

令和元年度 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

近年、アレルギー疾患の罹患者は増加傾向にあり、重篤なものでは生命の危険があることなどからアレルゲンを含有する食品については特別な注意喚起が必要とされている。このため、特定原材料として7種が、特定原材料に準ずるものとして21種が指定され、食品表示法に従い、適切な表示が義務付けられている。

表示義務に伴い、特定原材料に関する検査法としてELISA法による定量試験が規定されている。その精度についての客観的な管理法として外部精度管理が義務付けられているが、それについては実試験を想定しての外部精度管理に適した試料の安定供給が重要事項である。

今年度は小麦タンパク質を10 µg/g添加した試料(基材としてベビーフードおよび10%精製水含有こしあん)を用い、定量試験法であるELISA法について外部精度管理調査研究を実施した。参加機関は26機関で、各機関、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。参加機関から得た測定結果は試料ごと、および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、測定結果から得られた含有量を指標としたXbar-R管理図を用いた解析も行った。

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は全体を通して1機関であった。また、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。Xbar管理図では管理限界線の範囲を超える機関は2機関、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、組成が変更となった基材についての確認や、卵、小麦およびそばタンパク質、3種の特定原材料を精製水含有こしあん基材に同時に添加した試料を作製し、長期の安定性についての検討等も行った。

## A. 研究の目的

近年、アレルギー疾患の罹患者は増加傾向にあり、重篤なものでは生命の危険があることなどからアレルゲンを含有する食品については特別な注意喚起が必要とされている。しかしながら、食生活の変化に伴い、アレルゲン毎の罹患率だけでなく、アレルゲンとされる食品の品目も増加傾向にあり、国内の発症状況等からたびたび見直しがなされている。

現在、食品表示法に従って、適切な表示が義務付けられている特定原材料は7種が、表示義務はないものの表示が推奨されている特定原材料に準ずるものは、2019年9月に追加されたアーモンドを含めて21種がアレルゲンを含有する食品として挙げられている。そして、表示義務のある特定原材料については、精度管理の一般ガイドラインに準拠し、適切に業務管理を実施することが求められている。

検査法としてELISA法による定量試験、PCR法またはウェスタンブロッティング法による定性試験を行うことが、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。

特定原材料に対する1段階目の検出方法であるELISA法の精度を管理することは食物中の特定原材料の特定に際し必須であり、そのための外部精度管理調査試料の安定供給は非常に重要である。

我々はこれまでに外部精度管理調査用として卵または小麦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、添加タンパク質は昨年同様小麦タンパク質とし、基材を変えた試料を配布し、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、新規試料作製のための検討等も引き続き行った。

## B. 研究方法

### 1. 基材

基材としてはベビーフード(ハッピーレシピ 白身魚と野菜の雑炊、キューピー) 井村屋謹製こしあん(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、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、マルサンパントリー)から、添加用そばタンパク質液を調製した。そば粉を1 g/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) 添加用乳タンパク質のための検討

特定原材料である乳検出の試料添加用乳タンパク質を決定するため、乳含有物質を用いて初期検討を行った。

添加用の乳含有物質としてカゼイン(富士フィルム和光純薬工業)、スキムミルク(富士フィルム和光純薬工業)、および全乳粉(よつ葉乳業)を用いた。

各物質を1 g/50-mL チューブに分取後、0.6% SDS, 0.1 M 亜硫酸ナトリウム, 含有PBS (pH 7.4)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、添加用乳タンパク質調製液とした。

### 5) 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、タンパク質量を測定した。得られたタンパク質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

外部精度管理調査試料として、特定原材料を含まないとして市販されている、ベビーフ

ードおよびこしあんを使用し、これに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 となるように添加した。

ベビーフードは、ロボ・クーブブリークサー5 プラス(エフ・エム・アイ)で粒がわからなくなるまで均質にした後、添加用小麦タンパク質溶液を添加した。こしあんには10%の精製水を添加し、ロボ・クーブブリークサー5 プラスで均質にしたものを基材とし(以下こしあん基材)、添加用小麦タンパク質溶液を添加した。

それぞれの試料は約10 g ずつ分注、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、こしあん試料を試料2とし、調査研究試料とした。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) 長期安定性を確認するための3種タンパク質を添加したこしあん試料の作製

卵、小麦およびそばタンパク質含有の検討用試料はこしあん基材に、3種のタンパク質調製液を添加することで作製した。

添加用卵タンパク質調製液、添加用小麦タンパク質調製液および添加用そば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、こしあん基材に加えた。その後、フードプロセッサー(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10 g ずつ分注し、-20 で凍結保存した。

今回作製した試料と約7か月前に同じ調製法で作製された試料についてELISA法により含有量及び安定性の比較を行った。

### 3) 組成が変わった基材の確認

これまで使用実績のあるベビーフードにおいてメーカーによるリニューアルのため、組成変更があった。組成表等から判断する

と、マイナーな変更であると考えられたことから、組成変更前を旧組成、組成変更後を新組成とし、新旧2種のベビーフードを基材に、添加用卵タンパク質溶液をそれぞれの基材に総卵タンパク量で10 µg/gとなるように加え、作製直後と1か月後および10か月後にELISA法による測定を行い、含有量及び安定性を測定した。

#### 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、そばタンパク質および乳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。また、乳タンパク質の検出には、通知法に記載はないが、森永生科学研究所のβ-ラクトグロビン検出キットも使用した。

##### 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)(森永生科学研究所)(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(森永生科学研究所)(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)(森永生科学研究所)(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)

#### 4)乳タンパク質検出

- FASTKIT エライザ Ver. III 牛乳(日本ハム)(以下、日本ハム(乳)キット)
- モリナガ FASPEK エライザ II 牛乳(カゼイン)(森永生科学研究所)(以下、モリナガ(カゼイン)キット)
- モリナガ FASPEK エライザ II 牛乳(β-ラクトグロビン)(森永生科学研究所)(以下、モリナガ(LG)キット)
- アレルゲンアイ ELISA® II 牛乳(β-ラクトグロビン)(プリマハム)(以下、プリマハム(LG)キット)

#### 5.外部精度管理調査試料の均質性および安定性

外部精度管理調査用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1ヶ月後に行った。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、試料作製後5ヶ月(調査期間後)において試料を測定し、均質性測定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。均質性および安定性には使用期限内にある同じロットのキットを使用した。

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 26 機関が参加した。これらの機関には 2019 年 9 月 30 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、原則として各機関、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 種類を使用することとした。測定法は測定キットのプロトコールおよび各機関の SOP に従い、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 2019 年 11 月 1 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」との記載があることから、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 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 ± ロバスト平均値の 30%] とした。管理限界線に採用した 30%は ELISA キットの室間精度 25 % (前出、通知の別紙 5 内に記載されている定量法の評価のための試験室間バリデーションの基準) とこれまでのデータを基

に得られた ELISA キットのロット間差 10 % (同一試験内で同一メーカーの異なるロット間より得られた内部データ、第 115 回日本食品衛生学会学術講演会にて発表) から算出した合成相対標準不確かさを参考にして設定した。

また、測定値から算出した小麦タンパク質量については、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 26 機関、日本ハム(小麦)キットを使用した機関は 24 機関、プリマハム(小麦)キットを使用した機関は 2 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を行わなかった。

## 8. 添加用乳タンパク質の検討

カゼイン抽出液、スキムミルク抽出液および全乳粉抽出液について ELISA 法により乳タンパク量の測定を行った。測定には日本ハム(乳)キット、モリナガ(カゼイン)キット、モリナガ(LG)キットおよびプリマハム(LG)キットの 4 キットを用いた。

タンパク量を測定後、添加用乳タンパク質調製液を 10 µg/mL となるように PBS で調製した溶液 1 mL を用いて ELISA 法により含有量を測定した。

## 9. 3 種タンパク質を添加したこしあん試料

## の安定性

こしあんに 3 種類のたんぱく質（卵、小麦、そば）を添加した試料は本年度（2019 年 5 月）と昨年度（2018 年 10 月）に作製しており、この異なる時期に作製された試料の長期安定性は ELISA 法により卵、小麦およびそばタンパク質濃度の測定することで調べた。

ELISA キットは卵、小麦およびそば検出用として各種 3 社のキットを用いた。

安定性試験は、同種の特定原材料について同じ 4 容器から各キット n=1 でサンプリングして、同時に試験を行った。

測定後のデータ解析は「5. 外部精度管理調査試料の均質性および安定性」と同様に行った。

### （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

#### 1) 外部精度管理調査試料の均質性

均質性試験の結果を表 1 に示した。いずれのキットにおいても、試料 1 が試料 2 より高い値を示した。キット間では日本ハム(小麦)キットが最も高く、モリナガ(小麦)キットとプリマハム(小麦)キットはほぼ同じであった。変動係数は試料 1 で 0.033~0.042、試料 2 では 0.025~0.043 とキット間、試料間ともに大きな差は認められなかった。また、キット間の検出感度の

違いはキットの抗体によるものと考えられた。以上の結果より、作製した試料は均質であり、どのメーカーのキットを用いても評価可能であると結論した。

#### 2) 外部精度管理調査試料の安定性

安定性は、調査期間後（作製約 5 ヶ月後）に行った。均質性試験の結果を 100%として安定性結果を算出した（図 2）。その結果、試料 1 および試料 2 の安定性は 89%~107%の範囲内であった。

