

食品中の食品添加物分析法の妥当性確認ガイドライン

1. 趣旨

本ガイドラインは、食品中の食品添加物（以下「添加物」という。）について、食品衛生法第（昭和 22 年法律第 233 号）12 条への適合及び同法第 13 条 1 項に基づく食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号。以下「告示」という。）の第 2 添加物「F 使用基準」への適合を判定するための根拠となる結果を得ることを目的として試験を実施する場合に、各試験所が使用を意図する分析法の妥当性を確認するための手順を示すものである^{注1}。

注 1：本ガイドラインに示す手順は、食品中の添加物分析法としての性能を評価し、試験法としての妥当性を確認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

食品衛生法第 12 条への適合及び告示の第 2 添加物「F 使用基準」に示される食品に対する使用基準への適合を判定するための根拠となる結果を得ることを目的とする試験において、各試験所が試験法を導入するにあたり、試験法としての妥当性が確認されていない分析法（第 2 版 食品中の食品添加物分析法、各試験所が独自に開発した分析法及びその他の分析法を含む）を対象とする。

ただし、本ガイドラインの適用は、機器を用いる定量分析法及び滴定による定量分析法に限るものとする^{注2}。

注 2：添加物として農作物に使用される防かび剤及び防虫剤に対して使用される分析法については、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（平成 22 年 12 月 24 日付け食安発 1224 第 1 号）を、メラミンに対して使用される分析法については通知（平成 20 年 10 月 2 日付け食安監発第 1002002 号）のメラミン試験法に記載されている妥当性確認方法を適用すること。

3. 用語の定義

本ガイドラインにおいて、用語は以下のとおり定義する。

- (1) 「基準値」とは、告示の第 2 添加物の部 「F 使用基準」に示され、特定の添加物に定められた、食品に対する使用可能な最大量又は最大の残存量であって、適合判定の基準となる値をいう。なお、基準値は、添加物そのものの量又は添加物を他の物質に換算した量の値で示される。
- (2) 「試験」とは、食品衛生法第 12 条及び告示で定める使用基準への適合判定の根拠となる結果を得ることを目的として実施する分析をいう。
- (3) 「分析法」とは、通知により示される「第 2 版 食品中の食品添加物分析法」^{注3}及び各試験所が独自に開発した分析法及びその他の分析法をいう。

注 3：「第 2 版 食品中の食品添加物分析法」（以下「通知分析法」）とは、「食品中の食品添加物分析法について」（平成 12 年 3 月 30 日付け衛化第 15 号厚生省生活衛生局食品化学課長通知の別添（以後、通知

により改正された内容を含む)をいう。

- (4) 「試験法」とは、試験に用いる妥当性確認された分析法をいう。
- (5) 「分析対象物質」とは、分析の最終段階で検出され、分析対象とする物質であって、添加物の成分である物質、その類似物質（例えば、塩や光学異性体など）及びそれらが食品中あるいは分析される試料中で化学的に変化して生成した物質やその化学形態をいう。通常、分析法により明示される。
- (6) 「マトリックス」とは、分析対象とする物質や添加物の成分以外の、試料中の共存成分をいう。
- (7) 「試験物質」とは、分析法の性能評価に用いる添加試料を調製するために対象食品に添加する添加物又は添加物に相当する物質^{注4}のことをいう。
注4：「添加物に相当する物質」とは添加物の主成分の市販試薬や高純度精製品等、純度の明らかな物質をいう。
- (8) 「選択性」とは、分析時にマトリックスや他の分析対象物質の影響を受けずに目的とする分析対象物質を正確に測定する能力をいう。
- (9) 「真度」とは、分析により得られた十分多数の分析値の平均値と、承認された標準値^{注5}との一致の程度をいう。
注5：「標準値」とは、添加により添加試料中に意図される試験物質の濃度や、認証標準試料に付与された認証値を分析対象物質に換算した濃度等をいう。
- (10) 「精度」とは、指定された条件下で独立した分析を繰り返したときの分析結果間の一致の程度をいう。
- (11) 「併行精度」とは、分析対象物質を含有する同一と見なされる試料の分析において、同一の分析法を用い、同一の試験室で、同一の分析者が、同一の装置を用いて、短時間のうちに独立した分析結果を得る条件(併行条件)下における精度をいう。
- (12) 「室内精度」とは、分析対象物質を含有する同一と見なされる試料の分析において、同一の分析法を用い、同一の試験室で、独立した分析結果を得る条件(室内条件)下における精度をいう。
- (13) 「定量限界」とは、適切な精確さをもって定量できる試験物質又は分析対象物質の最低量又は最小濃度をいう。原則として通知分析法等で定量限界が示されている場合は、そ

