

平成 30 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）

食品衛生検査を実施する試験所における品質保証システムに関する研究

研究分担報告書

既存技能試験試料の改善および新規技能試験プログラムの導入に関する研究（2）
アレルギー物質技能試験プログラムのパイロットスタディ

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 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

研究要旨

アレルゲン含有する食品については食品表示法に従い、適切な表示が義務付けられているが、国内では7種の特定原材料が指定されている。

特定原材料に関する検査法は規定されており、ELISA法による定量試験は判断樹の上位に位置している。定量試験ではその精度が確保されていることを客観的に判断する必要が求められ、そのため外部精度管理が義務付けられていることから、多種にわたる外部精度管理に適した試料の安定供給は重要課題である。

今年度は小麦タンパク質を含有した試料を用い、定量試験法として指定されているELISA法により外部精度管理調査研究を実施し、60機関から定量検査の結果を得、解析を行った。2種類の基材(ベビーフードおよびかぼちゃペースト)に小麦タンパク質を10 µg/g添加し、外部精度管理調査試料を作製した。参加各機関は原則として消費者庁から提示されている3キット中任意の2種類で測定を行うこととした。測定結果は試料ごと、また、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。測定結果から得られた含有量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、各キットおよび試料ごとの解析結果においてメジアン・クリーニングにより除外される機関が0~2機関存在した。その後の解析では、z-スコアの絶対値が2~3および3以上となる機関が数機関認められた。また、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、R管理図で管理限界線を超える機関が各解析結果ごとに1~3機関認められた。

また、卵、小麦およびそばタンパク質、3種の特定原材料を同時に添加した試料を作製し、安定性等についての検討も行った。

A. 研究の目的

近年、アレルギー疾患の罹患者は世界的に増えており、各国地域によって食品への特定原材料のラベリングが義務付けられている。アレルギー関連によりラベリングを指定されている物質は、その食生活の違いから国、地域によって若干の差がある。日本では、特定原材料7種(小麦、そば、卵、乳、落花生およびエビ、カニ)および特定原材料に準ずるものとして20種が指定されている。これらについては数年に1度ずつ新たな知見により、リストの更新が行われてきている。

特定原材料は国内においては食品表示法による表示が義務付けられており、平成29年3月以降、アレルギーを含む食品に関わる試験検査については精度管理の一般ガイドラインに準拠した適切な業務管理を実施することが求められている。

検査法については消費者次長通知「アレルギー物質を含む食品の検査方法について」(平成22年9月10日消食表第286号、平成26年3月26日消食表第36号一部改正)および消費者庁食品表示企画課事務連絡「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、平成26年3月26日一部改正)(以下、通知法)に記載されているようにELISA法を用いた定量検査を行い、必要な場合には判断樹にしたがった確認試験として、ウエスタンブロットリングまたはPCR法による定性検査を行うことが求められている。

外部精度管理として判断樹に沿った初めの方法であるELISA法の精度を管理することは必要であり、各機関の精度を確保するための外部精度管理調査試料の安定供給は

重要な課題である。

我々はこれまでに外部精度管理調査用として卵を添加した試料を配布し、データの解析を行ってきた。本年度は、新たに小麦を添加した試料を配布し、回収したデータの解析を行った。

また、新規の外部精度管理調査用試料の作製の検討として多種のアレルゲンを同時に添加した試料作製についての検討も行った。

B. 研究方法

1. 基材

基材としてはかぼちゃペースト(ミクロペースト®(野菜ペースト)、新進)、ベビーフード(ハッピーレシビ 白身魚と野菜の雑炊、キューピー)、井村屋謹製こしあん(以下こしあん、井村屋)を用いた。いずれの基材についてもELISA法を用いて卵、小麦、そばのいずれも検出されないことを確認した。ELISA法に使用したキットについては「4. ELISAキット」参照。

2. 各種添加溶液の調製

1) 添加用卵タンパク質の調製

乾燥全卵として市販されている粉末鶏卵加工品である乾燥全卵No.1(キューピータマゴ)を注射用水(光製薬)で均一の懸濁後、希釈し、添加用卵タンパク質調製液とした。

2) 添加用小麦タンパク質の調製

日清 全粒粉お菓子・料理用(以下、小麦粉)(日清フーズ)から、添加用小麦タンパク質液を調製した。小麦粉を1g/50-mLチューブに分取後、0.6% SDSおよび0.1 M 亜硫酸ナトリウムを含有する0.1 M Tris-HCl (pH 8.6)を20 mL/チューブ添加し、室温下

で1晩振盪した。懸濁液は遠心(10,000×g、30 min)後、上清をでろ過(0.8 μm フィルター)し、添加用小麦タンパク質調製液とした。

3) 添加用そばタンパク質の調製

そば粉(中国産、マルサンバントリー)から、添加用そばタンパク質液を調製した。そば粉を1g/50-mL チューブに分取後、0.6% SDS, 0.1 M 亜硫酸ナトリウムを含有する0.1 M Tris-HCl (pH 7.5)を20 mL/チューブ添加し、室温下で1晩振盪した。懸濁液は遠心(10,000×g、30 min)後、上清をろ過(0.8 μm フィルター)し、添加用そばタンパク質調製液とした。

4) タンパク質量の測定

各タンパク質調製液は、2-D Quant Kit (GE ヘルスケアバイオサイエンス)を用いて、タンパク質含量を測定した。得られたタンパク質含量から調製液濃度又は添加量を計算し、適当量を各基材に添加した。添加重量はタンパク質量相当とした。

3. 試料調製

1) 外部精度管理調査試料の調製

外部精度管理調査で配布の小麦タンパク質添加試料をかぼちゃペーストおよびベビーフードを基材として作製した。

各基材には添加用小麦タンパク質溶液をそれぞれ総小麦タンパク量で10 μg/gとなるように加え、ロボ・クーブブリクサー5プラス(エフ・エム・アイ)で均質化した(各約2 kg)。それぞれの試料はいずれも約10gずつ分注し、パラフィルムを巻いた後、送付まで-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、調査試料を作製した。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。

2) 3種タンパク質添加サンプルの調製

小麦粉抽出液、そば粉抽出液および卵調製液を用いた試料検討用サンプルの調製を以下のように行った。

基材としてかぼちゃペースト、ベビーフードおよびこしあんを用いた。

タンパク質添加前に、かぼちゃペーストおよびベビーフードを均質となるよう十分混和した。こしあんには、10%の精製水を加え、十分に混和したものを使用した。

添加用小麦タンパク質調製液、添加用そばタンパク質調製液および添加用卵タンパク質調製液をそれぞれ10 μg/gとなるように添加量を計算後、各基材にそれぞれ3種類のタンパク調製液を加えた。その後、フードプロセッサ(MK-K58、National)で均質化し、試料とした。

それぞれの試料はいずれも約10gずつ分注し、-20℃で凍結保存した。

4. ELISA キット

特定原材料として卵タンパク質、小麦タンパク質およびそばタンパク質の検出は、通知法に記載のELISAキットを使用した。

1) 小麦タンパク質検出

- FASTKIT エライザ Ver. III 小麦(日本ハム)(以下、日本ハム(小麦)キット)
- モリナガ FASPEK エライザ II 小麦(グリアジン)(森永生化学研究所)(以下、モリナガ(小麦)キット)
- アレルゲンアイ ELISA® II 小麦(プリマハム)(以下、プリマハム(小麦)キット)

2) そばタンパク質検出

- FASTKIT エライザ Ver. III そば(日本ハム)(以下、日本ハム(そば)キット)
- モリナガ FASPEK エライザ II そば(森永

生化学研究所)(以下、モリナガ(そば)キット)

- アレルゲンアイ ELISA[®] II そば(プリマハム)(以下、プリマハム(そば)キット)

3)卵タンパク質検出

- FASTKIT エライザ Ver. III 卵(日本ハム)(以下、日本ハム(卵)キット)
- モリナガ FASPEK エライザ II 卵(卵白アルブミン)(森永生化学研究所)(以下、モリナガ(卵)キット)
- アレルゲンアイ ELISA[®] II 卵(オボアルブミン)(プリマハム)(以下、プリマハム(卵)キット)

5.外部精度管理調査試料の均質性および安定性

作製した試料について均質性および安定性の確認を行った。均質性の確認は、試料の作製後(0ヶ月)に行った。調査試料の各基材についてそれぞれランダムに10容器からn=1でサンプリングして、ELISA法による小麦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、均質であるかどうかを判断した。また、試料作製から1.5ヶ月(調査期間前)、5ヶ月(調査期間後)において試料を測定し、1.5ヶ月における濃度に対する割合として安定性を算出した。

均質性および安定性はモリナガ(小麦)キット、日本ハム(小麦)キットおよびプリマハム(小麦)キットの3種類のELISAキットを用いて測定した。安定性には使用期限内にある同じロットを使用した。

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

外部精度管理調査には60機関が参加した。これらの機関には平成30年9月3日に調査試料と実施要領を宅配便(冷凍)にて送付した。

測定には、基本的には各機関、日本ハム(小麦)キット、モリナガ(小麦)キット)、プリマハム(小麦)キットのうち、任意の2種類を使用した。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29年10月5日とした。

7.外部精度管理調査結果の解析

参加機関から提出された測定値は、通知法の別紙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」との記載より、試料別、測定キット別に集計した。

これらのデータについては統計解析システムJMP(SAS Institute Japan)を用い、Xbar-R管理図を代用した解析を実施した。この際、Xbar管理図の管理限界線の値は(中央値±中央値の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」との記載があることから、キットの測定誤差の範囲についてもこれ以下で設定した。また、測定値から算出した各キットで測定された小麦タンパク質の含有率については、用いるキットにより検出される抗原のプロファイルが異なることから、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て解析を行った。

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、アンケート結果をとりまとめ、検討を加えた。今回の外部精度管理調査研究でモリナガ(小麦)キットを使用した機関は 60 機関、日本ハム(小麦)キットを使用した機関は 55 機関、プリマハム(小麦)キットを使用した機関は 4 機関であった。プリマハム(小麦)キットは使用機関数が少なかったことからキットごとの統計解析は行わなかった。

8.3 種タンパク質添加試料の検討

1)安定性

安定性試験は、ベビーフードおよびかぼちゃ基材について、各基材 4 容器から $n=1$ でサンプリングして、ELISA 法により卵、小麦およびそばタンパク質濃度の測定を行った。

2)加熱による検出力変化

こしあんに 3 種類のたんぱく質を加えたサンプルについて過熱により検出力変化の検討を行った。

3 種タンパク質含有こしあんサンプル(約 10 g/tube) 4 本から各チューブ $n=6$ で 1 g/50-mL チューブに分取した。うち、任意の 3 本について沸騰湯浴中で、5 分間加熱後、放冷した。各キット当たり、4 本の各チューブから非加熱および加熱を 1 本ずつ計 8 本について ELISA キットにより卵、小

麦およびそばタンパク質の測定を行い、加熱、非加熱の比較を行った。

3)凍結融解による影響

試料の凍結融解による影響を検討するために、すでに作製してある試料(特定原材料:卵、基材:かぼちゃペースト)を用いて凍結融解 0 回、1 回、3 回、5 回の 4 サンプルを作製し、卵タンパク含有量の測定を行った。

試料は室温で 3 時間、放置し融解したのち、再度、冷凍庫で凍結する、という作業を繰り返した。

卵タンパク質の含量測定には日本ハム(卵)キット、モリナガ(卵)キット、プリマハム(卵)キットの 3 キットを使用した。

約 10 g ずつ試料を分注してあるチューブを 1 条件につき、2 チューブずつ用いた ($n=2$)。

各チューブからは、1 g ずつ 3 本分注し、1 キット当たり 1 本使用し、ELISA キットにより卵タンパク質の測定を行った。

(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とした。

外部精度管理調査試料については、検査終了後の調査試料の保管期間および廃棄は、各機関の SOP に従って実施することとした。

C.D. 結果および考察

1. 外部精度管理調査試料の均質性

試料作製後の均質性試験 ($n=10$)の結果は図 1 に、得られた含有量および変動係数は表 1 に示した。得られた平均測定値は、

添加タンパク質量 10 µg/g に対し、試料 1 で 8.6 ~ 10.3 µg/g、試料 2 で 8.5 ~ 9.7 µg/g となり、いずれのキットでも試料間での平均測定値に大きな差は認められなかった。また、キット間ではモリナガ(小麦)キットが最も高く、プリマハム(小麦)キット、日本ハム(小麦)キットの順となった。変動係数は試料 1 で 0.017 ~ 0.048、試料 2 では 0.037 ~ 0.050 とキット間、試料間ともに大きな差は認められなかった。したがって、試料 1、2 とともに 3 キットのいずれにおいても均質であると判断し、作製した試料はキットに依存せず評価可能な検出ができると示唆された。

2. 外部精度管理調査試料の安定性

均質性に用いたキットのロットは、調査終了前に使用期限が来るため、安定性は、均質性とは別のロットで、作製後 1.5 ヶ月(調査期間前)および作製後 5 ヶ月(調査期間後)に行った。(図 2)。その結果、試料 1 および試料 2 は約 96% ~ 105%の範囲であった。

したがって、今回作製した調査試料は、調査期間中の安定性は確保されていると判断した。

3. 外部精度管理調査結果(回収データの集計結果)

参加機関の測定値を試料別かつ測定キット別に集計し、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(小麦)キットは 60 機関が、日本ハム(小麦)キットは 55 機関が、プリマハム(小麦)キットは 4 機関が使用した。プリマハム(小麦)キットを使用した機関が少なかったことからキットごとの統計解析は行わなかった。モリナガ(小麦)キットと日本ハム(小麦)キットのデータを比較すると、測定値の平均は試料 1、試料 2 とともにモリナガ(小麦)キット

が、日本ハム(小麦)キットよりもやや高い数値を示した。変動係数はモリナガキットで 0.0882 ~ 0.0899、日本ハム(小麦)キットでは 0.0940 ~ 0.0974 と日本ハム(小麦)キットでやや高い値を示した。

4. キット別集計結果

1) モリナガ(小麦)キット

(1) 試料 1 の解析結果

モリナガ(小麦)キットを用いて測定した 60 機関中、メジアン・クリーニングで除外される機関はなかった。試料 1 における統計量を表 3 に示した。また、報告値のヒストグラムおよび正規分位点プロットを図 4 に、z-スコアおよび順位を図 5 に、Xbar-R 管理図を図 7 に示した。

全機関のロバスト平均値 ± ロバスト標準偏差は 10.768 ± 0.968 µg/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 3 以上の機関が 2 機関あり、これは明らかな外れ値と考えられた。また、z-スコアの絶対値が 2 以上、3 未満の機関は 1 機関であった。

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 3 機関あった。

(2) 試料 2 の解析結果

モリナガ(小麦)キットを用いて測定した全 60 機関中、メジアン・クリーニングで除外された機関は 1 機関認められた。試料 2 における統計量を表 3 に示した。また、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、z-スコアおよび順位を図 5 に、メジアン・クリーニング後の z-スコアおよび順位を図 6 に、Xbar-R 管理図を図 7 に、メジアン・クリーニング後の Xbar-R 管理図は図 8 に示した。

