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

1　趣旨

本ガイドラインは、食品中に残留する農薬、飼料添加物及び動物用医薬品（以下「農薬等」という。）に関する試験法について、「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「通知」という。）において定める試験法以外の方法によって試験を実施する場合に、各試験機関がその試験法の妥当性を評価するための手順を示すものである。

なお、本ガイドラインは、機器分析法を対象とする。

注：ここに示す手順は、試験法の妥当性を評価する標準的方法の一例であり、国際的に認められた他の手順を使用することもできる。

2　本ガイドラインの対象

通知で示している試験方法以外の方法によって試験を実施するために、通知の別添の第１章の５．の（１）に基づき、各試験機関において開発した試験法とする。

ただし、抗生物質又は化学合成品（化学的手段により元素又は化合物に分解反応以外の化学的反応を起こさせて得られた物質をいう。）たる抗菌性物質に関する試験法については、個別に残留基準値を設定している食品に関するものに限る。

3　用語の定義

本ガイドラインにおいて、用語の定義は次のとおりとする。

（１）「選択性」とは、試料中に存在すると考えられる物質の存在下で、分析対象物を正確に測定する能力をいう。

（２）「真度(回収率)」とは、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）との一致の程度をいう。

（３）「精度」とは、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。

（４）「併行精度」とは、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した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。

（５）「室内精度」とは、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、同一の試験室で、独立した試験結果を得る条件(室内条件）による測定結

果の精度をいう。

（６）「定量限界」とは、適切な精確さをもって定量できる分析対象物の最低量又は濃度をいう。本ガイドラインでは、原則として通知に示された定量限界を用いる。

（７）「枝分かれ実験計画」とは、ある因子の全ての水準が、他の全ての因子の一つの水準だけに現れる実験の計画をいう。

４　評価の方法

食品毎に、妥当性を評価する試験法の分析対象である農薬等を添加し、測定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。

（１）選択性

分析対象である農薬等を含まない試料（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。

妨害ピークを認める場合は、

①　定量限界が基準値の１/３以下の場合は、そのピークの面積（又は高さ）が、基準値に相当するピーク面積（又は高さ）の１/10未満、

②　定量限界が基準値の１/３を超える場合は、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（表１参照)。

表１　定量限界及び基準値の比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	＜基準値ピークの１/10
定量限界＞基準値の１/３	＜定量限界ピークの１/３

（２）真度（回収率）

同一濃度の分析対象である農薬等を添加した試料（以下「添加試料」という。）５個以上を試験法に従って　定量し、得られた定量値の平均値の添加濃度に対する比を求める[注1)]。

真度（回収率）の目標値は表２のとおりとする。

注１）サロゲート（回収率の変動の補正を目的として、分析試料に添加する安定同位体標識標準品）を使用した場合には、サロゲートの回収率が40%以上であることを確

認する。

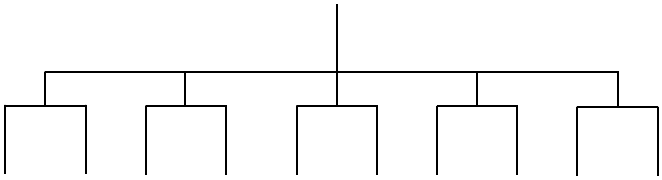
（３）精度

添加試料の分析をくり返し、定量値の標準偏差及び相対標準偏差を求め、併行精度及び複数の分析者又は分析日による室内精度を評価する。試行の回数は５回以上とする。この場合、室内精度評価のための枝分かれ実験[注２)]により、併行精度と室内精度を同時に評価することが可能である。また、内部精度管理データを用いて評価することも可能である。