の濃度をいう。また、通知分析法等で、定量限界が試験物質とは異なる物質としての量で示されている場合は、適切な精確さをもって定量できるその物質としての最低量又は最小濃度をいう。

- (14) 「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. 性能評価に用いる試料（性能評価用試料）

(1) ブランク試料又はトレース試料の選択

分析法の性能評価には、分析法操作の最終試験溶液で分析対象物質を含まない食品を試料として用いる（以下「ブランク試料」という。）。ブランク試料の準備が困難な場合には、添加濃度から得られる信号への影響が無視できるような、最終試験溶液における分析対象物質濃度の低い試料（以下「トレース試料」という。）を用いる。トレース試料では、最終試験溶液中の分析対象物質により得られる信号強度の目安が、原則として試験物質の添加により得られる信号強度の1/10未満であることとする^{注6}。

注6：信号強度には、クロマトグラムのピークの面積あるいは高さ、吸光度、発光強度等が含まれる。
滴定法の場合には、滴定値を信号強度の代わりとする。

(2) 添加試料の調製

ブランク試料又はトレース試料に試験物質を添加して添加試料を調製する。添加する試験物質は、分析操作に用いる溶媒と混和可能な溶媒を用いて溶解し、また、試験物質を溶解した溶液の添加量は可能な限り少量にとどめるなど、添加操作により目的とする分析への影響がないように配慮する。試験物質の添加後、混合し、30分以上放置した後に分析操作を行う。ただし、試験物質が揮発性の高い物質や分解しやすい物質である場合は、添加後すぐに分析操作を開始する。

添加試料調製時の試験物質の添加濃度は、原則として、表1-1及び表1-2に示すとおりとする。

5. 定量分析法の性能評価と妥当性確認の方法

ブランク試料又はトレース試料及び添加試料を計画的に分析し、得られた結果から以下の性能パラメータ（選択性、真度及び精度）を推定する。推定した性能が、それぞれの目標値等（真度及び精度の目標値は表2に示す^{注7,8}）を満たしているかを評価し、原則としてその目標値を満たしている場合に妥当性が確認されたものとする。ただし、別紙1に示すとおり、既存の精度管理データや添加試験データが利用可能な場合は、それらのデータから以下の性能パラメータを推定し、性能を評価し、妥当性確認することが可能である。

注7：表2に示す目標値は科学的な進捗を踏まえて、今後、見直される場合がある。

注8：全ての分析法が表2の目標値を満たすことが出来るとは限らない（添加物が分解しやすい場合、

混合物で構成される場合や器具へ吸着しやすい場合など。試験項目の例：亜硫酸塩類、ポリソルベート類等が知られており、通知分析法の注に具体例の記載がある場合はその値を目標値の代わりに参照する)。異なる食品で通知分析法を使用する場合や独自に開発した分析法を使用する場合であって、代替法がない場合には、使用を意図する分析法が表2の目標値を満たしていなかったとしても、暫定的にその分析法を使用することはやむを得ないが、表2の目標値を満たす分析法が開発された段階で、暫定的に使用していた分析法を見直す。

