

判定に誤りがあった：評価点数 0 点

3. 「画線分離技能」に関する技能評価試験

1) 混合菌液（2 菌種）を用いた技能評価

① *Escherichia coli*

② *Salmonella typhimurium*

大腸菌[菌株(1)]の菌液 $1\sim 3\times 10^7$ cfu/mL、また、サルモネラ[菌株(2)]の菌液 $1\sim 3\times 10^6$ cfu/mL（大腸菌の菌数の約 1/10）になるように調整後、各菌液を当量ずつ混合して試験菌液とした。試験菌液の 1 白金耳を DHL 寒天平板培地 3 枚に画線分離し培養後、出現集落を観察し、サルモネラの独立集落が分離・形成されているかを判定する。

また、サルモネラ[菌株(2)]の菌液を $1\sim 3\times 10^5$ cfu/mL（大腸菌の菌数の約 1/100）となるように調製して同様に試験した。

画線分離操作は、検査員の技能に強く依存するとともに、試験結果に大きく影響を及ぼす可能性がある。目的とする微生物が試料中に存在するにも係わらず、正しく画線分離が実施されない場合、当該微生物が検出されないことになる。

③ 画線分離技能結果（記載例）

混合菌液 (菌数比)	分離 平板	平板上に形成された菌種集落数	
		検査員 A	検査員 B
E. coli (10) S. typhimurium (1)	1	2 菌種	1 菌種
	2	2 菌種	2 菌種
	3	2 菌種	2 菌種
E. coli (100) S. typhimurium (1)	1	2 菌種	2 菌種
	2	2 菌種	2 菌種
	3	2 菌種	2 菌種
評 価		A (6/6)	B (5/6)

注) 1 平板に 2 菌種が検出された： 評価点数 2 点

1 平板に 1 菌種が検出された： 評価点数 1 点

1 平板に何も検出されなかった：評価点数 0 点

4. 技能評価方法

1) 総合評価（記載例）

試験項目		検査員 A	検査員 B
生菌数測定技能	回収率	2	1
	Z スコア	2	0
	標準偏差		
同定鑑別技能	形態観察	2	2
	生化学性状試験	2	0
	血清学的試験	2	2
画線分離技能	画線分離技能	2	0
合計（12点）		12	5
達成率（%）		100	42
技能ランク		優	可

2) 評価方法（例）

評価方法		
達成率（%）	技能ランク	評価内容
90%～	優	優
80%～	良	努力すること
80%未満	可	一層の努力を要する

なお、各登録検査機関におかれましては、実施している検査内容に応じ日常実施する内部精度管理及び検査員の技能評価の参考になれば幸いです。なお、今後、登録検査機関協会微生物作業部会での検討もお願いいたします。

参考文献

- 1) 丹野憲二：平成14年～16年にわたり厚生労働省科学研究補助金「食品の安全性高度化推進研究事業・微生物検査の精度管理方法論について」
- 2) 厚生省生活衛生局食品保健課長：食品衛生検査施設における検査等の業務管理の実施について。（衛食第117号 平成9年4月）

平成 19 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 19 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 食品衛生研究所副所長
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

前年度に引き続き、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実試料の二重分析(短い時間間隔の中で試料を 2 回分析すること)による管理手法を取り上げて、2 つの測定値の差を管理指標とする内部精度管理の実用性のある適用を検討した。

食品や飼料中に含まれる添加物他の定量試験数種類について、試験的に二重分析データを収集して統計的に解析し、併行標準偏差と試料中の分析種濃度との関連性について考察した。また、複数の食品衛生登録検査機関の協力により、いくつかの食品中の添加物の定量試験について二重分析を反復して実施してデータを収集し、得られたデータを同様に解析・考察した。

なお、二重分析データの管理指標となる 2 つの測定値の併行許容差は、併行標準偏差との関係式から計算される。

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、昨年度は実試料測定値のばらつき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、精度管理手法としての有効性を確認した。しかし、食品分析現場での実用的な運用には更なる情報の収集が必要と判断されたため、追加のデータ収集を実施することにした。

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, AOACI 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) 分析種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) 分析種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) 分析種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
- iv) 分析種も試料種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、

試料を分析する際に、合わせて管理試料(分析種含量が既知の試料：Control Material)を分析する。

実試料の一部(無作為抽出)について2回の繰返し分析を行う。

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繰返し分析する実試料の個数の設定等が異なる。

上記の iv)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分析種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、実試料全てについて2回繰返し分析することやブランク試験を実施することとしている。

B.2 二重分析による内部精度管理

前年度の研究では、食品の理化学分析を行う試験所におけるモデルケースとして前述の内部精度管理手法の中から、実試料の二重分析(短い時間間隔の中で試料を2回

繰返し分析すること)による内部精度管理を取り上げて、そのデータの評価方法について検討した。二重分析を用いた内部精度管理は各試料の測定値が妥当なばらつきの範囲内に存在していることを確認する手段と位置づけられる。同一試料に対する2つの測定値の差の絶対値 $|d|$ の95%信頼限界は、併行許容差 r として、

$$|d| \leq r = 2\sigma_d = 2\sqrt{2}\sigma_0 \cdots (1)$$

で表される。

ここで、 σ_d は2つの測定値の差 d の母集標準偏差を、 σ_0 は測定値の母標準偏差を表す。すなわち、分析したい試料の σ_d 又は σ_0 が既知であれば、併行許容差 r を求めることができる。しかしながら、試験所において各実試料の分析は通常1~3回程度しか行われぬのが実態と考えられるため、個々の分析試料に対して適切な σ_d や σ_0 を推定することは決して現実的ではない。

前年度は、粉末青汁試料1点について高速液体クロマトグラフ法による硝酸根(硝酸イオン)の二重分析データを収集し、得られたデータから2つの測定値の差を求め、併行標準偏差を母標準偏差の推定値として前出の(1)式に当てはめ、併行許容差を計算した。これを別の粉末青汁試料6点について行った二重分析の測定値の差と比較した結果、いずれも併行許容差の範囲内であったことから、特定試料の分析データから算出した併行許容差を管理限界値として他の実試料に適用できることを確認した。

本研究では、二重分析データをさらに収集し、試料中の分析種濃度と測定値の併行標準偏差の関係を一般式化して実試料の二重分析測定値のばらつきの管理基準として

利用できないかを検討した。

データ収集に際しては、試料種や分析種が異なっても σ_d 及び σ_0 の推定値はほぼ同等であると仮定した。数種の定量試験について、特定の試料を複数回二重分析してデータを収集し、試料中の分析種濃度と併行標準偏差との関係を調べた。これには、前年度収集した硝酸根の二重分析データも利用した。

また、同様の二重分析データ収集を食品衛生登録検査機関6試験所の協力により実施(二重分析の共同実験)し、併行標準偏差と分析種濃度の関係を調べた。合わせて試験所が異なる場合にそれがどの程度変動するののかも調査した。

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、細胞などを試行例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 二重分析データの収集

食品又は飼料中の添加物等の定量試験7種(実験1~7とする)について、二重分析を7回以上日替わりで実施してデータを収集した。なお、それらの一部は過去に分析法バリデーション等の目的で収集されたデータ及び前年度の本研究で収集したデータである。Table 1に二重分析データ収集に使用した試料、分析種、分析方法及びデータの組数を示した。また、得られた二重分析データをTable 2に示した。なお、数値の大きさを分かり易くするために、測定値の単位表記を“g/kg”に統一した。

