

令和 4 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 12 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. EU ガイダンスの MMPR を満たす試験法の開発及び妥当性確認	3
1. 食肉(牛尿)	3
2. 鶏(肝臓)	12
3. 水産(皮及び筋肉)	15

令和 4 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ガイダンスに従った試験法の開発及び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、下記に掲げる内容を実施し、試験法の開発及び妥当性確認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、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当局とモニタリング検査に関する協議を実施するに当たって適宜必要になる場合があることから、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。

EUガイダンスのMMPRを満たす試験法の開発及び妥当性確認

EUの「EURL guidance on minimum method performance requirements (MMPR) for specific pharmacologically active substances in specific animal matrices」（EUガイダンス）に定めるSubstances, Matrix 及びthe minimum method performance requirements（以下「MMPR」という。）の組合せのうち、MMPRを満たしていない検査法（別添 1）について、MMPRを目標の定量下限とする試験法の開発及び妥当性確認を実施する。

各試験法の妥当性確認等に当たっては、「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)

Substances		Marker residue metabolite	Matrix	MMPR	対象
A1	Diethylstilbestrol (DES)	—	Urine	0.5 ppb	食肉 (牛尿)
A3	Ethinylestradiol	—	Urine	0.5 ppb	食肉 (牛尿)
	Methyltestosterone	—	Urine	0.5 ppb	
	17 β -trenbolone	17 α -trenbolone	Urine	0.5 ppb	
	Dexamethasone	—	Urine	0.5 ppb	
	Methyltestosterone	—	Muscle and skin	1 ppb	水産 (皮及び筋肉)
A4	Zeranol	Taleranol	Urine	1 ppb	食肉 (牛尿)
A5	Clenbuterol	—	Urine	0.1 ppb	食肉 (牛尿)
	Ractopamine	—	Urine	0.5 ppb	
	Salbutamol	—	Urine	0.5 ppb	
	Zilpaterol	—	Urine	0.5 ppb	
	Cimaterol	—	Urine	0.1 ppb	
	Clenbuterol	—	Liver	0.1 ppb	鶏 (肝臓)
	Ractopamine	—	Liver	0.5 ppb	
	Salbutamol	—	Liver	0.5 ppb	
	Zilpaterol	—	Liver	0.5 ppb	
	Cimaterol	—	Liver	0.1 ppb	
Other substances B3e	Crystal violet (Gentian violet)	Crystal violet and Leucocrystal violet (Leucogentianviolet)	Muscle and skin	0.5 ppb	水産 (皮及び筋肉)

III. EU ガイダンスの MMR を満たす試験法の開発及び妥当性確認

試験法の開発及び妥当性確認で使用した牛尿試料は農林水産省より提供された。また、鶏肝臓及び水産物(ブリ)試料はインターネット販売より市販品を購入した。

1. 食肉(牛尿)

食肉(牛尿)において各検査物質及び評価物質について開発した試験法、定量下限及びMMRの概要(表-1)並びに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 食肉(牛尿)の試験法開発結果概要

検査物質		評価物質	試験法	定量下限 (μ g/kg)	MMR (μ g/kg)
A1	ジ`エチルスチルヘ`ストロール	ジ`エチルスチルヘ`ストロール	LC-MS/MS	0.5	0.5
A3	エチニルエストラジ`オール	エチニルエストラジ`オール	LC-MS/MS	0.5	0.5
	メチルテストステロン	メチルテストステロン		0.5	0.5
	17 β -トレンボ`ロン	17 α -トレンボ`ロン		0.5	0.5
	テ`キサメタゾ`ン	テ`キサメタゾ`ン		0.5	0.5
A4	セ`ラノール	タレラノール	LC-MS/MS	1	1
A5	クレンブ`テロール	クレンブ`テロール	LC-MS/MS	0.1	0.1
	ラクトハ`ミン	ラクトハ`ミン		0.5	0.5
	サルブ`タモール	サルブ`タモール		0.5	0.5
	ジ`ルハ`テロール	ジ`ルハ`テロール		0.5	0.5
	シマテロール	シマテロール		0.1	0.1

