

# 食品中の残留農薬等の 規制と公示試験法

国立保健医療科学院 平成25年度 短期研修 食肉衛生検査研修  
2013年7月5日  
国立医薬品食品衛生研究所  
食品部 根本 了

1

## 主な内容

1. 食品の安全への取り組み
2. 食品中の残留農薬等の規制
  - 2-1. 農薬等のポジティブリスト制度
  - 2-2. 残留基準の設定
3. 残留農薬等公示試験法
4. 残留農薬等公示試験法の開発
5. 通知試験法の記載に関する留意点

2

# 1. 食品の安全への取り組み

## 2. 食品中の残留農薬等の規制

### 2-1. 農薬等のポジティブリスト制度

### 2-2. 残留基準の設定

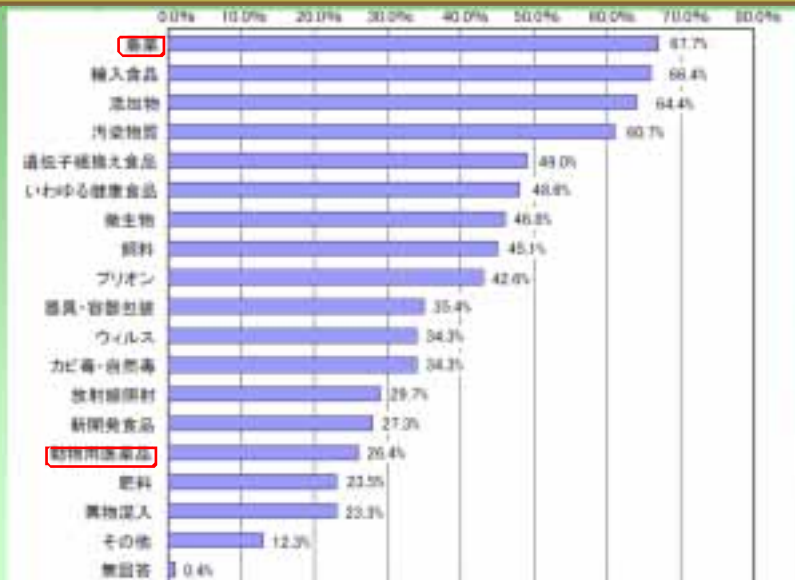
## 3. 残留農薬等公示試験法

## 4. 残留農薬等公示試験法の開発

## 5. 通知試験法の記載に関する留意点

3

### 食品の安全性について不安を感じているもの



食品安全モニターアンケート調査「食の安全性に関する意識調査」(食品安全委員会、平成15年9月)より抜粋

4

## 国際的な食品の安全性確保の考え方

### 国際的な食品の安全性確保の考え方

- ・国民の健康保護の優先
- ・科学的根拠の重視
- ・関係者相互の情報交換と意思疎通
- ・政策決定過程などの透明性確保

### 国際的な安全性確保の手段

- ・生産から食卓までの一貫した対策
- ・**リスク分析の導入**  
[リスクの存在を前提にこれを科学的に評価し、低減を図る考え方]

↑  
食品安全にゼロリスクはあり得ない

【ゼロリスク (Zero Risk)】  
リスクの原因となるハザード(危険因子)の暴露がゼロであること。  
近年、分析技術の向上などにより、食品安全にゼロリスクはあり得ないことが認識されたため、リスク分析に基づく食品安全行政が国際的に進められている。

5

## 食品の安全への取り組み(リスク分析の導入)

平成13～14年には、BSE問題、偽装表示問題、無登録農薬の販売・使用問題、輸入食品中の残留農薬問題など食品の安全・安心に関わる問題が相次いで発生

↓  
・国民の食に対する不安や不信の高まり・食材調達の国際化・多様化

### 政府全体の食の安全への取り組み

食品安全基本法の制定(平成15年)

国民の健康の保護を確保するためには、国民が危害にさらされる可能性がある場合、可能な範囲で事故を未然に防ぎリスクを最小限にすることが重要  
食品の安全には「絶対」はなく、リスクの存在を前提として科学的知見に基づいてこれを制御していくという考え方に基づき、「**リスク分析**」の手法を導入  
国、地方自治体及び食品関連事業者の責務や消費者の役割の明確化

6

## リスク分析の3要素(日本の食品安全行政の場合)

**リスク分析(Risk Analysis)**: 食品に含まれるハザードを摂取することによって人の健康に悪影響を及ぼす可能性がある場合に、その発生を防止し、またはそのリスクを低減するための考え方。

➡ リスク分析の3要素: 『リスク評価』、『リスク管理』及び『リスクコミュニケーション』

### リスク評価(Risk Assessment)

**食品健康影響評価** [科学的評価]

食品に含まれるハザードを摂取することによって、どのくらいの確率でどの程度の健康への悪影響が起きるかを科学的に評価すること。

例: 農薬等の安全性評価

一日摂取許容量(ADI)の設定など

### リスク管理(Risk Management)

[政策決定・実施]

リスク評価の結果に基づいて、技術的な実行可能性などの状況を考慮し、リスクを低減するための規格・基準の設定などの適切な政策・措置を決定、実施すること。

例: 農薬等の残留基準の設定など

### リスクコミュニケーション(Risk Communication)

[リスクに関する情報および意見の相互交換]

リスク評価の結果やリスク管理の過程において、消費者、食品関連事業者、行政機関などの関係者の中で、それぞれの立場から相互に情報や意見を交換すること。(リスクコミュニケーションを行うことで、検討すべきリスクの特性やその影響に関する知識を深め、リスク管理やリスク評価を有効に機能させることができる。)

例: 意見交換会の開催、意見募集の実施

[食品の安全性に関する用語集(第4版)(平成20年10月食品安全委員会)より]

7

## 食品の安全への取り組み(リスク分析)

### リスク評価

#### 食品安全委員会

- ・リスク評価の実施
- ・リスク管理を行う行政機関への勧告
- ・リスク管理の実施状況のモニタリング
- ・内外の危害情報の一元的な収集・整理
- ・リスクコミュニケーション全体の総合的マネジメントの実施 など

食品衛生法  
食品衛生法施行令  
食品衛生法施行規則  
食品衛生法施行細則  
食品衛生法施行令施行規則  
食品衛生法施行令施行細則  
食品衛生法施行令施行細則施行規則  
食品衛生法施行令施行細則施行規則施行令  
食品衛生法施行令施行細則施行規則施行令施行細則

食品衛生法  
食品衛生法施行令  
食品衛生法施行規則  
食品衛生法施行細則  
食品衛生法施行令施行規則  
食品衛生法施行令施行細則  
食品衛生法施行令施行細則施行規則  
食品衛生法施行令施行細則施行規則施行令  
食品衛生法施行令施行細則施行規則施行令施行細則

### リスク管理

#### 厚生労働省

#### 食品の衛生に関するリスク管理

- ・食品中の含有量について基準を設定
- ・基準が守られているかの監視  
[検疫所、地方厚生局、地方自治体(保健所)など]

食品衛生法 等

#### 農林水産省

#### 農林・畜産・水産に関するリスク管理

- ・農薬の使用基準の設定
- ・飼料や肥料中の含有量について基準を設定  
[地方農政局、消費技術センター など]

農薬取締法  
飼料安全法 等

#### 消費者庁

#### 食品の表示に関するリスク管理

- ・食品の表示について基準を設定
- ・表示基準が守られているかの監視

食品衛生法  
健康増進法  
JAS法 等

### リスクコミュニケーション

消費者庁が総合調整

- ・食品の安全性に関する情報の公開
- ・消費者等の関係者が意見を表明する機会の確保

[食品の安全確保に関する取組:厚生労働省医薬食品局食品安全部(平成23年11月)より]

8

# 1. 食品の安全への取り組み

## 2. 食品中の残留農薬等の規制

### 2-1. 農薬等のポジティブリスト制度

### 2-2. 残留基準の設定

# 3. 残留農薬等公示試験法

# 4. 残留農薬等公示試験法の開発

# 5. 通知試験法の記載に関する留意点

9

## 厚生労働省における食品に残留する農薬等の安全確保

### 残留基準等の策定

食品規格の一つとして、食品に残留する農薬、飼料添加物、動物用医薬品の残留基準を設定

**農薬等のポジティブリスト制度の導入(2006年5月29日施行)**

試験法の開発・整備

-> **国立医薬品食品衛生研究所**

### 食品衛生監視指導

国内に流通する食品の監視指導  
地方自治体  
道府県等食品衛生監視指導計画  
輸入食品の監視指導  
検疫所  
輸入食品監視指導計画

↓  
監視指導計画の実施状況を公表

### 残留実態、摂取量把握

農薬等の残留実態調査  
(モニタリング調査)  
農薬等の摂取量調査  
(マーケットバスケット調査)

### 消費者等への情報提供

ホームページ等を通じた情報の提供  
・ポジティブリスト制度についてのQ&A、パンフレット等の公表

10

## 食品衛生法第6条と第11条

### 第6条

- **腐敗**し、若しくは**変敗**したもの又は**未熟**である食品  
(一般に人の健康を損なう恐れがなく飲食に適すると認められているものを除く。)
- **有毒**な、若しくは**有害な物質**が含まれ、若しくは**付着**し、又はこれらの**疑い**がある食品  
(人の健康を損なう恐れがない場合として厚生労働大臣が定める場合を除く。)
- **病原微生物**により汚染され、又はその**疑い**があり、**人の健康を損なう恐れがある**食品
- **不潔**、**異物**の混入又は添加その他の事由により、**人の健康を損なう恐れがある**食品

**【禁止】**

- ・販売、販売のための製造、輸入、使用等

### 第11条

- 厚生労働大臣が、公衆衛生の見地から、薬事・食品衛生審議会の意見を聴いて定める「**基準**」及び「**規格**」
- ・食品・食品添加物の製造、使用等の方法についての「**基準**」
- ・食品・食品添加物の成分についての「**規格**」

**【禁止】**

- ・「**基準**」に**合わない**方法による製造、使用等
- ・「**基準**」に**合わない**方法による食品・食品添加物の販売・輸入
- ・「**規格**」に**合わない**食品・食品添加物の製造、輸入、使用、販売

11

## 食品衛生法第6条と第11条

### 第6条

急性中毒等、人の健康を損なう蓋然性が高い食品による**危害防止**  
(第11条の「基準」「規格」が設定されているか否かによらない)

**罰則規定**

- ・3年以下の懲役、300万円以下の罰金
- ・両罰規定  
(法人に1億円以下の罰金)

### 第11条

不適合が直ちに人の健康を損なうものでないが、公衆衛生の見地から定めた**ルール**  
(品質・製造方法の適正化)

- ・2年以下の懲役、200万円以下の罰金
- ・両罰規定  
(法人に1億円以下の罰金)

中国から輸入した原材料のメラミン混入事例はこちら

基準値違反は主にこちら

12

1. 食品の安全への取り組み

2. 食品中の残留農薬等の規制

### 2-1. 農薬等のポジティブリスト制度

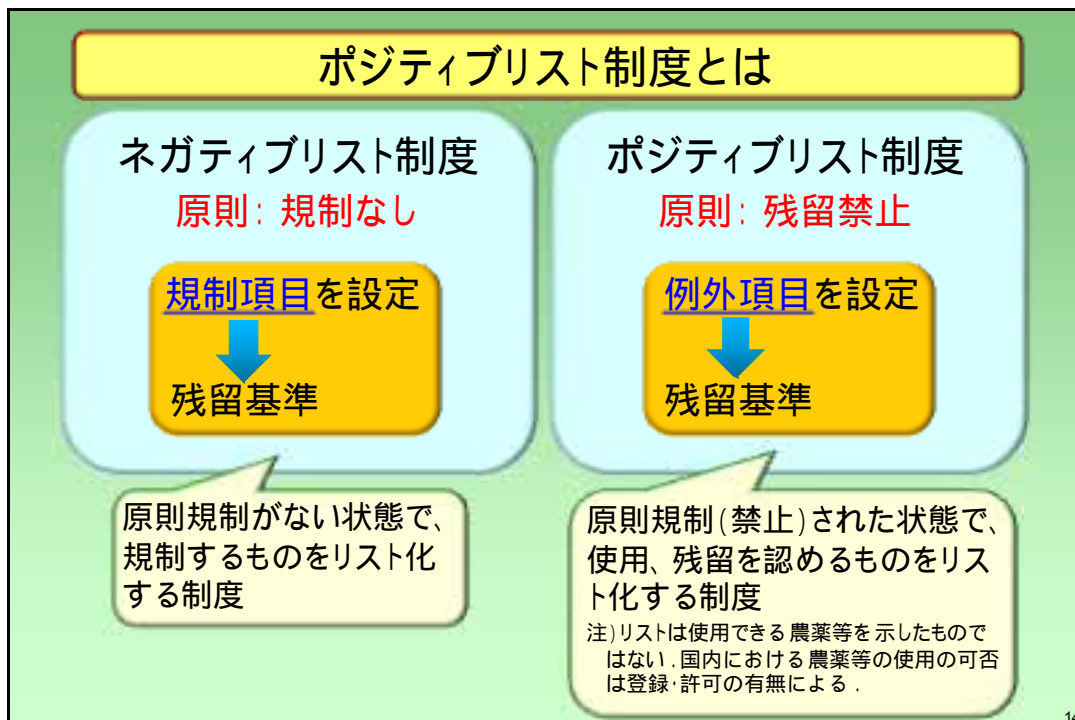
2-2. 残留基準の設定

3. 残留農薬等公示試験法

4. 残留農薬等公示試験法の開発

5. 通知試験法の記載に関する留意点

13



## 食品に残留する農薬等に関するポジティブリスト制度

食品衛生法 第11条第3項(平成15年5月改正、平成18年5月施行)  
(要旨)

農薬等(人の健康を損なうおそれのないものと厚生労働大臣が定めるものを除く)が、人の健康を損なうおそれのない量として厚生労働大臣が定める量を超えて残留する食品は、販売するために製造、輸入、加工、使用、調理、保存、販売してはならない。但し、残留限量について第11条第1項に規格が定められている場合はこの限りではない。

対象外物質

一律基準

残留基準・暫定基準

残留基準が設定されていない農薬等が一律基準を超えて残留する食品の流通を原則禁止する制度

・規制対象物質

農薬等(農薬、動物用医薬品、飼料添加物)

