

令和4年度  
輸出環境整備推進委託事業  
(EU向け残留物質等モニタリング検査の  
試験法検討及び妥当性確認) 報告書  
(概要版)

令和5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. 試験法の検討及び妥当性確認              | 3 |
| 1. ドキシサイクリン                     | 4 |
| 2. ホスホマイシン                      | 5 |
| 3. オルビフロキサシン, オフロキサシン及びオキシロニック酸 | 6 |

令和4年度輸出環境整備推進委託事業  
(EU向け残留物質等モニタリング検査の試験法検討及び妥当性確認) 報告書  
(概要版)

## I. 目的

EUは、畜水産物（牛肉，鶏肉，鶏卵，生乳，養殖魚等）の輸入に当たって輸出国政府に農薬，動物用医薬品等の残留物質等モニタリング検査の実施を輸出の要件の1つとして求めており，我が国はEUに対して残留物質等モニタリング計画を策定して提出している。このたび，EUから本計画について，検査項目として含まれていない物質の追加検討を求める指摘があった。

このため，EUから指摘のあった物質について，国内での使用状況等を考慮して試験法の検討や妥当性確認の実施が必要な物質を整理したところである。

本事業では，そのうち，優先的に試験法の検討及び妥当性確認を実施するものを選定し，残留物質等モニタリング検査の体制等を整備することによって，引き続き，円滑な輸出を図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，試験法の検討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，適宜データ等が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。

### 試験法の検討及び妥当性確認を実施する物質

別添1に掲げるSubstances, Matrix 及び目標とする定量下限の組合せで，試験法の検討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。

| Substances |               | Matrix                        | 目標<br>定量下限 | 対象           |
|------------|---------------|-------------------------------|------------|--------------|
| B1         | Doxycycline   | Kidney                        | 0.01 mg/kg | 牛腎臓          |
|            |               | Fin fish<br>(Muscle and Skin) | 0.01 mg/kg | 魚<br>(皮及び筋肉) |
|            | Fosfomycin    | Kidney                        | 0.01 mg/kg | 牛腎臓          |
|            |               | Fin fish<br>(Muscle and Skin) | 0.01 mg/kg | 魚<br>(皮及び筋肉) |
|            | Orbifloxacin  | Liver                         | 0.01 mg/kg | 牛肝臓          |
|            |               | Muscle                        | 0.01 mg/kg | 牛筋肉          |
|            | Ofloxacin     | Liver                         | 0.01 mg/kg | 鶏肝臓          |
|            |               | Muscle                        | 0.01 mg/kg | 鶏筋肉          |
|            | Oxolinic Acid | Liver                         | 0.01 mg/kg | 牛肝臓          |
|            |               | Muscle                        | 0.01 mg/kg | 牛筋肉          |
|            |               | Liver                         | 0.01 mg/kg | 鶏肝臓          |
|            |               | Muscle                        | 0.01 mg/kg | 鶏筋肉          |

### Ⅲ. 試験法の検討及び妥当性確認

試験法の検討及び妥当性確認で使用した試料は、インターネット販売または小売店より市販品を購入した。

牛腎臓、牛肝臓、牛筋肉、鶏肝臓、鶏筋肉及び魚(ブリ)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 牛腎臓、牛肝臓、牛筋肉、鶏肝臓、鶏筋肉及び魚の試験法及び定量下限等

| 検査物質      | 評価物質      | 分析部位             | 試験法      | 定量下限<br>(mg/kg) |
|-----------|-----------|------------------|----------|-----------------|
| トキシサイクリン  | トキシサイクリン  | 牛腎臓及び魚(皮及び筋肉)    | LC-MS/MS | 0.01            |
| ホスホマイシン   | ホスホマイシン   | 牛腎臓及び魚(皮及び筋肉)    | LC-MS/MS | 0.01            |
| オルビフロキサシン | オルビフロキサシン | 牛肝臓及び牛筋肉         | LC-MS/MS | 0.01            |
| オフロキサシン   | オフロキサシン   | 鶏肝臓及び鶏筋肉         | LC-MS/MS | 0.01            |
| オキシリニック酸  | オキシリニック酸  | 牛肝臓、牛筋肉、鶏肝臓及び鶏筋肉 | LC-MS/MS | 0.01            |