1.1 A1 ジエチルスチルベストロール

1) 適用組織

食肉(牛尿)

2) 測定対象物質

ジエチルスチルベストロール (DES)

3) 分析法の要旨

試料を β -グルクロニダーゼで加水分解を行った後、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム及びアミノ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-タンデム質量分析計で定量した。

4) 妥当性評価

① 選択性

食肉(牛尿)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、ジエチルスチルベストロールの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)

食肉(牛尿)の試料 5 mL にジエチルスチルベストロールが $0.5 \mu\text{g/L}$ 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。

得られた添加回収試験の結果を表-1.1-1 に示した。

表-1.1-1 食肉(牛尿)中のジエチルスチルベストロールの添加回収試験の結果

添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	測定値 ($\mu\text{g/L}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.5	1回目	0.519	0.481	0.537	0.507	0.503	0.518	103.6	4.2	4.8
	2回目	0.508	0.501	0.544	0.516	0.566				

以上の結果から、ジエチルスチルベストロールは食肉(牛尿)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ジエチルスチルベストロール- d_8 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、ジエチルスチルベストロールで目標値(10 以上)を満たした。

④ 要約

①～③の結果から，本試験法は食肉(牛尿)を対象とした定量下限 $0.5 \mu\text{g/L}$ の残留分析法として妥当であると評価された。

1.2 A3 エチニルエストラジオール，メチルテストステロン， 17β -トレンボロン及びデキサメタゾン

1) 適用組織

食肉(牛尿)

2) 測定対象物質

エチニルエストラジオール(EEST)，メチルテストステロン(MeTES)， 17α -トレンボロン(α -TRN)及びデキサメタゾン(DMS)

3) 分析法の要旨

試料を β -グルクロニダーゼで加水分解を行った後，オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム及びアミノ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-タンデム質量分析計で定量した。

4) 妥当性評価

① 選択性

食肉(牛尿)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，エチニルエストラジオール，メチルテストステロン， 17α -トレンボロン及びデキサメタゾ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)

食肉(牛尿)の試料 5 mL にエチニルエストラジオール，メチルテストステロン， 17α -トレンボロン及びデキサメタゾンが $0.5 \mu\text{g/L}$ 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。

得られた添加回収試験の結果を表-1.2-1～-4 に示した。

表-1.2-1 食肉(牛尿)中のエチニルエストラジオールの添加回収試験の結果

添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	測定値($\mu\text{g/L}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.5	1回目	0.529	0.540	0.501	0.532	0.463	0.510	102.0	4.6	8.1
	2回目	0.481	0.544	0.547	0.534	0.431				

表-1.2-2 食肉(牛尿)中のメチルテストステロンの添加回収試験の結果

添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	測定値($\mu\text{g/L}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.5	1回目	0.517	0.513	0.533	0.518	0.563	0.533	106.6	1.7	3.6
	2回目	0.540	0.530	0.533	0.520	0.565				

表-1.2-3 食肉(牛尿)中の 17α -トレンボロンの添加回収試験の結果

添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	測定値($\mu\text{g/L}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.5	1回目	0.536	0.489	0.524	0.493	0.541	0.515	102.9	2.7	5.8
	2回目	0.562	0.471	0.498	0.502	0.530				

表-1.2-4 食肉(牛尿)中のデキサメタゾンの添加回収試験の結果

添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	測定値($\mu\text{g/L}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.5	1回目	0.568	0.515	0.505	0.506	0.512	0.516	103.3	3.1	5.6
	2回目	0.550	0.520	0.527	0.472	0.488				

