

令和3年度
輸出環境整備推進委託事業
(EU向け輸出畜水産物に係る体制整備事業)
報告書
(概要版)

令和4年3月

一般財団法人日本食品分析センター

目次

| | |
|---------------------------------------|----|
| I. 目的 | 1 |
| II. 事業内容 | 1 |
| III. 牛の筋肉を分析部位としたダイオキシン類の試験法の妥当性確認 | 4 |
| IV. ケーシングを分析部位とした残留物質等の試験法の開発及び妥当性確認 | 7 |
| V. 牛肉，鶏肉，鶏卵，生乳（牛/山羊/羊）及び水産物の試験法の妥当性確認 | 13 |

令和3年度輸出環境整備推進委託事業
(EU向け輸出畜水産物に係る体制整備事業) 報告書
(概要版)

I. 目的

本事業では、EUが畜水産物の輸入のために輸出国に求める残留物質等のモニタリング検査（以下「モニタリング検査」という。）に関して、EU規則に従った分析の妥当性確認を実施することにより、国内の試験検査機関の体制等を整備することを目的とする。

II. 事業内容

本事業においては、次の（１）、（２）及び（３）に掲げる内容を実施し、分析の妥当性確認等を実施するとともに、事業実施結果を取りまとめた報告書を作成する。なお、本事業の進捗状況については、農林水産省及び厚生労働省の担当部局（以下「担当部局」という。）がEU当局と協議を実施するに当たって適宜必要になることから、受託者は担当部局の要求に基づくデータ提供、資料作成等について柔軟に対応できる実施体制を構築する。

（１）牛の筋肉を分析部位としたダイオキシン類の試験法の妥当性確認

本年より新たにモニタリング検査の実施項目に追加したダイオキシン類について、EU規則「Commission Decision2002/657/EC」及び「Commission Regulation (EU) 2017/644」に従い、牛の筋肉を分析部位とした当該試験法の妥当性確認を行う。ダイオキシン類は、①PCDD及びPCDFの合計、②PCDD、PCDF及びDL-PCBの合計に係る試験法の妥当性確認を実施する。

（２）ケーシングを分析部位とした残留物質等の試験法の開発及び妥当性確認

EUとの協議により、新たにケーシングを分析部位とした試験法の開発が必要となった物質（別添1のGROUP OF SUBSTANCES TO BE MONITORED）について、試験法を開発した上で妥当性確認を行う。本試験法の妥当性確認は、令和3年11月26日（金）までに完了させ、農林水産省輸出・国際局輸出支援課（以下「事業担当課」という。）に完了したことを報告する。

各試験法の実施に当たっては、別添1の「CONFIR. METH. DETECTION LIMIT」を定量限界とした試験法の性能を確保する。

また、各試験法の妥当性評価に当たっては、「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」及びEU規則等に従う。

(別添1)残留物質モニタリング計画

| GROUP OF SUBSTANCES TO BE MONITORED | | NUMBER OF SAMPLES | COMPOUND or MARKER RESIDUE | MATRIX ANALYSED | CONFIRMATORY METHOD | CONFIRM. METH. DETECTION LIMIT [$\mu\text{g}/\text{kg}$] | LEVEL OF ACTION (i.e. concentration above which a result is deemed non-compliant) [$\mu\text{g}/\text{kg}$] | |
|-------------------------------------|--------------------------|-------------------|---|---|---------------------|--|---|-----|
| A6 | CHLORAMPHENICOL | 2 | Chloramphenicol | Casing | LC-MS/MS | 0.15 | 0.15 | |
| | NITROFURANS | 2 | Nitrofurantoin metabolite | AHD(1-aminohydantoin) | Casing | LC-MS/MS | 0.5 | 0.5 |
| | Furaladone metabolite | | AMOZ(3-amino-5-morpholinomethyl-2-oxazolidinone) | Casing | LC-MS/MS | 0.5 | 0.5 | |
| | Furazolidone metabolite | | AOZ(3-amino-2-oxazolidone) | Casing | LC-MS/MS | 0.5 | 0.5 | |
| | Nitrofurazone metabolite | | SEM(semicarbazide) | Casing | LC-MS/MS | 0.5 | 0.5 | |
| | NITROIMIDAZOLES | 2 | Dimetridazole | Dimetridazole[2-Hydroxymethyl-1-methyl-5-nitroimidazole(HMMNI)] | Casing | LC-MS/MS | 1 | 1 |
| | Ronidazole | | Ronidazole[2-Hydroxymethyl-1-methyl-5-nitroimidazole(HMMNI)] | Casing | LC-MS/MS | 1 | 1 | |
| | Metronidazole | | Metronidazole[1-(2-Hydroxyethyl)-2-hydroxymethyl-5-nitroimidazole(MNZOH)] | Casing | LC-MS/MS | 1 | 1 | |

