

食品および食餌中の残留農薬分析のための分析的品質管理および
分析法バリデーション手順

SANTE/11945/2015

Supersedes

SANCO/12571/2013

Implemented by 01/01/2016

《暫定翻訳》

この翻訳は正式なものではありません。

取扱はご注意ください。

A. 緒言および法的背景

B. 実験室試料のサンプリング、輸送、トレーサビリティおよび保管

サンプリング

輸送

トレーサビリティ

保管

C. 試料分析

試料の調製および加工

試料のプーリング (pooling)

抽出

抽出条件および効率

抽出液の精製、濃縮／再溶解および保存

クロマトグラフィー分離および測定

定量のためのキャリブレーション

一般的要求事項

キャリブレーションのための代表的な分析物

マトリックス適合したキャリブレーション

標準品添加

農薬混合物のキャリブレーションへの影響

異性体混合物である農薬のキャリブレーション

操作上の標準品キャリブレーション

誘導体標準品または分解物を用いたキャリブレーション

種々な内標準物質の使用

データ処理

日常的な分析中の継続的な方法性能検証

定量法

日常的な回収率確認

日常的な回収率の許容基準

スクリーニング法

技能試験

D. 分析物の同定および結果の確認

同定

クロマトグラフィーに連結した質量分析計

クロマトグラフィーに関する要求事項

質量分析 (MS) に関する要求事項

MSスペクトルを用いた同定に関する推奨

選択イオンを用いた同定に関する要求事項

結果の確認

E. 結果の報告

結果の表記

結果の計算

データの丸め方

測定の不確かさを持つ認定結果

施行目的のための結果の解釈

F. 農薬標準品、原液およびキャリブレーション標準溶液

標準品の同一性、純度および保管

標準原液の調製および保管

ワーキング標準溶液の調製、使用および保管

標準品の検定および交換

G. 分析法バリデーションおよび性能基準

定量法

分析法の性能許容基準

スクリーニング法

方法性能許容基準

H. 追加推奨

汚染物

夾雑物

Annex A 食品グループおよび代表的な食品¹

Appendix A. 分析法バリデーション手順：アプローチの概要および凡例

Appendix B. 換算因子の例

Appendix C. 結果の測定の不確かさの推定例

Appendix C. 用語解説

¹ OECD Environment, Health and safety Publications, Series on Testing and Assessment, No 72 and Series of Pesticides No39 に基づく

食品および食餌中の残留農薬分析のための分析的品質管理および 分析法バリデーション手順

A. 緒言および法的背景

A1 本文書に記載したガイダンスの対象は、European Union (EU、欧州連合) における食品および食餌中の農薬残留物の公的管理に包括される実験室である。本文書には、農薬残留量に関する公的管理の枠組み内で報告され、最大残留基準値 (MRL) の遵守、施行措置、または消費者暴露評価を確認するために用いたデータの妥当性を裏付けるための分析法バリデーションおよび分析的品質管理 (AQC) の要求事項を記載している。

主要目的は以下の通りである。

- EU全体で、コスト効率の良い品質保証および品質管理システムについて調和を提供すること
- 分析結果の品質および同等性を保証すること
- 許容可能な精確さを達成していることを保証すること
- 偽陽性または偽陰性が避けられることを保証すること
- ISO/IEC 17025 (認定基準)への具体的な実施そして準拠を裏付けること

A2 本文書は、ISO/IEC 17025に記載された要求事項に不可欠で、そして補足するものである。

A3 本文中で使用した用語の定義および説明については、用語解説 (Appendix D) を参照のこと。

規則 (EC) No.882/2004 第12条に従い、残留農薬の公的管理用に設計された実験室は、ISO/IEC 17025の認定を受けなければならない。規則 (EC) No.882/2004 第11条に従い、公的管理の状況で使用した分析法は、当該欧州連合ルールまたは国際的に認知されたルールや試験計画書を遵守し、上記のルールが無い場合は意図した目的に適合した、もしくは科学的試験計画書に従って作成された他の方法を遵守すること。上記を適用しない場合、国際的に認められている試験計画書に従って単一実験室内で分析法バリデーションをさらに実施すること。

規則 (EC) No.396/2005 第28条に従い、特定のバリデーション基準および残留農薬測定分析法に関連する品質管理手順を取り扱っている技術ガイドラインが、本規則の第45(2)条で言及された手順に従って採用されることがある。現在の文書には、EU加盟国全ての合意に

従ってEU内での公的な残留農薬分析に関して相互に受け入れ可能な科学的ルールが記載されており、規則（EC）No.396/2005 第28条の意味での技術的ガイドラインを構築している。それ故、ISO/IEC 17025に従い、公的な残留農薬試験施設の監査および認定中にそれを考慮すること。

B. 実験室試料のサンプリング、輸送、トレーサビリティおよび保管

サンプリング

B1 食品試料は、指令2002/63/ECまたはそれよりも優先する法律を遵守して採取すること。食餌については、規則（EC）No.152/2009のAppendix 1および修正版に規則が制定されている。1つのロット内で無作為に一次試料を採取できない場合は、サンプリング方法を記録しなければならない。

輸送

B2 試料は、清潔な容器に入れ、丈夫な包装をして適切な条件下で実験室へ輸送しなければならない。たいていの試料は、ポリエチレンまたはポリプロピレンの袋が認められ、適切な場合は空気穴をあけることも認められるが、燻煙剤の残留分析用の試料には、低透過性の袋（例えばナイロンフィルム）を使用すること。小売用に予め包装されている食品の試料は、輸送前にそれらの包装を取り除かないこと。非常に壊れやすい、あるいは傷みやすい製品（例えば熟したラズベリー）は、損傷を避けるために冷凍し、輸送中に溶けることがないように「ドライアイス」または同等品を入れて輸送しなければならないこともある。採取時に冷凍した試料は、溶解することなく輸送しなければならない。冷却することで損傷する可能性のある試料（例えばバナナ）は高温および低温とも避けなければならない。

B3 ほとんどの生鮮食品試料にとって、実験室への迅速な輸送（好ましくは1日以内）が重要である。実験室へ配送された試料の状態は、洞察力のある受入担当者（購入者）が残留農薬分析に受け入れられると判断できる適切な状態であり、そうでない試料は通常、残留農薬分析には適さないと考えること。

トレーサビリティ

B4 試料は、トレーサビリティが保証できる方法で、明確にかつ消えないように識別しなければならない。特に電子捕獲型検出器を使用することになっているなら、燻煙剤に

ついて分析する試料を入れた袋にラベリングをする際は、有機溶媒を含むマジックペンの使用を避けること。

B5 受領時には、実験室で各実験室試料に固有のコードを割り当てなければならない。

保管

B6 直ちに分析しない実験室試料は、劣化を最小限にとどめる条件下で保管しなければならない。生鮮製品は冷蔵庫で保管すべきであるが、通常5日以内とすること。乾燥製品は室温で保管可能であると考えられるが、保管期間が2週間を超えることが予想される場合は、それらを小分けして予備サンプルとして冷凍保存すべきである。

C. 試料分析

C1 試料の劣化および農薬の損失を最小限とするため、試料調製および加工手順はすべて出来る限り短時間内に実施すること。非常に不安定な、あるいは揮発性農薬の残留分析は出来る限り迅速に開始し、また分析物の損失に繋がる可能性のある手順は出来る限り迅速に完了すべきである。分析物の損失につながる試料は、試料受領日に実施する手順が好ましい。

試料の調製および加工

C2 分析試料を得るための試料調製、試料加工およびサブサンプリングは、目に見える劣化が起こる前に実施すること。分析すべき食品の一部を規則 (EC) No 396/2005 Annex1²に規定する。

C3 試料加工および保管手順が、試料中に存在する残留物に顕著な影響を及ぼさないことを実証しておくこと (指令2002/63/EC参照)。室温での粉砕 (切断およびホモジナイズ) が、ある残留農薬の分解に著しく影響を及ぼすという証拠がある場合、試料を低温 (例えば冷凍および/または「ドライアイス」存在下) でホモジナイズすることが推奨される。粉砕が残留物 (例えばジチオカルバメートや燻蒸剤) に影響を及ぼすことが知られていて、実用的な代替操作が利用できない場合、分析部位は、食品のユニット全体または大きいユニットから取り出した切片から構成されていること。その他の全ての分析では、実験室試料の全てを粉砕する必要がある。低水分食品 (例えば穀類、スパイスや乾燥した薬草) は、抽出効率を高めるため、好ましくは1 mm未満の小さな粒径とすることが推奨される。熱に

²規則 (EC) 752/2014

よりある種の農薬が損失する可能性があるため、ミルによる粉砕は試料を過度に加熱することのない方法で実施すること。

C4 試料の粉砕では、サブサンプリングにおける変動性が許容可能であることを十分に保証できる程度まで試料が確実に均一になっていること。これが達成できない場合は、より良好な真値の推定値を得ることができるように、より大きい分析試料もしくは繰り返し試料の使用を考えるべきである。ホモジナイズまたはミルによる粉砕時に、試料が、例えば果物の場合は果肉と果皮に、穀物の場合は籾殻と胚乳にといった異なる部位に分離することもある。これらの分離は、大きさ、形状および密度の違いにより起こる可能性がある。農薬は、異なる部位間では不均一に分布している可能性があるため、分析試料中のとして採取した部位がもとの実験室試料と同じ割合であることを保証することが重要である。必要となる可能性がある分析回数／繰り返し分析に対して、十分な数のサブサンプルまたは分析試料を冷凍保存しておくことが望ましい。

試料のプーリング (pooling) Pooling=ひとまとめにすること

C5 個々の試料または試料抽出液を混合してひとまとめにすることは、検出システムの感度が十分あるならば、農薬残留の頻度が低い食品（例えば有機食品や畜産物）の分析に関してはオプションとみなされることもある。例えば、5試料分を混合してひとまとめにした場合、定量限界（LOQ）またはスクリーニング検出限界（SDL）は、報告限界値（RL）よりも少なくとも5倍低くなければならない。

C6 抽出前にサブサンプルを混合してひとまとめにすることで、要求された分析数を減らせることもあるが、場合によっては、分析試料を採取する前に混合してひとまとめにしたサブサンプルを追加で混合したり、ホモジナイズしたりすることが必要となることがある。代替方法として、試料抽出液を注入前に混合してひとまとめにすることが可能である。もとの試料または抽出液は、農薬残留物の検出量が関心あるレベルであった場合は、再分析しなければならない。

抽出

抽出条件および効率

C7 実処理による残留物の回収率は、添加試料の分析から得た回収率の割合よりも低い可能性がある。差し支えなければ、抽出効率に関する情報をさらに得るために、実処理による残留物を含む試料を種々の抽出条件を用いて分析することがある。試料加工、温度、pH、時間などの多数のパラメータが、抽出効率および分析物の安定性に影響を及ぼす可能性が

ある。低水分の食品（穀類、乾燥果実）については、抽出効率を上げるために抽出前に試料へ水を加えることが推奨される。許容範囲を超えた損失が起こらないように、振盪時間が分析物の損失に及ぼす影響について確認すること。農薬のMRL残留量の定義に塩が含まれる場合は、使用した分析法により塩が解離することが重要である。これは典型的には抽出工程前もしくは工程中に水を加えることで達成される。pHの変更が必要なこともある。残留物定義に直接分析できないエステルまたは抱合体が含まれる場合は、分析法に加水分解段階を組み込むこと。

抽出液の精製、濃縮／再溶解および保存

C8 精製および希釈段階は、マトリックスの影響を減らすために、また機器システムの汚染を減らすために必要と考えられ、その結果、選択性および頑健性が改良されることになる。精製技法では、農薬とマトリックス成分間の物理化学的特性（例えば極性、溶解性、分子サイズ）の違いを利用する。しかし、多成分残留分析法での精製段階を用いることにより、一部の農薬を損失する可能性がある。

C9 試料抽出液の濃縮により、マトリックス成分の沈殿物が発生し、場合によっては農薬の損失が起こる可能性がある。同様に極性の異なる溶媒を用いて抽出液を希釈することでも溶解度の減少により、農薬の損失に繋がる可能性がある（例えばメタノールまたはアセトニトリル抽出液を水で希釈する場合）。

C10 エバポレーターを用いた濃縮段階中の損失を避けるために、温度は出来る限り低くすること。高沸点の溶媒を「キーパー」として少量、使用することもある。抽出液の泡立ちおよび激しい沸騰、または水滴の分散は避けなければならない。空気は酸化を起こしやすく、水分や他の汚染物を導入しやすくなるため、一般に少量の濃縮には空気を通すよりも、窒素気流または減圧遠心エバポレーターを使用することが好ましい。

C11 抽出液中の分析物の安定性は、分析法バリデーション中に評価しなければならない。抽出液を冷蔵庫または冷凍庫で保管することにより分解が最小限に食い止められると予想される。例えば機器のオートサンプラーのラック上に置いたバイアルなど、室温の抽出液中で農薬が損失する可能性がある。

クロマトグラフィー分離および測定

C12 食品および食餌試料中の農薬は、試料抽出液を通常キャピラリーガスクロマトグラフィー（GC）および／または質量分析計（MS）に連結した高速または超高速液体クロマト

グラフィー（HPLCまたはUPLC）を用いて分析して、同定および定量する。シングルまたはトリプル四重極型、イオントラップ型、飛行時間型またはオービトラップ型といった種々のMS検出システムを使用することができる。典型的なイオン化技法は、電子イオン化法（EI）、化学イオン化法（CI）、大気圧化学イオン化法（APCI）およびエレクトロスプレーイオン化法（ESI）などである。フルスキャン、選択イオンモニタリング（SIM）、選択反応モニタリング（SRM）および多重反応モニタリング（MRM）といった異なる獲得モードが使用できると考えられる。

C13 近年、GC用（ECD、FPD、PFPD、NPD）およびLC用（DAD、蛍光）の選択的検出器は、限られた特異性のみ提供することから使用範囲が狭まっている。異なる極性カラムを組み合わせてもそれらの使用により明確な同定が出来るわけではない。これらの制約は、特に一部の結果がより特異的な検出技法も用いて確認されている場合は、頻繁に検出される農薬については許容できると考えられる。いずれの場合でも、同定したレベル（内容、程度）におけるそのような制約について結果を報告する際には知らせるべきである。

定量のための検量線（キャリブレーション）

一般的要求事項

C14 最低の検量用標準溶液濃度（LCL）は、報告限界値（RL）相当の検量用標準溶液濃度以下か同じでなければならない。RLは、LOQより下げてはならない。

C15 例えば、内標準物質の応答をモニタリングすることで測定システムに顕著なドリフトが無いことが示されていない限りは、ブラケット（試料溶液をはさむかたちの）検量（キャリブレーション）を使用しなければならない。検量用標準溶液は、少なくとも一連の試料の最初と最後に注入すること。試料を挟んで2回注入した同じ検量用標準溶液のドリフトが30%を超える場合（高い方の応答を100%として）、その間に挟まれた残留農薬を含む試料は、再分析すること。許容できないドリフトを示した場合、いかなる分析物も含まない試料の結果は、偽陰性の可能性を最小限とするため、RLに相当する検量用濃度標準溶液での応答がそのバッチを通して測定可能である場合は、許容できる。必要に応じて、あるバッチの分析において、最初の一連の検量用標準溶液の直前にGCまたはLCシステムの試料による起爆注入（プライミング）を実施すること。