(1) 選択性

ブランク試料又はトレース試料を分析法に従って分析し、分析対象物質以外に由来し、分析値の正の誤差要因になり得る信号がないことを確認する。そのような信号が認められる場合は、原則としてその強度が添加した試験物質に由来する分析対象物質の信号強度の 1/10 未満あるいは定量限界未満（通知分析法における検出限界未満を含む）であることを確認する^{注9、10}。

注9：ガスクロマトグラフィー、液体クロマトグラフィーなどでは、クロマトグラム上の分析対象物質のピーク出現位置に、分析対象物質以外に由来するピークがないことを確認する。比色法、原子吸光度法、誘導結合プラズマ発光分析法などでは、ブランク試料における吸光度や発光強度が空試験液に由来する信号強度と同程度であることを確認する。スペクトルが得られるものについては分析対象物質以外に由来するスペクトルがないことを確認する。

注10：滴定による分析法及び酸素電極法による分析法は除く。

(2) 真度

添加試料5個以上を分析法に従って分析し、得られた分析値の平均値の添加濃度に対する比率(%)を求め、真度を推定する^{注11、12}。真度は表2に従って評価する^{注8}。

注11：トレース試料から調製した添加試料を分析して得られる分析値は、トレース試料中の濃度と添加した試験物質に由来する濃度の和を期待値とする推定値である。従って、トレース試料(n=3以上)を添加試料と同様に操作し得られた分析値の平均値を個々の添加試料の分析値から差し引いた値の平均値を求め、その値の添加濃度に対する比率を真度とする。また、入手可能な場合には、濃度及びマトリックスが適切な認証標準試料を分析し、得られた分析値と認証値の比率から真度を推定するのが最も適切である。

注12：金属類を対象とする分析法の場合、測定における物理的又は化学的干渉と呼ばれる効果が知られている。また、質量分析計又はタンデム質量分析計を用いて検出する分析法の場合、食品に由来する試験溶液中のマトリックスの干渉により、検出感度が抑制又は促進の影響を受ける場合があることが知られている。これらの干渉による分析値への影響は、試験溶液の希釈率、測定波長又は測定質量数の変更により確認可能である。これらの干渉が分析値に決定的な影響を与えることも考えられるため、真度の目標値を踏まえ、事前に確認することが望ましい。

(3) 精度

添加試料を分析し、得られた分析値の相対標準偏差(RSD%)を求め、併行精度及び室

内精度を推定する。実験計画では、自由度 4 以上で分散の推定が可能な分析値を得るよう、分析の繰り返し回数を設定する。精度は表 2 に従って評価する^{注 7}。

表 1—1 本ガイドラインの対象となる試験項目（添加物）、対象食品及び妥当性確認時の試験物質の添加濃度

（ただし、表 1—1 を適用しない場合（試験項目（添加物）と対象食品の組み合わせ）については表 1—2 に示す。）

	試験項目（添加物）	対象食品	試験物質の添加濃度
1. 対象食品に基準値が規定されている場合* ¹ （2. 複数の添加物の使用量又は残存量の合計（和）で基準値が規定されている場合を除く）	該当する対象添加物	告示の第 2 添加物の部「F 使用基準」で使用が認められている食品のうち、試験法を適用しようとする食品	基準値相当濃度
2. 複数の添加物の使用量又は残存量の合計（和）で基準値が規定されている場合* ²			各試験物質につき、合計基準値相当濃度及び合計する各試験物質の定量限界* ^{3、4}
3. 基準値が規定されていない場合や、使用基準が「除去しなければならない」、「中和し、又は除去しなければならない」、「分解し、又は除去しなければならない」と定められている場合			定量限界* ⁴
4. 使用基準が「使用してはならない」と定められている場合や、対象食品への使用が認められていない場合* ⁵		食品衛生法第 12 条及び告示の第 2 添加物の部「F 使用基準」で使用が認められていない食品のうち、試験法を適用しようとする食品	定量限界* ⁴