したがって、調査試料は、調査期間中、安定性であったと結論した。

#### 3) 外部精度管理調査結果(回収データの集計結果)

各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。データ分布は図 2 に示した。モリナガ(小麦)キットは 26 機関が、日本ハム(小麦)キットは 24 機関が、プリマハム(小麦)キットは 2 機関が使用した。プリマハム(小麦)キットの使用機関は少なかったことからキットごとの統計解析は行わず、参考値として扱うこととした。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した結果、測定値の平均は試料 1、試料 2 とともにモリナガ(小麦)キットより、日本ハム(小麦)キットで高い数値を示した。また、いずれのキットにおいても試料 1 が試料 2 よりも高い数値を示した。

変動係数はモリナガ(小麦)キットで 0.0729~0.0741、日本ハム(小麦)キットでは 0.1304~0.1392 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

モリナガ(小麦)キットを用いて測定した全 26 機関のデータにより算出された統計量を表 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 3 に、試料 1 および試料 2 の結果および評価一覧を表 4 および表 5 に記載した。

#### a) 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全 26 機関中、MC で除外された機関は 1 機関認められた。MC 後の 25 機関のロバスト平均 ± ロバスト標準偏差は  $9.865 \pm 0.719 \mu\text{g/g}$  であった。これらに基づき MC 後の z-スコアを算出したところ、z-スコアの絶対値が 3 以上の機関は認められなかった。また、z-スコアの絶対値が 2 以上、3 未満の機関は 3 機関であった [図 4、a)]。

Xbar 管理図で管理限界線外の機関(MC により除外された機関と同じ)が 1 機関あったが、R 管理図で上部管理限界線を越えた機関はなかった [図 5、a)]。

#### b) 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 26 機関中、MC で除外された機関はなかった。全機関のロバスト平均値 ± ロバスト標準偏差は  $8.447 \pm 0.626 \mu\text{g/g}$  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 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 1 機関であった [図 4、b)]。

さらに、Xbar 管理図で管理限界線外の機関が 1 機関あったが、R 管理図で上部管理限界線を越えた機関はなかった [図 5、b)]。

#### (2) 日本ハム(小麦)キット

日本ハム(小麦)キットを用いて測定した全 24 機関のデータにより算出された統計量を表 6 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 6 に、試料 1 および試料 2 の結果および評価一覧

を表 7 および表 8 に記載した。

#### a) 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 24 機関中、MC で除外された機関はなかった。全機関のロバスト平均値 ± ロバスト標準偏差は  $13.392 \pm 1.746 \mu\text{g/g}$  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 3 以上の機関はなかった。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 [図 7、a)]。

Xbar 管理図で管理限界線外の機関が 1 機関あった。また、R 管理図で上部管理限界線を越えた機関はなかった [図 8、a)]。

#### b) 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 24 機関中、MC で除外された機関はなかった。全機関のロバスト平均値 ± ロバスト標準偏差は  $11.618 \pm 1.617 \mu\text{g/g}$  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 以上の機関は認められなかった [図 7、b)]。

Xbar 管理図で管理限界線の範囲をはずれた機関はなかった。また、R 管理図で上部管理限界線を越えた機関が 1 機関あった [図 8、b)]。

#### (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 2 機関であったため、統計解析は行わず各機関の平均値および濃度の範囲についてのみ記載した(図 9)。

#### (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研究において、モリナガ(小麦)キットでは 7 ロット、日本ハム(小麦)キットでは 4 ロットと複数のロットが使用されていたことから、ロットと報告値の関連について図 10 に示した。プリ

マハム(小麦)キットのデータは2機関、1ロットであったが比較のために、同ロットを使用した当センターを含め3機関、4データを図10、c)に示した。

モリナガ(小麦)キット [図10、a)] については1~2機関だけが使用したロットが4ロットあり、うち1ロットでは1試料でMCにより除外され、もう片方の試料では報告値がzスコアで3以上となったが、使用機関が1機関であったため、ロット差によるものかどうかはわからなかった。その他の1~2機関で使用された3ロットを含む、残りの6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 [図10、b)] については全4ロット中2ロットがそれぞれ3機関の使用で、残りの2ロットでは8および10機関が使用していた。全体の分布からは明確なロット差は認められなかった。

プリマハム(小麦)キットについてはデータ提出機関が2機関、使用されたロットは1ロットであった。これに同じロットの当センターの2データを参考のために追加した。各試料ごとの測定値は4データでほぼ同じとなり、同ロット内で安定した結果が得られた。

#### (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ため、参加機関が任意のロットを使用してデータの提出を行っている。前項でも記載したとおり、本年度はモリナガ(小麦)キット(26機関)、日本ハム(小麦)キット(24機関)およびプリマハム(小麦)キット(2機関)でそれぞれ7ロット、4ロットおよび1ロットが使用されていた。

モリナガ(小麦)キットおよび日本ハム

(小麦)キットの全検量線を図11および図12に示した。両キットで95%信頼区間から外れた検量線が1~2機関認められた。

また、プリマハム(小麦)キットの検量線については、図13に、使用したロットの情報を表9に示した。プリマハム(小麦)キットを使用した機関は2機関とデータ数が少ないので、当センターで同じロットを用いた2試験で得られた検量線をとともに示した。他のキットにおけるロットごとの検量線分布と比較し、このロットでは機関間の差はないと考えられた。

モリナガ(小麦)キットと日本ハム(小麦)キットについての本調査研究で使用されたキットのロットの情報を表10および表11に、各キットのロット別の検量線のグラフを図14および図15に示した。全てのキットは使用期限内に試験されていた。また、どちらのキットにおいても明らかなロット間差は認められなかった。

個別のデータでは、モリナガ(小麦)キットにおいて機関番号8と機関番号25が、日本ハム(小麦)キットにおいては機関番号23が95%信頼区間から外れた検量線を示した。

機関番号25のモリナガ(小麦)キットにおける測定データは試料1ではメジアン・クリーニングにより除外され、試料2ではzスコアが5.34と外れ値を示した。機関番号8ではzスコアが試料1、試料2とも2.5以上3未満と外れ値にはならなかったが、許容範囲の端近傍に位置していた。両機関は日本ハム(小麦)キットにおいてzスコアは2未満であったが、全機関のデータ中、高濃度3機関内に入っており、恒常的に他機関よりも高めの数値を出している可能性も考えられた。



日本ハム(小麦)キットにおいては機関番号 23 が 95%信頼区間から外れた検量線を示した。全機関のデータ中、試料 1、試料 2 ともに高濃度 4 機関内に入っていたが、z-スコアは 1.196、1.523 と良好であった。

検量線が全体の集団から外れている場合、検量線のみ不良なのか、使用したキットの状態が不良または、個別の操作に問題(例えば検量線の調製など)があったのかは不明である。しかしながら、このような場合は、測定値が外れやすい傾向が認められた。したがって、例えば、背景データよりも明らかに高い、低い、または線形が異なっている等の検量線が得られた試験におけるデータは解釈に注意する必要があると考えられた。

#### (6) 測定値の相関性

##### a) 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ハム(小麦)キット(参考)について、各機関の試料 1 と試料 2 の報告値の相関を図 16 に示した。その結果、モリナガ(小麦)キットでは相関係数が 0.885、日本ハム(小麦)キットでは 0.900 といずれも強い相関が認められた。また、モリナガ(小麦)キットでは全ての機関で試料 1 の報告値が試料 2 の報告値より高い結果となった。日本ハム(小麦)キットでは 1 機関を除いてモリナガ(小麦)キット同様、試料 1 の報告値が試料 2 の報告値より高い結果となった。また、試料 2 が試料 1 よりも高い値を示した機関でも、ほぼ  $y=x$  上であった。

##### b) 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 17 に示した。その結果、試料 1 では相関係数が 0.597、試

料 2 では 0.607 と試料 2 で中程度の相関を示した。また、1 機関を除いて、試料 1、試料 2 とも日本ハム(小麦)キットの報告値はモリナガ(小麦)キットの報告値より高いことが認められた。なお、モリナガ(小麦)キットで日本ハム(小麦)キットより報告値が高かった機関は前項、「(1) 同一キットにおける試料間の報告値の相関性」で日本ハム(小麦)キットにおいて、試料 2 が試料 1 よりも高い値を示した機関と同機関であった。

#### 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。

#### 6) 検査手法のまとめ

各参加機関が検査に用いた方法を表 12 および表 13 に示した。

ピペット操作に関して、抽出溶液等の希釈操作および、試薬の添加はすべての機関が手動で行っていた。プレートの洗浄方法については、手動が 10 機関、自動が 16 機関と、やや自動洗浄が多かった。

また、検量線の近似曲線は 25 機関が 4 パラメーターロジスティック(4PL)を用い、5 パラメーターロジスティック(5PL)を使用した 1 機関は Biorad の Microplate Manager, Ver. 5.1 であった。同ソフトウェアを使用する際は 5PL が推奨されていることから、問題ないと判断される。

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。

抽出液については抽出当日に試験を行った機関は 3 キット合わせて延べ 35 機関、抽出翌日に試験を行った機関はのべ 11 機関であ

った。2 日後に試験を行った 3 機関はすべて冷蔵で試料を保存していた。7 日間保存を行った機関も認められたが、保存条件は無回答であった。しかしながら、この機関における z-スコアの絶対値は 2 未満であったことから、保存に問題はなかったと考えられた。