全機関のロバスト平均値 ± ロバスト標準偏差は 10.386 ± 0.916 µg/g、メジアン・クリーニン

グ後の 59 機関のロバスト平均 ± ロバスト標準偏差は $10.359 \pm 0.891 \mu\text{g/g}$ であった。これらに基づきメジアン・クリーニング後の z-スコアを算出したところ、z-スコアの絶対値が 3 以上の機関が 1 機関あり、これは明らかな外れ値と考えられた。また、z-スコアの絶対値が 2 以上、3 未満の機関は 2 機関であった。

メジアン・クリーニング後の 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。また、R 管理図で上部管理限界線を超えた機関が 3 機関あった。

2) 日本ハム(小麦)キット

(1) 試料 1 の解析結果

日本ハム(小麦)キットを用いて測定した全 55 機関中、メジアン・クリーニングで除外された機関は 1 機関認められた。試料 1 における統計量を表 4 に示した。また、報告値のヒストグラムおよび正規分位点プロットを図 9 に、z-スコアおよび順位を図 10 に、メジアン・クリーニング後の z-スコアおよび順位を図 11 に示した。また、Xbar-R 管理図は図 12 に、メジアン・クリーニング後の Xbar-R 管理図は図 13 に示した。

全機関のロバスト平均値 ± ロバスト標準偏差は $9.552 \pm 0.898 \mu\text{g/g}$ であり、メジアン・クリーニング後の 54 機関のロバスト平均値 ± ロバスト標準偏差は $9.521 \pm 0.864 \mu\text{g/g}$ であった。これに基づきメジアン・クリーニング後の z-スコアを算出したところ、z-スコアの絶対値が 3 以上の機関が 2 機関あり、これは明らかな外れ値と考えられた。また、z-スコアの絶対値が 2 以上、3 未満の機関は 4 機関であった。

メジアン・クリーニング後の 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。また、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。

(2) 試料 2 の解析結果

日本ハム(小麦)キットを用いて測定した全 55 機関中、メジアン・クリーニングで除外された機関は 2 機関認められた。試料 2 における統計量を表 4 に示した。また、報告値のヒストグラムおよび正規分位点プロットを図 9 に、z-スコアおよび順位を図 10 に、メジアン・クリーニング後の z-スコアおよび順位を図 11 に示した。また、Xbar-R 管理図は図 12、メジアン・クリーニング後の Xbar-R 管理図は図 13 に示した。

全機関のロバスト平均値 ± ロバスト標準偏差は $9.466 \pm 0.922 \mu\text{g/g}$ であり、メジアン・クリーニング後の 53 機関のロバスト平均値 ± ロバスト標準偏差は $9.402 \pm 0.848 \mu\text{g/g}$ であった。これに基づきメジアン・クリーニング後の z-スコアを算出したところ、z-スコアの絶対値が 3 以上の機関が 1 機関あり、これは明らかな外れ値と考えられた。また、z-スコアの絶対値が 2 以上、3 未満の機関は 2 機関であった。

メジアン・クリーニング後の 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。また、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。

3) プリマハム(小麦)キット

プリマハム(小麦)キットを用いて測定した機関は 4 機関であったため、統計解析は実施しなかった。各機関の平均値および濃度の範囲は図 14 に示した。

4) キットのロットと測定値について

今回の外部精度管理調査において、モリナガキットでは 9 ロット(1 機関使用ロット不明)、日本ハムキットでは 6 ロットが使用されており、ロットと測定値の関連については図 15 に示した。また、当センターのデータ(均一性試験 1 回、安定性試験 2 回)のデータも同時に示した。

モリナガ(小麦)キットについては1機関だけが使用したロットが3ロット(ロットが不明の1機関を含む)あり、うち2ロットでは測定値がzスコアで3以上となった。ロット番号(末尾2桁)49を使用した機関の検量線は他ロットの検量線とほぼ同じ形を示していた。したがって、これらの2ロットでは他ロットとの差についてはロット間差のためであるかどうかはわからなかった。1機関のみ使用のロット番号(末尾2桁)45を含むその他のロットでは明確なロット差は認められなかった。

日本ハム(小麦)キットについては図15、b)の図からロット番号(末尾2桁)37で他ロットよりも低い数値を示しているように認められたことから、ロット間差について精査した。ロット番号(末尾2桁)37は当センターで均一性試験時に使用したロットでもあり、安定性試験時には異なるロット番号(末尾2桁)39を使用していたことから、参加機関中、ロット番号(末尾2桁)39で試験を行ったデータを用いて比較を行った。ロット番号(末尾2桁)37とロット番号(末尾2桁)39の参加機関による各試料の平均値、および当センターでの各試料の値を表5に示した。ロット番号(末尾2桁)37とロット番号(末尾2桁)39では試料1、試料2ともに参加機関および当センターのどちらにおいても1 $\mu\text{g/g}$ 程度の差が認められた。

ロット番号(末尾2桁)37についてはn数が少ないことからデータの正確性の問題もあるが、参加機関の数値と当所における数値の両方で2つの試料ともに平均で2ロット間に差が認められたこと、同じくn数の問題はあるが、同一施設内(当センター)のデータでも2ロット間に差が認められたことなどから、外部精度管理を行う場合のロット間差については今後も注意が必要と考えられる。

プリマハム(小麦)キットのデータは4機関(当センターを含め5機関)、2ロットで、1ロットは1機関しか使用していなかったが、測定値の比較のために、図15、c)に結果を示した。

5) 検量線について

本調査研究ではキットのロットは指定していないことから、各機関が入手可能なロットを使用しての参加となった。このため、各キット、複数ロットが使用されており、検量線の反応性を比較することが可能であった。モリナガ(小麦)キット、日本ハム(小麦)キットおよびプリマハム(小麦)キットの各キットの全検量線を図16、図17、および図18に示した。モリナガ(小麦)キットおよび日本ハム(小麦)キットの検量線を比較するとモリナガ(小麦)キットの検量線は日本ハム(小麦)キットの検量線よりも幅が広がっていた。また、両キットとも集団から外れた検量線が数機関ずつ認められた。

プリマハム(小麦)キットについては、4機関とデータ数が少ないので参考扱いとはなるが、ロット間より機関ごとの差が大きいように見受けられた。また、プリマハム(小麦)キットで使用されたロットの詳細は表6に示した。

次に、表7および表8に本調査研究で使用されたモリナガ(小麦)キットおよび日本ハム(小麦)キットのロットおよび使用期限と、使用機関数、図19および図20にモリナガ(小麦)キットおよび日本ハム(小麦)キットにおける、ロット別の検量線のグラフを示した。各キットは1機関ずつ使用期限外のものを使用していた。また、どちらのキットにおいても全体の平均と比較して明らかにロットごとに異なっているような反応は示しておらず、それぞれのキットは試験に供した複数のロットにおいて安定した検量線が得られた。

機関番号12では検量線がモリナガ(小麦)

キット、日本ハム(小麦)キットともに、集団から低く外れた値を示しており、測定値における外れ値は検量線あるいは標準液の調製に問題があった可能性も考えられた。検量線が背景から異なっている場合、例えば、背景よりも明らかに高い、低い、または線形が異なっているなどの場合は注意が必要であるだろう。

6) 測定値の相関性

(1) 同一キットにおける試料間の測定値の相関性

モリナガ(小麦)キット、日本ハム(小麦)キットおよびプリマ(小麦)ハムキット(参考)について、各機関の試料1と試料2の測定値の相関を図21に示した。その結果、モリナガ(小麦)キットでは相関係数が0.742、日本ハム(小麦)キットでは0.838といずれも高い相関が認められた。また、モリナガ(小麦)キットでは試料1の測定値が試料2の測定値より高い機関がやや多い結果となった。日本ハム(小麦)キットではデータは $y = x$ を境にほぼ均等に分散しているように認められた。

(2) 同一試料におけるキット間の測定値の相関性

各試料におけるモリナガ(小麦)キットと日本ハム(小麦)キット間の相関を図22に示した。その結果、試料1では相関係数が0.526、試料2では0.819と試料2で高い相関を示した。また、試料1、試料2ともモリナガ(小麦)キットでの測定値が日本ハム(小麦)キットでの測定値を上回る傾向が認められた。

5. 回収データの確認

各参加機関からデータを回収後、提出された生データと報告書のデータ確認を行った。報告書と生データでの確認ができなかった場合や、誤記が認められた場合などが数件認め

られた。また、今後の課題として提出に用いた報告書様式の改善が必要な事項が見受けられた。以下に主なものを記載する。

- プレートリーダによる生データの提出がない
報告書のデータが生データに沿った数値かどうかの確認ができなかった。計算の確認ができなかった。
- 提出された生データが報告書のデータと異なる
報告書中に記載の数値がプレートリーダによる生データと異なっていた。誤記と判断できる場合は、生データの数値を採用して、再計算を行った。
- 報告書の吸光度記入欄に換算後の濃度を記入
報告書中に記入すべき数値を間違えていた。
- 数値処理
数値処理の桁数、生データの数値をそのまま記入等の理由により報告書の数値をそのまま計算した場合、合致しない場合があったが、生データを確認した。桁数、数値の扱いについては各施設のSOPを優先する等のより詳細な記載が必要であったと考える。
- 補正計算
重量や希釈率による補正を行っている機関があった。適切な補正は重要であるが、報告書に記入欄がなかったことから、一部機関ではどのような補正を行ったかが提出データからだけでは判別できない場合があった。計算時の補正は必要な場合があることから、報告書の記入様式を見直す必要がある。
- 使用ロット

使用ロットおよび使用期限が正確に記されておらず、ロット番号または使用期限から誤記を判断した。また、外箱と試薬に記載のロットが異なる場合があるため、何を記載するか、報告書様式に明記する必要がある。

外部精度管理調査研究において、試験の手技の正確性と同様に、結果を正しく報告することが必要となる。提出時の一層の確認を促すとともに正しく報告するための報告書様式を整える必要がある。

6. 検査手法のまとめ

各参加機関が検査に採用した手法をまとめて表9および表10に示した。ピペット操作に関して、抽出溶液等の希釈操作はすべての機関が手動で行っていたが、プレートの洗浄方法については、手動が30機関、自動が30機関と半数ずつであった。また、検量線の近似曲線は56機関で4パラメーターロジスティック(4PL)が、4機関で5パラメーターロジスティック(5PL)が採用されていた。検量線の相関(R^2)はほとんどの機関で >0.99 となり、手技に問題がないと考えられた。試料溶液の添加はすべての機関が20分以内に行っていた。抽出液についてはほとんどの機関が抽出当日に試験を行っていたが、7日以上保存を行った機関も認められた。抽出液の保存状態および温度による測定値の中央値からの乖離は特に認められなかった。

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(平成29年度)を表11および表12に示した。

卵、乳、小麦、そば、落花生、甲殻類の特定原材料6種中、すべての種類で検査実績があるのは18機関であり、参加した機関の約1/3

で実施されていた。試験数は小麦、乳ではそれぞれ実施件数が4000件を超え、小麦、そば、落花生ではそれぞれ3000件以上、甲殻類では1500件程度であった。

8. 卵、小麦およびそばタンパク質を用いた試料の検討

1) 3種タンパク質を用いた試料の安定性

小麦タンパク質調製液、そばタンパク質調製液、卵タンパク質調製液の3種をベーフードとかぼちゃペーストの2種の基材に添加し、初期検討を行った。測定は各特定原材料につき3種のキットを用いELISA法により行った。

そばタンパク質については6ヶ月、小麦タンパク質と卵タンパク質については5ヶ月の安定性を確認した(図23)。

3種タンパク質ともに測定した期間内では安定しており、基材に3種混合した試料は外部精度調査試料として使用可能であると考える。

2) 3種タンパク質を用いた試料の過熱による検出力変化

3種タンパク質を添加した試料としてこしあんを基材にした試料を作製し、加熱(5分、100℃)の影響を検討した。

加熱前後の含有量については図24に、加熱による安定性については図25を示す。キットによって反応性が異なるものの、非加熱と加熱サンプルでは、どの特定原材料についてもほぼ同じ数値を示しており、本条件下では加熱による影響は認められない。また、加熱により鶏卵アレルギーが食品マトリックス中のグルテンなどと複合体を形成するなどにより、反応性の変化が報告されているが、今回作製した、こしあん基材中

に 3 種類の特定原材料を添加した試料においては、ELISA 法による検出では、加熱によってもお互い干渉せず、安定であることがわかった。添加した各タンパク質量は微量であるため、お互いに影響がなかったことが理由として考えられた。

9. 凍結融解による影響

かぼちゃペーストに卵タンパク質を添加した試料を用いて、凍結融解による影響を検討した。結果は図 26 に見られるように、いずれのキットにおいても、1~5 回の凍結融解において、コントロールと差が認められなかった。各キットにおける 5 回凍結融解における 0 回凍結融解に対する相対含量は日本ハム(卵)キット：97.2±0.4%、モリナガ(卵)キット：98.6±1.1%、プリマハム(卵)キット：99.2±0.2%であった。

以上の結果より、本試料は 5 回の凍結融解を行っても、測定試料としての品質に影響がないと結論した。したがって、再試験のために、すでに融解した試料を再度凍結し、使用することは可能であると考えた。

E. 結論

本年度は、小麦タンパク質を添加し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、60 機関を対象に実施した。

メジアン・クリーニング後にロバスト平均値およびロバスト標準偏差を用いて z-スコアを算出したところ、各キットおよび試料ごとの解析結果において z-スコアの絶対値が 2~3 および 3 以上となる機関が数機関認められた。

また、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、R 管理図で管理限界線を超える機関が各解析結果ごとに 1~3 機関認められた。

また、キットのロット間差についても注意が必要とすることが示唆された。

さらにいずれの機関においても検量線の相関が高かったことから今回の調査研究に参加した機関では安定した検査技術を持っていると考えられた。

新規の外部精度管理調査用試料の検討では、卵、小麦およびそばタンパク質の 3 種を基材に同時に添加した外部精度管理調査用試料を作製し、安定性や加熱に対する影響を検討し、5~6 ヶ月程度安定である機材や加熱に対して安定な基材が得られた。また、凍結融解の繰り返しに対しても安定であるとの結果が得られた。