*¹ 複数の添加物の分析対象物質が同じである場合を含む（例：プロピオン酸及びプロピオン酸ナトリウム、サッカリンカルシウム及びサッカリンナトリウム）。この場合は、添加物の違いによる結果の差がわずかと予想されれば、いずれかの試験物質を添加してもよい。

*² 複数の添加物に由来する異なる分析対象物質の量を合計する場合をいう（例：パラオキシ安息香酸エステル類をパラオキシ安息香酸として合計する場合、ソルビン酸とプロピオン酸を合計する場合等）をいう。

*³ 定量限界が合計基準値より極めて低い（1/10 未満の）場合は、各試験物質について、合計基準値に相当する濃度と、合計基準値の 1/10 以下に相当する濃度の 2 濃度を添加濃度とする。

*⁴ 通知分析法の定量限界を添加濃度とする場合は、検量線に定量限界に相当する濃度の 1/2 濃度等も追加する。通知分析法に定量限界が示されていない場合は、検量線の最低濃度（0 以外）に相当する濃度を定量限界に代わる添加濃度とする。通知分析法が無い場合は、各試験所における定量限界を添加濃度とする。

*⁵ 添加物の使用が認められていない食品への使用の有無を確認する場合。指定外添加物の使用の有無を確認する場合を含む。

表 1—2 表 1—1 を適用しない場合（試験項目（添加物）と対象食品の組み合わせ）及び妥当性確認時の試験物質の添加濃度

試験項目（添加物）	対象食品	試験物質の添加濃度
ジブチルヒドロキシルエン、ブチルヒドロキシアニソール及び没食子酸プロピル	表 1—1 に従う ^{*3}	表 1—1 に従う ただし、定量限界の代わりに 0.02g/kg ^{*1} を用いる
ポリソルベート 20、ポリソルベート 60、ポリソルベート 65 及びポリソルベート 80		表 1—1 に従う ただし、基準値が 0.1g/kg 未満の食品は 0.1g/kg ^{*1、2}
サイクラミン酸		0.02 g/kg ^{*1}
<i>tert</i> -ブチルヒドロキノン		0.02 g/kg ^{*1}
スーダン色素及びパラレッド		0.005 g/kg ^{*1}
過酸化水素		表 1—1 に従う ただし、食肉の表面の過酸化水素を分析する場合は 0.005 g/kg ^{*3}

*1 試験物質が分解しやすい等の理由から、通知分析法に添加濃度が示されている場合は、通知分析法に示された濃度を添加濃度とする。

*2 ポリソルベート 80 標準品を表に記載のとおり添加する。

*3 食肉の表面の過酸化水素を分析する場合は、妥当性確認の添加回収試験に用いる食品として鶏肉を用い、試験物質の添加濃度を 0.005g/kg として分析する。

表2 表1-1及び表1-2に該当する試験項目（添加物）の定量分析における食品へ添加する試験物質濃度での真度及び精度の目標値*

レベル	濃度			真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
	g/kg 又は g/L	mg/kg 又は mg/L	%			
1	≤ 0.000001	≤ 0.001	≤ 0.0000001	40 ~ 120	< 22	< 22
2	$0.000001 < \sim \leq 0.00001$	$0.001 < \sim \leq 0.01$	$0.0000001 < \sim \leq 0.000001$	60 ~ 120	< 22	< 22
3	$0.00001 < \sim \leq 0.0001$	$0.01 < \sim \leq 0.1$	$0.000001 < \sim \leq 0.00001$	70 ~ 120	< 11	< 22
4	$0.0001 < \sim \leq 1$	$0.1 < \sim \leq 1000$	$0.00001 < \sim \leq 0.1$	70 ~ 120	< 10	< 15
5	$1 <$	$1000 <$	$0.1 <$	70 ~ 120	< 10	< 15

