

平成 28 年度 厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

検査機関の信頼性確保に関する研究

研究分担報告書

食品衛生外部精度管理調査における適正調査試料作製と
信頼性確保に関する研究（その 3）

食品中のアレルギー関連物質検査の外部精度管理に関する検討

研究代表者 渡辺 卓穂 （一財）食品薬品安全センター 秦野研究所 部長
研究協力者 鈴木 達也 （一財）食品薬品安全センター 秦野研究所 室長
佐藤 夏岐 （一財）食品薬品安全センター 秦野研究所 研究員
若栗 忍 （一財）食品薬品安全センター 秦野研究所 研究員
久保田 佳子（一財）食品薬品安全センター 秦野研究所 研究員

研究要旨

アレルギー物質を含む特定原材料（卵、乳、小麦、そば、落花生、えび、かに）については食品への表示が義務付けられており、検査法が消費者庁から通知されている。特定原材料検査の検査精度の適正化および向上のためには外部精度管理の実施が必要であり、その実施に向けて検討を行っている。特定原材料の中でも、特に卵タンパク質を測定対象とした外部精度管理調査については、平成 24 年度に 42 機関を対象に既に実施済みである。しかし、この調査は現在発出されている通知試験法とは異なる ELISA キットを用いて行われたため、これまで開発してきた卵タンパク添加試料が新規 ELISA キットに適用可能であるか不明であった。そこで、本年度は卵タンパク質添加試料について、通知法改正後の ELISA キットに適用可能かを評価した。さらに、平成 24 年度に行った外部精度管理調査に参加した地方衛生研究所を中心に 29 機関に参加を募り、参加を希望した 18 機関を対象に定量検査における外部精度管理調査を試験的に実施した。外部精度管理調査試料として 2 種類の基材（ベビーフードおよびかぼちゃペースト）に卵タンパク質を 10 $\mu\text{g/g}$ となるように添加した試料を調製し、それぞれの均質性を確認後、参加機関に配付した。なお、測定には消費者庁から提示されているキットから 2 種類を用いるよう依頼した。測定結果は試料ごと、測定キットごとにまとめ、ロバスト方式により統計値を算出した後、z-スコアを算出した。また、添加回収試験における回収率を指標とした管理図についてもあわせて解析を行った。その結果、いずれの調査試料においても z-スコアが 2 以上の検査機関が 1~2 機関認められたが、いずれも z-スコアの絶対値は 3 未満であった。しかし、これらの検査機関について添加回収率を指標とした評価を行ったところ、全ての検査機関において管理限界線の範囲内であった。一方 R 管理図では試料 1 および試料 2 において 1 機関で限界外となった。

A. 研究の目的

アレルギー体質を持つ人の健康危害の発生を防止するため平成13年4月にアレルギー物質を含む原材料24品目について、食品への表示が推奨された。そのうち卵、乳、小麦、そば、落花生、平成20年に追加されたえび、かにの7品目は特定原材料と指定され、食品への表示が義務付けられている。これら特定原材料はいずれも検査法が通知されているため、検査の精度の適正化および向上のため外部精度管理を実施することが望ましいと考えられる。

特定原材料の検査法は平成14年11月6日、厚生労働省医薬局食品保健部長より通知(食発第1106001号)が発出され、その後、食品衛生法に基づく表示の所管が消費者庁に移管された事に伴い、消費者庁次長通知「アレルギー物質を含む食品の検査方法について」(消食表第286号、平成22年9月10日)および消費者庁食品表示課事務連絡「アレルギー物質を含む食品の検査方法について(参考)」(平成22年9月10日)が発出された。さらに近年、通知法の一部が改正され、特定原材料の定量検査法であるELISA法に用いる抽出用緩衝液および標準品の組成が一部変更されたことに伴って〔毒物である2-メルカプトエタノール(2ME)が亜硫酸ナトリウムに変更された〕(消食表第36号、平成26年3月26日)現在「アレルギー物質を含む食品の検査方法の改良法の評価に関するガイドライン」における定量検査法の評価基準を満たしたキットが各社から販売されている。

我々は昨年度までに特定原材料7品目すべてについて外部精度管理調査試料の調製

を検討し、落花生を除く6品目についてELISA法による定量検査法に対応可能な試料の試作を完了している。このうち、卵、乳、甲殻類(えび、かに)については検査機関の協力のもと、実際にELISA法による測定を対象とした外部精度管理調査の模擬試験を小規模で実施し、外部精度管理調査試料の妥当性、報告値の妥当性、検査手法の問題点等について検討を加えてきた。さらに、卵については外部精度管理調査の事業化に向けて、より大規模での模擬試験を実施済みである(平成24年度報告書参照)。しかし、これらの試料は、通知法改正前のELISAキットを用いて検討、開発したものであるため、通知法改正後のELISAキットにおいても適用可能かどうかを確認する必要があった。

そこで、本年度は卵添加試料の定量検査における外部精度管理調査に向けて、通知法改正後のELISAキットを使用して測定したデータを通知法改正前の過去のデータと比較することで、その適用性を評価した。さらに、ラージスケールで試料作製を行い、卵タンパク質添加試料を用いた外部精度管理調査を計画、実施したので報告する。

B. 研究方法

1. 基材

かぼちゃペースト(市販品)および特定原材料を含まないとして市販されているベビーフードの2種類を卵タンパク質添加用基材として使用した。これらについては、ELISA法により、あらかじめ卵を含まないことを確認した。

2. 添加用卵タンパク質溶液の調製

全卵または鶏卵加工品として市販されている乾燥全卵粉末を注射用水（光製薬）で希釈し、添加用卵タンパク質溶液とした。基材への添加量は、2-D Quant Kit（GEヘルスケアバイオサイエンス）による卵タンパク質の測定値に基づいて決定した。

3. 外部精度管理調査試料の調製

1) 通知法改正前および通知法改正後のELISAキットにおける適用性確認用試料の調製

全卵添加試料および乾燥全卵添加試料の2種類を各基材について作製した。

各基材を50 mL遠沈管に1 gずつ秤量し、添加用卵タンパク質溶液をそれぞれ10 µg/gとなるように加えた。パラフィルムを巻いた後、使用するまで-20℃で凍結保存した。

2) 外部精度管理調査試料の調製

乾燥全卵添加試料を各基材について作製した。各基材に添加用卵タンパク質溶液をそれぞれ10 µg/gとなるように加え、ロボ・クープブリクサー5プラス（エフ・エム・アイ）で均質化して試料を作製した（2 kg）。それぞれの試料はいずれも遠沈管80本に約10 gずつ分注し、パラフィルムを巻いた後、-20℃で凍結保存した。ベビーフード試料を試料1、かぼちゃペースト試料を試料2とし、均質性および安定性はこれらの試料を用いて確認を行った。

4. 通知法改正前および通知法改正後ELISAキットにおける卵タンパク質添加試料の適用性評価

通知法改正前のELISAキットによる回収率のデータは平成24年度に行った外部精度管理調査における均質性の結果を示した。各測定データは以下のELISAキットを使用

して測定したものであり、通知法改正前と通知法改正後のELISAキットにおける各試料の回収率を比較し、両者にどの程度の乖離が見られるかを確認することで評価した。

通知法改正前ELISAキット

- ・モリナガ FASPEK エライザ卵（森永生化学研究所）
- ・FASTKIT エライザ Ver. II シリーズ卵（日本ハム）
- ・アレルゲンアイ ELISA シリーズ卵（プリマハム）

通知法改正後ELISAキット

- ・モリナガ FASPEK エライザ II 卵（森永生化学研究所）（以下、モリナガキット）
- ・FASTKIT エライザ Ver. III シリーズ卵（日本ハム）（以下、日本ハムキット）
- ・アレルゲンアイ ELISA II シリーズ卵（プリマハム）（以下、プリマハムキット）

5. 外部精度管理調査試料の均質性および安定性の検討

均質性の確認は、試料の作製直後と発送前の2時点について行った。調査試料のそれぞれについて10容器からn=1でサンプリングして、ELISA法による卵タンパク質濃度の測定を行い、平均値、標準偏差、変動係数を算出した後、濃度平均値から添加量に対する回収率を求め、2時点におけるこれらの値をそれぞれ比較することで均質かどうかを判断した。また、試料作製から調査期間終了までに定期的に試料を測定し（0日目、34日目、69日目、92日目、126日目および194日目、0日目および92日目はn=10、その他はn=4）、安定性を0日目における濃度に対する割合として算出し確認した。

なお、均質性および安定性はモリナガキ

ット、日本ハムキットおよびプリマハムキットの3種類のELISAキットについて測定した結果を示した。

使用キットの使用期限の関係でロットが切り替わる際には、古いロットと新しいロットのキットを用いて同一試料の回収率を比較し、問題が無いことを確認した後使用した。また、吸光度測定および濃度計算にはマイクロプレートリーダーEL 808IU、および計算ソフトウェア DeltaSoft JV Ver.1.80 (Bio-Tek Instruments, Inc.) を使用した。

6. 外部精度管理調査の実施

平成24年度に実施した外部精度管理調査の参加機関を対象に、地方衛生研究所を中心とした29機関に外部精度管理調査への参加を募った結果、18機関が参加の意向を示した。そのため、平成28年11月8日にこれら18機関に対して2種類の試料と報告書書式を宅配便(冷凍)にて送付した。なお測定には、消費者庁食品表示課事務連絡「アレルギー物質を含む食品の検査方法について(参考)」に記載されている卵測定用キット3種(FASPEK エライザII卵、FASTKIT エライザ Ver. III シリーズ卵、アレルギーアイ ELISA II シリーズ卵)のうち、任意の2種類を使用し、測定法は測定キットのプロトコール通り、サンプリング数は1試料につき2抽出、ELISA測定は1抽出につき3ウェル併行とした。また、報告書の回収期限は平成28年12月9日とした。

7. 外部精度管理調査結果の解析

参加機関から回収した報告値は、消費者庁次長通知「アレルギー物質を含む食品の検査方法について」の別紙5「アレルギー物質を含む食品の検査方法を評価するガイ

ドライン」の4.「特定原材料検知法開発者が公表すべき検査方法の性能とその範囲に関する提言」に「免疫化学反応に基づく定量法では、用いる抗体により定量値が異なることが予想される」とあることから、試料別、測定キット別に集計した。次にこのデータを統計解析システム JMP (SAS Institute Japan 株式会社) を用い、Xbar-R 管理図を代用した解析を実施した。なお、Xbar 管理図の管理限界線の値は(ロバスト平均値 \pm ロバスト平均値 \times 50%)とした。これは、前述したガイドラインの4.の提言にタンパク質の回収率が「50%以上、150%以下であること」と記載されていることから、キットの測定誤差の範囲についてもこれ以下と考えられることによるものである。なお、添加回収率についてはこれまでの経験上、用いるキットにより異なる可能性があることから、各試料およびキットごとに算出したロバスト平均値を付与値とした解析を行うこととした。

ロバスト方式の統計は、Huber の proposal 2 の推定方式による統計をエクセル・マクロによるプログラム〔作成：システムサポート、大隅昇〕により行い、得られたロバスト平均値およびロバスト標準偏差を用いて z-スコアを算出した。さらに、アンケート結果についてもとりまとめ、検討を加えた。なお、今回の外部精度管理調査でモリナガキットを使用した機関は18機関、日本ハムキットを使用した機関は18機関、プリマハムキットを使用した機関は0機関であった。

