

食安基発第 1128002 号
平成 17 年 11 月 28 日

各 検疫所長 殿

医薬食品局食品安全部基準審査課長
(公印省略)

「食品中の食品添加物分析法」の改正について

標記分析法については、「食品中の食品添加物分析法について」(平成 12 年 3 月 30 日付け衛化第 15 号厚生省生活衛生局食品化学課長通知)の別添「第2版 食品中の食品添加物分析法」により定めているところであるが、ナタマイシンの添加物指定に伴い、「食品中の食品添加物分析法」を下記のとおり改正したので通知する。

なお、貴職におかれても、御活用の上、貴管内関係者に対する周知徹底方よろしく願います。

記

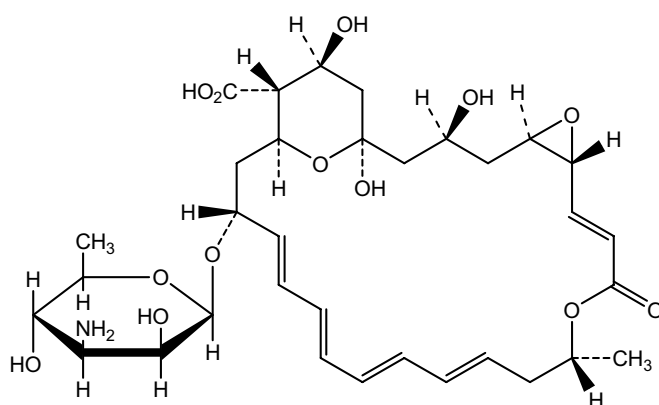
ナタマイシンが、本日、添加物として指定されたことに伴い、別添のナタマイシンの分析法を加えたこと。

別添

ナタマイシン

Natamycin

別名 ピマリシン



$C_{33}H_{47}NO_{13}$: 665.75

1. 試験法の概要

チーズ中のナタマイシンは、メタノールで抽出し、高速液体クロマトグラフィーにより定量する。

2. 試験法（液体クロマトグラフィー）^{1), 2)}

(1) 検体の採取と試料の調製

一般試料採取法を準用する³⁾。なお、チーズ⁴⁾から検体を採取する際には、次の諸点にも留意すること。

- 1 ロットの中から1容器又は1包装のチーズを採取する際には、そのチーズの重量に対する表皮（リンド）の面積の割合が、ロット中のチーズの中で平均的なものを選定すること。
- 2 ロットの中から選定したチーズから、その一部を採取する際には、チーズ全体の重量に対する採取した重量の割合と、チーズ全体に含まれる表皮の面積に対する採取した部分に含まれる表皮の面積の割合が、大きく異ならぬようにすること。
- 3 粉碎又は細切し均一とする前に、パラフィン等、明らかな非可食部を除くこと。

(2) 試料液の調製

試料約 10g を精密に量り、100ml のホモジナイザーカップ又は 200ml の共栓付三角フラスコに入れ、メタノール 50ml を加え、10,000rpm で 5 分間ホモジナイズ又は振とう器で 90 分間振とうした後、水 25 ml を加えて混和し、-20℃の冷凍庫で 1 時間冷却する。冷却後、抽出液をろ紙でろ過し、ろ液の最初の 5 ml を捨てる。残ったろ液を 0.45 μm のメンブランフィルターでろ過したものを、試料液とする。

(3) 検量線用標準液の調製

ナタマイシン標準品 0.010g を正確に量り、メタノールを加えて溶かし正確に 20ml とし、保存用標準原液とする⁵⁾ (この液 1ml は、ナタマイシン 500 μg を含む)。保存用標準原液 1.0ml にメタノール・水混液 (2 : 1) を加えて 50 ml とし、検量線用標準原液とする (この液 1ml は、ナタマイシン 10 μg を含む)。検量線用標準原液 0, 0.2, 1, 2, 5 及び 10ml をそれぞれ正確に量り、メタノール・水混液 (2 : 1) を加えてそれぞれ正確に 20ml とし、検量線用標準液とする (これらの液 1ml は、それぞれナタマイシン 0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.5 及び 5.0 μg を含む)。

(4) 測定法

① 測定条件

紫外外部吸収検出器付液体クロマトグラフを用い、次の条件によって測定する。

カラム充てん剤：オクタデシルシリル化シリカゲル⁶⁾

カラム管：内径 4.6mm, 長さ 150mm

カラム温度：40℃

移動相：メタノール・水・酢酸混液 (50 : 50 : 5)

流速：1.0ml/分

測定波長：304 nm

② 検量線⁷⁾

検量線用標準液それぞれ 20 μl ずつを正確に量り、液体クロマトグラフに注入し、得られたピーク面積からナタマイシンの検量線を作成する。

③ 定量

試料液 20 μl を正確に量り、液体クロマトグラフに注入し、得られたピーク面積と検量線から試料液中のナタマイシン濃度 (μg/ml) を求め、次式によって検体中のナタマイシン含量 (g/kg) を計算する。

$$\text{ナタマイシン含量 (g/kg)} = \frac{75 \times C}{1,000 \times W}$$

C : 試料液中のナタマイシン濃度 (μg/ml)

W : 試料の採取量 (g)

試薬・試液等

1. メタノール：[高速液体クロマトグラフ用]
2. 酢酸：[特級]
3. ろ紙：5種A（直径185 mm）
4. メンブランフィルター：孔径0.45 μm ，直径25mm 溶媒系
5. 水：超純水（逆浸透膜処理装置による精製，イオン交換樹脂による脱塩及びメンブランフィルターによるろ過等により，比抵抗値17M Ω ・cm以上まで精製した水）

[注]

- 1) 本法は，チーズ中のナタマイシンの分析に適用できる。
- 2) 本法によるナタマイシンの定量下限は，0.001g/kgである。
- 3) ナタマイシンは光により分解するので，操作中に直射日光あるいはUV照射が当たらないよう注意すること。
- 4) ナタマイシンはチーズの熟成過程における表面処理剤として用いられた場合，通常，チーズの内部に浸透せず，表面に残存する。
- 5) 保存用標準原液は，遮光して冷蔵保存すれば少なくとも1週間は安定である。
- 6) YMC-Pack ODS-AM-302（株）ワイエムシィ），Inertsil ODS-3V（ジールサイエンス株），Mightysil RP-18 GP 150-4.6（関東化学株）等のオクタデシルシリル化シリカゲルが充てんされている分析カラムが使用できる。カラムによりソルビン酸，デヒドロ酢酸等の保存料がナタマイシンのピークと重なる場合があるので，あらかじめ重ならないことを確認すること。
- 7) 共存成分によりピーク高さが影響されるので，定量はピーク面積で行う。