C.2 二重分析データの解析

(1)式より、2つの測定値の併行許容差 r と測定値の母標準偏差 σ_0 は比例関係にある。すなわち、測定値の母標準偏差 σ_0 の挙動を推定すれば、2つの測定値の差 d の挙動も推定できることになる。

前出の内部精度管理の共通化ガイドラインによれば、 n 組の2つの測定値の差 d_i の情報から、次式により併行標準偏差 s_r を計算することができる。

$$s_r = \sqrt{(\sum d_i^2 / 2n)} \quad \dots (2)$$

そこで、(2)式で求めた s_r を(1)式の σ_0 の推定値と見なして、その挙動を調べた。

収集した二重分析データを統計処理して求めた併行標準偏差を Table 3 に示した。

C.3 二重分析の共同実験

市販食品3品を分析試料として、各試料に使用されている食品添加物1成分の定量試験(共同実験Ⅰ～Ⅲとする)を6箇所の試験所(試験所①～⑥とする)で実施した。共同実験に参加した機関を以下に示した。

<共同実験参加機関>

- ・ 社団法人 日本食品衛生協会 食品衛生研究所
- ・ 社団法人 東京都食品衛生協会 東京食品技術研究所
- ・ 財団法人 日本冷凍食品検査協会
- ・ 財団法人 食品環境検査協会
- ・ 財団法人 東京顕微鏡院
- ・ 財団法人 日本食品分析センター

(順不同)

データ収集に使用した試料、分析種及び分析方法^{3)~5)}を Table 4 にまとめた。

Table 4 に示した3種の定量試験について、各試験所において二重分析を7日間繰り返して実施した(実施期間は試験所により異なる)。

なお、試験所によっては分析方法を一部変更して実施したため、全試験所の分析方法は全く同一というわけではない。また、各試験所に配付した試料は同一の製品ではあるが、商品形態で配付したため、分析種含量に多少の個体差があると考えられた。また、日を変えて繰り返し分析するため、分析種濃度が経時変化する可能性も少なからず考えられた。そのため、本研究ではあらかじめ、個々の測定値はその後の解析対象とはせず、各二重分析により得られた2つの測定値の差のみを統計解析に供することを前提とした。ただし、測定値の標準偏差と分析種濃度との関係を考察する際に測定値の総平均を使用した。

得られた二重分析データを Table 5 に、各データ組の2つの測定値の差の絶対値 $|d_i|$ を Table 6 にそれぞれ示した。

C.4 二重分析データの解析(共同実験)

共同実験により収集したデータを統計処理して求めた併行標準偏差を Table 7 に示した。また、Table 7 の結果を棒グラフ化したものを Fig. 1~3 に示した。

C.5 2つの測定値の併行許容差の推定

前出の(1)式の σ_0 の推定値として(2)式により求めた s_r を代入すると、2つの測定値の併行許容差 r の推定値 ($|d_{\max}$ とする) は、

$$|d| \leq |d|_{\max} = 2\sqrt{2} \cdot s_r \quad \dots (3)$$

で算出することができる。ただし、本研究ではデータ組数 n が概して小さいため、 $|d|_{\max}$ の計算には正規分布の代わりに自由度 n の t 分布 (両側確率 $P=0.05$) を使用した。

$$|d| \leq |d|_{\max} = \sqrt{2} \cdot t_{(n, 0.05)} \cdot s_r \quad \dots (4)$$

C.2 及び C.4 で得られた s_r 値から (4) 式を用いて $|d|_{\max}$ を計算した結果を Table 8 及び 9 にまとめた。

D. 考察

D.1 併行標準偏差と分析種濃度の関係

実験 1~7 の二重分析データ情報を用いて、試料中の分析種濃度と測定値の併行標準偏差との間に一定の傾向が認められるかどうかを調べた。Table 2 の測定値の総平均 (X_{bar} とする) と Table 3 の併行標準偏差 s_r について回帰分析を行った結果、両対数値の間に相関係数 0.9948 の比較的高い直線関係

$$\log s_r = 0.8776 \cdot \log X_{\text{bar}} - 1.7801$$

が認められた。 X_{bar} を横軸に、 s_r を縦軸に取り、両対数目盛でプロットしたグラフを Fig. 4 に示した。

(4) の関係式から、2 つの測定値の併行許容差 $|d|_{\max}$ も試料の分析種濃度との間に高い相関関係があることがわかる。

D.2 Horwitz 式との比較

Horwitz が多数の分析法評価のための共同実験データから経験的に求めた、分析種濃度 C と室間再現標準偏差 s_R (いずれも質量分率) との関係式 (Horwitz 式) がある⁶⁾。

$$s_R = 0.02 \cdot C^{0.8495} \quad \dots (5)$$

極端な低濃度領域及び高濃度領域において修正を加えた Thompson 修正式⁷⁾ も使われるが、本研究で用いた分析データは両式に共通の濃度範囲に限定されていた。

前述のように、本研究で収集したデータの分析種濃度と測定値の併行標準偏差は、その対数値間に直線的な関係が認められた。一方、Horwitz 式もその両対数値は直線になる。そこで、本研究データにおける分析種濃度と併行標準偏差の関係図 (Fig. 4) に Horwitz 式を重ね書きして Fig. 5 に示した。なお、 X_{bar} 及び s_r は Horwitz 式に合わせて質量分率 (100% を 1 とする比率) C 及び S に変換した。

C : 濃度の質量分率

S : 標準偏差の質量分率

本研究データから得られた分析種濃度と併行標準偏差の関係を表す直線は、Horwitz 式とほぼ平行であった。これより、分析種濃度と併行標準偏差の関係は、Horwitz 式に定数 a を乗じた式に近似できるのではないかと考えられた。すなわち、

$$s_r = a \cdot s_R = 0.02 a \cdot C^{0.8495} \quad \dots (6)$$

と表される。

そこで、Fig. 5 に Horwitz 式に定数を乗じた式をいくつか重ね書きして Fig. 6 に示した。実験 1~7 のデータの基づく 7 点は、全て Horwitz 式の 1/8~1/2 の範囲に分布していた。

次に、共同実験 I~III のデータから算出した Table 5 の測定値の総平均 X_{bar} と Table 7 の併行標準偏差 s_r 及び s_r のメジアン (s_r の分布の正規性を一部確認できなかった

めメジアンを採用した) に対して Fig. 6 と同様の重ね書きグラフを作成して Fig. 7 に示した。二重分析の共同実験データに基づく計 18 点は、1 点を除き Horwitz 式の 1/2 以下の範囲に分布しており、実験 1~7 の場合と同様の傾向を示した。ただし、Horwitz 式の 1/8 以下のデータも 5 点認められた。また、 s_r のメジアン 3 点は、いずれも Horwitz 式の 1/8~1/2 の範囲内にあった。本研究で得られた知見からは、 s_r は s_R の 1/2 以下である ($a \leq 0.5$) ことが推定された。