・規制対象食品

加工食品を含む全ての食品

15

## ポジティブリスト制度の主な柱

平成17年11月29日厚生労働大臣告示

告示第497号：一律基準の設定

食品衛生法第11条第3項の規定により人の健康を損なうおそれのない量として厚生労働大臣が定める量を定める件

告示第498号：対象外物質の指定

食品衛生法第11条第3項の規定により人の健康を損なうおそれのないことが明らかであるものとして厚生労働大臣が定める物質を定める件

告示第499号：暫定基準の規定

食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件

16



## 一律基準

仮に残留基準が設定されていない農薬等の残留を一切認めない(ゼロ規制)とすると



ポジティブリスト制度では、残留基準が設定されていない農薬等が残留する食品の流通を原則禁止

人の健康を損なうおそれのない極微量の農薬等の残留でも違反食品となる



不必要に食品の流通が妨げられる



一律基準を超えることが即ち健康を損なう恐れがあるということではなく、この濃度以下であれば残留がないと同様に取り扱いということ。(6条ではなく11条のための規定)

『人の健康を損なうおそれのない量(一律基準)』として『0.01 ppm』と設定

[一律基準が適用される場合]

いずれの食品にも残留基準が設定されていない農薬等が食品に残留する場合(外国でのみ使用されている特殊な農薬等)

一部の食品には残留基準が設定されている農薬等が、残留基準が設定されていない食品に残留する場合(農薬の意図しない飛散(ドリフト)等)

[諸外国の一律基準]

- ・ドイツ、EU: 0.01 ppm
- ・カナダ、ニュージーランド: 0.1 ppm
- ・米国: 一律基準は定められていないが、運用上 0.01~0.1 ppmで判断

17

## 一律基準(設定の考え方)

➤国際的な評価に基づく「許容される暴露量」

- ・FAO/WHO合同食品添加物専門家会議(JECFA)による香料の評価
- ・米国医薬食品庁(FDA)における間接添加物(容器から溶出物質)の評価

➤これまでに評価された農薬等の「許容1日摂取量(ADI)」

- ・国内出の評価
- ・FAO/WHO合同残留農薬専門家会議(JMPR)もしくはJECFAでの評価



一律基準が適用される農薬等の摂取許容量の目安 ➡ 1.5 µg/day

➤食品中の残留濃度を0.01 ppmとすると、食品を150 g摂食した場合に暴露量が1.5 µg/dayとなる

国民の平均食品摂取量は、『米』を除くすべての食品で150 gより少ない平均食品摂取量が150 gを超えるのは『米』のみ  
『米』はほぼ自給であり、農薬取締法により農薬の使用が厳正に規制



一律基準を0.01 ppmとしても、摂取許容量の目安を一生涯にわたり超えることはないと考えられる。

18

## 対象外物質

・従来から安全な物質として農薬や動物用医薬品として使用されていたもの（有効成分が食品成分であるものなど）

・ポジティブリスト制度では、残留基準が設定されていないものは原則使用できなくなる

「対象外物質」として65物質を指定 ➡ ポジティブリスト制度の対象外

- 1) 農薬等のうち、残留の状態、程度から見て、ある程度残留したとしても人の健康を損なうおそれがないが明らかなもの。
- 2) 農薬取締法で規定された特定農薬、登録保留基準が設定されていない農薬のうち、これらを使用して生産された農産物を摂取したとしても直ちに人の健康を損なうおそれがないもの。
- 3) 海外で残留基準を設定する必要がないとされた農薬等のうち、使用方法等に制限のないもの。

19

## 対象外物質

物質名	分類・用途	物質名	分類・用途	物質名	分類・用途
1 亜鉛	ミネラル	22 クロレラ抽出物	農薬	44 パラフィン	農薬(固着剤)
2 アザジラクチン	植物(イトセンゲン)精製物	23 ケイ素	農薬	45 バリウム	ミネラル
3 アスコルビン酸	ビタミン(C)	24 ケイソウ土	農薬	46 バリン	アミノ酸
4 アスタキサンチン	飼料添加物(着色料)	25 ケイ皮アルデヒド	農薬	47 バントテン酸	ビタミン(B5)
5 アスパラギン	アミノ酸	26 コバラミン	ビタミン(B12)	48 ビオチン	ビタミン
6 β-アポ-8'-カロチン酸エチルエステル	飼料添加物(着色料)	27 コリン	農薬	49 ヒスチジン	アミノ酸
7 アラニン	アミノ酸	28 シイタケ菌糸体抽出物	農薬	50 トリシロロピルテソフ	農薬
8 アリシン	ニラ等の天然成分	29 重曹	特定農薬	51 ビロキシシン	ビタミン(B)
9 アルギニン	アミノ酸	30 酒石酸	飼料添加物	52 プロピレングリコール	農薬
10 アンモニウム	飼料添加物	31 セリン	アミノ酸	53 マグネシウム	ミネラル
11 硫黄	農薬	32 セレン	ミネラル	54 マシン油	農薬
12 イノシトール	ビタミン(B群)	33 ソルビン酸	農薬	55 マリーゴールド色素	飼料添加物
13 塩素	農薬	34 チアミン	ビタミン(B1)	56 ミネラルオイル	農薬
14 オレイン酸	農薬	35 チロシン	アミノ酸	57 メチオニン	アミノ酸
15 カリウム	農薬	36 鉄	ミネラル	58 メナジオン	ビタミン(K3)
16 カルシウム	ミネラル	37 銅	ミネラル	59 葉酸	ビタミン
17 カルシフェノール	ビタミン(D)	38 トウガラシ色素	飼料添加物	60 ヨウ素	ミネラル
18 β-カロテン	ビタミン	39 トコフェロール	ビタミン(E)	61 リボフラビン	ビタミン(B2)
19 クエン酸	飼料添加物	40 ナイアシン	ビタミン	62 レシチン	農薬
20 グリシン	アミノ酸	41 ニームオイル	植物(イトセンゲン)抽出物	63 レチノール	ビタミン(A)
21 グルタミン	アミノ酸	42 乳酸	農薬	64 ロイシン	アミノ酸
		43 尿素	農薬	65 ワックス	農薬(固着剤)

ポジティブリスト制度の対象外

「タウリン」追加(食安発第0623001号, 2009.6.23)

20

## 暫定基準

・ポジティブリスト制度では、残留基準が設定されていない農薬等が残留する食品の流通を原則禁止



そのままではこれまで流通が可能であった食品も含め、不必要に食品の流通が妨げられる可能性がある

・国内に流通する食品に残留が見込まれる約700の農薬等に新たに残留基準を設定する必要がある



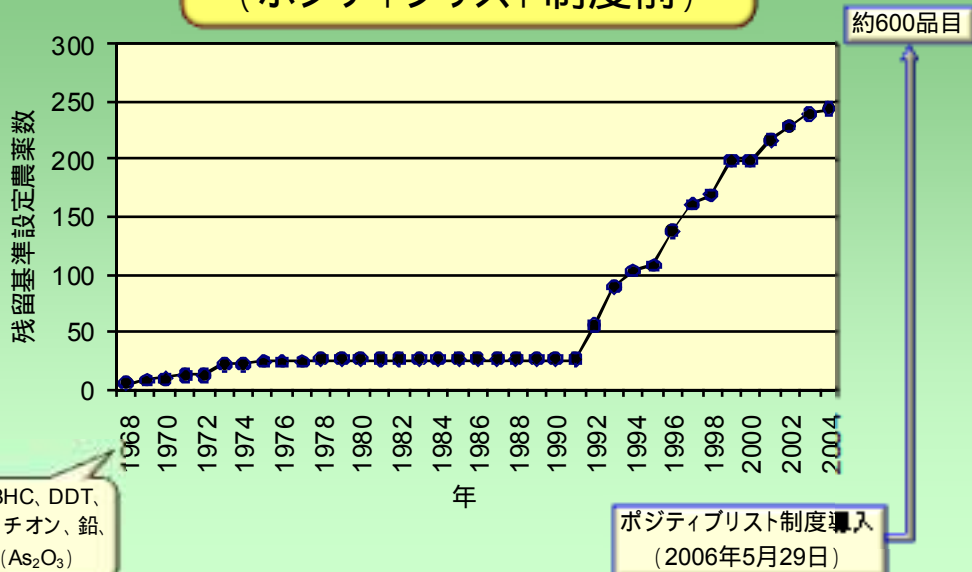
・施行期限までに全ての試験成績が提出され、リスク評価を終了することは困難



国際基準等を参考に { 現行の残留基準の見直し  
新たに「暫定基準」を設定

21

## 残留基準設定農薬数の推移 (ポジティブリスト制度前)



22

## 暫定基準と残留基準

- ・**残留基準**: 食品衛生法の基準設定のために、安全性評価と暴露評価が実施されたもの
- ・**暫定基準**: Codex基準、登録保留基準、諸外国(EU、米国、カナダ、豪州、ニュージーランド)の基準を参考としたもの

↓

暫定基準の見直し: 食品安全委員会によるリスク評価を順次実施  
残留基準へ

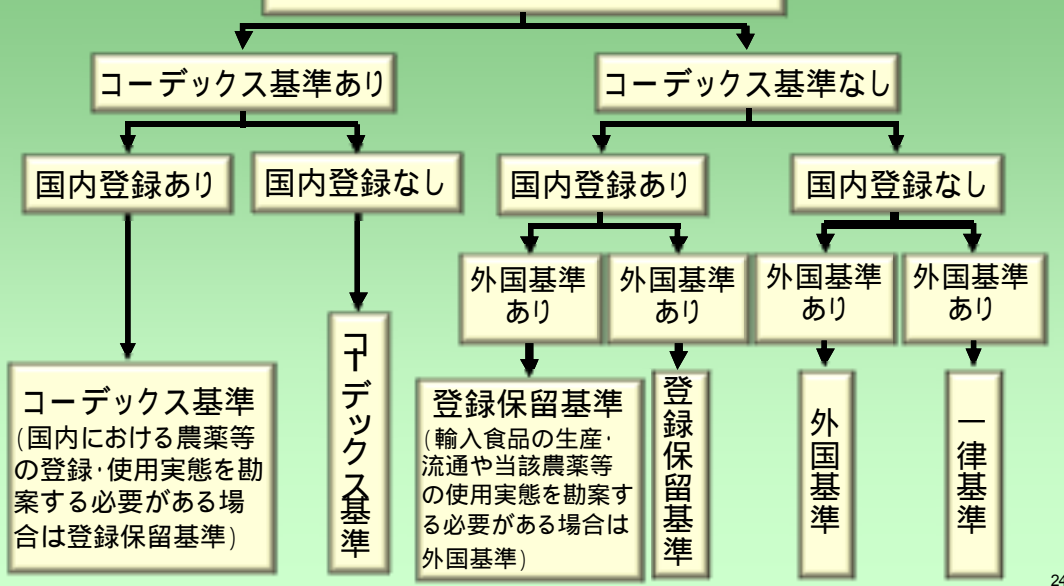
優先評価物質:

- ・国際リスク評価機関等でADI設定不可とされたもの
- ・摂取量が多いもの
- ・発がん性等新たな重要な毒性知見が得られたもの

23

## 暫定基準の決め方

農薬、動物用医薬品及び飼料添加物



24

## 食品、添加物等の規格基準

昭和34年厚生省告示第370号～抜粋～

### 第1 食品

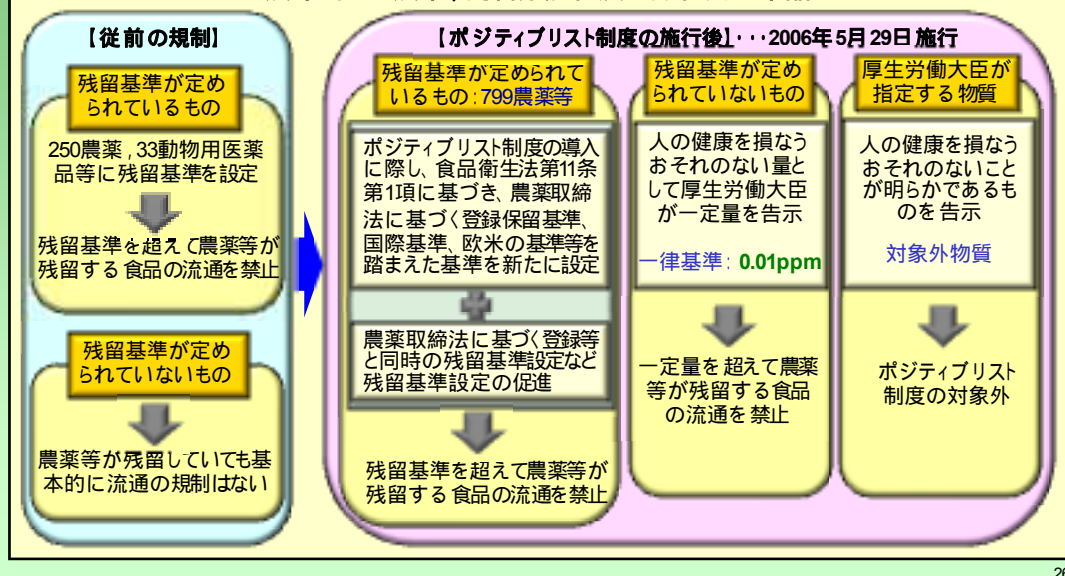
#### A 食品一般の成分規格(一般規則)

- 一般規則の5: 不検出基準(全ての食品に対して不検出)
- 一般規則の6: **残留基準**
- 一般規則の7: **暫定基準**
- 一般規則の8: 農薬等が、自然に食品に含まれる物質と同一物質である場合の規定
- 一般規則の9: 加工食品の基準
- 一般規則の10: 加工食品の原材料は6～9に定める成分規格に適合するものであること  
(成分規格が定められている食品を原材料とする場合)
- 一般規則の11: 加工食品の原材料は一律基準に適合するものであること  
(成分規格が定められていない食品を原材料とする場合)

25

## ポジティブリスト制度による農薬等の分類

農薬等 = 農薬, 飼料添加物及び動物用医薬品



26

## ポジティブリスト制度で変わったこと

### ➤ 基準値設定農薬等の拡大

導入前 約280品目(農薬 約250品目、動物用医薬品 約30品目)

導入後 約800品目(農薬 約600品目、動物用医薬品 約200品目)

### ➤ 農薬の規制対象食品の拡大

導入前 農産物のみ

導入後 農産物、畜水産物、加工食品(一部)