C16 試料抽出液中の分析物の検出器応答は、注入した検量用標準溶液からの応答範囲内であればならない。検量用標準溶液の範囲を超える高濃度の残留物を含む抽出液は、必要に応じて希釈後、再注入しなければならない。検量用標準溶液がマトリックス適合（パラ

グラフC22) している場合は、検量用標準溶液中のマトリックス濃度も比例的に希釈すること。

C17 複数濃度のキャリブレーション（3濃度以上）が好ましい。適切な検量線関数 (calibration function) を用い、検量線は、正当な理由なしにあえて原点を通す必要はない。検量線関数のフィット (fit) をプロットし、そのフィットが、検出された残留物の濃度範囲内で良好であることを保証するため、相関係数に過度に依存することなく、視覚的におよび/または残差を算出することにより検査しなければならない。個々の残差が当該領域内の検量線から±20%を超えて逸脱する場合は、別の検量線関数を使用しなければならない。一般に、直線回帰よりも重み付き直線回帰（1/X）を使用することが推奨される。

C18 2濃度間に内挿することによる検量線は、2濃度間の違いが10ファクターよりも小さい場合、また、ブラケット検量用標準溶液の感度係数が許容限度内である場合は許容できる。各濃度におけるブラケット検量用標準溶液の感度係数は、20%を超える相違がないこと（高い方の応答を100%とする）。

C19 試料抽出液中の分析物の検出器応答が、単一濃度の検量用標準溶液と近い場合（±30%以内）は、単一濃度の検量線でも精確な結果が得られると考えられる。回収率測定を目的としてLCLに相当する濃度で分析物を添加する場合、回収率の値は、LCLでの単一ポイント検量線を用いて100%未満と算出されることがある。この特定の計算は、LCLで達成された分析性能を示すことのみを意図しており、この方法によりLCL未満の残留物を測定できる可能性を示唆するものではない。

校正のための代表的な分析物

C20 差し支えなければ、少なくともRLに相当する濃度では、試料のバッチ毎に対象となる全ての対象分析物を注入すること。この濃度での十分な応答が必要であり、偽陰性にならないように確認すること。そのために不釣り合いな努力が必要となる場合は、最小数の代表的分析物を用いて、測定システムの校正を実施しなければならない。代表的分析物を信頼することは、代表的でない農薬にとっては偽陰性の結果を引き起こす危険性を増大させるものでしかない。代表的な分析物の選択では、分析が難しい農薬（応答が最も乏しく、最も変化しやすい分析物）の物理化学的特性と同じく、分析することになっている試料中で最も検出されそうな農薬について考慮すること。各バッチにおいて校正すべき代表的な分析物の数は、15分析物+各測定システムの分析適用範囲に含まれる分析物の総数の少なくとも25%としなければならない。例えば、機器分析法の分析適用範囲が40個の分析物を網羅する場合、検出システムは少なくとも25個の代表的分析物を用いて校正を実施しなけ

ればならない。測定システムにおける分析適用範囲が20以下である場合は、全ての分析物を校正すべきである。代表的な分析物と他の全ての分析物に関する最低限の校正頻度を表1に示す。

表1 校正の最低頻度

	代表的分析物	他の全ての分析物
校正の最低頻度	各バッチの分析において。 RLに相当する少なくとも1つの検量線ポイント。	少なくとも3ヶ月毎のローリングプログラム内* RLに相当する少なくとも1つの検量線濃度。 パラグラフC21も参照のこと

*最低限の要求事項は、

- (i) 調査またはプログラムの開始および終了時、および
- (ii) 方法に対して潜在的に顕著な変更がなされる時、である。

C21 ある試料中に代表的分析物でない分析物がRL以上の濃度で検出された場合、その試料は定量法を用いて再分析しなければならない。暫定結果からMRLを超える可能性が示唆される場合は、その試料を再分析し、検出された分析物の許容可能な回収率を付随させなければならない。回収試験は、標準品添加法を採用する場合、または抽出前に同位体標識した内標準物質を分析試料に添加する同位体希釈法を採用している場合は、省略できることもある。

マトリックス適合した検量線

C22 マトリックス効果は、GCおよびLC法の両方で頻繁に起こることが知られているため、最初の分析法バリデーションの段階で評価しなければならない。マトリックス効果を打ち消すために、マトリックス適合した検量線が一般に用いられる。好ましくは試料と同じタイプのブランクマトリックス抽出液を検量線用を使用すること。GC分析においてマトリックス効果を打ち消す別の実用的な手法は、検量線用準溶液および試料抽出液中の農薬応答を均一化するために試料抽出液および検量線標準溶液の両方に分析物保護剤を添加することである。マトリックス効果を打ち消す最も効果的な方法は、標準品添加または同位体標識した内標準物質を使用することである。

C23 GCにおいて、単一の代表的なマトリックスまたはマトリックスの混合物を使用している代表的なマトリックス検量線は、異なる食品を含んでいる一群の試料を検量線で校正するために使用できる。マトリックス適合抽出液よりも、溶媒で調製した検量線標準溶液

を使用するほうが好ましいが、検量線の精確性が低くなる傾向がある。相対的なマトリックス効果を評価し、それに従って技法を修正することが推奨される。

C24 マトリックス効果は、個々の農薬と共に抽出されたマトリックス成分の共溶出に依存し、食品が異なると変化するため、LC-MSにおけるマトリックス効果の相殺は達成がより困難である。従ってマトリックス適合検量線を使用してもその効果は、GCと比較して低い傾向がある。

標準品添加

C25 標準品添加は、マトリックス適合した検量線標準溶液を使用する手法の代替手法である。この手順はマトリックス効果および回収率の損失を打ち消すために設計されているが、抽出効率や共に抽出された分析物からの重複／未分離ピークにより引き起こされるクロマトグラフィー上の夾雑物をなくすものではない。この技法では、添加した分析物量を既に試料中に存在する分析物量と同程度にできるように、（例えば最初の分析物から）試料中の分析物の予想残留濃度に関するいくつかの知識を推測する。特に標準品添加は、MRL超過の場合および／またはマトリックス適合標準溶液の調製に適切なブランク物質が入手できない場合の確認定量分析に使用することが推奨される。標準品添加のためには、分析用試料を3つ（好ましくはそれ以上）の分析試料に分ける。1試料はそのまま分析し、残りの分析試料には、分析物の量を徐々に増やしながら抽出直前に添加する。分析試料に添加した分析物の量は、試料中に既に存在すると予想される分析物量の1～5倍量にすること。「無添加」試料抽出液中に存在する分析物濃度は、試料抽出液と添加試料抽出液中の分析物の応答比から算出する。標準品添加法において、試験用試料抽出液中の分析物濃度は外挿法により導き出されるため、精確な結果を得るためには、適切な濃度範囲における直線的な応答が必要不可欠となる。

C26 試料抽出液の一部に2濃度以上の既知量の分析物を、例えば注入前に添加することは標準品添加の別の形態である。この場合、予想される注入誤差およびマトリックス効果についてのみ調整がなされ、低回収率に対してなされることはない。

農薬混合物の定量への影響

C27 複数の農薬を含む検量線用標準溶液中の個々の農薬の検出器応答は、同じ溶液内の1種以上の他の農薬に影響されることがある。使用前に純粋な溶媒で調製した複数農薬を含む検量線用標準溶液について、単独の農薬（もしくは数を減らしたいくつかの農薬）を含む各検量線用標準溶液の検出器応答と比較して同等の応答であることを確認しなければな

らない。応答が著しく異なる場合、残留物はマトリックスで調製した個々の検量線用標準溶液を用いて、または更に良い方法として標準品添加により定量しなければならない。

異性体混合物である農薬の定量

C28 異性体（あるいは同等品）を混合した検量線用標準溶液で定量する場合は、ピーク面積を合計する、ピーク高さを合計する、または単一成分を測定する、のいずれかで最も正確な方法を用いて実施することが出来る。

操作上の標準品定量法

C29 操作上の標準品 (procedural standard) の使用は、定量法の別のタイプである。この手法により、とくに同位体標識標準品が入手できない、あるいは費用がかかりすぎる場合に、ある種の農薬／食品の組み合わせと関連するマトリックス効果および抽出での低回収率を補うことができる。これは、同じタイプの一連の試料が、同じバッチ内で加工されている（例えば動物起源の製品、高脂肪含量の製品）場合のみ適用できる。操作上の標準品は、分析物を一連のブランク試験試料に量を変化させながら抽出前に添加して調製する。続いて操作上の標準品は試料と全く同じ方法で分析する。

C30 操作上の標準品定量法の別の適用は、農薬の誘導体化が必要な場合であるが、誘導体の標準品は入手できなかつたり、誘導体の収率が低かつたり、あるいは高度にマトリックスに依存したりする。そのような場合は、誘導体化段階の直前にブランクマトリックス抽出液に標準品を添加することが推奨される。この場合、操作上の標準品定量法により、変化に富んだ誘導体の収率も補正されると考えられる。

誘導体標準品または分解物を用いた定量

C31 農薬を誘導体または分解物として測定する場合、可能であれば定量標準溶液は、誘導体または分解物の標準品「純品」から調製すること。唯一実用的な選択肢である場合に限り、操作上の標準品を使用すること。

種々な内標準物質の使用

C32 内標準物質 (IS) は、分析法 (の一部) が正しく実施されていることを確認するため、試験試料または特定の分析段階で既知量を試料抽出液に添加する化学物質である。ISは化学的に安定および／または典型的に対象分析物と同じ動向を示すものであること。

C33 IS添加が行われる分析法の段階によって、使用される用語が違ってくる。注入用内標準物質 (injection internal standard、I-IS) は、機器用内標準物質 (instrument internal standard) とも呼ばれ、測定段階 (すなわち注入) 直前の最終抽出液に添加する。これにより注入量の変動の確認ができ、その補正が可能となる。操作上の内標準物質 (procedural internal standard、P-IS) は、方法の全段階を通した誤差の様々な原因を説明するために、分析法の最初に添加する内標準物質である。分析法の特異的な段階中に起こった可能性のある系統誤差や偶然誤差の両方を補正するために分析法の異なる段階でISを添加することも可能である。ISを選択する際には、対象分析物の分析を妨害せず、分析することになっている試料中に最も存在する確立が低いことを保証すること。

C34 多成分残留分析法に関して、最初のISの回収率または検出が妥協的である場合は、あと1種類以上のISを使用することが望ましい。単に容量変動を調整するためだけに使用する場合は、ISは、最小限の損失またはマトリックス効果を示すものであること。類似の特性を持つ特定のグループの分析物を分析する際には、対象となる分析物と同様の特性および分析動向を示すようにISを選択できる。計算用に使用したISが対象分析物の1種以上に対して (回収率またはマトリックス効果に関して) 著しく異なる挙動をする場合は、全ての定量において追加的な誤差が引き起こされる可能性がある。

C35 ISを既知濃度の各検量線用標準溶液に添加する時は、注入した検量線用標準溶液から得た分析物とISの検出器応答比をそれぞれの各濃度に対してプロットする。続いて試料抽出液中の分析物とISの検出器応答比をその検量線と比較することで、分析物濃度を求める。

C36 同位体標識した内標準物質 (IL-IS) は、化学構造および元素組成は対象分析物と同じであるが、対象分析物の分子のうち1つ以上の原子が同位体 (例えば重水素、 ^{15}N 、 ^{13}C 、 ^{18}O) と置き換わっている。IL-ISの使用必須条件は、共溶出する非標識分析物およびそれに対応するIL-ISの同時検出を可能とする質量分析計を使用することである。IL-ISは、クロマトグラフィー検出システムにおけるマトリックス効果および応答ドリフト同様に、操作中の分析物の損失および容量変動の両方を精確に補うことを目的として使用できる。抽出液保存中の損失 (例えば分解が原因で) もIL-ISで補われると考えられる。IL-ISを使用しても実処理による残留物の抽出が不完全であることを補うことはできないと考えられる。

C37 対象分析物および対応するIL-ISの保持時間およびピーク形状が同じであることから、IL-ISは、分析物の同定を容易にするためにも使用できる。

C38 IL-ISは、偽陽性の結果となる危険性を最小限とするため、天然の分析物をほとんど

含まないこと。例えば溶媒中など水素原子を重水に交換した重水素化した標準品の場合は、偽陽性に繋がったり、定量結果に悪影響を及ぼしたりする可能性がある。

データ処理

C39 クロマトグラムは、分析者が検閲しなければならず、また必要に応じて、ベースライン適合を確認して調整しなければならない。妨害ピークまたはテーリングピークが存在する場合は、ベースラインの位置調整に一貫した手法を適用しなければならない。ピーク面積またはピーク高さのうち、より精確な結果が得られる方を使用して良い。

日常的な分析中の継続的な方法性能検証

定量法

日常的な回収率確認

C40 可能であれば、全ての対象分析物の回収率は、各バッチの分析内で測定すること。これにより莫大な数の回収率を測定する必要がある場合には、分析物の数を減らすことができる。しかし、表2に規定した最低数を遵守すること。これは、検出システムにつき代表的分析物の最低10%（最小数5）を含めることを意味する。

表2 回収率確認の最低頻度（性能検証）

	代表的分析物	他の全ての分析物
回収率確認の最低頻度	各バッチの分析において、検出システムにつき代表的分析物の10%（最小数5）	少なくとも12ヶ月毎、好ましくは6ヶ月毎に他の全ての分析物を包括するローリングプログラム（rolling programme）内
	少なくとも報告限界値に相当する濃度において、異なる食品グループからの代表的食品と同様、全ての代表的分析物を網羅しているローリングプログラム内	少なくとも報告限界値に相当する濃度で

C41 ローリングプログラム（表2）中のいくつかのポイントで分析物の回収率が許容範囲から外れた場合（パラグラフC44参照）、最後に良好な結果が得られた後から発生した全ての結果は誤っている可能性があると考えなければならない。

C42 分析物の回収率は、通常RLおよびRLの2～10倍に相当する範囲内、またはMRL濃度、あるいは分析する試料と特に関連する濃度で添加して測定すること。添加濃度は、濃度範囲に渡って分析性能に関する情報を得るために変更されることがある。RLおよびMRLに相当する濃度での回収率が特に重要である。ブランク物質が入手できない場合（例えば無機臭化物を低濃度で測定する場合など）、あるいは唯一利用できるブランク物質に妨害する化合物が含まれる場合、回収試験用に添加する濃度は、ブランク物質中に存在する濃度の3倍以上とすること。そのようなブランクマトリックス抽出液中の分析物（または見せかけの分析物）濃度は、複数の分析試料を用いて測定すること。必要であれば、ブランク補正した検量線を用いて回収率を算出できるが、ブランク補正について結果と共に報告すること。それらは添加実験で使用したマトリックスから測定しなければならず、またブランク値は、RLに相当する残留濃度の30%より高い濃度とならないようにすること。

C43 ある残留物を共通分子として測定する場合、通常残留物中で主要となる、または最も低い回収率になると予想されるいずれかの成分を用いて日常的な回収率を測定すると考えられる。