(倫理面への配慮)

添加試料が食材であるため、誤って口に

入ることが無いよう、試料の残余や廃棄物は速やかに焼却処分に付した。

C.D. 結果および考察

1. 通知法改正前および通知法改正後の ELISA キットによる卵タンパク質添加試料の適用性評価

通知法改正前および通知法改正後の ELISA キットによる卵タンパク質添加試料の回収率の結果を図 1 に示した。

全卵添加試料について、ベビーフード試料およびカボチャペースト試料共に、通知法改正前のデータは各社キット間でばらつきがあるものの、約 90~105%と良好な回収率が得られた。これに対し、通知法改正後のデータは改正前よりも測定値が低いものの 80%前後の良好な回収率が得られた。但し、各社キット間でばらつきがほとんどなかった点では改正前におけるデータと異なった。

また、通知法改正後のキットについては、全卵添加試料だけでなく、卵タンパク質を乾燥全卵粉末に変更した試料の回収率についても検討した。これは、乾燥全卵粉末は全卵よりも扱いやすく、長期保存が可能なたため、安定した品質の外部精度管理調査試料を作製できると考えたためである。その結果、乾燥全卵添加試料は全卵添加試料よりも高い回収率が得られ、約 85~105%と良好であった。ただし、全卵添加試料は 3 種類のキット間で回収率がほとんど変わらなかったのに対し、乾燥全卵添加試料ではプリマハムキットの回収率が他の 2 種類のキットよりも高めに得られた。この傾向は、ベビーフード試料およびかぼちゃペースト試料のいずれでも同じであった。

以上より、通知法改正後の ELISA キットで測定した卵タンパク質添加試料の回収率は、全卵添加試料および乾燥全卵粉末添加試料共に 80~110%の範囲内と良好であり、検討に用いた試料が同一でないため単純比較することはできないものの、通知法改正前の回収率と大きく乖離しなかったことから、通知法改正後の ELISA キットでもこれまで作製してきた卵タンパク質添加試料が適用可能であることが示された。

なお、これ以降の検討はより高い回収率が得られた乾燥全卵粉末添加試料について行った。

2. 外部精度管理調査試料の均質性

調査試料の均質性の結果を表 1 に示した。試料作製直後 (0 日目) と発送前 (92 日目) の添加量に対する回収率および変動係数をキットの種類ごとに比較すると、回収率、変動係数共に大きな相違は認められず、回収率では最大で 6.7%、変動係数では最大で 0.023 の変動幅であった。これらの変動幅は測定誤差の範囲内と考えられたために、作製した試料は均質であると判断した。ただし、測定値は測定キットごとに特徴的な回収率を示した。プリマハムキットでは約 110%台と高めの値を示したのに対し、モリナガキットでは約 80~90%、日本ハムキットでは約 75~85%と低めの回収率を示し、この傾向は試料が異なっても同様であった。

3. 外部精度管理調査試料の安定性

試料作製から調査期間終了までに定期的に試料を測定し (0 日目、34 日目、69 日目、92 日目、126 日目および 194 日目、0 日目および 92 日目は n=10、その他は n=4 で測定)、特に、外部精度管理調査試料発送前の安定性は 92 日目、調査期間終了後の安定性

は 194 日目に確認した(図 2)。

その結果、試料 1 および試料 2 の安定性は共に変動はあるものの 90%~110%の範囲内であった。特に試料配付前と調査期間終了後では若干の低下がみられたものの、試料 1 および試料 2 のいずれにおいても全てのキットで安定性の変化率が 10%以内であったことから測定誤差の範囲内と考えられた。従って、卵タンパク質添加試料 1 および試料 2 については 194 日目までの長期安定性が確認できた。なお、これらの結果から今回作製した試料は安定であり、外部精度管理試料として採用できるものと判断した。

4. 外部精度管理調査結果(回収データの分布)

参加機関の測定値を試料別かつ測定キット別に集計し集計結果を表 2 に示した。また、データ分布を図 3 に示した。モリナガキットと日本ハムキットの測定値の分布について比較すると、わずかに日本ハムキットのほうが分布範囲が狭い傾向にあり、変動係数で比較するとモリナガキットが 0.08~0.1、日本ハムキットが 0.06~0.07 と日本ハムキットのほうがわずかに小さかった。また、同一試料のキット間差は試料 2 のほうが大きかった。

5. キット別集計結果

1) モリナガキット

(1) 試料 1 の解析結果

モリナガキットを用いて測定した 18 機関の試料 1 における統計量を表 3 (左側) に示した。また、回収した報告値のヒストグラムおよび正規確率プロットを図 4 に、Xbar-R 管理図を図 5 に示した。Xbar 管理図で管理限界線の範囲を超えた機関はなかつ

たが、R 管理図で上部管理限界線を超えた機関が 1 機関あった。

全 18 機関のロバスト平均値±ロバスト標準偏差は $9.694 \pm 0.963 \mu\text{g/g}$ であった。これに基づき z-スコアを算出したところ、z-スコアの絶対値が 2 以上の機関は 1 機関であり、絶対値が 3 以上の機関はなかった(図 6) ことから、明らかな異常値ではないものと考えられた。

(2) 試料 2 の解析結果

モリナガキットを用いて測定した 18 機関の試料 2 における統計量を表 3 (右側) に示した。また、回収した報告値のヒストグラムおよび正規確率プロットを図 7 に、Xbar-R 管理図を図 8 に示した。Xbar 管理図で管理限界線の範囲を超えたデータはなかったが、R 管理図で上部管理限界線を超えた機関が 1 機関あった。

全 18 機関のロバスト平均値±ロバスト標準偏差は $9.136 \pm 0.750 \mu\text{g/g}$ であった。これに基づき z-スコアを算出したところ、z-スコアの絶対値が 2 以上の機関は 2 機関であり、絶対値が 3 以上の機関はなかった(図 9) ことから、明らかな異常値ではないものと考えられた。

(3) ELISA 測定における吸光度の変動係数

モリナガキットの ELISA 測定の併行精度を、併行実施した 3 ウェルの吸光度の変動係数を指標として検討した。その結果、ほとんどの検査機関で変動係数は 0.05 未満であった(図 10)。これに対してコード番号 1 の機関では他の検査機関と比較すると高い変動係数を示した。また、試料 1 ではコード番号 8、12 および 16 で抽出間での変動係数の差が大きい傾向にあった。同様に試料 2 ではコード番号 1、8、17 および 18

で抽出間での変動係数の差が大きい傾向にあった。

2) 日本ハムキット

(1) 試料 1 の解析結果

日本ハムキットを用いて測定した 18 機関の試料 1 における統計量を表 4 (左側) に示した。また、回収した報告値のヒストグラムおよび正規確率プロットを図 11 に、Xbar-R 管理図を図 12 に示した。Xbar 管理図で管理限界線の範囲を超えた機関はなかったが、R 管理図で上部管理限界線を超えた機関が 1 機関あった。

全 18 機関のロバスト平均値 ± ロバスト標準偏差は $8.893 \pm 0.553 \mu\text{g/g}$ であった。これに基づき z-スコアを算出したところ、z-スコアの絶対値が 2 以上の機関は 2 機関であり、絶対値が 3 以上の機関はなかった (図 13) ことから、明らかな異常値ではないものと考えられた。

(2) 試料 2 の解析結果

日本ハムキットを用いて測定した 18 機関の試料 2 における統計量を表 4 (右側) に示した。回収した報告値のヒストグラムおよび正規確率プロットを図 14 に、Xbar-R 管理図を図 15 に示した。Xbar 管理図、R 管理図の両者において管理限界線の範囲を超えた機関はなかった。

全 18 機関のロバスト平均値 ± ロバスト標準偏差は $8.003 \pm 0.522 \mu\text{g/g}$ であった。これに基づき z-スコアを算出したところ、z-スコアの絶対値が 2 以上の機関は 1 機関であり、絶対値が 3 以上の機関はなかった (図 16) ことから、明らかな異常値ではないと考えられた。

(3) ELISA 測定における吸光度の変動係数

日本ハムキットの ELISA 測定の併行精度

を、併行実施した 3 ウェルの吸光度の変動係数を指標として検討した。その結果、ほとんどの検査機関で変動係数は 0.05 未満であった (図 17)。これに対して試料 1 ではコード番号 4 の抽出 2 において、試料 2 ではコード番号 2 の抽出 2 においてそれぞれ変動係数が 0.1 を超えていた。また、試料 1 ではコード番号 4、9、14、15、16 で抽出間の変動係数の差が大きい傾向にあった。同様に試料 2 ではコード番号 2、6、7、9、12 で抽出間の変動係数の差が大きい傾向にあった。

3) プリマハムキット

プリマハムキットを用いて測定した機関はいなかったため、統計解析は実施しなかった。

4) キットのロット間の測定値の比較

今回の外部精度管理調査において、日本ハムキットについては 1 ロットのみであったが、モリナガのキットにおいて合計 6 ロットが外部精度管理調査に用いられていた。そこで、モリナガキットにおけるロット間差について観察した。その結果、図 18 に示したとおり、若干の測定値の変動はあるものの、試料 1、試料 2 のいずれにおいても明確なロット間差は認められなかった。

5) 測定値の相関性

(1) 同一キット内の試料間の測定値の相関性

試料 1 と試料 2 の各機関における測定値のモリナガキット内および日本ハムキット内における相関性を検討し、結果を図 19 に示した。その結果、モリナガでは相関係数が 0.914、日本ハムでは 0.823 といずれも非常に高い相関を認めた。

(2) 同一試料のキット間の測定値の相関性

同様に試料ごとにキット間の相関性を検討し、結果を図 20 に示した。その結果、試料 1 では相関係数が 0.598、試料 2 では 0.619 といずれも高い相関を認めた。

6. 検査手法のまとめ

各参加機関が使用した検査手法をまとめて表 5 に示した。データに影響を及ぼす可能性が考えられるプレートの洗浄方法については、手動が 7 機関、自動が 11 機関であった。また、検量線の近似曲線については 4PL が 15 機関、5PL が 3 機関で採用されていた。さらに、全ての検査機関で試料溶液の分注は 10 分以内に行われていた。

7. 検査実績のまとめ

参考として参加機関における検査実績をまとめて表 6 に示した。

参加機関のうち 1 機関が登録検査機関であったため、この機関による検査実績が非常に多いものとなっていたが、特定原材料検査の件数は、乳が 960 件と最も多く、次いで卵、小麦の順であった。一方、落花生が試験数としては最も少なく、138 件であった。

E. 結論

卵添加試料を作製し、添加回収試験および安定性確認試験を行ったところ、通知法の改正後のキットにおいても過去に実施した際と類似の結果が得られた。また、かぼちゃペーストおよびベビーフードを用いた外部精度管理調査を試験的に 18 機関を対象に実施した。その結果、回収率を指標とした Xbar 管理図では管理限界線の範囲を超える機関は認められなかったが、一部の試料において R 管理図で管理限界線を超える機関が 1 機関認められた。また、ロバス