本研究において、試料種、分析種及び分析方法の異なる複数の二重分析データ群を解析した結果、試料中の分析種濃度と測定値の併行標準偏差(又は 2 つの測定値の併行許容差)の間に相関関係があることが確認できた。しかし、その分布には 4 倍程度の幅が想定されることから、分析種及び分析方法を限定して本研究のような二重分析データ収集を実施し、分析種濃度と 2 つの測定値の併行許容差間の回帰直線(両対数値)を差の管理限界に設定すれば、二重分析による精度管理の実用的な運用方法にできると考えられた。なお、データ収集は、日常的分析業務で得られる実試料の測定値から、濃度水準が近接した類似試料の二重分析データを 7 組程度探して寄せ集めることでも代替可能であると考えられた。

D. 3 試験所間の比較

Table 7 及び Fig. 1~3 より、いずれの二重分析の共同実験においても併行標準偏差 s_R は最大の試験所と最小の試験所の間に 4 倍程度の開きが認められた。

また、二酸化イオウの分析データにおいて試験所③のみ s_r が大きい傾向が、アセス

ルファムカリウムの分析データにおいて試験所②のみ s_r が大きい傾向が認められた。このうち、二酸化イオウの分析データについては、各試験所に使用した分析法を確認したところ、試験所③のみが B 法(吸光光度法)を採用しており、他の 5 試験所は A 法(滴定法)を採用していたことから、併行標準偏差の程度には、採用した分析方法の違いが影響しているものと推定された。

D. 4 Horwitz 式による併行許容差の推定

(3)式と(6)式から、2 つの測定値の併行許容差は、

$$\begin{aligned} |d|_{\max} &= \sqrt{2} s_r \\ &= 2\sqrt{2} \times 0.02 a \cdot C^{0.8495} \\ &= 0.0566 a \cdot C^{0.8495} \quad \dots (7) \end{aligned}$$

と表すことができる。本研究の結果からも妥当な a の値は分析種やその濃度水準、分析方法等により異なるものと考えられた。なお、分析法バリデーションデータ等により HorRat(r) (併行相対標準偏差 RSD_r% と Horwitz 式から求めた室間再現相対標準偏差 PRSD_r% との比)が求められる場合には、 a の値として HorRat(r) 値を利用することができると考えられた。

(7)式の C に試料の測定値の総平均を質量分率(100%を 1 とする)に変換して代入し、 a に HorRat(r) 値を代入すれば、計算上で $|d|_{\max}$ を推算することができる。ここで、 $|d|_{\max}$ の計算値も質量分率で表わされるので、測定値の単位に変換する必要がある。

ただし、D. 2 及び D. 3 で考察したように、実際の各定量試験における試料中の分析種濃度と測定値の併行標準偏差の関係は、分析種の濃度水準、分析方法、試験所等の影

響により 4 倍程度の変動幅が見込まれることから、Horwitz 式のような一般式に近似することは必ずしも推奨できないと判断された。したがって、Horwitz 式を利用した併行許容差の推算値を管理基準として設定する二重分析による管理は、あくまでも簡易的な運用方法であることを認識し、暫定的利用に限定することが望ましい。

E. 結論

実試料の二重分析を利用した内部精度管理は、2 つの測定値の差が偶然誤差の範囲内であるか否かを判定指標として各試料の測定値が適切に実施された分析試験により得られた結果であることを確認する精度管理手法として有効である。

その運用に当っては、分析種及び分析方法を限定して濃度水準の異なる数点の試料を用いて二重分析を反復実施し、得られたデータ群から統計処理により求めた 2 つの測定値の併行許容差と試料の分析種濃度との関係(両対数値の一次回帰式)を拠り所として管理基準を設定するのが、実用的な運用方法であると考えられる。

また、試料中に含まれる分析種の濃度水準(質量分率 C)から Horwitz 式を利用した計算式

$$|d| \leq 0.0566 a \cdot C^{0.8495}$$

(係数 a には HorRat (r) を利用可)

により 2 つの測定値の併行許容差を推算し、これを差の管理基準に設定する簡易的な管理方法が、暫定的な運用に限って利用可能であると考えられる。

F. 健康危機に関する情報

なし

G. 研究発表

論文発表

なし

学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得

なし

実用新案登録

なし

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”, CAC/GL27 (1997).
- 2) “Harmonized Guidelines for Internal Quality Control in Analytical Chemistry Laboratories”, *Pure & Appl. Chem.*, **67**, 649-666 (1995).
- 3) 「食品衛生法施行規則及び食品、添加物等の規格基準の改正について」(平成 5 年 3 月 17 日 衛乳第 54 号)
- 4) 「第 2 版 食品中の食品添加物分析法 2000」, 社団法人日本食品衛生協会 (2000)
- 5) 「食品中のアセスルファミカリウム分析法について」(平成 13 年 12 月 18 日 食基発第 58 号)
- 6) W. Horwitz: *J. AOAC*, **63**, 1344-1354 (1980)
- 7) M. Thompson : *Analyst*, **125**, 385-386 (2000)

Table 1 二重分析データ収集試験の概要

実験	試料	分析種	分析方法	データ組数
1	粉末青汁	硝酸根	HPLC 法*2	20
2	混合飼料	ヒ素	AAS 法*3	19
3	きな粉	銅	AAS 法*3	21
4	唐辛子みそ	ソルビン酸	LC/MS 法*4	7
5	油脂	BHA*1	GC/MS 法*5	7
6	魚粉	ヒスタミン	HPLC 法*2	7
7	5%水溶化製剤	コエンザイム Q ₁₀	HPLC 法*2	7

*1 ブチルヒドロキシアニソール

*2 高速液体クロマトグラフ法

*3 原子吸光度法

*4 液体クロマトグラフ/質量分析法

*5 ガスクロマトグラフ/質量分析法

Table 2-1 二重分析データ(実験 1~3)

	硝酸根 (g/kg)		ヒ素 (g/kg)		銅 (g/kg)	
1 日目	6.62	6.67	0.0003117	0.0003130	0.001200	0.001264
2 日目	6.78	6.71	0.0002715	0.0002816	0.001215	0.001230
3 日目	6.62	6.69	0.0002969	0.0003200	0.001217	0.001199
4 日目	6.59	6.68	0.0002946	0.0002884	0.001219	0.001218
5 日目	6.66	6.80	0.0002996	0.0002765	0.001222	0.001238
6 日目	6.58	6.53	0.0003140	0.0002772	0.001260	0.001264
7 日目	6.72	6.67	0.0002784	0.0003088	0.001206	0.001200
8 日目	6.63	6.77	0.0003121	0.0003134	0.001202	0.001205
9 日目	6.63	6.71	0.0002898	0.0003102	0.001268	0.001235
10 日目	6.78	6.78	0.0003290	0.0002555	0.001251	0.001217
11 日目	6.88	6.61	0.0003191	0.0003259	0.001244	0.001243
12 日目	6.88	6.72	0.0002944	0.0003091	0.001229	0.001305
13 日目	6.64	6.65	0.0002801	0.0002975	0.001217	0.001247
14 日目	6.78	6.64	0.0003042	0.0002998	0.001189	0.001198
15 日目	6.91	6.82	0.0002100	0.0002662	0.001268	0.001235
16 日目	6.90	6.84	0.0002994	0.0003186	0.001267	0.001368
17 日目	6.66	6.75	0.0003028	0.0003112	0.001206	0.001249
18 日目	6.55	6.77	0.0002813	0.0002703	0.001265	0.001240
19 日目	6.78	6.79	0.0003207	0.0003185	0.001232	0.001250
20 日目	6.85	6.74	—	—	0.001103	0.001232
21 日目	—	—	—	—	0.001243	0.001253
総平均	6.720		0.0002966		0.001234	