(3) 牛肉，鶏肉，鶏卵，生乳（牛/山羊/羊）及び水産物の試験法の妥当性確認
EU 規則「Commission Regulation(EU)2019/1871」に規定されているReference points for action(RPA)を満たす試験法の妥当性確認を実施する。分析部位と検査物質の組み合わせは以下の表のとおり。

| 検査物質 | 分析部位 |
|---------------------------------|--|
| クロラムフェニコール (Chloramphenicol) | 牛の筋肉及び腎臓、鶏の筋肉、鶏卵、生乳（牛/山羊/羊）、水産物（皮及び筋肉） |
| ニトロフラン類 (Nitrofurans) | 牛の筋肉、鶏の筋肉、鶏卵、水産物（皮及び筋肉） |
| マラカイトグリーン (Malachite green) | 水産物（皮及び筋肉） |

また，各試験法の妥当性評価に当たっては，「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」及びEU規則等に従う。

Ⅲ. 牛の筋肉を分析部位としたダイオキシン類の試験法の妥当性確認

1) 適用組織

牛筋肉

2) 測定対象物質

ダイオキシン類，詳細は下の通り。

| | 塩素数 | 物質名 | 略号 |
|------|-----|---|---------------------------|
| PCDD | 4 | 2, 3, 7, 8-Techlorodibenzo- <i>p</i> -dioxin | 2, 3, 7, 8-TeCDD |
| | 5 | 1, 2, 3, 7, 8-Pechlorodibenzo- <i>p</i> -dioxin | 1, 2, 3, 7, 8-PeCDD |
| | 6 | 1, 2, 3, 4, 7, 8-Hxchlorodibenzo- <i>p</i> -dioxin | 1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDD |
| | | 1, 2, 3, 6, 7, 8-Hxchlorodibenzo- <i>p</i> -dioxin | 1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDD |
| | | 1, 2, 3, 7, 8, 9-Hxchlorodibenzo- <i>p</i> -dioxin | 1, 2, 3, 7, 8, 9-HxCDD |
| | 7 | 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-Hpchlorodibenzo- <i>p</i> -dioxin | 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDD |
| | 8 | 0chlorodibenzo- <i>p</i> -dioxin | OCDD |
| PCDF | 4 | 2, 3, 7, 8-Techlorodibenzofuran | 2, 3, 7, 8-TeCDF |
| | 5 | 1, 2, 3, 7, 8-Pechlorodibenzofuran | 1, 2, 3, 7, 8-PeCDF |
| | | 2, 3, 4, 7, 8-Pechlorodibenzofuran | 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF |
| | 6 | 1, 2, 3, 4, 7, 8-Hxchlorodibenzofuran | 1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDF |
| | | 1, 2, 3, 6, 7, 8-Hxchlorodibenzofuran | 1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDF |
| | | 1, 2, 3, 7, 8, 9-Hxchlorodibenzofuran | 1, 2, 3, 7, 8, 9-HxCDF |
| | | 2, 3, 4, 6, 7, 8-Hxchlorodibenzofuran | 2, 3, 4, 6, 7, 8-HxCDF |
| | 7 | 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-Hpchlorodibenzofuran | 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDF |
| | | 1, 2, 3, 4, 7, 8, 9-Hpchlorodibenzofuran | 1, 2, 3, 4, 7, 8, 9-HpCDF |
| | 8 | 0chlorodibenzofuran | OCDF |

