

疑問点あるいはできない理由	件数
通常の検査と平行することによりコンタミネーションの危険性がある	2/51
細菌検査の精度管理は菌を試験品に添加するのではなく培地性能試験（ロット毎または培地作成時毎）で代用できないか	2/51
添加する微生物の調整法	2/51
繁忙期には、日常検査に組み込むことが困難な場合があり内部精度管理の頻度を減らす	1/51
自主検査においても製品検査同様に内部精度管理を実施するのか	1/51
内部精度管理のポイント ① 試験操作が適切に行われているか ② 培地をはじめとする試薬等の性能、無菌性の確認 ③ 機器類の性能 ④ 検査員の技能チェック ⑤ 試験品への試験法の適応性の検証、妥当性等の整理等を行って、その後検討すべきと考える	1/51

* 調査実施機関数：51機関（回答については一部重複）

平成 17 年度 厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保研究事業）
食品安全施策等に関する国際協調のあり方に関する研究

分担研究報告書（平成 17 年度）

「国際規格における分析サンプリング法の制定に関する研究」
—食品衛生検査の試験所における内部精度管理のあり方について—

主任研究者 玉木 武 (社)日本食品衛生協会理事長 食品衛生研究所長
分担研究者 松木 容彦 (社)日本食品衛生協会食品衛生研究所 試験検査センター長
研究協力者 杉本 敏明 (財)日本食品分析センター 衛生化学部部长
丹野 憲二 (財)日本食品分析センター専務理事

研究要旨

試験所の内部精度管理に関する国際的な共通化ガイドラインに記載されている内部精度管理手法の中から管理試料による管理手法を取り上げて試験的に適用し、管理試料の測定値の移動範囲を用いた内部精度管理の適切性及び問題点を調査した。

自家調達した管理試料を実試料とともに分析して得られたデータをシューハートの X 管理図及び移動範囲管理図の手法により解析・評価した結果、当該管理手法は一連の試験検査工程が正常に実行されたことを確認する客観的手段として有効であることが示唆された。その一方で、管理基準が適切に設定されていないと反って正しい判断を妨げる可能性があることも示唆された。

A. 研究目的

食品の国際規格は、コーデックス委員会 (CAC)において制定されている。また、食品分析法に関する共通事項については、主にコーデックス分析・サンプリング法部会 (CCMAS)が検討の場となっている。CAC では 1997 年に食品分析試験所の能力評価に関するガイドライン (CAC/GL27)¹⁾が採択されており、このガイドラインの中で分析試験所の能力評価の要件として求められる事項の一つとして内部精度管理 (Internal Quality Control)を導入していること (Use internal quality control procedures,

such as those described in the “Harmonized Guidelines for Internal Quality Control in Analytical Chemistry Laboratories”, Pure & Appl. Chem. 67 (1995) 649-666.)が挙げられている。したがって、食品衛生検査の試験所がこのガイドラインに基づく内部精度管理を適用することは、“国際的に通用する”という観点から報告した分析結果の評価を高める効果が期待される。しかしながら、CAC/GL27 で引用されている試験所の内部精度管理に関するガイドラインは外部国際機関 (IUPAC, ISO 及び AOACI)で制定された共通化ガイドライ

ン²⁾であり、種々の食品検体について幅広い検査を行う食品分析現場の実態に適しているのかという点については具体的な適用性検討を行う余地が残されていると考える。そこで、本共通化ガイドラインで推奨されている内部精度管理手法の食品衛生検査への適用を評価する目的で、管理試料を用いた精度管理手法について試験的にデータ収集を行い、管理試料の測定値の移動範囲による管理の応用について注意点/問題点を考察した。

B. 研究方法

B.1 内部精度管理の共通化ガイドライン

CAC/GL27 に引用されている試験所の内部精度管理に関する IUPAC, ISO, AOAC 共通化ガイドラインでは、各試験所での分析試験の実施状況を以下の4つのパターンに場合分けして推奨される内部精度管理手法(の組合せ)が記述されている。

- i) 測定成分を類似濃度含有する少数の類似試料を分析している場合
- ii) 測定成分を類似濃度含有する多数の類似試料を分析している場合
- iii) 測定成分を異なる濃度含有する少数(又は多数)の類似試料を分析している場合
- ix) 測定成分も試料の種類も含有濃度も一定しない、その都度異なる分析を行っている場合

上記のうち、i)~iii)は“類似試料の同一成分を分析している”という点で共通であり、これらの場合には、

- ① 試料を分析する際に、合わせて管理試料(測定成分含量が既知の試料: Control Material)を分析する。

② 実試料の一部(無作為抽出)について重複の分析を行う。

③ ブランク試験を行う。

という3つの管理手法を併用することが推奨されている。ただし、i)~iii)の場合により管理試料の分析頻度や重複分析する実試料の個数の設定等が異なる。

上記のix)ではその都度異なる分析を行っているため、特定の管理試料でさまざまな分析を統計学的に管理することが難しいという問題が生じる。そのため、このような分析の場合についてガイドラインは、管理試料よりも実試料に対する回収率テスト(添加回収試験)を管理手法に取り入れることを推奨している。添加回収試験は、妨害ピークの存在や精製工程中の測定成分のロスなど試料のマトリックスに由来する分析への悪影響を発見できる特徴があるため、不特定の試料を扱う場合に有効な手法と言える。その他、i)~iii)の場合と同様に、実試料の重複分析(全試料について2回分析を行う)やブランク試験を実施することとしている。

B.2 管理試料による内部精度管理

本研究では、種々の食品検体を扱う試験所でのモデルケースとして前述の内部精度管理手法の中から、統計学的な思考に基づいた管理手法である管理試料による内部精度管理を取り上げて、食品添加物分析の試験室でデータ収集を行った。この場合、管理試料を用いた内部精度管理は一連の試験法が正常に作動していることを確認する手段と位置づけられる。