Table 2-2 二重分析データ(実験4~7)

	ソルビン酸(g/kg)		BHA(g/kg)		ヒスタミン(g/kg)		コンザイム Q ₁₀ (g/kg)	
1日目	0.03710	0.04009	0.1292	0.1269	0.2959	0.2898	51.88	51.80
2日目	0.03429	0.03691	0.1286	0.1318	0.2930	0.3098	51.43	52.22
3日目	0.03998	0.03987	0.1286	0.1307	0.3004	0.2969	51.70	51.03
4日目	0.03632	0.03689	0.1303	0.1310	0.3196	0.3096	51.21	50.20
5日目	0.03807	0.03918	0.1277	0.1272	0.3179	0.2958	50.24	50.88
6日目	0.03548	0.03583	0.1265	0.1261	0.2970	0.3067	50.44	51.99
7日目	0.03641	0.03763	0.1292	0.1270	0.2976	0.2975	51.96	51.64
総平均	0.03743		0.1286		0.3020		51.33	

Table 3-1 二重分析データの統計処理結果(実験1~3)

	硝酸根(g/kg)		ヒ素(g/kg)		銅(g/kg)	
	$ d_i $	$ d_i ^2$	$ d_i $	$ d_i ^2$	$ d_i $	$ d_i ^2$
1日目	0.05	0.0025	0.0000013	0.00000000000169	0.000064	0.000000004096
2日目	0.07	0.0049	0.0000101	0.0000000010201	0.000015	0.00000000225
3日目	0.07	0.0049	0.0000231	0.0000000053361	0.000018	0.00000000324
4日目	0.09	0.0081	0.0000062	0.0000000003844	0.000001	0.00000000001
5日目	0.14	0.0196	0.0000231	0.0000000053361	0.000016	0.00000000256
6日目	0.05	0.0025	0.0000368	0.0000000135424	0.000004	0.00000000016
7日目	0.05	0.0025	0.0000304	0.0000000092416	0.000006	0.00000000036
8日目	0.14	0.0196	0.0000013	0.000000000169	0.000003	0.00000000009
9日目	0.08	0.0064	0.0000204	0.0000000041616	0.000033	0.00000001089
10日目	0.00	0.0000	0.0000735	0.0000000540225	0.000034	0.00000001156
11日目	0.27	0.0729	0.0000068	0.0000000004624	0.000001	0.00000000001
12日目	0.16	0.0256	0.0000147	0.0000000021609	0.000076	0.00000005776
13日目	0.01	0.0001	0.0000174	0.0000000030276	0.000030	0.00000000900
14日目	0.14	0.0196	0.0000044	0.0000000001936	0.000009	0.00000000081
15日目	0.09	0.0081	0.0000562	0.0000000315844	0.000033	0.00000001089
16日目	0.06	0.0036	0.0000192	0.0000000036864	0.000101	0.00000010201
17日目	0.09	0.0081	0.0000084	0.0000000007056	0.000043	0.00000001849
18日目	0.22	0.0484	0.0000110	0.0000000012100	0.000025	0.00000000625
19日目	0.01	0.0001	0.0000022	0.0000000000484	0.000018	0.00000000324
20日目	0.11	0.0121	—	—	0.000129	0.00000016641
21日目	—	—	—	—	0.000010	0.00000000100
Σd_i^2	0.2696		0.0000001361579		0.00000044795	
n	20		19		21	
s_r	0.082		0.0000189		0.000033	

Table 3-2 二重分析データの統計処理結果(実験 4~7)

	ソルビン酸(g/kg)		BHA(g/kg)		ヒスタミン(g/kg)		CoQ ₁₀ * ¹ (g/kg)	
	$ d_i $	$ d_i ^2$	$ d_i $	$ d_i ^2$	$ d_i $	$ d_i ^2$	$ d_i $	$ d_i ^2$
1日目	0.00299	0.0000089401	0.0023	0.00000529	0.0061	0.00003721	0.08	0.0064
2日目	0.00262	0.0000068644	0.0032	0.00001024	0.0168	0.00028224	0.79	0.6241
3日目	0.00011	0.0000000121	0.0021	0.00000441	0.0035	0.00001225	0.67	0.4489
4日目	0.00057	0.0000003249	0.0007	0.00000049	0.0100	0.00010000	1.01	1.0201
5日目	0.00111	0.0000012321	0.0005	0.00000025	0.0221	0.00048841	0.64	0.4096
6日目	0.00035	0.0000001225	0.0004	0.00000016	0.0097	0.00009409	1.55	2.4025
7日目	0.00122	0.0000014884	0.0022	0.00000484	0.0001	0.00000001	0.32	0.1024
Σd_i^2	0.0000189845		0.00002568		0.00101421		5.0140	
n	7		7		7		7	
s_r	0.00116		0.0014		0.0085		0.60	

*1 コエンザイム Q₁₀

Table 4 共同実験に使用した試料, 分析種及び分析方法

実験	試料	分析種	分析方法
I	魚肉ソーセージ	亜硝酸根	「食品衛生法施行規則及び食品, 添加物等の規格基準の改正について」(平成 5 年衛乳第 54 号)の別紙 1「食肉製品, 鯨肉製品及び魚肉ねり製品の試験法」 ³⁾
II	ワイン	二酸化イオウ	「第 2 版 食品中の食品添加物分析法 2000」 ⁴⁾
III	清涼菓子	アセスルファム K	「食品中のアセスルファムカリウム分析法について」(平成 13 年食基発第 58 号)の別紙 ⁵⁾ 。ただし, 試料採取量を 2g とした。

Table 5-1 二重分析の結果(共同実験Ⅰ)

日目	亜硝酸根 (g/kg)											
	試験所①		試験所②		試験所③		試験所④*1		試験所⑤		試験所⑥	
1	0.02926	0.02936	0.03248	0.03212	0.03454	0.03424	0.02537	0.02652	0.03285	0.03243	0.03385	0.03191
2	0.02792	0.02821	0.03173	0.03134	0.03290	0.03274	0.02897	0.02674	0.03247	0.03131	0.03178	0.03216
3	0.03015	0.03042	0.03268	0.03200	0.03264	0.03239	0.02535	0.02595	0.02884	0.02855	0.03354	0.03354
4	0.02971	0.03093	0.03146	0.03128	0.03163	0.03138	0.02549	0.02500	0.02993	0.02932	0.03168	0.03339
5	0.03193	0.03180	0.03232	0.03233	0.03191	0.03228	0.02584	0.02505	0.02846	0.02739	0.03202	0.03234
6	0.02602	0.02598	0.03224	0.03338	0.03125	0.03140	0.02512	0.02458	0.02746	0.02762	0.03113	0.03113
7	0.02582	0.02582	0.03133	0.03167	0.03027	0.03068	0.02471	0.02439	0.02692	0.02691	0.03074	0.03134
総平均	0.03002											

*1 「第2版 食品中の食品添加物分析法 2000」

Table 5-2 二重分析の結果(共同実験Ⅱ)