| | 塩素数 | 物質名 | 略称及びID Number |
|------------|-----|---|-----------------------------------|
| コブダイナールPCB | 4 | 3, 4, 4', 5-Techlorobiphenyl | 3, 4, 4', 5-TeCB(#81) |
| | | 3, 3', 4, 4'-Techlorobiphenyl | 3, 3', 4, 4'-TeCB(#77) |
| | 5 | 3, 3', 4, 4', 5-Pechlorobiphenyl | 3, 3', 4, 4', 5-PeCB(#126) |
| | 6 | 3, 3', 4, 4', 5, 5'-Hxchlorobiphenyl | 3, 3', 4, 4', 5, 5'-HxCB(#169) |
| | 5 | 2', 3, 4, 4', 5-Pechlorobiphenyl | 2', 3, 4, 4', 5-PeCB(#123) |
| | | 2, 3', 4, 4', 5-Pechlorobiphenyl | 2, 3', 4, 4', 5-PeCB(#118) |
| | | 2, 3, 3', 4, 4'-Pechlorobiphenyl | 2, 3, 3', 4, 4'-PeCB(#105) |
| | | 2, 3, 4, 4', 5-Pechlorobiphenyl | 2, 3, 4, 4', 5-PeCB(#114) |
| | 6 | 2, 3', 4, 4', 5, 5'-Hxchlorobiphenyl | 2, 3', 4, 4', 5, 5'-HxCB(#167) |
| | | 2, 3, 3', 4, 4', 5-Hxchlorobiphenyl | 2, 3, 3', 4, 4', 5-HxCB(#156) |
| | | 2, 3, 3', 4, 4', 5'-Hxchlorobiphenyl | 2, 3, 3', 4, 4', 5'-HxCB(#157) |
| | 7 | 2, 3, 3', 4, 4', 5, 5'-Hpchlorobiphenyl | 2, 3, 3', 4, 4', 5, 5'-HpCB(#189) |

3) 分析法の要旨

試料をアルカリでけん化した後、試料中のダイオキシン類をヘキサンで抽出した。その後、硫酸洗浄、多層シリカゲルカラム、DMSO処理、活性炭シリカゲルカラム、アルミナカラムで精製し、ガスクロマトグラフトリプル四重極形質量分析計で定量を行った。

4) 妥当性評価

① 検量線の直線性、最小検出量

PCDD及びPCDFは4,5塩素化物が0.01~20 ng/mL, 6,7塩素化物が 0.02~40 ng/mL, 8塩素化物が 0.05~100 ng/mLの範囲で6点を3回繰り返し測定、コプラナーPCBは0.01~200 ng/mLの範囲で8点を3回繰り返し測定し検量線を作成した。

平均RRFのRSDr%は10 %未満、検量線の相関係数 $r=0.995$ 以上の良好な相関を示した。また、最小濃度の標準溶液(4,5塩素化物が20 fg/2 μ L, 6,7塩素化物が40 fg/2 μ L, 8塩素化物が 100 fg/2 μ L, ノンオルトコプラナーPCB が20 fg/2 μ L, モノオルトコプラナーPCB が10 fg/1 μ L)のS/N比は全て10以上であった。

② 特異性

可能な限りダイオキシン類の濃度の低い牛肉を選定し、コントロール試料として本試験方法で合計20回試験を行った。すべての検体において、不検出異性体に関しては当該保持時間に妨害ピークがなく、検出された異性体に関しては異性体ピーク近傍に定量を阻害するピークがないことを確認した。

③ 添加回収試験(真度)