## 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 14 および表 15 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、すべてで実績があるのは 8 機関であり、参加機関の約 1/3 であった。

試験数は ELISA 法において、卵、乳ではそれぞれ実施件数が 4900 件程度となり、小麦、そば、落花生ではそれぞれ 4700 件超、甲殻類では 2300 件程度であった。陽性検出試験数は卵、乳が総試験数の 10%程度、小麦では 20%程度であった。そば、落花生、甲殻類の陽性検出試験数は総試験数の 1~3%程度であった。これは、卵、乳、小麦等が食品加工で使用される頻度が高い特定原材料であることも一因と考えられる。

## 2. 組成が変わった基材の確認

メーカーによるリニューアルのため組成が変更された基材について変更前の基材と比較検討を行った。

作製直後、1 ヶ月後および 10 ヶ月の試料中の卵タンパク質含有量及び、安定性を測定し、結果を図 18 に示した。

作製直後の含有量並びに安定性に関して、旧組成と差が認められなかったことから、新組成の基材についてもこれまで同様に使用が可能であると結論した。

## 3. 添加用乳タンパク質の検討

乳検出のための試料作製を行うに際し、添加する乳タンパク質サンプルの検討を行

った。

供試したカゼイン、スキムミルク、全乳粉の ELISA 法による結果は図 19 と表 16 に示す。スキムミルクと全乳粉はどのキットにおいてもほぼ等しい値を示した。

カゼインは日本ハムの乳タンパク質を標的とするキットでは他の 2 試料に近い値を示したが、モリナガのカゼインを標的としたキットでは他の検体の 2 倍近い値を示し、-ラクトグロブリンを標的としたモリナガ及びプリマハムのキットでは 10%未満の回収率となった。

したがって添加用乳タンパク質はスキムミルク又は全乳粉を使用することとした。

## 4. 3 種タンパク質を添加したこしあん試料の安定性

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 種をこしあんに 10% DW を添加した基材に添加し、試料を作製し、その安定性を測定した。測定は ELISA 法により行い、各特定原材料につき 3 種のキットを用た。

作製時期の異なった 2 種の試料について試験を行うことで、数値が変動した場合に、保存期間によるものか、キットのロットによるものかを推察することができると考えた。2018 年 10 月作製サンプルを 18/10、2019 年 5 月作製サンプルを 19/5 とし、各種タンパク質ごとの測定日と保存期間について表 17 に示した。安定性は、各試料の作製後、初めて測定した結果を 100%として、各タンパク質についてその後 2 回、計 3 回の測定を行い、算出した。

得られた結果は、含有量については図 20 に、安定性については図 21 に示した。

卵タンパク質の含有量に関しては、日本

ハム(卵)キットとモリナガ(卵)キットでは、ほぼ同じ数値を示したが、プリマハム(卵)キットではやや高い値を示した。

卵タンパク質の安定性は、プリマハム(卵)キットの2020.1.24試験において両試料で90%程度を示した。しかしながら、保管期間は試料18/10では15ヶ月、試料19/05では8ヶ月と異なるにもかかわらずほぼ同程度の低下が認められることから、数値の振れはキットのロットに由来すると考え、卵タンパク質は、両試料において、試験期間中、安定であったと考えた。

小麦タンパク質の含有量に関しては、日本ハム(小麦)キットでは2019.11.22試験でどちらの試料についても前2回の含有量の約1.5倍となり、安定性試験の数値としては異常値を示した。2019.11.22試験で用いたロットは前2回のいずれのロットとも異なっていた。このロットは今年度の外部精度管理調査のこしあん基材に小麦タンパク質を10 µg/gとなるよう添加し、作製した試料(試料2)の均質性及び安定性で用いたものと同じロットであった。表1および図1の試料2の含有量は11.2-12.6 µg/gで、3種タンパク質添加試料の1回目及び2回目の測定値よりも高い値を示していた。以上のことから、ロットが異なるために2019.11.22試験で高値を出した可能性が考えられた。また、プリマ(小麦)キットでは2019.5.24試験と、2019.7.24試験において、別箱ではあるが、同じロットを用いたにもかかわらず、数値に差が認められたことから、2019.7.24試験と同箱のロットで2019.9.20試験を行ったところ、2019.7.24試験の結果が再現された(図21、b)、iii)。別箱の同ロットによる差は、試験操作によ

るものや、その他の要因、例えば、キットの保管状況等によるものなどが考えられる。試験精度に関わる要因については常に配慮が必要である。

そばタンパク質の含有量に関しては、日本ハム(そば)キットで2試料の含有量に若干の差が認められたが、他の2キットではほぼ同じ含有量を示した。

そばタンパク質の安定性は、モリナガ(そば)キットおよびプリマハム(そば)キットではどちらの試料も試験期間中は安定であった。日本ハム(そば)キットでは2019.11.19試験において両試料で80%台の安定性を示した。しかしながら、保管期間は試料18/10では13ヶ月、試料19/05では6ヶ月と異なるにもかかわらず同様の低下が認められたことから、数値の振れはキットのロットに由来することが考えられた。そばタンパク質は日本ハム(そば)キットにおいて2つの試料で含有量の差が認められたが、試験回数が少ないことから、試験操作に由来するものか、試料に由来するものかの判断がつかなかったが、他の2キットにおいて安定であることから、試験操作に由来する可能性が考えられた。

以上の結果から、こしあん基材に3種タンパク質(卵、小麦、そば)を添加した試料は長期間安定であると判断し、外部精度調査試料として使用可能であると考えられる。

また、キットのロット差については、注意が必要であり、特に長期の安定性を確認する際は、得られた数値がロット間差によるものか、試料によるものか、または試験操作に由来するものかを考えながら判定や再試験を行う必要がある。しかしながら、これまでの結果では、ある試料について3キット

同時に試験を実施する場合において、1キットで安定性がやや低い場合でも、残りの2キットで安定であるとの結果が認められていた。また、安定性が低い場合でもコントロールに対して20%程度であった。したがって、通知法による実試験では、2キットを用いて行うことから、個々のキット及びそのロットについて、これまでに認められたような差が判定に影響を与える可能性は低いと考えられた。

#### E . 結論

本年度は、小麦タンパク質を添加したベビーフードおよびこしあんを用いた外部精度管理調査を、26 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、全体を通して、Xbar 管理図では管理限界線の範囲を超える機関は2 機関、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。

さらにモリナガ(小麦)キットを用いた試験で試料1がMCで除外された機関は、試料2においてもz-スコアが3以上であったことから検量線が全体の95%信頼区間から外れており、検量線の背景データを精度管理に活用する可能性が示唆された。

これまでに使用実績のある基材が組成変更されたことから、試料の安定性を調べたところ、影響ないとの結果が得られた。

また、異なった時期に作製した卵、小麦およびそばタンパク質の3種を添加した試料

を用いた安定性試験から、個々の試験においてはキットのロット間差が認められる場合があったが、複数キットを同時に使用する通知法においては、試験の判定に大きな問題はないと考えられた。

#### 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

若栗忍, 佐藤夏岐, 渡辺卓穂: アレルギー物質(小麦タンパク質)を含む特定原材料検査のための技能試験プログラムのパイロットスタディ, 第115回日本食品衛生学会学術講演会(東京)2019

#### 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

表 1 外部精度管理調査試料の均質性試験における各キットの結果

キットメーカー	試料 1		試料 2	
	含有量 ( $\mu\text{g/g}$ )	変動係数	含有量 ( $\mu\text{g/g}$ )	変動係数
モリナガ	9.12	0.033	7.92	0.042
日本ハム	14.03	0.042	12.65	0.043
プリマハム	9.08	0.036	7.66	0.025

