

事 務 連 絡
平成 20 年 2 月 4 日

各検疫所 御中

厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課

食品中に残留する農薬メタミドホスに係る試験法について

標記については「食品中に残留する農薬、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）によりお示ししているところです。

今般、中国産冷凍ギョウザが原因と疑われる健康被害事例の発生に鑑み、通知試験法に若干の改良を加え、加工食品中に高濃度に残留する農薬メタミドホスの検査に対応した試験法を別添のとおりお示ししますので、試験を実施される際の参考とされますようお願いいたします。

なお、本試験法は、あくまで食品中に高濃度に残留するメタミドホスの検査を目的とするものであり、残留基準値の検査に必要な感度（定量限界：0.01ppm）は得られていないことにご留意ください。

メタミドホス試験法

1. 分析対象化合物

メタミドホス

2. 装置

炎光光度型検出器（リン用干渉フィルター）付きガスクロマトグラフ（GC-FPD(P)）、ガスクロマトグラフ・質量分析計（GC/MS）、液体クロマトグラフ・質量分析計（LC/MS）又は液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計（LC/MS/MS）を用いる。

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）別添の第 1 章総則の 3 に示すものを用いる。

メタミドホス標準品 本品はメタミドホス 99%以上を含み、融点は 44.5 である。

酵母エキス：Oxid 社製又は同等品

酵母エキス抽出液：酵母エキス 10 g に沸騰水 25 mL を加え溶解する。これに酢酸エチル 75 mL を加え、ホモジナイズした上清液を無水硫酸ナトリウムで脱水し、酢酸エチルで 120 mL に調整する。

4. 試験溶液の調製

均一化した試料 10.0 g を量り採り、酢酸エチル 75 mL 及び無水硫酸ナトリウム 75 g を加え、5 分間細砕した後、すり合わせ減圧濃縮器中に吸引ろ過する。次いで酢酸エチル 20 mL を用いてろ紙上の残留物を洗う操作を 3 回繰り返す。これらの洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40 以下で濃縮後酢酸エチルで正確に 20 mL として、これを試験溶液とする。LC/MS 及び LC/MS/MS で測定する場合には、試験溶液 2 mL をとり、窒素を吹き付けて溶媒を除去した後、水及びメタノール（4：1）混液を加えて正確に 2 mL として、これを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

メタミドホス標準品をアセトンに溶解し、1 mg/mL とし標準原液とする。GC-FPD(P)及び GC/MS 測定では、標準原液を酵母エキス抽出液で希釈し 10 µg/mL とし、この溶液を酵母エキス抽出液で適宜希釈して必要な濃度の希釈標準溶液を数点調製する。LC/MS 及び LC/MS/MS 測定では、標準原液を水及びメタノール（4：1）混液で希釈し 10 µg/mL とし、この溶液を水及びメタノール（4：1）混液で適宜希釈して必要な濃度の希釈標準溶液を数点調製する。希釈標準溶液をそれぞれ GC-FPD(P)、GC/MS、LC/MS 又は LC/MS/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

試験溶液を GC-FPD(P)、GC/MS、LC/MS 又は LC/MS/MS に注入し、5 の検量線でメタミドホスの含量を求める。

7. 確認試験

GC/MS、LC/MS 又は LC/MS/MS により確認する。

8 . 測定条件

(例)

1) GC

検出器 : FPD(P)

カラム : DB-1701 内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μ m

カラム温度 : 60 (2分) - 25 /分 - 150 (0分) - 3 /分 - 200 (0分) - 30 /分 - 270 (10分)

注入口温度 : 250

検出器温度 : 270

キャリアーガス : ヘリウム

保持時間の目安 : 10分

ガス流量 : 空気及び水素の流量を至適条件に調整する。

注入量 : 1 μ L

2) GC/MS

カラム : HP-5MS 内径 0.25mm、長さ 30m、膜厚 0.25 μ m

カラム温度 : 60 (2分) - 25 /分 - 150 (0分) - 3 /分 - 200 (0分) - 30 /分 - 270 (10分)

注入口温度 : 250

キャリアーガス : ヘリウム

イオン化モード(電圧) : EI (70eV)

主なイオン (m/z) : 141、95、94

保持時間の目安 : 10分

注入量 : 1 μ L

3) LC/MS 又は LC/MS/MS

カラム : Atrantis dC18 内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 3 μ m

カラム温度 : 40

移動相 : A 液、B 液、C 液及び D 液の混液 (90 : 5 : 2.5 : 2.5) から (55 : 40 : 2.5 : 2.5) までの濃度勾配を 6 分で行う。

A 液 : 水

B 液 : アセトニトリル

C 液 : 0.2% 酢酸溶液

D 液 : 200 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液

イオン化モード : ESI (+)

主なイオン (m/z) :

LC/MS の場合 142、94、125

LC/MS/MS の場合 プリカーサーイオン 142、プロダクトイオン 94、125

保持時間の目安 : 5分

注入量 : 10 μ L

9. 定量限界

0.2 mg/kg

10. 留意事項

1) 試験法の概要

メタミドホスを試料から無水硫酸ナトリウムで脱水しながら酢酸エチルで抽出した後、GC-FPD(P)、GC/MS、LC/MS 又は LC/MS/MS で測定及び確認する方法である。

2) 注意点

標準溶液のメタミドホスは、ガスクロマトグラフ分析時、注入口やカラムに吸着される。それを防ぐために、標準溶液を調製する溶媒である酢酸エチルに何らかの物質を溶解した方がよい場合がある。溶解させる物質は、成分が安定していて常に同一のものが入手でき、しかも繰り返し使用したときに再現性が保て、カラムへの影響がないものが望ましい。酵母エキス抽出液を用いると良いとする報告があったことから、酵母エキス抽出液を用いて標準溶液を調製する方法を示した。酵母エキス抽出液の代わりに他の適切な添加剤を用いても良い。また、測定に問題がなければ標準溶液調製時に添加剤を用いなくても良い。なお、LC/MS 測定では、酵母エキス抽出液を用いなくても一般に測定上の影響等はみられない。

酢酸エチル試験溶液 2 mL を減圧乾固し、水及びメタノール (4:1) 混液で再溶解すると、餃子成分中の脂肪分により LC/MS 測定用試験溶液が白濁する。このような場合には、遠心分離後、シリンジフィルターでろ過し、試験溶液とすると良い。

LC/MS 又は LC/MS/MS 測定に用いる移動相は、次の条件を用いても良い。

移動相：A 液及び B 液の混液 (95 : 5) から (60 : 40) までの濃度勾配を 6 分で行う。

A 液：0.005% 酢酸及び 5 mmol/L 酢酸アンモニウムを含有した水溶液

B 液：アセトニトリル

11. 参考文献

小川ら、食品衛生学雑誌、38 巻 4 号、p.204 ~ 210 (1997)