含有されるダイオキシン類がおおむね定量下限未満であることをあらかじめ確認したコントロール試料(牛肉)20 g(脂質19.5 %)に対して、最大許容基準値MRL(PCDD+PCDFで2.5 pg-TEQ/g-fat, ダイオキシン類で4.0 pg-TEQ/g-fat)の0.5倍(0.5MRL), 1.0倍(1.0MRL)及び2.0倍(2.0MRL)となるようにダイオキシン類を添加した試料について本試験方法で添加回収試験を行い、平均回収率及び併行相対標準偏差(RSDr%)を求めた。コントロール試料から検出された1,2,3,4,6,7,8-HpCDD, OCDD, #77, #126及び#118についてはコントロール試料の検出濃度(n=3の平均値)を差し引いて回収率を算出した。なお、試験はそれぞれの添加濃度で繰り返し6回実施した。

全ての添加濃度において、PCDD+PCDF及びダイオキシン類のTEQ並びに各異性体濃度いずれも真度の目標値(平均回収率80~120 %)を満たした。また、添加回収試験における内標準(サロゲート)の回収率はいずれも60 %以上120 %未満であった。

④ 測定の不確かさ(精度)

含有されるダイオキシン類がおおむね定量下限未満であることをあらかじめ確認したコントロール試料(牛肉)20 g(脂質19 %)に、それぞれ試料中濃度として0.5MRL, 1.0MRL, 2.0MRLに相当するようにダイオキシン類を添加した試料について本試験方法で試験を行った。各測定値を一元配置の分散分析により解析し、得られた室内再現精度(RSDr%)を各濃度

における測定の不確かさとした。なお試験は1日6回、3日間繰り返し実施した。

各濃度の6回×3日間繰り返し試験における室内再現精度はTEQ(1.23～2.56 %)及び各異性体(0.85～7.66 %)全てにおいて精度の目標値15 %以下と良好な結果であった。

⑤ 定量下限

試料を用いずに、本試験方法で定量下限相当の添加回収試験を繰り返し5回行った。その5回の測定値の標準偏差の10倍を定量下限とし、試料量20 g、脂質20 %相当の定量下限を算出した。定量下限値から算出されるTEQ合計値はPCDD+PCDFで0.25 pg-TEQ/g-fat、ダイオキシン類で0.27 pg-TEQ/g-fatとなり、それぞれ最大許容基準値MRL(PCDD+PCDFで2.5 pg-TEQ/g-fat、ダイオキシン類で4.0 pg-TEQ/g-fat)の1/5を下回った。

⑥ 要約

①～⑤の結果から、本試験法は牛筋肉を対象とした最大許容基準値MRL(PCDD+PCDFで2.5 pg-TEQ/g-fat相当、ダイオキシン類で4.0 pg-TEQ/g-fat相当)を判断する残留分析法として妥当であると評価された。

IV. ケーシングを分析部位とした残留物質等の試験法の開発及び妥当性確認

ケーシングについて開発した試験項目，対象物質，定量下限及び試験法の概要（表-1）及び開発した試験法及び妥当性評価結果を以下に示した。

表-1 ケーシングの試験法開発結果概要

| 項目名 | | 開発物質 | 試験法 | 定量下限 (μ g/kg) |
|-----|--------------|---|----------|-----------------------|
| A6 | クロラムフェニコール | クロラムフェニコール | LC-MS/MS | 0.15 |
| A6 | ニトロフラン類 | | | |
| | ニトロフラントイン代謝物 | 1-アミノヒダントイン 略称：AHD | LC-MS/MS | 0.5 |
| | フラルタドン代謝物 | 3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドン 略称：AMOZ | LC-MS/MS | 0.5 |
| | フラゾリドン代謝物 | 3-アミノ-2-オキサゾリドン 略称：AOZ | LC-MS/MS | 0.5 |
| | ニトロフラゾン代謝物 | セミカルバシドン 略称：SEM | LC-MS/MS | 0.5 |
| A6 | ニトロイミダゾール類 | | | |
| | ジメトリタゾール | 2-ヒドロキシメチル-1-メチル-5-ニトロイミダゾール 略称：HMMNI | LC-MS/MS | 1 |
| | ロニタゾール | 2-ヒドロキシメチル-1-メチル-5-ニトロイミダゾール 略称：HMMNI | LC-MS/MS | 1 |
| | メトロニタゾール | 1-(2-ヒドロキシエチル)-2-ヒドロキシメチル-5-ニトロイミダゾール 略称：MNZOH | LC-MS/MS | 1 |