以上の結果から、エチニルエストラジオール、メチルテストステロン、 17α -トレンボロン及びデキサメタゾンは食肉(牛尿)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エチニルエストラジオール-2, 4, 16, 16- d_4 、4-アンドロステン- 17α -メチル- d_3 - 17β -オール-3-オン、 $[\text{H}_5]$ - α -トレンボロン、デキサメタゾン-4, 6 α , 21, 21- d_4 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、エチニルエストラジオール、メチルテストステロン、 17α -トレンボロン及びデキサメタゾ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、本試験法は食肉(牛尿)を対象とした定量下限 0.5 $\mu\text{g/L}$ での残留分析法として妥当であると評価された。

1.3 A4 ゼラノール

1) 適用組織

食肉(牛尿)

2) 測定対象物質

タレラノール

3) 分析法の要旨

試料を β -グルクロニダーゼで加水分解を行った後、試料中のタレラノールをイムノアフィニティーカラムで精製し、液体クロマトグラフー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

食肉(牛尿)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)

食肉(牛尿)の試料 2.5 mL にタレラノールが 1 μ g/L 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。

得られた添加回収試験の結果を表-1.3-1 に示した。

表-1.3-1 食肉(牛尿)のタレラノールの添加回収試験の結果

添加 濃度 (μ g/L)	測定値(μ g/L)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
1	1回目	0.98	0.93	1.05	1.06	0.89	1.00	100.2	4.3	7.3
	2回目	1.05	1.05	1.04	1.06	0.90				

以上の結果から、タレラノールは食肉(牛尿)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。

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、目標値(10 以上)を満たした。

④ 要約

①~③の結果から、本試験法は食肉(牛尿)を対象とした定量下限 1 μ g/L での残留分析法として妥当であると評価された。

1.4 A5 クレンブテロール，ラクトパミン，サルブタモール，ジルパテロール及びシマテロール

1) 適用組織

食肉(牛尿)

2) 測定対象物質

クレンブテロール(CBT)，ラクトパミン(RCP)，サルブタモール(SAL)，ジルパテロール(ZPT)及びシマテロール(CMT)

3) 分析法の要旨

試料を β -グルクロニダーゼで加水分解を行った後，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，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

食肉(牛尿)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，クレンブテロール，ラクトパミン，サルブタモール，ジルパテロール及びシマテロ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)

食肉(牛尿)の試料 2.5 mL にクレンブテロール及びシマテロールが各 0.1 μ g/L，ラクトパミン，サルブタモール及びジルパテロールが各 0.5 μ g/L 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。

得られた添加回収試験の結果を表-1.4-1～-5 に示した。

表-1.4-1 食肉(牛尿)中のクレンブテロールの添加回収試験の結果

添加濃度 (μ g/L)	測定値(μ g/L)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.1	1回目	0.096	0.104	0.098	0.103	0.106	0.101	101.3	2.4	4.1
	2回目	0.095	0.103	0.104	0.099	0.105				

表-1.4-2 食肉(牛尿)中のラクトパミンの添加回収試験の結果

添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	測定値($\mu\text{g/L}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.5	1回目	0.513	0.506	0.495	0.526	0.515	0.509	101.8	1.5	2.1
	2回目	0.514	0.492	0.508	0.519	0.503				

表-1.4-3 食肉(牛尿)中のサルブタモールの添加回収試験の結果

添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	測定値($\mu\text{g/L}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.5	1回目	0.485	0.494	0.492	0.504	0.512	0.498	99.7	1.6	2.1
	2回目	0.501	0.480	0.504	0.506	0.505				

表1.4-4 食肉(牛尿)中のジルパテロールの添加回収試験の結果

添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	測定値($\mu\text{g/L}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.5	1回目	0.512	0.514	0.483	0.524	0.506	0.507	101.5	2.9	3.1
	2回目	0.512	0.500	0.519	0.525	0.479				

表-1.4-5 食肉(牛尿)中のシマテロールの添加回収試験の結果

添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	測定値($\mu\text{g/L}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.1	1回目	0.102	0.107	0.104	0.112	0.116	0.106	106.4	5.3	6.5
	2回目	0.093	0.106	0.112	0.100	0.111				