日常的な回収率の許容基準

C44 個々の回収率結果の許容限界は、通常平均回収率 $\pm 2 \times \text{RSD}$ の範囲内であること。各食品グループ（Annex A参照）について平均回収率の結果およびRSDは、最初の分析法バリデーションまたは継続中の回収試験結果（室内再現精度、 RSD_{WR} ）から採用することもある。日常的な分析では、60～140%の実用的なデフォルト範囲を個々の回収率に使用することもある。回収率が上記の範囲外となった場合、通常そのバッチについて再分析する必要があるが、ある正当化された場合では容認されることもある。例えば、個々の回収率が許容範囲を超えて高く、残留物が検出されなかった場合、試料を再分析して残留物が存在しないことを証明する必要はない。しかし、一貫して回収率が高いことについて、あるいはRSDが $\pm 20\%$ を超えることについては調査しなければならない。

C45 認証標準物質（CRMs）を分析することは、方法の性能を証明するために好ましい選択である。しかし、適切な濃度の関連分析物を含むCRMはめったに入手できない。別の方法として、社内標準物質を代わりに定期的に分析することができる。可能であれば、実験室間でそのような物質を交換することで、精確さを追加的に独立して確認できる。

スクリーニング法

C46 多数の分析物を対象とする多成分残留物定性法に関して、各分析バッチの適用範囲から全ての分析物を含めることは実用的ではない。各バッチに関して全体的な方法の性能を証明するために、方法において重要な全ての点を網羅する少なくとも10種の代表的（指標）な（妥当性の確認された範囲からの）分析物をマトリックスに添加すること。ローリングプログラムにおいて、妥当性の確認された適用範囲からの全ての分析物に関する性能を表3に示すとおりに立証すること。

表3 回収率確認の最低頻度（スクリーニング法性能検証）

	代表的（指標）分析物	他の全ての分析物
分析物数	方法の重要な局面を全て網羅している検出システムにつき少なくとも10分析物	妥当性の確認された定性範囲からの全ての分析物
回収率確認の最低頻度	バッチ毎	少なくとも12ヶ月毎、好ましくは6ヶ月毎
濃度	SDL	SDL
基準	全（指標）分析物が検出可能	全ての（妥当性の確認された）分析物が検出可能

技能試験

C47 公的管理実験室は、定期的に技能試験計画、特にEURLsにより組織された計画に参加することは義務である。偽陽性または陰性が報告される、またはいずれかの技能試験において達成された精確さ（Z-スコア）が疑わしい、あるいは受け入れられない場合は、その問題について調査しなければならない。特に偽陽性、陰性および、または受け入れられない性能に関しては、分析物／マトリックスの組み合わせが含まれる測定をさらに進める前に是正しなければならない。

D. 分析物の同定および結果の確認

同定

クロマトグラフィーに連結した質量分析計

D1 クロマトグラフィー分離システムに連結した質量分析計は、試料抽出液中の分析物の同定に関して非常に強力な組み合わせである。これにより保持時間、質量／電荷比および相対存在量（相対強度）データが同時に提供される。

クロマトグラフィーに関する要求事項

D2 試験中の分析物の最低許容保持時間は、カラムの間隙容量に相当する保持時間の少なくとも2倍であること。ガスクロマトグラフィーおよび液体クロマトグラフィーのいずれにおいても抽出液中の分析物の保持時間は、許容範囲±0.1分に対応する検量線用標準溶液(マトリックス適合する必要があるかもしれない)の保持時間と一致しなければならない。分析物の保持時間およびピーク形状が共に適切なIL-ISのそれらとマッチしている場合、またはバリデーション試験で得た証拠が利用できる場合は、それよりも大きく保持時間がずれていても許容できる。クロマトグラフィー操作により、マトリックスが引き起こす保持時間シフトあるいはピーク形状の変形が示された場合、IL-ISは特に有効かもしれない。試料中に存在することが疑われる分析物を過剰に添加することは、同定の信頼性を上げる手助けになると考えられる。

質量分析 (MS) に関する要求事項

D3 MS検出は、質量スペクトル、同位体パターンおよび/または選択したイオンシグナルを得ることができる。質量スペクトルは、分析物に対して高度に特異的な可能性もあるが、同定のための適合値 (**match value**) は使用した特定のソフトウェアにより異なることから、同定用の適合値に関して一般的な指針を設定することはできなくなっている。このことは、同定するためにスペクトルマッチングを使用する実験室では、その実験室独自の基準を設定し、それらが目的に適していることを証明しなければならないことを意味する。MSスペクトルに基づく同定に関するガイダンスがいくつかの勧告で制限されている一方で、選択イオンに基づく同定に関しては、より詳細な基準が提供されている。

MSスペクトルを用いた同定に関する推奨

D4 試料の分析に使用したのと同じ機器および条件を用いて分析物の基準スペクトルを得ること。出版されたスペクトルと実験室内で得たスペクトルとの間で主要な違いが顕著である場合、後者が妥当であることを示さなければならない。イオン比のゆがみを避けるため、分析物イオン濃度は検出器に負荷しすぎてはならない。機器ソフトウェアに内蔵された基準スペクトルは、以前注入したもの(マトリックスの存在なし)から独自に作成できるが、同じ分析バッチから作成することが望ましい。

D5 フルスキャン測定の場合、得られたクロマトグラフィー上のピークのスペクトルが代表的であることを保証するため、自動であってもマニュアルであっても逆たたみ込み (deconvolution) あるいは他の演算手順により、バックグラウンドのスペクトルを慎重に

差し引くことを要求されることがある。バックグラウンド補正を適用する場合、そのバッチを通して均一に適用しなければならず、その適用を明確に示すこと。

選択イオンを用いた同定に関する要求事項

D6 同定は、イオンの適切な選択に依存する。それらは、分析しているマトリックス中の分析物に対して、また当該濃度範囲において十分に選択的でなければならない。分子イオン、(脱)プロトン化分子または付加イオンは、分析物に対して非常に特徴的であり、可能であれば測定および同定手順に含めるべきである。一般に、特に単一段MS (single stage MS)において、高 m/z イオンのほうが低 m/z イオン(例えば $m/z < 100$)と比較してより特徴的である。しかし、水分損失から生じる、あるいは共通分子の損失から生じる高 m/z イオンはほとんど役に立たないことがある。特徴的な同位体イオン、特にClまたはBr群はとりわけ有用かもしれないが、選択したイオンは、化合物分子の同じ部分をもつばら起源とならないようにすること。同定のためのイオン選択は、バックグラウンドの夾雑物によって変更することもある。

D7 試料抽出液の抽出イオンクロマトグラムにおけるピークの保持時間、ピーク形状および応答比が、同じバッチの対応する濃度で分析した検量線用標準溶液の抽出イオンクロマトグラムにおけるピークのそれらと同じであること。分析物の異なる選択イオンのクロマトグラム上のピークは、完全に重ならない。あるイオンクロマトグラムにより顕著なクロマトグラフィー上の夾雑物の証拠が示された場合、同定を信頼してはならない。

D8 異なる種類およびモードの質量分析検出器により、同定における信頼性と関連する選択性および特異性の程度が変化する。同定に関する要求事項を表4に示す。それらは、化合物が存在するあるいは存在しないことを証明するための絶対的な基準ではなく、同定に関するガイダンス基準として見なすこと。

表4 異なる質量スペクトル技法³に関する同定要求事項

MS検出器／特徴	典型的なシステム (例)	収集	同定に関する要求事項	
			イオン最小数	その他
単位質量分解能	四重極、イオントラップ、飛行型時間 (TOF)	フルスキャン、限定したm/z範囲、選択イオンモニタリング (SIM)	3イオン	S/N ≥ 3 ^{e)}
MS/MS	トリプル四重極、イオントラップ、Q-trap、Q-TOF、Q-Orbitrap	選択または多重反応モニタリング (SRM、MRM)、単位質量分解能以上または同程度のプリカーサーイオン単離用の質量分離能	2生成イオン	抽出イオンクロマトグラム上の分析物ピークは完全に一致しなければならない。
精確な質量測定	高分解能MS : (Q-)TOF、(Q-)Orbitrap FT-ICR-MS sector MS	フルスキャン、限定したm/z範囲、SIM、プリカーサーイオン選択あり、または、なしのフラグメンテーション、またはそれらの組み合わせ	質量精度 ≤ 5 ppm ^{a,b,c)} の2イオン	イオン比は、同じシーケンスからのキャリブレーション標準溶液平均値の $\pm 30\%$ (相対) 以内
		単一段MSおよび単位質量分解能以上のプリカーサーイオン単離用の質量分離能を持つMS/MSの組み合わせ	2イオン: 1分子イオン、(脱)プロトン化分子、または、質量精度 ≤ 5 ppm ^{a,c)} の付加イオン プラス 1 MS/MS生成イオン ^{d)}	

- a) 好ましくは、分子イオン、(脱)プロトン化分子または付加イオンを含んでいる
 b) 少なくとも1つ以上のフラグメントイオンを含む
 c) m/z <200に関して<1 mDa
 d) 質量精度に関しては特定の要求事項なし
 e) ノイズがない場合は、シグナルは、少なくとも5連続スキャンで存在すること

D9 同定に使用された選択イオンの、最も強いイオンに対する相対比として表される相対強度または相対比は、同じ条件下で測定する場合、MS検出器の直線範囲内の検量線用標準溶液のそれらに対応していること。マトリックス適合したキャリブレーション溶液を使用する必要があるかもしれない。そのイオン比は、30% (相対比) を超えて逸脱しないこと。

D10 イオン比の変動性は、好ましくは最初の分析法バリデーション中に、続いて日常的な分析中の継続しているQC操作の一環として検量線用標準溶液から測定すること。正当性が評価されている場合、これらのデータは、表4に示した一般的な基準を適用するためというよりも個々の分析物に関して性能に基づく基準を設定するために使用されることが考えられる。

³ 質量分析計に関する用語の定義については、Murray et al. (2013) Pure Appl. Chem., 85: 1515-1609 を参照のこと。

D11 許容値が大きくなればなるほど、偽陽性結果の割合（%）が高くなる可能性がある。同様に許容値が減少すれば、偽陰性が増加する可能性があると考えられる。表4^{4,5}に示した許容値を絶対的な制限と見なすべきでなく、経験を積んだ分析者による補足的な解釈なしに基準に基づいて自動的にデータを解釈することは推奨されない。

D12 信頼性の程度が高い同定に関して、さらなる証拠を追加の質量スペクトル情報から得られることもある。例えばフルスキャンスペクトル、同位体パターン、付加イオン、追加の精密質量フラグメントイオン、追加の（MS/MSにおける）生成イオンまたは精密質量生成イオンの評価である。

D13 ある分析物の異性体のクロマトグラフィープロファイルが証拠となることもある。異なるクロマトグラフィー分離システムおよび／または異なるMS・イオン化技法を用いて追加的な証拠を探すこともある。

結果の確認

D14 最初の分析で明確な同定ができなかった場合、または定量分析に関する要求事項が満たさなかった場合、確認分析が必要である。これには抽出液または試料の再分析が含まれることがある。MRLを超えた場合、別の分析試料の確認分析が常に要求される。まれな農薬／マトリックスの組み合わせについても確認分析が推奨される。

D15 異なる測定技法の使用および／または独立した経験のある実験室による定性および／または定量結果の確認により、さらなる裏付け証拠が提供されることが考えられる。

E. 結果の報告

結果の表記

E1 個々の分析物の測定結果は、いつも報告し、その濃度はmg/kgで表記しなければならない。残留物定義に1種以上の分析物（例、Appendix B参照）が含まれる場合、残留物定義に記載の通り、各分析物の合計を算出し、MRLへの遵守に関する確認に使用しなければならない。実験室の分析能力が残留物定義に記載された残留物の完全な合計を定量するまで

⁴H. G. J. Mol, P. Zomer, M. García López, R. J. Fussell, J. Scholten, A. de Kok, A. Wolheim, M. Anastassiades, A. Lozano, A. Fernandez Alba, *Analytica Chimica Acta* 873 (2015) 1-13

⁵S. J. Lehotay, Y. Sapozhnikova, H. G. J. Mol, *Trends in Analytical Chemistry* 69 (2015) 62-75.

に達していない場合に、合計の一部を算出するかもしれないが、このことについては報告書に明記すること。監視プログラムの一環として試料結果を電子的に提出する場合は、各分析物全ての濃度およびそれらのLOQを提出しなければならない。

E2 定量法に関して、RL未満の個々の分析物の残留量は、 $<RL \text{ mg/kg}$ として報告しなければならない。スクリーニング法を用いて農薬が検出されなかった場合は、結果は $<SDL \text{ mg/kg}$ として報告しなければならない。

結果の計算

E3 同じホモジネート試料を2種類の技法を用いて分析した場合、より精確であると考えられる技法を用いて得られたものを結果とすること。同等に精確な2種類の技術により、または同じ技法を用いて繰り返し測定することにより得られた2つの結果は、結果の平均値を報告すること。2つあるいはそれ以上の分析試料を分析した場合、各試料から得た結果の算術平均を報告すること。試料が良好に粉碎および／または混合されている場合、試験試料の繰り返し結果のRSDは、特にRLを有意に超える残留量に関しては通常30%を超えないはずである。

2回分の繰り返し試料しかない場合は、個々の結果の相対差は、平均値の30%を超えてはならない。RL付近では変動性が高くなり、限界を超えているか否かについて決定する際にはさらに注意が必要となる。

一般に残留データは、その平均回収率が70~120%の範囲内である場合、回収率で補正する必要はない。残留データを回収率で補正する場合は、その旨を報告書に記載しなければならない。MRL超過は、少なくとも繰り返しの確認分析に関して平均回収率(70~120%) $\pm 2 \times RSD$ の範囲内で、(同じバッチからの)個々の回収率結果により裏付けされなければならない。回収率がこの範囲内に達することができない場合は、実施した実験を必ずしも排除する必要はないが、精確さが比較的低いという危険性を考慮しなければならない。MRL超過の全てのケースに対して、好ましくは標準品添加または同位体標識した標準品を用いて回収率で補正することが強く推奨される。

データの丸め方

E4 農薬残留量の報告結果は一貫性を維持することが重要である。一般に、RL以上であるが $<10 \text{ mg/kg}$ の結果は有効数字2桁に丸めること。 $\geq 10 \text{ mg/kg}$ の結果は、四捨五入して有効数字3桁または整数とすることがある。RLが $<10 \text{ mg/kg}$ では有効数字1桁に、 $\geq 10 \text{ mg/kg}$ で

は有効数字2桁に丸めること。これらの丸め方の規則は、必ずしも報告したデータと関連した不確かさを反映するわけではない。統計学的解析の目的（例えば、測定の不確かさの評価）や技能試験の結果を報告する場合には、有効数字を増やして記録することもある。場合によっては、数字の丸め方は消費者／管理または監視プログラムの当該関係者により特定されるまたは承認されることがある。いずれの場合も、結果の丸め方により、MRLのような法的限界値の超過に関して異なる決定につながるものが決してないようにすること。従って、結果の最終計算終了後に、数字を有効数字へと丸めること。

測定の不確かさを持つ認定結果

E5 実験室が分析結果と関連するU' と表現される（拡張された）測定の不確かさ（MU）を決定し、利用できるようにすることはISO/IEC 17025に従った要求事項である。実験室は、分析法バリデーション／確認、実験室間試験（例えば技能試験）およびMUを推定するために使用できる社内の品質管理試験から導き出した併行精度／室内再現精度のデータを十分に持っていること⁶。

MUは、真の値が、定義した確率内（信頼水準）で存在すると期待できる報告結果または実験結果付近の範囲を説明するものである。MUの範囲は、誤差の全ての原因を考慮しなければならない。

E6 MUデータ⁷は、真の値についての確かさの誤った感覚を生じさせないように慎重に適用すること。以前のデータに基づく典型的なMUの推定には、現在の試料分析に関連するMUが反映されないこともある。典型的なMUは、ISO（作者不明、1995年『測定における不確かさの表現に関する指針』“Guide to the expression of uncertainty in measurement” ISBN 92-67-10188-9）またはEurachem⁸のアプローチを用いて推定すると考えられる。再現性RSD（または、再現性データが利用できない場合は併行精度RSD）を使用することがあるが、試料調製、試料加工およびサブサンプリングに使用した操作の違いによる追加的な不確かさの原因の寄与度（例えば、分析試料を採取した実験室試料の不均一性）を含めるべきである。抽出効率および標準品濃度の違いも考慮すること。MUデータは、主に分析物および使用したマトリックスと関連しているため、他の分析物／マトリックスの組み合わせに対して外挿する際には極めて注意を払うこと。残留濃度が低いほど、特にLOQが近

⁶ Codex Alimentarius Commission Guideline CAC/GL 59-2006, Guidelines on estimation of uncertainty of results.