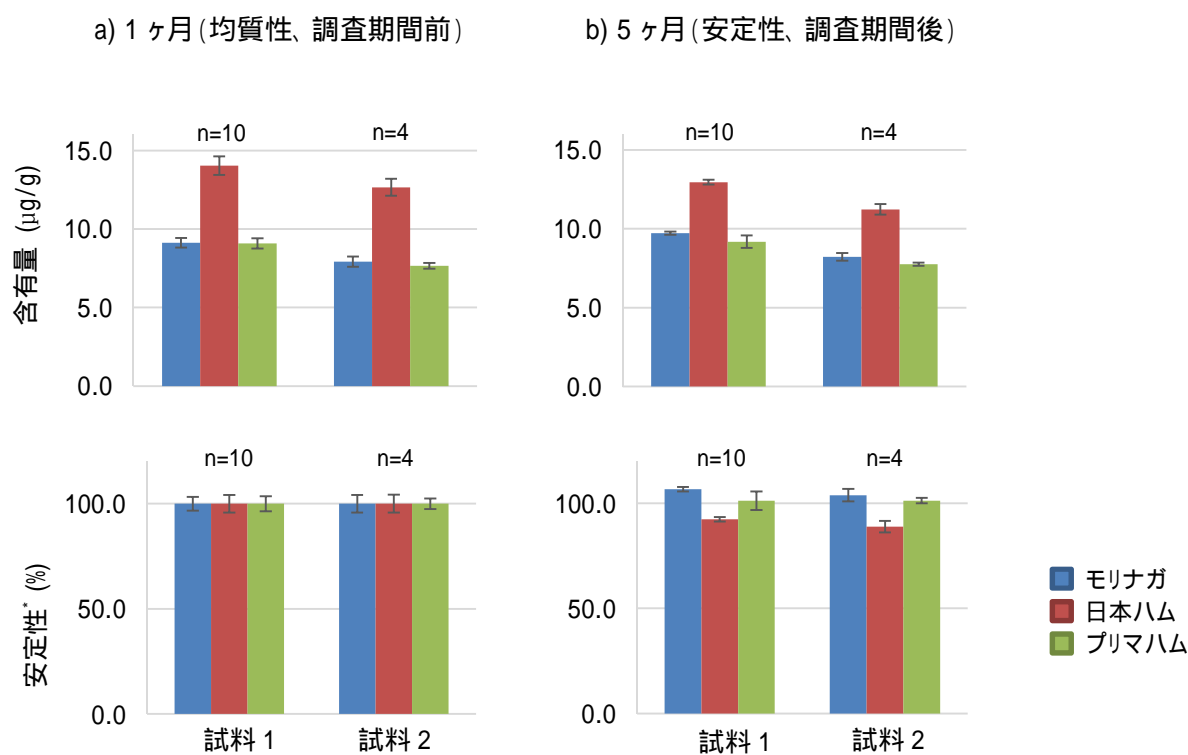


図 1 外部精度管理調査試料(小麦)の含有量および安定性

\*安定性は均質性の値を 100%として算出

上段は含有量、下段は安定性

表 2 外部精度管理調査研究報告結果のロバスト解析による平均値、標準偏差および変動係数

	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	25	24	( 2 )	26	24	( 2 )
平均値 (μg/g)	9.865	13.392	( 8.99 )	8.447	11.618	( 7.97 )
標準偏差 (μg/g)	0.719	1.746	( 0.165 )	0.626	1.617	( 0.105 )
変動係数	0.0729	0.1304	( 0.0184 )	0.0741	0.1392	( 0.0132 )
添加量 (μg/g)		10			10	

\*MC 後の値

\*\* プリマハム(小麦)キットの使用は 2 機関のため、統計解析は行わなかった。数値は参考データ

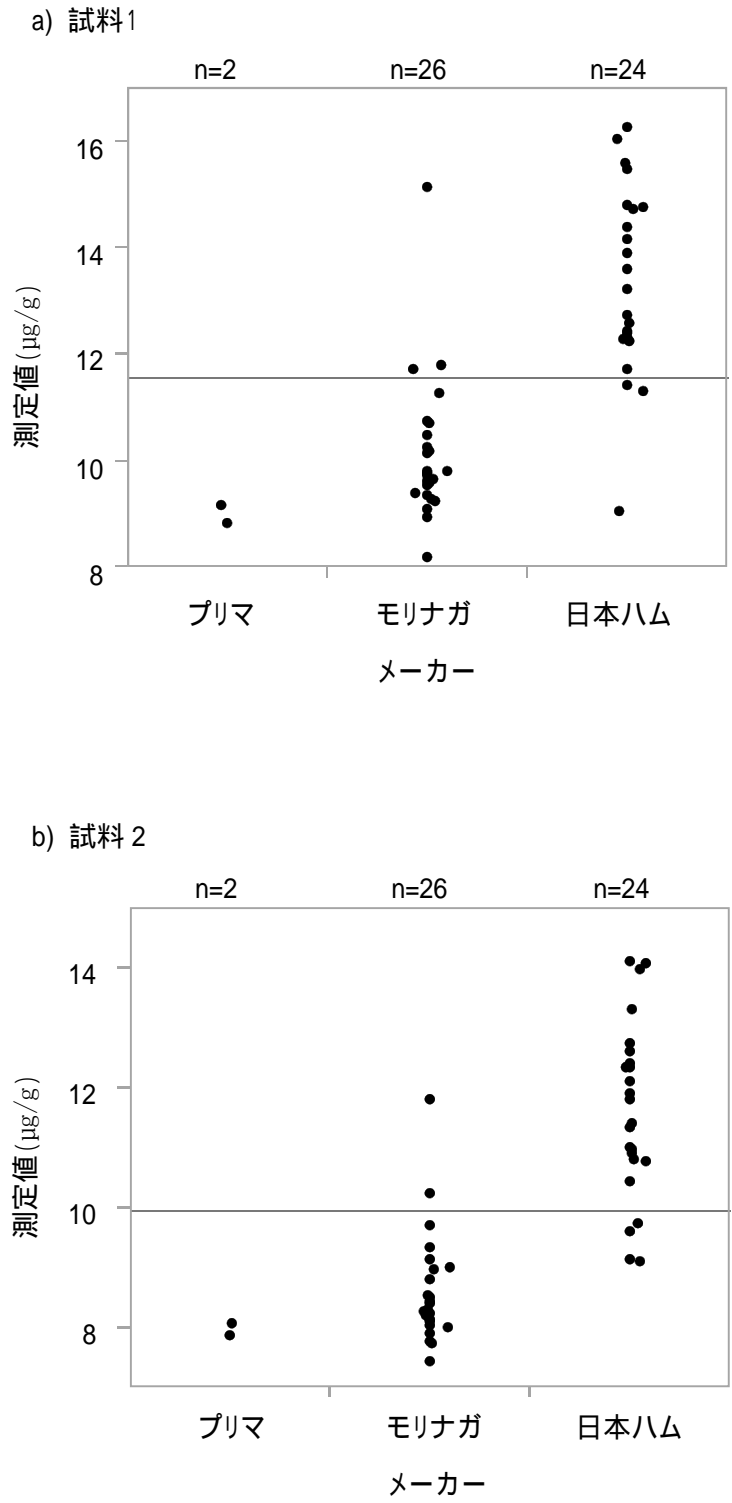


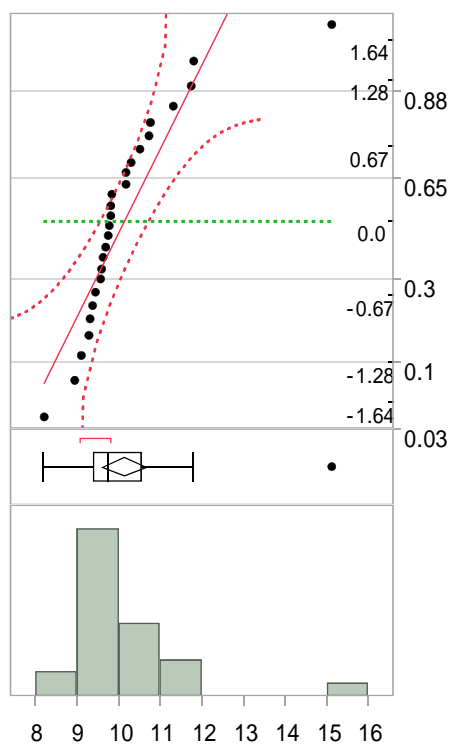
図2 外部精度管理調査研究での各試料におけるキットごとのデータ分布

表3 モリナガ(小麦)キットによる測定結果の統計量一覧

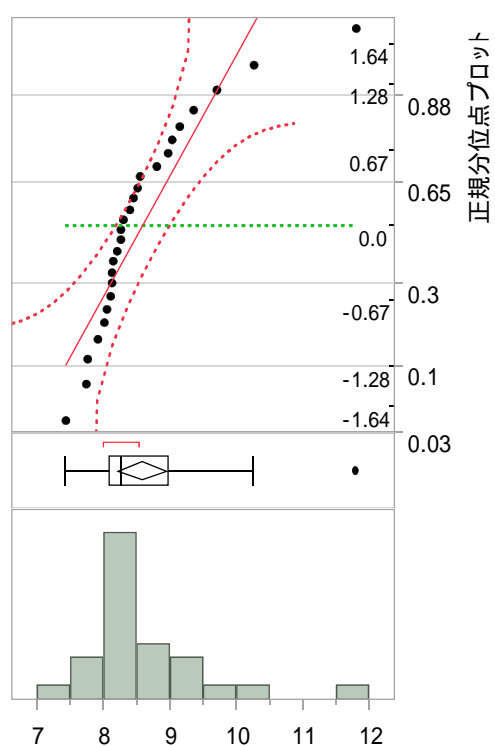
試料名		試料 1	試料 2
統計量の種類		ロバスト方式 (MC 後)	ロバスト方式
測定 の 統計量	データ数 (有効機関数)	25	26
	平均値	9.865	8.447
	分散	0.518	0.392
	標準偏差	0.719	0.626
	変動係数	0.07292	0.07414
	第 1 四分位数 (Q1)	9.385	8.084
	中央値 (メジアン)	9.745	8.270
	第 3 四分位数 (Q3)	10.375	8.978
	最大値	10.923	9.368
	最小値	8.808	7.526
	範囲	2.115	1.842
	四分位範囲	0.990	0.894
測定 の 差	R の平均	0.402	0.350
	上部管理限界	1.313	0.143



a) 試料 1



b) 試料 2



(機関数 26)