以上の結果から、クレブテロール、ラクトパミン、サルブタモール、ジルパテロール及びシマテロールは食肉(牛尿)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クレブテロール-d₉、ラクトパミン-d₆、サルブタモール-d₉、ジルパテロール-¹³C₃及びシマテロール-d₇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、クレンブテロール、ラクトパミン、サルブタモール、ジルパテロール及びシマテロ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、本試験法は食肉(牛尿)を対象とした、定量下限としてクレンブテロール及びシマテロールについては $0.1 \mu\text{g/L}$ 、ラクトパミン、サルブタモール及びジルパテロールについては $0.5 \mu\text{g/L}$ での残留分析法として妥当であると評価された。

2. 鶏（肝臓）

鶏（肝臓）において各検査物質及び評価物質について開発した試験法，定量下限及びMMPRの概要（表-2）並びに開発した試験法及び妥当性評価結果を以下に示した。

表-2 鶏（肝臓）の試験法開発結果概要

検査物質		評価物質	試験法	定量下限 (μ g/kg)	MMPR (μ g/kg)
A5	クレンブ [®] テロール	クレンブ [®] テロール	LC-MS/MS	0.1	0.1
	ラクトハ [®] ミン	ラクトハ [®] ミン		0.5	0.5
	サルブ [®] タモール	サルブ [®] タモール		0.5	0.5
	ジ [®] ルハ [®] テロール	ジ [®] ルハ [®] テロール		0.5	0.5
	シマテロール	シマテロール		0.1	0.1

2.1 A5 クレンブテロール，ラクトパミン，サルブタモール，ジルパテロール及びシマテロール

1) 適用組織

鶏(肝臓)

2) 測定対象物質

クレンブテロール(CBT)，ラクトパミン(RCP)，サルブタモール(SAL)，ジルパテロール(ZPT)及びシマテロール(CMT)

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

鶏(肝臓)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、クレンブテロール、ラクトパミン、サルブタモール、ジルパテロール及びシマテロ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)

鶏(肝臓)の試料 10 g にクレンブテロール及びシマテロールが各 0.1 μ g/kg，ラクトパミン，サルブタモール及びジルパテロールが各 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。得られた添加回収試験の結果を表-2.1-1～-5 に示した。

表-2.1-1 鶏(肝臓)中のクレンブテロールの添加回収試験の結果

添加濃度 (μ g/kg)	測定値(μ g/kg)							平均回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.1	1回目	0.106	0.096	0.096	0.111	0.096	0.103	103.2	5.1	5.4
	2回目	0.103	0.106	0.102	0.108	0.107				

表-2.1-2 鶏(肝臓)中のラクトパミンの添加回収試験の結果

添加濃度 (μ g/kg)	測定値(μ g/kg)							平均回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.5	1回目	0.504	0.492	0.495	0.497	0.519	0.506	101.2	1.9	1.9
	2回目	0.514	0.513	0.510	0.505	0.510				

表-2.1-3 鶏(肝臓)中のサルブタモールの添加回収試験の結果

添加濃度 (μ g/kg)	測定値(μ g/kg)							平均回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.5	1回目	0.480	0.484	0.479	0.492	0.511	0.498	99.5	3.0	3.0
	2回目	0.495	0.520	0.505	0.503	0.508				

表-2.1-4 鶏(肝臓)中のジルパテロールの添加回収試験の結果

添加濃度 (μ g/kg)	測定値(μ g/kg)							平均回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.5	1回目	0.543	0.521	0.510	0.509	0.526	0.516	103.2	3.1	3.1
	2回目	0.496	0.508	0.511	0.516	0.521				

表-2.1-5 鶏(肝臓)中のシマテロールの添加回収試験の結果

添加濃度 (μ g/kg)	測定値(μ g/kg)							平均回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.1	1回目	0.108	0.091	0.094	0.102	0.097	0.101	101.4	5.5	5.9
	2回目	0.107	0.102	0.108	0.104	0.100				