1. クロラムフェニコール

1) 適用組織

ケーシング

2) 測定対象物質

クロラムフェニコール (CP) (クロラムフェニコールグルクロン酸抱合体を含む)

3) 分析法の要旨

試料中のクロラムフェニコールをメタノールで抽出後、 β -グルクロニダーゼで加水分解を行った。その後、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を行った。

4) 妥当性評価

① 選択性

ケーシングにおいてブランク試料を本試験法に従って試験したところ、クロラムフェニコールは、クロマトグラム上に定量を妨害するピークが検出されないことを確認した。

② 添加回収試験(真度及び精度)

ケーシングの試料 5 g にクロラムフェニコールが 0.15 μ g/kg となるように添加し、本試験法に従って操作を行った。なお、試験は 1 日試行 2 回、5 日間実施した。

クロラムフェニコールはケーシングについて真度の目標値(70~120 %)及び精度の目標値(併行精度 30 %未満, 室内精度 35 %未満)を満たした。

また、内標準として用いたクロラムフェニコール- d_5 の回収率は 40 %以上であった。

③ 定量下限

定量下限相当添加の試料溶液から得られたピークの SN 比は、クロラムフェニコールで目標値(10 以上)を満たした。

④ 要約

①~③の結果から、本試験法はケーシングを対象とした定量下限 0.15 μ g/kg での残留分析法として妥当であると評価された。

2. ニトロフラン類

1) 適用組織

ケーシング

2) 測定対象物質

ニトロフラントイン代謝物：1-アミノヒダントイン(AHD)

フラルタドン代謝物：3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドン(AMOZ)

フラゾリドン代謝物：3-アミノ-2-オキサゾリドン(AOZ)

ニトロフラゾン代謝物：セミカルバジド(SEM)

3) 分析法の要旨

試料中の1-アミノヒダントイン、3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドン、3-アミノ-2-オキサゾリドン及びセミカルバジドを塩酸で抽出した。その後、*o*-ニトロベンズアルデヒドで誘導体化し、多孔性ケイソウ土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した。

4) 妥当性評価

① 選択性

ケーシングにおいてブランク試料を本試験法に従って試験したところ、1-アミノヒダントイン及び3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドンのいずれにおいても、クロマトグラム上に定量を妨害するピークが検出されないことを確認した。また、3-アミノ-2-オキサゾリドン及びセミカルバジドにおいては測定対象物質のピーク保持時間に検体由来のピークが検出されたが、定量下限の1/3以下であった。

② 添加回収試験(真度及び精度)

ケーシングの試料5 gに1-アミノヒダントイン、3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドン、3-アミノ-2-オキサゾリドン及びセミカルバジドが各0.5 µg/kgとなるように添加し、本試験法に従って操作を行った。なお、試験は1日試行2回、5日間実施した。

1-アミノヒダントイン、3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドン、3-アミノ-2-オキサゾリドン及びセミカルバジドはケーシングについていずれも真度の目標値(70~120%)及び精度の目標値(併行精度30%未満、室内精度35%未満)を満たした。

また、内標準として用いた1-アミノヒダントイン¹³C₃、3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドン-d₅、3-アミノ-2-オキサゾリドン-d₄及びセミカルバジド-¹³C₁¹⁵N₂の回収率はいずれも40%以上であった。

③ 定量下限

定量下限相当添加の試料溶液から得られたピークの SN 比は、1-アミノヒダントイン、3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドン、3-アミノ-2-オキサゾリドン及びセミカルバジドのいずれの項目においても目標値(10 以上)を満たした。