* 現実を踏まえ、国際整合性と試験の実効性を考慮して目標値は設定された。目標となる値は最低限の要求である。よりよい性能の分析法の選択に努めること

別紙 1

既存のデータを用いた妥当性確認の例

1. 精度管理データの利用

食品中の食品添加物の試験を実施している機関では、「食品衛生検査施設等における検査等の業務の管理の実施について(平成9年4月1日付け衛食第117号)別添「精度管理の一般ガイドライン」」に従って、精度管理が実施されている。妥当性確認の対象とする分析法を用いて精度管理が実施されている場合、そのデータを用いて当該試験法の妥当性確認が可能である。精度管理の一般ガイドラインでは、定期的に陰性対照(ブランク試料又はトレース試料)及び添加量が明らかな試験品(添加試料)を試験し、さらに定期的に添加量が明らかな試験品の5回以上の併行試験を行うこととされている。

これらのデータを用いて、

- ① ブランク試料又はトレース試料の結果から選択性が評価される。
- ② 1つの添加試料が定期的に5回以上試験されている場合は、それらの試験結果の平均値から真度が、標準偏差から室内精度が求められる。
- ③ 添加試料が2併行で定期的に5回以上試験されている場合は、別紙2に示した枝分かれ実験データとして、真度、併行精度及び室内精度が求められる。
- ④ 添加試料が5併行以上で定期的に5回以上試験されている場合は、それらの試験結果から真度、併行精度及び室内精度が求められる。

2. 試験と併行して実施した添加試験データの利用

妥当性確認の対象とする分析法を用いて試験を実施する際に、添加試料の分析が同時に行われている場合、それらの結果から当該分析法の妥当性確認が可能である。

試験品の試験と同時に行われる添加試験では、ブランク試料又はトレース試料と添加試料1～3個が試験されることが一般的である。

この場合、

- ① ブランク試料又はトレース試料の結果から選択性が評価される。
- ② 1回の試験において添加試料が2～3個併行で試験されている場合には、5回以上の試験結果を別紙2に示した枝分かれ実験データとして、真度、併行精度及び室内精度が求められる。
- ③ 1回の試験において添加試料1個が試験されている場合は、5回以上の試験結果の平均値から真度が、標準偏差から室内精度が求められる。

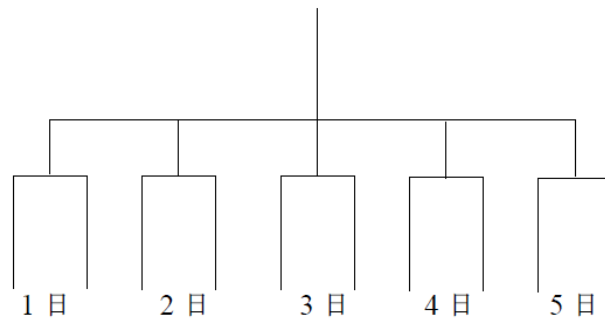
別紙 2

室内精度評価のための枝分かれ実験の例

(例 1) 日を因子とする実験計画

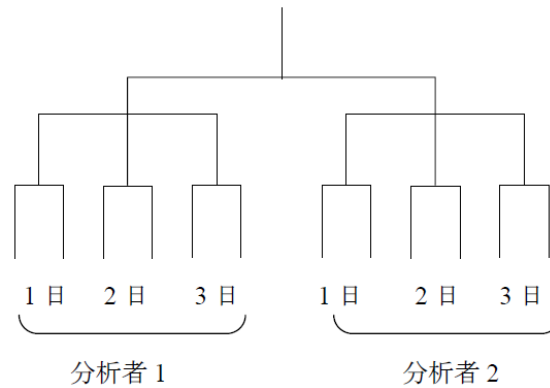
分析者 1 名が、同一の添加試料を 1 日 2 回、5 日間分析する例。

内部精度管理を 2 併行で実施したデータ、検体分析の際の添加試験を 2 併行で実施したデータの使用も可能である。



(例 2) 日と人を因子とする実験計画^注

分析者 2 名が、それぞれ添加試料を 1 日 2 回、3 日間分析する例。



注：人と日を因子として区別せずまとめて解析する。