以上の結果から、クレンプテロール、ラクトパミン、サルブタモール、ジルパテロール及びシマテロールは鶏(肝臓)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クレンプテロール-d₉、ラクトパミン-d₆、サルブタモール-d₉、ジルパテロール-¹³C₃及びシマテロール-d₇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、クレンプテロール、ラクトパミン、サルブタモール、ジルパテロール及びシマテロ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、本試験法は鶏(肝臓)を対象とした、定量下限としてクレンプテロール及びシマテロールについては 0.1 μ g/kg、ラクトパミン、サルブタモール及びジルパテロールについては 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。

3. 水産(皮及び筋肉)

水産(皮及び筋肉)において各検査物質及び評価物質について開発した試験法、定量下限及びMMPRの概要(表-3)並びに開発した試験法及び妥当性評価結果を以下に示した。

表-3 水産(皮及び筋肉)の試験法開発結果概要

検査物質		評価物質	試験法	定量下限 (μ g/kg)	MMPR (μ g/kg)
A3	メチルテストステロン	メチルテストステロン	LC-MS/MS	1	1
B3e	クリスタルハニオレット (ゲンチアナハニオレット)	クリスタルハニオレット (ゲンチアナハニオレット)	LC-MS/MS	0.5	0.5
		ロイコクリスタルハニオレット (ロイコゲンチアナハニオレット)		0.5	0.5

3.1 A3 メチルテストステロン

1) 適用組織

水産(皮及び筋肉)

2) 測定対象物質

メチルテストステロン (MeTES)

3) 分析法の要旨

試料から目的物質をアセトニトリル及びメタノールの混液(4:1)で抽出した。ヘキサン洗浄し、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム及びアミノプロピ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-タンデム質量分析計で定量を行った。

4) 妥当性評価

① 選択性

水産(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、メチルテストステロンは、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)

水産(皮及び筋肉)の試料 5 g にメチルテストステロンが 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。

得られた添加回収試験の結果を表-3.1-1 に示した。

表-3.1-1 水産(皮及び筋肉)中のメチルテストステロンの添加回収試験の結果

添加 濃度 (μ g/kg)	測定値 (μ g/kg)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
1	1回目	1.10	1.07	1.06	0.97	1.01	1.04	104.5	2.6	3.7
	2回目	1.07	1.03	1.07	1.03	1.04				

以上の結果から、メチルテストステロンは水産(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 4-アンドロステン-17 α -メチル-d₃-17 β -オール-3-オン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、メチルテストステロンで目標値(10 以上)を満たした。

④ 要約

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

3.2 B3e クリスタルバイオレット(ゲンチアナバイオレット)

1) 適用組織

水産(皮及び筋肉)

2) 測定対象物質

クリスタルバイオレット(CV)及びロイコクリスタルバイオレット(ロイコゲンチアナバイオレット)(LCV)

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ー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(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、クリスタルバイオレット及びロイコクリスタルバイオレット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(皮及び筋肉)の試料 10 g に相当する量にクリスタルバイオレット及びロイコクリスタルバイオレットが各 0.5 $\mu\text{g/kg}$ 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。

得られた添加回収試験の結果を表-3.2-1~2 に示した。

表-3.2-1 水産(皮及び筋肉)中のクリスタルバイオレットの添加回収試験の結果

添加濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	測定値 ($\mu\text{g/kg}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.5	1回目	0.467	0.501	0.495	0.555	0.436	0.484	96.7	4.3	8.7
	2回目	0.491	0.480	0.441	0.533	0.437				

表-3.2-2 水産(皮及び筋肉)中のロイコクリスタルバイオレットの添加回収試験の結果

添加濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	測定値 ($\mu\text{g/kg}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.5	1回目	0.487	0.522	0.546	0.491	0.473	0.496	99.2	4.8	6.1
	2回目	0.503	0.527	0.489	0.446	0.473				

以上の結果から、クリスタルバイオレット及びロイコクリスタルバイオレットは水産(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クリスタルバイオレット-d₄及びロイコクリスタルバイオレット-d₄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、クリスタルバイオレット及びロイコクリスタルバイオレット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(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