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

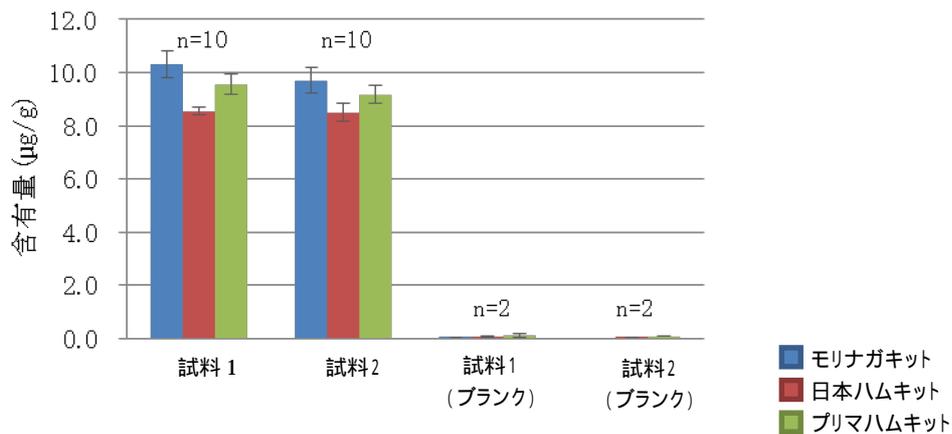
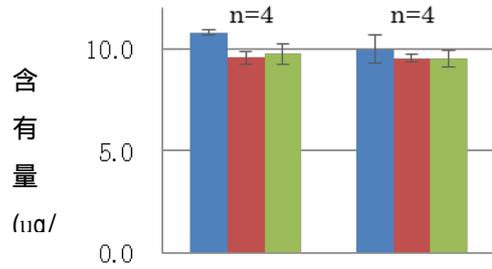


図1 外部精度管理調査試料(小麦)の均質性試験結果

表1 外部精度管理調査試料(小麦)の均質性試験における各キットの含有量と変動係数

キットメーカー	試料 1		試料 2	
	含有量 (µg/g)	変動係数	含有量 (µg/g)	変動係数
モリナガ	10.3	0.048	9.7	0.050
日本ハム	8.6	0.017	8.5	0.039
プリマハム	9.6	0.039	9.2	0.037

a) 1.5 ヶ月 (調査期間前)



b) 5 ヶ月 (調査期間後)

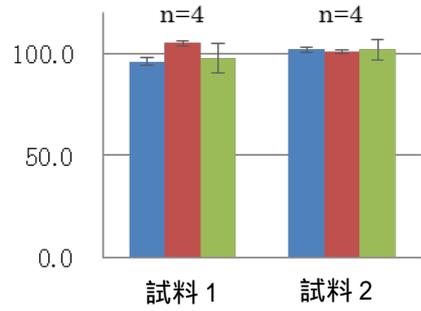
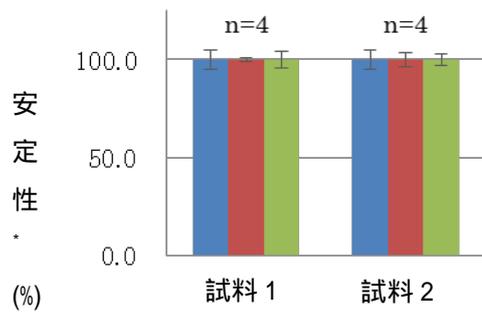
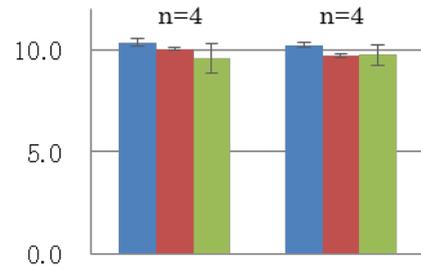


図 2 外部精度管理調査試料(小麦)の含有量および安定性

*安定性は 1.5 ヶ月の測定値を 100%とする

上段は含有量、下段は安定性

表 2 外部精度管理調査研究における報告結果の平均値、標準偏差および変動係数

	試料 1			試料 2		
	モリナガ (小麦) キット	日本ハム (小麦) キット	プリマハム (小麦) キット**	モリナガ (小麦) キット	日本ハム (小麦) キット	プリマハム (小麦) キット**
データ数	60	55	4	60	55	4
平均値* (μg/g)	10.768	9.552	9.965	10.386	9.466	9.838
標準偏差* (μg/g)	0.968	0.898	0.780	0.916	0.922	0.641
変動係数*	0.0899	0.0940	0.0783	0.0882	0.0974	0.0652
添加量 (μg/g)	10			10		

*ロバスト方式

** プリマハム(小麦)キットの使用は 4 機関のため、数値は参考データ

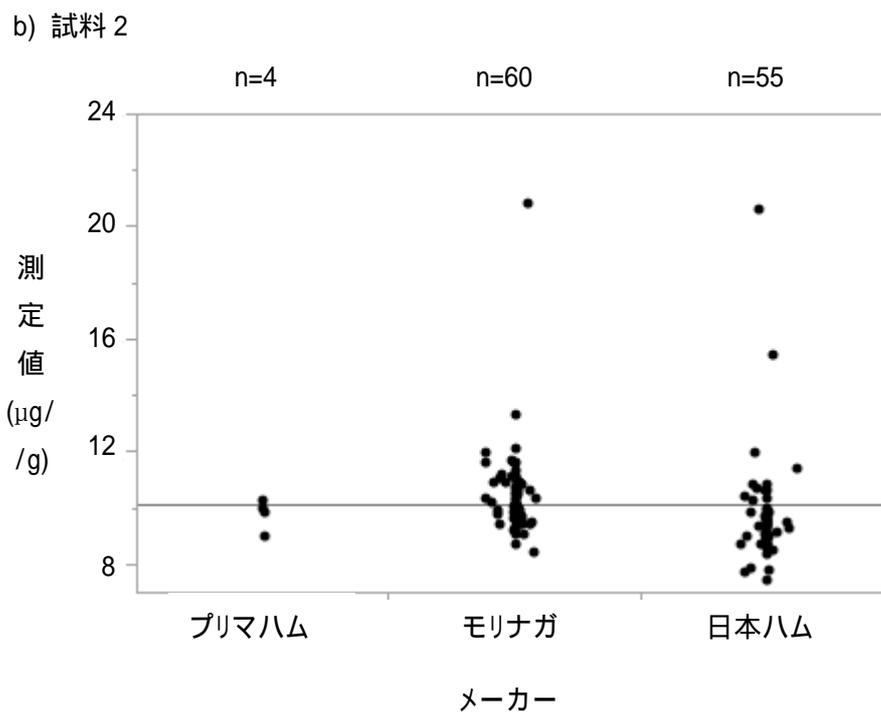
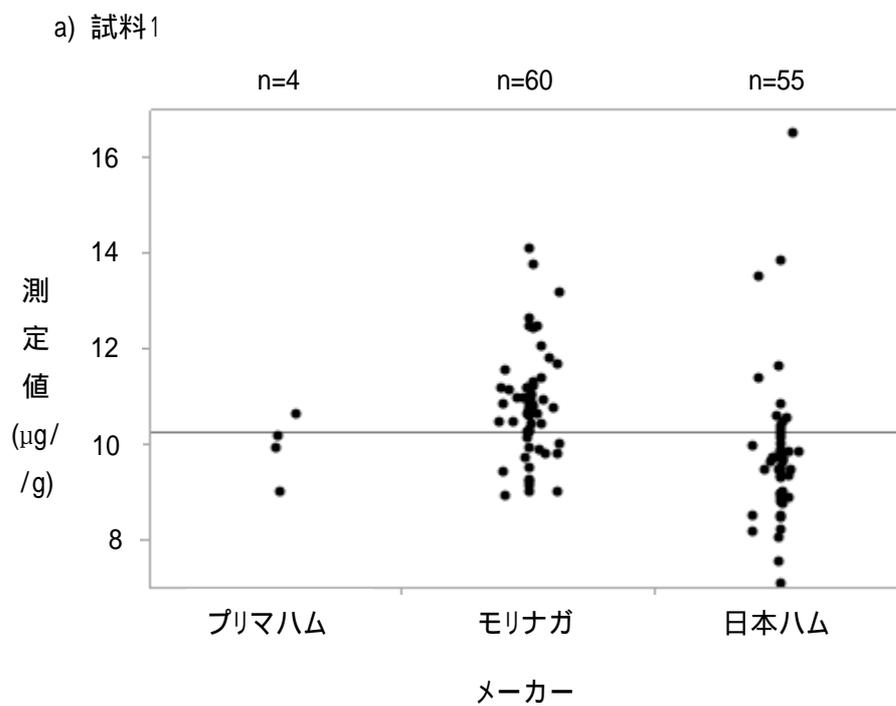


図3 外部精度管理調査研究での各試料(小麦)におけるキットごとのデータ分布

表3 モリナガ(小麦)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	
統計量の種類		ロバスト方式	ロバスト方式	ロバスト方式(メジアン・クリーニング後)
測定の 統計量	データ数 (有効機関数)	60	60	59
	平均値	10.768	10.386	10.359
	分散	0.936	0.838	0.794
	標準偏差	0.968	0.916	0.891
	変動係数	0.08986	0.08815	0.08603
	第1四分位数(Q1)	10.188	9.683	9.670
	中央値(メジアン)	10.855	10.350	10.310
	第3四分位数(Q3)	11.220	10.978	10.970
	最大値	12.208	11.748	11.684
	最小値	9.329	9.024	9.033
	範囲	2.879	2.724	2.651
	四分位範囲	1.033	1.295	1.300
測定の 差	Rの平均	0.484	0.402	0.402
	上部管理限界	1.580	1.314	1.314

a) 試料 1

b) 試料 2

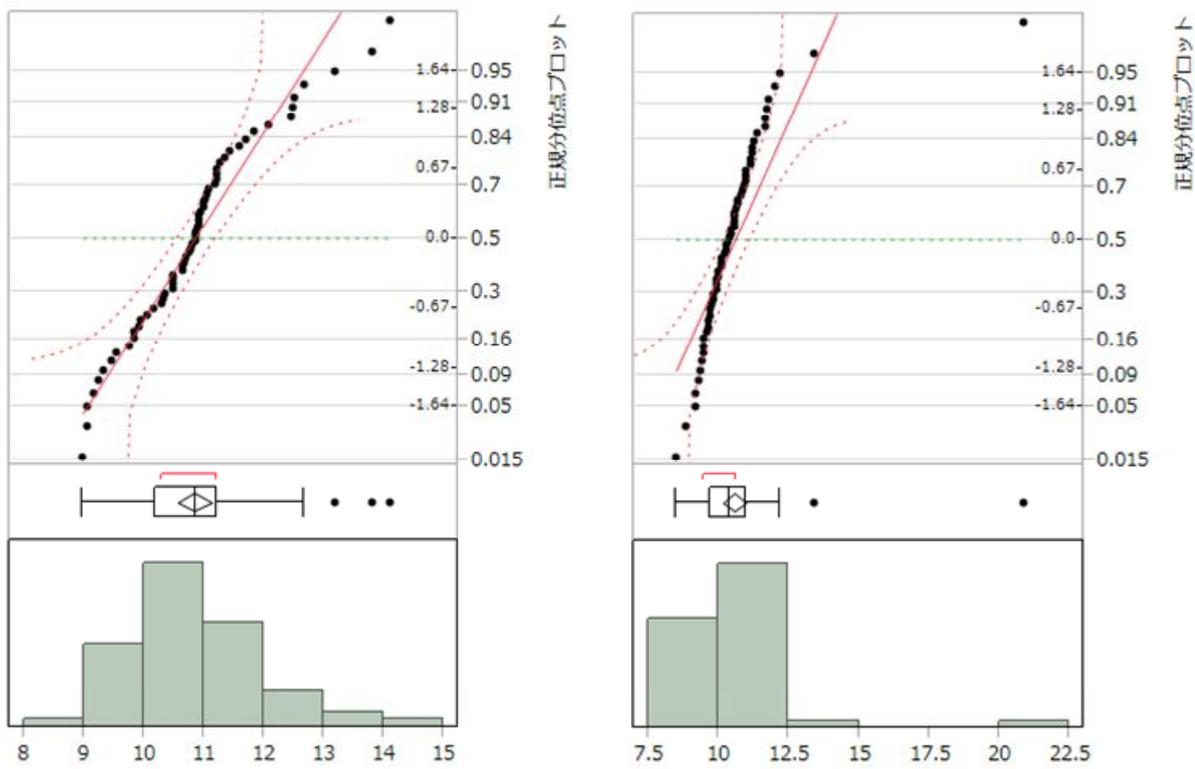
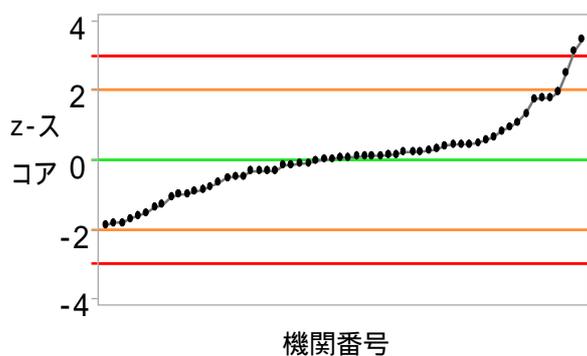
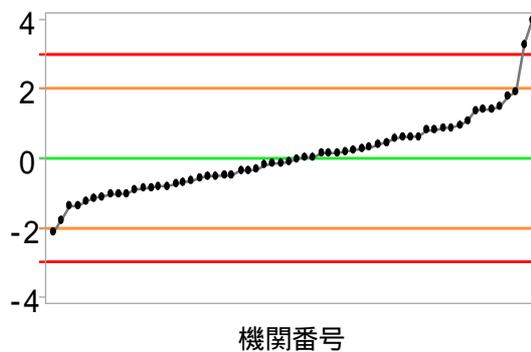


図 4 モリナガ(小麦)キットを用いた測定によるヒストグラムおよび正規分位点プロット

a) 試料 1



b) 試料 2



z-スコア ≤ -2 の順位	z-スコア	2 ≤ z-スコア の順位	z-スコア
		1	3.474
		2	3.144
		3	2.513

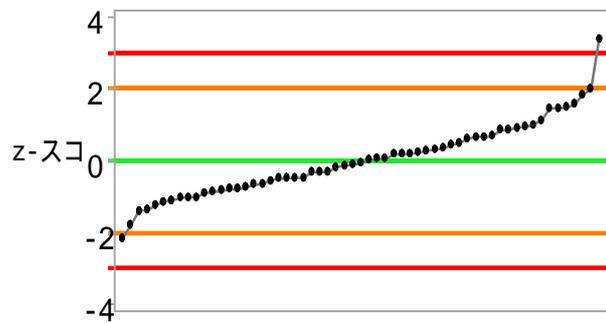
z-スコア ≤ -2 の順位	z-スコア	2 ≤ z-スコア の順位	z-スコア
1	-2.103	1	11.484
		2	3.281

図中 z-スコア 4 以上は 4 に設定

(機関数 60)

図 5 モリナガ(小麦)キットを用いた測定による z-スコアおよび順位

機関番号は左から試料 1 : 57, 32, 52, 24, 13, 46, 4, 53, 28, 42, 47, 31, 17, 10, 61, 33, 35, 20, 43, 51, 18, 29, 59, 45, 49, 9, 30, 36, 54, 21, 1, 3, 5, 2, 39, 60, 26, 38, 27, 25, 34, 37, 8, 19, 14, 22, 50, 23, 16, 44, 11, 40, 58, 41, 55, 6, 48, 56, 12, 7、試料 2 : 4, 24, 13, 53, 57, 52, 17, 28, 20, 32, 10, 43, 29, 47, 60, 18, 46, 5, 45, 31, 2, 3, 30, 38, 61, 51, 42, 35, 37, 14, 27, 1, 49, 23, 54, 39, 26, 25, 34, 50, 21, 36, 33, 8, 11, 44, 16, 58, 55, 19, 9, 6, 22, 59, 40, 56, 41, 48, 7, 12