日目	二酸化イオウ (g/kg)											
	試験所①*1		試験所②*1		試験所③*2		試験所④*1		試験所⑤*1		試験所⑥*1	
1	0.1932	0.1987	0.1967	0.1971	0.2004	0.1991	0.1791	0.1773	0.1974	0.1978	0.1896	0.1918
2	0.1895	0.1905	0.1964	0.1954	0.1946	0.1989	0.1797	0.1797	0.1982	0.2005	0.1855	0.1904
3	0.1903	0.1864	0.1961	0.1952	0.1934	0.1914	0.1785	0.1779	0.1978	0.1982	0.1886	0.1932
4	0.1867	0.1861	0.1968	0.1942	0.1887	0.2037	0.1797	0.1779	0.1982	0.1978	0.1990	0.1956
5	0.1891	0.1908	0.1900	0.1909	0.1917	0.2011	0.1748	0.1718	0.1982	0.1982	0.1888	0.1918
6	0.1845	0.1828	0.1931	0.1981	0.1970	0.1943	0.1748	0.1748	0.1970	0.1978	0.1897	0.1913
7	0.1809	0.1830	0.1942	0.1932	0.1880	0.1951	0.1718	0.1748	0.1918	0.1950	0.1913	0.1922
総平均	0.1906											

*1 A法

*2 B法, 操作条件の一部(水酸化ナトリウム溶液量, 窒素ガス流量, 検量線の点数)を変更

Table 5-3 二重分析の結果(共同実験Ⅲ)

日目	アセスルファムカリウム (g/kg)											
	試験所①*1*2		試験所②*2		試験所③		試験所④*1		試験所⑤*1		試験所⑥	
1	1.554	1.560	1.531	1.511	1.488	1.468	1.594	1.510	1.495	1.480	1.521	1.483
2	1.569	1.537	1.658	1.513	1.431	1.426	1.564	1.583	1.340	1.373	1.442	1.486
3	1.596	1.611	1.541	1.363	1.484	1.457	1.598	1.603	1.166	1.126	1.378	1.346
4	1.602	1.547	1.446	1.384	1.465	1.370	1.574	1.544	1.246	1.256	1.404	1.476
5	1.579	1.610	1.404	1.382	1.367	1.315	1.584	1.628	1.310	1.330	1.441	1.492
6	1.606	1.615	1.476	1.507	1.465	1.436	1.579	1.561	1.360	1.454	1.493	1.473
7	1.572	1.590	1.455	1.295	1.484	1.456	1.549	1.460	1.360	1.380	1.435	1.426
総平均	1.472											

*1 強陰イオン交換カートリッジカラムによる精製操作を省略

*2 HPLC条件を一部変更

Table 6-1 2つの測定値の差 d (共同実験Ⅰ)

	亜硝酸根の $ d_i $ (g/kg)					
	試験所①	試験所②	試験所③	試験所④	試験所⑤	試験所⑥
1日目	0.00040	0.00036	0.00030	0.00115	0.00042	0.00194
2日目	0.00029	0.00039	0.00016	0.00223	0.00116	0.00038
3日目	0.00027	0.00068	0.00025	0.00060	0.00029	0.00000
4日目	0.00122	0.00018	0.00025	0.00049	0.00061	0.00171
5日目	0.00013	0.00001	0.00037	0.00079	0.00107	0.00032
6日目	0.00004	0.00114	0.00015	0.00054	0.00016	0.00000
7日目	0.00000	0.00034	0.00041	0.00032	0.00001	0.00060

Table 6-2 2つの測定値の差 d (共同実験Ⅱ)

	二酸化イオウの $ d_i $ (g/kg)					
	試験所①	試験所②	試験所③	試験所④	試験所⑤	試験所⑥
1日目	0.0055	0.0004	0.0013	0.0018	0.0004	0.0022
2日目	0.0010	0.0010	0.0043	0.0000	0.0023	0.0049
3日目	0.0039	0.0009	0.0020	0.0006	0.0004	0.0046
4日目	0.0006	0.0026	0.0150	0.0018	0.0004	0.0034
5日目	0.0017	0.0009	0.0094	0.0030	0.0000	0.0030
6日目	0.0017	0.0050	0.0027	0.0000	0.0008	0.0016
7日目	0.0021	0.0010	0.0071	0.0030	0.0032	0.0009

Table 6-3 2つの測定値の差 d (共同実験Ⅲ)

	アセスルファムカリウムの $ d_i $ (g/kg)					
	試験所①	試験所②	試験所③	試験所④	試験所⑤	試験所⑥
1日目	0.006	0.020	0.020	0.084	0.015	0.038
2日目	0.032	0.145	0.005	0.019	0.033	0.044
3日目	0.015	0.178	0.027	0.005	0.040	0.032
4日目	0.055	0.062	0.095	0.030	0.010	0.072
5日目	0.031	0.022	0.052	0.044	0.020	0.051
6日目	0.009	0.031	0.029	0.018	0.094	0.020
7日目	0.018	0.160	0.028	0.089	0.020	0.009

Table 7-1 二重分析データの統計処理結果 (共同実験 I)

	亜硝酸根の $ d_i ^2$					
	試験所①	試験所②	試験所③	試験所④	試験所⑤	試験所⑥
1 日目	0.0000000100	0.0000001296	0.0000000900	0.0000013225	0.0000001764	0.0000037636
2 日目	0.0000000841	0.0000001521	0.0000000256	0.0000049729	0.0000013456	0.0000001444
3 日目	0.0000000729	0.0000004624	0.0000000625	0.0000003600	0.0000000841	0.0000000000
4 日目	0.0000014884	0.0000000324	0.0000000625	0.0000002401	0.0000003721	0.0000029241
5 日目	0.0000000169	0.0000000001	0.0000001369	0.0000006241	0.0000011449	0.0000001024
6 日目	0.0000000016	0.0000012996	0.0000000225	0.0000002916	0.0000000256	0.0000000000
7 日目	0.0000000000	0.0000001156	0.0000001681	0.0000001024	0.0000000001	0.0000003600
Σd_i^2	0.0000016739	0.0000021918	0.0000005681	0.0000079136	0.0000031488	0.0000072945
s_r	0.00035	0.00040	0.00020	0.00075	0.00047	0.00072

Table 7-2 二重分析データの統計処理結果 (共同実験 II)

	二酸化イオウの $ d_i ^2$					
	試験所①	試験所②	試験所③	試験所④	試験所⑤	試験所⑥
1 日目	0.00003025	0.00000016	0.00000169	0.00000324	0.00000016	0.00000484
2 日目	0.00000100	0.00000100	0.00001849	0.00000000	0.00000529	0.00002401
3 日目	0.00001521	0.00000081	0.00000400	0.00000036	0.00000016	0.00002116
4 日目	0.00000036	0.00000676	0.00022500	0.00000324	0.00000016	0.00001156
5 日目	0.00000289	0.00000081	0.00008836	0.00000900	0.00000000	0.00000900
6 日目	0.00000289	0.00002500	0.00000729	0.00000000	0.00000064	0.00000256
7 日目	0.00000441	0.00000100	0.00005041	0.00000900	0.00001024	0.00000081
Σd_i^2	0.00005701	0.00003554	0.00039524	0.00002484	0.00001665	0.00007394
s_r	0.0020	0.0016	0.0053	0.0013	0.0011	0.0023

Table 7-3 二重分析データの統計処理結果 (共同実験 III)

