事　務　連　絡
平成２０年３月７日

各 ( 都道府県 / 保健所設置市 / 特別区 ) 衛生主管部（局）食品衛生担当課　御中

厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課

食品中に残留する有機リン系農薬に係る試験法について

加工食品中に残留する有機リン系農薬の試験法については、平成２０年２月４日付け事務連絡「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」等でお示ししているところですが、今般、新たに対応が可能と確認された農薬を追加するとともに、試験法の留意点についても若干の追加修正を行い、別添のとおり改めることとしましたので、参考までにお知らせします。本試験法は、あくまで食品中に高濃度に残留するこれら農薬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：0.01mg/kg）は得られていないことを申し添えます。

なお、平成２０年２月４日付け事務連絡「食品中に残留する農薬メタミドホス試験法について」並びに平成２０年２月８日及び２月２１日付け事務連絡「食品中に残留する有機リン系農薬に係る試験法について」は廃止します。

（別添）

# 有機リン系農薬試験法

## １． 分析可能な有機リン系農薬

別表参照

## 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。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。

各農薬標準品 各農薬の純度が明らかなもの。

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 10.0ｇを量り採り、酢酸エチル 75 mL 及び無水硫酸ナトリウム 75ｇ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

各農薬の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 10μg/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 10μg/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の検量線で各農薬の含量を求める。

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 μm

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℃

キャリヤーガス：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 μL

2）GC/MS

（例１）

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

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℃

キャリヤーガス：ヘリウム

イオン化モード(電圧)：EI（70eV）

注入量：1 μL

（例２）

カラム：DB-5MS　内径 0.25mm、長さ 30m、膜厚 0.25 μm

カラム温度：50℃（1 分）－25℃/分－125℃（0 分）－10℃/分－300℃（10 分）

注入口温度：250℃

キャリヤーガス：ヘリウム

イオン化モード(電圧)：EI（70eV）

注入量：2 μL

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 μm

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（+）
注入量：10 μL

９．定量限界
0.2 mg/kg

10. 留意事項
１）試験法の概要
各農薬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
①別表は本法を適用できる有機リン系農薬を示したものであるが、規制対象となる品目には本法の適用が確認されていない代謝物等が含まれる場合があるので留意すること。また、本試験法の適用については、別表の「適用の確認」欄に〇のある検出器による試験結果により確認したものである。

②標準溶液の農薬は、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場合がある。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良い場合がある。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。

③試験溶液の調製において、酢酸エチル抽出液の濃縮過程では乾固しないよう注意が必要であり、酢酸エチル抽出液を約 10mL に濃縮後、酢酸エチルで 20mL に定容すると良い。

④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，食品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とがある。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。

⑤GC/MS による測定を行う際の、各農薬の測定イオンについては、試験法通知の「GC/MS による農薬等の一斉試験法（農産物）」又は「GC/MS による農産物の一斉試験法（畜水産物）」の別表に示す測定イオンを参考とされたい。また、「８．測定条件」に示す GC/MS（例２）の条件はこれらの一斉試験法における測定条件と同一であり、保持時間の目安として、一斉試験法の別表に示す保持指標を利用できる。

⑥LC/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

⑦正確な分析値を得るためには、マトリックス添加標準溶液、標準添加法又は安定同位体標識標準品を用いることが必要な場合がある。

⑧定量限界は、使用する装置、試験溶液の濃縮倍率及び試験溶液注入量により異なるので、必要に応じて最適条件を検討する。また、分析対象化合物によっては、試験溶液を繰り返し注入すると試料マトリックスの影響により感度が低下することがあるので留意すること。

11.　参考文献

小川ら、食品衛生学雑誌、38 巻 4 号、p.204～210（1997）

(別表)

# 有機リン系農薬試験法で分析可能な農薬

| | 品目名 | 適用の確認 | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | GC (GC-FPD) | GC/MS (例1) | GC/MS (例2) | LC/MS又はLC/MS/MS |
| 1 | EPN | ○ | | ○ | |
| 2 | アジンホスエチル | | | ○ | |
| 3 | アジンホスメチル | | | ○ | |
| 4 | アセフェート | ○ | | ○ | ○ |
| 5 | イソキサチオン | | | ○ | |
| 6 | イソフェンホス | ○ | | ○ | |
| 7 | イプロベンホス | ○ | | | |
| 8 | エチオン | ○ | | ○ | |
| 9 | エディフェンホス | ○ | | ○ | |
| 10 | エトプロホス | ○ | | ○ | |
| 11 | エトリムホス | ○ | | ○ | |
| 12 | オメトエート | | | ○ | |
| 13 | カズサホス | ○ | | ○ | |
| 14 | キナルホス | ○ | | ○ | |
| 15 | クマホス | | | ○ | |
| 16 | クロルピリホス | ○ | | ○ | |
| 17 | クロルピリホスメチル | ○ | | ○ | |
| 18 | クロルフェンビンホス | ○ | | ○ | |
| 19 | サリチオン | ○ | | ○ | |
| 20 | シアノフェンホス | ○ | | | |
| 21 | シアノホス | ○ | | ○ | |
| 22 | ジクロフェンチオン | ○ | | | |
| 23 | ジクロルボス | ○ | | ○ | |
| 24 | ジスルホトン | | | ○ | |
| 25 | ジメチルビンホス | ○ | | ○ | |
| 26 | ジメトエート | ○ | | ○ | |
| 27 | スルプロホス | ○ | | | |
| 28 | ダイアジノン | ○ | | ○ | |
| 29 | チオメトン | ○ | | ○ | |

| | 品目名 | 適用の確認 | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | GC (GC-FPD) | GC/MS (例1) | GC/MS (例2) | LC/MS又はLC/MS/MS |
| 30 | テルブホス | ○ | | ○ | |
| 31 | トルクロホスメチル | ○ | | ○ | |
| 32 | バミドチオン | | | ○ | |
| 33 | パラチオン | ○ | | ○ | |
| 34 | パラチオンメチル | ○ | | ○ | |
| 35 | ピラクロホス | ○ | | ○ | |
| 36 | ピリダフェンチオン | ○ | | ○ | |
| 37 | ピリミホスメチル | ○ | | ○ | |
| 38 | フェナミホス | | | ○ | |
| 39 | フェニトロチオン | ○ | | ○ | |
| 40 | フェンスルホチオン | ○ | | ○ | |
| 41 | フェンチオン | ○ | | ○ | |
| 42 | フェントエート | ○ | | ○ | |
| 43 | ブタミホス | ○ | | ○ | |
| 44 | プロチオホス | ○ | | ○ | |
| 45 | プロパホス | ○ | | | |
| 46 | プロフェノホス | ○ | | ○ | |
| 47 | ブロモホスエチル | | | ○ | |
| 48 | ホサロン | ○ | | ○ | |
| 49 | ホスチアゼート | ○ | | ○ | |
| 50 | ホスファミドン | | | ○ | |
| 51 | ホスメット | ○ | | ○ | |
| 52 | ホルモチオン | ○ | | | |
| 53 | ホレート | | | ○ | |
| 54 | マラチオン | ○ | | ○ | |
| 55 | メタミドホス | ○ | ○ | ○ | ○ |
| 56 | メチダチオン | ○ | | ○ | |
| 57 | モノクロトホス | | | ○ | |

◎アジンホスエチル、サリチオン及びシアノフェンホスについては、食品衛生法に基づく残留基準は設定していない。