⁷ L. Alder *et al.*, Estimation of Measurement uncertainty in pesticide residue analysis. J. AOAC Intern., 84(2001) 1569-1577.

⁸ EURACHEM/CITAC Guide, Quantifying uncertainty in analytical measurement, 3rd Edition, 2012, http://www.eurachem.org/images/stories/guides/pdf/QUAM2012_P1.pdf.

くなる程、MUは大きくなる傾向がある。従って、日常的な分析中に検出された典型的な濃度を反映する残留濃度範囲を網羅するMUデータを得ることが必要であると考えられる。

E7 自分たちの実験室内のデータに基づき実験室でMU推定値を検証する別の実用的なアプローチは、近年の技能試験中にその性能を評価することである（Appendix C参照）。技能試験の結果は、実験室間バイアスの寄与度の重要な指標を個々の実験室のMUに提供できる。同時に実施した回収率測定と組み合わせて特定試料を反復分析することで、単一実験室結果の精確さが改善され、MU推定値を改善できる。これらの不確かさのデータには、サブサンプリングおよび分析の併行精度が包括されると考えられが、実験室間のバイアスは含まれない。分析結果が極めて重要な（例えばMRL準拠に関する確認）場合、この実践が典型的に適用されると考えられる。

E8 分析法バリデーション中に妥当性の確認された最低添加濃度に基づくRLを使用することで、<RLで検出された残留濃度と関連する不確かさを考慮する必要性がなくなる。

施行目的のための結果の解釈

E9 試料がMRLを超過する残留物を含んでいるか否かの評価は、一般にその濃度がMRLと比較的近い場合に限って問題となる。決定する際は、典型的なMUのあらゆる評価と共に、同時に得たAQCデータおよび反復分析試料から得た結果を考慮すること。残留物の損失または相互汚染がサンプリング前、サンプリング中またはサンプリング後に起こっていた可能性も考慮しなければならない。

E10 一般に50%のデフォルト拡張MU（default expanded MU）（95%信頼水準および包含係数2に相当）は、EU技能試験から求めている。一般にこの50%の値は、ヨーロッパにおける実験室間での実験室間変動性を網羅するもので、規制当局が施行決定（MRL-超過）する際に使用することが推奨される。50%のデフォルト拡張MUを使用するための必要条件として、その実験室において、自分たちの実験室自体の拡張MUが50%未満であることを実証しなければならない。同時にMRLの超過が、急性参照用量（acute reference does）の超過でもある場合、予防措置としてより低い信頼水準を持つ拡張MUを適用できる。

E11 個々の場合で、実験室において受け入れられない高い併行精度または室内再現精度 $\cdot RSD_{wR}$ が得られた場合（例えば、非常に低濃度において）、あるいは技能試験中に良好でないZ-スコアが得られた場合、状況に応じて、MUにはそれに相応する高い数値を使用することを考えなければならない。特に安定な同位体標識した内標準物質を使用している場合、単一残留物法を用いて得られた結果については、それに応じてより低い室間再現性 RSD_R （<25%）によって裏付けがなされているならば、より低い拡張MUも正当化できる。

E12 必要に応じて、結果は以下のように拡張MUと共に報告すること；結果= $x \pm U$ (単位) ここで、 x は測定値を示す。規制当局による公的な食品管理の場合には、MRLへの準拠について、測定値が拡張不確かさの分より大きくMRLを超過する ($x-U > \text{MRL}$) 場合は、MRLは超過している。この決定基準により測定量の値は、少なくとも97.5%の信頼性でMRLを超えていること⁹。従って、 $x-U > \text{MRL}$ ならば試料は準拠しないと考えられる。例えばMRL = 1の場合、結果 $x = 2.2$ および $U = 50\%$ 、であり、 $x-U = 2.2 - 1.1 (= 2.2 \text{の} 50\%) = 1.1$ で、これは $>\text{MRL}$ である。

F. 農薬標準品、原液およびキャリブレーション標準溶液

標準品の同一性、純度および保管

F1 分析物の標準品は純度が既知で、それぞれについて固有識別コードが割り当てられなければならない。完全なトレーサビリティ (供給元、バッチ番号、受領日および保管場所を含む) を保証する方法で記録しなければならない。それらは光および湿度を避けた低温、好ましくは冷凍庫内で、言い換えれば分解速度を最小限に抑える条件下で保管すること。この様な条件下において、各標準品に適切である場合、それほど厳格ではない保管条件に基づくことが多い供給者の有効期限を最高10年まで保管を認める日に置き換えることが可能である。適切な日に確認し、その純度が許容範囲内にとどまることが示されるならば、このように標準品は保管され、新規の有効期限が割り当てられると考えられる。分析物がその実験室にとって新規である場合、新たに得た標準品の化学的同一性を確認することが理想的である。スクリーニングの目的に関してのみ、標準品およびそれらの溶液は、RLが達成できるならば、有効期限後も使用してもよい。農薬が検出されている場合、定量には新規または認証標準品およびそれらで調製した検量線用標準溶液を使用しなければならない。

標準原液の調製および保管

F2 標準品 (分析物および内標準物質) の標準原液 (溶液、分散液またはガス状の希釈液) を調製する際、完全なトレーサビリティを保証できるように文書化すること。調製日に、標準品の同一性と質量 (または揮発性の高い分析物については容量) および溶媒 (または他の希釈剤) の同一性と容量を記録しなければならない。溶媒は、分析物 (溶解度、化学反応なし) および分析法に適切でなければならない。使用前に標準品を室温で平衡化させ

⁹ EURACHEM/CITAC Guide, Use of uncertainty information in compliance assessment, 1st Edition, 2007.

る際には湿気を避け、また、標準品の純度により濃度補正をしなければならない。

F3 標準原液調製では、10 mg以上の「参照」標準品を実測が小数点第5位の桁までである天秤を用いて秤量すること。室温はガラス器具類の較正を行った温度にするか、原液およびワーキング溶液の調製は、質量測定に基づくこと。揮発性の液体の分析物は、重量または容量（密度が既知の場合）により直接溶媒へ添加して調合すること。ガス状（燻蒸剤）分析物は溶媒に通気し、移動した質量を秤量することにより、もしくは、ガス状の希釈液（例えば、あらゆる反応性金属との接触を避けた気密性シリンジを用いて）を調製することにより調合することができる。

F4 標準原液は消えないようにラベル付けし、有効期限を設定し、いかなる溶媒も損失することなくまた、水分が入り込まないような容器に入れて低温の暗条件下で保管しなければならない。溶液は、特に低温での溶解度に限界がある場合は、分析物が完全に溶解していることを保証するために室温で平衡化後に再度混合し、確認を行わなければならない。異なる溶媒や異なる保管条件を使用する、あるいはより低濃度の原液を調製することは、この問題を解決する手助けとなり得る。農薬の安定性は、使用した溶媒に依存する。最新の利用可能なデータでは、大多数の農薬の標準原液は、ガラス製容器に密閉し、冷凍保存した場合、トルエンまたはアセトンで調製すると少なくとも5年間、アセトニトリル、メタノールまたは酢酸エチルで調製すると少なくとも3年間は十分に安定であることが示されている。

F5 用時調製すべき揮発性の高い燻蒸剤の懸濁液（例えばジチオカルバメート）および溶液（またはガス状希釈液）に関して、分析物溶液の濃度は、同時に独立して調製した2番目の溶液と比較すること。

ワーキング標準溶液の調製、使用および保管

F6 ワーキング標準溶液を調製する場合、採用した全ての溶液および溶媒の同一性と量を記録し続けなければならない。原液について、溶媒は分析物（溶解度、化学反応なし）および分析法に適切でなければならない。標準品は消えないようにラベル付けし、有効期限を設定し、いかなる溶媒も損失することなく、また、水分が入り込まないような容器に入れ、低温の暗条件下で保管しなければならない。セプタム栓は（汚染源となる可能性に加え）特に蒸発損失する傾向があるため、溶液を保管する場合、穴を開けた後は出来る限り迅速に交換すること。溶液は室温で平衡化させた後に再度混合し、特に低温での溶解度に限界がある場合は、分析物が溶液のままであることを保証できるように確認すること。

F7 分析法の開発またはバリデーション時、あるいは実験室にとってその分析物が新規である場合、検出された応答が、混在物や人工産物によるものではなく、分析物の応答であることを示すこと。抽出、精製または分離中に分析物が分解し、その分解物が試料中で普通に検出されるものの残留物定義から除外されている場合は、この問題を避ける別の技法を用いて結果の確認をしなければならない。

標準品の検定および交換

F8 既存の、および有効期限を過ぎている可能性のある「参照」標準品の安定性は、新たに標準原液を調製し、検出器応答を比較することで確認できると考えられる。比較は、個々の標準溶液または標準品混合物の適切な希釈液を使用して実施すること。古い標準品と新しい標準品との間での見かけ上の濃度の説明不可能な相違については調査しなければならない。新しい溶液と古い溶液間の濃度の不一致は、単純に分析物が分解したからではなくてむしろ数々の要因に起因すると考えられる（例えば、分析物の沈殿、溶媒の揮発、古い標準品と新しい標準品との間の純度の違い、秤量誤差、あるいは機器分析での誤差）。

F9 2溶液（古い溶液と新しい溶液）のそれぞれについて少なくとも5回繰り返し測定した平均値は、通常±10%を超えて異ならないこと。新しい溶液の平均値を100%とみなし、差異率の計算のためのバイアスとしても使用する。平均値の差が新しい標準品から±10%を超える場合は、保管期間や条件を必要に応じて調整しなければならないと考えられる。古い溶液および新しい溶液の両方を、最初に調製した2溶液とは独立して調製した別の新しい溶液に対して確認すること。

F10 繰り返し注入（最低でも5回）の変動性（併行精度－RSD_rとして表される）も考慮すること。低い変動性となるように、新しい溶液と古い溶液との間の濃度差を算出した値の不確かさを最小限とするように努力すること。測定変動を減らすために内標準物質を使用することもある。さらにシグナルドリフトにより引き起こされるあらゆるバイアスを抑えるために古い溶液と新しい溶液を交互に注入することが推奨される。

F11 ある農薬が、特定の保管条件（時間、溶媒、温度等）を用いて安定であるという十分な証拠（2機関以上の実験室からのデータ）がある場合、他の実験室では、これらの保管条件を再現することで、それに応じて自分達の安定性確認を軽減することができる。しかし、溶媒の揮発の可能性について、定期的に重量測定法で確認しなければならない。場合によっては、分析物の分解防止のため、ある添加物（例えば酸）を原液に加えなければならないこともある。

G. 分析法バリデーションおよび性能基準

定量法

G1 実験室内での分析法バリデーションは、ある方法が、その意図する目的に適合している証拠を提供するために実施する。分析法バリデーションは、認証機関の要求事項であり、日常的な分析（分析的品質管理および継続的な分析法バリデーション）中に方法の性能検証により裏付けされ、拡張されなければならない。可能であればその方法において実施される全ての操作（段階）について妥当性を確認すること。

G2 多成分および単一成分の残留分析法のバリデーションには代表的マトリックスを使用することがある。方法の意図する適用範囲に応じて最低限、Annex A に記載した各食品グループからの代表的食品1種について妥当性確認をしなければならない。その方法をより幅広い種々のマトリックスについて適用する場合、補足的なバリデーションデータを、例えば日常的な分析中に継続的なQCから得ること。バリデーション手順への実質的なアプローチをAppendix Aに示す。

G3 方法について検定し、感度／直線性、平均回収率（真度またはバイアスの尺度として）、精度（併行精度RSD_rとして）およびLOQを評価しなければならない。（回収率および精度確認のために）方法の目標とするLOQまたはRLで、加えて、例えば目標とするLOQまたはMRLの2～10倍の濃度といった少なくともより高い1濃度で最低でも5回の繰り返し分析が要求される。残留物定義に2つ以上の分析物が盛り込まれている場合、可能であれば、残留物定義に包括されている全ての分析物についてその方法の妥当性を確認すること。

G4 分析法において回収率が測定できない場合（例えば、液体試料の直接分析、SPME、またはヘッドスペース分析）、検量線用準溶液を繰り返し分析することで（精確さや真度ではなく）精度のみを測定する。通常バイアスは、必ずしもそうである必要はないが0であると推定される。SPMEとヘッドスペース分析において、検量線の真度および精度は、試料マトリックスに関して、分析物が平衡化されている程度に依存することがある。これらの方法が平衡化に依存する場合は、分析法バリデーション中にこのことを実証しなければならない。

G5 乾燥重量または脂質含量に基づいて結果を表記する場合、乾燥重量または脂質含量測定に用いた方法は、広く一般に認められている方法を用いて妥当性を確認すること。飼料に関しては、規則（EC）No 152/2009のAppendix III の一覧表に記載された方法を用いることが必須である。

分析法の性能許容基準

G6 定量分析法は、各添加濃度において、また、該当する各グループの少なくとも1種以上の代表的な食品（Annex A参照）について、許容可能な平均回収率を得られる能力があることを一次バリデーションおよび拡張したバリデーションの両方で実証しなければならない。許容可能な平均回収率とは、ある方法の適用範囲内の全ての分析物に対して70～120%であり、その併行精度RSD_rは20%以下である。LOQは、これらの分析法の性能許容基準を満たしているバリデーションにおける最低添加濃度である。特定の状況、特に多成分残留分析法において、回収率がこの範囲外となっても許容されることがある。例外的に、回収率が低いものの一貫性があり（例えば、良好な精度が得られている）、この根拠がしっかりと確立されている（例えば、分配段階での分析物の分布に起因する）場合、平均回収率が70%に満たなくても認められることがある。しかし、可能であれば、より精度の高い別の方法を使用すべきである。日常的な分析において継続中のQCデータから求められると考えられる室内再現精度（RSD_{wR}）は、試料の不均一性に起因するあらゆる関与を除外して20%以下であること。