### ➤ 一律基準の設定

導入前 基準値のない農薬等/食品には規制なし

導入後 基準値のない農薬等/食品でも、農薬等が一律基準を超えて残留する食品は流通禁止

### ➤ 試験法の高感度化

導入前 基準値に応じた定量限界

導入後 一律基準濃度(0.01 mg/kg)で試験可能な定量限界

27

## 1. 食品の安全への取り組み

## 2. 食品中の残留農薬等の規制

### 2-1. 農薬等のポジティブリスト制度

### 2-2. 残留基準の設定

## 3. 残留農薬等公示試験法

## 4. 残留農薬等公示試験法の開発

## 5. 通知試験法の記載に関する留意点

28

## 残留基準とは

農薬等の使用



徐々に減少



食品中に残る場合がある



人の健康を損なわない量でなければならない



残留基準を設定

29

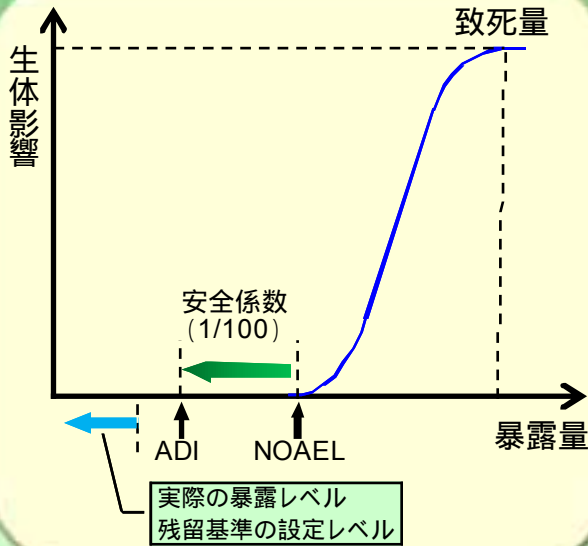
## 残留農薬等規制の基本的な考え方

食事を通じて摂取される農薬等の量が  
一定限度を超えないようにすること

ADI(一日摂取許容量)

30

## 暴露量と生体影響との関係



**無毒性量 (NOAEL: No Observed Adverse Effect Level)**

ある物質について何段階かの異なる投与量を用いて毒性試験を行ったとき、有害影響が認められなかった最大の投与量

**安全係数 (Safety Factor)**

ある物質について、ADIを設定する際、無毒性量に対して、更に安全性を考慮するために用いる係数  
(動物とヒトとの種差で10倍、さらにヒトとヒトとの間の個体差で10倍を見込み、それらをかけ合わせた100倍を一般に安全係数として用いる)

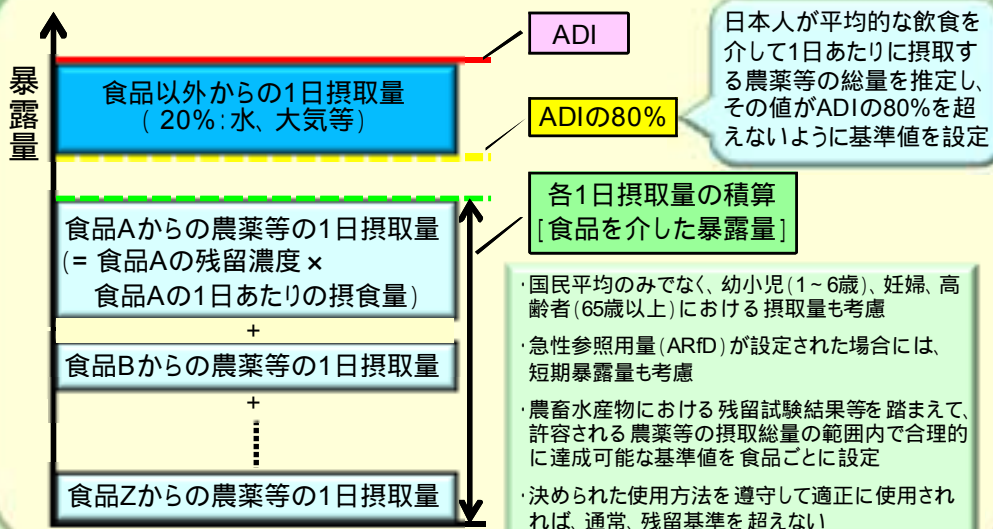
**一日摂取許容量**

(ADI: Acceptable Daily Intake)

ヒトがある物質を毎日一生涯にわたって摂取し続けても、現在の科学的知見からみて健康への悪影響がないと推定される一日当たりの摂取量  
( mg/kg体重/日)

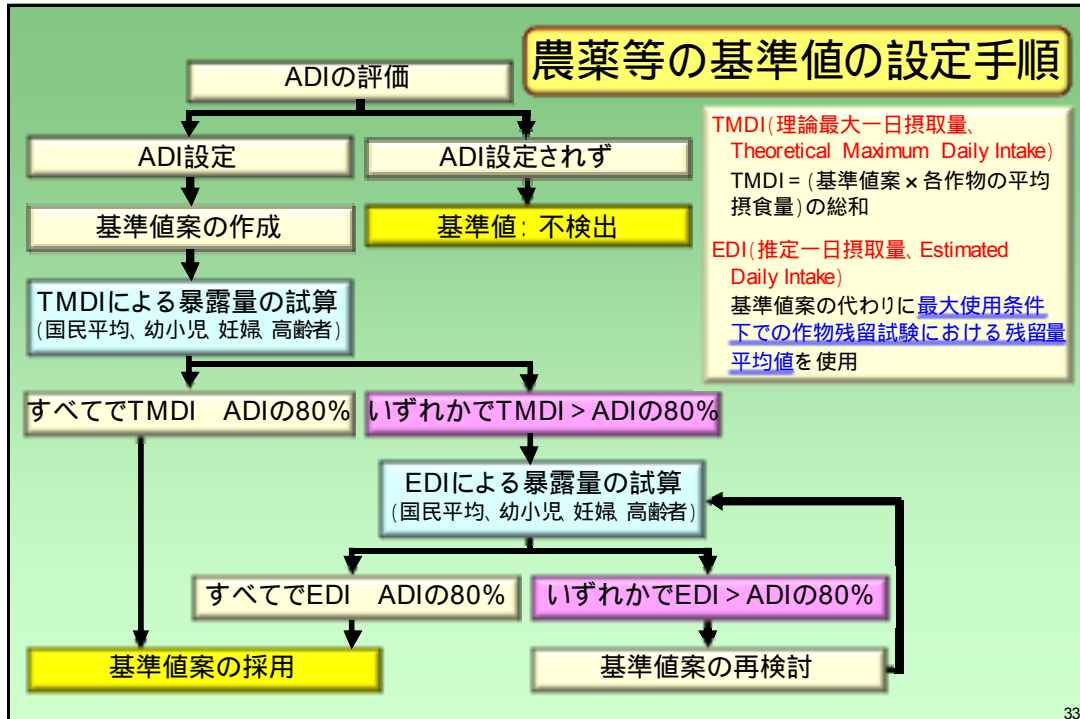
31

## 農薬等の残留基準の設定方法



32





### 農薬等の残留基準設定品目数

農薬等		品目数	
農薬関連	農薬	543	595
	農薬/動物薬	45	
	農薬/飼料添加物	1	
	農薬/動物薬/飼料添加物	1	
	農薬(不検出基準)	5	
動物用医薬品関連	動物薬	170	208
	動物薬/飼料添加物	22	
	飼料添加物	3	
	動物薬(不検出基準)	13	
合計		803	

(2013年6月現在)

34

## 農薬等を使用した食品の安全性確保

- (1) 農薬/動物用医薬品の登録/許可制度による安全性の確認  
… 安全性が確認されていない農薬等は使用できない
- (2) 使用基準(農薬等の正しい使用方法)の遵守(遵守義務)  
… 適用食品、使用時期、使用回数、使用量、希釈倍率  
守られていれば基本的に残留基準を超えることはない
- (3) 食品中の残留農薬等に対する監視指導  
… **効率的で効果的な試験・検査の実施**  
迅速で効率の良い残留農薬等分析法の開発・改良  
検査対象農薬の絞り込み(農薬等の使用履歴の把握)  
出荷前検査の実施

35

1. 食品の安全への取り組み
2. 食品中の残留農薬等の規制
  - 2-1. 農薬等のポジティブリスト制度
  - 2-2. 残留基準の設定
- 3. 残留農薬等公示試験法**
4. 残留農薬等公示試験法の開発
5. 通知試験法の記載に関する留意点

36

## 食品に残留する農薬等の公示試験法

**公示試験法**：厚生労働省から公示(告示又は通知)された試験法

・ **告示試験法(告示法)**

「食品、添加物等の規格基準(昭和34年厚生省告示第370号)」  
に規定する試験法

不検出基準の農薬等の試験法

・ **通知試験法(通知法)**

「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(食安発第0124001号平成17年  
1月24日厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知 別添)」  
に規定する試験法

不検出基準を除く農薬等の試験法

37

## 残留農薬等公示試験法

### 公示試験法の数

	告示試験法			通知試験法		
	農薬	動物薬	合計	農薬	動物薬	合計
一斉試験法	-	-	-	5	3	8
個別試験法	8 (10)	12 (16)	20 (26)	218 (383)	30 (67)	248 (450)

(注) カッコ内の数字は試験法の対象品目数(重複を含む)。

(2013年6月現在)

38

## 告示試験法

農薬	動物用医薬品
<b>全食品に不検出基準</b>	
2,4,5-T試験法	カルバドックス試験法
アゾシクロチン及びシヘキサチン試験法	クマホス試験法
カプタホール試験法	クロラムフェニコール試験法
ダミノジッド試験法	クロルプロマジン試験法
プロファム試験法	ジエチルスチルベステロール試験法
	ジメトリダゾール、メトロニダゾール及びロニダゾール試験法
	ニトロフラゾン試験法
	ニトロフラントイン、フラゾリドン及びフラルタドン試験法
	マラカイトグリーン試験法
<b>一部食品に不検出基準</b>	
アルドリン、エンドリン及びディルドリン試験法	クレンブテロール試験法
バラチオン試験法	デキサメタゾン試験法
二臭化エチレン試験法	$\alpha$ -トレンポロン及び $\beta$ -トレンポロン試験法

(2013年6月現在) 39

## 告示試験法の定量限界

農薬等名	定量限界 (ppm)	備考	農薬等名	定量限界 (ppm)	備考
<b>農薬</b>			<b>動物用医薬品</b>		
2,4,5-T	0.05	0.001 ppm(ミネラルウォーター)	カルバドックス	0.001	
アゾシクロチン及びシヘキサチン	0.02	0.001 ppm(ミネラルウォーター)	クマホス	0.01	0.001 ppm(ミネラルウォーター)
カプタホール	0.01	0.001 ppm(ミネラルウォーター)	クレンブテロール	0.00005	
ダミノジッド	0.1	0.002 ppm(ミネラルウォーター)	クロラムフェニコール	0.0005	0.005 ppm(ローヤルゼリー)
アルドリン	0.005	0.02 ppm(抹茶)	クロルプロマジン	0.0001	
エンドリン	0.005	0.02 ppm(抹茶)	ジエチルスチルベステロール	0.0005	
ディルドリン	0.005	0.02 ppm(抹茶)	ジメトリダゾール	0.0002	
バラチオン	0.01		メトロニダゾール	0.0001	
プロファム	0.01	0.001 ppm(ミネラルウォーター)	ロニダゾール	0.0002	
二臭化エチレン	0.001		デキサメタゾン	0.00005	
			-トレンポロン	0.002	
			-トレンポロン	0.002	
			ニトロフラゾン	0.001	
			ニトロフラントイン	0.001	
			フラゾリドン	0.001	
			フラルタドン	0.001	
			マラカイトグリーン	0.002	

食安発第1129001号(平成17年11月29日)  
厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知

(2013年6月現在)

40

## 通知試験法

### 「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」

- 通知：食安発第0124001号 平成17年1月24日厚生労働省医薬食品局 食品安全部長通知（別添）
- 対象：残留基準（不検出基準を除く）が定められている農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質（その物質が化学的に変化して生成した物質を含む）
- 第1章：総則
  1. 用語、 2. 装置、 3. 試薬・試液、 4. 試料採取、 5. 分析上の留意事項
- 第2章 一斉試験法
- 第3章 個別試験法

41

## 通知試験法 第1章：総則 1. 用語

- (1) 「分析対象化合物」：農薬等の成分である物質（その物質が化学的に変化して生成した物質を含む。）及びその類似物質（例えば、塩や光学異性体など）
- (2) 「分析値」：「基準値」と比較する値
- (3) 「種実類」：オイルシード、ナッツ類、カカオ豆及びコーヒー豆
- (4) 「定量限界」：試料に含まれる分析対象化合物の定量が可能な最低の量又は濃度  
クロマトグラフィーの場合・・・概ね $S(\text{ピーク高さ}) / N(\text{ベースラインノイズ}) = 10$ となる分析対象化合物の量を農薬等の成分である物質の濃度として示してある
- (5) 「類型」：当該試験法の由来を分類したもの
  - A：公定法（乳及び乳製品の成分規格等に関する省令（昭和26年厚生省令第52号）、告示及び通知に定めてきたもののうち、Cを除く）
  - B：諸外国の政府機関等が定めている試験法（Aを除く）
  - C：有識者からなる検討会によって作成された試験法
  - D：文献から引用した試験法（A～Cを除く）

42

## 通知試験法 第1章：総則 2. 装置

第2章及び第3章に規定する試験法によって試験を実施する場合の装置について

- ・「ガスクロマトグラフ・質量分析計を用いる」と規定している場合  
➡ GC-MS及びGC-MS/MS いずれの使用も可能
- ・「液体クロマトグラフ・質量分析計を用いる」と規定している場合  
➡ LC-MS 及びLC-MS/MS いずれの使用も可能

43

## 通知試験法 第1章：総則 3. 試薬・試液

第2章及び第3章に規定する試験法によって試験を実施する場合の試薬・試液

同章において個別に示すもの

告示の第2添加物の部C試薬・試液等の1. に掲げるもの

別紙に掲げるもの

「(特級)」と記載したものは、日本工業規格試薬の特級の規格に適合するもの

44

## 通知試験法 第1章：総則 3. 試薬・試液

(別紙)

**アクリルアミド共重合体結合グリセリルプロピルシリル化シリカゲルミニカラム (360mg)**  
内径8～9 mmのポリエチレン製のカラム管に、アクリルアミド共重合体結合グリセリルプロピルシリル化シリカゲル 360 mg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。

**アセトニトリル** アセトニトリル 300 mLをすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、アセトニトリルを除去する。この残留物を*n*-ヘキサン 5 mLに溶かし、その5 μLを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上の*n*-ヘキサン以外のピークの高さは、 $2 \times 10^{-11}$  gのγ-BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