	アセスルファミウムカリウムの $ d_i ^2$					
	試験所①	試験所②	試験所③	試験所④	試験所⑤	試験所⑥
1 日目	0.000036	0.000400	0.000400	0.007056	0.000225	0.001444
2 日目	0.001024	0.021025	0.000025	0.000361	0.001089	0.001936
3 日目	0.000225	0.031684	0.000729	0.000025	0.001600	0.001024
4 日目	0.003025	0.003844	0.009025	0.000900	0.000100	0.005184
5 日目	0.000961	0.000484	0.002704	0.001936	0.000400	0.002601
6 日目	0.000081	0.000961	0.000841	0.000324	0.008836	0.000400
7 日目	0.000324	0.025600	0.000784	0.007921	0.000400	0.000081
Σd_i^2	0.005676	0.083998	0.014508	0.018523	0.012650	0.012670
s_r	0.020	0.077	0.032	0.036	0.030	0.030

Table 8 2つの測定値の併行許容差 $|d|_{\max}$ (実験1~7)

	硝酸根	ヒ素	銅	ソルビン酸	BHA	ヒスタミン	CoQ ₁₀
n	20	19	21	7	7	7	7
X_{bar} (g/kg)	6.720	0.0002966	0.001234	0.03743	0.1286	0.3020	51.33
s_r (g/kg)	0.082	0.0000189	0.000033	0.00116	0.0014	0.0085	0.60
$t_{(n, 0.05)}$	2.09	2.09	2.08	2.36	2.36	2.36	2.36
$ d _{\max}$ (g/kg)	0.242	0.0000559	0.000097	0.00387	0.0047	0.0284	2.00

Table 9-1 2つの測定値の併行許容差 $|d|_{\max}$ (共同実験I：亜硝酸根)

	試験所①	試験所②	試験所③	試験所④	試験所⑤	試験所⑥
n	7					
X_{bar} (g/kg)	0.03002					
s_r (g/kg)	0.00035	0.00040	0.00020	0.00075	0.00047	0.00072
$t_{(n, 0.05)}$	2.36					
$ d _{\max}$ (g/kg)	0.00117	0.00134	0.00067	0.00250	0.00157	0.00240

Table 9-2 2つの測定値の併行許容差 $|d|_{\max}$ (共同実験II：二酸化イオウ)

	試験所①	試験所②	試験所③	試験所④	試験所⑤	試験所⑥
n	7					
X_{bar} (g/kg)	0.1906					
s_r (g/kg)	0.0020	0.0016	0.0053	0.0013	0.0011	0.0023
$t_{(n, 0.05)}$	2.36					
$ d _{\max}$ (g/kg)	0.0067	0.0053	0.0177	0.0043	0.0037	0.0077

Table 9-3 2つの測定値の併行許容差 $|d|_{\max}$ (共同実験III：アセスルファムカリウム)

	試験所①	試験所②	試験所③	試験所④	試験所⑤	試験所⑥
n	7					
X_{bar} (g/kg)	1.472					
s_r (g/kg)	0.020	0.077	0.032	0.036	0.030	0.030
$t_{(n, 0.05)}$	2.36					
$ d _{\max}$ (g/kg)	0.067	0.257	0.107	0.120	0.100	0.100

Fig. 1 各試験所の併行標準偏差 s_r

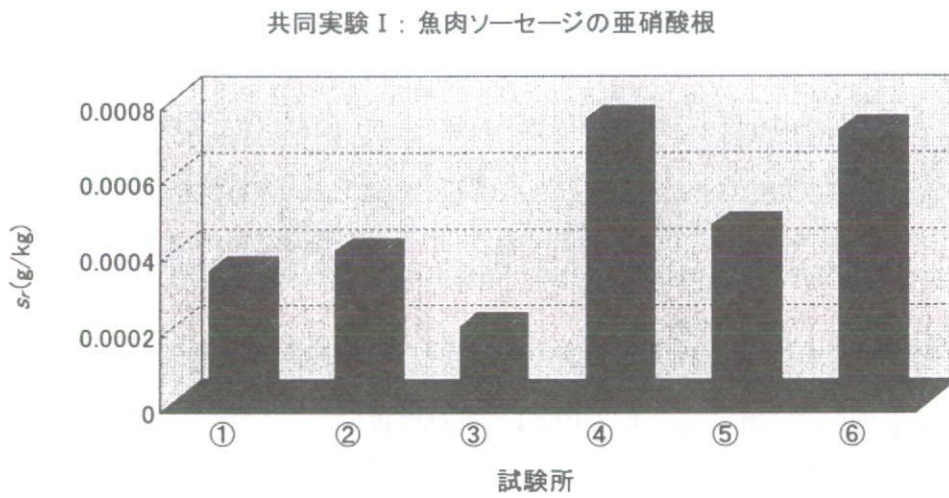


Fig. 2 各試験所の併行標準偏差 s_r

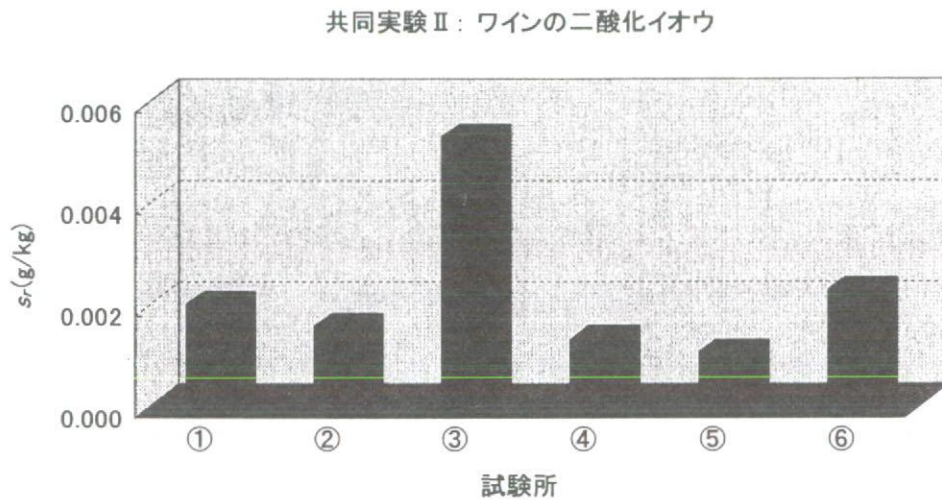


Fig. 3 各試験所の併行標準偏差 s_r

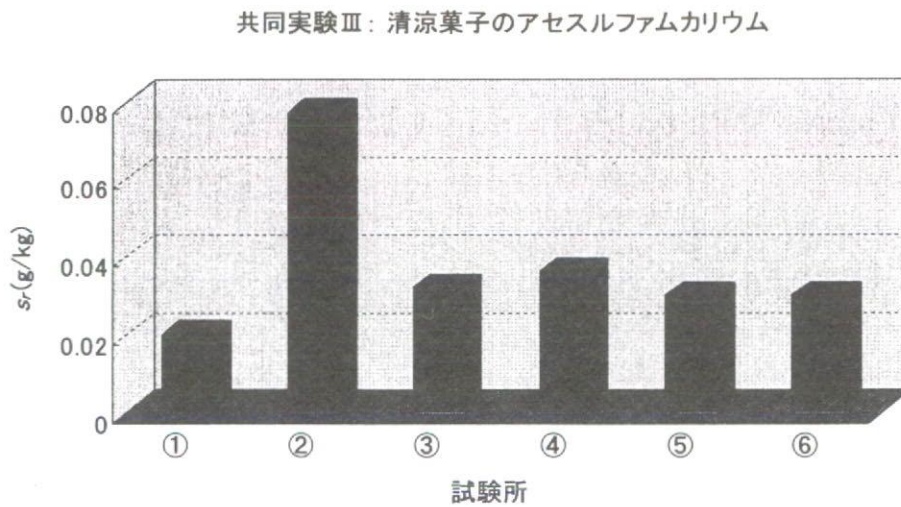


Fig. 4 測定値総平均 X_{bar} vs 併行標準偏差 s_r (実験 1~7)