表5 バリデーションパラメータおよび基準

パラメータ	何を／どのように	基準	AQC文書に対する相互参照
感度／直線性	5濃度から直線性を確認	残留物<±20%	C14～C19
マトリックス効果	溶媒標準溶液の応答とマトリックス適合させた標準溶液の応答の比較	(±20%)	C22～C24
LOQ	真度および精度に関して方法の性能基準を満たしている最低添加濃度	≤MRL	G6
特異性	試薬ブランクおよびブランクコントロール試料における応答 同定基準	RLの<30%	C42, セクションD、表4
真度（バイアス）	試験した添加濃度での平均回収率	70～120%	G4、G6
精度（RSD _r ）	試験した添加濃度の併行精度RSD _r	≤20%	G6
精度（RSD _{wR} ）	継続的な分析法バリデーション／確認から導かれる室内再現精度	≤20%	G6
頑健性	継続的な分析法バリデーション／確認から導かれる平均回収率およびRSD _{wR}	上記参照	G2、G6

スクリーニング法

G7 特に自動化されたMSに基づく検出を包括するスクリーニング法は、試料中に存在する可能性が潜在的に低い分析物まで分析範囲を拡張する方法として実験室にとって費用効率がよい方法である。より頻繁に発生する分析物については、妥当性の確認された多成分残留定量法を用いた検出および測定を継続すべきである。

G8 スクリーニング法について、ある濃度レベルでの分析物の検出について信頼性を確立すること。これは、定量法のバリデーションから得たRLに基づくスクリーニング法、または定性法のバリデーションから得たスクリーニング検出限界（SDL）に基づくスクリーニング法を用いて達成することができる。

G9 スクリーニング法を使用する場合は、そのシーケンスにおける試料のバッチ全体を通して、分析物が検出可能であり続けることを保証するために、試料シーケンスの少なくとも最初と最後にRLまたはSDLに相当する検量線用標準溶液を配置すること。分析物が検出された場合は、暫定的にのみ報告できる。信頼性のある定性結果を報告する前に、適切なキャリブレーション手順を含む妥当性の確認された定量法を用いて続く確認分析を適用しなければならない。分析物が検出されない場合、結果は<SDL mg/kgまたは<RL mg/kgとして報告する。

G10 SDLに基づくスクリーニング法のバリデーションは、検出能に焦点を絞っている。各食品グループに関して（Annex A参照）、基本的なバリデーションには、推定SDLで添加した少なくとも20試料の分析を含めること。選択した試料は、個々の食品から最低限各2試料を含み、実験室の意図した適用範囲に関して代表的と思われる食品と共に、同じ食品グループからの複数の食品を代表していること。追加的なバリデーションデータは、日常的な分析中に継続しているAQCデータおよび方法性能検証から収集することができる。

方法性能許容基準

G11 スクリーニング法の目的が定性法としての使用のみの場合は、分析物の回収率に関する要求事項はない。感度を測定するために、誤検出が存在する可能性について無添加（好ましくはブランク）試料を用いて確認すること。スクリーニング法により暫定的に検出された分析物が、適切な確認方法を用いて第2の試料分析によって同定確認された場合は、偽陽性の検出数に関する厳格な基準を必要としない。定性的スクリーニング法のSDLは、試料の少なくとも95%（すなわち5%の偽陰性率は許容範囲）で分析物が検出されている（必ずしもMS-同定の基準を満たす必要はない）最低濃度である。

G12 最初のまたは継続中の分析法バリデーションに含まれていない分析物に関しては、ある残留濃度での検出の信頼水準は知られていないと考えられる。結果的に、バリデーションの適用範囲から外れた分析物は、その方法を用いて検出できるが、SDLを特定することはできない。

G13 定性的スクリーニング法を使用する時は、妥当性の確認されている分析物のみが、実験室の日常的な適用範囲へと追加できる。

H. 追加推奨

汚染物

H1 試料は、実験室への輸送中や実験室での保管時には、お互いに、また他の潜在的な汚染源から離しておかなければならない。これは表面残留物、あるいは揮発性分析物の場合に特に重要である。そのような残留物を持つことが知られている、あるいは持つと考えられている試料は、ポリエチレン製またはナイロン製の袋に二重に密閉して入れ、別々に輸送・加工すること。

H2 フラスコ、ピペットおよびシリンジのような容量測定用器具は、特に再利用する前にはしっかりと洗浄すること。相互汚染を避けるため、可能な限り個々のガラス器具類は標準品および試料抽出液から離して置くこと。過剰な傷やエッチングがあるガラス器具類の使用は避けること。燻蒸剤の残留分析に使用する溶媒を検査し、それに対象分析物が含まれないことを保証すること。

H3 内標準物質を使用する場合は、抽出液や分析物溶液が内標準物質により不慮に汚染されたり、その逆が起きたりしないようにしなければならない。

H4 分析物が自然に、あるいは汚染物質として発生する、あるいは分析中に生成される（例えば、薬草（ハーブ）中のビフェニル、あらゆる食品における無機臭化物、土壌からの硫黄、Brassicaceae（あぶらな科）から生成する二硫化炭素）場合、農薬の使用による低濃度の残留物は、バックグラウンド濃度と区別できない。結果の解釈時には、これらの分析物の自然発生について考慮しなければならない。ジチオカルバメート、二酸化硫黄の前駆体、エチレンチオウレアまたはジフェニルアミンは、ある種のゴム食品において発生する可能性があり、この汚染源を避けなければならない。

夾雑物

H5 機器、容器、溶媒（水を含む）、試薬、フィルター助材等は、夾雑物の原因となり得るため点検すること。ゴムおよびプラスチック製の食品（例えば、シール、保護手袋、洗浄瓶）、研磨剤や潤滑剤が夾雑物の原因となることが多い。バイアルのシールは裏がPTFEで加工されていること。抽出液は、特に穴を空けた後は、例えばバイアルをまっすぐに立ててシールに触れないようにすること。抽出液の再分析が必要な場合、バイアルのシールは穴を空けた後直ちに別のものと交換しなければならないこともある。試薬ブランクを分析することで使用した機器または物質中の夾雑物の原因を特定できるはずである。

H6 試料の天然成分由来のマトリックス効果またはマトリックス夾雑物は多い。その夾雑物は、使用した測定システムに独特であったり、発生や強度が変動したり、自然界では微量であったりすることがある。夾雑物が分析物の応答と重なる形態であった場合、異なる精製または測定システムが要求されると考えられる。検出システム応答の抑制および増大に関するマトリックス効果についてはパラグラフC22で取り扱っている。マトリックス効果を取り除くこと、あるいはそのような効果をマトリックス適合した検量線によって相殺することは実用的でないが、それでも分析の全体的な精確さはパラグラフG6に記載の基準を遵守すること。

Annex A 食品グループおよび代表的な食品¹⁰

野菜、果物、穀類および動物起源食品

食品グループ	典型的な食品カテゴリー	典型的な代表食品
1. 高い水分含量	仁果果実	りんご、西洋なし
	核果果実	アンズ、おうとう（チェリー）、もも
	その他の果実	バナナ
	ネギ属	たまねぎ、西洋ニラネギ
	果菜類／うり科野菜	トマト、とうがらし、きゅうり、メロン
	あぶらな科野菜	カリフラワー、芽キャベツ、キャベツ、ブロッコリー
	葉菜類および新鮮な葉草（ハーブ）	レタス、ほうれんそう、バジル
	茎菜および茎菜類	セロリ、アスパラガス
	飼料作物／家畜用農作物	新鮮なアルファルファ、飼料用豆類、新鮮なてんさい
	新鮮な豆科植物野菜	新鮮なさや付えんどう、エンドウ豆、砂糖エンドウ、そらまめ、さやいんげん、サヤマメ
	根菜および塊茎菜の葉	てんさいと飼料用てんさいの上端
	新鮮なきのこ類	マッシュルーム、食用きのこ
根菜および塊茎菜または飼料	てんさいと飼料てんさいの根部、にんじん、ばれいしょ、かんしょ	
2. 高い酸含量および高い水分含量 ¹¹	かんきつ類	レモン、みかん、温州みかん、オレンジ
	小粒果実類および液果類	いちご、ブルーベリー、ラズベリー、クロスグリ、アカスグリ、シロスグリ、ぶどう
	果汁かす	かんきつ類
3. 高い糖分および低い水分含量 ¹²	はちみつ、乾燥果実	はちみつ、干しぶどう、干しあんず、乾燥プラム、フルーツジャム
4a. 高い油脂含量および超低水分含量	ナッツ類	クルミ、ヘーゼルナッツ、くり
	オイルシード	あぶらな、ひまわり、綿実、大豆、らっかせい、ゴマ等

¹⁰ OECD Environment, Health and safety Publications, Series on Testing and Assessment, No 72 and Series of Pesticides No39 に基づく

¹¹抽出段階で pH 変化を安定化させるために緩衝液を使用する場合は、グループ 2 の食品は、グループ 1 と合併することになる。

¹²水分含量>70%を達成するために抽出前に食品グループ 3 に水を混ぜる場合は、この食品グループはグループ 1 と合併することになる。より少量の試料について明らかにするために RL を調整すること（例えば 10 g をグループ 1 の食品として、5 g をグループ 3 の食品として使用する場合は、グループ 3 に属する食品がより低い濃度で良好に妥当性が確認されていない限りは、グループ 3 の RL はグループ 1 の RL の 2 倍であること）。

	ナッツ類およびオイルシードのペースト	ピーナツバター、練りゴマ、ヘーゼルナッツペースト
4b. 高い油脂含量および中間水分含量	脂肪果実および製品	オリーブ、アボカドおよびそれらのペースト

食品グループ	典型的な食品カテゴリー	典型的な代表食品
5. 高デンプンおよび／またはタンパク質含量、低水分および脂肪含量	乾燥豆科野菜／豆類	そらまめ、乾燥そらまめ、乾燥いんげん(黄色、白／濃紺、茶、まだら入り)、ひらまめ
	穀類およびそれらの製品	小麦、ライ麦、大麦、およびえんばくの穀類；とうもろこし、米、全粒パン、白パン、クラッカー、朝食用穀類(シリアル)、パスタ
	穀類ベースの複合飼料を含むそれらの穀類製品	
6. 「扱いにくいまたは独特な食品」 ¹³		ホップ カカオ豆およびそれらの関連製品、コーヒー、茶、香辛料
7. 肉(筋肉)および水産食品	赤肉	牛肉、豚肉、子羊の肉、狩猟鳥獣、馬
	白肉	鶏、アヒル、七面鳥
	臓物	肝臓、腎臓
	魚	鱈、コダラ、鮭、マス
8. 牛乳および乳製品	牛乳	雌牛、ヤギ、および水牛乳
	チーズ	雌牛、ヤギのチーズ
	乳製品	ヨーグルト、クリーム
9. 卵	卵	鶏、アヒル、ウズラおよびガチョウの卵
10. 動物起源の食物脂肪	肉からの脂肪	腎臓脂肪、ラード
	乳脂肪 ¹⁴	バター

飼料

食品グループ	典型的な食品カテゴリー	典型的な代表食品
1. 高い水分含量	飼料作物	牧草、アルファルファ、クローバー、アブラナ、新鮮なてんさい
	アブラナ科野菜	ケール／きゃべつ
	サイレージ	とうもろこし、クローバー、牧草
	根菜および塊茎菜	マッシュルーム、食用きのこ

¹³ 「扱いにくい食品」は、頻度高く分析する場合のみ、完全なバリデーションを実施すること。時々それらを分析するのみである場合、バリデーションは添加ブランク抽出液を用いて単に報告限界値を確認することに軽減できると考えられる。

¹⁴ グループ7の食品中の非極性農薬を測定する方法が抽出した脂肪に基づく場合は、これらの食品はグループ10と合併する。

	野菜	てんさいの葉および上部
2. 高い酸含量および高い水分含量	果汁かす	かんきつ類
3. 高い糖分および低い水分含量	—	

食品グループ	典型的な食品カテゴリー	典型的な代表食品
4a. 高い油脂含量および超低水分含量	植物性の油かす	あぶらな、ひまわり、綿実、大豆、オリーブ等
4b. 高い油脂含量および中間水分含量	—	
5. 高デンプンおよび／またはタンパク質含量、低水分および低脂肪含量	穀類ベースの複合飼料を含む穀物およびそれらの製品	小麦、ライ麦、大麦、およびえんばくの穀類；とうもろこし、米、
	豆類	そらまめ、乾燥そらまめ、乾燥いんげん（黄色、白／濃紺、茶、まだら入り）、ひらまめ
	わら	小麦、ライ麦、大麦およびえんばく
	干し草	牧草
6. 「扱いにくいまたは独特な食品」	—	
7. 肉および水産食品	動物起源ベースの複合飼料	養魚場用飼料
8. 牛乳および乳製品	—	
9. 卵	—	
10. 動物起源の食物脂肪	複合飼料ベースの脂肪	脂肪含量15%超

Appendix A. 分析法バリデーション手順：アプローチの概要および凡例

バリデーションは、方法開発の完了後または以前は使用していなかった方法を日常的な分析に導入しようとする前に実施される。我々は、実験室において初めて適用する定量分析法の一次バリデーションと、既存の妥当性の確認された方法を新規分析物およびマトリックスまで適用範囲を拡張するバリデーションとを区別している。

定量分析

1. 一次フルバリデーション

バリデーションでは、以下の項目について実施する必要がある。

- －方法の適用範囲内の全ての分析物
- －（それらが主張されている方法の適用範囲内である限り、または実験室で分析した試料に適用可能である限り）各食品グループから少なくとも1食品

実験：

バリデーションの実験的準備の典型的な例は以下の通りである：

試料セット（1つのホモジナイズした試料からの一部試料）

- 試薬ブランク
- 1ブランク（無添加）試料
- 目標LOQ濃度で添加した5試料
- 目標LOQの2～10倍の濃度で添加した5試料

機器での試料順序：

- 検量線用標準溶液
- 試薬ブランク
- ブランク試料
- 目標LOQ濃度で添加した5試料
- 目標LOQの2～10倍の濃度で添加した5試料
- 検量線用標準溶液

食品への添加はバリデーション手順において重要なポイントである。一般に添加操作は、できる限り方法の日常的な適用中に用いた手法を反映させること。例えば、試料を冷凍して粉碎し、冷凍条件下で抽出する場合は、冷凍ブランク物質の試験試料へ添加し、直ちに抽出すること。試料を室温で粉碎して、平均20分後に抽出する場合は、室温のブランク物

質へ添加し、20分間放置後に抽出すること。一般に試料の添加は、添加試料をしばらくの間放置していたとしても、実処理による残留物を模倣するものではない。実処理による残留物の相対抽出率を検討するためには、農業的に処理した試料を採取すべきである。

データの評価

AQC文書に記載の通りの順に、試料を注入し、校正して定量すること。

表5に記載されたパラメータを評価し、基準に対してそれらを検証すること。

2. 方法の適用範囲の拡張：新規分析物

以前、妥当性を確認した方法に追加する新規分析物については、一次バリデーションに関して先に概要を記載した手順と同じ手順を用いて妥当性を確認する必要がある。

代替方法として、新規分析物のバリデーションは、継続的な品質管理手順に組み込むことができる。例として：日常的試料の各バッチと共に、適用可能な食品カテゴリーからの1種以上の食品にLOQおよびLOQより高い1濃度で添加する。対応する無添加試料での回収率および夾雑物の発生について決定する。いずれの濃度区でも5回の回収率の値を得た場合は、平均回収率および室内再現精度（RSD_{wR}）を求めることができ、従って表5に記載の基準に対して検定することが可能となる。

