、茶、ホップ及び畜水産物（乳、卵及びはちみつは除く）の場合は正確に1ml、果実及び野菜の場合は正確に2ml、乳、卵及びはちみつの場合は正確に10mlとしたものを試験溶液とする。

5. 操作法

a 検量線の作成

1, 1-ジメチルヒドラジン標準品の500mg/l水溶液を調製する。この1mlを採り、リン酸緩衝液（pH5）5ml及び水40mlを加えたものに1w/v% o-ニトロベンズアルデヒド・メタノール溶液1mlを加えて振り混ぜた後、40℃で16時間放置する。これにn-ヘキサン50mlを加えて5分間振とう後、静置し、n-ヘキサン層を採り、液相分離ろ紙を用いてろ過する。水層にn-ヘキサン50mlを加え、上記と同様に操作して、得られたn-ヘキサン層を合わせる。n-ヘキサン10mlを用いてろ紙上の残留物を洗い、洗液を先のn-ヘキサン層に合わせ、40℃以下でn-ヘキサンを除去する。この残留物を溶解してアセトン溶液を数点調製し、それぞれ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0.1mg/kgに相当する試験溶液中濃度は0.1mg/l（ダミノジッド換算）である。

b 定量試験

試験溶液をガスクロマトグラフに注入し、aの検量線で1, 1-ジメチルヒドラジンの含量を求め、次式によりダミノジッドの含量を求める。

$$\text{ダミノジッドの含量 (ppm)} = 1, 1\text{-ジメチルヒドラジンの含量 (ppm)} \times 2.665$$

c 確認試験

ガスクロマトグラフ・質量分析計により確認する。

d 測定条件

（例）

① ガスクロマトグラフ

検出器：アルカリ熱イオン化検出器又は高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフ

カラム：トリフルオロプロピルメチルポリシロキサン 内径0.25mm、長さ30m、膜厚0.25 μ m

カラム温度：60℃で2分間保持し、その後毎分10℃で昇温する。280℃に到達後8分間保持する。

試験溶液注入口温度 250℃

検出器 280℃で操作する。

キャリアーガス：ヘリウム

注入量：2 μ l

保持時間の目安：15分

② ガスクロマトグラフ・質量分析計

カラム：トリフルオロプロピルメチルポリシロキサン 内径0.25mm、長さ30m、膜厚0.25 μ m
カラム温度：80°Cで2分間保持し、その後毎分15°Cで昇温する。200°Cに到達後、毎分30°Cで昇温し、250°Cに到達後3分間保持する。

試験溶液注入口温度：250°C

キャリアーガス：ヘリウム \uparrow

イオン化モード（イオン化エネルギー）：EI (70eV)

主なイオン (m/z)：193、77

注入量：2 μ l

保持時間の目安：9分

マラカイトグリーン試験法（案）

マラカイトグリーンは、食品安全委員会による食品健康影響評価において「発がん性のメカニズムを明らかにすることはできず、ヒトにおける発がんリスクは明確ではないが、現時点で評価した試験結果からみる限り、げっ歯類における発がん性が示唆され、遺伝毒性も否定できないことからマラカイトグリーン及びロイコマラカイトグリーンに ADI 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18年2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。）とすることとされ、規制対象がマラカイトグリーン及びロイコマラカイトグリーンとなった。

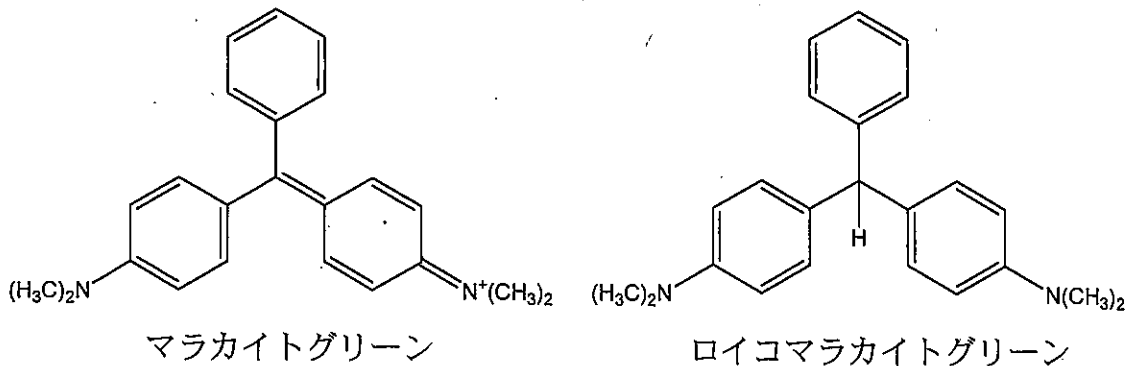
従来、不検出基準を含む農薬等については、試験法の検出限界により規制が行われることから、規格基準の改正と同時に試験法を告示し、併せてその検出限界が別途通知されているところである。