④ 要約

①～③の結果から、本試験法はケーシングを対象とした定量下限 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ での残留分析法として妥当であると評価された。

3. ニトロイミダゾール類

1) 適用組織

ケーシング

2) 測定対象物質

ジメトリダゾール及びロニダゾール：2-ヒドロキシメチル-1-メチル-5-ニトロイミダゾール(HMMNI)

メトロニダゾール：1-(2-ヒドロキシエチル)-2-ヒドロキシメチル-5-ニトロイミダゾール(MNZOH)

3) 分析法の要旨

試料から目的物質をアセトンで抽出した。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を行った。

4) 妥当性評価

① 選択性

ケーシングにおいてブランク試料を本試験法に従って試験したところ、2-ヒドロキシメチル-1-メチル-5-ニトロイミダゾール及び1-(2-ヒドロキシエチル)-2-ヒドロキシメチル-5-ニトロイミダゾールのいずれにおいても、クロマトグラム上に定量を妨害するピークが検出されないことを確認した。

② 添加回収試験(真度及び精度)

ケーシングの試料 10 g に 2-ヒドロキシメチル-1-メチル-5-ニトロイミダゾール及び 1-(2-ヒドロキシエチル)-2-ヒドロキシメチル-5-ニトロイミダゾールが各 1 μ g/kg となるように添加し、本試験法に従って操作を行った。なお、試験は 1 日 試行 2 回、5 日間実施した。

2-ヒドロキシメチル-1-メチル-5-ニトロイミダゾール及び 1-(2-ヒドロキシエチル)-2-ヒドロキシメチル-5-ニトロイミダゾールはいずれも真度の目標値(70~120 %)及び精度の目標値(併行精度 30 %未満、室内精度 35 %未満)を満たした。

また、内標準として用いた 2-ヒドロキシメチル-1-(メチル- d_3)-5-ニトロイミダゾール及び 1-(2-ヒドロキシエチル- d_4)-2-ヒドロキシメチル-5-ニトロイミダゾールの回収率はいずれも 40 %以上であった。

③ 定量下限

定量下限相当添加の試料溶液から得られたピークのSN比は、2-ヒドロキシメチル-1-メチル-5-ニトロイミダゾール及び 1-(2-ヒドロキシエチル)-2-ヒドロキシメチル-5-ニトロイミダゾールのいずれの項目においても目標値(10以上)を満たした。

④ 要約

①～③の結果から，本試験法はケーシングを対象とした定量下限 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ での残留分析法として妥当であると評価された。

V. 牛肉，鶏肉，鶏卵，生乳（牛/山羊/羊）及び水産物の試験法の妥当性確認

牛肉，鶏肉，鶏卵，生乳（牛/山羊/羊）及び水産物について開発した試験項目，対象物質，定量下限及び試験法の概要（表-1）及び開発した試験法及び妥当性評価結果を以下に示した。

表-1 牛肉，鶏肉，鶏卵，生乳（牛/山羊/羊）及び水産物の試験法及び定量下限等

| 検査物質 | 評価物質 | 分析部位 | 定量下限 (μ g/kg) | RPA (μ g/kg) |
|--------------|--|--|-----------------------|----------------------|
| クロラムフェニコール | クロラムフェニコール | 牛の筋肉及び腎臓，鶏の筋肉，鶏卵，生乳（牛/山羊/羊），水産物（皮及び筋肉） | 0.15 | 0.15 |
| ニトロフラン類 | | | | |
| ニトロフアントイン代謝物 | 1-アミノヒダントイン 略称：AHD | 牛の筋肉，鶏の筋肉，鶏卵，水産物（皮及び筋肉） | 0.5 | 0.5 |
| フラタルトニン代謝物 | 3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドン 略称：AMOZ | | 0.5 | 0.5 |
| フラゾリドン代謝物 | 3-アミノ-2-オキサゾリドン 略称：AOZ | | 0.5 | 0.5 |
| ニトロフラゾン代謝物 | セミカルバシド 略称：SEM | | 0.5 | 0.5 |
| マラカイトグリーン | マラカイトグリーン | 水産物（皮及び筋肉） | 0.5 | 0.5 |
| | ロイコマラカイトグリーン | | 0.5 | 0.5 |