3. 方法の適用範囲の拡張：新規マトリックス

同じ食品グループからの別のマトリックスへ適用する可能性について、妥当性を確認する実践的な方法は、試料の分析と同時に実施した継続中の品質管理を用いた実施である。以下を参照のこと。

4. 継続中のバリデーション／性能検証

継続中の分析法バリデーションの目的は、以下の通りである：

- 平均回収率および室内再現精度（RSD_{wR}）の評価を通して頑健性を実証すること
- 長期に渡り方法に対してなされた軽微な調整が、方法の性能に受け入れられないほどの影響を与えないことを実証すること
- 同じ食品カテゴリーから別の食品への適用可能性を実証すること（Annex 1も参照）
- 日常的分析中に個々の回収試験結果の許容限界を求めること

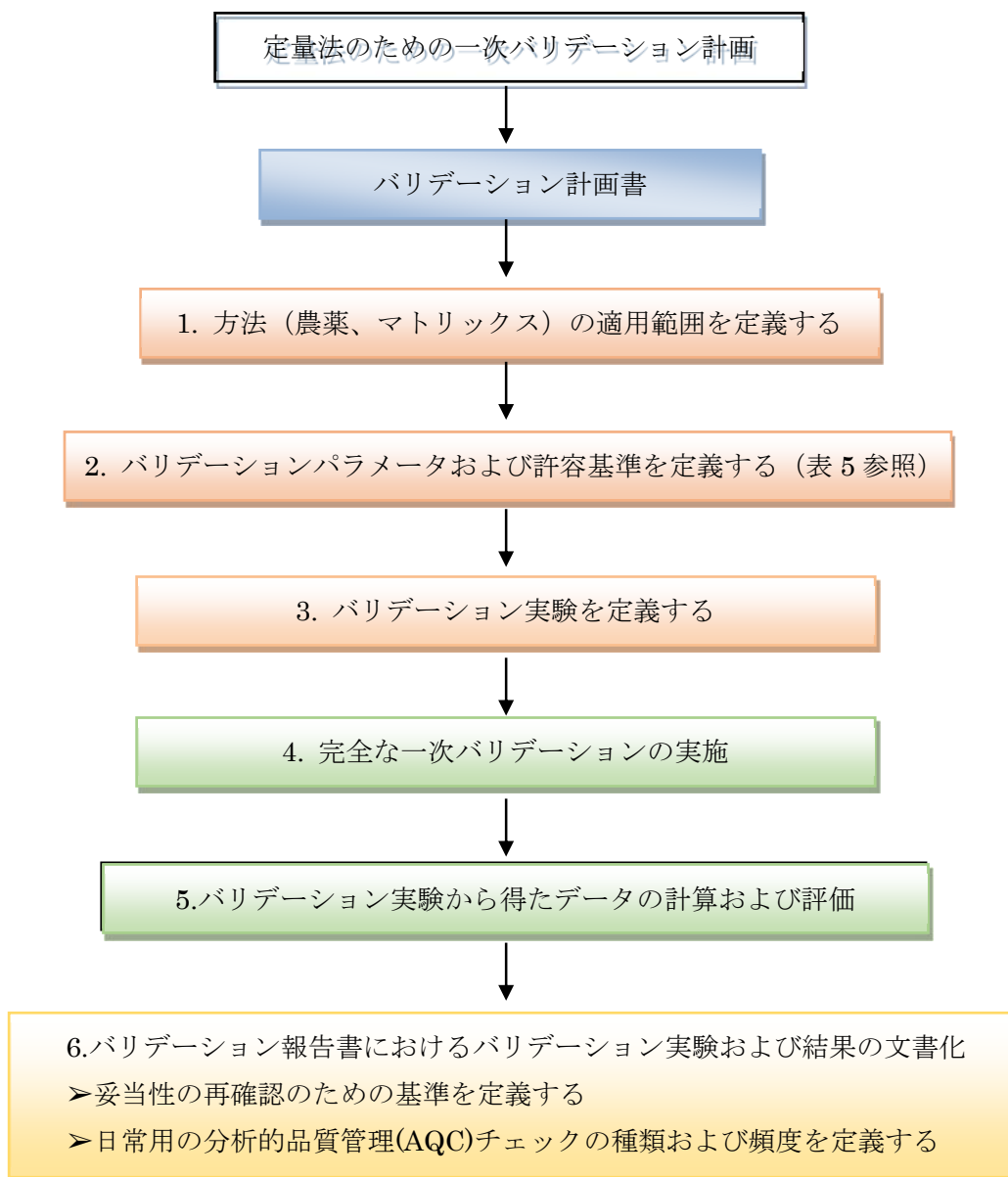
実験：

典型的に、日常的に分析した各バッチを用いて、適用可能な食品カテゴリーからの異なる食品の1つまたはそれ以上の試料に分析物を添加し、試料と同時に分析する。

データの評価：

各分析物に関して添加試料からの回収率および対応する無添加試料中の何らかの夾雑物の発生について測定する。定期的に（例えば、1年に1回）平均回収率および再現性（ RSD_{WR} ）を求め、得られたデータを表5の基準に照らして検証する。これらのデータは、AQC文書のパラグラフC44に概要を記載したように、個々の回収率測定の許容限界の設定あるいは更新にも使用でき、また測定の不確かさの推定にも使用できる。

同定基準：保持時間についてはD2を、MS基準については表4を参照のこと



Appendix B. 換算因子の例

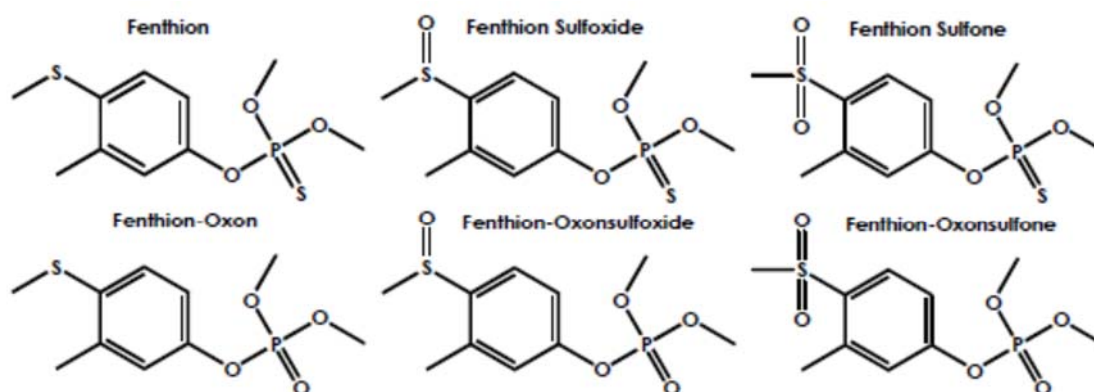
多くの農薬に関するMRL残留物定義には、農薬の親化合物のみでなく、その代謝物あるいは他の変換生成物も含まれる。

例1では、異なる分子量で調整(換算因子)した後にフェンチオン換算で成分合計を表記し、例2では、トリアジメホンとトリアジメノールの合計をそれらの算術的合計値で表し、例3では、チオジカルブとメソミルの合計をメソミル換算で表記する。

以下に示す例は、残留物定義の要求事項に見合うために要求される3種類の異なる加算法を図示している。

例1.

フェンチオン、そのスルホキシドとスルホン、およびそれらの酸素類似体(オキソン)はすべて残留物定義に記載されており、すべて分析に含めること。



換算因子 (Cf) の計算例

C_{フェンチオン}に対するフェンチオンSO

$$= \text{Mw}_{\text{フェンチオン}} / \text{Mw}_{\text{フェンチオンSO}} \times \text{C}_{\text{フェンチオンSO}} = 278.3 / 294.3 \times \text{C}_{\text{フェンチオンSO}}$$

$$= 0.946 \times \text{C}_{\text{フェンチオンSO}}$$

化合物			Mw	Cf
フェンチオン	RR'S	P=S	278.3	1.00
フェンチオンスルホキシド	RR'SO	P=S	294.3	0.946
フェンチオンスルホン	RR'SO ₂	P=S	310.3	0.897
フェンチオンオキソン	RR'S	P=O	262.3	1.06
フェンチオンオキシンスルホキシド	RR'SO	P=O	278.3	1.00
フェンチオンオキシンスルホン	R'SO ₂	P=O	294.3	0.946

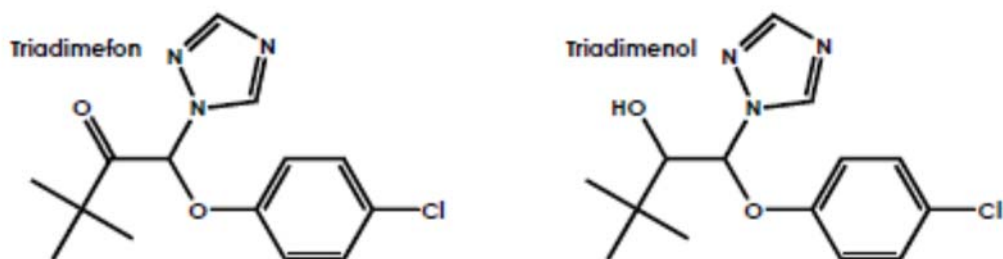
残留物定義：フェンチオン（フェンチオンおよびその酸素類似体、それらのスルホキシドおよびスルホン）はフェンチオン換算で表記する）。

残留物を親化合物および変換生成物の合計と定義する場合、変換生成物の濃度は、総残留物濃度に対して、加えられているそれらの分子量に従って調整すること。

$$C_{\text{フェンチオン合計}} = 1.00 \times C_{\text{フェンチオン}} + 0.946 \times C_{\text{フェンチオンSO}} + 0.879 \times C_{\text{フェンチオンSO}_2} + 1.06 \times C_{\text{フェンチオンオキソン}} + 1.00 \times C_{\text{フェンチオンオキソンSO}} + 0.946 \times C_{\text{フェンチオンオキソンSO}_2}$$

例2.

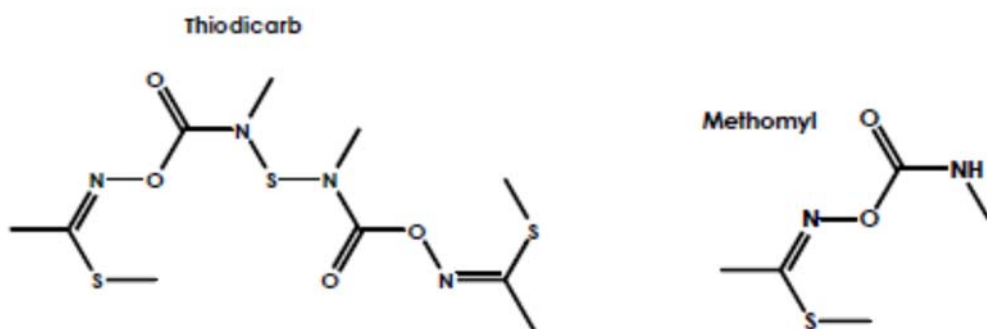
残留物定義：トリアジメホンおよびトリアジメノール（トリアジメホンおよびトリアジメノールの合計）



$$C_{\text{トリアジメホンおよびトリアジメノールの合計}} = 1.00 \times C_{\text{トリアジメホン}} + 1.00 \times C_{\text{トリアジメノール}}$$

例3.

残留物定義：メソミルおよびチオジカルブ（メソミルおよびチオジカルブの合計をメソミル換算で表記）



$$\begin{aligned} C_{\text{メソミル合計}} &= C_{\text{メソミル}} + C_{\text{チオジカルブ}} \times (2 \times Mw_{\text{メソメル}} / Mw_{\text{チオジカルブ}}) \\ &= (2 \times 162.2 / 354.5) \times C_{\text{チオジカルブ}} = 0.915 \times C_{\text{チオジカルブ}} \end{aligned}$$

$$C_{\text{メソミル合計}} = C_{\text{メソミル}} + 0.915 \times C_{\text{チオジカルブ}}$$

Appendix C. 結果の測定の不確かさの推定例

農薬残留量測定に関する結果の測定の不確かさを推定するため、本トピックスをより理解する手助けとなるEurachem¹⁵、Nordtest¹⁶、Eurolab¹⁷およびCodex CAC/GL 59-2006¹⁸ガイドラインといった、いくつかの文書を読むことが推奨される。

それでもなお、本文書において明確な例と共にappendixに記載することは有効的であると考えられている¹⁹。2つのアプローチについて詳細に説明する。両例とも式1における相対標準不確かさ u' から U' により表される拡張MUを算出するために、 $k = 2$ の拡張された包含係数が推定されている。

$$U' = k \times u' \quad \text{式1}$$

1番目のアプローチ：

ある実験室が複数の技能試験（EUPTsまたは他の農薬残留に関する当該PTs）に参加して、被験物質中に存在する全ての（またはほぼ全ての）農薬に関して許容可能なZ-スコアが得られた場合はいつでもこのアプローチを適用できる。

このアプローチにおいて、拡張MUとして50%のデフォルト値（初期値）が適用される。このデフォルト値は、果物および野菜における多成分残留分析法に関する複数のEUPTに参加している実験室が報告した結果の平均相対標準偏差に基づいている。この平均値は拡張不確かさが50%ならば25%付近に存在する。

$$U' = 2 \times 0.25 = 0.50$$

$$U' = 50\%$$

その実験室のMUが $\leq 50\%$ ならば1番目のアプローチを採用することになり、これをするた

¹⁵EURACHEM/CITAC Guide, Quantifying uncertainty in analytical measurement, 3rd Edition, 2012, http://www.eurachem.org/images/stories/guides/pdf/QUAM2012_P1.pdf

¹⁶NORDTEST Report TR 537: Handbook for Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories, <http://www.nordicinnovation.net/nordtestfiler/tec537.pdf>, 2nd edition, Espoo, 2004

¹⁷EUROLAB Technical Report 1/2007: Measurement uncertainty revised: alternative approaches to uncertainty evaluation, European Federation of National Associations of Measurement, Testing and Analytical Laboratories, www.eurolab.org, Paris, 2007

¹⁸Codex Alimentarius Commission, CAC/GL 59-2006 (Amendment 1-2011) Guidelines on Estimation of Uncertainty of Results,

www.codexalimentarius.net/download/standards/10692/cxg_059e.pdf, Rome 2006 and 2011