機関番号

z-スコア ≤ -2 の順位	z-スコア	2 ≤ z-スコア の順位	z-スコア
1	-2.130	1	3.402
		2	2.021

(機関数 59)

図6 モリナガ(小麦)キットを用いた測定によるz-スコアおよび順位(試料2、メジアン・クリーニング後)

機関番号は左から試料2: 4, 24, 13, 53, 57, 52, 17, 28, 20, 32, 10, 43, 29, 47, 60, 18, 46, 5, 45, 31, 2, 3, 30, 38, 61, 51, 42, 35, 37, 14, 27, 1, 49, 23, 54, 39, 26, 25, 34, 50, 21, 36, 33, 8, 11, 44, 16, 58, 55, 19, 9, 6, 22, 59, 40, 56, 41, 48, 7

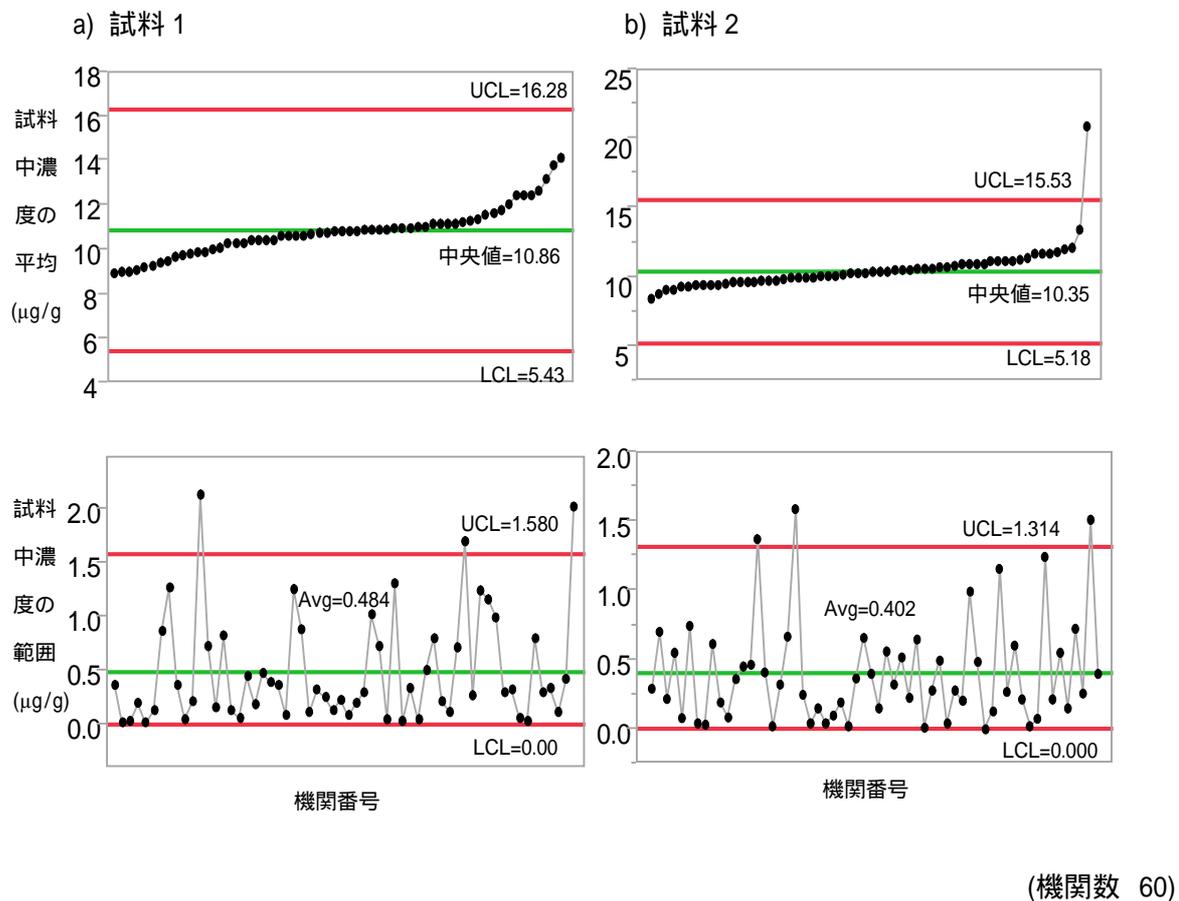


図7 モリナガ(小麦)キットを用いた測定による Xbar-R 管理図

機関番号(左から) 試料1: 57, 32, 52, 24, 13, 46, 4, 53, 28, 42, 47, 31, 17, 10, 61, 33, 35, 20, 43, 51, 18, 29, 59, 45, 49, 9, 30, 36, 54, 21, 1, 3, 5, 2, 39, 60, 26, 38, 27, 25, 34, 37, 8, 19, 14, 22, 50, 23, 16, 44, 11, 40, 58, 41, 55, 6, 48, 56, 12, 7; 試料2: 4, 24, 13, 53, 57, 52, 17, 28, 20, 32, 10, 43, 29, 47, 60, 18, 46, 5, 45, 31, 2, 3, 30, 38, 61, 51, 42, 35, 37, 14, 27, 1, 49, 23, 54, 39, 26, 25, 34, 50, 21, 36, 33, 8, 11, 44, 16, 58, 55, 19, 9, 6, 22, 59, 40, 56, 41, 48, 7, 12

Xbar 管理図(上段)の上部管理限界線(UCL)および下部管理限界線(LCL)は中央値 $\pm 50\%$ とした。R 管理図(下段)のUCLおよびLCLはRの平均値とJISハンドブックの係数D4(=3.267)から算出した。

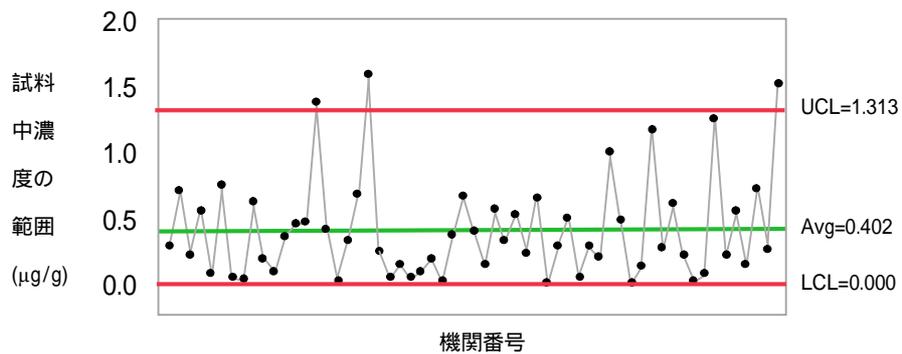
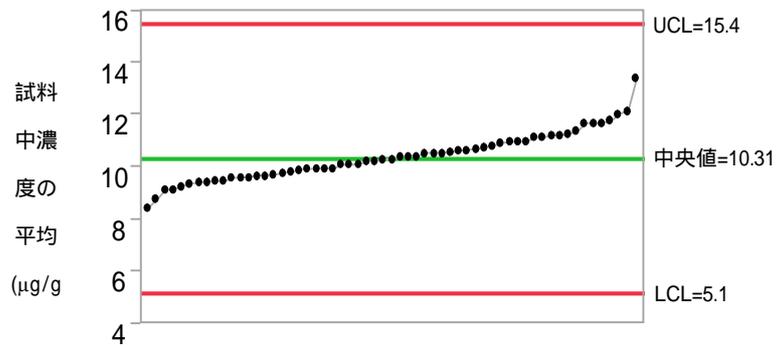


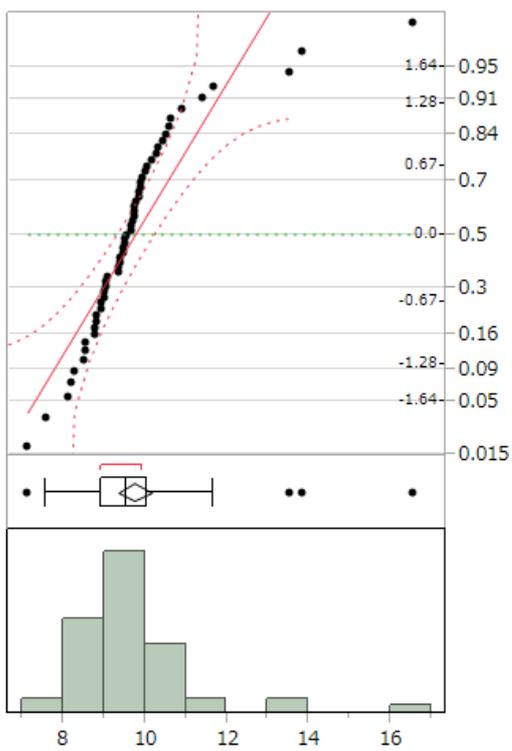
図8 モリナガ(小麦)キットを用いた測定による Xbar-R 管理図(試料2、メジアン・クリーニング後)

機関番号(左から) 試料2: 4, 24, 13, 53, 57, 52, 17, 28, 20, 32, 10, 43, 29, 47, 60, 18, 46, 5, 45, 31, 2, 3, 30, 38, 61, 51, 42, 35, 37, 14, 27, 1, 49, 23, 54, 39, 26, 25, 34, 50, 21, 36, 33, 8, 11, 44, 16, 58, 55, 19, 9, 6, 22, 59, 40, 56, 41, 48, 7

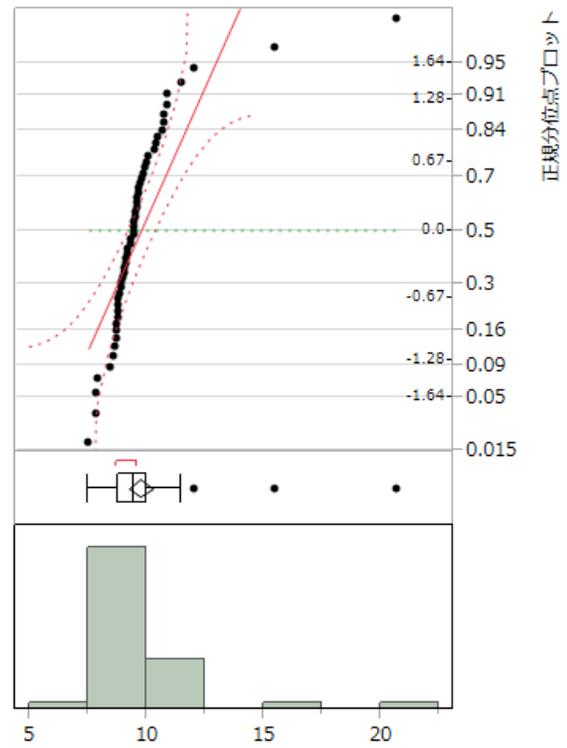
Xbar 管理図(上段)の上部管理限界線(UCL)および下部管理限界線(LCL)は中央値±50%とした。R 管理図(下段)のUCL および LCL は R の平均値と JIS ハンドブックの係数 D4(=3.267)から算出した。

表 4 日本ハム(小麦)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	
統計量の種類		ロバスト方式	ロバスト方式 (メジアン・クリーニング後)	ロバスト方式	ロバスト方式 (メジアン・クリーニング後)
測定 の統 計量	データ数 (有効機関数)	55	54	55	53
	平均値	9.552	9.521	9.466	9.402
	分散	0.806	0.747	0.850	0.719
	標準偏差	0.898	0.864	0.922	0.848
	変動係数	0.09402	0.09075	0.09739	0.09019
	第 1 四分位数 (Q1)	8.930	8.925	8.790	8.770
	中央値(メジアン)	9.550	9.525	9.420	9.410
	第 3 四分位数 (Q3)	10.040	10.010	10.000	9.885
	最大値	10.886	10.805	10.836	10.661
	最小値	8.217	8.237	8.096	8.142
	範囲	2.669	2.568	2.740	2.520
	四分位範囲	1.110	1.085	1.210	1.115
測定 の差	R の平均	0.516	0.512	0.295	0.281
	上部管理限界	1.684	1.672	0.963	0.918

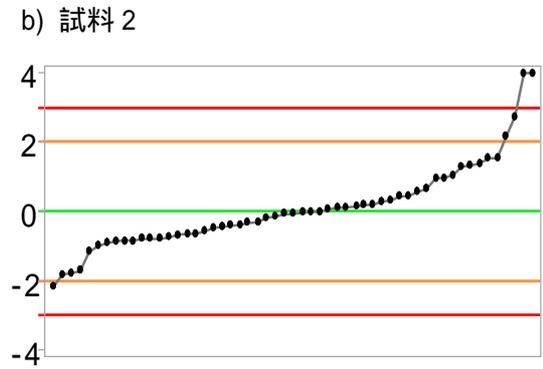
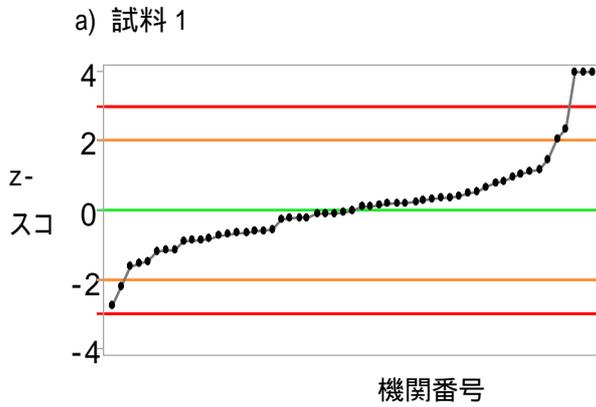


b) 試料 2



(機関数 55)

図 9 日本ハム(小麦)キットを用いた測定によるヒストグラムおよび正規分位点プロット



z-スコア ≤ -2 の順位	z-スコア	2 ≤ z-スコア の順位	z-スコア
1	-2.719	1	7.804
2	-2.196	2	4.797
		3	4.452
		4	2.370
		5	2.058