管理試料を用いた内部精度管理手法を“第2版 食品中の食品添加物分析法 2000”

3)の「17 二酸化硫黄及び亜硫酸塩類」の試験法 B(比色法)による二酸化イオウの定量分析に対して試験的に適用した。ただし、亜硫酸塩を含む試料は長期に安定して保管することが難しいため、二酸化イオウが検出されないことを確認した砂糖をベース試料として、これに分析の都度一定量の亜硫酸塩を添加することで管理試料の代用とした。本研究では、管理試料を1日1回、実試料と一緒に分析した。

B.3 倫理面への配慮

本研究では、ヒト及び動物由来の組織、臓器、細胞などを実験に使用していないため、倫理面への特別な配慮は行っていない。

C. 研究結果

C.1 基礎データの収集

管理試料について、30回の二酸化イオウの分析データを収集した[Table 1]。

C.2 管理基準の設定

得られた基礎データを基に、シューハート管理図^{2),4)}の手法(3シグマ法)に従って測定値 X 及び移動範囲(連続する2回の測定値の差の絶対値) R の管理基準(処置限界線 $= \mu \pm 3\sigma$ 及び警戒限界線 $= \mu \pm 2\sigma$)を設定した。移動範囲による管理手法は日々変動する分析値に対応するものであり、臨床検査の内部精度管理にも紹介されている⁵⁾。

管理限界の設定は、期待値 μ として測定値 X の平均値(又は移動範囲 R の平均値)を使用し、母標準偏差 σ は移動範囲 R との関係式(係数: E_2 及び D_4)から推定した⁴⁾[Table 1]。

C.3 管理基図の作成

各測定値 X_i 及び移動範囲 R_i をグラフ上にプロットした[Fig. 1]。

C.4 管理用データの収集及び評価

次に、設定した管理基準に基づいて、その後得られた管理試料分析データ(管理用データ)を評価した[Table 2]。また、管理用データについて基礎データと同様に管理図を作成した[Fig. 2]。

D. 考察

D.1 基礎データの評価

Table 1 及び Fig. 1 より、基礎データの測定値 X_i 及び移動範囲 R_i はすべて処置限界線の範囲内に納まっていた。また、 X_i について、共通ガイドライン²⁾の付録中に紹介されている、管理図のデータ配列から発見される異常なパターン(Westgardルール)の有無を確認したところ、該当する配列は認められなかった。

<<Westgardルール>>

- ① 連続する2点が警戒限界線外
- ② 連続する2点の範囲が 4σ 以上
- ③ 連続する4点が中心線から 1σ 以上外側
- ④ 連続する10点が中心線の片側に集中

D.2 管理用データの評価

次に、管理用データ(管理基準設定後に実施した管理試料の分析データ)の測定値 X_i 及び移動範囲 R_i を、管理基準に基づいて評価した。その結果、 X_i , R_i ともに処置限界線を越える棄却データは発生しなかった。また、 X_i について、管理図上で Westgard

ルールのデータ配列の有無を確認したところ、該当する配列は認められなかった。

以上の結果から、今回試験的に収集した二酸化イオウ分析における管理試料データから当該期間中の二酸化イオウ分析試験は正常に実施されたものと判断された。

D.3 管理試料による方法の問題点

Table 1 において、基礎データ $i=8$ の R_i は処置限界線に近接した値であり、 X_i も警戒限界線を越えていることを考慮すると、 $i=8$ の測定時には何らかの異常があったと判断する方が適切であったかもしれない。同様のことが管理用データ $i=79$ の X_i 値についても推測された。このように、管理試料のデータから一定のルールに従って工程及び分析結果が正常であったことを確認する内部精度管理手法は、統計学的な判断を利用する点で客観的であるが、時として種々の情報からの総合的な判断を必要とする場合が生じると思われる。今回のデータにおいても、得られた基礎データが少し異なっていれば平均値や管理基準値も若干変化して、限界線に近接したデータは判定が異なる可能性を否定できない。この点に関しては、分析法自体が持つ測定の不確かさも関係するのではないかと思われる。

管理試料として用いる分析試料には、認証標準物質(CRM)が最適であるが、各試験所において分析される種々の測定成分に対して認証値が付与された標準試料が用意されているわけではなく、価格面でも非常に高価である。そのため、おそらく食品分析の現場では自ら調製した試験所内管理試料を使用している場合が多いものと推測される。具体的には、市販食品を購入して繰り返し分

析データを取ることで管理試料とする方法や、食品と測定物質を十分混ぜ合わせて含量既知の管理試料を作る方法などが考えられる。

今回実験に用いた分析時標準添加による管理試料も試験所内管理試料の一種と言えるが、試験所内管理試料を用いる場合に想定される問題点として、管理基準(期待値及び管理限界)を適切に設定できているかの判断が難しいことが挙げられる。すなわち、認証値が与えられるわけではないので、管理基準自体が相対的要素を有していると考えられるのである。もし管理基準が適切でなければ、実試料分析値の採否判断もその妥当性を失うことになる。今回の試験的適用において処置限界線を逸脱する管理試料データは認められなかったが、それは管理基準の範囲が広すぎたからなのかもしれない。逆に、管理基準を作為的に狭くした場合には、基準外の結果が頻繁に得られることになる。

このような観点から、管理試料を用いた内部精度管理を導入する場合には、管理限界線をいかに適切に引く(或いは見直す)ことができるかが運用上の問題点になるものと考えられた。その観点からは、多数の分析データが収集されて測定値及び測定誤差に関する情報が得られる外部精度管理(proficiency testing)の試料は、内部精度管理用の管理試料としても有用であると判断される。管理試料提供システムの構築が期待される。

E. 結論

管理試料を用いた内部精度管理は、標準溶液調製や機器のキャリブレーション等試

験所における分析工程全般の共通事項が日常的に正しく管理され、実行されていることを確認する有効な管理指標となり得る。ただし、その運用に当っては管理基準の適切な設定が重要であり、この点を確実にすることが運用上の課題である。

管理試料による内部精度管理の実施には管理試料が必要となるが、現時点では認証標準物質を用いることは実用上困難である。したがって、自家調製試料を適用することが必要であり、更に、外部精度管理試料の適用も期待される。

CAC/GL27 (1997).