**ヨードトリメチルシラン** 純度 95%以上の試薬を用いる。

**四ホウ酸ナトリウム** 四ホウ酸ナトリウム (特級)

**ラウリル硫酸ナトリウム** ラウリル硫酸ナトリウム (特級)

**リン酸水素一カリウム** リン酸水素一カリウム (特級)

**リン酸水素二カリウム** リン酸水素二カリウム (特級)

**リン酸テトラ-*n*-ブチルアンモニウム** リン酸テトラ-*n*-ブチルアンモニウム (特級)

45

## 通知試験法 第1章：総則 4. 試料採取

第2章及び第3章に規定する試験法によって試験を実施する場合の試料採取は、別に規定する場合を除き、以下の方法に従って行う。

- (1) **穀類、豆類及び種実類**: 検体を425μmの標準網ふるいを通るように粉砕する。
- (2) **果実、野菜及びハーブ**: 検体約1 kgを精密に量り、必要に応じて適量の水を量って加え、細切均一化する。
- (3) **茶及びホップ**: 検体を425μmの標準網ふるいを通るように粉砕し、抹茶以外の茶の場合は均一化する。
- (4) **スパイス**: その形状に応じて、種実類又は果実の場合に準ずる。
- (5) **筋肉**: 可能な限り脂肪層を除き、細切均一化する。
- (6) **脂肪**: 可能な限り筋肉層を除き、細切均一化する。
- (7) **肝臓、腎臓及びその他の食用部分**: 細切均一化する。
- (8) **乳及びはちみつ**: よく混合して均一化する。
- (9) **魚類**: 可食部を細切均一化する。
- (10) **貝類**: 殻を除去し、細切均一化する。
- (11) **甲殻類**: 小型のものは全部位を、大型のものは外側の殻を除去し、細切均一化する。
- (12) **卵**: 殻を除去し、卵白と卵黄を合わせてよく混合し均一化する(卵白中又は、卵黄中に残留基準が設けられている場合を除く。)

46

## 通知試験法 第1章：総則 5. 分析上の留意事項

(1) 第2章及び第3章に規定する試験法以外の方法によって試験を実施しようとする場合 [食品規格(残留基準)への適合判定のための試験]

➡ 同章に規定する試験法と比較して、**真度、精度及び定量限界において、同等又はそれ以上の性能を有するとともに、特異性を有すると認められる方法**によって実施する



『**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**』で評価する。

厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知

食安発第1115001号(平成19年11月15日)

食安発第1224第1号(平成22年12月24日改正)

(2) 分析値を求める際には、基準値より1けた多く求め、その多く求めた1けたについて四捨五入する。

47

## 基準値と分析値

- 分析値：基準値と比較する値
- 分析値の桁数：分析値を求める際には、基準値より1桁多く求め、その多く求めた1桁について四捨五入する。
- 分析値の判定(不検出基準を除く)

	基準値	分析値	判定
例1-1	1 ppm	1 ppm (0.5 ~ 1.4 ppm)	合法
例1-2		2 ppm (1.5 ~ 2.4 ppm)	違法
例2-1	1.0 ppm	1.0 ppm (0.95 ~ 1.04 ppm)	合法
例2-2		1.1 ppm (1.05 ~ 1.14 ppm)	違法

48



## 基準値の桁数

農薬の残留基準値を設定する際に海外の基準値を  
参照する場合の桁数の取扱いについて

農薬・動物用医薬品部会 (平成22年10月22日)

基準値 の範囲	従来			今後		
	取扱い	(例) (単位: ppm)		取扱い	(例) (単位: ppm)	
		海外の 基準値	基準値		海外の 基準値	基準値
10 ppm	整数部2桁を採用	15.0	15	変更無し	15.0	15
< 10 ppm	原則そのまま採用 (小数第2位以下 の0は不採用)	6.0	6.0	最後の数字が0以外 の1桁になるように 設定 (最後の数字が2桁 以上の場合、最初の 0以外の数字の次の 桁を四捨五入)	6.0	6
		0.10	0.1		0.10	0.1
		1.4	1.4		1.4	1
		0.35	0.35		0.35	0.4
		0.095	0.095	0.095	0.1	

49

## 通知試験法 第1章：総則 5. 分析上の留意事項

(3) 個別試験法に示す**定量限界**は当該試験法の一般的な定量限界値を示すものである。試験対象食品の残留基準(一律基準を含む)に相当する濃度を測定することが困難な場合には、

- ・ **機器の測定条件を変更する**  
(例えば、カラムの種類、カラム温度、移動相の流速及び組成、キャリアーガスの流速、質量分析の場合には測定モード、測定イオン、電圧)
- ・ **機器への試験溶液注入量を増やす**
- ・ **試験溶液を濃縮する**
- ・ **精製を追加してノイズを減らす**
- ・ **試料量を増やす**

ことなどにより対応する必要がある。また、一斉試験法など、他の試験法が通知されている場合には、その採用についても検討することとする。

50

## 通知試験法 [一斉試験法]

### 一斉試験法(8試験法)

- GC-MSによる農薬等の一斉試験法(農産物) [236品目]
- LC-MSによる農薬等の一斉試験法 (農産物) [97品目]
- LC-MSによる農薬等の一斉試験法 (農産物) [58品目]
- GC-MSによる農薬等の一斉試験法(畜水産物)  
[145品目(固体試料)、173品目(液体試料)]
- LC-MSによる農薬等の一斉試験法(畜水産物)  
[46品目(固体試料)、69品目(液体試料)]
- HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法 (畜水産物) [104品目]
- HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法 (畜水産物) [66品目]
- HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法 (畜水産物) [29品目]

(注) 品目数は重複を含む

(2013年6月現在)

51

## 通知試験法 [個別試験法]

	対象食品	試験法			品目数		
		GC-MS	LC-MS	HPLC	GC-MS	LC-MS	HPLC
農薬関連	農産物	199	218	248	363	383	450
	畜水産物	19			20		
動物用医薬品関連	畜水産物	30			67		

農薬関連：農薬、農薬/動物薬、農薬/飼料添加物、農薬/動物薬/飼料添加物

動物用医薬品関連：動物薬、動物薬/飼料添加物、飼料添加物

(注) 品目数は重複を含む

(2013年6月現在)

52

## 通知試験法 [個別試験法]

### 第3章 個別試験法

- ・BHC、γ-BHC、DDT、アルドリン及びディルドリン、エタルフルラリン、エトリジアゾール、エンドリン、キントゼン、クロルデン、ジコホール、テクナゼン、テトラジホン、テフルトリン、トリフルラリン、ハルフェンプロックス、フェンプロバトリン、ヘキサクロロベンゼン、ヘプタクロル、ベンフルラリン並びにメトキシクロール試験法（農産物）
- ・2,4-D、2,4-DB及びクロプロップ試験法（農産物）
- ・2,2-DPA試験法（農産物）
- ・DCIP試験法
- ・メトリブジン試験法
- ・メバニピリム試験法
- ・モリネート試験法
- ・ラクトバミン試験法
- ・リン化水素試験法（農産物）
- ・レバミゾール試験法

53

## 残留農薬等の分析法

### 試料採取

食品試料を均一化して一定量を秤取る

### 抽出

有機溶媒などで食品から農薬を抽出する

### 精製

測定の妨害となる食品成分を取り除く

### 測定

測定機器を使って農薬を測定する

#### 検体

- ▶ 告示に規定された部位
- ▶ 原則として可食部を洗わずに検査する。  
(例)  
米：玄米  
バナナ：果柄部を除去したものにんじん：泥を水で軽く洗い落したのもの  
キャベツ：外側変質葉及びしんを除去したもの4個をそれぞれ4等分し、各々から1等分を集めたもの

#### 抽出溶媒の条件

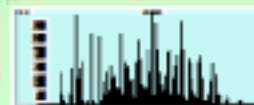
- ▶ 分析対象物質を溶解する。
- ▶ 農産物：組織への浸透
- ▶ 畜水産物：組織への浸透と脂肪の溶解
- ▶ 有害な溶媒は使用しない
- ▶ 濃縮や精製が容易な溶媒

#### 精製

- ▶ 液-液分配：互いに混し合わない液体間で物質を分配する手法（転溶操作、脱脂操作）
  - ▶ カラムクロマトグラフィー（分離モード：吸着、分配、イオン交換）
- ↓  
最も効率的で効果の高い精製操作を選択

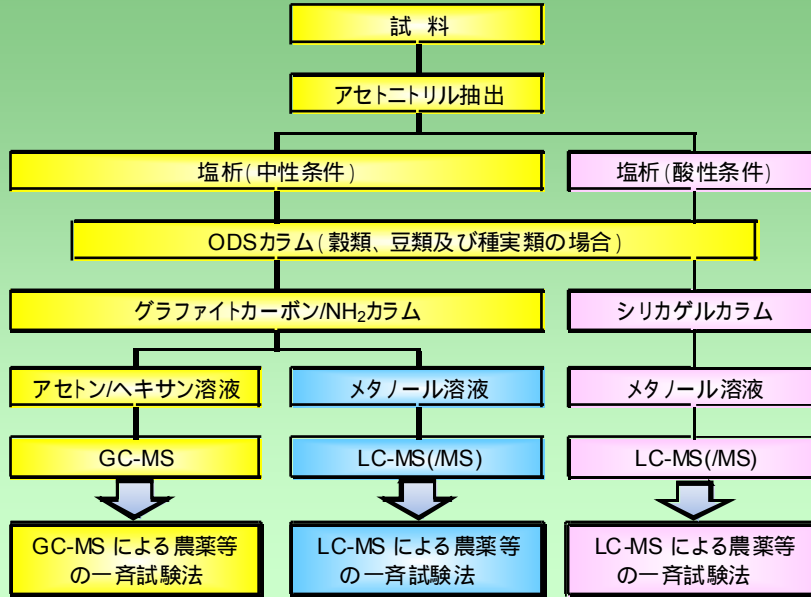
#### 測定

- ▶ 定性・定量
- ・ガスクロマトグラフ(GC)  
[検出器：FPD、FTD(NPD)、ECD、MS(/MS)など]
- ・液体クロマトグラフ(LC)  
[検出器：UV、PDA、FL(蛍光)、MS(/MS)など]
- ▶ 確認 MS(質量分析計)



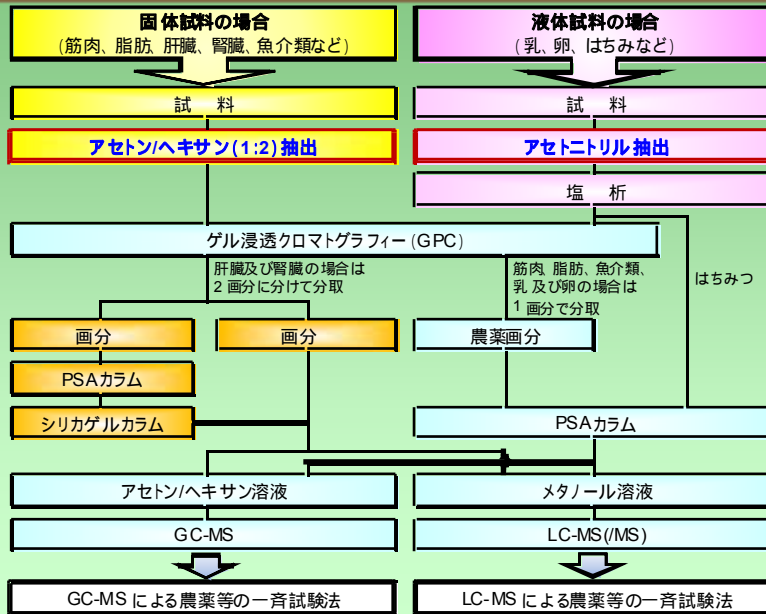
54

## GC-MS及びLC-MSによる農薬等の一斉試験法(農産物)



55

## GC-MS及びLC-MSによる農薬等の一斉試験法(畜水産物)



56

1. 食品の安全への取り組み
2. 食品中の残留農薬等の規制
  - 2-1. 農薬等のポジティブリスト制度
  - 2-2. 残留基準の設定
3. 残留農薬等公示試験法
- 4. 残留農薬等公示試験法の開発**
5. 通知試験法の記載に関する留意点

57

## 残留農薬等公示試験法の開発

申請時の残留試験の分析法 → 公示試験法？

### [問題点]

- ・代謝物を含む分析法(加水分解, 誘導體化など)
  - …規制対象が本体のみの場合は, 代謝物の分析操作は不要
- ・分析法の対象食品が農薬等の適用農・畜水産物に限定
  - …公示試験法は幅広い食品に適用可能な方法が必要
- ・定量限界が一律基準(0.01 ppm)を測定できない場合がある。
- ・同種の食品でも複数の異なる分析法がある。
- ・外国農薬…国内に分析法に対応可能な拠点が無い。
- ・分析法の性能評価に必要なデータが不十分又は開示されていない。

↓  
公示試験法の開発

58

## 残留農薬等公示試験法の開発

公示試験法(告示試験法、通知試験法)の開発のための組織

⇒ 厚生労働省食品安全部基準審査課長のもとに  
試験法開発のための2つの検討会を設置

### (1) 残留農薬等公示分析法検討会

- ・開発された試験法の評価
- ・試験法通知(告示)の作成・確認

### (2) 残留農薬等分析法検討会

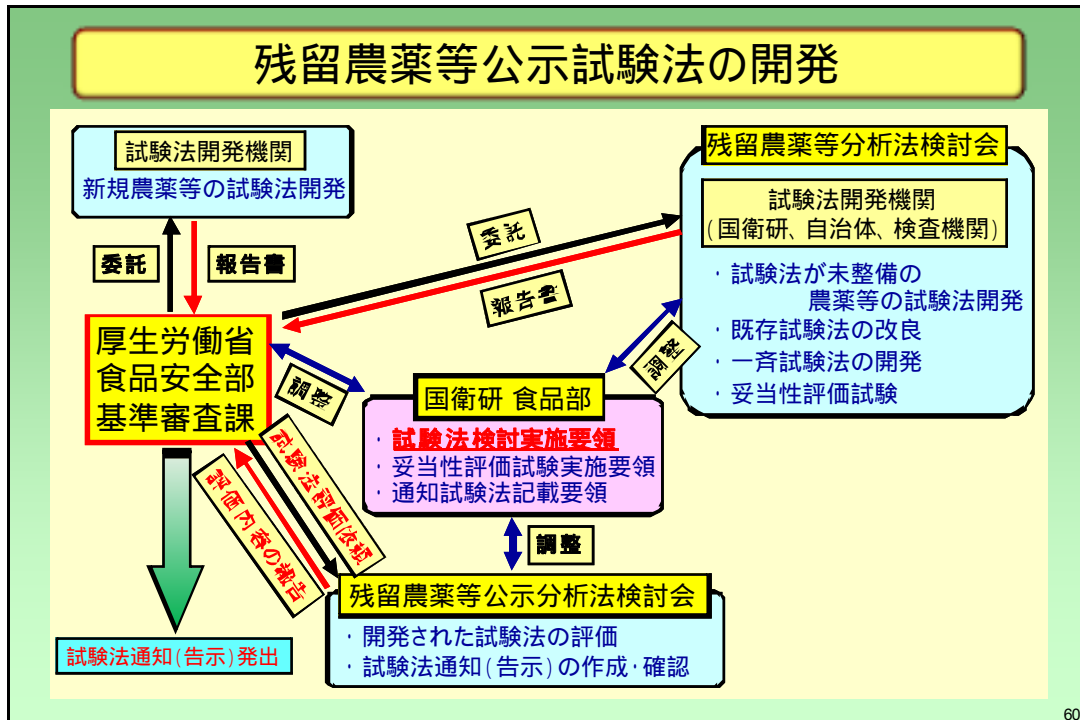
- ・試験法が未整備の農薬等の試験法開発
- ・既存試験法の改良
- ・一斉試験法の開発
- ・妥当性評価試験