図中 z-スコア 4 以上は 4 に設定

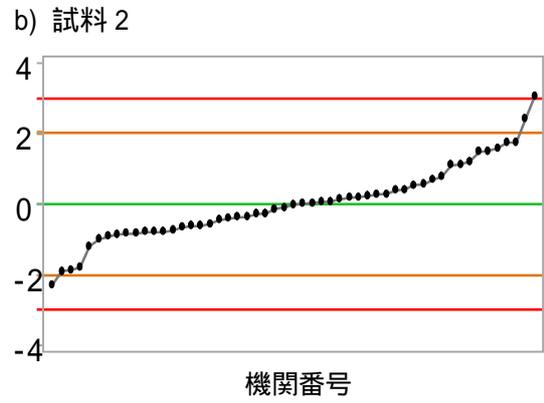
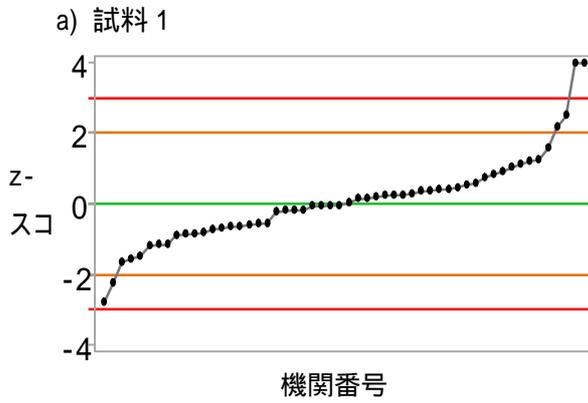
z-スコア ≤ -2 の順位	z-スコア	2 ≤ z-スコア の順位	z-スコア
1	-2.143	1	12.165
		2	6.546
		3	2.749
		4	2.174

図中 z-スコア 4 以上は 4 に設定

(機関数 55)

図 10 日本ハム(小麦)キットを用いた測定による z-スコアおよび順位

機関番号は左から試料 1: 53, 24, 30, 32, 3, 38, 47, 57, 28, 46, 61, 17, 31, 5, 25, 37, 42, 16, 45, 35, 6, 29, 51, 43, 54, 26, 52, 19, 4, 49, 33, 41, 2, 9, 40, 11, 58, 27, 44, 39, 20, 22, 14, 59, 1, 21, 60, 36, 10, 50, 48, 7, 34, 12, 23、試料 2: 53, 24, 30, 38, 61, 57, 37, 17, 3, 46, 4, 28, 31, 25, 52, 32, 45, 47, 43, 27, 16, 5, 29, 11, 51, 49, 42, 26, 60, 2, 22, 41, 58, 33, 14, 35, 39, 19, 54, 20, 44, 1, 59, 40, 21, 10, 6, 9, 36, 7, 50, 48, 34, 23, 12



z-スコア ≤ -2 の順位	z-スコア	2 ≤ z-スコアの順位	z-スコア
1	-2.790	1	5.022
2	-2.246	2	4.663
		3	2.499
		4	2.175

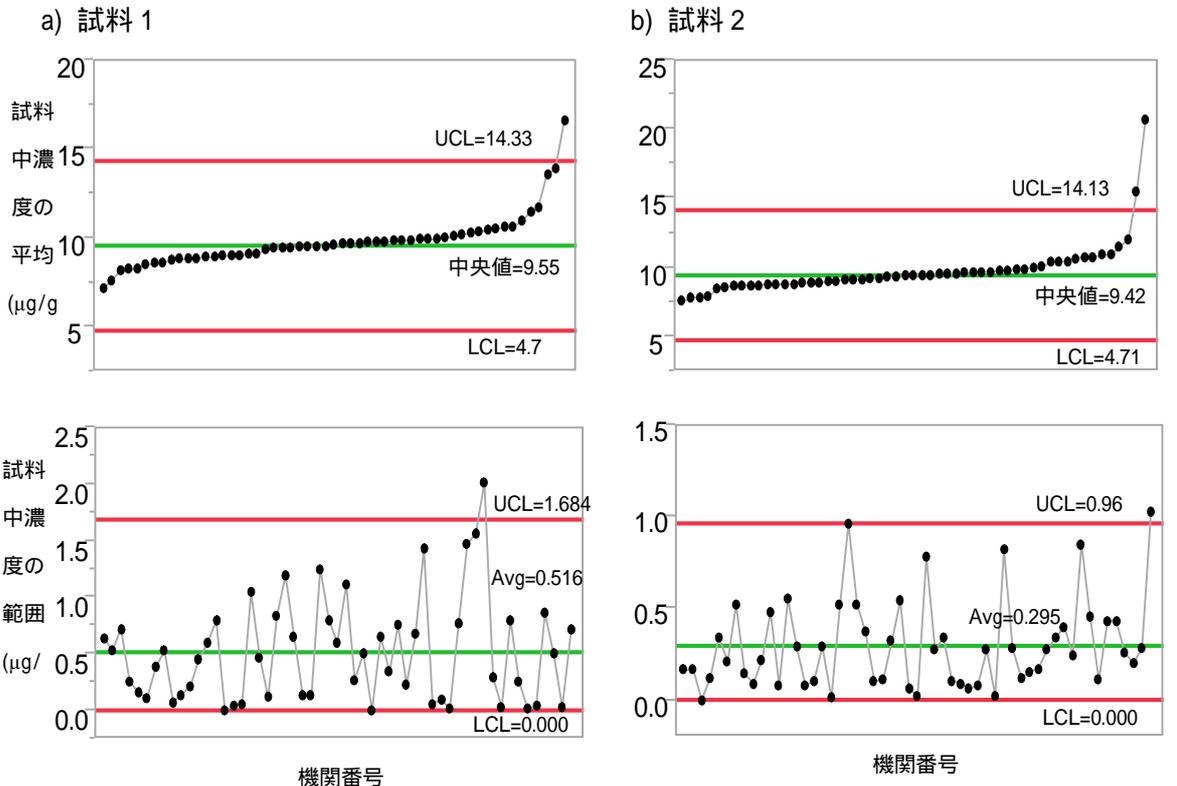
図中 z-スコア 4 以上は 4 に設定 (機関数 54)

z-スコア ≤ -2 の順位	z-スコア	2 ≤ z-スコアの順位	z-スコア
1	-2.255	1	3.064
		4	2.439

(機関数 53)

図 11 日本ハム(小麦)キットを用いた測定による z-スコアおよび順位(メジアン・クリーニング後)

機関番号は左から試料 1: 53, 24, 30, 32, 3, 38, 47, 57, 28, 46, 61, 17, 31, 5, 25, 37, 42, 16, 45, 35, 6, 29, 51, 43, 54, 26, 52, 19, 4, 49, 33, 41, 2, 9, 40, 11, 58, 27, 44, 39, 20, 22, 14, 59, 1, 21, 60, 36, 10, 50, 48, 7, 34, 12、試料 2: 53, 24, 30, 38, 61, 57, 37, 17, 3, 46, 4, 28, 31, 25, 52, 32, 45, 47, 43, 27, 16, 5, 29, 11, 51, 49, 42, 26, 60, 2, 22, 41, 58, 33, 14, 35, 39, 19, 54, 20, 44, 1, 59, 40, 21, 10, 6, 9, 36, 7, 50, 48, 34



(機関数 55)

図 12 日本ハム(小麦)キットを用いた測定による Xbar-R 管理図

機関番号は左から試料 1: 53, 24, 30, 32, 3, 38, 47, 57, 28, 46, 61, 17, 31, 5, 25, 37, 42, 16, 45, 35, 6, 29, 51, 43, 54, 26, 52, 19, 4, 49, 33, 41, 2, 9, 40, 11, 58, 27, 44, 39, 20, 22, 14, 59, 1, 21, 60, 36, 10, 50, 48, 7, 34, 12, 23, 試料 2: 53, 24, 30, 38, 61, 57, 37, 17, 3, 46, 4, 28, 31, 25, 52, 32, 45, 47, 43, 27, 16, 5, 29, 11, 51, 49, 42, 26, 60, 2, 22, 41, 58, 33, 14, 35, 39, 19, 54, 20, 44, 1, 59, 40, 21, 10, 6, 9, 36, 7, 50, 48, 34, 23, 12

Xbar 管理図(上段)の上部管理限界線(UCL)および下部管理限界線(LCL)は中央値 \pm 50%とした。R 管理図(下段)の UCL および LCL は R の平均値と JIS ハンドブックの係数 D4(=3.267)から算出した。

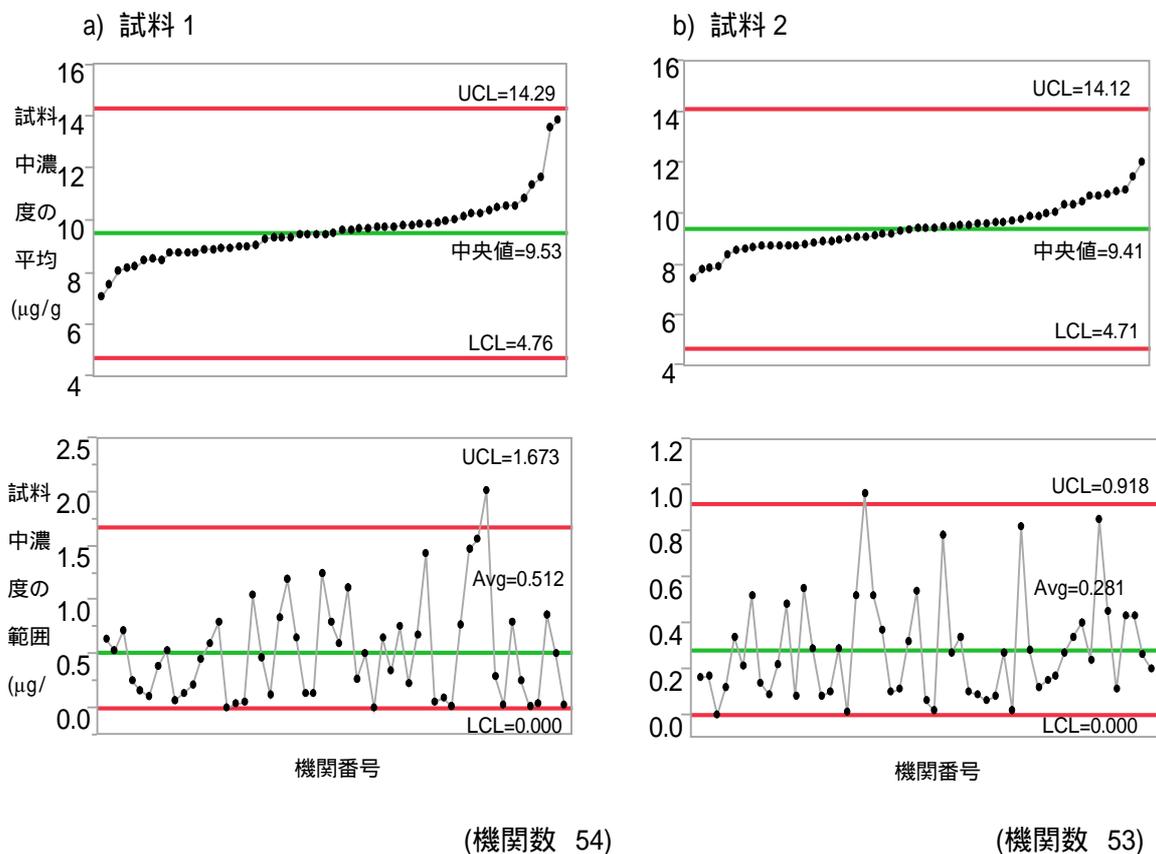
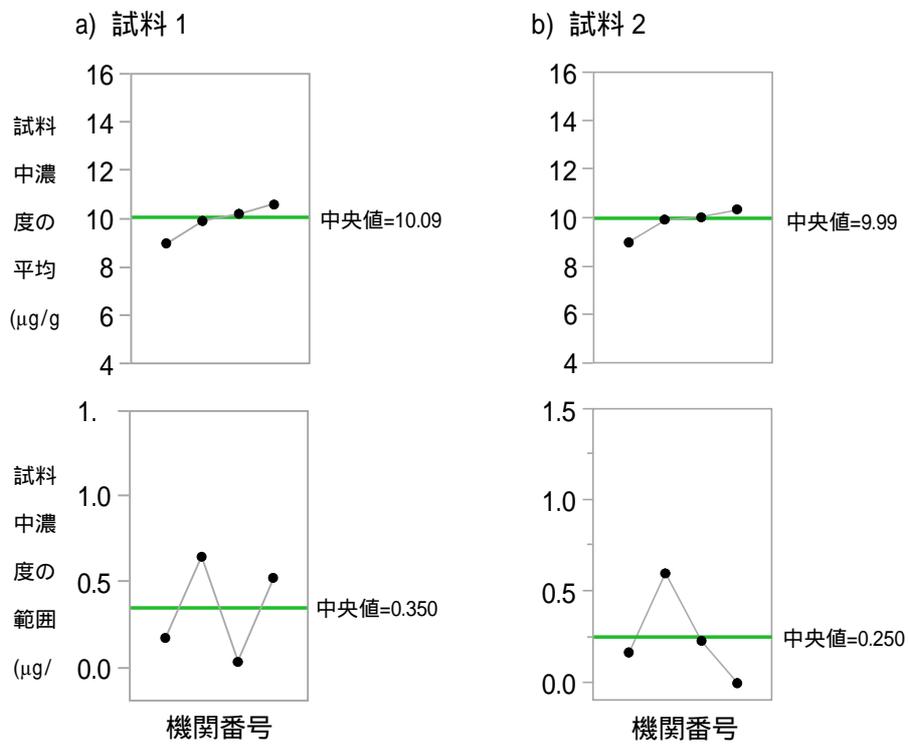


図 13 日本ハム(小麦)キットを用いた測定による Xbar-R 管理図(メジアン・クリーニング後)

機関番号は左から試料 1: 53, 24, 30, 32, 3, 38, 47, 57, 28, 46, 61, 17, 31, 5, 25, 37, 42, 16, 45, 35, 6, 29, 51, 43, 54, 26, 52, 19, 4, 49, 33, 41, 2, 9, 40, 11, 58, 27, 44, 39, 20, 22, 14, 59, 1, 21, 60, 36, 10, 50, 48, 7, 34, 12、試料 2: 53, 24, 30, 38, 61, 57, 37, 17, 3, 46, 4, 28, 31, 25, 52, 32, 45, 47, 43, 27, 16, 5, 29, 11, 51, 49, 42, 26, 60, 2, 22, 41, 58, 33, 14, 35, 39, 19, 54, 20, 44, 1, 59, 40, 21, 10, 6, 9, 36, 7, 50, 48, 34

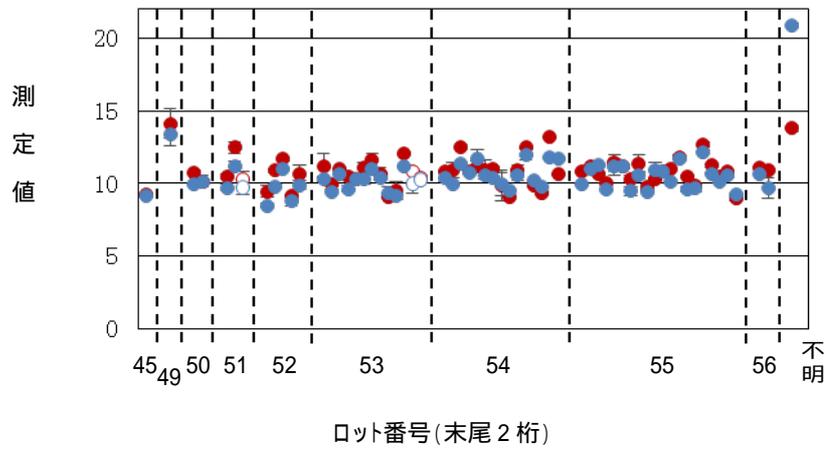
Xbar 管理図(上段)の上部管理限界線(UCL)および下部管理限界線(LCL)は中央値 \pm 50%とした。R 管理図(下段)の UCL および LCL は R の平均値と JIS ハンドブックの係数 $D4(=3.267)$ から算出した。