- 2) “Harmonized Guidelines for Internal Quality Control in Analytical Chemistry Laboratories”, *Pure & Appl. Chem.*, **67**, 649-666 (1995).
- 3) “第2版 食品中の食品添加物分析法 2000”, p.71-77 (2000) 社団法人日本食品衛生協会
- 4) “シューハート管理図”, JIS Z9021 (1998) 財団法人日本規格協会
- 5) “臨床検査精度管理教本”, p.35-39, (1998) 近代出版

F. 健康危機に関する情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

I. 参考文献

- 1) “Guidelines for the Assessment of the Competence of Testing Laboratories Involved in the Import and Export Control of Food”,

Table 1 添加管理試料を用いた二酸化イオウの内部精度管理データ例(基礎データ)

i	検出量 $X_i(\mu g)$	X_i^2	移動範囲 R_i^{*1}
1	10.3	106.09	-
2	10.3	106.09	0.00
3	10.1	102.01	0.20
4	9.83	96.63	0.27
5	9.18	84.27	0.65
6	9.16	83.91	0.02
7	11.0	121.00	1.84
8	8.11	65.77	2.89
9	8.89	79.03	0.78
10	9.85	97.02	0.96
11	11.0	121.00	1.15
12	9.98	99.60	1.02
13	10.1	102.01	0.12
14	11.4	129.96	1.30
15	9.26	85.75	2.14
16	8.70	75.69	0.56
17	8.96	80.28	0.26
18	10.6	112.36	1.64
19	10.9	118.81	0.30
20	9.50	90.25	1.40
21	9.05	81.90	0.45
22	11.1	123.21	2.05
23	9.49	90.06	1.61
24	9.32	86.86	0.17
25	10.1	102.01	0.78
26	11.5	132.25	1.40
27	10.9	118.81	0.60
28	11.4	129.96	0.50
29	10.6	112.36	0.80
30	10.4	108.16	0.20
合計 Σ	300.98	3043.1182	26.06
平均値	10.03		0.899
標準偏差	0.90		

管理指標	限界線	$2\sigma^{*2}$	$3\sigma^{*2}$
X_i	下方限界線	8.44	7.64
	上方限界線	11.62	12.42
R_i	上方限界線	2.26	2.94

*1 $R_i = |X_i - X_{i-1}|$

*2 X_i の限界線 = $X_{mean} \pm k \cdot R_{mean} / d_2$, ただし $1/d_2 = 0.886$

X_i の上方限界線 = $R_{mean} (1 + k \cdot d_3 / d_2)$, ただし $d_3/d_2 = 0.756$

ここで, k は σ の倍数(2又は3)を, X_{mean} は X_i の平均値を, R_{mean} は R_i の平均値を表す。

Fig. 1 \bar{X} -R管理図作成例 (基礎データ)