図3 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

表4 モリナガ(小麦)キットによる試料1の結果および評価一覧

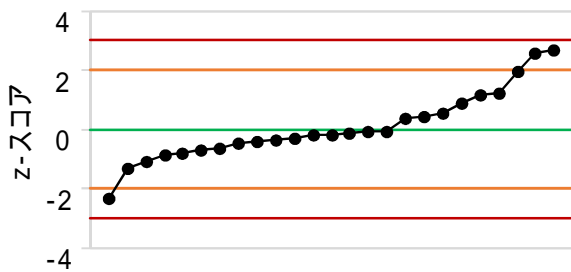
コード 番号	試料1の報告値		$\bar{X}$ 管理図		$R$ 管理図		$z$ -スコア (MC後)	
	1	2	$\bar{X}$	評価	$R$	評価	$z$ -スコア	評価
1	8.62	7.76	8.19	満足	0.86	満足	-2.33	満足
20	8.49	9.35	8.92	満足	0.86	満足	-1.31	満足
5	9.02	9.16	9.09	満足	0.14	満足	-1.08	満足
18	9.59	8.92	9.26	満足	0.67	満足	-0.85	満足
27	9.57	9.00	9.29	満足	0.57	満足	-0.81	満足
6	9.09	9.64	9.37	満足	0.55	満足	-0.70	満足
13	9.56	9.25	9.41	満足	0.31	満足	-0.64	満足
7	10.01	9.06	9.54	満足	0.95	満足	-0.46	満足
4	9.37	9.78	9.58	満足	0.41	満足	-0.40	満足
21	9.48	9.74	9.61	満足	0.26	満足	-0.36	満足
2	9.70	9.61	9.66	満足	0.09	満足	-0.29	満足
24	9.93	9.51	9.72	満足	0.42	満足	-0.20	満足
15	9.64	9.85	9.75	満足	0.21	満足	-0.17	満足
12	10.09	9.48	9.79	満足	0.61	満足	-0.11	満足
9	9.85	9.75	9.80	満足	0.10	満足	-0.09	満足
11	9.92	9.69	9.81	満足	0.23	満足	-0.08	満足
10	10.30	10.01	10.16	満足	0.29	満足	0.40	満足
26	10.23	10.10	10.17	満足	0.13	満足	0.42	満足
3	10.30	10.23	10.27	満足	0.07	満足	0.56	満足
22	10.61	10.36	10.49	満足	0.25	満足	0.86	満足
19	11.09	10.33	10.71	満足	0.76	満足	1.18	満足
17	10.77	10.69	10.73	満足	0.08	満足	1.20	満足
23	11.40	11.16	11.28	満足	0.24	満足	1.97	満足
16	12.08	11.37	11.73	満足	0.71	満足	2.59	満足
8	11.64	11.92	11.78	満足	0.28	満足	2.66	満足
25	15.48	14.75	15.12	不満足	0.73	満足	(7.30)*	除外

\*: MC後の平均および標準偏差より再計算(参考値)

表5 モリナガ(小麦)キットによる試料2の結果および評価一覧

コード 番号	試料2の報告値		$\bar{X}$ 管理図		$R$ 管理図		z-スコア	
	1	2	$\bar{X}$	評価	$R$	評価	z-スコア	評価
1	7.87	6.98	7.43	満足	0.89	満足	-1.63	満足
27	7.65	7.83	7.74	満足	0.18	満足	-1.13	満足
15	7.62	7.89	7.76	満足	0.27	満足	-1.11	満足
9	7.67	8.13	7.90	満足	0.46	満足	-0.87	満足
20	7.87	8.13	8.00	満足	0.26	満足	-0.71	満足
6	8.04	8.03	8.04	満足	0.01	満足	-0.66	満足
2	8.09	8.11	8.10	満足	0.02	満足	-0.55	満足
22	8.48	7.76	8.12	満足	0.72	満足	-0.52	満足
5	8.15	8.10	8.13	満足	0.05	満足	-0.51	満足
13	8.27	7.99	8.13	満足	0.28	満足	-0.51	満足
21	8.04	8.34	8.19	満足	0.30	満足	-0.41	満足
26	8.43	8.07	8.25	満足	0.36	満足	-0.32	満足
12	8.40	8.11	8.26	満足	0.29	満足	-0.31	満足
4	8.01	8.56	8.29	満足	0.55	満足	-0.26	満足
10	8.41	8.36	8.39	満足	0.05	満足	-0.10	満足
24	8.53	8.34	8.44	満足	0.19	満足	-0.02	満足
7	8.92	8.10	8.51	満足	0.82	満足	0.10	満足
18	8.44	8.63	8.54	満足	0.19	満足	0.14	満足
23	8.69	8.90	8.80	満足	0.21	満足	0.56	満足
16	9.29	8.64	8.97	満足	0.65	満足	0.83	満足
17	8.97	9.06	9.02	満足	0.09	満足	0.91	満足
3	8.69	9.57	9.13	満足	0.88	満足	1.09	満足
11	9.44	9.24	9.34	満足	0.20	満足	1.43	満足
19	10.09	9.29	9.69	満足	0.80	満足	1.99	満足
8	10.36	10.12	10.24	満足	0.24	満足	2.86	満足
25	11.86	11.72	11.79	不満足	0.14	満足	5.34	不満足

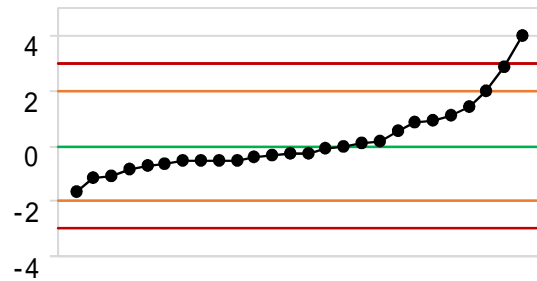
a) 試料 1 (MC 後)



機関番号			
z-スコア ≤ -2 の順位	z-スコア	z ≤ z-スコ アの順位	z-スコア
1	-2.33	1	2.59
		2	2.66

(機関数 25)

b) 試料 2



機関番号			
z-スコア ≤ -2 の順位	z-スコア	z ≤ z-スコ アの順位	z-スコア
		1	2.86
		2	5.34

図中 z-スコア 4 以上は 4 に設定

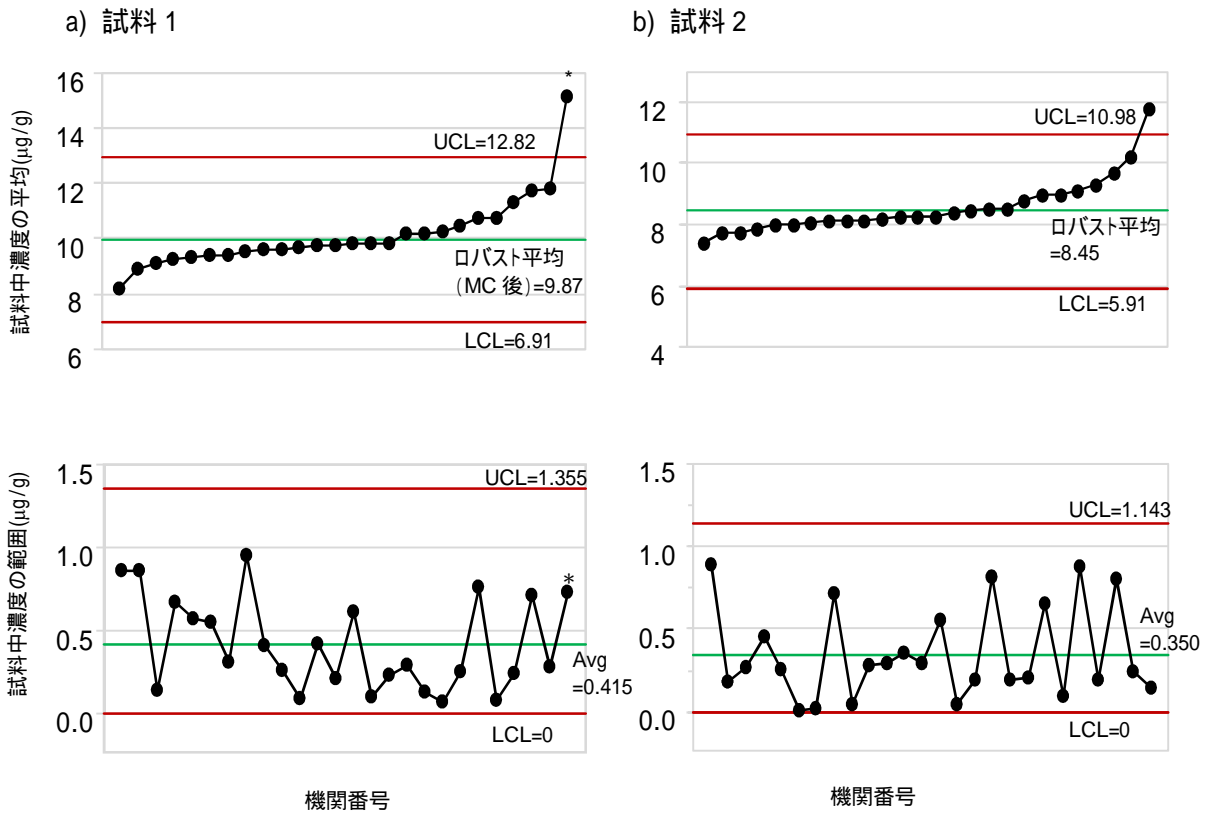
(機関数 26)

図 4 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

コード番号(左から)

試料1 (MC 後): 1, 20, 5, 18, 27, 6, 13, 7, 4, 21, 2, 24, 15, 12, 9, 11, 10, 26, 3, 22, 19,  
17, 23, 16, 8