ト平均値およびロバスト標準偏差を用いた z-スコアを算出したところ、z-スコアの絶対値が 2~3 となる機関が 1 または 2 機関認められた。z-スコアは平均値と標準偏差から算出されるため、そのデータ分布によってある一定の割合で z-スコアの絶対値が 2 以上となる可能性を含んでいる。しかし、今回限界外となった機関における z-スコアはいずれも 3 未満であり、明らかな異常値として判断することはできないと考えられる。また、Xbar 管理図における管理限界線を考慮してもこれらの機関が明らかな異常値とは判定できないことを示していると思われる。これに対して、参考として実施した吸光度の変動係数に基づいた解析では、一部の検査機関において繰り返し測定のばらつきが大きいことを示した。これらの機関が R 管理図において限界外と判定されたわけではないが、内部精度管理の一環としてこれらのパラメータを観察することで、ピペットの取り扱いを含めてより高い精度での検査の実施のための措置を講ずることが可能であると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

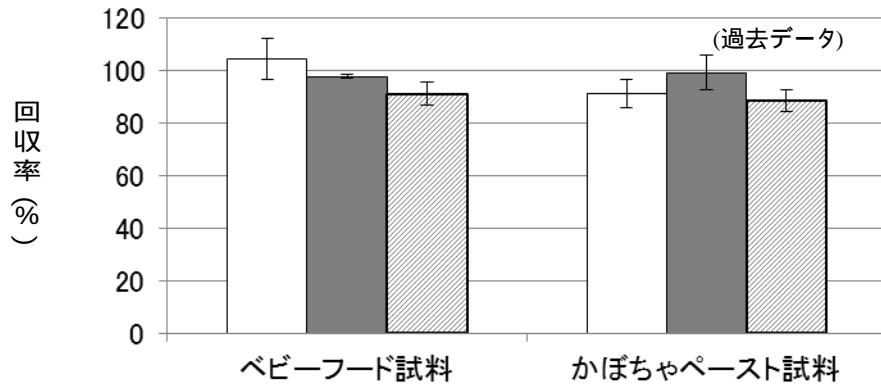
なし

3. その他

なし

通知法改正前 ELISA キット

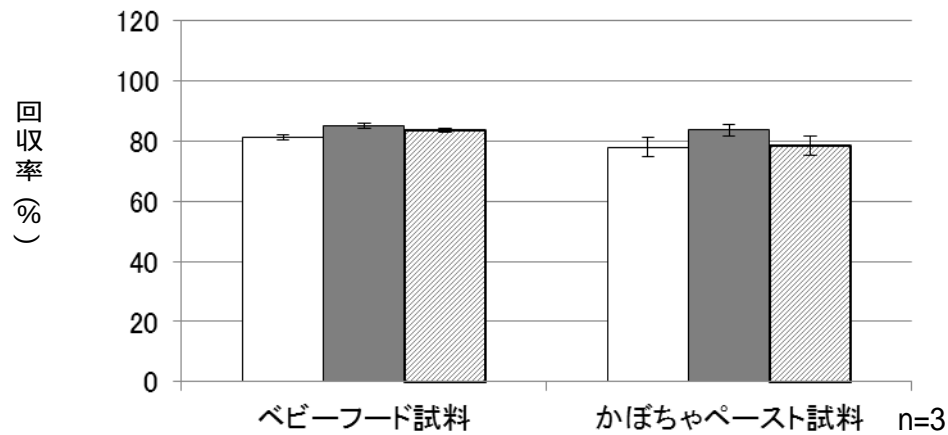
1) 全卵添加試料 (添加量: ベビーフード 8.6 $\mu\text{g/g}$, かぼちゃペースト 5.7 $\mu\text{g/g}$)



n=10

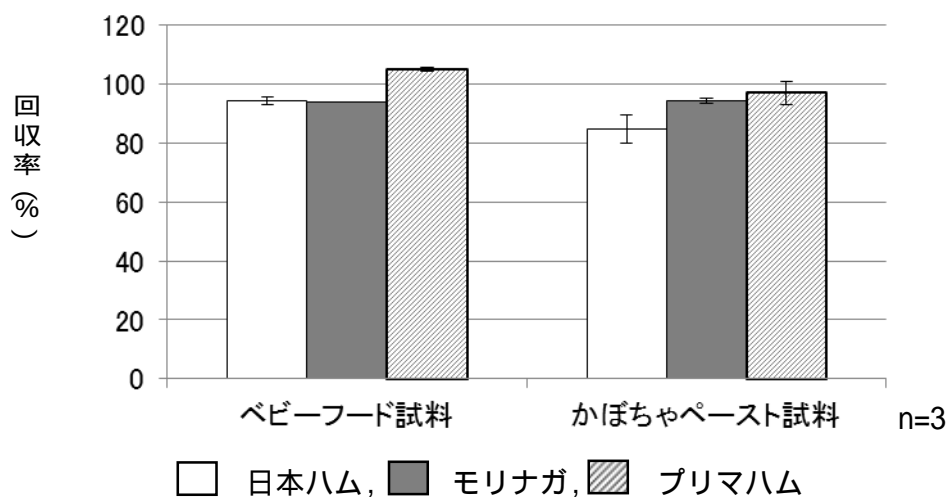
通知法改正後 ELISA キット

1) 全卵添加試料 (添加量 : 10.0 $\mu\text{g/g}$)



n=3

2) 乾燥全卵粉末添加試料 (添加量 : 10.0 $\mu\text{g/g}$)



n=3

□ 日本ハム, ■ モリナガ, ▨ プリマハム

図1 通知法改正前および通知法改正後の ELISA キットにおける回収率の比較

表 1 外部精度管理調査試料における均質性確認試験

a) 作製直後 (0 日目)

| | 試料 1 | | | 試料 2 | | |
|------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | モリナガ | 日本ハム | プリマハム | モリナガ | 日本ハム | プリマハム |
| 平均値 | 8.681 | 8.392 | 11.698 | 8.332 | 8.167 | 11.349 |
| 標準偏差 | 0.379 | 0.399 | 0.196 | 0.228 | 0.346 | 0.264 |
| 変動係数 | 0.0436 | 0.0476 | 0.0167 | 0.0273 | 0.0424 | 0.0232 |
| 添加量 (µg/g) | | 10.0 | | | 10.0 | |
| 回収率 (%) | 86.8 | 83.9 | 117.0 | 83.3 | 81.7 | 113.5 |

(n=10)

b) 発送前 (92 日目)

| | 試料 1 | | | 試料 2 | | |
|------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | モリナガ | 日本ハム | プリマハム | モリナガ | 日本ハム | プリマハム |
| 平均値 | 9.261 | 8.089 | 11.639 | 8.825 | 7.504 | 10.913 |
| 標準偏差 | 0.440 | 0.447 | 0.505 | 0.394 | 0.429 | 0.361 |
| 変動係数 | 0.0475 | 0.0553 | 0.0434 | 0.0446 | 0.0572 | 0.0331 |
| 添加量 (µg/g) | | 10.0 | | | 10.0 | |
| 回収率 (%) | 92.6 | 80.9 | 116.4 | 88.3 | 75.0 | 109.1 |

(n=10)

平均値、標準偏差、添加量の単位：µg/g

回収率：平均値/添加量×100

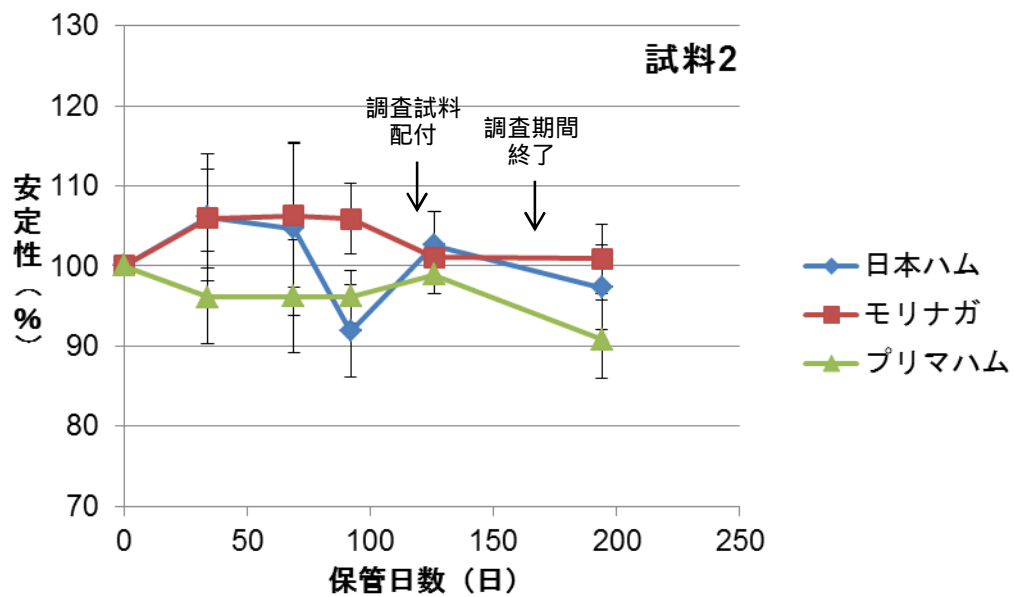
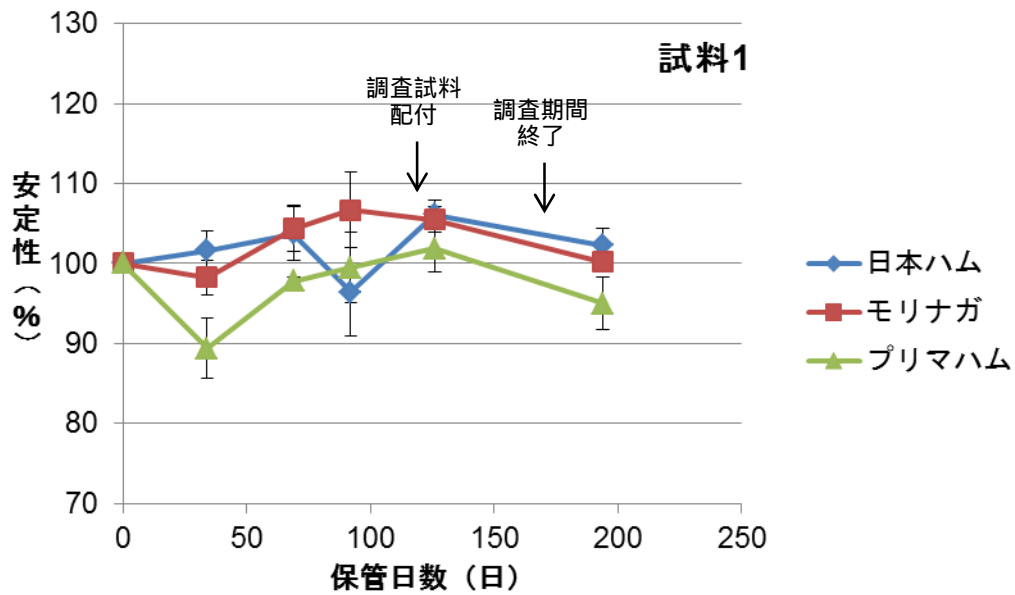


図2 外部精度管理調査試料の長期安定性

n=4 (34日目、69日目、126日目および194日目)、n=10 (0日目および92日目)

