

## プロファム試験法（案）

プロファムは、食品安全委員会による食品健康影響評価において「ラット以外の実験動物で実施された適切な試験が報告されていないこと、発生毒性に関して適切に評価できる試験が実施されていないこと等により、一日摂取許容量（ADI）を設定するための試験成績が不十分であったことから、プロファムの ADI を設定しない。」と評価された。

この評価結果をふまえ、平成 22 年 6 月の薬事・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」とする規格を継続し、改正しないこととされた。

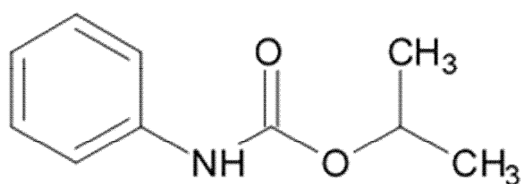
当該成分の試験法については、厚生省告示第370号において示されているが、この試験法は畜水産物について、その試験法の性能が評価されたものではなかった。

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

プロファム



#### (2) 分析対象食品

農産物及び畜水産物

#### (3) 試験法の概要

プロファムを試料からアセトンで抽出し、*n*-ヘキサンに転溶した後、穀類、豆類、種実類及び畜水産物（はちみつを除く。）については、アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂する。オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム及びエチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル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 0.01 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、ばれいしょ、ほうれんそう、キャベツ、りんご、オレンジ、茶（煎茶）

畜水産物：牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、牛乳、鶏卵、はちみつ、うなぎ、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	85～96%	70～120%
	畜水産物	83～96%	
併行精度	農産物	2～5%	25%未満
	畜水産物	1～5%	

### 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 残留農薬基準告示  
平成19年 6月 5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21年 1月 8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22年 6月22日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会  
平成29年 5月15日 残留農薬等公示分析法検討会で検討  
平成29年 7月25日 薬事・食品衛生審議会へ諮問  
平成29年 8月 2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  
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 元 一般財団法人残留農薬研究所理事  
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长  
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）

## プロファム試験法

### 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。

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。

エチレンジアミン-N-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、エチレンジアミン-N-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。

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。

ギ酸アンモニウム ギ酸アンモニウム (特級)

ジエチレングリコール 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。

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

プロファム標準品 本品はプロファム98%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。これにアセトン100mLを加え、ホモジナイズした後、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、アセトンで正確に200mLとする。この溶液から正確に20mLを採り、40℃以下で約3mLまで濃縮する。これに10w/v%塩化ナトリウム溶液100mLを加え、n-ヘキサン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、2vol%ジエチレングリコール・アセトン溶液0.2mLを加え、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、n-ヘキサン飽和アセトニトリル30mLずつで2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。この残留物にアセトン4mLを加えて溶かし、水16mLを加える。

② 果実及び野菜の場合

試料20.0gにアセトン100mLを加え、ホモジナイズした後、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、アセトンで正確に200mLとする。この溶液から正確に10mLを分取し、40℃以下で約2mLまで濃縮する。これに10w/v%塩化ナトリウム溶液100mLを加え、n-ヘキサン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、2vol%ジエチレングリコール・アセトン溶液0.2mLを加え、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン4mLを加えて溶かし、水16mLを加える。

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。これにアセトン100mLを加え、ホモジナイズした後、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、アセトンで正確に200mLとする。この溶液から正確に40mLを分取し、40℃以下で約6mLまで濃縮する。これに10w/v%塩化ナトリウム溶液100mLを加え、n-ヘキサン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、2vol%ジエチレングリコール・アセトン溶液0.2mLを加え、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン4mLを加えて溶かし、水16mLを加える。

④ 筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、乳、卵及び魚介類の場合

試料10.0gにアセトン100mLを加え、ホモジナイズした後、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、アセトンで正確に200mLとする。この溶液から正確に20mLを分取し、40℃以下で約3mLまで濃縮する。これに10w/v%塩化ナトリウム溶液100mLを加え、n-ヘキサン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、2vol%ジエチレングリコール・アセトン溶液0.2mLを加え、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、n-ヘキサン飽和アセトニトリル30mLずつで2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。この残留物にアセトン4mLを加えて溶かし、水16mLを加える。

⑤ はちみつの場合

試料10.0gに水20mLを加えて溶かす。これにアセトン100mLを加え、ホモジナイズした後、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、アセトンで正確に200mLとする。この溶液から正確に20mLを分取し、40℃以下で約3mLまで濃縮する。これに10w/v%塩化ナトリウム溶液100mLを加え、n-ヘキサン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、2 vol% ジエチレングリコール・アセトン溶液0.2mLを加え、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン4 mLを加えて溶かし、水16mLを加える。

#### 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) にアセトニトリル10mL並びにアセトン及び水の混液 (1 : 4) 10mLを順次注入し、各流出液は捨てる。エチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム (500mg) にアセトニトリル及び水の混液 (7 : 3) 10mLを注入し、流出液は捨てる。オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムに a 抽出で得られた溶液を注入した後、更にアセトニトリル及び水の混液 (1 : 4) 10mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、このカラムの下部にエチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲルミニカラムを接続し、アセトニトリル及び水の混液 (7 : 3) 10mLを注入し、溶出液を採り、アセトニトリル及び水の混液 (7 : 3) 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

プロファム標準品のアセトニトリル及び水の混液 (7 : 3) 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 0.01mg/kg に相当する試験溶液中濃度は、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プロファムの含量を求める。

#### 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  $\mu$ m

カラム温度：40℃に保持する。

移動相：2 mmol/Lギ酸アンモニウム溶液及びメタノールの混液 (1 : 1) から (1 : 9) 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 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180、プロダクトイオン138、120

注入量：5  $\mu$ L

保持時間の目安：8分