併行精度及び室内精度の目標値は表２のとおりとする。

注２）室内精度評価のための枝分かれ実験の例

（例１）分析者１名が、同一の添加試料を１日２回、５日間分析する枝分かれ実験計画



（例２）分析者２名が、それぞれ添加試料を１日２回、３日間分析する枝分かれ実験計画

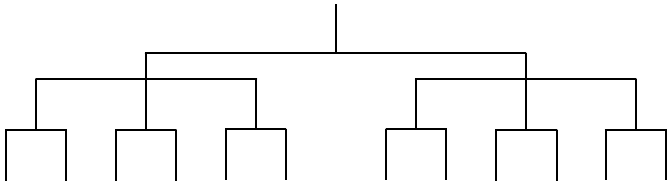


表２　各濃度毎の真度（回収率）及び精度の目標値

濃　　度 （ppm）	試行回数 （回）	真度（回収率） （%）	併行精度 （ＲＳＤ%）	室内精度 （ＲＳＤ%）
≦0.001	5	70 ～ 120	30 ＞	35 ＞
0.001＜ ～ ≦0.01	5	70 ～ 120	25 ＞	30 ＞
0.01 ＜ ～ ≦0.1	5	70 ～ 120	15 ＞	20 ＞
0.1 ＜	5	70 ～ 120	10 ＞	15 ＞

（４）定量限界

基準値が定量限界と一致している場合には、以下の条件を満足していることを確認する。

① 定量限界濃度を添加したブランク試料を分析したとき、表２の真度（回収率）及び精度（併行及び室内）の目標値を満足していること。
② 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が、S/N≧10であること。

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

添加を行う食品は、原則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であるので、代表的な食品を選択する。具体的には、成分としての特性及び抽出法の違いを考慮して、それぞれの目的に応じて、原則として、下記に示すものを選択する。

① 農産物
- 穀類（玄米等）
- 豆類（大豆等）
- 種実類
- 野菜（ほうれんそう等の葉緑素を多く含むもの、キャベツ等のイオウ化合物を含むもの及びばれいしょ等のデンプンを多く含むもの）
- 果実（オレンジ、りんご等）
- 茶
- ホップ
- スパイス等

② 畜水産物
- 牛、豚、鶏等の筋肉
- 牛、豚、鶏等の脂肪
- 牛、豚、鶏等の肝臓
- 牛、豚、鶏等の腎臓
- 鶏卵
- 牛乳
- はちみつ等の養蜂製品
- 魚介類（うなぎ等の脂肪を多く含むもの）等

（2）添加濃度に関する留意事項（表３参照）

① 農薬等の添加濃度は原則として２種類の濃度とし、一方を「基準値又は基準値の１/２の濃度」とし、他方を「一律基準濃度又は定量限界濃度（又はその２倍）」とする。基準値と定量限界が等しい場合には、添加濃度は「定量限界濃度」の１種類の濃度とする。

② ２種類の濃度における評価が困難な場合は､「基準値又は基準値の１/２の濃度」による評価を優先して実施する。

ただし、通知の別添第２章に掲げる一斉法において、各農薬等の基準値が異なるために基準値濃度の添加が困難な場合にあっては､「各農薬等の基準値に近い一定の濃度」としてもよい。

表３　定量限界及び基準値の関係比と添加濃度

定量限界と基準値の関係	添　　加　　濃　　度
定量限界＜基準値	「基準値又は基準値の１/２の濃度」及び「定量限界濃度（又はその２倍）又は一律基準濃度」
定量限界＝基準値	定量限界

（３）添加試料の作成等に当たっての留意事項

① 添加試料の作成に当たっては新鮮な食品を使用し、均一化して秤量した後に農薬等を添加する。添加する農薬等の標準溶液の量はできるだけ少量にとどめ１～２mL程度とする。溶媒は試料と混合する溶媒を用いる。農薬等の添加後よく混合し、３０分程度放置した後に抽出操作を行う。

ただし、飼料添加物及び動物用医薬品にあっては、特に指定のない限り、添加後直ちに抽出操作を行うこと。

② 枝分かれ実験等、数日間にわたり試験を行う場合にあっては、均一化した試料を冷凍保存し、凍結及び融解を繰り返すことを避け、試験を実施する日毎に添加試料を作成すること。