126日目および194日目の日本ハムキットおよびプリマハムキットの測定については、それ以前の測定で使用したELISAキットとは異なるロットのものを使用した。

表2 外部精度管理調査における報告値の平均値、変動係数および回収率

| | 試料 1 | | | 試料 2 | | |
|------------|--------|--------|-------|--------|--------|-------|
| | モリナガ | 日本ハム | プリマハム | モリナガ | 日本ハム | プリマハム |
| データ数 | 18 | 18 | 0 | 18 | 18 | 0 |
| 平均値 (μg/g) | 9.694 | 8.893 | - | 9.136 | 8.003 | - |
| 標準偏差(μg/g) | 0.963 | 0.553 | - | 0.750 | 0.522 | - |
| 変動係数 | 0.0994 | 0.0622 | - | 0.0821 | 0.0653 | - |
| 添加量 (μg/g) | | 10.0 | | | 10.0 | |
| 回収率 (%) | 96.9 | 88.9 | - | 91.4 | 80.0 | - |

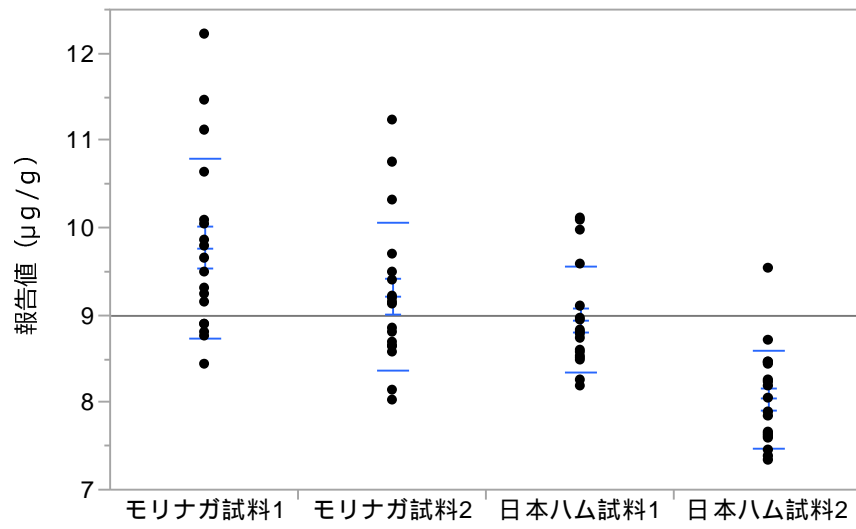


図3 外部精度管理調査での各試料におけるキットごとのデータ分布

表3 モリナガキットによる測定結果の統計量一覧

| 試料名 | | 試料 1 | 試料 2 |
|--------|-----------------|--------|--------|
| 解析対象 | 統計量の種類 | ロバスト方式 | ロバスト方式 |
| 測定の平均値 | データ数 (有効機関数) | 18 | 18 |
| | 平均値 | 9.694 | 9.136 |
| | 分散 | 0.928 | 0.563 |
| | 標準偏差 | 0.963 | 0.750 |
| | 変動係数 | 0.0994 | 0.0821 |
| | 第1四分位数(Q1) | 8.903 | 8.653 |
| | 中央値(メジアン) | 9.583 | 9.148 |
| | 第3四分位数(Q3) | 10.243 | 9.553 |
| | 最大値 | 11.098 | 10.230 |
| | 最小値 | 8.445 | 8.043 |
| | 範囲 | 2.653 | 2.187 |
| | 四分位範囲 | 1.34 | 0.9 |
| 測定の差 | データ数 | 18 | 18 |
| | Rの平均 | 0.555 | 0.336 |
| | 上部管理限界 | 1.813 | 1.098 |

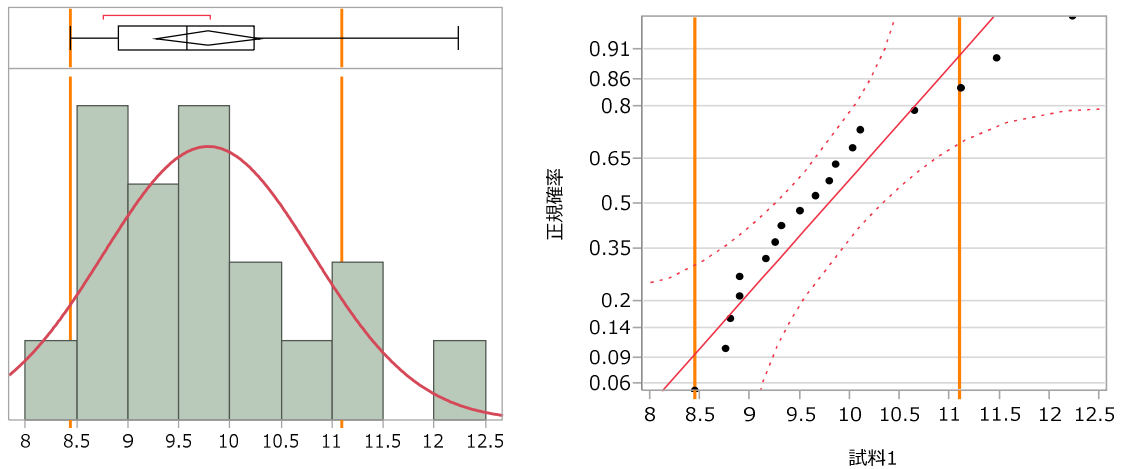


図4 試料1のモリナガキットによる測定におけるヒストグラムおよび正規確率プロット

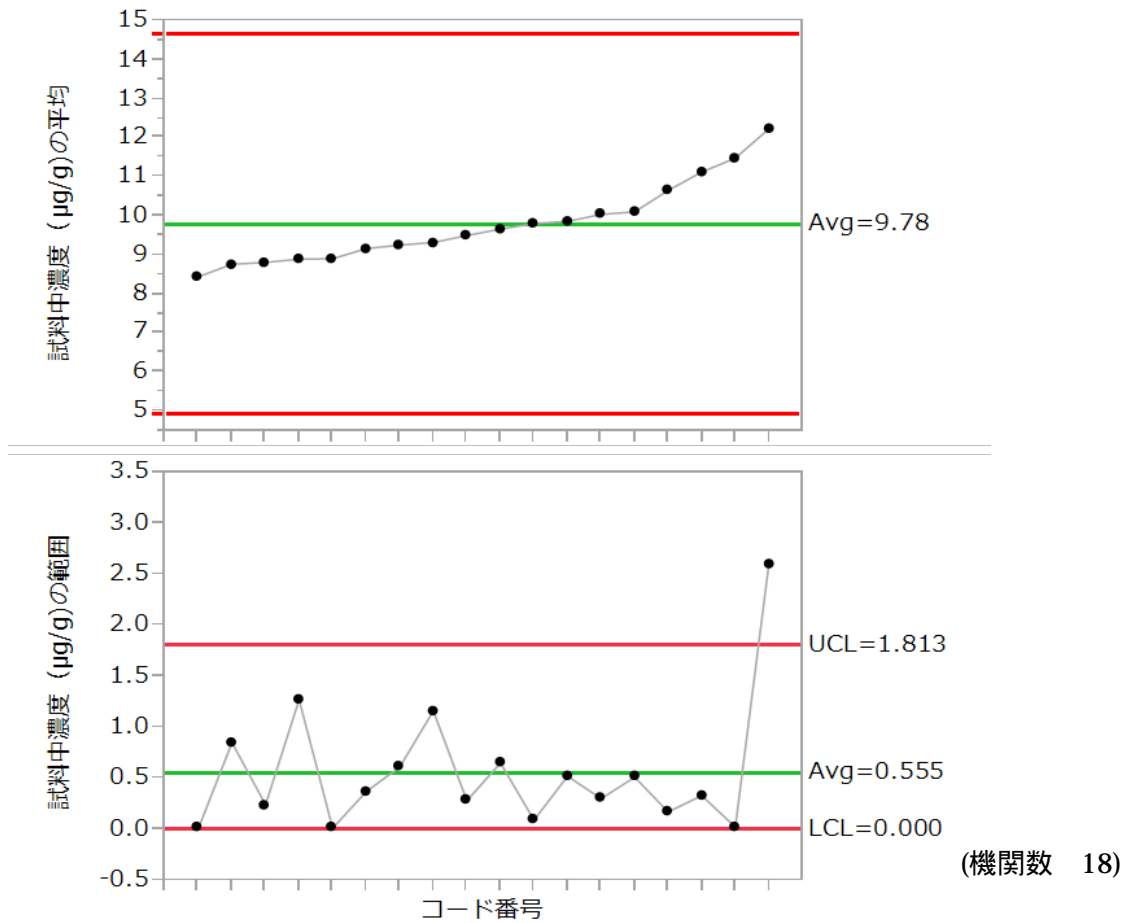
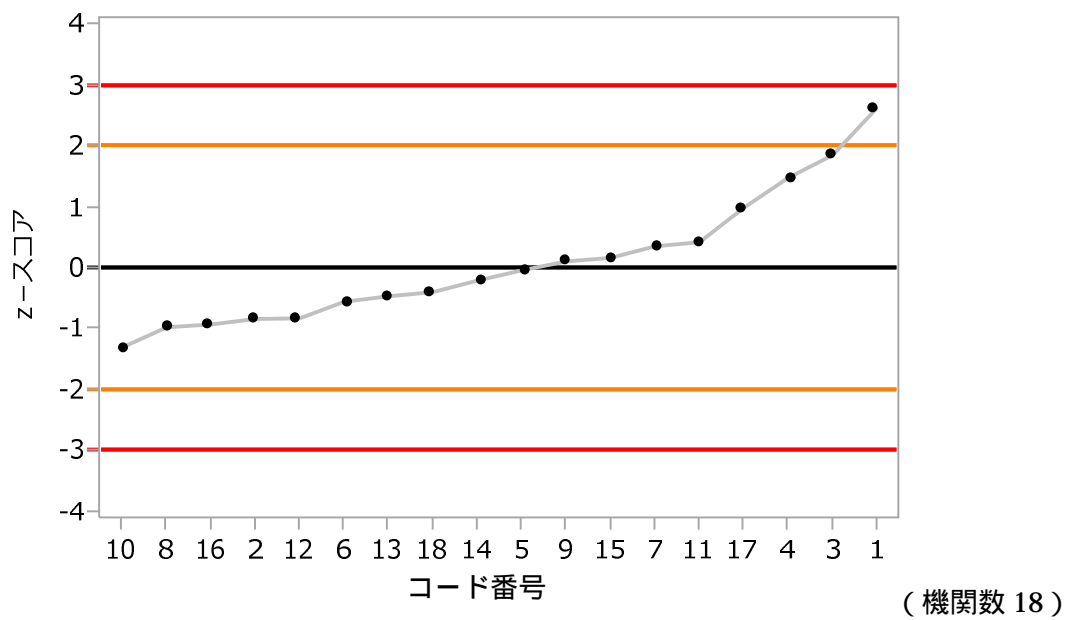


図5 試料1のモリナガキットによる測定におけるXbar-R管理図

データはXbarを基準に昇順で並べ替えた。Xbar管理図(上図)において上部管理限界線(UCL)はロバスト平均値の150%、下部管理限界線(LCL)はロバスト平均値の50%の値とした。R管理図(下図)における上部管理限界線(UCL)はRの平均値とJISハンドブックの係数 D_4 から算出した。