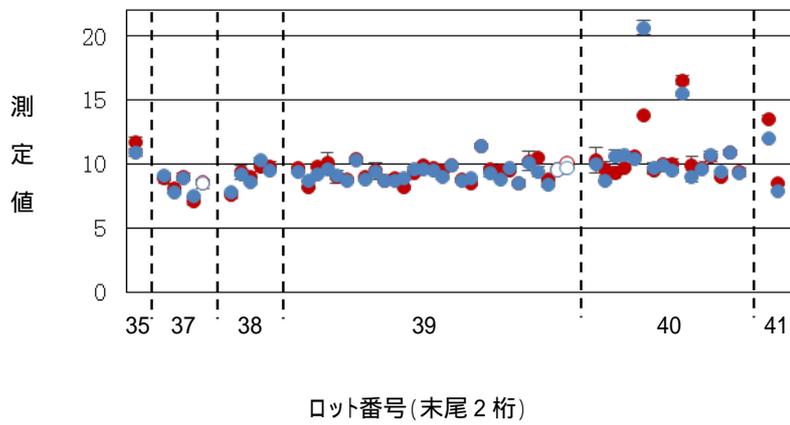
(機関数 4)

図 14 プリマハム(小麦)キットを用いた測定による平均値および濃度の範囲
 機関番号は左から試料 1:13, 7, 8, 56、試料 2:13, 7, 8, 56

a) モリナガ(小麦)キット



b) 日本ハム(小麦)キット



c) プリマハム(小麦)キット

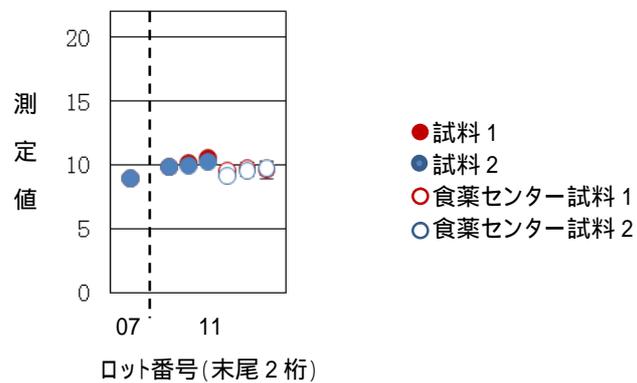


図 15 各キットで得られた測定値のロット間比較

表5 日本ハム(小麦)キットロット番号(末尾2桁)37と39の平均

日本ハム(小麦)キットのロット番号 (末尾2桁)	平均(μg/g)	
	試料1	試料2
37 (4 試験)	8.30	8.34
39 (28 試験)	9.42	9.30
37(食薬センター、1 試験)	8.56	8.50
39(食薬センター、2 試験の平均)	9.82	9.65

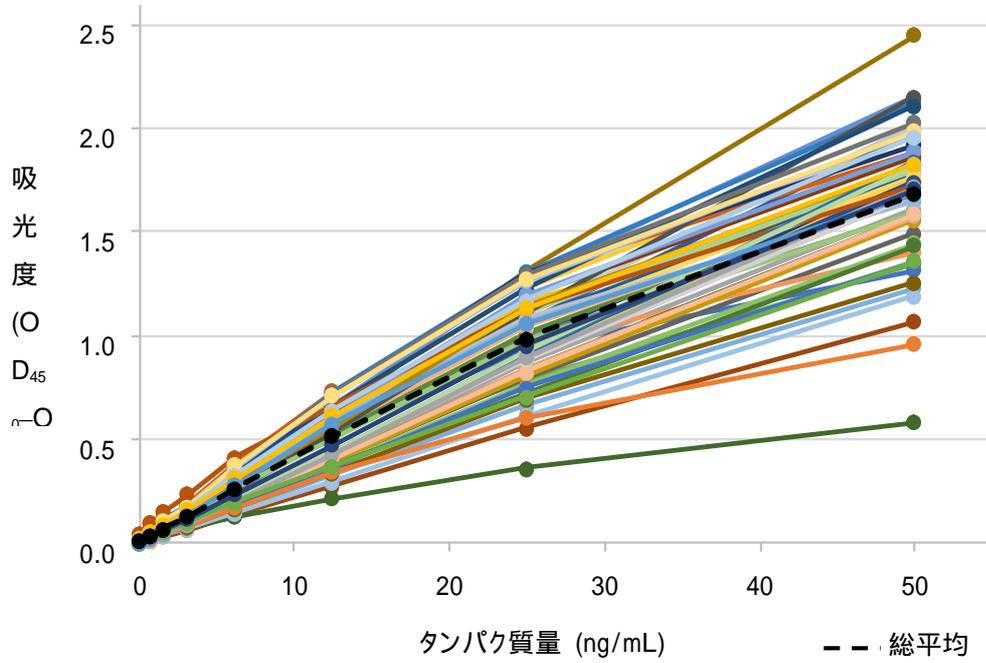


図 16 モリナガ(小麦)キットを用いた測定における検量線(60 機関)
個別は図 19 を参照

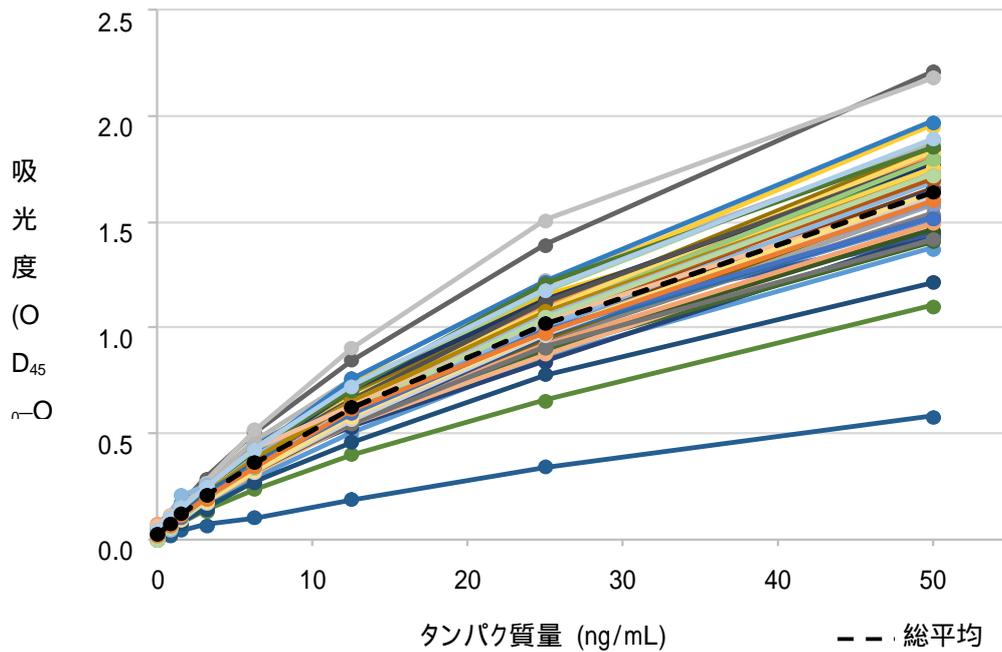


図 17 日本ハム(小麦)キットを用いた測定における検量線(55 機関)
個別は図 20 を参照

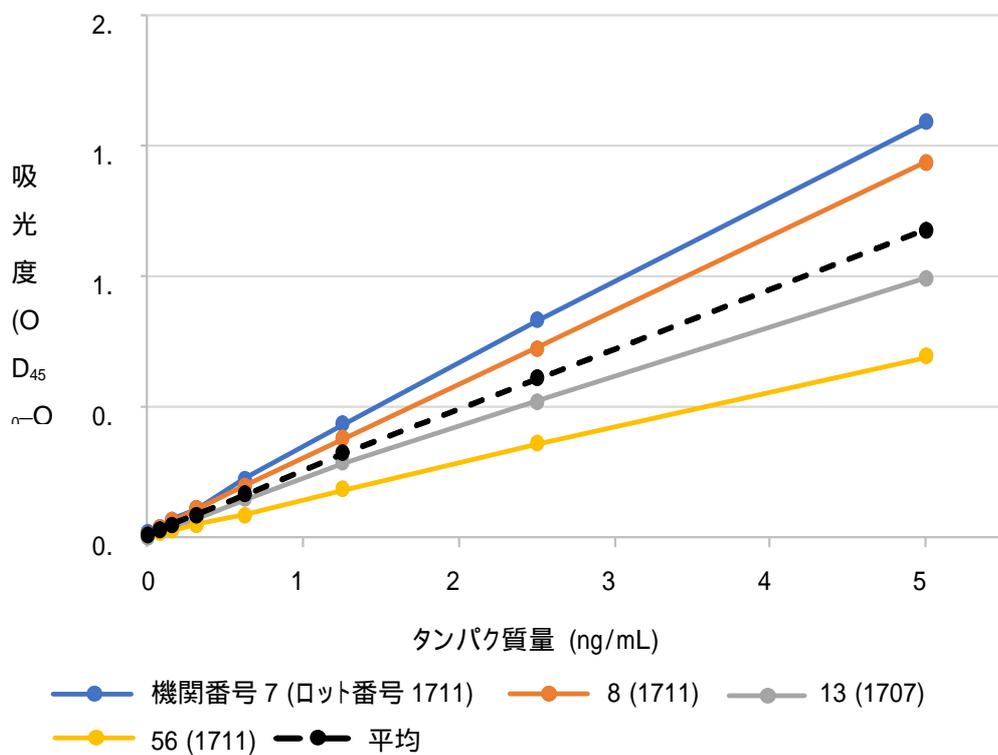


図 18 プリマハム(小麦)キットを用いた測定における検量線(4 機関)

表 6 外部精度管理調査研究で使用されたプリマハム(小麦)キットのロットおよび使用機関数

ロット	使用期限	使用機関数
1707GLS	2018.8	1
1711GLS	2018.12	3

表7 外部精度管理調査研究で使用されたモリナガ(小麦)キットのロットおよび使用機関数

ロット	使用期限	使用機関数
17JLSFGD045	2018.7.13	1
17NOSFGD049	2018.11.9	1
17DESFGD050	2018.12.7	2
18FESFGD051	2019.2.13	2
18MASFGD052	2019.3.1	5
18APSGD053	2019.4.4	11
18MYSFGD054	2019.5.8	15
18JUSFGD055	2019.6.11	20
18JLSFGD056	2019.7.9	2
不明	—	1

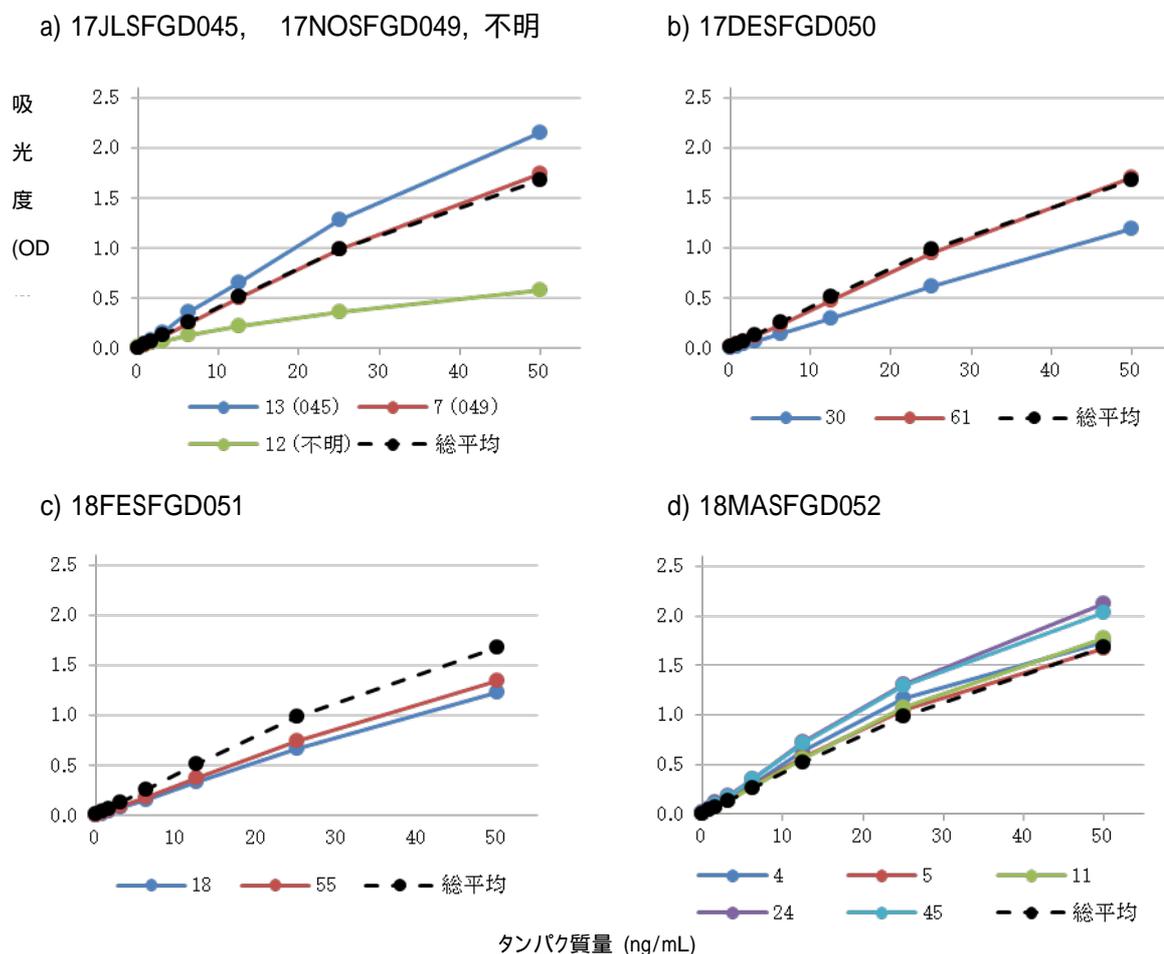
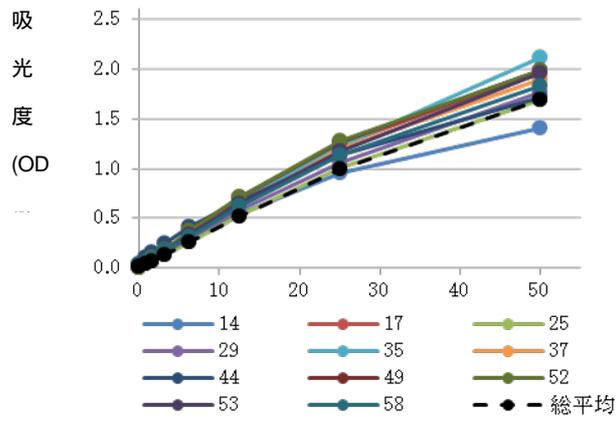
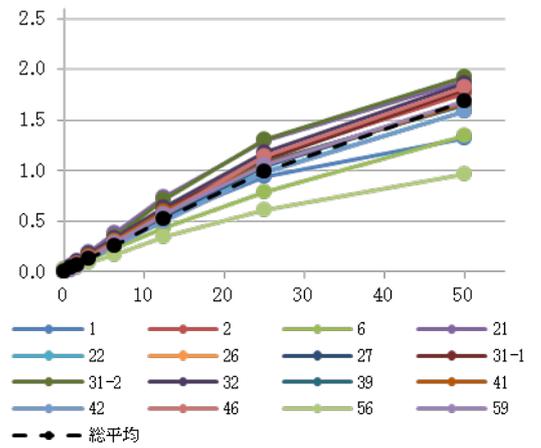