試料 2: 1, 27, 15, 9, 20, 6, 2, 22, 5, 13, 21, 26, 12, 4, 10, 24, 7, 18, 23, 16, 17, 3, 11,  
19, 8, 25



(機関数 26)

図5 モリナガ(小麦)キットを用いた測定による  $\bar{X}$ - $R$  管理図

コード番号(左から)

試料1: 1, 20, 5, 18, 27, 6, 13, 7, 4, 21, 2, 24, 15, 12, 9, 11, 10, 26, 3, 22, 19, 17, 23, 16, 8, 25\*  
(\* MC で除外)

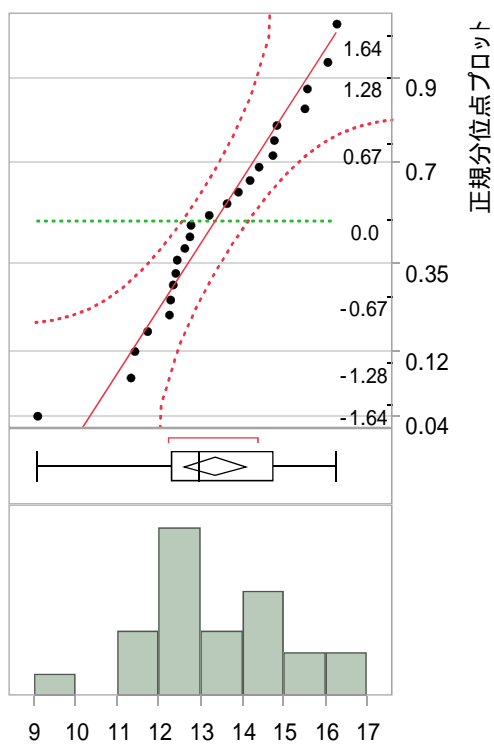
試料2: 1, 27, 15, 9, 20, 6, 2, 22, 5, 13, 21, 26, 12, 4, 10, 24, 7, 18, 23, 16, 17, 3, 11, 19, 8, 25

$\bar{X}$  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)はロバスト平均 $\pm 30\%$ 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。

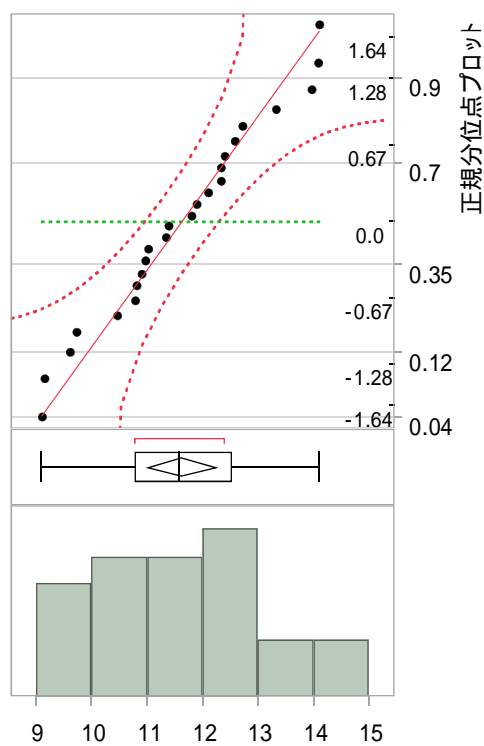
表 6 日本ハム(小麦)キットによる測定結果の統計量一覧

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
測定 の統 計量	データ数 (有効機関数)	24	24
	平均値	13.392	11.618
	分散	3.047	2.614
	標準偏差	1.746	1.617
	変動係数	0.13034	0.13917
	第 1 四分位数 (Q1)	12.280	10.776
	中央値(メジアン)	12.968	11.593
	第 3 四分位数 (Q3)	14.743	12.538
	最大値	15.955	13.992
	最小値	10.829	9.243
	範囲	5.126	4.748
	四分位範囲	2.463	1.761
測定 の差	R の平均	0.558	0.470
	上部管理限界	1.823	1.535

a) 試料 1



b) 試料 2



(機関数 24)

図 6 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

表7 日本ハム(小麦)キットによる試料1の結果および評価一覧

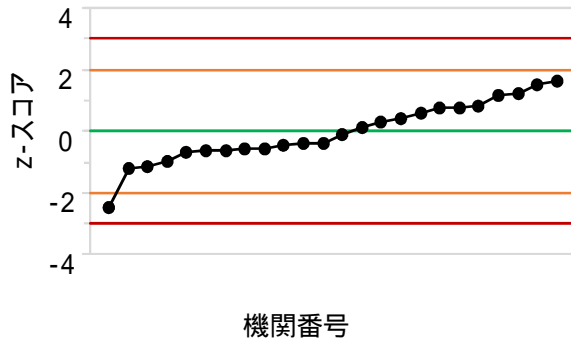
コード 番号	試料1の報告値		Xbar 管理図		R 管理図		z-スコア	
	1	2	Xbar	評価	R	評価	z-スコア	評価
11	9.37	8.74	9.06	不満足	0.63	満足	-2.48	満足
5	11.22	11.40	11.31	満足	0.18	満足	-1.19	満足
15	11.71	11.11	11.41	満足	0.60	満足	-1.14	満足
24	12.28	11.16	11.72	満足	1.12	満足	-0.96	満足
18	12.30	12.17	12.24	満足	0.13	満足	-0.66	満足
27	12.69	11.84	12.27	満足	0.85	満足	-0.65	満足
10	12.20	12.45	12.33	満足	0.25	満足	-0.61	満足
4	12.96	11.80	12.38	満足	1.16	満足	-0.58	満足
9	12.62	12.21	12.42	満足	0.41	満足	-0.56	満足
13	12.97	12.21	12.59	満足	0.76	満足	-0.46	満足
6	12.98	12.49	12.74	満足	0.49	満足	-0.38	満足
1	13.03	12.45	12.74	満足	0.58	満足	-0.37	満足
2	13.64	12.75	13.20	満足	0.89	満足	-0.11	満足
21	13.68	13.53	13.61	満足	0.15	満足	0.12	満足
12	14.06	13.71	13.89	満足	0.35	満足	0.28	満足
19	13.86	14.47	14.17	満足	0.61	満足	0.44	満足
3	14.09	14.68	14.39	満足	0.59	満足	0.57	満足
17	14.68	14.76	14.72	満足	0.08	満足	0.76	満足
22	14.76	14.74	14.75	満足	0.02	満足	0.78	満足
20	14.75	14.85	14.80	満足	0.10	満足	0.81	満足
23	14.75	16.21	15.48	満足	1.46	満足	1.20	満足
25	15.74	15.38	15.56	満足	0.36	満足	1.24	満足
8	16.36	15.72	16.04	満足	0.64	満足	1.52	満足
16	16.73	15.76	16.25	満足	0.97	満足	1.63	満足



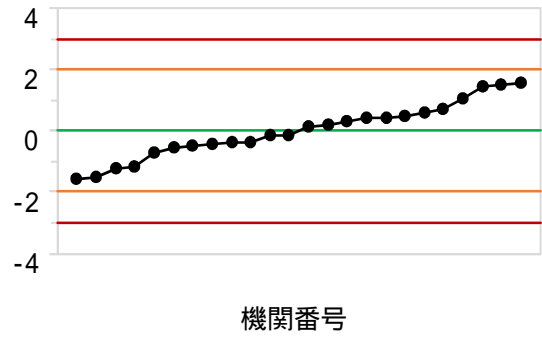
表 8 日本ハム(小麦)キットによる試料 2 の結果および評価一覧

コード 番号	試料 2 の報告値		$Xbar$ 管理図		$R$ 管理図		z-スコア	
	1	2	$Xbar$	評価	$R$	評価	z-スコア	評価
11	9.24	8.93	9.09	満足	0.31	満足	-1.57	満足
15	9.08	9.22	9.15	満足	0.14	満足	-1.53	満足
1	9.91	9.31	9.61	満足	0.60	満足	-1.24	満足
9	9.77	9.68	9.73	満足	0.09	満足	-1.17	満足
10	10.58	10.32	10.45	満足	0.26	満足	-0.72	満足
5	10.54	11.00	10.77	満足	0.46	満足	-0.52	満足
27	10.67	10.92	10.80	満足	0.25	満足	-0.51	満足
13	11.36	10.45	10.91	満足	0.91	満足	-0.44	満足
24	11.42	10.52	10.97	満足	0.90	満足	-0.40	満足
18	11.79	10.21	11.00	満足	1.58	不満足	-0.38	満足
6	11.22	11.45	11.34	満足	0.23	満足	-0.18	満足
4	11.21	11.56	11.39	満足	0.35	満足	-0.14	満足
12	11.76	11.84	11.80	満足	0.08	満足	0.11	満足
2	11.37	12.40	11.89	満足	1.03	満足	0.17	満足
20	12.10	12.08	12.09	満足	0.02	満足	0.29	満足
21	12.18	12.48	12.33	満足	0.30	満足	0.44	満足
22	12.89	11.77	12.33	満足	1.12	満足	0.44	満足
19	12.37	12.42	12.40	満足	0.05	満足	0.48	満足
3	12.86	12.31	12.59	満足	0.55	満足	0.60	満足
17	12.82	12.62	12.72	満足	0.20	満足	0.68	満足
16	13.42	13.21	13.32	満足	0.21	満足	1.05	満足
25	13.95	13.96	13.96	満足	0.01	満足	1.45	満足
23	13.41	14.75	14.08	満足	1.34	満足	1.52	満足
8	13.96	14.24	14.10	満足	0.28	満足	1.54	満足