絶対値が 2 以上の z-スコアと順位

| z-スコア -2 の順位 | z-スコア | z-スコア 2 の順位 | z-スコア |
|-----------------|-------|----------------|-------|
| 1 | - | 1 | 2.633 |

図 6 試料 1 のモリナガキットによる測定における z-スコアの順位

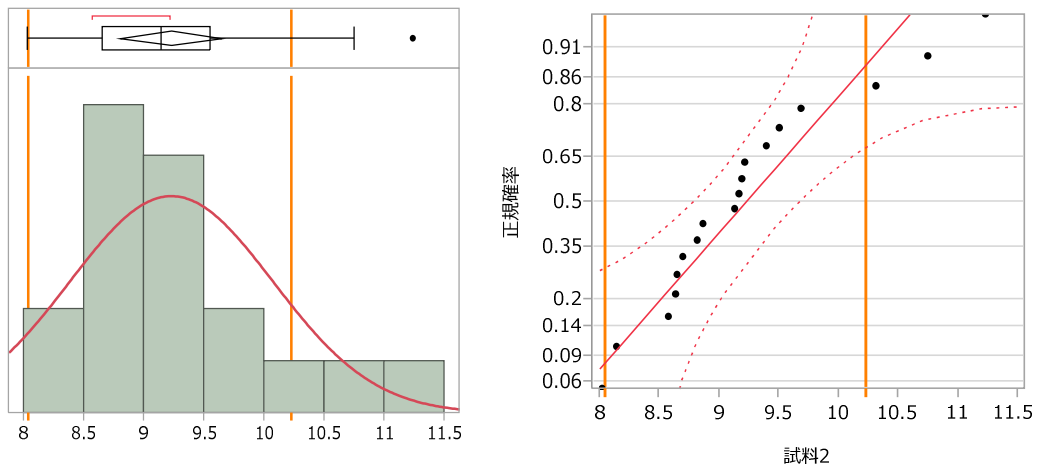


図7 試料2のモリナガキットによる測定におけるヒストグラムおよび正規確率プロット

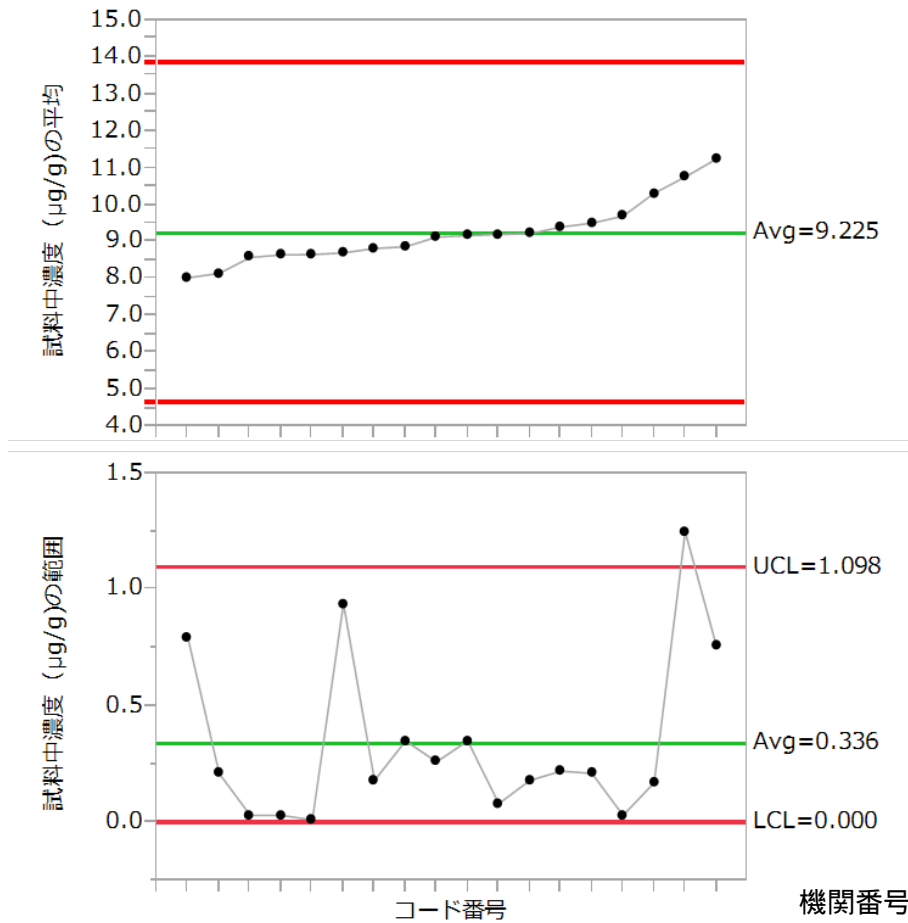
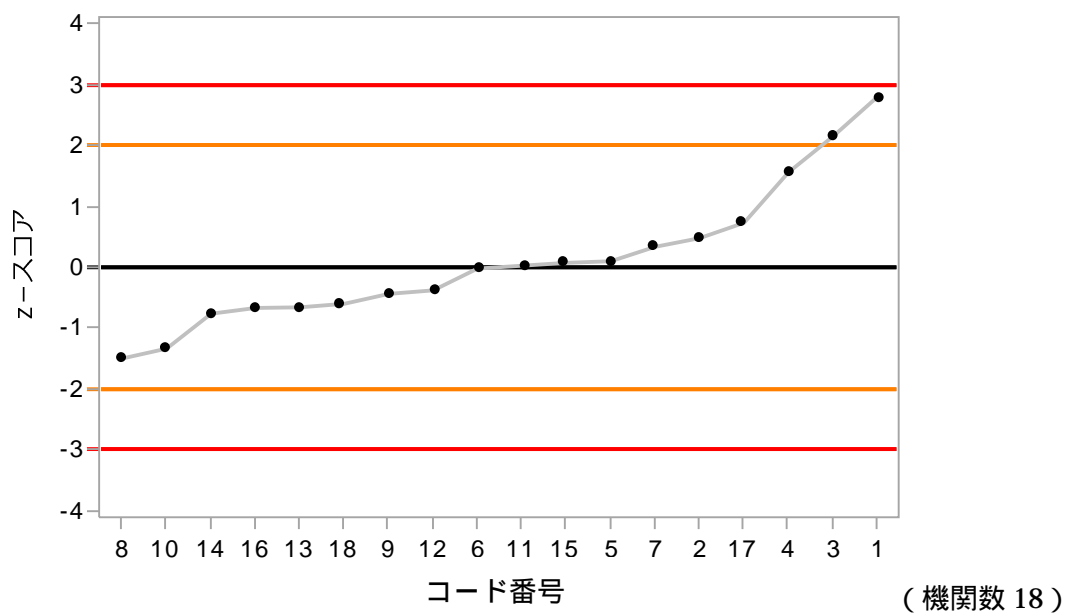


図8 試料2のモリナガキットによる測定におけるXbar-R管理図

データはXbarを基準に昇順で並べ替えた。Xbar管理図(上図)において上部管理限界線(UCL)はロバスト平均値の150%、下部管理限界線(LCL)はロバスト平均値の50%の値とした。R管理図(下図)における上部管理限界線(UCL)はRの平均値とJISハンドブックの係数 D_4 から算出した。



絶対値が 2 以上の z-スコアと順位

| z-スコア -2 の順位 | z-スコア | z-スコア 2 の順位 | z-スコア |
|-----------------|-------|----------------|-------|
| 1 | - | 1 | 2.805 |
| 2 | - | 2 | 2.165 |

図 9 試料 2 のモリナガキットによる測定における z-スコアの順位

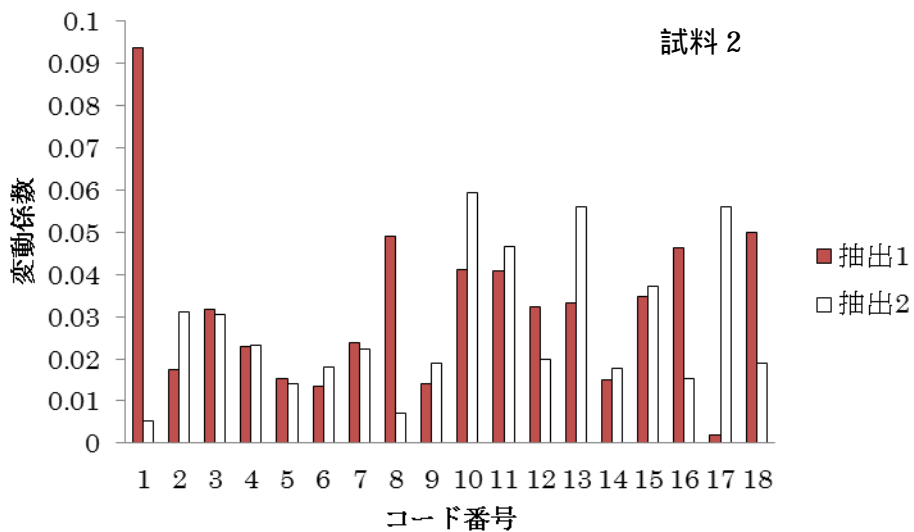
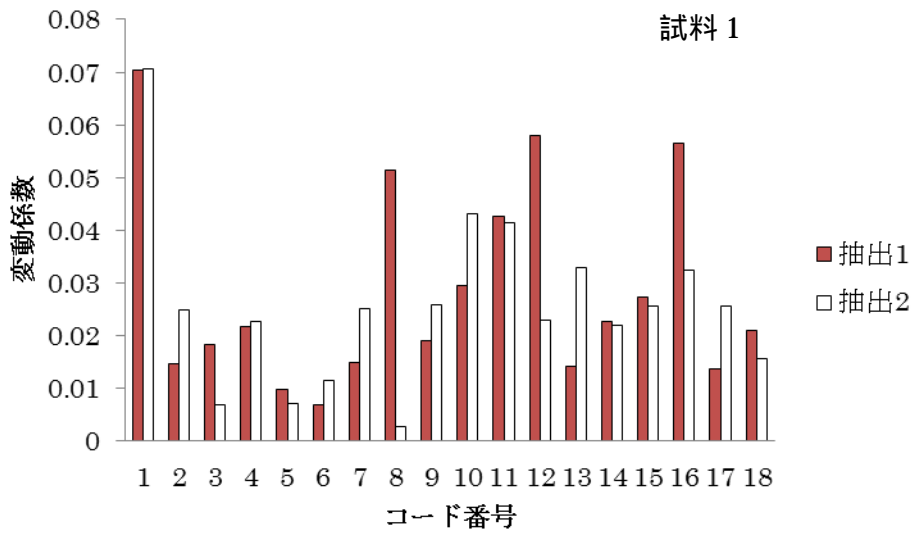