図 19-1 モリナガ(小麦)キットを用いた測定におけるロット別検量線

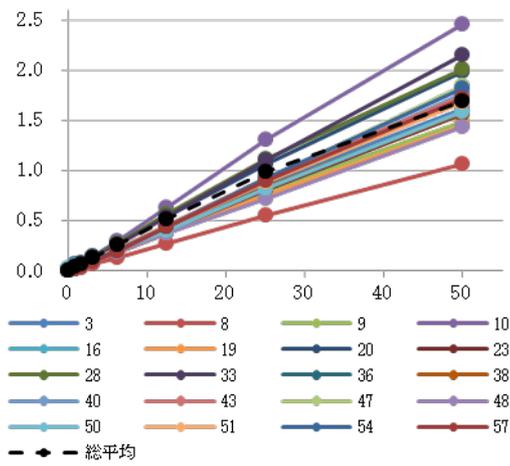
e) 18APSF053



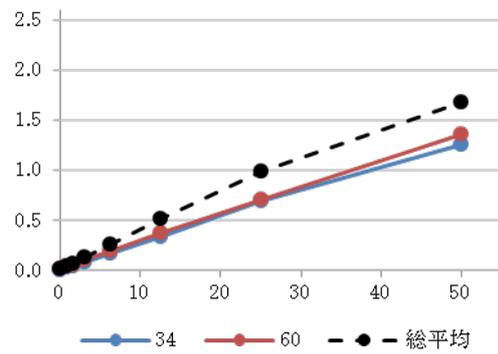
f) 18MYSFGD054



g) 18JUSFGD055



h) 18JLSFGD056



タンパク質量 (ng/mL)

図 19-2 モリナガ(小麦)キットを用いた測定におけるロット別検量線

表 8 外部精度管理調査研究で使用された日本ハム(小麦)キットのロットおよび使用機関数

ロット	使用期限	使用機関数
FKEW1735	2018.6	1
FKEW1837	2018.9	4
FKEW1838	2018.11	5
FKEW1839	2019.3	27
FKEW1840	2019.5	16
FKEW1841	2019.6	2

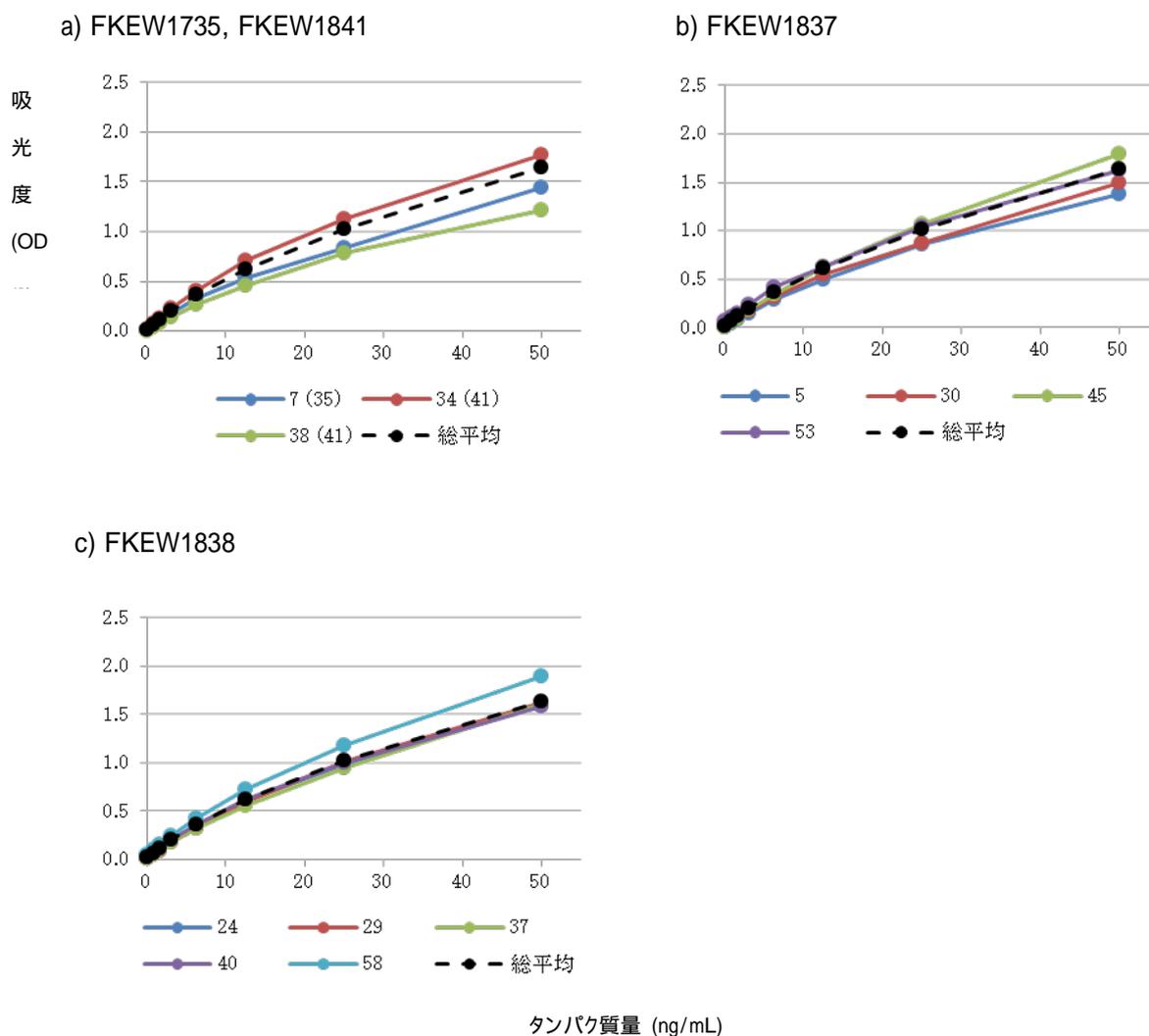


図 20-1 日本ハム(小麦)キットを用いた測定におけるロット別検量線

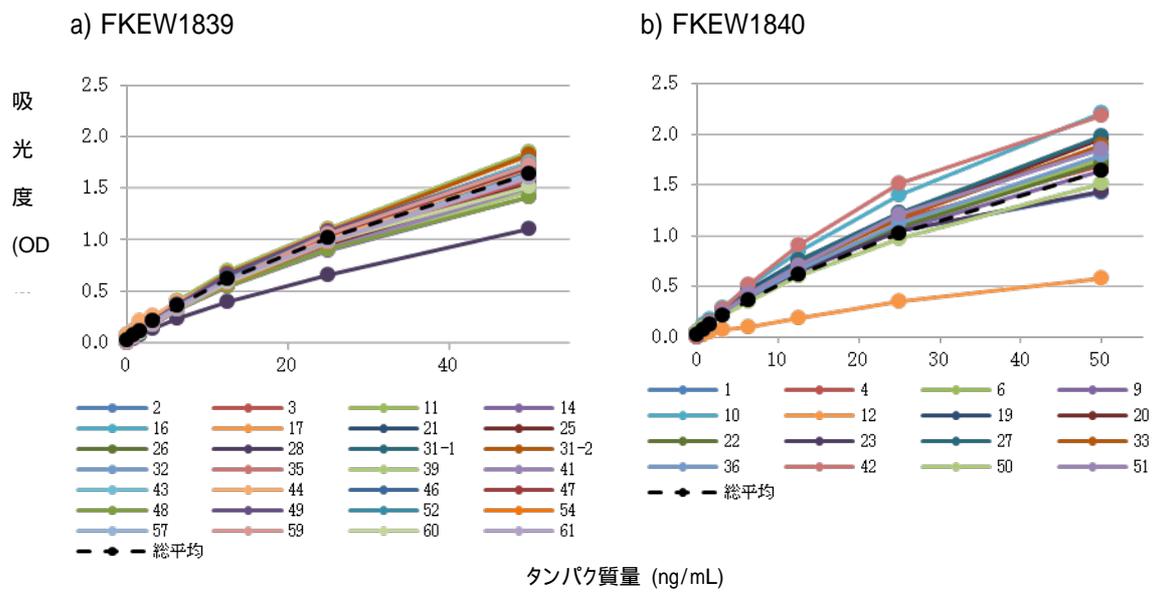
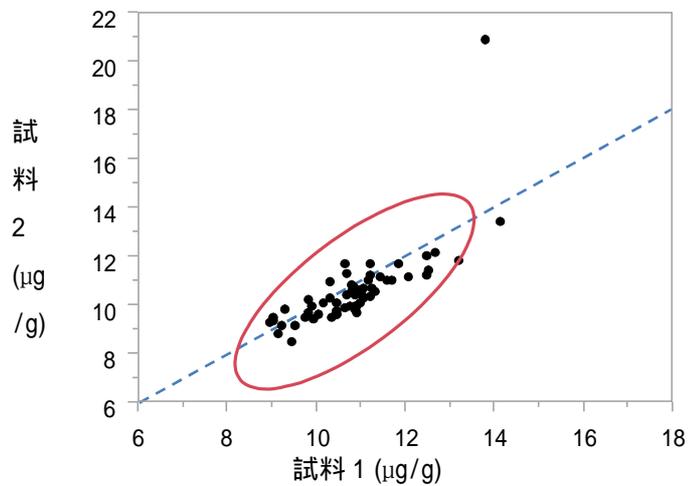


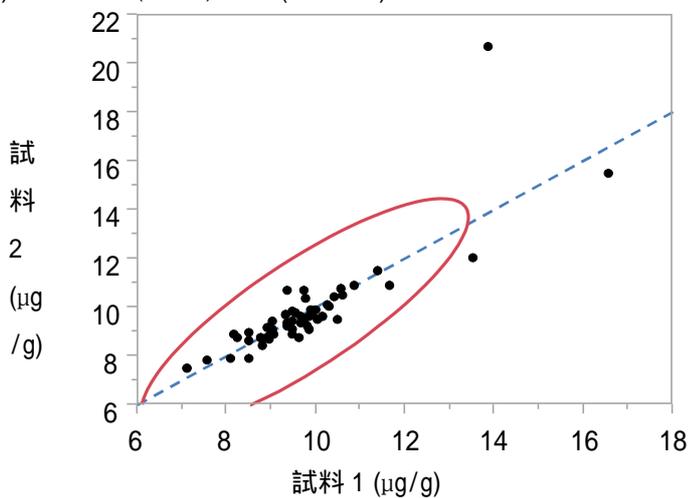
図 20-2 日本ハム(小麦)キットを用いた測定におけるロット別検量線

a) モリナガ(小麦)キット(60 機関)



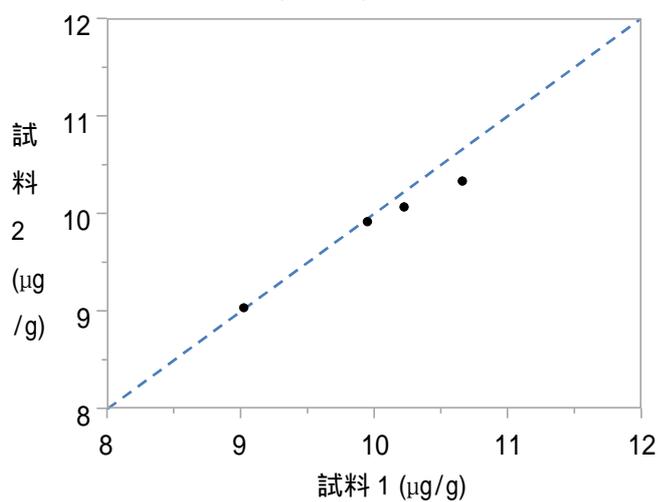
試料 1: $10.85 \pm 1.10 \mu\text{g/g}$
 試料 2: $10.56 \pm 1.63 \mu\text{g/g}$
 $R = 0.742 (p < 0.0001)$

b) 日本ハム(小麦)キット(55 機関)



試料 1: $9.75 \pm 1.50 \mu\text{g/g}$
 試料 2: $9.74 \pm 1.93 \mu\text{g/g}$
 $R = 0.838 (p < 0.0001)$

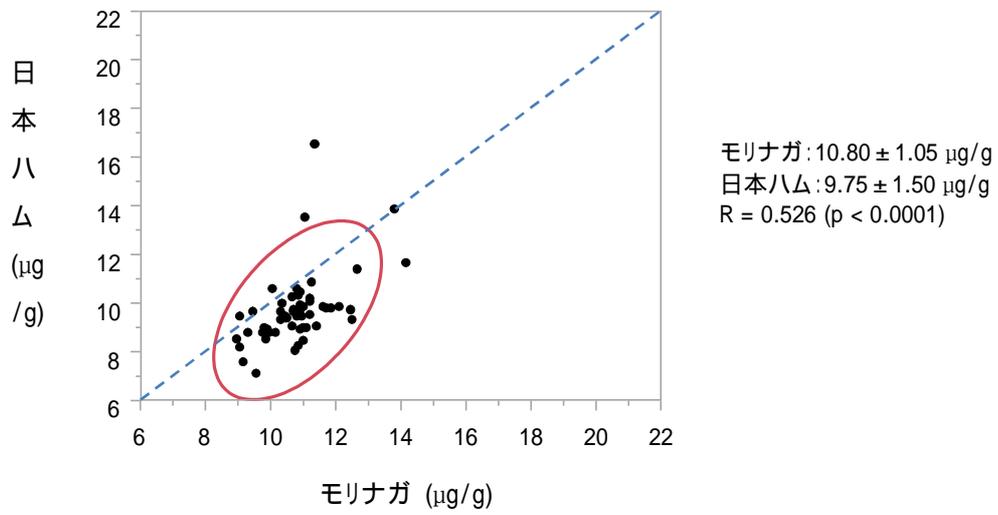
c) プリマハム(小麦)キット(4 機関)



試料 1: $9.97 \pm 0.69 \mu\text{g/g}$
 試料 2: $9.84 \pm 0.57 \mu\text{g/g}$

図 21 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。点線は $y = x$

a) 試料1(55 機関)



b) 試料 2 (55 機関)