現行の告示法では有害性の高い試薬を用いていること、一部の食品において添加回収試験で回収率が低いことから、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

マラカイトグリーン及びロイコマラカイトグリーン



(2) 分析対象食品

畜水産物

(3) 試験法の概要

マラカイトグリーン及びロイコマラカイトグリーンをジブチルヒドロキシルエン・エタノール溶液及びクエン酸溶液を加えて細切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 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 ppm）を行い、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、鶏の筋肉、牛乳、鶏卵、はちみつ、うなぎ、しじみ、しめさば

表 検討結果の真度及び併行精度（試行数5で実施）

	化合物	検討結果	目標値
真度	マラカイトグリーン	78～93%	70～120%
	ロイコマラカイトグリーン	77～92%	
併行精度	マラカイトグリーン	3～8%	25%未満
	ロイコマラカイトグリーン	2～8%	

3. 答申案

別紙のとおり。

(参考)

これまでの経緯

- 平成17年 9月13日 厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに食品健康影響評価について要請
- 平成17年10月20日 食品安全委員会における食品健康影響評価（案）の公表
- 平成17年11月16日 厚生労働大臣から薬事・食品衛生審議会会長あてに残留基準の設定について諮問
- 平成17年11月21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17年11月24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18年 2月 9日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
- 平成18年 5月30日 残留基準告示
- 平成28年 9月16日
- ～11月29日 残留農薬等公示分析法検討会で検討
- 平成28年12月13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12月20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12月21日 薬事・食品衛生審議会へ諮問

平成28年12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)

マラカイトグリーン試験法

マラカイトグリーン及びロイコマラカイトグリー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、日本工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

マラカイトグリーンシュウ酸塩標準品 本品はマラカイトグリーンシュウ酸塩98%以上を含む。

ロイコマラカイトグリーン標準品 本品はロイコマラカイトグリーン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、細切均一化した後、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(はちみつの場合は水10ml及びアセトン50ml)を加えて細切均一化し、上記と同様にろ過する。

得られたろ液を合わせ、アセトンで正確に200mlとする。この溶液から正確に1ml（脂肪の場合は2ml）を量り採り、2 vol%ギ酸4mlを加える。

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2 vol%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5mlを注入し、流出液は捨てる。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にa 抽出法で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル5ml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の混液（9：1）10ml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の混液（9：1）を加えて正確に10mlとしたものを試験溶液とする。

5. 操作法

a 検量線の作成

マラカイトグリーンシュウ酸塩標準品及びロイコマラカイトグリーン標準品をそれぞれアセトンに溶かして500mg/l（マラカイトグリーンシュウ酸塩標準品については、マラカイトグリーンとしての濃度）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0.002mg/kgに相当する試験溶液中濃度は0.00001mg/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マラカイトグリーン及びロイコマラカイトグリーンの定量を行う。

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2.1mm、長さ150mm、粒子径5 μm

カラム温度：40℃

移動相：アセトニトリル及び50mmol/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、ポジティブモード

主なイオン（m/z）

マラカイトグリーン：プリカーサーイオン329、プロダクトイオン313、165

ロイコマラカイトグリーン：プリカーサーイオン331、プロダクトイオン316、239

注入量：10 μl

保持時間の目安

マラカイトグリーン：8分

ロイコマラカイトグリーン：16分