図 10 モリナガキットにおける吸光度の変動係数
 縦軸は 3 ウェルの吸光度の変動係数を示す。
 変動係数は無名数として示した。

表 4 日本ハムキットによる測定結果の統計量一覧

| 試料名 | | 試料 1 | 試料 2 |
|--------|-----------------|--------|--------|
| 解析対象 | 統計量の種類 | ロバスト方式 | ロバスト方式 |
| 測定の平均値 | データ数 (有効機能数) | 18 | 18 |
| | 平均値 | 8.893 | 8.003 |
| | 分散 | 0.306 | 0.273 |
| | 標準偏差 | 0.553 | 0.522 |
| | 変動係数 | 0.0622 | 0.0653 |
| | 第 1 四分位数(Q1) | 8.535 | 7.616 |
| | 中央値(メジアン) | 8.803 | 7.968 |
| | 第 3 四分位数(Q3) | 9.234 | 8.449 |
| | 最大値 | 9.699 | 8.764 |
| | 最小値 | 8.185 | 7.34 |
| | 範囲 | 1.514 | 1.424 |
| | 四分位範囲 | 0.699 | 0.833 |
| 測定の差 | データ数 | 18 | 18 |
| | R の平均 | 0.291 | 0.236 |
| | 上部管理限界 | 0.951 | 0.769 |

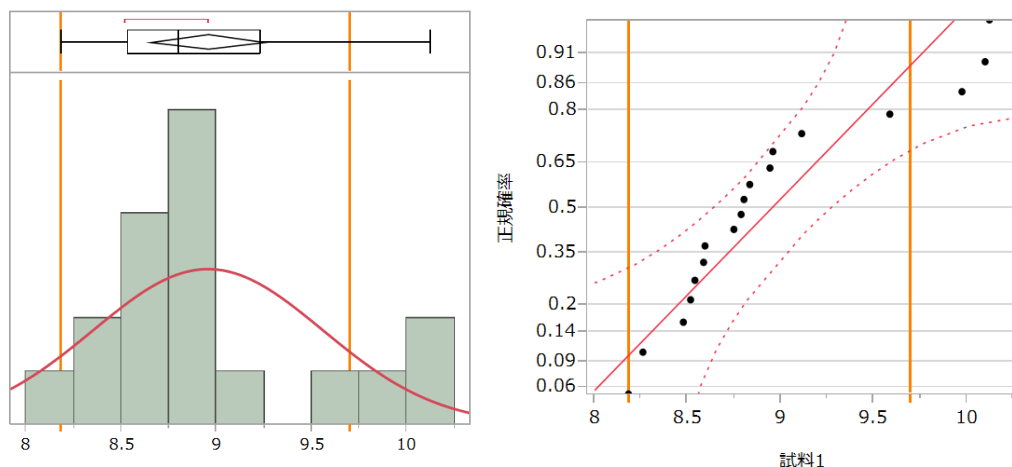


図 11 試料 1 の日本ハムキットによる測定におけるヒストグラムおよび正規確率プロット

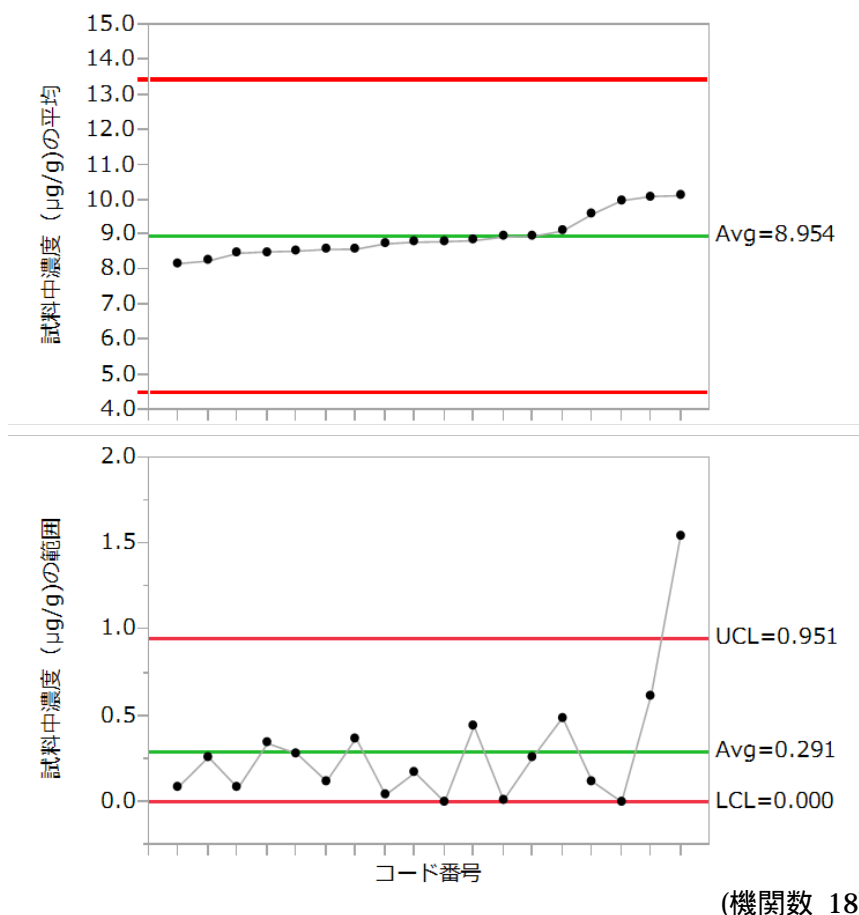
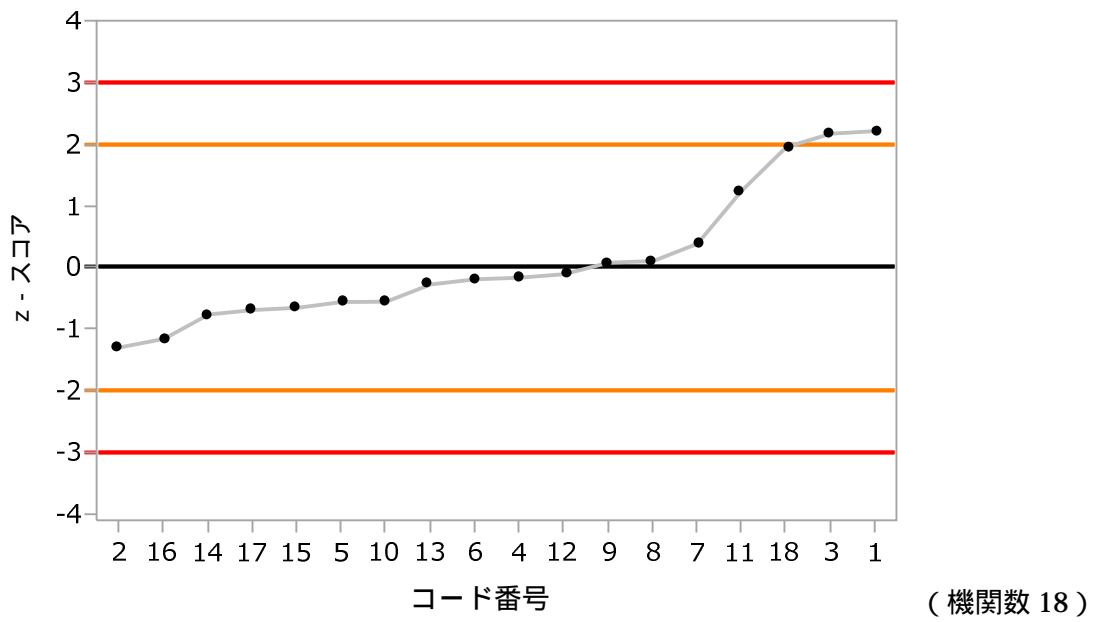


図 12 試料 1 の日本ハムキットによる測定における Xbar-R 管理図

データは Xbar を基準に昇順で並べ替えた。Xbar 管理図 (上図) において上部管理限界線 (UCL) はロバスト平均値の 150%、下部管理限界線 (LCL) はロバスト平均値の 50% の値とした。R 管理図 (下図) における上部管理限界線 (UCL) は R の平均値と JIS ハンドブックの係数 D_4 から算出した。



絶対値が 2 以上の z-スコアと順位

| z-スコア -2 の順位 | z-スコア | z-スコア 2 の順位 | z-スコア |
|-----------------|-------|----------------|-------|
| 1 | - | 1 | 2.237 |
| 2 | - | 2 | 2.183 |

図 13 試料 1 の日本ハムキットによる測定における z-スコアの順位

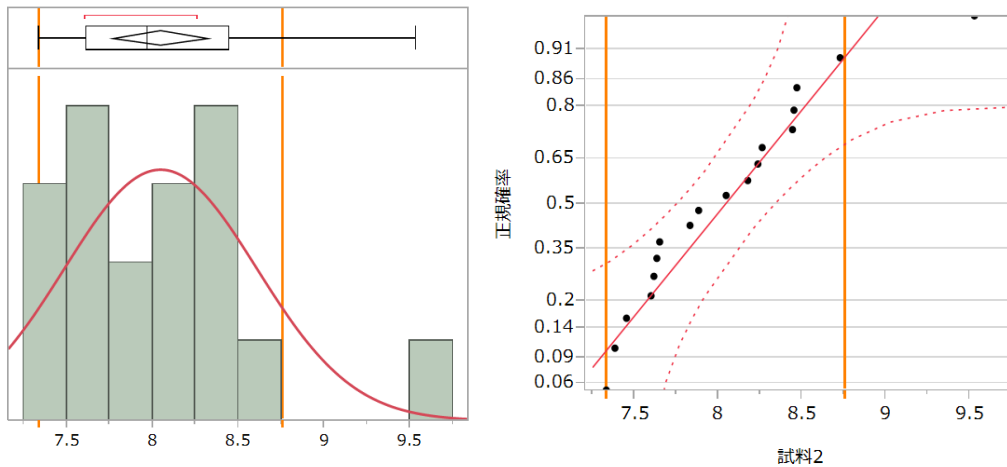
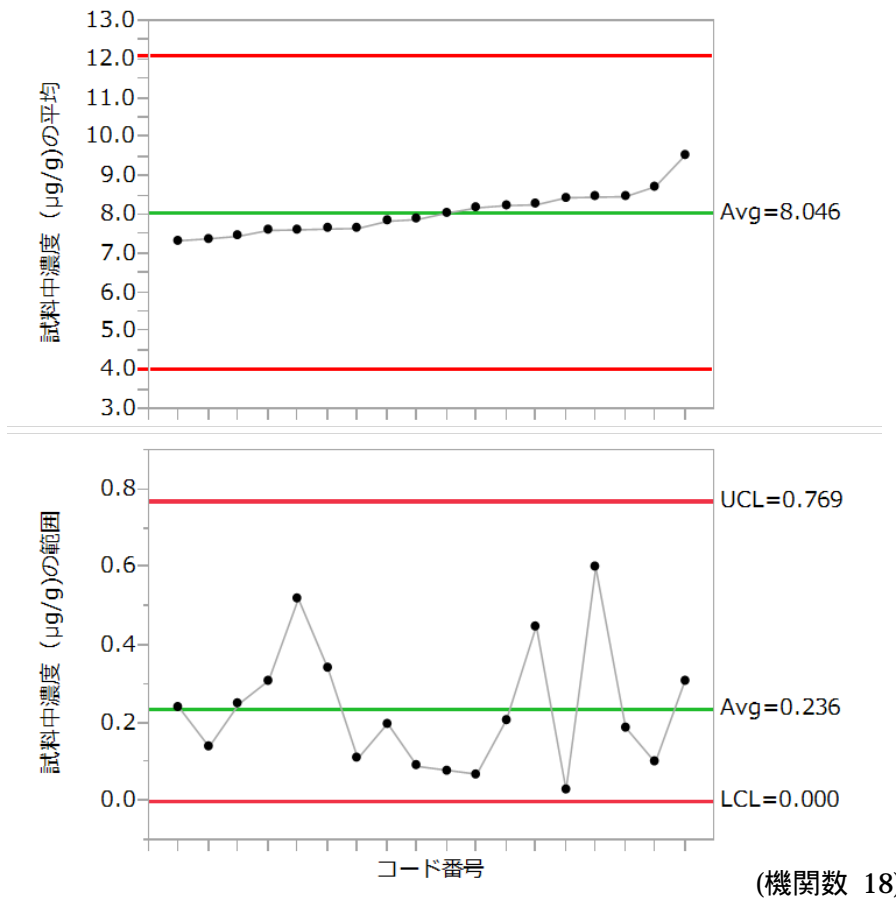