## 1. ドキシサイクリン

### 1) 適用組織

牛腎臓及び魚(皮及び筋肉)

### 2) 測定対象物質

ドキシサイクリン

### 3) 分析法の要旨

試料からドキシサイクリンを 10 mmol/L エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム含有マッキルベイン緩衝液(pH4.0)で抽出した。スチレンジビニルベンゼ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

牛腎臓及び魚(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、クロマトグラム上にドキシサイクリンの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)

牛腎臓の試料 5 g にドキシサイクリンが 10  $\mu$ g/kg となるように添加し、魚(皮及び筋肉)の試料 5 g にドキシサイクリンが 50  $\mu$ 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。

ドキシサイクリンは牛腎臓について真度の目標値(70~120%)及び精度の目標値(併行精度 25%未満, 室内精度 30%未満)を、魚(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 15%未満, 室内精度 20%未満)を満たした。

#### ③ 定量下限

ブランク試料の試料溶液で調製した 0.5  $\mu$ g/L(定量下限濃度に対応する濃度)の標準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、本試験法は牛腎臓及び魚(皮及び筋肉)を対象とした定量下限 10  $\mu$ g/kg での残留分析法として妥当であると評価された。

## 2. ホスホマイシン

### 1) 適用組織

牛腎臓及び魚(皮及び筋肉)

### 2) 測定対象物質

ホスホマイシン(FOM)

### 3) 分析法の要旨

試料から目的物質をメタノールで抽出した。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3級アルキルアミン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

牛腎臓及び魚(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、クロマトグラム上にホスホマイシンの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)

牛腎臓及び魚(皮及び筋肉)の試料 10 g にホスホマイシンが 10  $\mu$ 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。

ホスホマイシンは牛腎臓及び魚(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 25 %未満, 室内精度 30 %未満)を満たした。

また、内標準として用いたホスホマイシン-<sup>13</sup>C<sub>3</sub>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、ホスホマイシンで目標値(10 以上)を満たした。

#### ④ 要約

①~③の結果から、本試験法は牛腎臓及び魚(皮及び筋肉)を対象とした定量下限 10  $\mu$ g/kg での残留分析法として妥当であると評価された。

### 3. オルビフロキサシン， オフロキサシン及びオキシリニック酸

#### 1) 適用組織

牛肝臓(オルビフロキサシン及びオキシリニック酸)

牛筋肉(オルビフロキサシン及びオキシリニック酸)

鶏肝臓(オフロキサシン及びオキシリニック酸)

鶏筋肉(オフロキサシン及びオキシリニック酸)

#### 2) 測定対象物質

オルビフロキサシン， オフロキサシン及びオキシリニック酸

#### 3) 分析法の要旨

試料からオルビフロキサシン， オフロキサシン及びオキシリニック酸を 0.2 %メタリン酸及びアセトニトリルの混液(3:2)で抽出した。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

牛肝臓，牛筋肉，鶏肝臓及び鶏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，オルビフロキサシン，オフロキサシン及びオキシリニック酸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)

牛肝臓，牛筋肉，鶏肝臓及び鶏筋肉の試料 5 g にオルビフロキサシン，オフロキサシン及びオキシリニック酸が各 10  $\mu$ 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。

オルビフロキサシンは牛肝臓及び牛筋肉について，オフロキサシンは鶏肝臓及び鶏筋肉について，オキシリニック酸は牛肝臓，牛筋肉，鶏肝臓及び鶏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 25 %未満，室内精度 30 %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，オルビフロキサシン，オフロキサシン及びオキシリニック酸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，本試験法は牛肝臓，牛筋肉，鶏肝臓及び鶏筋肉を対象とした定量下限 10  $\mu$ g/kg での残留分析法として妥当であると評価された。