

メラミン試験法

1. 分析対象化合物

メラミン

2. 性能基準

以下に示す性能を有する試験法とする。その評価は、分析対象食品に定量限界濃度又はその2倍の濃度のメラミンを添加して回収試験を行い、得られた結果に基づき行う。

原則として下記の要件に適合すること。

1) 定量限界

0.5 mg/kg

2) 選択性

分析対象化合物を含まない試料（ブランク試料）について操作を行い、定量を妨害するピークがないことを確認すること。妨害ピークを認める場合は、定量限界濃度に相当するピークの面積（又は高さ）の1/3未満であることを確認すること。

3) 回収率

70～120%（内標準を用いる場合は、内標準の回収率が40%以上であること。）

4) 併行精度

RSD < 10% (n ≥ 5)

3. 試験法例

別紙の試験法を参考例として示す。

(別紙) メラミン試験法例

1. 分析対象化合物

メラミン

2. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計 (LC-MS/MS)

3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、「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ついて」(平成 17 年 1 月 24 日付け食安発第 0124001 号。以下試験法通知という。) 別添の第 1 章総則の 3 に示すものを用いる。

アセトニトリル 残留農薬分析用

50%アセトニトリル 等量のアセトニトリルと水を混合する

アンモニア水 (25%)

5%アンモニア-メタノール溶液 アンモニア水 (25%) とメタノールを 1 : 19 の比率で混合する

0.1 及び 1 mol/L 塩酸

酢酸アンモニウム

水

メタノール

エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム (500 mg)

強酸性陽イオン交換体ミニカラム (500 mg)

0.2 µm PTFE フィルター

メラミン標準品 (純度 98%以上)

メラミン内標準品*¹ メラミン-¹⁵N₃又はメラミン-¹³C₃・¹⁵N₃

*¹: 林純薬又は和光純薬から入手可能

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

均一化した試料 5.0 g を量り採り、メラミン内標準品の 50%アセトニトリル溶液 (10 µg/mL) 0.5 mL 及び 50%アセトニトリル 25 mL を加え、ホモジナイズ後、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離し、上清を抽出液とする。

2) 精製

① エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム (500 mg)*²にメタノール 5 mL、50%アセトニトリル 5 mLを順次注入し、流出液は捨てる。このカラムに 1)抽出で得られた抽出液 5 mLを注入した後、50%アセトニトリル 1 mLを注入する。全溶出液を合わせ、1 mol/L塩酸 130 µLを加える。

*²: VARIAN Bond Elut PSA 500mg のカラムを用いて行った一例である。

② 強酸性陽イオン交換体ミニカラム (500 mg)^{*3} にメタノール 5 mL、水 5 mLを順次注入し、流出液は捨てる。このカラムに①で得られた溶出液を注入した後、0.1 mol/L塩酸 2 mL、メタノール 1 mLを順次注入し、流出液は捨てる。次いで 5%アンモニアメタノール溶液 5 mLを注入する。溶出液を減圧乾固した残留物に 50%アセトニトリル 10 mLを加え、5分間超音波処理する。得られた溶液 1 mLを採り、50%アセトニトリル 1 mLを加え、0.2 μm PTFEフィルターでろ過する。得られたろ液を試験溶液とする。

*3 : VARIAN Bond Elut SCX 500mg のカラムを用いて行った一例である。

5. 測定条件

カラム : SeQuant ZIC-HILIC (内径 2.1 mm、長さ 100 mm、粒子径 3.5 μm)

カラム温度 : 40°C

移動相 : A: 10 mM 酢酸アンモニウム、B: アセトニトリル

A: 15% (0-4分)、60% (4-5分)

流速 : 0.2 mL 毎分

保持時間 : 2.5 分

注入量 : 5 μL

イオン化モード : ESI (+)

質量分析計パラメーター^{*4} :

測定対象化合物		トランジション	Cone (V)	Collision (V)
メラミン	ターゲット 1	127 > 68	30	30
	ターゲット 2	127 > 85		
メラミン内標準	ターゲット 1	130 > 87	30	30
	ターゲット 2	130 > 69		

*4 : 質量分析計としてWaters Quattro Premier XE、メラミン内標準としてメラミン-¹⁵Nを用いて行った一例である。