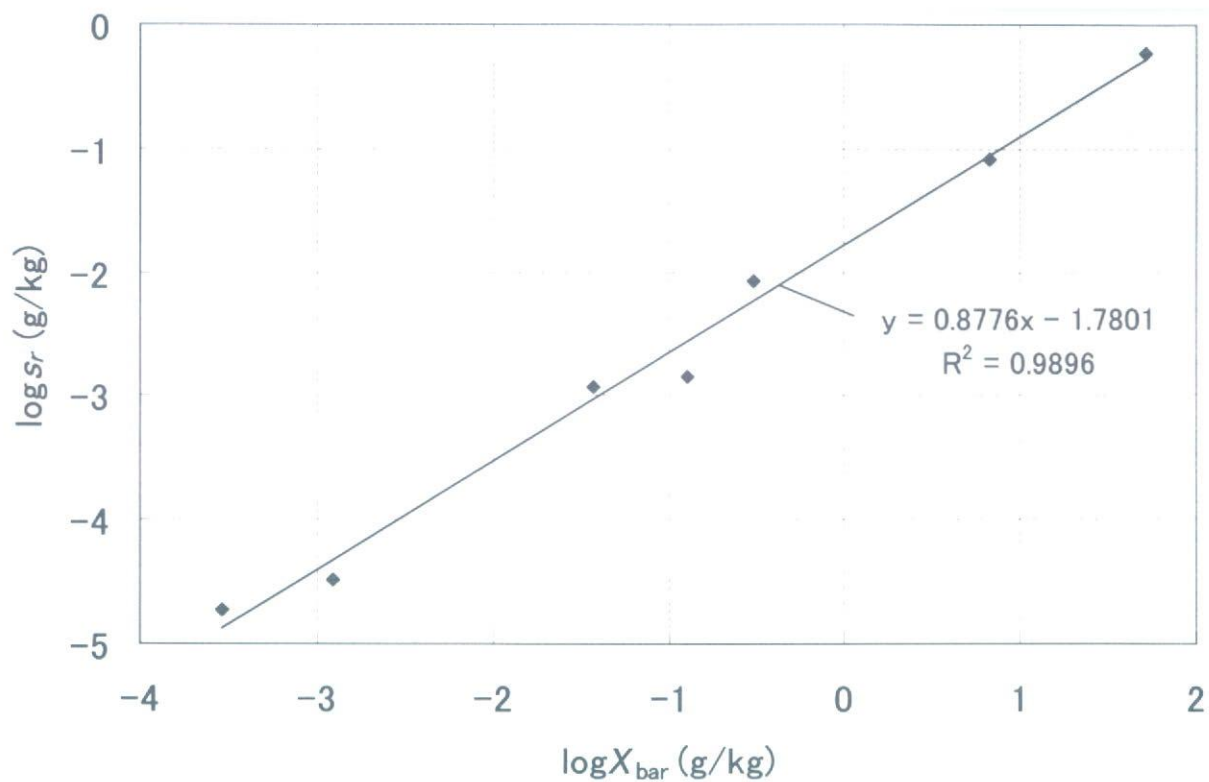


Fig. 5 濃度の質量分率 C vs 標準偏差の質量分率 S (実験 1~7, Horwitz 式との比較)

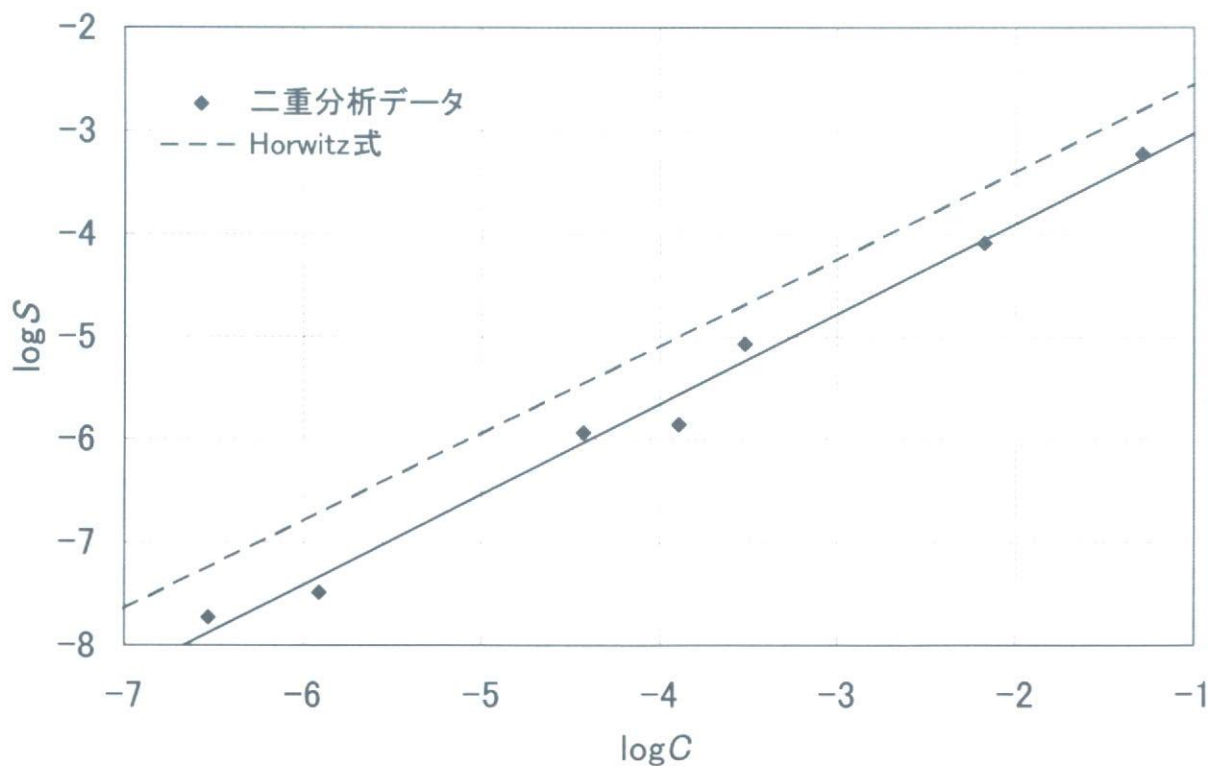


Fig. 6 濃度の質量分率 C vs 標準偏差の質量分率 S (実験 1~7, Horwitz 式との比較)