¹⁹P. Medina-Pastor et al., J. Agric. Food Chem., 59(2011)7609-7619

めには2番目のアプローチを行う可能性がある。

2番目のアプローチ：

このアプローチでは、式2を適用しているPT¹¹データを用いた方法と実験室のバイアス推定値を組み合わせた室内再現精度の相対標準偏差を用いて拡張MUを算出する。

$$u' = \sqrt{u'(RSD_{WR})^2 + u'(bias)^2}$$

式2

式2において：

U' は、合成標準不確かさである

u'(RSD_{WR}) は、室内再現精度である

u'(bias) は、方法および実験室のバイアスから生じるPTデータから推定した不確かさ要素である

u'(RSD_{WR})を算出するために、バリデーションデータから得た回収率も含めることができるが、長期品質管理（QC）回収率データを使用することが望ましい。

注意：キャリブレーション由来の実験室内の変動性は、長期品質管理回収率の変動性に含まれると考えられている¹⁰。

全回収率（%）を考慮した標準偏差を算出する。

ここで示した例では、バリデーション回収率は、同じ多成分残留分析法（MRM）において妥当性が確認されている全ての農薬に関して、また、実験室がPTに参加するために使用する農薬に関して求める。60%～140%の範囲内の長期QC回収率データもまた、2つの異なるレベルに関して、また実験室で通常分析している果物や野菜のマトリックスに関して含まれる。最低限31個の結果を考慮しなければならない¹³。一つは93種の農薬を用いたLC、もう一つは66種の農薬を用いたGCの二つの方法について、全ての回収率（%）の標準偏差は0.15である。従って、u'(RSD_{WR})は0.15である。

u'(bias)成分は、多くのガイドライン¹¹⁻¹³に記載されているようにPT試験における実験室の性能から算出される。EU公認実験室のEUPTsへの参加は必須である。従って、少なくとも2 EUPT-FVからの結果を採用することで、本アプローチを実施するのに十分なデータ（上記31個の結果）が提供されると考えられる。

この例では、報告された2 EUPT-FV結果は合計39種の農薬の結果である。これらの2つの

PTsから使用する必要のある情報は、付与された値もしくは中央値、試料中に存在する各農薬について実験室により報告された結果の実際のばらつき（Qnまたは頑健性標準偏差）およびこれらの農薬に関して定量結果を報告している実験室の数である。

表1に、実験室が参加しているEUPT-FV数（A欄）、報告された農薬（B欄）、農薬濃度報告値（C欄）、付与された値または中央値（D欄）、 $[(C欄-D欄) / (D欄)]^2$ であるバイアスの二乗（E欄）、参加者またはQnから得たデータの分散（F欄）、各農薬に関する結果を報告している実験室数（G欄）、G欄の平方根（H欄）およびF欄とH欄との間の係数（I欄）を示す。

続いて式3を使用する：

$$u' = \sqrt{RMS'_{bias}{}^2 + u'(C_{ref})^2} \quad \text{式3}$$

ここで、

- RMS'_{bias} は、式4に示すとおり、二乗したバイアスの合計の二乗平均平方根[PTsから得た結果の数（ $m = 39$ ）で除した（E欄の合計）]である。

$$RMS'_{bias} = \sqrt{\sum \frac{(bias_i)^2}{m}} = \sqrt{\frac{1.09973}{39}} = 0.2263 \quad \text{式4}$$

- $u'(C_{ref})$ は、いくつかのPTsを通した推定平均値である。それはその範囲内の各農薬について実験室が報告した結果数の平方根で除したQnの合計を（I欄）、PTs（39）から採用した結果数（ m ）で除し、そしてISO 13528²⁰に従ってファクター1.253を乗じて算出される。このISOでは、PTsにおいて付与された値が中央値であるときはいつでも $u'(C_{ref})$ にこのファクターを乗じなければならないと記載されている。それは、次の式5で算出される。

$$u'(C_{ref}) = \frac{\sum Qn}{m \sqrt{No.}} \times 1.253 = \frac{0.9326}{39} \times 1.253 = 0.0239 \quad \text{式5}$$

式4および5の結果を式3に代入する場合、 $u'(bias)$ は次式で得られる。

$$u'(bias) = \sqrt{RMS'_{bias}{}^2 + u'(C_{ref})^2} = \sqrt{0.2263^2 + 0.0239^2} = 0.2283$$

注意： $u'(bias)$ は、他のPTsに実験室が参加することで算出できる。

²⁰ISO 13528: Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons, International Standardisation Organisation

ここで、式2に戻り、 $u'(RSD_{WR}) = 0.15$ を代入すると $u'(bias)$ は次のようになる。

$$u' = \sqrt{u'(RSD_{WR})^2 + u'(bias)^2} = \sqrt{0.15^2 + 0.2283^2} = 0.2732$$

そして式1に戻り、 $u' = 0.27$ を代入すると拡張測定の不確かさは以下の通りとなる。

$$U' = k \times u' = 2 \times 0.27 = 0.54$$

$$U' = 54\%$$

両アプローチの結果は、それぞれ50%および54%と非常に近い値となる。

表1

A	B	C	D	E	F	G	H	I
EUPF-FV	Pesticides	Lab Results	PT Assigned Values	$(bias_i)^2$	Q_n	No. Results	$\sqrt{No.}$	$\frac{Q_n}{\sqrt{No.}}$
EUPF-FV-10 Carrot	Acetamiprid	0.337	0.419	0.0383	0.18	85	9.220	0.020
	Boscalid	0.139	0.238	0.1720	0.22	74	8.602	0.026
	Chlorpyrifos-methyl	0.056	0.078	0.0796	0.26	126	11.225	0.023
	Diazinon	0.412	0.603	0.1003	0.24	125	11.180	0.021
	Endosulfan Sulphate	0.062	0.102	0.1538	0.29	110	10.488	0.028
	Hexythiazox	0.396	0.509	0.0493	0.29	80	8.944	0.032
	Isofenphos-methyl	0.436	0.499	0.0159	0.17	69	8.307	0.020
	Kresoxim-methyl	0.028	0.050	0.1936	0.22	113	10.630	0.021
	Malathion	0.697	0.771	0.0091	0.32	124	11.136	0.029
	Methamidophos	0.245	0.342	0.0798	0.37	103	10.149	0.036
	Methiocarb	0.096	0.157	0.1510	0.31	65	8.062	0.038
	Methomyl	0.538	0.739	0.0740	0.22	88	9.381	0.023
	Oxamyl	0.274	0.322	0.0222	0.19	84	9.165	0.021
	Pendimethalin	0.056	0.074	0.0592	0.21	96	9.798	0.021
	Phosmet	0.139	0.236	0.1689	0.28	95	9.747	0.029
	Quinoxifen	0.244	0.298	0.0328	0.23	95	9.747	0.024
	Triadimenol	0.265	0.331	0.0398	0.27	103	10.149	0.027
Vinclozolin	0.90	1.04	0.0181	0.24	124	11.136	0.022	
EUPF-FV-11 Cauliflower	Aldicarb	0.679	0.658	0.0010	0.20	91	9.539	0.021
	Azinphos-methyl	0.349	0.355	0.0003	0.28	128	11.314	0.025
	Boscalid	0.373	0.414	0.0098	0.25	102	10.100	0.025
	Buprofezin	0.453	0.638	0.0841	0.30	118	10.863	0.028
	Cadusafos	0.810	0.611	0.1061	0.24	76	8.718	0.028
	Carbofuran	0.245	0.283	0.0180	0.20	107	10.344	0.019
	Deltamethrin	0.138	0.157	0.0146	0.25	130	11.402	0.022
	Diazinon	1.140	1.25	0.0077	0.26	144	12.000	0.022
	Isofenphos-methyl	0.498	0.54	0.0060	0.24	86	9.274	0.026
	Lambda-cyhalothrin	0.211	0.266	0.0428	0.24	138	11.747	0.020
	Metaxyl	0.445	0.45	0.0001	0.21	122	11.045	0.019
	Methamidophos	0.341	0.4045	0.0246	0.33	109	10.440	0.032
	Methidathion	0.453	0.472	0.0016	0.24	136	11.662	0.021
	Methomyl	0.190	0.277	0.0986	0.18	84	9.165	0.020
	Monocrotophos	0.322	0.4375	0.0697	0.21	95	9.747	0.022
	Oxamyl	0.230	0.2485	0.0055	0.17	89	9.434	0.018
	Parathion-methyl	0.277	0.32	0.0181	0.24	129	11.358	0.021
	Phosalone	0.383	0.368	0.0017	0.30	136	11.662	0.026
	Procymidone	0.750	0.78	0.0015	0.20	136	11.662	0.017
Thiacloprid	0.961	0.879	0.0087	0.15	82	9.055	0.017	
Triazophos	0.612	0.538	0.0189	0.30	132	11.489	0.026	
$\sum (bias_i)^2$				1.09973	$\sum \frac{Q_n}{\sqrt{No.}}$			0.9326
No. of Results (m) 39						No. of Results (m) 39		

Appendix C.

用語解説

精確さ Accuracy	分析結果と真のまたは認証された参照値との一致の近さ。一連の結果に適用する場合、それには、偶然誤差（精度として推定される）および共通系統誤差（真度またはバイアス）の組み合わせが含まれる（ISO5725-1）。
付加イオン Adduct ion	結合した原子または分子からの追加的な原子と同様、プリカーサーイオンの構成原子全てを含むイオンを形成するために、プリカーサーイオンと1つ以上の原子または分子との相互作用により形成されるイオン。
分析物 Analyte	濃度（または質量）を測定することになっている化学種。これらの手順の目的では次のことをいう：農薬または代謝物、農薬または内標準物質の分解物または誘導体。
AQC	分析的品質管理。日常的に実施する分析法の性能を実証することを意図した測定と記録に関する要求事項。データは、分析法バリデーション時に生成したデータを補う。AQCデータは、新規分析物、新規マトリックス、および新規濃度への分析法の拡張の妥当性確認に用いられることがある。内部品質管理（IQC）および性能検証の用語と同義である。同時に発生したAQCデータとは、特有の試料が含まれているバッチの分析中に発生したデータである。
バッチ（分析） Batch (analysis)	抽出、精製および同様の過程に関して、バッチは通常1日で並行してある分析者（または分析者のチーム）が取り扱う一連の試料であり、少なくとも1回、回収試験を実施する必要がある。測定システムに関して、バッチは、顕著に時間がとぎれることなく測定した、また、全ての関連するキャリブレーション測定を組み込んでいる系である（「 <u>分析シーケンス</u> 」「 <u>クロマトグラフィシーケンス</u> 」等とも言われる）。測定バッチには、1つ以上の抽出バッチが組み込まれることがある。 本文書において、製造または農業製品のバッチと関連するIUPACまたはCodexの意味での「バッチ」について言及するものではない。
バイアス Bias	平均測定値と真の値との間の差異。
ブランク Blank	(i) 対象分析物が検出可能な濃度では含まれないことが知られている物質（試料、または試料の一部あるいは試料抽出物）。

	<p>マトリックスブランクとしても知られている。</p> <p>(ii) いずれの試料も存在しない状態、すなわち溶媒および試薬のみを用いて実施する完全な分析（分析を現実的にするため、試料を水で置き換えることもある）。試薬ブランクまたは操作上のブランクとしても知られている。</p>
ブラケットキャリブレーション Bracketing calibration	<p>検出システムを試料分析の直前と直後でキャリブレーションするような測定バッチの構成。例えば、検量体1、検量体2、試料1、試料 n、検量体1、検量体2。</p>
キャリブレーション Calibration	<p>試料抽出液中の対象分析物から検出されたシグナル(検出システムにより発生した応答)と標準溶液として調製した既知量の分析物から検出されたシグナルとの間の関係を求めること。本文書においてキャリブレーションは、秤量および容量測定機器の較正、質量分析の質量較正等のことを言及するものではない。</p>
キャリブレーション標準溶液 Calibration standard	<p>測定システムのキャリブレーションに使用した分析物(および使用した場合は内標準物質)の溶液(または他の希釈液)。ワーキング標準溶液から調製したり、マトリックス適合させて調製したりすると考えられる。</p>
認証標準物質 Certified reference material (CRM)	<p>標準物質を参照のこと。</p>
CI	<p>GC-MS(MS)用の化学イオン化法。</p>
粉碎 Comminution	<p>混合、破碎、細断、すりつぶし等により、固体試料を小さい破片へ変化させる過程。</p>
確認 Confirmation	<p>確認は、少なくともそのうち1つは同定基準に見合っている(理想的には直交選択性的の方法を用いた)お互いに一致している2つあるいはそれ以上の分析の組み合わせである。</p> <p>残留物が完全に存在しないことを確認することは不可能である。LCLでの「RL」を採用することにより、不要に低い濃度で残留物が存在するか否かについて確認するためにかかる不当に高い費用をかけずに済ませることができる。</p> <p>陽性結果に要求される確認の性質と程度は、結果の重要性および同様の残留物が検出される頻度に依存する。</p> <p>ECDに基づく定量法は特異性に欠けるため、確認が必要とされ</p>

	<p>る傾向にある。</p> <p>質量分析法は、たいてい確認には最も実用的で、あいまいさが最も少ないアプローチである。</p> <p>確認のためのAQC操作は厳格であること。</p>
汚染 Contamination	何らかの経路、およびサンプリングまたは分析中の何らかの段階で試料、抽出液、内標準溶液等の中へ対象分析物が意図せず混入すること。
測定／検出システム Determination/ detection system	分析物の濃度や質量を検出および測定するために使用するあらゆるシステム。例えば、GC-MS(MS)、GC-FPD、LC-MS/MS、LC-ToF等。
ECD	電子捕獲物型検出器。
EI	電子衝撃イオン化、電子イオン化
EU	欧州連合。
偽陰性 False negative	分析物濃度が規定値を超えていないことを誤って示している結果。
偽陽性 False positive	分析物濃度が規定値を超えていることを誤って示している結果。
FPD & PFPD	(硫黄またはリン検出に特有と考えられる)炎光光度検出器およびパルス式炎光光度検出器。
フラグメントイオン Fragment ion	プリカーサーイオンの解離によって生じる生成イオン
GC	ガスクロマトグラフィー（ガス液体クロマトグラフィー）。
同定 Identification	<p>分析目的のための許容基準を満たす（例えば質量分析（MS）検出を用いた）構造的情報を提供できる方法から得た定性的結果。</p> <p>特定の試料に関する結果が妥当であることを保証するために十分な証拠を生成する過程。分析物は定量するために正しく同定されなければならない。</p> <p>同定のためのAQC手順は厳密であること。</p>
夾雑物 Interference	分析物に関して測定した応答に加わる、または分析物応答の積分を不明瞭あるいは不正確にする、分析物以外の化合物により生成された陽性または陰性応答。夾雑物は、おおざっぱに「化学的ノイズ」（電子ノイズ、「燃焼音」等とは異なるもの）としても言

	<p>及される。マトリックス効果は、夾雑物の軽微な形態である。夾雑物のいくつかの形態は、より選択性の高い検出器を用いることで最小限にできることもある。夾雑物を取り除いたり、打ち消したりできない場合は、その効果が精確さに顕著な影響を及ぼさなければ容認されることもある。</p>
<p>内部品質管理 Internal quality control (IQC)</p>	<p>AQCを参照のこと</p>
<p>室内再現精度 Within-laboratory reproducibility</p>	<p>再現性を参照のこと。</p>
<p>内標準物質 Intaernal standards</p>	<p>定義は、テキストの本文に記載されている。</p>
<p>実験室試料 Laboratory sample</p>	<p>実験室へ送付され、実験室が受領する試料。</p>
<p>LC</p>	<p>液状クロマトグラフィー（主に、高速液体クロマトグラフィー、HPLCおよび超高速液体クロマトグラフィー、UHPLC）。</p>
<p>LCL</p>	<p>最低キャリブレーション濃度。分析バッチを通して測定システムが良好にキャリブレーションを実施できる分析物の最低濃度（または質量）。「報告基準値」も参照のこと。</p>
<p>LC-MS/MS</p>	<p>タンデム質量分析検出と合わせた液体クロマトグラフ分離。</p>
<p>レベル Level</p>	<p>本文書では濃度（例えばmg/kg、$\mu\text{g/mL}$）または量（例えば、ng、pg）を意味する。</p>
<p>LOD (Reg. 396/2005に記載の通り)</p>	<p>検出限界（LOD）は、妥当性の確認された管理方法を用いて日常的な監視により定量および報告することができる妥当性の確認された最低残留濃度を意味する。この点ではLOQ（以下を参照のこと）とみなすことができる。</p>
<p>LOQ</p>	<p>定量限界。完全な分析法を適用することにより、許容可能な精確さを持って妥当性が確認されている分析物の最低濃度または質量。</p> <p>「検出限界」と混合する可能性を避けるために、LOQはLODよりも好ましい。しかし、法律上は、定量／測定限界で設定したReg. 396/2005 MRLsにおいて、「LOQ MRLs」ではなく「LOD MRLs」と言及している。</p>
<p>質量精度 Mass accuracy</p>	<p>質量精度は、算出したイオンの正確な（exact）質量からの、測定した精密な（accurate）質量の偏差である。それは、ミリダル</p>