『残留農薬等試験法検討実施要領』に基づき試験法の開発・改良を実施

59

## 残留農薬等公示試験法の開発



60

## 残留農薬等試験法検討実施要領

### 残留農薬等試験法について

#### 試験法の検討要領、考え方

- |          |                    |                  |
|----------|--------------------|------------------|
| 1. 試料採取  | 6. 凝固処理            | 11. カラムクロマトグラフィー |
| 2. 試料量   | 7. 濃縮              | 12. 測定法          |
| 3. 抽出溶媒  | 8. 転溶              | 13. 全般的な事項       |
| 4. 抽出操作  | 9. 脱水              |                  |
| 5. 茶の試験法 | 10. アセトニトリル/ヘキサン分配 |                  |

### 添加回収試験実施要領

#### 評価方法、添加回収試験の実施方法

- |                     |         |
|---------------------|---------|
| 1. 用語の定義            | 4. 定量限界 |
| 2. 評価の方法            | 5. 留意事項 |
| 3. 添加を行う食品の種類及び添加濃度 |         |

61

## 残留農薬等試験法について

### 残留農薬等試験法について

- 1) 農薬等(農薬、動物用医薬品又は飼料添加物)の試験法の開発・改良原則として本実施要領に従って検討する。  
(他により適切な操作方法や測定条件等がある場合には必ずしも統一する必要はない。)
- 2) 原則として個別試験法あるいはグループ試験法の開発に適用する。
- 3) 既存の公示試験法[通知(告示)試験法(一斉試験法を含む)]を適用する場合  
既存の公示試験法を適用する場合も、抽出・精製操作等に問題がないか  
本実施要領に基づいて検討する。  
適用できることが確認された場合には、必要のない限り操作は変更しない。

#### 【注意点】

##### 古い公示試験法の場合

本実施要領に従った開発が行われていない場合がある。

適用しようとする既存の公示試験法の抽出・精製操作等が本実施要領と異なる場合は、原則として本実施要領に従って新たに検討を行う。

62

## ・残留農薬等試験法について

### 1. 試料採取

(1) 穀類、豆類及び種実類の場合：

検体を425  $\mu\text{m}$ の標準網ふるいを通して均一化する。

< 粉碎中にペースト状になるなど粉碎が困難な食品の場合 >

1～3 mmのふるいを通して均一化する。次いで425  $\mu\text{m}$ の標準網ふるいを通して再度均一化する。

それでもなお粉碎が困難な場合には、1～3 mmのふるいを通して均一化し、よく均一化したものを試験に用いることができるが、その場合には必ずホモジナイズ抽出する。

(2) 果実、野菜及びハーブの場合：

検体約1 kg \*を精密に量り、必要に応じて適量の水を加え、細切均一化する。

\* 検査の場合の一般的な採取量を示したものであり、本実施要領での検討ではより少量を用いても良い。

63

## ・残留農薬等試験法について

### 1. 試料採取(続き)

(3) 茶及びホップの場合：

検体を425  $\mu\text{m}$ の標準網ふるいを通して均一化する。ただし、抹茶以外の茶にあって、熱湯浸出法により試験する場合は粉碎せずによく混合して均一化する。

(4) スパイスの場合：

その脂肪含量等に応じて、種実類又は果実の場合に準ずる。

(5) 筋肉の場合：可能な限り脂肪層を除き、細切均一化する。

(6) 脂肪の場合：可能な限り筋肉層を除き、細切均一化する。

(7) 肝臓、腎臓及びその他の食用部分の場合：細切均一化する。

(8) 乳の場合：よく混合して均一化する。

64



## ・残留農薬等試験法について

### 1. 試料採取(続き)

- (9) はちみつの場合：  
必要に応じて加温(40℃以下)して溶かしてから、よく混合して均一化する。  
加温が適さない場合には、必要に応じて適量の水を量って加え溶解してから、よく混合して均一化する。
- (10) 魚類の場合：可食部を細切均一化する。
- (11) 貝類の場合：殻を除去し、細切均一化する。
- (12) 甲殻類の場合：  
小型のものは全部位を、大型のものは外側の殻を除去し、細切均一化する。

65

## ・残留農薬等試験法について

### 1. 試料採取(続き)

- (13) 卵の場合：  
殻を除去し、卵白と卵黄を合わせてよく混合し、均一化する。  
(卵白中又は卵黄中に残留基準が設けられている場合を除く。)
- (14) 乾燥野菜及び乾燥果実の場合：  
必要に応じて適量の水を量って加え、細切均一化する。
- <乾燥野菜及び乾燥果実の分析値の求め方について\*>
- ・残留基準が設定されている場合 乾燥品としての濃度を求める。
  - ・残留基準が設定されていない場合  
最新の日本食品標準成分表(文部科学省)等の信頼性のある水分含量を用いて生鮮品としての当該食品中の濃度として求める。

\*分析値の取扱い等については「乾燥野菜等の残留農薬等に係る検査について」  
(平成18年6月1日厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課輸入食品安全対策室  
事務連絡)を参考にする。

66

## ・残留農薬等試験法について

### 2. 試料量

#### (1) 農産物

野菜、果実、ハーブ：20.0 g<sup>\*1</sup>

穀類、豆类、種実類：10.0 g<sup>\*2</sup>（水 20 mL を添加し、30分間放置する）

茶、ホップ：5.00 g<sup>\*3</sup>（水 20 mL を添加し、30分間放置する）

\*1:十分に均一化すれば、試料量として十分である。

\*2:脱脂の効率を考慮し、野菜、果実より少量とする。

\*3:10.0 gでは取扱いが困難なため、5.00 gとする。

#### (2) 畜水産物

液体試料(乳、卵、はちみつ等)：5.00 ~ 20.0 g<sup>\*4</sup>

固体試料(脂肪以外)：10.0 ~ 20.0 g<sup>\*4</sup>

固体試料(脂肪)：5.00 g<sup>\*4</sup>

\*4:試料の均一性を考慮した場合、試料量はできるだけ多い方が望ましい。

67

## ・残留農薬等試験法について

### 3. 抽出溶媒

#### (1) 農産物の場合

原則としてアセトンを使用する。

（他に適切な抽出溶媒があれば他の溶媒を用いても良い。）

#### (2) 畜水産物の固体試料(筋肉、脂肪、内臓、魚介類等)の場合

原則として農薬等を脂肪とともに抽出する方法を検討する\*。

抽出方法を脂肪と脂肪以外の食品とで分ける必要がない場合には、脂肪以外の食品についても原則として脂肪と同一の方法で実施する。

\* 農薬等の物理化学的性質等から脂肪とともに抽出することが困難な場合  
抽出に脂肪を溶解しない極性の高い溶媒(アセトニトリル等)を用いる必要がある場合

融解した脂肪に農薬等を添加し、再凝固させた状態からの抽出状況を評価する。

68

## ・残留農薬等試験法について

### 3. 抽出溶媒(続き)

- (3) 畜水産物の液体試料(乳、卵、はちみつ等)の場合  
脂肪を溶解しない溶媒(アセトニトリル等)を用いて抽出しても良い。  
液 - 液分配と見なすことができるので、脂肪を溶解しない溶媒を用いても、試料ととの間の分配により農薬等を抽出可能と考えられる。
- (4) 抽出溶媒量  
試料量20 gを用いる場合: 1 回目 100 mL、2 回目 50 mL  
試料量が20 gより少量の場合には、溶媒量を適切な量に減らしても良い。  
(例: 試料量10 g : 1 回目 50 mL、2 回目 25 mL)

69

## ・残留農薬等試験法について

### 【畜水産物の固体試料の抽出溶媒について】

- (1) 農薬等が脂肪を溶解する溶媒に溶解(分配)する場合  
原則として、脂肪を溶解する溶媒を用いて、農薬を脂肪とともに抽出する方法を検討する。  
(農薬の残留分析では、試料から脂肪とともに抽出し、抽出した脂肪中の農薬を分析する方法が一般的)
- (2) 農薬等が脂肪を溶解する溶媒に溶解(分配)しない場合  
脂肪を溶解しない高極性溶媒(アセトニトリルを含む)での抽出が必要な場合  
脂肪組織との間では有効な分配(抽出)が行われず、試料から農薬等を十分に抽出できない可能性がある。  
融解した脂肪に農薬等を添加し、再凝固させた状態からの抽出状況を評価する。

70

## ・残留農薬等試験法について

### 【畜水産物の固体試料の抽出溶媒について(続き)】

< 脂肪を溶解しない溶媒で抽出する場合の抽出状況の評価方法 >

脂肪を加温して融解させたものに農薬等を添加して均一化して、再凝固させた状態からの農薬等の抽出状況の評価する。

#### 【方法】

脂肪を加温して融解させる。加温はできるだけ低温(概ね40℃以下)で行い、添加により農薬等が分解や消失しない条件で行う。

融解脂肪に農薬等を添加し均一にする。添加用の標準溶液は、試料と混合する溶媒(アセトンなど)で調製する。

脂肪が再凝固してから30分程度放置後に抽出を開始する。

高速ホモジナイザー(ポリトロン等)を用いてホモジナイズ抽出し、脂肪が溶解又は微粒子として均一に分散する条件で抽出する。

抽出時にエマルジョンが形成された場合

- ・遠心分離を行う。(抽出の際の水層あるいは有機層の液量が多い方が、エマルジョンが形成されずに良好に分離することがある。)
- ・遠心分離後もエマルジョンが残る場合は、残ったエマルジョンについて更に抽出操作を行う。
- ・エマルジョンが消失するまで必要以上に長時間放置することは避ける。

71

## ・残留農薬等試験法について

### 【畜水産物の固体試料の抽出溶媒について(続き)】

< 脂肪を溶解しない溶媒で抽出する場合の抽出状況の評価方法 >

#### 【牛の脂肪のホモジナイズ状況】

- ・アセトニトリル  
脂肪がホモジナイザーのシャフトや容器の壁に付着  
抽出できない
- ・アセトン、メタノール  
脂肪が微粒子となって均一に分散可能  
抽出可能  
融解脂肪に農薬等を添加し、再凝固させた状態からの抽出状況の評価



(日本食品分析センター提供)

72

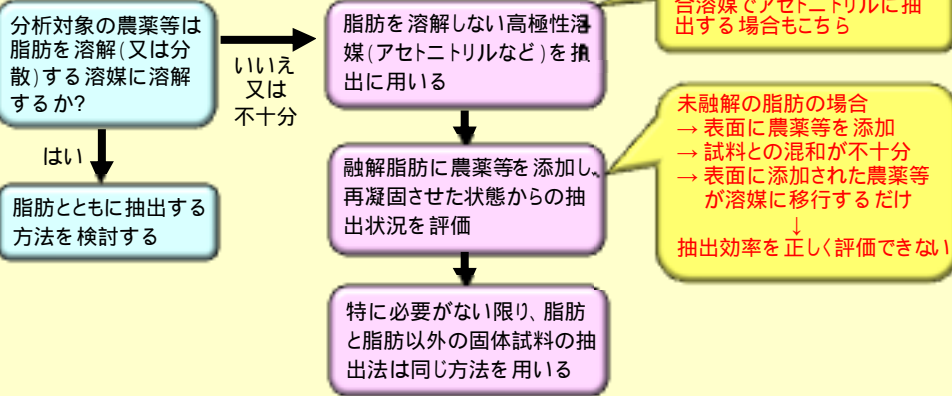
## 残留農薬等試験法について

### 【畜水産物の抽出溶媒について(まとめ)】

(1) 液体試料(乳、卵、はちみつ等)の場合

アセトニトリルなどの脂肪を溶解しない溶媒の使用も可能

(2) 固体試料(筋肉、脂肪等)の場合



73

## 公示試験法：畜水産物(固体試料)の抽出溶媒

抽出溶媒	特徴・注意点(畜水産物固体試料の場合)
アセトン及びヘキサン混液	脂肪を溶解可能 <b>抽出可能</b> 高極性農薬等の抽出が不十分
アセトン、メタノール、エタノールなど	脂肪を一部溶解し、かつ分散可能 <b>抽出可能</b> 高極性農薬等の抽出が可能 分散するため抽出は問題ないと思われるが、 <u>融解脂肪を用いた検討で確認しておくことが望ましい</u>
脂肪を溶解しない高極性溶媒(アセトニトリルを含む)とヘキサンの組合せの場合	ヘキサンにより脂肪を溶解可能 <b>抽出可能</b> 高極性農薬等の抽出が可能 脂肪を溶解しない高極性溶媒に抽出 <b>融解脂肪を用いた評価が必要</b> (従来の公示試験法は、融解脂肪を用いた評価を行っていないので、採用にあたっては確認が必要)
ヘキサン、酢酸エチルなど	脂肪を溶解可能 抽出可能??? 高極性農薬等の抽出が不十分 農薬等が水分含量の高い組織中に残留する場合、水と混和しないため、組織中に浸透して効率よく抽出できるか疑問がある。 <u>水と混和するアセトンなどの溶媒を用いる方が良い。</u>
脂肪を溶解しない高極性溶媒(アセトニトリルを含む)のみの場合	脂肪を溶解(分散)できない <b>抽出困難</b> <b>抽出溶媒の変更が必要</b>