1. クロラムフェニコール

1) 適用組織

牛の筋肉, 牛の腎臓, 鶏の筋肉, 鶏卵, 生乳(牛/山羊/羊)及び水産物(皮及び筋肉)

2) 測定対象物質

クロラムフェニコール(CP)(クロラムフェニコールグルクロン酸抱合体を含む)

3) 分析法の要旨

試料中のクロラムフェニコールをメタノールで抽出後, β -グルクロニダーゼで加水分解を行った。その後, 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を行った。

4) 妥当性評価

① 選択性

牛の筋肉, 牛の腎臓, 鶏の筋肉, 鶏卵, 生乳(牛/山羊/羊)及び水産物(皮及び筋肉)のブランク試料を本試験法に従って試験したところ, クロラムフェニコールは, クロマトグラム上に定量を妨害するピークが検出されないことを確認した。

② 添加回収試験(真度及び精度)

牛の筋肉, 牛の腎臓, 鶏卵, 生乳(牛)及び水産物(皮及び筋肉)の試料 5 g にクロラムフェニコールが各 0.15 μ g/kg となるように添加し, 本試験法に従って操作を行った。なお, 試験は 1 日試行 2 回, 5 日間実施した。

クロラムフェニコールは牛の筋肉, 牛の腎臓, 鶏卵, 生乳(牛)及び水産物(皮及び筋肉)について真度の目標値(70~120%)及び精度の目標値(併行精度 30%未満, 室内精度 35%未満)を満たした。

また, 内標準として用いたクロラムフェニコール- d_5 の回収率は 40%以上であった。

③ 添加回収試験(真度)

鶏の筋肉及び生乳(山羊/羊)の試料 5 g にクロラムフェニコールが各 0.15 μ g/kg となるように添加し, 本試験法に従って操作を行った。なお, 試験は 1 日試行 5 回実施した。

クロラムフェニコールは鶏の筋肉及び生乳(山羊/羊)についていずれも真度の目標値(70~120%)を満たした。

④ 定量下限

定量下限相当添加の試料溶液から得られたピークの SN 比は, クロラムフェニコールで目標値(10 以上)を満たした。

⑤ 要約

①～④の結果から，本試験法は牛の筋肉，牛の腎臓，鶏の筋肉，鶏卵，生乳（牛/山羊/羊）及び水産物（皮及び筋肉）を対象とした定量下限 $0.15 \mu\text{g}/\text{kg}$ での残留分析法として妥当であると評価された。

2. ニトロフラン類

1) 適用組織

牛の筋肉、鶏の筋肉、鶏卵及び水産物(皮及び筋肉)

2) 測定対象物質

ニトロフラントイン代謝物：1-アミノヒダントイン(AHD)

フラルタドン代謝物：3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドン(AMOZ)

フラゾリドン代謝物：3-アミノ-2-オキサゾリドン(AOZ)

ニトロフラゾン代謝物：セミカルバジド(SEM)

3) 分析法の要旨

試料中の1-アミノヒダントイン、3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドン、3-アミノ-2-オキサゾリドン及びセミカルバジドを塩酸で抽出した。なお、水産物(皮及び筋肉)においてはヘキサン洗浄を行った。その後、*o*-ニトロベンズアルデヒドで誘導体化し、多孔性ケイソウ土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した。

4) 妥当性評価

① 選択性

牛の筋肉、鶏の筋肉、鶏卵及び水産物(皮及び筋肉)においてブランク試料を本試験法に従って試験したところ、1-アミノヒダントイン、3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドン、3-アミノ-2-オキサゾリドン及びセミカルバジドのいずれにおいても、クロマトグラム上に定量を妨害するピークが検出されないことを確認した。