	<p>トン (mDa) で表記した絶対値、または百万分の一 (ppm) で表記した誤差の相対値で表すことができ、以下の通りに算出できる：</p> <p>(精密な質量－正確な質量)</p> <p>例：実験的測定質量＝ 239.15098、 イオンm/zの理論上の正確な質量＝ 239.15028。 質量精度＝(239.15098－239.15028)＝ 0.7 mDa</p> <p>または (精密な質量－正確な質量) / 正確な質量× 106</p> <p>例：実験的測定質量＝ 239.15098、 イオンm/zの理論上の正確な質量＝ 239.15028 質量精度＝(239.15098－239.15028) / 239.15098 × 106＝2.9 ppm</p>
質量分解能 Mass resolution	<p>質量分析機器の分解能は、同様のm/z値を持つ2つのイオンを区別する能力である (IUPACの定義²¹：それらの間の谷間がピーク高さの何分の一となるような、同等の強度を持つ2つのピーク間の最小限の質量の違い)。</p>
質量分解力 Mass resolving power	<p>半減値 (FWHM) で定義された分解力は$m/\Delta m$であり、ここでmは測定しているm/zであり、Δmは半分のピーク高さでの幅である。</p> <p>注意1: 機器の磁場部分については別の定義が用いられる(「10%谷間」)。2つの定義の大まかな違いはファクター2である(すなわち、10%谷間法による10,000分解力は、FWHMでは20,000分解力に相当する)。</p> <p>注意2: 質量分解力は、質量分解能と混合してあるいは同義として用いられることが多い(上記の適宜を参照のこと)。</p>
マトリックスブランク Matrix blank	<p>ブランクを参照のこと。</p>
マトリックス効果 Matrix effect	<p>試料から共に抽出された1成分以上の化合物が、分析物の濃度または質量測定に及ぼす影響。マトリックス効果により、分析物の溶媒溶液で発生した検出器応答と比較して、応答が増大または減</p>

²¹ Murray et al. (2013) Pure Appl. Chem., 85:1515-1609

	<p>少して観察されることがある。そのような効果があるか否かは、分析物の溶媒溶液による応答と、試料抽出液中の同量の分析物から得られる応答とを比較することで実証されると考えられる。</p>
<p>マトリックス適合した／マトリックスに基づくキャリブレーション Matrix-matched calibration</p>	<p>同じ（マトリックス適合した）あるいは他の（マトリックスに基づく）ブランクマトリックスの抽出液で調製した標準溶液を使用しているキャリブレーション。</p>
<p>おそらくそう思われる May</p>	<p>本文書に限りMAYは、おそらくまたは多分選択肢である（その行為は選択的である）を意味する。</p>
<p>方法 Method</p>	<p>試料の受領から結果の計算および報告までの一連の操作または段階。</p>
<p>分析法バリデーション Method validation</p>	<p>適用範囲、特異性、精確さ、感度、併行精度および室内再現精度の観点から、ある方法に関して期待される性能を特徴づける過程。室内再現精度を除く全ての特性に関する情報の一部は、試料分析前に確立すること。一方、再現性および適用範囲の拡張に関するデータは、試料分析中にAQCから得ることもある。可能であれば、精確さの評価には、認証標準物質の分析、技能試験への参加、または他の実験室間での比較を含めること。</p>
<p>MRL</p>	<p>最大残留基準値。Regulation 396/2005 list MRLs for Pesticide/commodity combination において、ここで言うLOQは測定値というよりは合意された数値であるが、星印は、このMRL*がLOQで、あるいはLOQ付近に設定されていることを意味する。</p>
<p>MRM</p>	<p>農薬残留分析において：多成分残留分析法</p>
<p>MRM</p>	<p>質量分析において：1つ以上のプリカーサーイオンからの複数の生成イオンへ選択反応モニタリング（SRM）を適用すること。</p>
<p>MS</p>	<p>質量分析</p>
<p>MS/MS</p>	<p>タンデム質量分析、ここではMSⁿを含むこととする。主要イオン化過程により、電荷比（m/z）に選択した質量のイオンを単離し、通常衝突によりフラグメント化し、生成イオンを分離する（MS/MSまたはMS²）MSの操作。イオントラップ質量分析において、その操作は、低濃度の残留物には通常実用的ではないものの、一連の生成イオン（MSⁿ）に関して繰り返し実施されることがある。</p>
<p>Must</p>	<p>本文書内に限り、MUSTは、絶対的要求事項を意味する（その</p>

	<p>行動は義務である)。</p> <p>MUST NOTは、絶対的ないいえを意味する。</p>
NPD	窒素リン検出器。
非遵守 Non-compliance	妨害残留物または MRL 超過を参照のこと。
性能検証 performance Verification	分析的品質管理 (AQC) を参照のこと。
精度 Precision	規定された条件下で実験手順に適用することにより得られた独立した分析結果間の一致の近さ。結果に影響を及ぼす実験誤差のランダム部分が小さいほど、手順はより精確である。精度 (不正確性) の尺度は標準偏差 ²² である。
プリカーサーイオン Precursor ion	特定の生成イオンを形成するために反応する、または特定の自然損失をうけるイオン。反応は、おそらく異性化が先行する単分子解離、イオン/分子反応、電荷状態の変化を含む異なるタイプの可能性がある。
(GC注入およびカラムの) プライミング Priming (of GC injectors and columns)	プライミング効果は、長時間継続するマトリックス効果と類似し、典型的にガスクロマトグラフィーで認められる。典型的に、精製しなかった試料抽出液の一部を新規カラムまたはインジェクターライナー設置後、あるいはあるバッチの測定開始時に注入すると考えられる。その目的は、GCシステムを「非活性化」し、分析物の検出器への移動を最大限にすることである。場合によっては、大量の分析物を同じ目的で注入することもある。そのような場合、試料分析前に溶媒またはブランク抽出液を注入し、分析物のキャリーオーバーがないことを確認することが非常に重要である。プライミング効果は長く続くことは滅多になく、マトリックス効果を取り除くことはないと考えられる。
操作上のブランク Procedural blank	ブランクを参照のこと。
生成イオン Product ion	独自のプリカーサーイオンを含む反応の生成物として形成されるイオン
「参照」標準品 Reference standard	高度に精製された形態で調製され、安定性を保証し、移送および保存できるように適切に包装された固体、液体またはガス状の化合物。保管条件、有効期限、純度は、該当する場合は水和水含量、

²² Murray et al. (2013) Pure Appl. Chem., 85:1515-1609

	<p>異性体比と共に表示しなければならない。</p> <p>標準品を溶液で購入した場合は、二次標準品（すなわち、原液またはワーキング溶液）として取り扱うべきである。</p>
<p>試薬ブランク Reagent blank</p>	ブランクを参照のこと。
<p>（分析法を通した分析物の）回収率 Recovery (of analyte through an analytical method)</p>	<p>抽出直前に（通常、ブランク試料へ）添加後、最終測定時点に残存している分析物の割合。通常、百分率で表わされる。</p> <p>日常的な回収率は、試料の各バッチ分析と共に実施した測定を言う。</p>
<p>標準物質 Reference material</p>	理論上均一な含量の分析物に関して特徴付けを行った物質。認証標準物質（CRMs）は、通常、分析物の濃度および分布の均一性に関して、多くの実験室において特徴付けがなされる。社内標準物質は、それを所有する実験室で特徴付けをし、精確さは分からないことがある。
<p>基準スペクトル Reference spectrum</p>	分析物から派生し、その分析物に特有であると考えられている、吸光（例えば、UV、IR）、蛍光、イオン化物質（MS）等のスペクトル。基準マススペクトルは、好ましくは試料の分析に使用した機器を用い、標準品「純品」（または標準品「純品」の溶液）について得るべきで、同じイオン化条件を使用しなければならない。
<p>併行精度（r） Repeatability</p>	<p>使用した物質と機器および／または従事した分析者が変わることのないと思われる短期間に渡って、単一実験室において同じ試料に関して同じ方法を用いて得た分析物の測定精度（標準偏差）（通常、回収率または標準物質の分析により得られる）。精度の測定は、通常不正確さの観点から表され、試験結果の標準偏差として算出される。</p> <p>その値以下では、同一物質に関して、上記条件下で得た2つの単一試験結果に絶対的な差異が特定の確率（例えば95%）で予想される値としても定義されることがある。</p>
<p>報告基準値 Reporting level</p>	残留物が絶対数として報告されると考えられる最低濃度。LOQ以上の値である。EU監視目的のため、調査用の試料を12ヶ月に渡って分析する場合、一年を通して、同じ報告基準値が達成可能であること。

代表的分析物 Representative analyte	理論上分析で追跡する他の分析物の観点から、推定分析性能を評価するために使用する分析物。代表的分析物に関する許容可能なデータは、代表される分析物に関して良好な性能を示すと推定される。代表的分析物には、最悪の性能が予想される分析物を含めなければならない。
残差Residuals	残差は、測定値の回帰直線により予想された値からの偏差である。
再現精度 (R) Reproducibility	数多くの実験室において同じ方法を用いて、異なる分析者により、または物質および機器の変更が起こる可能性のある期間にわたって得られた(通常、平均回収率または標準物質の分析による)分析物の測定精度(標準偏差)。精度の測定は、通常不正確さの観点から表され、試験結果の標準偏差として算出される。 室内再現精度 (RSD _{WR}) は、これらの条件下において単一実験室で得られる。 その値以下では、同一物質に関して、上記条件下で得た2つの単一試験結果に絶対的な差異が、特定の確率(例えば95%)で予想される値としても定義されることがある
応答 Response	分析物が存在する場合、検出器から出される絶対的または相対的な信号出力。
RSD	相対標準偏差(変動係数)。
試料 Sample	多くの意味を持つ一般用語であるが、これらのガイドラインにおいて、実験室試料、分析用試料、分析試料、または抽出液の一部を意味する。
試料調製 Sample preparation	実験室試料を分析用試料に変えるために必要と考えられる、2過程の内の最初の過程。必要に応じて、分析することになっていない部分の除去。
試料加工 Sample processing	実験室試料を分析用試料に変えるために必要と考えられる、2過程の内の2番目の過程。必要に応じて、ホモジナイズ、粉碎、混合等の過程。
定性的スクリーニング (SDL) Qualitative screening	定性的スクリーニング法のスクリーニング検出限界は、ある分析物を試料の95%以上(すなわち、偽陰性率5%は許容できる)で検出できることが実証されている最低濃度である。
選択性	分析物と他の化合物とを区別するための抽出、精製、誘導体化、分離システム、および(特に)検出器の能力。GC-ECDは、特

	異性を与えないという条件で選択的な測定システムである。
Should	<p>本文書内に限りSHOULDは、無視できる可能性のある推奨事項を意味するが、それは特定の状況下（妥当な理由のため）でのみ認められ、また、その推奨を無視する完全な影響を理解していなければならない。更に、別の措置を選択する前に慎重に評価しなければならない。</p> <p>SHOULD NOTは、特定の状況において許容できる可能性もあるものの推奨できないことを意味するが、推奨を無視する完全な影響を理解しておかなければならず、また、慎重に評価しなければならない。</p>
有効数字 Significant figures	<p>確実と知られている数の桁数＋最初の不確かな桁。</p> <p>例 有効数字3桁 0.104, 1.04, 104, 1.04×10⁴</p> <p>1および真ん中の0は確実であり、4は不確かであるが有効である。</p> <p>注意：最初の0は有効でない。指数の数は、有効数字の数へは影響しない。</p>
SIM	選択イオンモニタリング。全質量スペクトルではなく、特定のm/z値の数種類のイオン量を記録する質量分析計の操作
SRM	選択反応モニタリング。質量分析の2段階以上（MS _n ）を介して記録された、m/zが選択されたプリカーサーイオンに相当する特定の生成イオンの測定。
固相希釈 Solid phase dilution	デンプン粉末のように細かく分配した固体中に分散させる農薬の希釈法。通常、ジチオカルバメート複合体のような不溶性分析物のみに使用される。
S/N	シグナル対ノイズ比。
特異性 Specificity	分析物を効率的に同定するシグナルを提供するための（必要に応じて、抽出、精製、誘導體化または分離の選択性により支えられる）検出器の能力。EIを装着したGC-MSは、高い特異性の能力を持つかなり非選択性の測定システムである。高分解能質量MSおよびMS _n は、選択性および特異性とも高いはずである。
添加 Spike or spiking	回収率測定または標準品添加を目的とした分析物の添加。
SPME	固相微量抽出。

標準品 Standard	標準品「純品」、標準原液、ワーキング標準溶液、およびキャリブレーション標準溶液を意味すると考えられる一般用語。
標準原液 Stock standard solution	標準品「純品」または内標準物質の最も濃縮された溶液（または固体希釈等）で、ここから一部を分取して、ワーキング標準溶液またはキャリブレーション標準溶液を調製する。
分析試料 Test portion	分析用試料の代表的なサブサンプル、すなわち分析することになっている一部。
分析用試料 Test sample	例えば骨や付着した土壌など、分析することになっていないあらゆる部位を取り除いた後の実験室試料。分析試料として分取する前に、粉碎および混合をすることも、しないこともある。指令2002/63/ECも参照のこと。
真度 Trueness	真度の尺度は、通常「バイアス」として表現される。一連の試験結果から得られた平均値（即ち平均回収率）と認証値または真の値との間の一致の近さ（ISO 5725-1）。
（測定の）不確かさ Uncertainty (of measurement)	真の値が、特定の確率（信頼水準、通常95%）で存在すると予想できる報告結果付近の範囲。不確かさのデータには、真の値（バイアス）および再現性を包括すること。
ユニット（試料） Unit (sample)	単一の果物、野菜、動物、穀類、缶等。 例えば 1個のりんご、1枚のTボーンステーキ、小麦1粒、トマトスープ1缶。
単位質量分解能 Unit mass resolution	一価のイオンに相当するあるピークと、1ダルトンの距離にある近隣ピークとを、通常5~10%以下の重なりで明確に区別することのできる質量分解能
バリデーション Validation	分析法バリデーションを参照のこと。
違反残留物 Violative residue	MRLを超える、またはその他何らかの理由で非合法である残留物。
ワーキング標準物質 Working standard	原液から調製した希釈液を述べるために使用する一般的用語で、これらは、例えば、回収率測定のための添加用、またはキャリブレーション標準溶液の調製用に使用される。