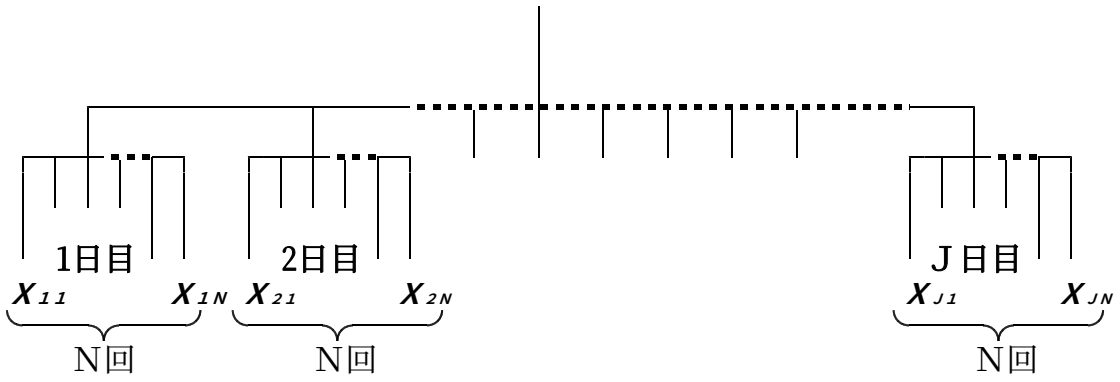
（別紙）

枝分かれ実験の解析方法（参考）

1　一般的な解析方法の考え方

（1）分析者１名が、同一ロットの食品から作成した添加試料を１日N回、Ｊ日間分析する実験計画の場合、枝分かれ実験計画は下記のとおりとなる。

＜枝分かれ実験計画＞



（2）一日当たりの試験回数、実験計画日数及び実験計画に従って分析を行い得られた分析値を用いて、一元配置の分散分析による解析を行い、試験法の評価に必要な併行精度及び室内精度を算出する。

＜各測定値＞

	1日	2日	・・・・・・・・・・	Ｊ日
1回目	X_{11}	X_{21}	・・・・・・・・・・	X_{J1}
2回目	X_{12}	X_{22}	・・・・・・・・・・	X_{J2}
3回目	X_{13}	X_{23}	・・・・・・・・・・	X_{J3}
⋮	⋮	⋮		⋮
N回目	X_{1N}	X_{2N}	・・・・・・・・・・	X_{JN}

＜一元配置の分散分析表＞

変動要因	平方和	自由度	分散の期待値
日　間	S_{RW}	Ｊ－１	V_{RW}
併　行	S_r	Ｊ(Ｎ－１)	V_r
合　計	S_T	ＪＮ－１	

注）一元配置の分散分析は、市販の統計ソフトや表作成ソフトのツールを用いて、容易に行える。この場合、使用するソフトによって、分散分析表の各用語がこの例示と異なる場合があるので留意すること。
（平方和→変動、日間→グループ間、併行→グループ内　等）

各日における母平均の標準偏差をσ_d、併行標準偏差をσ_rとすると、併行精度及び室内精度は、次のとおり。

併行精度　：　σ_r　（併行標準偏差）
室内精度　：　$\sqrt{\sigma_r^2+\sigma_d^2}$

また、分散分析の結果から求められる分散の期待値とσ_d及びσ_rとの間には次の関係がある。

・$V_{RW} = \sigma_r^2 + N\sigma_d^2$
・$V_r = \sigma_r^2$

σ_d^2：各日における母平均の分散
σ_r^2：併行分散
N：一日当たりの試験回数

従って

・$\sigma_r = \sqrt{V_r}$
・$\sigma_d = \sqrt{(V_{RW}-\sigma_r^2)/N}$

これらから、併行精度及び室内精度が求められる。

さらに、データの総平均を求め、それぞれの精度のRSD%を算出する。

併行又は室内精度（RSD%）＝　併行又は室内精度／データの総平均　×100

（３）判定
上記により求められた併行精度、室内精度のRSD%及び分析値をガイドラインの「表２　各濃度毎の真度（回収率）及び精度の目標値」に照らし、それぞれが目標値に適合しているか　否かを確認する。