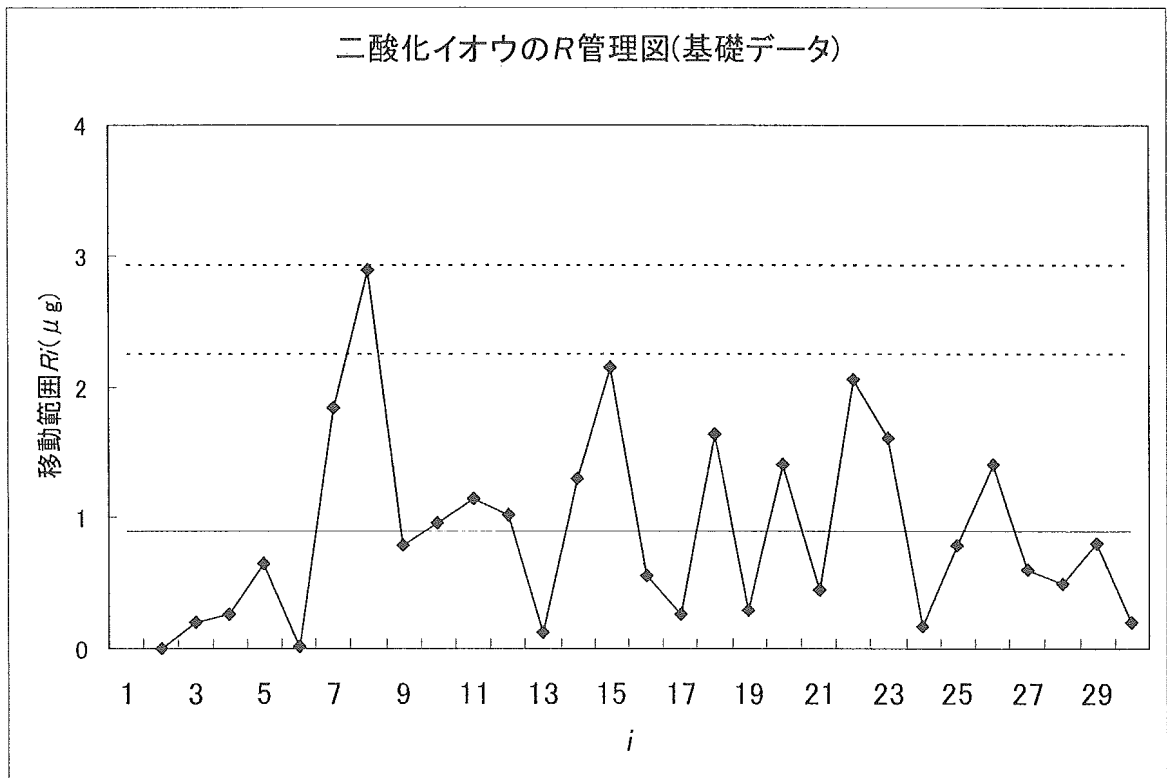
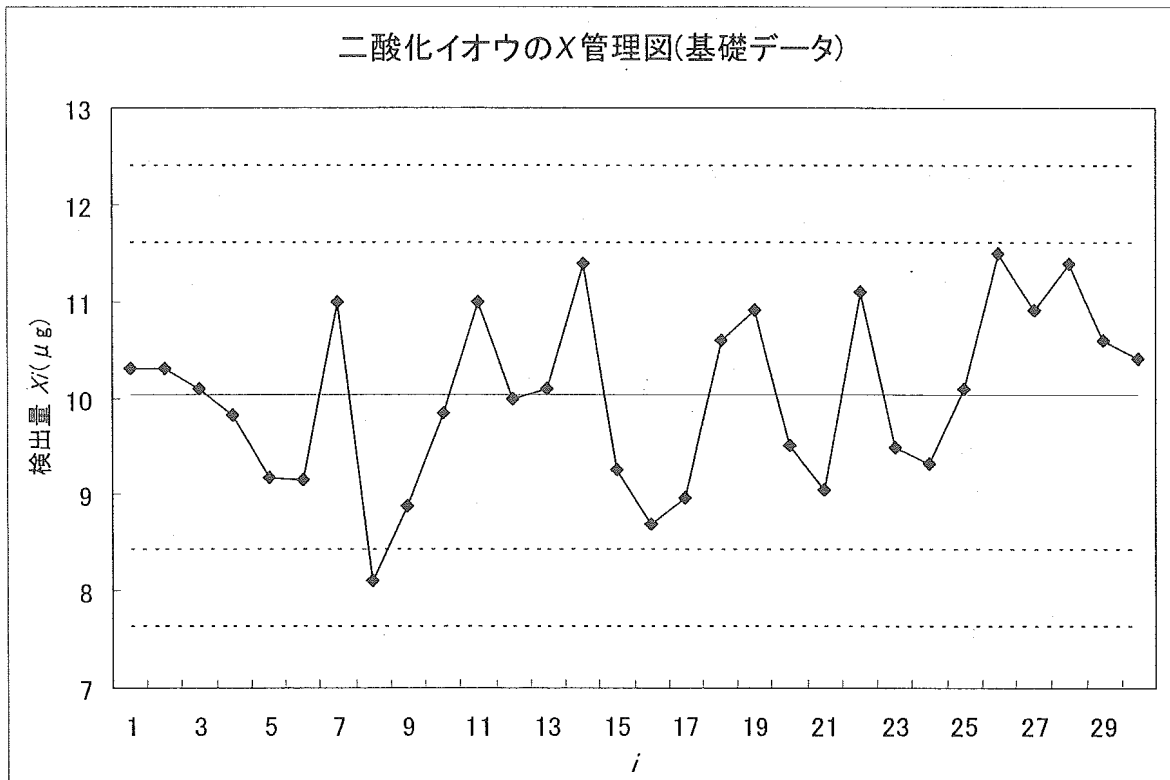


Table 2-1 添加管理試料を用いた二酸化イオウの内部精度管理データ例 (管理用データ)

X_i の平均	10.03	
X_i	警戒限界線	処置限界線
下方限界	8.44	7.64
上方限界	11.62	12.42

R_i の平均	0.899	
R_i	警戒限界線	処置限界線
下方限界	0	0
上方限界	2.26	2.94

判定凡例	
○	警戒限界内
△	警戒限界外
×	処置限界外

i	検出量 $X_i(\mu g)$	移動範囲 R_i^{*1}	X 判定	R 判定
31	9.05	1.4	○	○
32	9.79	0.7	○	○
33	8.62	1.2	○	○
34	10.5	1.9	○	○
35	10.2	0.3	○	○
36	9.05	1.2	○	○
37	10.4	1.4	○	○
38	9.79	0.6	○	○
39	10.2	0.4	○	○
40	11.4	1.2	○	○
41	10.9	0.5	○	○
42	11.0	0.1	○	○
43	9.75	1.3	○	○
44	11.1	1.4	○	○
45	9.76	1.3	○	○
46	10.8	1.0	○	○
47	11.3	0.5	○	○
48	10.3	1.0	○	○
49	10.1	0.2	○	○
50	9.85	0.3	○	○
51	10.2	0.4	○	○
52	9.67	0.5	○	○
53	10.7	1.0	○	○
54	10.8	0.1	○	○
55	10.1	0.7	○	○
56	10.1	0.0	○	○
57	11.4	1.3	○	○
58	10.0	1.4	○	○
59	10.1	0.1	○	○
60	9.45	0.7	○	○