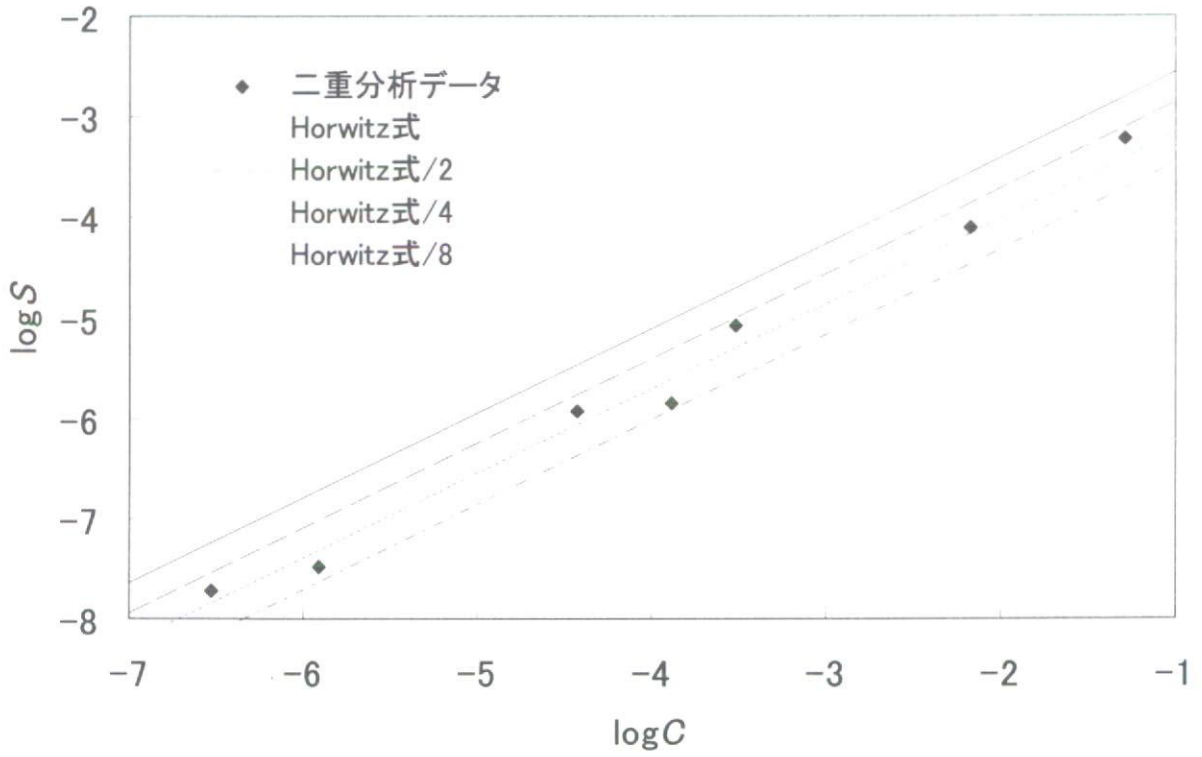
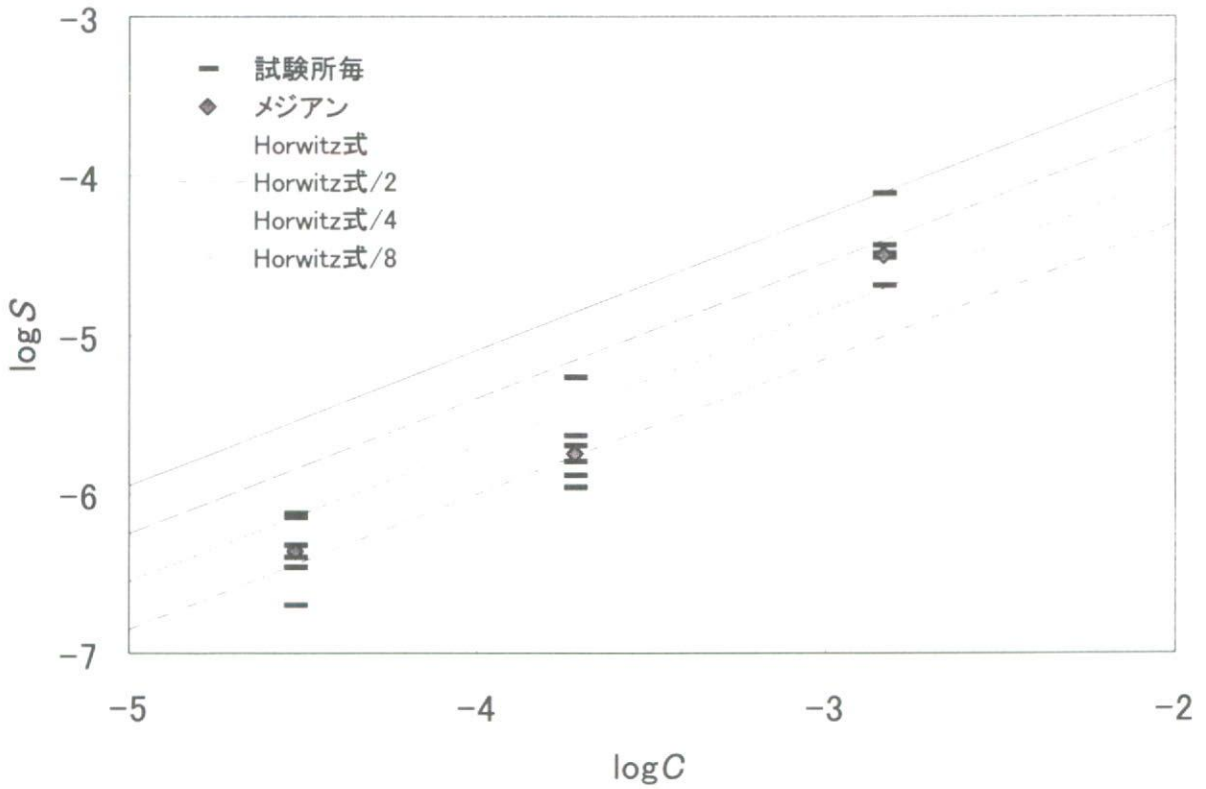


Fig. 7 濃度の質量分率 C vs 標準偏差の質量分率 S (共同実験 I~III, Horwitz 式との比較)



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

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	
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	
	鈴木 達也	(財) 食品薬品安全センター秦野研究所	

研究要旨

これまでに作製した組成での寒天を用いた生菌数測定用試料について、作製スケールを大きくしたときの容器ごとの生菌数の変動ならびに安定性について確認を行った。*B. subtilis* を添加した寒天基材を 4L 作製し、これを各容器に分注することにより調製した試料について均一性を確認したところ、個別作製の場合と同等の変動係数が得られる可能性が示唆された。一方、同試料について作製 5 ヶ月後まで冷蔵保存しこれについて生菌数測定を行ったところ、作製時と比較して大幅な生菌数の変動は認められなかったことから、試料の作製スケールを大きくすることによっても個別作製と同等の安定性があることが確認された。また、複数名による同一試料の生菌数測定を行ったところ、担当者ごとの大きな変動は認められず、全ての測定時において同様であったことから、本試料が内部精度管理用試料として十分に使用しうるものと考えられた。

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する。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。とりわけ微生物学検査における認証標準物質は数が少なく、実際の検査にすぐに応用しうるものではないと考えられる。そのためここでは内部精度管理用試料の作製を行うこととした。ま