（４）その他

① 内部精度管理で２回分析を行ったデータも同様に計算することが可能である。

② 分析者２名が、それぞれ添加試料を１日２回、３日間分析する枝分かれ実験計画（３（３）注２）の例２）において、試験者と試験日の効果をそれぞれについて判定する必要がない場合には、上記と同様に一元配置の分散分析により解析することが可能である。

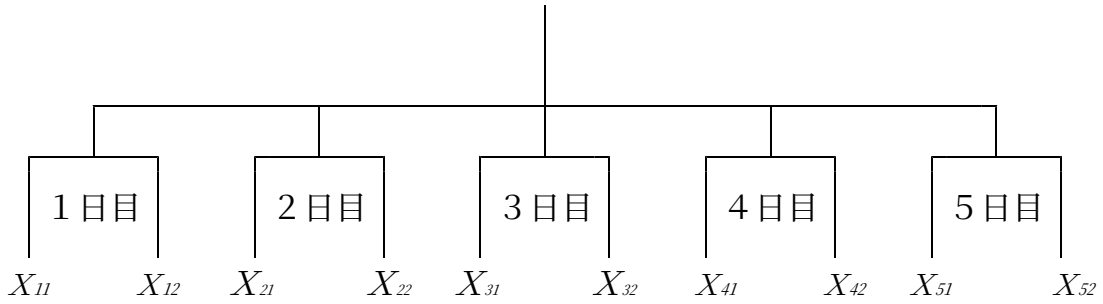
この場合、上記参考例のＪは測定者数（２名）と日間（３日間）の組合せの数（２×３＝６）、Ｎは１日当たりの試験回数（２）となる.

２ 具体的な解析事例

（例題）

分析者１名が、同一ロットの食品から作成した添加試料を１日２回、５日間分析する枝分かれ実験計画を実施した場合

＜枝分かれ実験計画＞



＜各測定値＞

	１日	２日	３日	４日	５日
１回目	0.0485	0.0512	0.0559	0.0391	0.0468
２回目	0.0436	0.0564	0.0587	0.0385	0.0446

（解析）

（１）一元配置の分散分析を実施し、評価に必要なパラメータ（日間標準偏差及び併行標準偏差）を算出する。

＜分散分析表＞

変動要因	平方和	自由度	分散の期待値
日　　間	0.000426636	4	0.000106659
併　　行	0.000032045	5	0.000006409
合　　計	0.000458681	9	

各日における母平均の標準偏差をσ_d、併行標準偏差をσ_rとすると、

・$\sigma_r^2 = V_r = 0.000006049$　　$\therefore \quad \sigma_r = 0.00253$

・$\sigma_d^2 = (V_{RW} - \sigma_r^2) / N = (0.000106659 - 0.000006409) / 2$

$= 0.000050125$

$\therefore \quad \sigma_d = 0.00708$

従って

・併行精度 ：$\sigma_r = 0.00253$

・室内精度 ：$\sqrt{\sigma_r^2 + \sigma_d^2} = \sqrt{0.00253^2 + 0.00708^2} = 0.00752$

データの総平均は　0.0483　なので、それぞれの精度のRSD%は、

・併行精度（RSD%）＝　0.00253/0.0483 ×100 ＝　5.2 %

・室内精度（RSD%）＝　0.00752/0.0483 ×100 ＝　15.6 %

（2）判定

各分析値は、0.01 ＜ ～ ≦0.1　の範囲にあるので、併行精度(RSD%)は 15 ＞ 、室内精度(RSD%)は　20 ＞　の範囲になければならない。

上記の結果から、併行精度、室内精度ともにこの目標値に適合しているので、今回、導入しようとする試験法は妥当なものと評価される。