*1 $R_i = |X_i - X_{i-1}|$

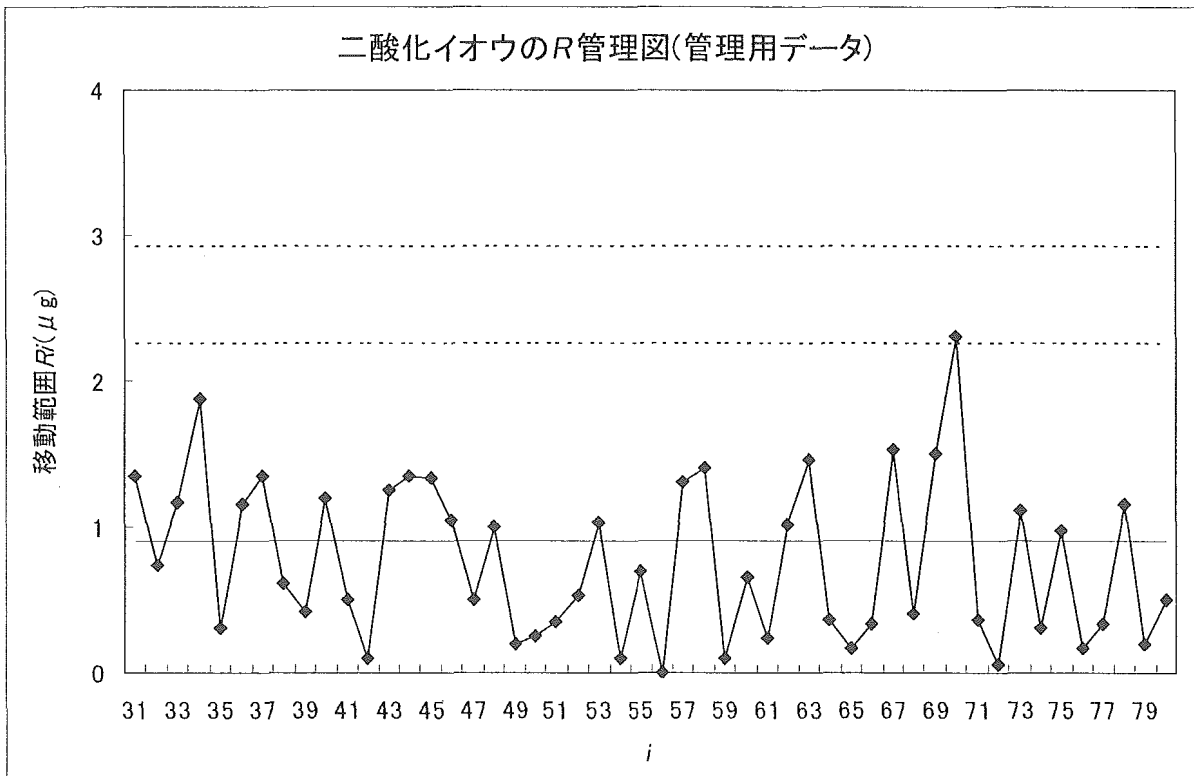
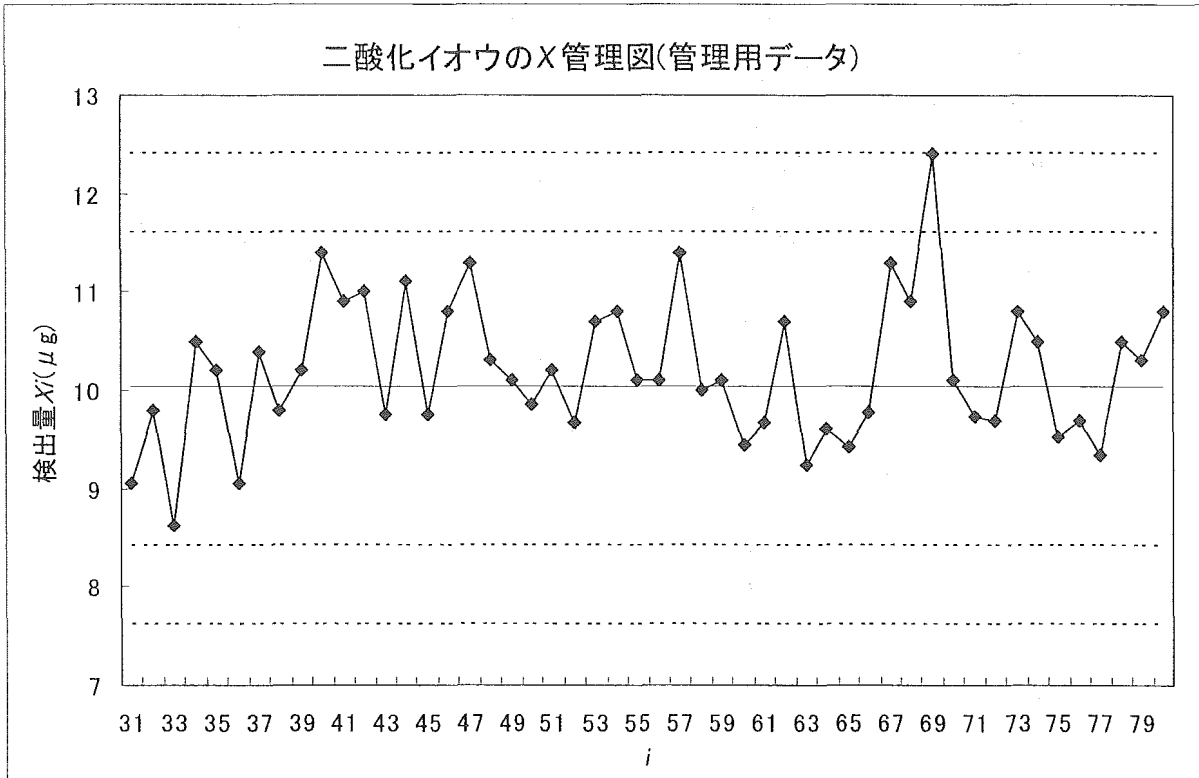
管理基準(警戒限界線及び処置限界線)は、Table 1 の値を引用した。