74

## 公示試験法：畜水産物(固体試料)の抽出溶媒

一斉試験法	抽出溶媒 (畜水産物固体試料)		特徴・注意点
GC-MSによる農薬等の一斉試験法(畜水産物)	アセトン及びn-ヘキサン(1:2)混液		脂肪を溶解可能 <b>抽出可能</b> 高極性農薬等の抽出が不十分 <b>新規一斉試験法(畜水産物)の検討</b>
LC-MSによる農薬等の一斉試験法(畜水産物)			
HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法(畜水産物)	アセトニトリル、アセトニトリル飽和n-ヘキサン、無水硫酸ナトリウム		脂肪を溶解可能 <b>抽出可能</b> アセトニトリルに抽出 <b>融解脂肪で未評価 確認が必要</b>
HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法(畜水産物)	脂肪以外	95%アセトニトリル溶液	脂肪を溶解(分散)できない。 <b>抽出困難</b> 脂肪以外も脂肪と同じ方法で実施する必要がある。
	脂肪	95%アセトニトリル溶液、n-ヘキサン	脂肪を溶解可能 <b>抽出可能</b> アセトニトリルに抽出 <b>融解脂肪で未評価 確認が必要</b>
HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法(畜水産物)	アセトニトリル、メタノール及び0.2%メタリン酸溶液(1:1:3)混液		脂肪を溶解(分散)できない <b>抽出困難</b> <b>抽出溶媒の変更が必要</b> 脂肪以外も脂肪と同じ方法で実施する必要がある。

75

## 残留農薬等試験法について

### 4. 抽出操作

#### (1) 抽出法・・・ホモジナイズ(細砕)

- ・ホモジナイザークップを使用する場合：3分間
- ・高速ホモジナイザー(ポリトロン等)を使用する場合：1～2分間

(注：抽出は1回目及び2回目ともに原則としてホモジナイズ抽出を用い、適切な理由がある場合を除き振とう抽出は原則として用いない。やむを得ず振とう抽出を採用する場合は条件も記載する。)

#### [理由]

振とう条件には様々な因子\*があり、一律に規定することは困難。

実施機関で使用している振とう機を用いて、最適な条件を検討する必要がある。

\* 振とう方式(立て振とう、斜め振とう等)、振とう距離、振とう速度、容器内の空間の大きさ等

液-液分配に振とうを用いる場合 添加回収試験により条件を検討することが可能

試料からの抽出に振とうを用いる場合

試料からの農薬等の抽出効率添加回収試験では確認できない。

確認には農薬等の残留試料を用いた検討が必要

残留試料を用いた検討は現実的ではないため、試料からの抽出では原則として振とう抽出は用いないこととし、より抽出力の強いホモジナイズ抽出を用いることにした。

76

## ・残留農薬等試験法について

### 5. 茶の試験法

新規登録農薬には茶葉以外の茶の規定はなくなったので、試験法は直接抽出法のみ作成する。

(ただし、熱湯浸出液を分析することになっている農薬については、熱湯浸出法を作成する。)

### 6. 凝固処理

凝固液：塩化アンモニウム2 g 及びリン酸4 mL に水を加えて400 mL とする。

77

## ・残留農薬等試験法について

### 7. 濃縮

(1) ロータリーエバポレーターを用いて40℃以下で濃縮する。

(他の適切な濃縮装置を用いても良い。)

(2) アセトン抽出液の濃縮

約30 mLまで濃縮する・・・抽出液中に水が約20 mL存在した場合

(次に転溶する場合は、容器を転溶溶媒で洗って分液ろうとに移す。)

(3) 濃縮乾固する場合

ロータリーエバポレーターなどを用いる場合は、少量の溶媒を残し、最後の数mLは窒素ガス等を吹き付けて溶媒を揮散させる。

特に揮発性の高い農薬等については、必要に応じてキーパーなどの使用も検討する。

78

## ・残留農薬等試験法について

### 8. 転溶

(例)

食塩水：10%塩化ナトリウム溶液 100 mL

転溶溶媒：1回目 100 mL、2回目 50 mLで2回転溶

振とう時間：5分間

(農薬等の特性に応じて、塩化ナトリウム溶液の濃度などを適切な条件に変更しても良い。)

### 9. 脱水

適量の無水硫酸ナトリウムを加え15～30分間放置する。  
容器及び無水硫酸ナトリウムは溶媒20 mLで2回洗う。

79

## ・残留農薬等試験法について

### 10. アセトニトリル/ヘキサン分配

ヘキサン30 mLに対してヘキサン飽和アセトニトリル30 mLで3回抽出する。

(1) アセトニトリル及びヘキサンの比率

脱脂効果を高めるため原則として1:1とする。

(アルドリンのようにアセトニトリル層に分配しにくい農薬等では、脱脂効果は落ちるが、アセトニトリルの比率を高くしても良い。)

(2) アセトニトリル及びヘキサンの溶媒量

食品中の脂肪含量に応じて適宜変更して良い。

(3) 分配操作の回数

回収率、脱脂効果等に問題がなければ3回以外の操作回数でも良い。

(4) ヘキサン洗浄

損失のない農薬等については、アセトニトリル層のヘキサン洗浄を行っても良い。

80



## ・残留農薬等試験法について

### 11. カラムクロマトグラフィー

- (1) ガラスカラム及び市販のミニカラムのいずれを使用しても良い。
- (2) 複数のミニカラムを連結した連結カラムを用いた場合には、各カラム単独での溶出挙動に加え、カラムを連結した状態での溶出挙動についても確認する。  
[理由] 各カラム内での拡散により、カラム連結後に溶出位置がずれることがあるため。
- (3) シリカゲル及びフッロリジルについて
  - ・ 精製効果、再現性等に問題が無い場合にはミニカラムを用いて良い。
  - ・ ミニカラムではロット差や吸湿等により溶出位置がずれる場合、安定した結果を得るにはガラスカラムを使用した方が良い場合がある。
- (4) ガラスカラムを用いる場合の標準的な方法
  - カラム：内径1.5 cmのガラスカラム
  - 活性化：130 で12時間以上加熱活性化した充填剤をデシケーター中で放冷した後使用する。
  - 充填剤の量：必要最少量(5又は10 g)
  - 無水硫酸ナトリウムの量：約5 g
  - 充填溶媒：湿式充填の場合は調製溶媒を明記する。

81

## ・残留農薬等試験法について

### 12. 測定について

- (1) 測定装置
  - 選択性及び感度等を考慮し試験法に適切な装置を用いる。
  - 1) GC測定
    - 炎光光度型検出器 (FPD)
    - アルカリ熱イオン化検出器 (FTD)
    - 高感度窒素・リン検出器 (NPD)
    - 電子捕獲型検出器 (ECD)
    - 質量分析計 (MS(/MS))
  - 2) HPLC測定
    - 紫外分光光度型検出器 (UV)
    - 蛍光光度型検出器 (FL)
    - 多波長検出器 (DAD)
    - 可視分光光度型検出器 (VIS)
    - 質量分析計 (MS(/MS))

82

## ・残留農薬等試験法について

### 12. 測定について

#### (2) 測定条件

他に適切な条件があれば他の条件を用いても良い。

#### 1) GC、GC-MS(/MS)測定

GCカラム：原則として、DB-1、DB-5、DB-17、DB-1701、DB-210及びそれぞれの相当品の中から選択する。

内径×長さ：0.25～0.32 mm×30 m 又は 0.53 mm×15～30 m  
(GC-MS測定では通常0.25 mm×30 mが使用される。)

試験溶液：

ECD : ヘキサン溶液

FPD及びNPD: アセトン溶液

83

## ・残留農薬等試験法について

### 12. 測定について

#### (2) 測定条件(続き)

#### 2) HPLC、LC-MS(/MS)測定

移動相：HPLC又はLC-MS用溶媒を使用する。

注入量の目安：

内径 2.0～3.0 mmのカラム：1～10  $\mu$ L

内径 4.6 mmのカラム : 20  $\mu$ L

移動相の流速の目安：

内径 2.0～3.0 mmのカラム：0.2～0.4 mL/min

内径 4.6 mmのカラム : 1.0 mL/min

(使用するカラムの分離特性及びLC-MSの至適流速に応じて、  
移動相の流速及び組成比を調整する。)

84

## 残留農薬等試験法について

### 13. 全般的な事項

- (1) **定量は原則として溶媒で希釈した標準溶液を用いて絶対検量線法で行う。**  
原則としてマトリックス添加標準溶液、標準添加法及びサロゲートを用いない方法を検討する。また、検量線の濃度は、例えば回収率の25、50、75、100、125、150%相当濃度などを用いる。

【理由】

- 測定がマトリックスの影響を受ける場合に、その影響を補正するために次の ~ の手法を用いた場合  
マトリックス添加標準溶液、 擬似マトリックス(PEG、analyte protectantsなど)の添加、  
標準添加法、 サロゲート(安定同位体標識標準品を用いた内標準法)  
精製を省略してもある程度結果(回収率)は得られる。  
精製方法の検討が不十分になり、精製方法に関する情報が少なくなる。  
~ の手法には課題もあり、補正が適切か検証が必要…… 検証のための手順が示されていない。
- 公示試験法
  - ・ 検査に使用するためには、食品を限定せずにできるだけ**広範囲の食品に適用**できる方法が望ましい。
  - ・ 基準値への適否判定を目的としているため、**正確な分析値**を求める必要がある。  
種類の異なる10食品を用いてマトリックスの測定への影響が少ない方法を開発(精製法に関する情報を提供)  
精製の難しい食品にも適用可能な試験法 ⇨ **溶媒で希釈した標準溶液を用いた絶対検量線法で定量**

85

## 残留農薬等試験法について

【マトリックスの影響を補正するために用いられる手法の課題】

マトリックス添加標準溶液

- ・ 適切なブランク試料を食品毎に準備する必要がある。
- ・ 同じ食品でも個体差があり、測定に影響を及ぼすマトリックスの量・種類が異なる。

擬似マトリックス(PEG、analyte protectantsなど)

- ・ 全ての食品について、その食品マトリックスと同じように補正ができるとは限らない。

標準添加法

- ・ 操作が煩雑
- ・ 食品中の残留分析に適用する標準的な方法及び評価基準がない。

サロゲート(安定同位体標識標準品を用いた内標準法)

- ・ 安定同位体の入手できる農薬等は限られている。
- ・ 安定同位体は高価
- ・ 測定対象化合物が使用する安定同位体の数だけ増加する。  
… GC-MS(MS)、LC-MS(MS)の多成分分析ではモニターイオン数に制限がある。
- ・ 食品中の残留分析に適用する標準的な方法及び評価基準がない。  
(サロゲートが正しく機能すれば補正された回収率は100%になるはず。)

86

## ・残留農薬等試験法について

### 13. 全般的な事項(続き)

- (2) 全操作を通じて、ベンゼン、クロロホルム及び四塩化炭素は使用しない。ジクロロメタンの使用もできるだけ避ける。
- (3) 試験溶液と検量線作成用の標準溶液は、同じ溶媒で調製する。
- (4) 既存の公示試験法を適用する場合には、その試験法が分析対象としている他の農薬等との分離についても検討する。
- (5) GC-MS(/MS)あるいはLC-MS(/MS)による確認方法についても検討する。
- (6) 試料マトリックスの測定への影響の検討について
  - ・マトリックス添加標準溶液\*の溶媒標準溶液\*に対するピーク面積(又は高さ)の比を求めて確認する。  
(\* 添加回収試験における回収率100%相当濃度の標準溶液を、それぞれブランク試料の試験溶液及び溶媒で調製する。)
  - ・できる限り試料マトリックスの測定への影響の少ない[面積(又は高さ)比が1になる]試験法を検討する。

87

## ・残留農薬等試験法について

### 13. 全般的な事項(続き)

- (7) 抗生物質の純度
  - ・原則として理化学的純度を用いる。
  - ・複数の構成成分からなるなど、理化学的純度を表記できない場合には力価を用いる。
  - ・検量線の作成に当たっても、原則として理化学的純度に基づく濃度を用いる。(理化学的純度を表記できない場合には力価濃度を用いる。)
- (8) 試験溶液に不溶物がある場合は、原則として遠心分離を行い上清を測定に用いることとし、吸着等の影響を避けるためフィルターろ過は行わない。フィルターろ過を行う場合には、検討対象の全ての食品(あるいはフィルターろ過を行う食品)について、食品マトリックス共存下での農薬等の吸着の有無を検証する。

88

## 添加回収試験実施要領

### 1. 用語の定義、2. 評価方法<sup>注)</sup>

食品毎に、検討する試験法の分析対象化合物を含まない試料(ブランク試料)に分析対象化合物を添加した試料(添加試料)を、試験法に従って分析し、その結果から以下のパラメータを求め、それぞれの目標値等に適合していることを確認する。

[パラメータ]

- (1) 選択性
- (2) 真度
- (3) 併行精度
- (4) 定量限界
- (5) 試料マトリックスの測定への影響……ガイドラインにはない項目

注) 「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の一部改正について」厚生労働省食品安全部長通知 食安発1224第1号(平成22年12月24日)も参考にする。

89

## 添加回収試験実施要領

### 1. 用語の定義、2. 評価方法

#### (1) 選択性

[定義] 試料中に存在すると考えられる物質の存在下で、分析対象化合物を正確に測定する能力をいう。

[評価方法] ・ブランク試料を試験法に従って分析し、定量を妨害するピーク(妨害ピーク)がないことを確認する。

・妨害ピークを認める場合は、妨害ピークの面積(又は高さ)について表1のことを確認する。

表1 定量限界と基準値\*の関係と妨害ピークの許容範囲

定量限界と基準値の関係	妨害ピークの許容範囲
定量限界 基準値の1/3	< 基準値濃度に相当するピークの1/10
定量限界 > 基準値の1/3	< 定量限界濃度に相当するピークの1/3
不検出	< 定量限界濃度に相当するピークの1/3

\* 基準値未設定の場合には、基準値を一律基準(0.01 ppm)として同様に取扱う。

90

## ・添加回収試験実施要領

### 1. 用語の定義、 2. 評価方法

#### (2) 真度

[定義] 十分多数の試験結果から得た平均値と承認された標準値(添加濃度等)との一致の程度をいう。

#### [評価方法]

- ・添加試料5個以上を試験法に従って分析し、得られた定量値の添加濃度に対する百分率(回収率)を求め、回収率の平均値を真度とする。  
(回収率を求める際には、計算途中の有効数字を十分確保する。)
- ・真度の目標値は表2のとおりとする。

91

## ・添加回収試験実施要領

### 1. 用語の定義、 2. 評価方法

#### (3) 精度

#### [定義]

精 度: 指定された条件下で繰り返された独立した試験結果間の一致の程度をいう。

併行精度: 同一と見なされる試料の測定において、同一の方法を用いて、同一の試験室で、同一の実施者が、同一の装置を用いて、短時間のうちに独立な試験結果を得る条件(併行条件)による測定結果の精度をいう。

#### [評価方法]

- ・添加試料の分析をくり返し、回収率の標準偏差及び相対標準偏差(RSD)を求め、併行精度を評価する。試行の回数は5回以上とする。
- ・併行精度の目標値は表2のとおりとする。