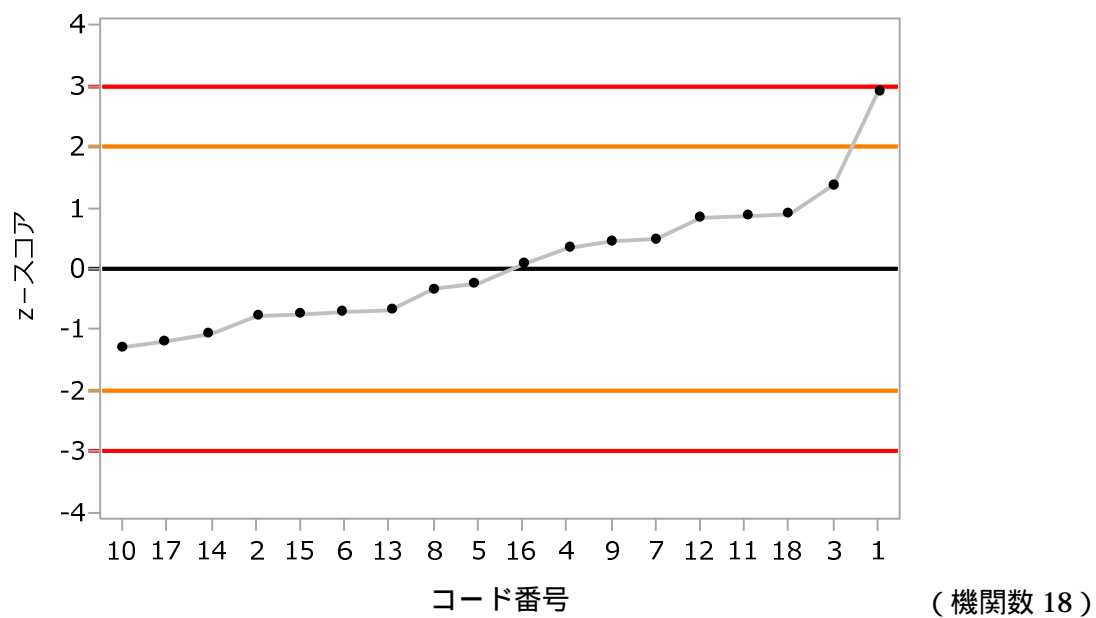
図 14 試料 2 の日本ハムキットによる測定におけるヒストグラムおよび正規確率プロット



(機関数 18)

図 15 試料 2 の日本ハムキットによる測定における Xbar-R 管理図

データは Xbar を基準に昇順で並べ替えた。Xbar 管理図 (上図) において上部管理限界線 (UCL) は口バスト平均値の 150%、下部管理限界線 (LCL) は口バスト平均値の 50% の値とした。R 管理図 (下図) における上部管理限界線 (UCL) は R の平均値と JIS ハンドブックの係数 D_4 から算出した。



絶対値が 2 以上の z-スコアと順位

| z-スコア -2 の順位 | z-スコア | z-スコア 2 の順位 | z-スコア |
|-----------------|-------|----------------|-------|
| 1 | - | 1 | 2.944 |

図 16 試料 2 の日本ハムキットによる測定における z-スコアの順位

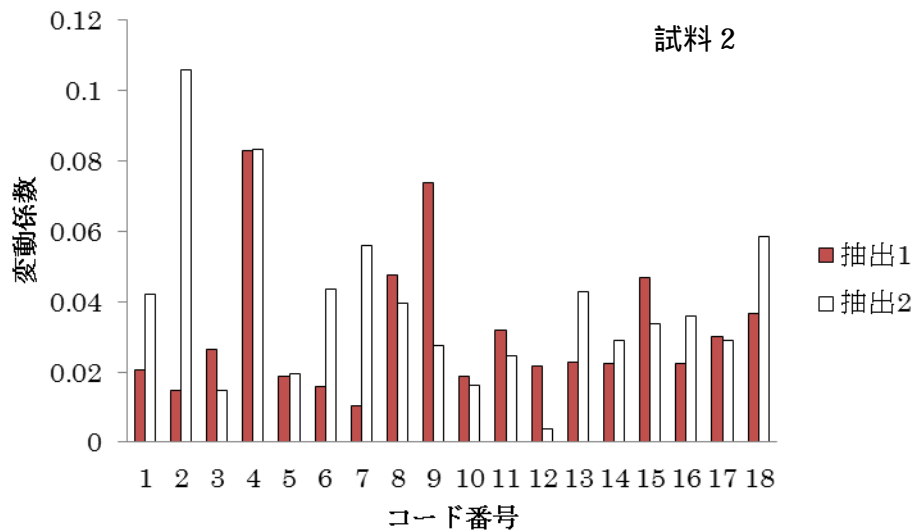
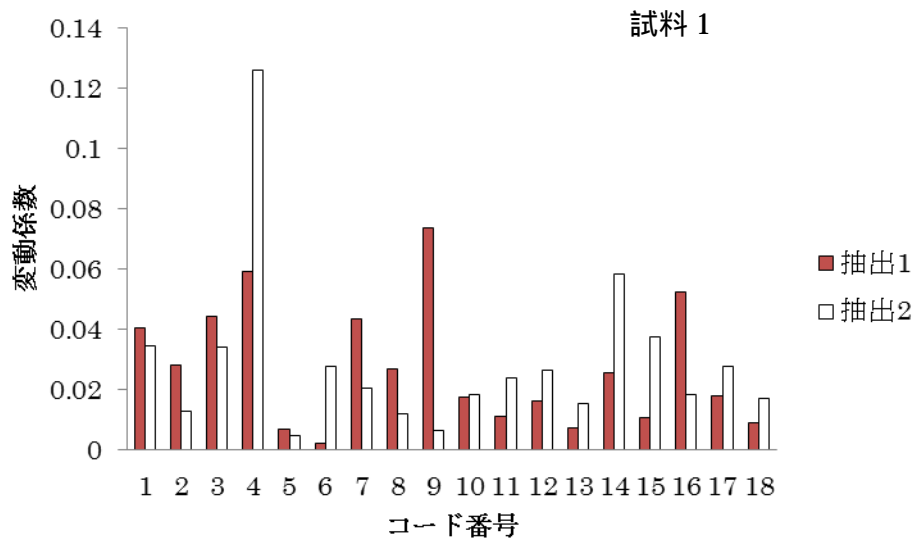


図 17 日本ハムキットにおける吸光度の変動係数
 縦軸は 3 ウェルの吸光度の変動係数を示す。
 変動係数は無名数として示した。

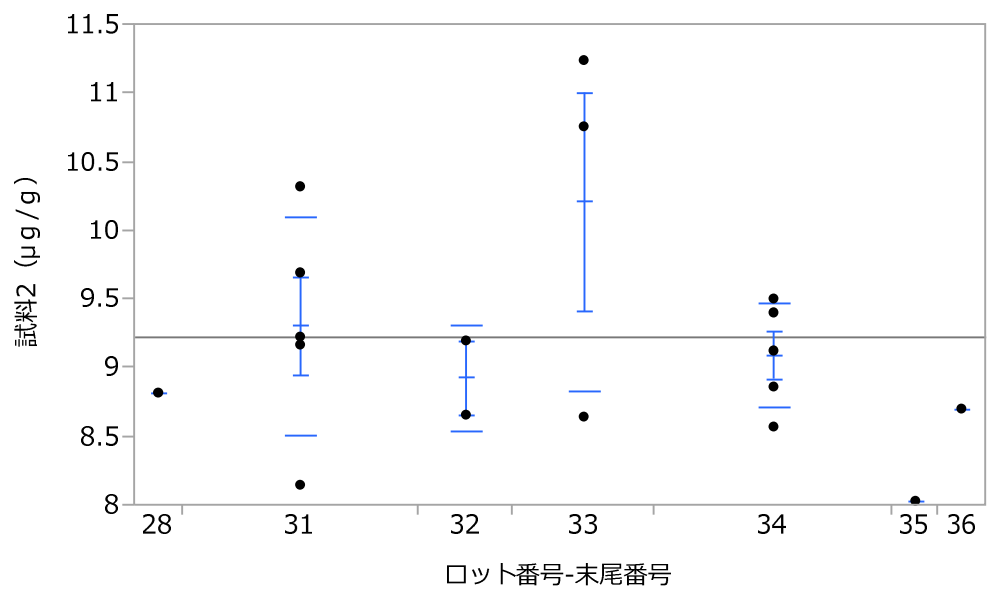
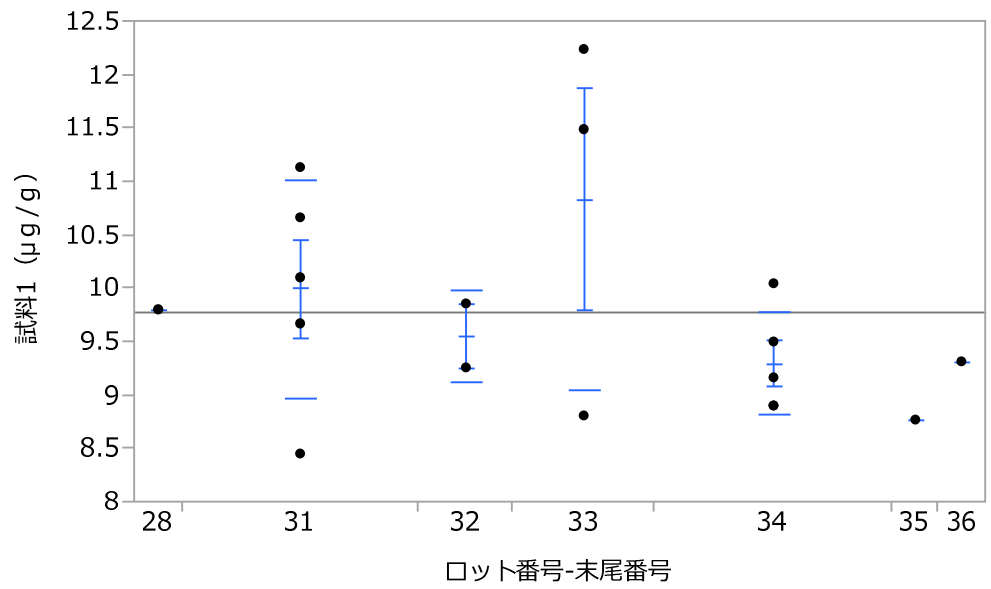