Table 2-2 管理試料を用いた二酸化イオウの内部精度管理データ例（管理用データ）

i	検出量 $X_i(\mu\text{g})$	移動範囲 R_i^{*1}	X 判定	R 判定
61	9.68	0.2	○	○
62	10.7	1.0	○	○
63	9.24	1.5	○	○
64	9.60	0.4	○	○
65	9.43	0.2	○	○
66	9.77	0.3	○	○
67	11.3	1.5	○	○
68	10.9	0.4	○	○
69	12.4	1.5	△	○
70	10.1	2.3	○	△
71	9.74	0.4	○	○
72	9.69	0.1	○	○
73	10.8	1.1	○	○
74	10.5	0.3	○	○
75	9.53	1.0	○	○
76	9.69	0.2	○	○
77	9.35	0.3	○	○
78	10.5	1.2	○	○
79	10.3	0.2	○	○
80	10.8	0.5	○	○

*1 $R_i = |X_i - X_{i-1}|$

Fig.2 $X-R$ 管理図作成例 (管理用データ)



平成 17 年度 厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保研究事業）
食品安全施策等に関する国際協調のあり方に関する研究

分担研究報告書（平成 17 年度）

「国際規格における分析サンプリング法の制定に関する研究」
－ISO ガイドラインに適合した内部精度管理試料の作製について－

主任研究者 玉木 武 (社) 日本食品衛生協会理事長 食品衛生研究所長
分担研究者 松木 容彦 (社) 日本食品衛生協会食品衛生研究所 試験検査センター長
研究協力者 大島 赴夫 (財) 食品薬品安全センター秦野研究所 部長
鈴木 達也 (財) 食品薬品安全センター秦野研究所 室長

研究要旨

食品基材を用いた認証標準物質および海外において実施されている技能試験で採用されている基材についてインターネットを用いた検索を行った。その結果、食品基材を採用した認証標準物質は他の化学物質と比較すると圧倒的に少なく、対象物質も限られたもののみであった。また、認証標準物質として登録する場合には、名称や用途のみならず試料の作製方法や認証値の決定方法等を設定する必要があり、特に認証値をどのように設定するかが問題となると考えられた。一方、技能試験では多種多様な食品基材を用いた試料が提供されていたが、特に微生物学試料では汚染品を用いていることもあり、自家作製では対応が難しいと考えられるものも存在した。

これと同時に、寒天を基材として用いた生菌数測定用内部精度管理試料を試作し、内部精度管理試料として必要とされる要件のひとつである長期安定性について確認したところ、少なくとも作製後 7 ヶ月までは安定した生菌数が確保されていることが明らかとなった。

A. 研究目的

食品汚染化学物質等の測定はこれら汚染化学物質等のヒト体内への摂取に伴う健康被害等を評価するうえで重要である。そのためにも日常実施される食品汚染化学物質等の検査技術の維持または分析結果の信頼性確保は検査機関にとって必須であり、日頃からの内部精度管理の実施や定期的な外部精度管理への参加によって担保されるも

のと考えられる。しかしながら、検査方法を確認するための比較対象になると考えられる認証標準物質は非常に高価であり、しかも鉄鋼関連や環境関連検査においては認証標準物質の供給が先行しているものの、食品検査に関わる標準物質としては十分に活用されているとは言いがたい。また、認証標準物質を含めた標準物質における認証方法等を調査することにより、今後作製し

うる試料についても評価がしやすくなるものと考えられる。そこで食品基材を採用した認証標準物質がどの程度整備されているのかについてインターネットを用いた調査を行うこととした。さらに認証標準物質とはならないが検査精度を確認するうえで活用される技能試験において採用されている基材等についても併せて調査を行った。これにより現状で必要とされている基材が把握できるものと考えた。

さらに標準物質として未だ確立されていない微生物学検査における生菌数測定に利用しうる基材を作製し、これが内部精度管理試料として活用できる可能性、あるいは標準物質として使用しうる可能性について検討することを目的とし、最も重要な要件のひとつである長期安定性について検討した。

B. 研究方法

1. 認証標準物質および技能試験において採用されている基材の検索

認証標準物質の検索および海外において実施されている技能試験での採用基材の検索はインターネットを用いて行った。なお、技能試験において採用されている基材は現在使用されているもののみならず、過去に採用されたものも調査対象とした。

2. 生菌数測定用試料の作製

生菌数測定用試料として寒天基材を採用し、添加菌は市販の *Bacillus subtilis* 芽胞液を使用した。すなわち、安定化剤を加えた 0.7%寒天溶液を作製し、これをガラス瓶に 100 mL ずつ分注した。121°C、30 分間の高圧蒸気滅菌処理を行った後、室温にて放置することにより約 50°C まで基材の温

度を下げた。これに最終濃度が約 1×10^4 colony forming units (cfu)/g となるように調整した *B. subtilis* 芽胞液を 1 mL 加え、完全に固化するまで室温にて放置したものを生菌数測定用試料とした。なお、寒天基材のみを高圧蒸気滅菌処理した後に生菌が確認されないことを、寒天平板混釈法により確認した。

3. 物理化学的性状の確認

作製した生菌数測定用試料を冷蔵保存（約 4°C）し、定期的な目視による基材の変質の確認および輸送による変質を考慮し振とう器を用いた基材の崩壊の有無について確認した。すなわち、振とう器に試料瓶を立てて設置し、200 rpm にて 2 時間の往復振とうを行い、基材の崩壊が認められなかった場合には、さらに試料瓶を横にして同条件で往復振とうを行い、基材の崩壊の有無について確認した。