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	-2.48		

図中 z-スコア 4 以上は 4 に設定

(機関数 24)

図 7 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

コード番号(左から)

試料 1: 11, 5, 15, 24, 18, 27, 10, 4, 9, 13, 6, 1, 2, 21, 12, 19, 3, 17, 22, 20, 23, 25, 8, 16

試料 2: 11, 15, 1, 9, 10, 5, 27, 13, 24, 18, 6, 4, 12, 2, 20, 21, 22, 19, 3, 17, 16, 25, 23, 8

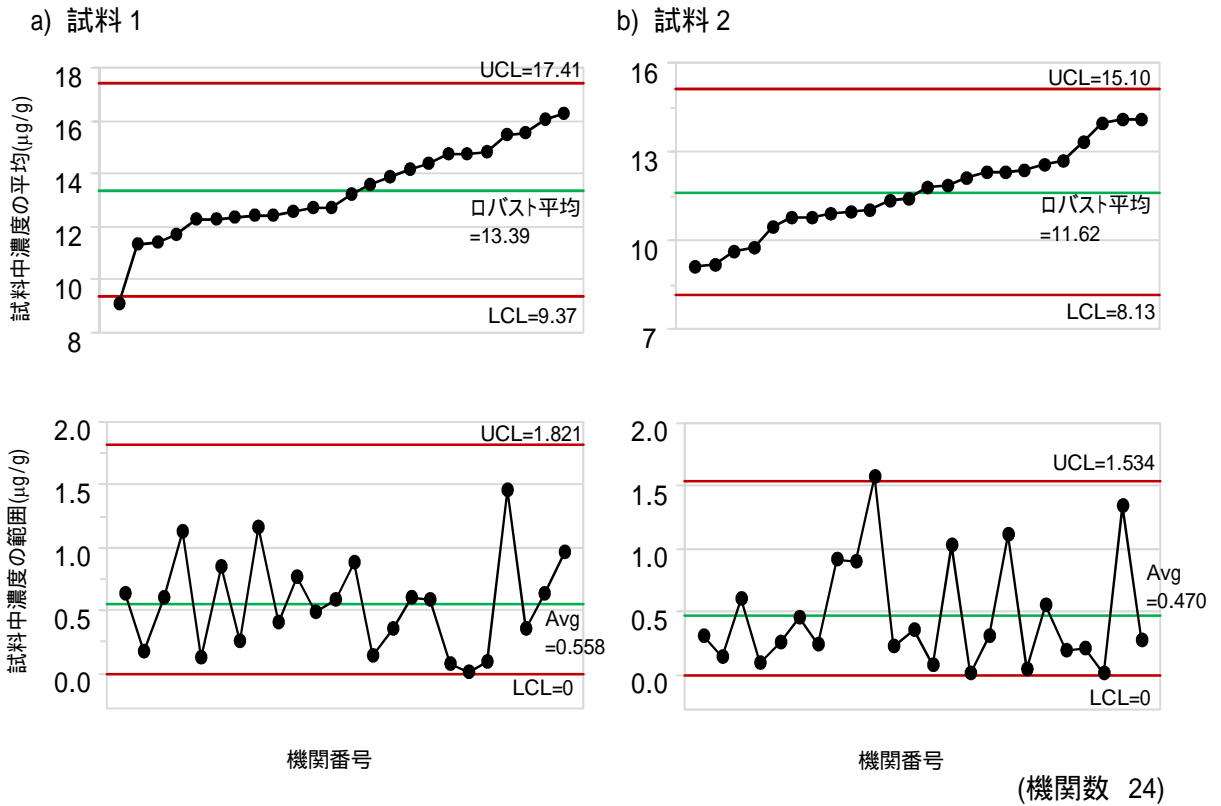


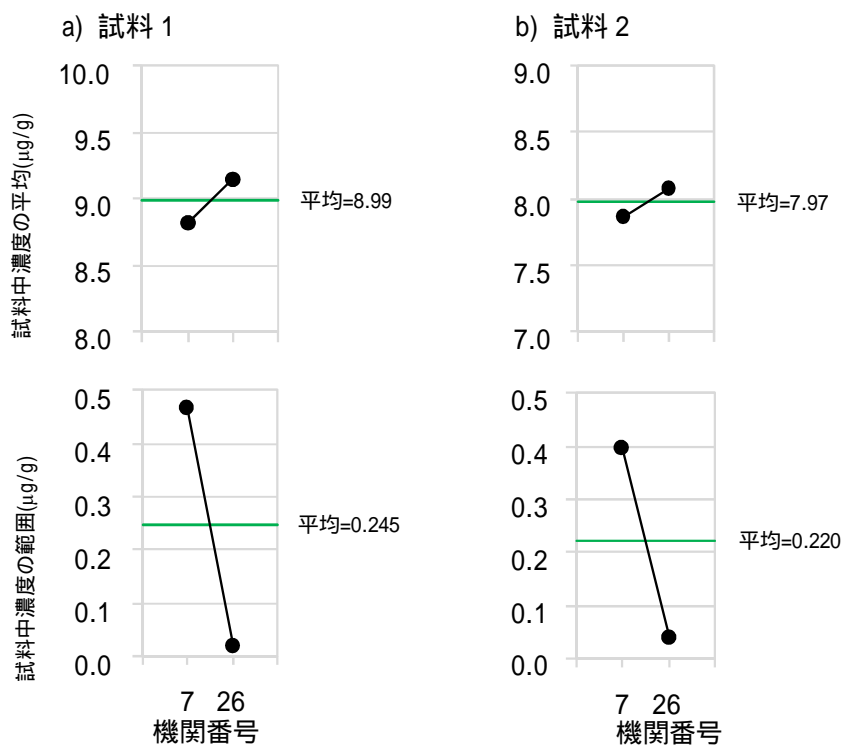
図8 日本ハム(小麦)キットを用いた測定による  $\bar{X}$ - $R$  管理図

コード番号(左から)

試料 1: 11, 5, 15, 24, 18, 27, 10, 4, 9, 13, 6, 1, 2, 21, 12, 19, 3, 17, 22, 20, 23, 25, 8, 16

試料 2: 11, 15, 1, 9, 10, 5, 27, 13, 24, 18, 6, 4, 12, 2, 20, 21, 22, 19, 3, 17, 16, 25, 23, 8

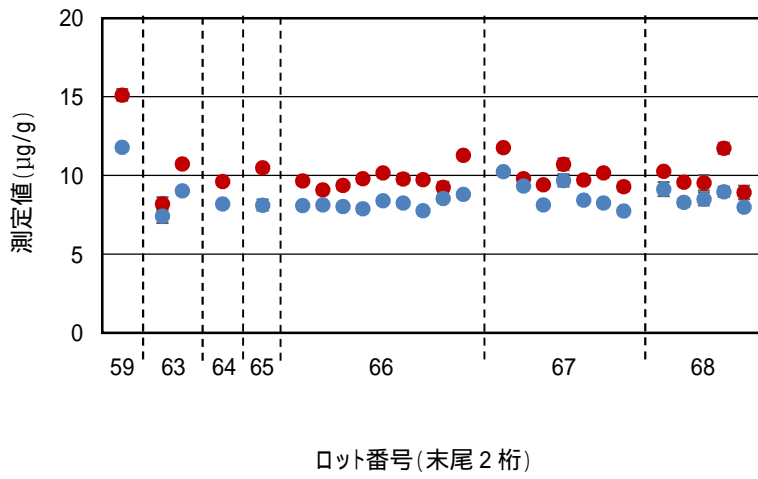
$\bar{X}$  管理図(上段)の上部管理限界線(UCL)および下部管理限界線(LCL)はロバスト平均  $\pm 30\%$  とした。 $R$  管理図(下段)の UCL および LCL は  $R$  の平均値と JIS ハンドブックの係数  $D4 (=3.267)$  から算出した。



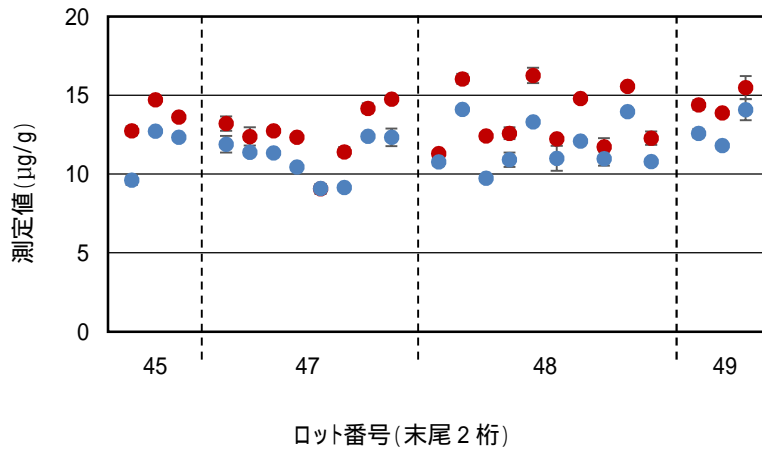
(機関数 2)

