

フェンアミドン試験法（畜産物）

1. 分析対象化合物

フェンアミドン

5-メチル-5-フェニルイミダゾリジン-2,4-ジオン(以下「MPID」という。)

2. 装置

ガスクロマトグラフ・質量分析計(GC/MS)を用いる。

3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則2に示すものを用いる。

フェンアミドン標準品 本品はフェンアミドン 99%以上を含み、融点は137℃である。

MPID標準品 本品はMPID 99%以上を含む。

スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラム(500mg) 内径8~9mmのポリエチレン製のカラム管に、スチレンジビニルベンゼン共重合体500mgを充てん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。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及びその他の食用部分の場合は、細切均一化した後、その5.0 gを量り採る。

乳の場合は、20.0 gを量り採る。

これにアセトニトリル50 mL、アセトニトリル飽和 *n*-ヘキサン50 mL及び無水硫酸ナトリウム10 g(乳の場合は40 g)を加え、3分間ホモジナイズした後、毎分3,000回転で5分間遠心分離を行う。アセトニトリル層を採り、*n*-ヘキサン層及び残留物にアセトニトリル50 mLを加え上記と同様にホモジナイズ及び遠心分離を行う。得られたアセトニトリル層を先のアセトニトリル層に合わせ、40℃以下で濃縮し溶媒を除去する。この残留物に水・メタノール混液(3:2)10 mLを加えて溶かす。

2) 精製

① スチレンジビニルベンゼン共重合体カラムクロマトグラフィー及び活性炭カラムクロマトグラフィー

スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラム(500 mg)にメタノール及び水各5 mLを注入し、流出液は捨てる。活性炭ミニカラム(500 mg)にメタノール5 mLを注入し、流出液は捨てる。スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラムに、1)で得られた溶液を注入した後、容器を水・メタノール混液(3:2)10 mLで洗い、洗液を先のカラムに注入し、流出液は捨てる。次いで、スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラムの下部に活性炭ミニカラムを接続し、メタノール20 mLを注入する。溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に酢酸エチル・*n*-ヘキサン混液(1:19)5 mLを加えて溶かす。

② アミノプロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム(1,000 mg)に酢酸エチル・*n*-ヘキサン混

液(1:19)5 mLを注入し流出液は捨てる。このカラムに①で得られた溶液を注入した後、容器を酢酸エチル・*n*-ヘキサン混液(1:19)5 mLで洗い、洗液を先のカラムに注入する操作を3回繰り返し、流出液は捨てる。次いで、酢酸エチル・*n*-ヘキサン混液(3:7)20 mLを注入し、溶出液を分取する(溶出液Ⅰ)。さらにアセトン・*n*-ヘキサン混液(3:7)10 mLを注入し、流出液を捨てた後、アセトン・*n*-ヘキサン混液(3:7)20 mLを注入し、溶出液を分取する(溶出液Ⅱ)。溶出液Ⅰを40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトンに溶解し、正確に1 mLとしたものをフェンアミドン用試験溶液とする。溶出液Ⅱを同様に濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトンに溶解し、正確に1mLとしたものをMP I D用試験溶液とする。

5. 検量線の作成

フェンアミドン標準品の0.1~2 mg/Lアセトン溶液及びMP I D標準品の0.05~0.5 mg/Lアセトン溶液を数点調製し、それぞれ2 μ LをGC/MS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。

6. 定量

試験溶液2 μ LをGC/MSに注入し、5の検量線でフェンアミドン及びMP I Dの含量を求める。次式により、MP I Dを含むフェンアミドンの含量を求める。

フェンアミドン(MP I Dを含む。)の含量(ppm) = $A + B \times 1.64$

A : フェンアミドンの含量(ppm)

B : MP I Dの含量(ppm)

7. 測定条件

検出器 : GC/MS

カラム : 50%トリフルオロプロピルメチルシリコン、
内径0.25 mm、長さ30 m、膜厚0.25 μ m

カラム温度 : 100°C(1分) - 20°C/分 - 260°C(10分)

注入口温度 : 250°C

キャリアーガス : ヘリウム

イオン化モード(電圧) : EI (70 eV)

主なイオン(*m/z*) : フェンアミドン ; 311、268、238 MP I D ; 175、104

保持時間の目安 : フェンアミドン 約8.4分、MP I D 約7.4分

8. 定量限界

筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及びその他の食用部分 :

フェンアミドン 0.02 mg/kg、MP I D 0.01 mg/kg

乳 : フェンアミドン 0.005 mg/kg、MP I D 0.003 mg/kg

9. 留意事項

1) 分析値

フェンアミドン及びその代謝物であるMP I Dのそれぞれについて定量を行い、MP I Dについてはその含量に係数を乗じてフェンアミドンの含量に変換し、これらの和を分析値とすること。

2) 試験法の概要

フェンアミドン及びMP I Dを試料からアセトニトリルで抽出し、アセトニトリル飽和 *n*-ヘキサンで洗浄する。スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラム、活性炭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により精製した後、GC/MSで測定、確認する方法である。

3) 注意点

- ① MP I D試験溶液の精製が不十分な場合は、シリカゲルミニカラム(1,000 mg)による精製を追加するとよい。操作概要を以下に記す。アセトン・*n*-ヘキサン混液(3:17) 5mLでコンディショニングしたカラムに、MP I D画分を同混液(3:17)5 mLで負荷、同混液15 mLで洗浄、アセトン・*n*-ヘキサン混液(1:1)10 mLで溶出する。
- ② フェンアミドン及びMP I Dの感度が試験溶液の注入前後で大幅に変動する可能性がある為、あらかじめ試験溶液を数回注入して、感度を十分に安定させた後、測定を行う等の措置が必要である。
- ③ MP I DのGC/MS測定においてマイクロシリンジ及び注入口部でキャリーオーバー(メモリー効果)が起こる。特に高濃度のMP I Dを注入した後は注入口を洗浄するためにアセトンを3、4回注入し、MP I Dのピークが検出しないことを確認してから次の試験溶液の測定を行う必要がある。

10. 参考文献

なし

11. 類型

C(未確認)

12. その他

ミニカラムについては、平成17年1月24日付け厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課事務連絡「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法に係る分析上の留意事項について」の別添を参考にすること。