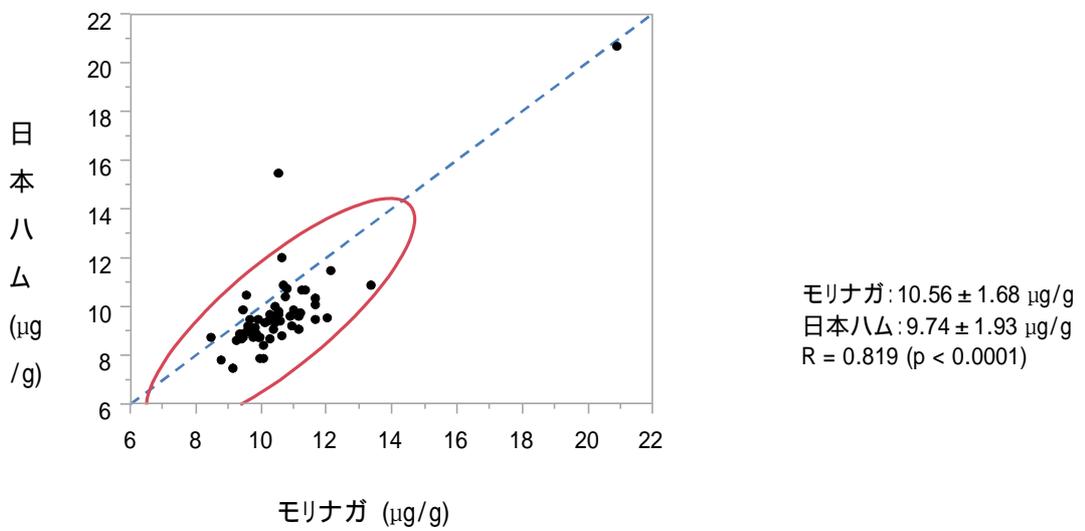


図 22 同一試料内での測定値のキット間の相関性
 楕円は 95%の確率楕円を示す。点線は $y = x$

表9 平成30年度外部精度管理調査研究における各機関の採用手法(全般)

項目	1	2	3	4	5	6
抽出方法	振盪 58	転倒攪拌 1	不明 1			
振盪時間(12h <) (h)	< 14 4	14 - 16 24	16 < 31	不明 1		
振盪速度 (rpm)	< 90 4	90 - 110 52	110 < 3	不明 1		
ろ過	実施 43	実施せず 17				
遠心分離	実施 59	実施せず 1				
抽出溶液等 の希釈操作	手動 60	自動 0				
試薬の添加時の ピペットタイプ	手動		電動		その他	
	連続分注 マルチch	連続分注 シングルch	マルチch	シングルch	連続分注 シングルch	
	2	7	45	3	1	2
洗浄方法	手動 30	自動 30				
検量線の 回帰法	4PL* 56	5PL** 4				

(60 機関)

* 4PL:4 パラメーターロジスティック

** 5PL:5 パラメーターロジスティック

表 10 平成 30 年度外部精度管理調査研究における各機関の操作手法(キット別)

a) モリナガ(小麦)キット(60 機関)

項目	1	2	3	4
抽出液の 保存期間(日)	0 47	1 9	2 - 6 3	7 - 14 2
試料添加時間 (分)	< 10 39	10 - 20 22	> 20 0	
操作中の室温	≤ 25°C 36	25°Cを挟む上下 14	≥ 25°C 11	
検量線の 相関(R ²)	< 0.99 2	≥ 0.99 [*] 53		

* 1桁表示が5機関あり

b) 日本ハム(小麦)キット(59 機関)

項目	1	2	3	4
抽出液の 保存期間(日)	0 35	1 15	2 - 6 4	7 - 14 1
試料添加時間 (分)	< 10 34	10 - 20 22	> 20 0	
操作中の室温	≤ 25°C 33	25°Cを挟む上下 12	≥ 25°C 11	
検量線の 相関(R ²)	< 0.99 4	≥ 0.99 [*] 46		

* 1桁表示が4機関あり

c) プリマハム(小麦)キット(4 機関)

項目	1	2	3	4
抽出液の 保存期間(日)	0 2	1 2	2 - 6 0	7 - 14 0
試料添加時間 (分)	< 10 3	10 - 20 1	> 20 0	
操作中の室温	≤ 25°C 0	25°Cを挟む上下 3	≥ 25°C 1	
検量線の 相関(R ²)	< 0.99 0	≥ 0.99 4		

表 11 平成 29 年度の特定原材料 6 種(小麦、乳、卵、そば、落花生、甲殻類)の検査実績種類数

	特定原材料 6 種中の実施種類数						
	0	1	2	3	4	5	6
実施機関数	4	10	8	5	5	8	18

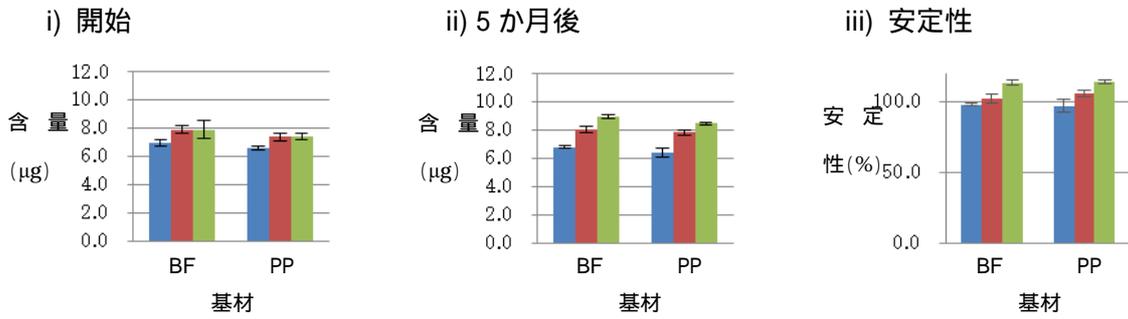
(回答 58 機関)

表 12 平成 29 年度の参加機関の検査実績および使用キット

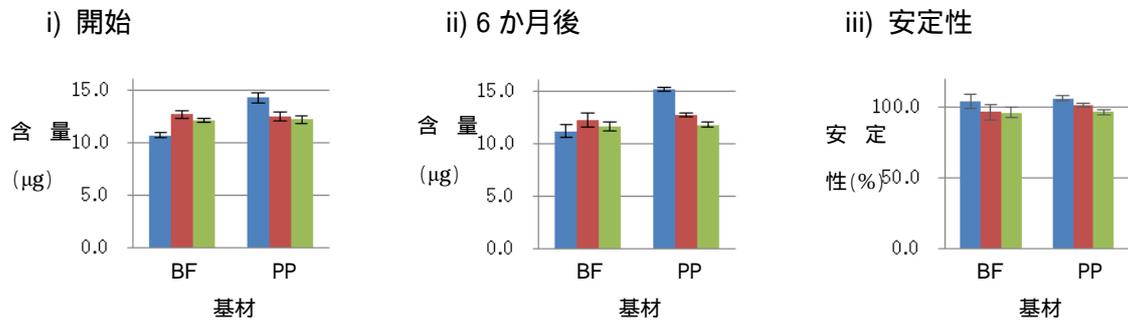
		特定原材料					
		卵	乳	小麦	そば	落花生	甲殻類
ELISA	実施機関数	43	40	41	34	26	25
	使用キット [複数回答]						
	モリナガ	42	39	39	33	25	
	日本ハム	42	39	40	34	26	
	プリマハム	2	1	1	1	1	
	ニッスイ						25
	マルハ						25
	総試験数	4188	4712	3512	3248	3073	1518
確認試験	実施機関数	5	5	11	4	2	4
	試験数	21	14	86	16	13	38

(回答 58 機関)

a) 卵タンパク質の安定性結果



b) そばタンパク質の安定性結果



c) 小麦タンパク質の安定性結果

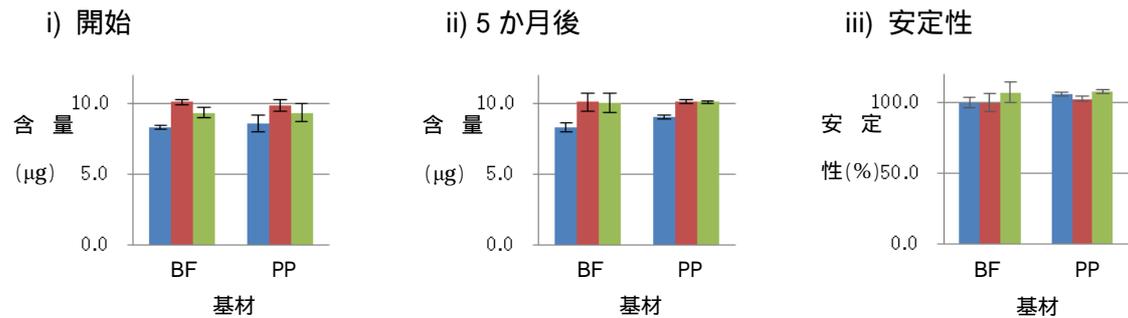


図 23 3 種タンパク質添加試料の安定性結果

BF: ベビーフード
 PP: かぼちゃペースト
 日ハムキット
 モリナガキット
 プリマハムキット

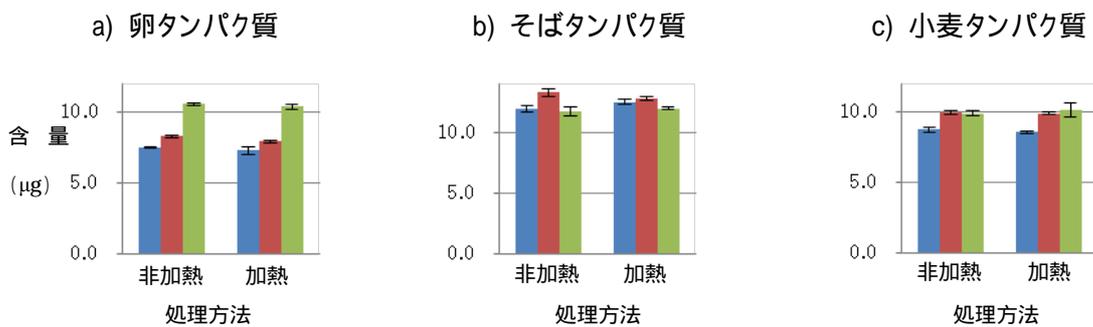


図 24 非加熱および加熱サンプル中の 3 種タンパク質の ELISA 法による含有量測定結果

■ 日本ハムキット
 ■ モリナガキット
 ■ プリマハムキット

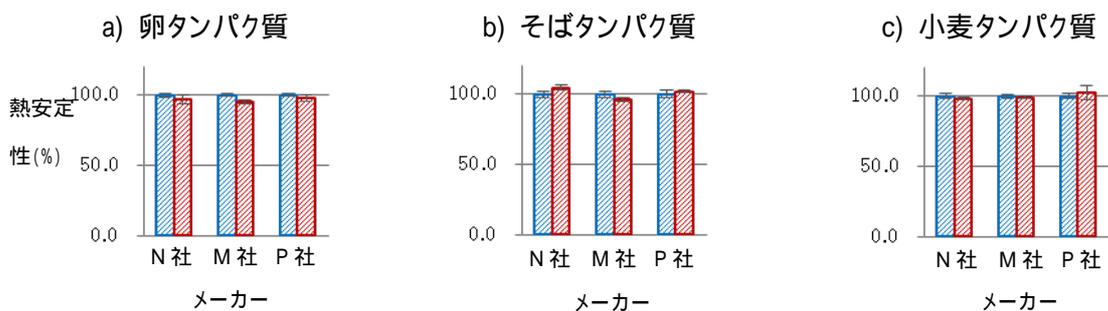


図 25 加熱による試料中の 3 種タンパク質の安定性結果

■ 非加熱
 ■ 加熱

N社: 日本ハムキット
 M社: モリナガキット
 P社: プリマハムキット

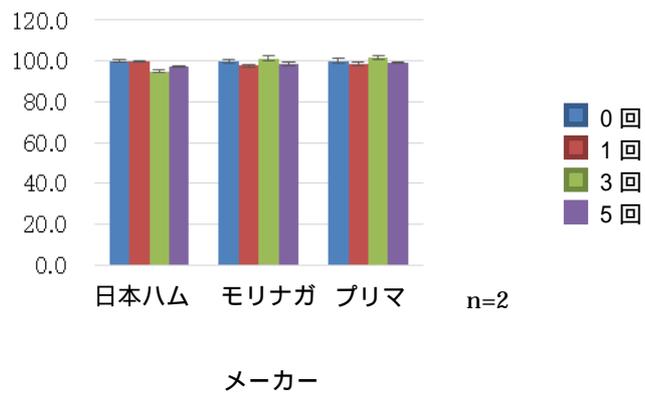


図 26 かぼちゃペーストに乾燥全卵タンパク質を添加した試料の凍結融解による影響

補足資料

平成 30 年度特定原材料検査外部精度管理調査研究参加機関

北海道立衛生研究所
青森県環境保健センター
岩手県環境保健研究センター
宮城県保健環境センター
仙台市衛生研究所
山形県衛生研究所
茨城県衛生研究所
栃木県保健環境センター
群馬県食品安全検査センター
埼玉県衛生研究所
さいたま市健康科学研究センター 生活科学課
千葉県衛生研究所
東京都健康安全研究センター
神奈川県衛生研究所 理化学部
横浜市衛生研究所
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
石川県保健環境センター
長野県環境保全研究所
岐阜市衛生試験所
静岡県環境衛生科学研究所
静岡市環境保健研究所
浜松市保健環境研究所
愛知県衛生研究所
名古屋市衛生研究所
三重県保健環境研究所
滋賀県衛生科学センター
京都府保健環境研究所
京都市衛生環境研究所
地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所 天王寺センター
兵庫県立健康科学研究所
神戸市環境保健研究所
岡山県環境保健センター

広島県立総合技術研究所保健環境センター
広島市衛生研究所
山口県環境保健センター
福岡県保健環境研究所
福岡市保健環境研究所
宮崎県衛生環境研究所
鹿児島県環境保健センター
一般財団法人青森県薬剤師会 食と水の検査センター
一般財団法人 茨城県薬剤師会検査センター
一般財団法人日本食品分析センター 多摩研究所
公益社団法人日本食品衛生協会 食品衛生研究所
一般財団法人 食品環境検査協会 東京事業所
一般社団法人 日本海事検定協会 食品衛生分析センター
一般社団法人東京都食品衛生協会 東京食品技術研究所
いであ株式会社 食品・生命科学研究所 食品分析センター
イカリ消毒株式会社 LC 環境検査センター
一般社団法人新潟県環境衛生中央研究所
一般財団法人 食品分析開発センター SUNATEC
公益財団法人 島根県環境保健公社
一般財団法人 広島県環境保健協会 環境生活センター
株式会社 キューサイ 分析研究所
株式会社 森永生科学研究所 分析テクノ事業部
日本生活協同組合連合会 商品検査センター
日本ハム株式会社 中央研究所 品質科学センター