② 添加回収試験(真度及び精度)

牛の筋肉、鶏卵及び水産物(皮及び筋肉)の試料5 gに1-アミノヒダントイン、3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドン、3-アミノ-2-オキサゾリドン及びセミカルバジドが各0.5 μ g/kgとなるように添加し、本試験法に従って操作を行った。なお、試験は1日試行2回、5日間実施した。

1-アミノヒダントイン、3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドン、3-アミノ-2-オキサゾリドン及びセミカルバジドは牛の筋肉、鶏卵及び水産物(皮及び筋肉)についていずれも真度の目標値(70~120%)及び精度の目標値(併行精度30%未満、室内精度35%未満)を満たした。

また、内標準として用いた1-アミノヒダントイン- $^{13}\text{C}_3$ 、3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドン- -d_5 、3-アミノ-2-オキサゾリドン- -d_4 及びセミカルバジド- $^{13}\text{C}_1^{15}\text{N}_2$ の回収率はいずれも40%以上であった。

③ 添加回収試験(真度)

鶏の筋肉の試料5 gに1-アミノヒダントイン、3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドン、3-アミノ-2-オキサゾリドン及びセミカルバジドが各0.5 μ g/kgと

なるように添加して、本試験法に従って操作を行った。なお、試験は1日試行5回実施した。

1-アミノヒダントイン、3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドン、3-アミノ-2-オキサゾリドン及びセミカルバジドは鶏の筋肉についていずれも真度の目標値(70~120%)を満たした。

また、内標準として用いた1-アミノヒダントイン¹³C₃、3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドン-d₅、3-アミノ-2-オキサゾリドン-d₄及びセミカルバジド-¹³C₁¹⁵N₂の回収率はいずれも40%以上であった。

④ 定量下限

定量下限相当添加の試料溶液から得られたピークのSN比は、1-アミノヒダントイン、3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドン、3-アミノ-2-オキサゾリドン及びセミカルバジドのいずれの項目においても目標値(10以上)を満たした。

⑤ 要約

①~④の結果から、本試験法は牛の筋肉、鶏の筋肉、鶏卵及び水産物(皮及び筋肉)を対象とした定量下限0.5 μg/kgでの残留分析法として妥当であると評価された。

3. マラカイトグリーン

1) 適用組織

水産物(皮及び筋肉)

2) 測定対象物質

マラカイトグリーン(MG)及びロイコマラカイトグリーン(LMG)

3) 分析法の要旨

15 %BHT・エタノール溶液及び50 %クエン酸溶液を加えて均一化した試料から目的物質をアセトンで抽出した。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4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た後、液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計で定量を行った。

4) 妥当性評価

① 選択性

水産物(皮及び筋肉)においてブランク試料を本試験法に従って試験したところ、マラカイトグリーン及びロイコマラカイトグリーンのいずれにおいても、クロマトグラム上に定量を妨害するピークが検出されないことを確認した。

② 添加回収試験(真度及び精度)

水産物(皮及び筋肉)の試料10 gに相当する量にマラカイトグリーン及びロイコマラカイトグリーンが各0.5 μ g/kgとなるように添加し、本試験法に従って操作を行った。なお、試験は1日試行2回、5日間実施した。

マラカイトグリーン及びロイコマラカイトグリーンは水産物(皮及び筋肉)についていずれも真度の目標値(70~120 %)及び精度の目標値(併行精度30 %未満、室内精度35 %未満)を満たした。

また、内標準として用いたマラカイトグリーン- d_5 及びロイコマラカイトグリーン- d_5 の回収率はいずれも40 %以上であった。

③ 定量下限

定量下限相当添加の試料溶液から得られたピークのSN比は、マラカイトグリーン及びロイコマラカイトグリーンのいずれの項目においても目標値(10以上)を満たした。

④ 要約

①~③の結果から、本試験法は水産物(皮及び筋肉)を対象とした定量下限0.5 μ g/kgでの残留分析法として妥当であると評価された。

以 上