92

## 添加回収試験実施要領

### 1. 用語の定義、2. 評価方法

表2 各濃度毎の真度及び精度の目標値

濃度 (ppm)	試行回数 (回)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)
0.001	5	70 ~ 120	30 >
0.001 < ~ 0.01	5	70 ~ 120	25 >
0.01 < ~ 0.1	5	70 ~ 120	15 >
0.1 <	5	70 ~ 120	10 >

93

## 添加回収試験実施要領

### 1. 用語の定義、2. 評価方法

#### (4) 定量限界

[定義] 適切な精確さをもって定量できる分析対象化合物の最低量又は濃度をいう。

(本実施要領では、原則として通知試験法に示された定量限界\*を用いる。)

\* 食品、添加物等の規格基準(昭和34年厚生省告示第370号)第1のA食品一般の成分規格5において「不検出」とされる農薬等の場合は、「食品衛生法等の一部を改正する法律による改正後の食品衛生法第11条第3項の施行に伴う関係法令の整備について」\*1に示された検出限界\*2を用いる。

\*1:平成17年11月29日付け食安発1129001号食品安全部長通知

\*2:本実施要領において「定量限界」と同義として取扱う。

94

## 添加回収試験実施要領

### 1. 用語の定義、2. 評価方法

#### (4) 定量限界 (続き)

[評価方法]

添加試料への農薬等の添加濃度に「定量限界濃度」を用いる場合\*には、以下の条件及びを満足していることを確認する。

\* 基準値が定量限界と一致している場合あるいは農薬等の残留基準告示において「不検出」とされる場合など(表3参照)

定量限界濃度を添加した添加試料による真度及び併行精度が表2の目標値を満足していること。

クロマトグラフィーによる分析では、定量限界濃度に対応する濃度から得られるピーク( から得られるピークあるいは標準溶液から得られるピーク)は、 $S/N$  10であること。

95

## 添加回収試験実施要領

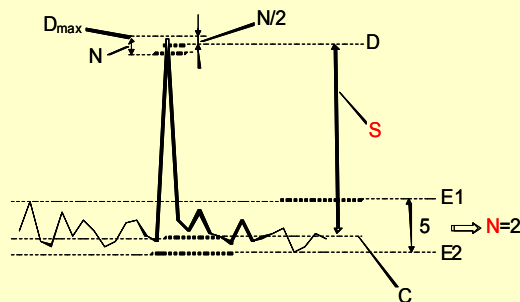
### 1. 用語の定義、2. 評価方法

#### (4) 定量限界 (続き)

<  $S/N$ 比の求め方 >

経験的にノイズの最大値(E1)と最小値(E2)との幅はノイズの標準偏差( $\sigma$ )のおよそ5倍となるため、その幅の2/5を ノイズ幅(N)とする。

一方、ノイズの中央値(C)をベースラインとし、ピークの最大値( $D_{max}$ )から $N/2$ を引いた値をピークトップ(D)とし、CとDの幅を ピーク高さ(S)とする。SをNで除した値を  $S/N$ 比とする。



(参考) ノイズが観察されない場合  
データ取り込みの際にノイズをカットする設定になっていないか確認する。  
繰り返し測定におけるピーク面積の標準偏差から求める方法もある。

96



## 添加回収試験実施要領

### 1. 用語の定義、2. 評価方法

#### (4) 定量限界 (続き)

##### [ 定量限界の推定 ]

- ・ 添加濃度に「基準値濃度」又は「一律基準値濃度」を用いる場合『定量限界 < 基準値』及び『定量限界 < 一律基準』となる場合 (即ち、添加濃度が定量限界濃度と異なる場合 (表3参照))  
別途、定量限界の評価は不要 定量限界の推定を行う。

##### (方法)

試料中の濃度が定量限界相当濃度になるように、マトリックス添加標準溶液<sup>\*1</sup>及び溶媒標準溶液<sup>\*2</sup>を作成し、それぞれ2回以上測定したときのマトリックス添加標準溶液の溶媒標準溶液に対するピーク面積 (又は高さ) の比 (%) 及びS/N比を求める<sup>\*3</sup>。

面積 (又は高さ) 比 (%) は、表2の真度の目標値を満足し、かつS/N比 10であることが望ましい。

\*1 ブランク試料の試験溶液で調製

\*2 溶媒で調製

\*3 定量限界濃度での添加回収試験を2回以上実施して評価しても良い。

97

## 検出限界と定量限界について

### 1) 検出限界 (limit of detection: LOD)

装置の検出限界・・・分析対象を含まない標準液 (又は検出限界近傍の濃度の標準液) の測定から求めた最低量

**方法の検出限界**・・・ブランク試料の測定から求めた最低量

### 2) 定量限界 (limit of quantitation: LOQ)

装置の定量限界・・・定量限界近傍の濃度の標準液の測定から求めた最低量

**方法の定量限界**・・・添加試料の測定から適切な精確さをもって定量できる最低量

### 3) 通知法の定量限界 (告示法では検出限界)

基準値濃度での添加回収試験による評価を実施

- ・ 公示試験法の目的は基準値の判定 **正しく基準値を判定できることが重要**
- ・ 基準値が定量限界よりも高濃度の場合 分析法の性能としての定量限界 (方法の定量限界) を厳密に求めることは必ずしも重要ではない
- ・ 方法の定量限界を食品毎に求めるには大変な労力が必要  
**適切な精確さ (信頼性) を持って、基準値を判定できる最低量 (濃度)**

#### (注)

・ 検出限界と定量限界には、いくつかの考え方と求め方があるので上記は一例である。

・ 分析化学の用語としては定量上限も定義できるので、通知の定量限界は「定量下限」に相当すると思われるが、基準値の判定では方法の定量下限を求めることは必ずしも重要ではない場合があること、また、高濃度の場合は希釈して測定することで対応が可能のため、方法の定量上限を求めることは残留農薬等の検査では一般に実施されていないので、定量下限という用語を用いなくても実施上は問題はないと思われることから、従来から用いられている「定量限界」の用語をそのまま用いている。

98

## ・添加回収試験実施要領

### 1. 用語の定義、2. 評価方法

#### (5) 試料マトリックスの測定への影響

マトリックス添加標準溶液の溶媒標準溶液に対するピーク面積(又は高さ)の比を求めて、試料マトリックスの測定への影響を確認する。

- ・ 添加回収試験における回収率100%相当濃度になるように、ブランク試料の試験溶液で調製した標準溶液(マトリックス添加標準溶液)及び溶媒で調製した標準溶液(溶媒標準溶液)を作成し、それぞれ2回以上測定する。
- ・ マトリックス添加標準溶液は、試験当日のブランク試料の試験溶液を用いて調製する。

99

## ・添加回収試験実施要領

### 3. 添加を行う食品の種類及び添加濃度

#### (1) 添加回収試験の対象食品\*

- ・ 添加回収試験は、原則として指定した10食品について実施する。
- ・ 当該食品に基準値が設定されていない場合には、基準値が設定されている他の類似の食品と入れ替えて実施する。
- ・ 基準値が設定されている食品が10食品に満たない場合であっても、試験法の頑健性等を考慮し、例示した食品を参考として10食品を選択して実施する。

\* 添加を行う食品は、原則として試験法を適用しようとする食品から選択する。一律基準を考慮した場合には、全ての食品が対象となるが、全ての食品について評価するのは現実的に困難なため、食品成分の特性及び抽出法の違いを考慮し、代表的な食品を10食品以上選択する。

100

## 添加回収試験実施要領

### 3. 添加を行う食品の種類及び添加濃度

#### (1) 添加回収試験の対象食品(続き)

##### 1) 農産物

- ・穀類 玄米
- ・豆類 大豆、らっかせい\*
- ・種実類
- ・野菜 ほうれんそう(葉緑素を多く含むもの)  
キャベツ(イオウ化合物を多く含むもの)  
ばれいしょ(デンプンを多く含むもの)
- ・果実 オレンジ、りんご
- ・茶 茶
- ・ホップ + 1食品(任意:種実類、スパイス等)
- ・スパイス等

\*らっかせい: 生らっかせいを用いる。殻を除去した豆(渋皮を含む)を試料とする。

101

## 添加回収試験実施要領

### 3. 添加を行う食品の種類及び添加濃度

#### (1) 添加回収試験の対象食品(続き)

##### 2) 畜水産物

- ・牛、豚、鶏等の筋肉 牛の筋肉
  - ・牛、豚、鶏等の脂肪 牛の脂肪
  - ・牛、豚、鶏等の肝臓 牛の肝臓
  - ・牛、豚、鶏等の腎臓
  - ・卵 鶏卵
  - ・乳 牛乳
  - ・はちみつ等の養蜂製品 はちみつ\*1
  - ・魚介類等 さけ  
うなぎ\*2(脂肪を多く含むもの)  
しじみ(貝類)
- + 1食品(任意)

\*1 はちみつ: 可能であればそば蜜又は百花蜜などの着色したものをを用いて検討することが望ましい。

\*2 うなぎ: 活鰻を使用する。頭を除いた可食部(内臓、骨及び皮を含む)を試料とする。

102

## 添加回収試験実施要領

### 3. 添加を行う食品の種類及び添加濃度

#### (2) 添加濃度

添加濃度は原則として表3の通りとする **基準値**又は**定量限界濃度**が基本

表3 定量限界と基準値の関係と添加濃度

定量限界と基準値の関係	添加濃度
定量限界 < 基準値	基準値濃度
定量限界 = 基準値	定量限界濃度
不検出	定量限界濃度
基準値未設定*	
定量限界 < 一律基準	一律基準濃度
定量限界 = 一律基準	定量限界濃度

\* 基準値未設定の場合には、基準値の代わりに一律基準(0.01 ppm)を用いて同様に取扱う。

103

## 添加回収試験実施要領

### 4. 定量限界について

定量限界は、基準値濃度の1/10を目処とする\*。

定量限界は、一律基準濃度(0.01 ppm)以下であることが望ましい\*。

定量限界の評価方法は、1. 評価の方法の(4)定量限界に従うこと。

\* 基準値が非常に低い農薬等/食品の組合せ、あるいは検出が困難な農薬等に関してはこの限りではない。

104

## 添加回収試験実施要領

### 5. 留意事項

- (1) 添加回収試験に用いる食品について  
原則として新鮮な食品を使用し、均一化して秤量後、農薬等を添加する。
  - ・凍結保存した食品又はそのホモジネートは、食品成分が変化している可能性があるため、できる限り使用しない。
  - ・野菜や果実など、凍結保存以外に長期間の保存が不可能な試料については、有姿で凍結した試料を検討に用いても良い。  
(ただし、凍結・融解の繰り返しは避ける。)
- (2) 添加する標準溶液の量: **試料量の1/20 ~ 1/10程度**
  - ・添加溶媒により、酵素活性あるいは抽出効率が変化する可能性があるため、できるだけ少量にする。(例: 試料10 g → 0.5 ~ 1 mL)
- (3) 添加する標準溶液の調製溶媒
  - ・**試料と混合する溶媒(アセトンなど)を用いる。**  
(例えば、脂肪の添加に用いる溶媒は、アセトンなどの脂肪と混合する溶媒を用い、アセトニトリルなどの脂肪と混合しない溶媒は使用しない。)

105

## 添加回収試験実施要領

### 5. 留意事項

- (4) 添加後の放置時間  
農薬等を添加後よく混合し、**30分程度放置後\***に抽出操作を開始する。  
\*この間に分解が見られる場合には、分解を防止する方法について検討する。
- (5) 分解を防止する方法について
  - 1) ホモジナイズ前の食品に塩酸又はリン酸等の酸あるいは抗酸化剤を添加する。
  - 2) 液性による分解の場合は、酸、アルカリ又は緩衝液をホモジナイズ前の食品に添加する。
  - ・添加回収試験では、分解防止処理(酸、アルカリ、抗酸化剤等の添加)をして調製したホモジネートに農薬等を添加後よく混合し、**30分程度放置後に抽出操作を開始する。**
  - ・分解を防止する方法を見出すことが困難な場合は、個別事例として別途添加方法について検討する。

106

## 添加回収試験実施要領

### 5. 留意事項

- (6) 他の食品に比べて回収率が低い食品があった場合は、対策を検討し、原則として当該食品以外の食品もその方法で添加回収試験を実施する。
- (7) 乾燥試料に対する水添加後の放置時間  
既存の公示試験法の記載によらず原則として**30分間**とする。
- (8) 特に必要な場合は、ホモジナイズから転溶までの操作を速やかに行うよう試験法(案)の注意点に記載する。

107

## 添加回収試験実施要領

### 5. 留意事項

- (9) 畜水産物の固体試料の試験法について

#### 1) 農薬等を脂肪とともに抽出しない試験法

[脂肪を溶解(分散)しない溶媒(アセトニトリル等)で抽出する場合]  
脂肪を加熱して融解させたものに農薬等を添加して均一にした後、  
再度凝固させたものを用いて、抽出状況を評価する。

脂肪の加熱はできるだけ低温(概ね40 以下)で行い、添加により農薬等が分解・消失しない条件で行う。農薬等の添加には、試料と混合する溶媒(アセトンなど)を用いる。

抽出操作は脂肪が再凝固してから30分程度放置後に開始する。

必ず高速ホモジナイザーを用いてホモジナイズ抽出し、脂肪が溶解又は少なくとも微細は粒子として均一に分散する条件で行う。

#### 2) 農薬等を脂肪とともに抽出する試験法

[脂肪を溶解(分散)する溶媒(アセトン等)で抽出する場合]  
脂肪を融解せずに農薬等を添加しても良い。

108

## 試験法の評価

### 『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』

厚生労働省医薬食品局 食品安全部長通知  
食安発第1115001号(平成19年11月15日)  
食安発第1224第1号(平成22年12月24日改正)

1. 趣旨
  - 1) 食品規格(残留基準)への適合判定を目的として実施する試験
  - 2) 各試験機関が使用する試験法の妥当性を評価するための手順
  - 3) 機器分析による試験法を対象
  - 4) 国際的に認められた他の手順を使用することも可能
2. ガイドラインの対象
  - 1) 食品規格への適合判定のために使用される試験法  
告示試験法、 通知試験法、 及び 以外の方法
  - 2) 妥当性が未評価の方法

109

## 試験法の評価

### 『食品中に残留する農薬等に関する試験法 妥当性評価ガイドライン』

3. 用語の定義
  4. 妥当性評価の方法
    - (1) 選択性、(2) 真度、(3) 精度、(4) 定量限界
  5. 添加を行う食品の種類及び添加濃度
    - (1) 添加を行う食品の種類
    - (2) 添加試料の作成等にあたっての留意事項
- 別紙1 妥当性評価された試験法の試験室への導入及び一部を変更する際に評価すべき項目
- 別紙2 室内精度評価のための実験の例
- 別紙3 既存のデータを用いた妥当性評価例