4. 生菌数測定

試料瓶より試作試料 10 g をストマッカー袋に秤量し、これに滅菌リン酸緩衝液を加え 1 分間のストマッカー処理を行い、測定原液を作製した。この原液 1 mL を滅菌リン酸緩衝液 9 mL に加えて十分攪拌した。測定原液およびその 10 倍段階希釈液について、それぞれ 1 mL ずつを滅菌シャーレに分注し、これに滅菌後あらかじめ約 45°C に保温した標準寒天培地を 15~20 mL 加えて混釈平板とし、寒天が固化した後、 $35 \pm 1^\circ\text{C}$ で 48 ± 3 時間培養した。培養後に得られた集落数を計測し、生菌数を算出した。

C.,D. 研究結果および考察

1. 認証標準物質および技能試験において

採用されている基材の検索

はじめにインターネットを用いて食品検査において使用しうる認証標準物質について検索を行った。その結果、認証標準物質として登録されている物質の多くは鉄鋼関連検査に関わるものであり、分析化学領域では環境検査関連が多いものの、食品を対象とした認証標準物質は極めて少なかった。特に国内において供給されている認証標準物質は国立環境研究所から提供されているカドミウムを含む玄米粉末および有機スズを含む魚肉粉末に限られていた。一方、海外では the European Commission's Institute for Reference Material and Measurement (IRMM) / Community Bureau of Reference (BCR) および European Reference Material(ERM)において食品基材を利用した認証標準物質が提供されていた。しかしながら提供されている認証標準物質は理化学領域におけるものがほとんどであり、微生物学検査に使用しうる認証標準物質は IRMM/BCR にて提供されているゼラチンカプセルのみであった。これは細菌汚染したミルクパウダーを非汚染品で希釈することにより作製したものをゼラチンカプセル中に封入したものであり、105 週まで安定性が確認されていた。これらを含む検索結果は表 1 に示した。また認証標準物質として登録するためには、名称、用途、形状、包装単位、包装形態、認証のタイプ（認証値の保証方法）、認証機関、認証日、原料の入手場所、標準物質の調製方法、および測定機関を記載する必要がある。ここで最も重要な事項は認証値の保証方法であるが、これは室間試験を実施することにより対応することが一般的であると考え

られる。しかし参照機関をどのように設定するのかについては検討の必要があると考えられる。

これに対して海外で実施されている技能試験では AOAC や FAPAS といった機関で大規模に実施されているが、実施内容と基材の両者をインターネット上で把握できる機関についてはこれら以外にはごく限られたものであった。理化学検査では重金属、食品添加物、農薬、動物用医薬品および栄養成分と多岐に亘る項目について実施されており、基材も蜂蜜、ヘーゼルナッツ、野菜ペースト、ヨーグルトと認証標準物質において採用されている基材よりも多くの種類に対応していた。一方、微生物学検査では生菌数測定以外にも衛生指標菌や病原性細菌検査にも対応した基材が用意されており、その種類も一般的に採用されているマッシュポテトのみならず、肉、チーズ、ヨーグルト、チョコレートといった実食材を用いたものも多かった。しかしながら、作製方法が掲載されている一部の技能試験実施機関での情報では微生物に汚染していることが判明しているいわゆる違反品を用いていることもあった。さらに凍結乾燥品として提供している機関もあった。

以上のことから、食品検査における標準物質として市販されているものは限られており、特に微生物学検査用試料としての認証標準物質は作製が困難であることが示唆された。しかしながら、精度管理試料としては実食材を利用したもので対応は可能であることを考慮すると、いかに指示値を担保するかが問題になると考えられた。

2. 内部精度管理試料の作製と基礎検討

上記認証標準物質あるいは内部精度管理

試料としての食品基材を考慮した場合、前提として均一性と長期間の安定性が求められる。そこで少なくとも1年間の安定性が保証されている市販の *B. subtilis* 芽胞液を添加した寒天基材を自家調製し、この基材中での冷蔵保存時における接種菌数の安定性および輸送条件を考慮した基材としての強度変化について検討した。すなわち、試料作製後、冷蔵保存したものについて経時的に生菌数測定および振とうによる基材の崩壊性の有無について観察した。その結果、添加菌数に対する回収率は約60%と低いものの、作製直後から7ヵ月後まで安定して接種菌が回収されることが明らかとなった。また、試料作製から3ヵ月後までは振とう器を用いても基材崩壊も起こらず、極めて物性としても安定であった。しかしながら、試料作製5ヵ月後以降には冷蔵保存していたものを室温に放置することにより、寒天基材中に気泡が生じ、さらに表面に水分の流出も見られた。この現象はもともと寒天分子の網目構造内に封入された空気が室温放置することにより膨張したためと考えられた。ただしこの現象は菌液の基材への添加後、急速に冷蔵した場合には比較的初期の段階から観察される現象であることを考慮すると、試料の作製条件を検討する必要性のあることが示唆された。また冷蔵保存に伴うと考えられる寒天の収縮も認められ、結果として振とう器による基材崩壊の確認を行う際に瓶の接着面から寒天が剥がれ落ちた。