図 18 試料 1 および試料 2 のモリナガキットにおける測定値のロット間比較

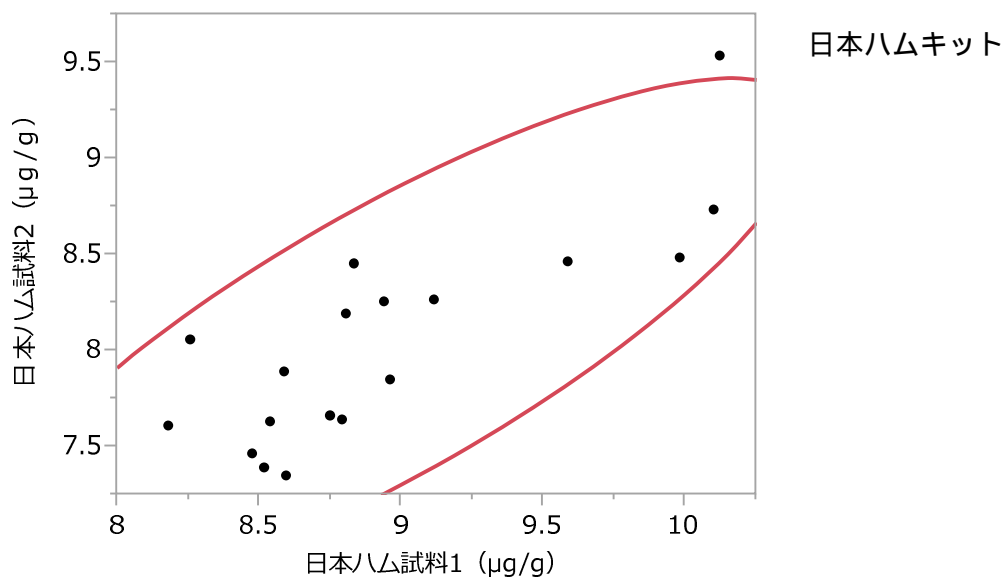
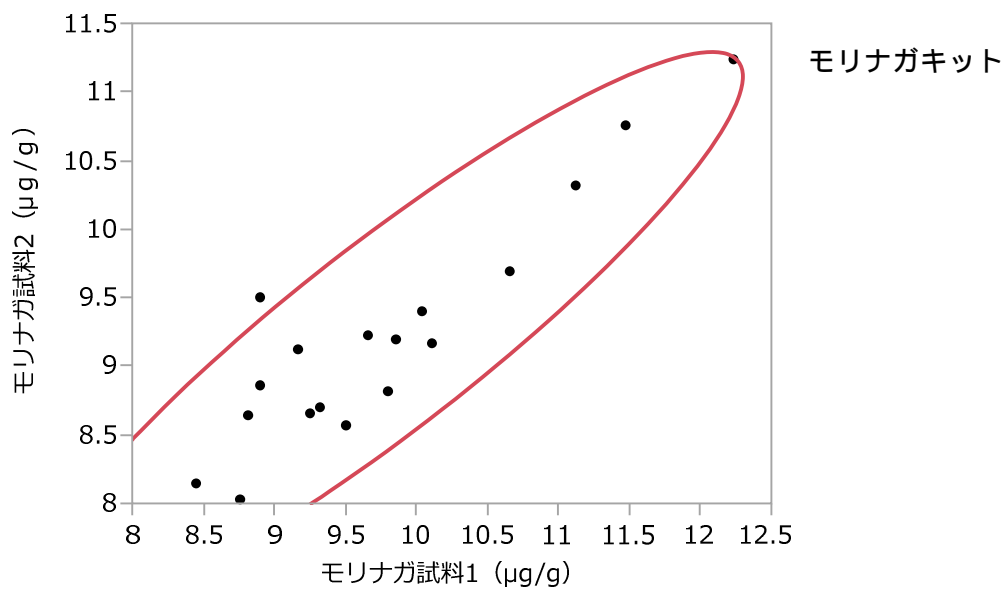


図 19 同一キット内における測定値の試料間の相関性
 図中の楕円は 95%の確率楕円を示す。

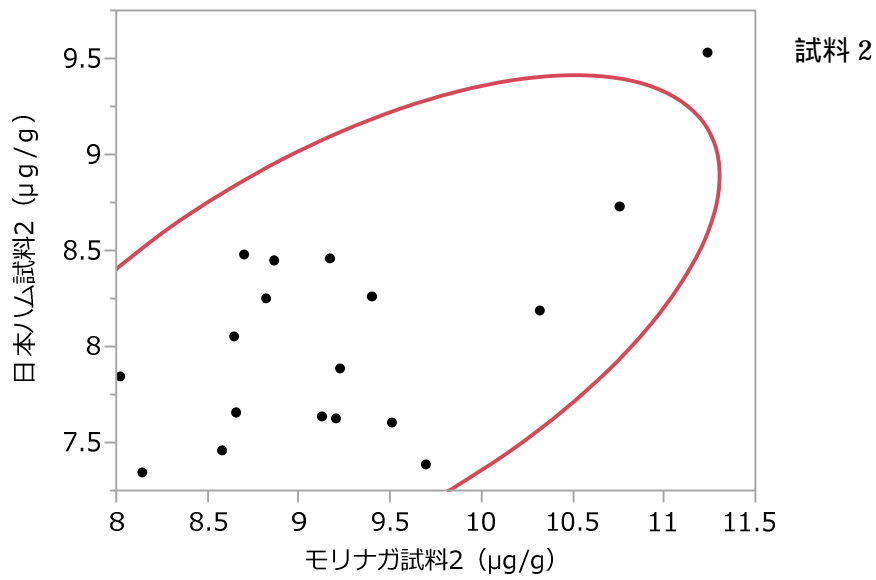
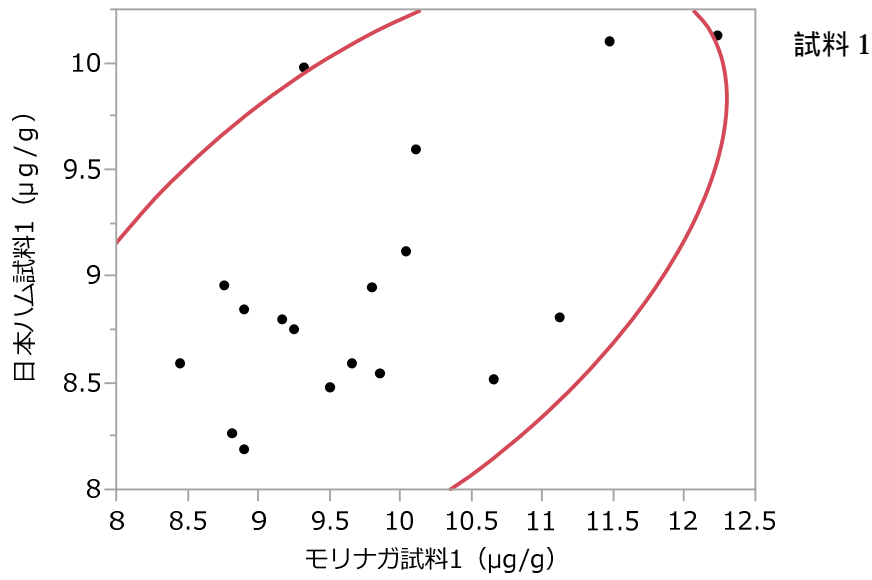


図 20 同一試料内での測定値のキット間の相関性
楕円は 95%の確率楕円を示す。

表5 外部精度管理調査における各検査機関で採用した検査手法の度数表

| 項目 | 合計 | 1 | 2 | 3 |
|-----------------|----|------------------------|----------------------------|------------|
| 抽出方法 | 18 | 振とう 18 | 攪拌 0 | |
| 振とう時間 (時間) | 18 | < 14 0 | 14 < x 16 12 | 16 < 6 |
| 振とう速度 (rpm) | 18 | < 100 2 | 100 12 | 100 < 4 |
| ろ過 | 18 | 実施 14 | 実施せず 4 | |
| 遠心分離 | 18 | 実施 18 | 実施せず 0 | |
| 抽出溶液等の希釈操作 | 18 | 手動 18 | 自動 0 | |
| 試薬の添加 | 18 | マルチチャンネル ピペット 17 | シングルチャンネル 連続分注ピペット 1 | その他 0 |
| 洗浄方法 | 18 | 手動 7 | 自動 11 | |
| 検量線の回帰法 | 18 | 4PL 15 | 5PL 3 | その他 0 |
| 抽出液の保存期間 | 18 | 0日 14 | 1日 1 | 2日以上 3 |
| モリナガキット 測定操作 | 18 | 5 9 | 5 < x 10 9 | 10 < 0 |
| 操作中の室温 | 18 | 常時25 以下 14 | 25 を超える時間帯有り 4 | |
| 抽出液の保存期間 | 18 | 0日 14 | 1日 2 | 2日以上 2 |
| 日本ハムキット 測定操作 | 18 | 5 10 | 5 < x 10 8 | 10 < 0 |
| 操作中の室温 | 18 | 常時25 以下 15 | 25 を超える時間帯有り 3 | |

表6 参加機関における平成27年度の試験実績および使用キット

| | | 特定原材料 | | | | | | |
|-------|-------|-------|-----|-----|-----|-----|-----|---|
| | | 卵 | 乳 | 小麦 | そば | 落花生 | 甲殻類 | |
| ELISA | 試験数 | 437 | 960 | 405 | 289 | 138 | 272 | |
| | 実施機関数 | 17 | 12 | 12 | 11 | 6 | 9 | |
| | 使用キット | 日本ハム | 15 | 11 | 11 | 9 | 5 | - |
| | | モリナガ | 17 | 12 | 12 | 11 | 7 | - |
| | | プリマハム | 2 | 1 | 1 | 2 | 2 | - |
| | | ニッスイ | - | - | - | - | - | 9 |
| マルハ | - | - | - | - | - | 9 | | |
| 確認試験 | 試験数 | 3 | 1 | 5 | 2 | 0 | 3 | |
| | 実施機関 | 7 | 1 | 44 | 2 | 0 | 16 | |

補足資料

平成 28 年度特定原材料検査外部精度管理調査参加機関

| |
|--------------------------|
| 栃木県保健環境センター |
| 群馬県食品安全検査センター |
| さいたま市健康科学研究センター |
| 千葉県衛生研究所 (仁戸名研究室部門) |
| 川崎市健康安全研究所 |
| 相模原市衛生研究所 |
| 新潟県保健環境科学研究所 |
| 新潟市衛生環境研究所 |
| 長野県環境保全研究所 |
| 岐阜県保健環境研究所 |
| 浜松市保健環境研究所 |
| 愛知県衛生研究所 |
| 三重県保健環境研究所 |
| 兵庫県立健康生活科学研究所 健康科学研究センター |
| 広島県立総合技術研究所 保健環境センター |
| 山口県環境保健センター |
| 福岡市保健環境研究所 |
| 一般財団法人 日本食品分析センター |