110

## 試験法の評価 [抽出方法を変更する場合]

別紙1 妥当性評価された試験法の試験室への導入及び一部を変更する際に評価すべき項目

### 3. 妥当性評価された試験法の一部を変更する場合

妥当性評価された試験法あるいは検証試験を行って導入した試験法の一部を変更する場合には、本ガイドラインで定めた一部の性能パラメータについて評価を要しない場合がある。但し、選択性及び真度の確認は常に必要である。

最終試験溶液の液量あるいは測定条件(注入量、分析カラムの種類及びサイズ、キャリアーガスの種類、昇温条件、移動相組成、移動相流速、グラジエント条件、カラム温度、MS測定モード及び測定イオン等)を変更した場合は、選択性及び真度を評価し、必要であると判断される場合は併行精度を評価する。基準値が定量限界と一致している場合あるいは農薬等の残留基準告示において「不検出」とされる場合には、定量限界も評価する。

上記以外の部分を変更する場合は、選択性及び真度を含めて試験法の性能が大きく変わる可能性があるため、妥当性を評価された試験法の変更ではなく、原則として新たな試験法と考え、本ガイドラインに従った妥当性評価を実施する。特に、**試料量、試料採取方法、抽出溶媒の種類あるいは量は変更しないことが望ましい。**

111

## 試験法の評価 [抽出方法を変更する場合]

### ➤ 公示試験法

- 1) 試料採取方法、試料量 → 試料のバラツキを考慮
- 2) 抽出溶媒の種類及び量、抽出操作 → 抽出効率を考慮
- 3) 食品の種類に影響を受けにくい方法 → 抽出の難しい食品を考慮

### ➤ **抽出方法を変更する場合** → 抽出効率に影響する可能性がある。

- 1) 試料量を変更 …… 減らす(又は増やす)
- 2) 抽出溶媒を変更 …… 種類及び/又は量を変更
- 3) 抽出操作を変更 …… ホモジナイズ抽出 → 振とう抽出に変更

➡ **公示試験法と変更後の方法を比較して、同等又はそれ以上の性能を示す。**

### ➡ **添加回収試験での評価では不十分**

- ・添加回収試験は、農薬等を外から食品に添加
  - 試験操作中の損失がないかを確認しているのみ
  - 実際に食品中に移行・残留した農薬等を抽出できるかが重要

### ➡ **農薬等の実際の残留試料での比較が必要**

- ・抽出方法 原則として変更しない。
- ・精製方法、定量方法 変更可能(評価は必要)

112



1. 食品の安全への取り組み
2. 食品中の残留農薬等の規制
  - 2-1. 農薬等のポジティブリスト制度
  - 2-2. 残留基準の設定
3. 残留農薬等公示試験法
4. 残留農薬等公示試験法の開発
5. 通知試験法の記載に関する留意点

113

### 残留農薬等公示試験法の記載項目

1. 分析対象化合物	7. 確認試験
2. 装置	8. 測定条件
3. 試薬、試液	9. 定量限界
4. 試験溶液の調製	10. 留意事項
1) 抽出	1) 試験法の概要
[農産物の場合(例)]	2) 注意点
穀類, 豆類及び種実類の場合	11. 参考文献
果実, 野菜, ハーブ, 茶及びホップの場合	12. 類型
[畜水産物の場合(例)]	A: 公定法(乳等省令, 規格基準告示および通知に定めてきたもののうちCを除く.)
筋肉, 脂肪, 肝臓, 腎臓及び魚介類の場合	B: 諸外国の政府機関等が定めている試験法(Aを除く.)
乳, 卵及びはちみつの場合	C: 有識者からなる検討会によって作成された試験法
2) 精製	D: 文献から引用した試験法(A~Cを除く.)
5. 検量線の作成	13. その他
6. 定量	

114

## 公示試験法の記載に関する留意点

### (1) 「3. 試薬、試液」

- 1) 通知の総則の3. 試薬・試液に記載されていないものだけを記載  
(告示の第二添加物の部C 試薬・試液等の1. 試薬・試液に掲げるもの又は通知の別紙に掲げるものは記載しない)
- 2) ミニカラムで充填剤の種類が同じでも、充填量が異なるものについては記載

### (2) 「4. 試験溶液の調製」

- 1) 旧告示試験法の記載を簡略化
- 2) 液-液分配と凝固処理 「抽出」の項目に記載  
固相カラム処理 「精製」の項目に記載
- 3) カラム精製  
捨てる画分 「流出液」と記載  
目的物を含む画分 「溶出液」と記載
- 4) 混合溶媒  
溶媒名 五十音順(混合比率の高い順ではない)に記載  
混合比率 約分した整数で表記

115

## 公示試験法の記載に関する留意点

### (2) 「4. 試験溶液の調製」(続き)

- 5) 定容操作の容量には、「正確に」と記載

#### 【残留農薬等の分析における「正確に」の考え方】

『容量を「正確に量る」とは、別に規定するもののほか、ホールピペット又はこれと同程度以上の精度のある容量計を用いて計量することを意味する。また、「正確に100 mLとする」等と記載した場合は、通例、メスフラスコを用いる。(食品衛生検査指針 残留農薬編)』

最終液量を数mL程度に定容するときのように、メスフラスコの使用が困難な場合

実際の分析ではホールピペット(又はスピペット)で溶媒を採取して、それを残留物に加えて溶かす方法が用いられている。

残留農薬等の分析では、この場合の「正確に」とは、校正された容量計を用いて溶媒を採取することが許容される。(ただし、添加後に溶媒の気散による容量変化ができるだけないように注意が必要)

116

## 公示試験法の記載に関する留意点

### (3) 『5. 検量線の作成』

#### 1) 検量線の最小濃度

定量限界と一致するように記載

(形式的に一致させているもので、実際には装置の感度に応じてより低濃度から作成する。)

#### 2) 検量線の上限值

通知の記載は例示であり、直線性のある範囲を適切に設定する。

(低濃度と高濃度で検量線の傾きや相関係数等に違いがある場合には、検量線を低濃度用と高濃度用などに分けると良い。)

#### 3) 抗生物質の濃度

原則として理化学的純度に基づく濃度を用い、複数の構成成分からなる場合など純度を表記できない場合においては力価濃度を用いる。

117

## 公示試験法の記載に関する留意点

### (4) 『8. 測定条件』

#### 1) 測定条件の例示であることを明確にするために(例)と記載

#### 2) グラジエント条件

測定終了までの条件を記載し、測定終了後のカラムの洗浄操作、初期条件へ戻す操作及び移動相の安定化時間は記載しない。(平成24年7月以降)

#### 3) 主なイオン

・数値の大きい順に記載(感度順ではない → 機種間差があるため)

・定量イオン及び定性イオンに関する情報は、注意点に記載(平成22年9月以降)

#### 4) 保持時間の目安 原則として整数で示す。

### (5) 試験法開発において適用可能であった食品は通知文の鑑に記載

(例) エチプロール試験法(水産物)(食安発第0626001号 平成21年6月26日)

『なお、「エチプロール試験法(水産物)」の開発に当たっては、1機関の結果であるが、うなぎ、さけ及びしじみについて、本試験法が適用可能であることが確認されており、本試験法の実施に際しては、参考とされたい。』

118

## 試験溶液調製の記載の簡略化

### [主な簡略部分]

- (1) 器具・装置の指定・記載を削除
  - 1) ガラス器具の指定(すり合わせ減圧濃縮器、分液漏斗、三角フラスコなど)
  - 2) 振とう機など一般的な装置の名称の記載
- (2) 一般的な操作の記載の簡略化
  - 1) 吸引ろ過操作 ろ過助剤(ケイソウ土等)使用の記載を省略  
(ただし、ろ過の際にろ過助剤の使用が必須であるときは記載し、注意点にそのことがわかるように記載する。)
  - 2) 試料採取法を削除 総則に記載
  - 3) 転溶操作 使用溶媒、回数のみ記載
  - 4) アセトニトリル/ヘキサン分配操作 使用溶媒、回数のみ記載
  - 5) 脱水操作 無水硫酸ナトリウムの洗い込み操作を省略
- (3) 前掲の混液、溶媒名は「溶媒」と記載



- 記載の簡略化は新規の通知試験法から適用 → 旧告示試験法については未整理
- 記載を簡略した部分 原則として従来通りの操作をすることで差し支えない。

119

## 試験溶液調製の記載の簡略化(例)

	従来の記載	現在の記載
例1) 試料採取法	<u>検体を425 μmの標準網ふるいを通して粉砕した後、その10.0gを量り採り、水20 mLを加え、30分間放置する。</u>	試料10.0 gに水20 mLを加え、30分間放置する。
例2) 吸引ろ過操作	これにアセトン100 mLを加え、3分間細砕した後、 <u>ケイソウ土を1cmの厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り、アセトン50 mLを加え、3分間細砕した後、上記と同様に操作して、得られたろ液を合わせ、アセトンを加えて正確に200 mLとする。</u>	これにアセトン100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に、アセトン50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンを加えて正確に200 mLとする。
例3) 転溶操作	この10 mLを <u>あらかじめ10%塩化ナトリウム溶液100 mLを入れた300 mLの分液漏斗に移す。n-ヘキサン100 mLを用いて上記の減圧濃縮器のナス型フラスコを洗い、洗液を分液漏斗に合わせる。振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、n-ヘキサン層を300 mLの三角フラスコに移す。水層にn-ヘキサン50 mLを加え、上記と同様に操作して、n-ヘキサン層を上記の三角フラスコに合わせる。</u>	この10 mLを採り、10%塩化ナトリウム溶液100 mLを加え、n-ヘキサン100 mL及び50 mLで2回振とう抽出する。

120

## 試験溶液調製の記載の簡略化(例)

	従来の記載	現在の記載
例4) 脱水操作	これに <u>適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら15分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中</u> に <u>ろ過する。n-ヘキサン20 mLを用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を2回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40 以下でn-ヘキサンを除去する。</u>	抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、40 以下で濃縮し、 <u>溶媒を除去する。</u>
例5) アセトニトリルヘキサン分配操作	この残留物にn-ヘキサン30 mLを加え、 <u>100 mLの分液漏斗に移す。</u> これにn-ヘキサン飽和アセトニトリル30 mLを加え、 <u>振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層をすり合わせ減圧濃縮器中に移す。</u> <u>n-ヘキサン層にn-ヘキサン飽和アセトニトリル30 mLを加え、上記と同様の操作を2回繰り返す、アセトニトリル層をその減圧濃縮器中に合わせ、40 以下でアセトニトリルを除去する。</u> この残留物にn-ヘキサンを加えて溶かし、正確に5 mLとする。	この残留物にn-ヘキサン30 mLを加え、n-ヘキサン飽和アセトニトリル30 mLずつで3回振とう抽出する。抽出液を合わせ、40 以下で濃縮し、 <u>溶媒を除去する。</u> この残留物にn-ヘキサンを加えて溶かし、正確に5 mLとする。

121

## 公示試験法における溶液名の記載方法

(1) 溶液名を示すためには、濃度、溶質名、溶媒名と「溶液」の文字の順に記述する。また、溶質名と溶媒名の間には「・」をつける。 【記載方法の原則： <b>濃度 + 溶質名 + ・ + 溶媒名 + 溶液</b> 】	(例1) 3 mol/Lエチルマグネシウムブロミド・エーテル溶液 (例2) 5 mmol/L酢酸アンモニウム・メタノール溶液 (例3) 0.1 vol% ギ酸・アセトニトリル溶液
(2) 溶質名の次にその溶媒名を示さないものは水溶液を示す。ただし、水は溶媒として繁用されるので省略する。	(例4) 1 mol/L水酸化ナトリウム溶液 (例5) 5 mmol/L酢酸アンモニウム溶液
(3) 液状の試薬名に単に濃度を表示したものは、別に規定するもののほか、水を用いて希釈したものを示す。(液状の試薬の水溶液の場合は、「溶液」を付さない。) 注) 塩酸、硫酸、硝酸などの液状の酸、ピリジンなどの液状の塩基(アンモニア水は除く)及びエタノールなどの液状のアルコールなど水と混和する液状の試薬に水を加えて希釈する場合、水は溶媒として繁用されるので省略する。	(例6) 1 mol/L塩酸 (例7) 0.1 vol%ギ酸 (例8) 50 vol%エタノール

122

## 公示試験法における溶液名の記載方法

### (4) 混液の記載方法

1) 混液の溶媒(溶液)名は五十音順(混合比率の高い順ではない)に記載する。混合比率は約分した整数で示し、比率の後ろに「混液」と記載する。

(例9) 及び(例10)

2) 移動相のグラジエント条件を記載する場合は、次のように記載する。

「 及び の混液」のあとに比率を記載する。(例11)

上記 に従って混液を記載するとわかりにくい場合は、(例12)を参考にして記載する。

(例9) エーテル及び*n*-ヘキサン(3:7)混液

(例10) アセトニトリル及び0.1 vol%酢酸(1:1)混液

(例11)

移動相: アセトニトリル及び0.1 vol%酢酸の混液(1:1)から(9:1)までの濃度勾配を5分間で行い、(9:1)で10分間保持する。

(例12)

移動相: A液及びB液の混液(1:1)から(1:9)までの濃度勾配を5分間で行い、(1:9)で10分間保持する。

A液: 及び (W:X)混液

B液: 及び (Y:Z)混液

123

## 公示試験法における溶液名の記載方法

(5) 検量線の作成では、溶液の調製に使用する溶媒を( )内に記載する。

(例13)

標準品の0.1~2 mg/L溶液(アセトン)を数点調製し、それぞれ2 µLをGC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。

(例14)

標準品の0.1~2 mg/L溶液(アセトニトリル及び水(1:1)混液)を数点調製し、それぞれ5 µLをLC-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。

124

## 公示試験法の記載に関する留意点

### 公示試験法の記載

- 実施機関の実情に合わせられようするために、ある程度自由度を持たせた記載としている(器具・装置の指定・記載を削除)
- 文章の繰り返しなど記載が煩雑にならないようするため、一般的な操作の記載は簡略化

➡ **公示試験法の記載は、試験法としての最小限を示したもの**



- 記載されていないことでも、一般的な操作や科学的に妥当と判断されることは実施しても良い。

→ 但し、試験法の性能に影響する可能性がある場合には検証が必要

(例) 吸引ろ過の際のケイソウ土の使用が記載されていない場合

ろ過助剤としてのケイソウ土の使用は一般的なので、使用することに問題はない。

- ・ 試験法開発では、必ずケイソウ土を使用して検討を実施
- ・ ケイソウ土の使用に問題があれば、注意点に記載

125

ご清聴ありがとうございました。

126