これらのことから作製した寒天基材は内部精度管理試料として採用しうる最低条件である添加菌の安定性は確保されるものの、一部の物性を保持するための対策を講じる

必要が示唆された。また、添加量に対する回収率が低いことを

E. 結論

食品検査を含めた検査業務を行う際に最終結果として得られた分析値の信頼性をどのように保証するのが大きな問題となる。すなわち、室間および室内検査精度の比較と真値からの解離の程度を比較することである。前者の場合には内部精度管理の実施および外部精度管理への参加が、後者の場合には認証標準物質を用いた分析が挙げられる。しかしながら、食品には多種多様なマトリックスが存在することを考慮すると、種々の形態での試料を確立する必要性は認めるものの、現実的には対応することが極めて難しいことも事実である。そこで、本研究では食品検査において使用しうる認証標準物質、および海外で実施されている技能試験における実施内容を検索することにより、どのような基材が採用されているのか、さらには認証標準物質として登録するための懸案事項を選出すること目的とした。その結果、食品を基材とした認証標準物質はごく限られたものに限定されていたが、一部ではブランク品としても提供されているものが存在した。さらに微生物学検査における認証標準物質に限れば、登録されているものはわずかにひとつのみであり、自家調製による標準物質の作製が極めて困難であることが示唆された。これに対して、技能試験において採用されている基材は認証標準物質よりも実食材に近いものであった。これらの多くは汚染品を用いて適当な基材で希釈することにより作製していたが、人為的に化学物質等を添加することで作製

したほうが濃度設定も可變的に実施できるため有用性が高まるものと考えられた。

そこでひとつのアプローチとして、寒天を基材として用いた生菌数測定用試料を試作し、内部精度管理試料として応用するうえで重要な要素のひとつである長期安定性について検討したところ、基材に一部変化が認められたものの作製後7ヶ月までは安定であることが確認された。そのため、基材そのものが有する物性をいかに長期間に亘って維持するかが今後の課題として示唆された。

F. 健康危機に関する情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表 1 販売されている食品検査関連の認証標準物質

供給元	基材	対象
国立環境研究所	玄米粉末	カドミウム
	魚肉粉末	有機スズ
IRMM/BCR	小麦粉	デオキシニバレノールのブランク
	ピーナッツバター	アフラトキシンのブランク
	小麦	オクラトキシシン A のブランクと中濃度
	ミックスベジタブル	ビタミン
	ミルクパウダー	オクラトキシシン
	豚脂肪	PCB のブランクと低濃度
	トウモロコシ粉	ビタミン
	マーガリン	ビタミン
	脱脂ピーナッツ粉	アフラトキシシン B ₁ のブランクと高濃度
	ミルクパウダー	アフラトキシシン M ₁ の低濃度
	ライ麦粉	主要栄養成分
	小麦粉	主要栄養成分
	豚肉	主要栄養成分
		ゼラチンカプセル
ERM	ミルクパウダー	アフラトキシシン M ₁ の低濃度と高濃度
	にんじん	食物繊維
	りんご	食物繊維
	シリアル	食物繊維
	マグロ	水銀

IRMM: the European Commission's Institute for Reference Material and Measurement

BCR: Community Bureau of Reference

ERM: European Reference Material

表2 海外で実施される技能試験での実施内容と採用基材

理化学

実施機関	項目	基材
AOAC	栄養成分、残留農薬	肉、チーズ、野菜
FAPAS	重金属、食品添加物、農薬、栄養成分、マイコトキシン	肉缶詰、卵、蜂蜜、ヘーゼルナッツ、チリ、ピスタチオ、ミルクパウダー、アーモンド、小麦粉、野菜ペースト、シリアル、ワイン、ヨーグルト、バター、チョコレートパウダー
AIHA	栄養成分、農薬、金属	シリアル、肉、果物、野菜
Quality Management	栄養成分、動物用医薬品	牛乳、スキムミルク、バター、チーズ、肉

微生物学

実施機関	項目	基材
AOAC	大腸菌、サルモネラ、真菌数、大腸菌群、リステリア、黄色ブドウ球菌、菌数測定	マッシュポテト、肉
FEPAS	腸内細菌、腸球菌、リステリア、乳酸菌、カンピロバクター、緑膿菌、サルモネラ、黄色ブドウ球菌、真菌数、ビブリオ、大腸菌群、菌数測定	乳肉、鶏肉、チーズ、ミルクパウダー、ココアパウダー、こしょう、米、小麦粉、魚
Quality Management	大腸菌、リステリア、ビブリオ、菌数測定	オートミール、スキムミルク
PHLS	大腸菌、黄色ブドウ球菌、サルモネラ、カンピロバクター、ビブリオ、腸内細菌、真菌数、菌数測定、大腸菌群、乳酸菌	チーズ、ヨーグルト、バター、アイスクリーム、牛乳
Standard Council of Canada	大腸菌、大腸菌群、黄色ブドウ球菌、サルモネラ、リステリア、菌数測定	ミルクパウダー、バター、チーズ、肉、コンデンスミルク
IFM Quality Service	大腸菌、大腸菌群、リステリア、サルモネラ、黄色ブドウ球菌、真菌数、菌数測定	チョコレート、離乳食、チーズ、ピザソース

現在および過去に実施されたものを含む

平成 17 年度 厚生労働省科学研究費補助金
(食品の安心・安全確保研究事業)

食品安全施策等に関する国際協調のあり方に関する研究

分担研究報告書 (平成 17 年度)

「国際規格における分析サンプリング法の制定に関する研究」
ー食品衛生法に基づく登録検査機関のコーデックスへの対応ー

主任研究者	玉木 武	(社) 日本食品衛生協会理事	食品衛生研究所長
分担研究者	松木 容彦	(社) 日本食品衛生協会食品衛生研究所	試験検査センター長
研究協力者	森田 邦雄	(財) 日本冷凍食品協会	常務理事
	阿部 幸秀	(社) 日本食品衛生協会食品衛生研究所	課長
	辰濃 隆	食品衛生登録検査機関協会	専務理事
		食品衛生登録検査機関協会	輸入食品検査部会

サンプリングに関する一般ガイドライン
及び

測定の不確かさに関するガイドライン

CAC/GL 54-2004

CODEX

食品衛生登録検査機関協会

輸入食品部会