図9 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

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

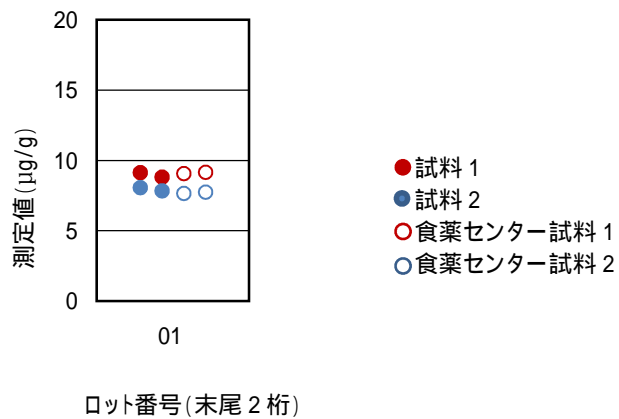


図 10 各キットで得られた測定値のロット間比較

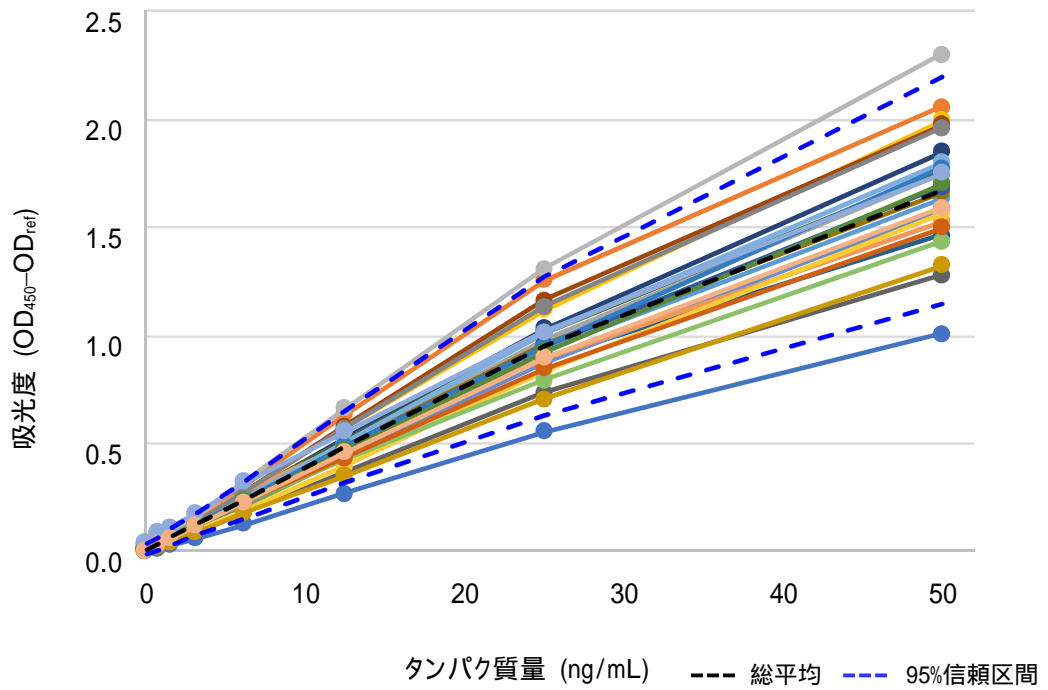


図 11 モリナガ(小麦)キットを用いた測定における検量線(26 機関)  
個別は図 19 を参照

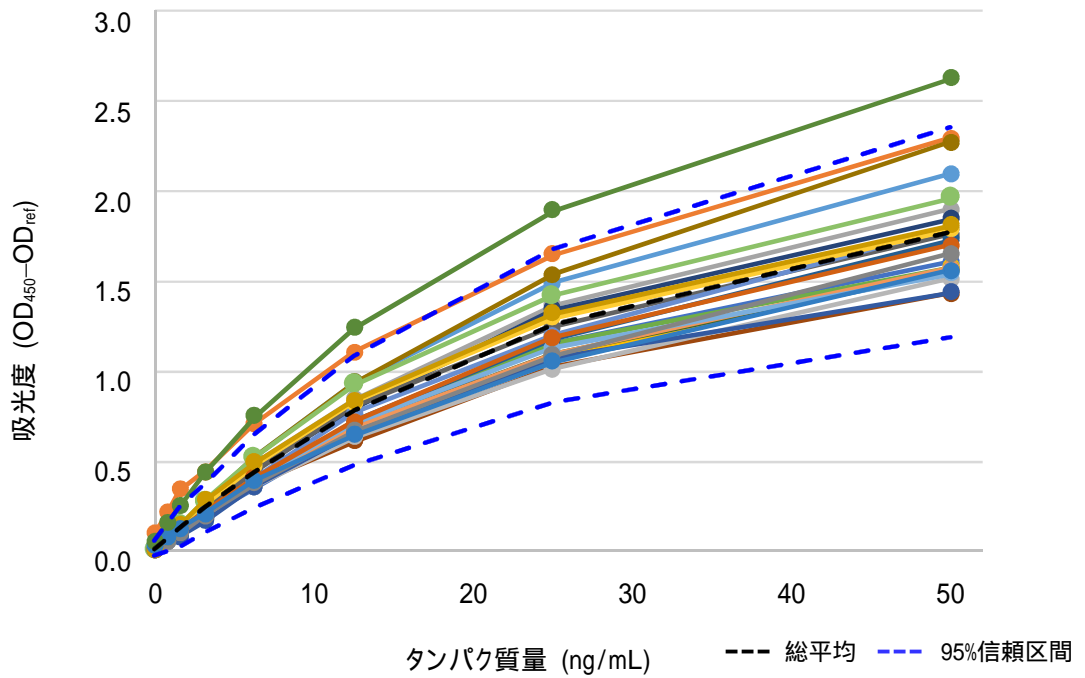


図 12 日本ハム(小麦)キットを用いた測定における検量線(55 機関)  
個別は図 20 を参照

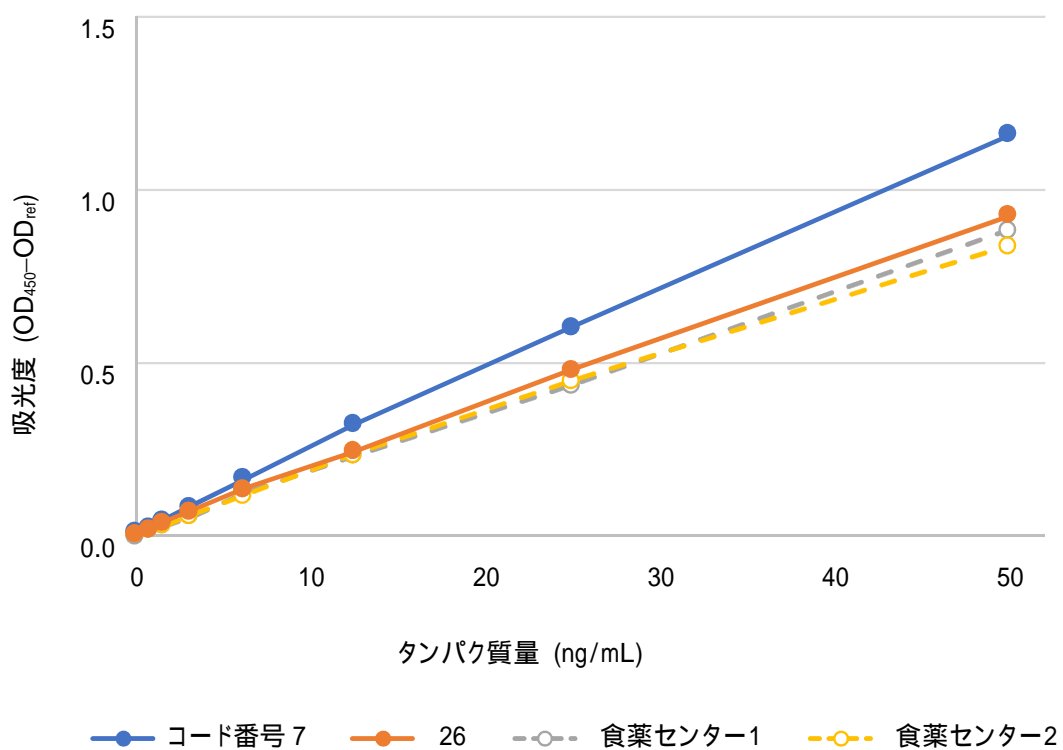


図 13 プリマハム(小麦)キットを用いた測定における検量線(4 機関)

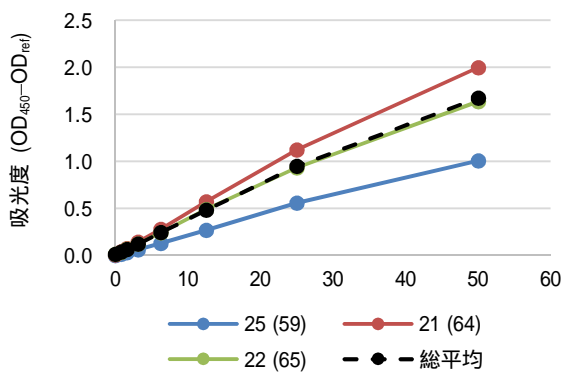
表 9 外部精度管理調査研究で使用されたプリマハム(小麦)キットのロットおよび使用機関数

ロット	使用期限	使用機関数
1901GLS	2020/1	2

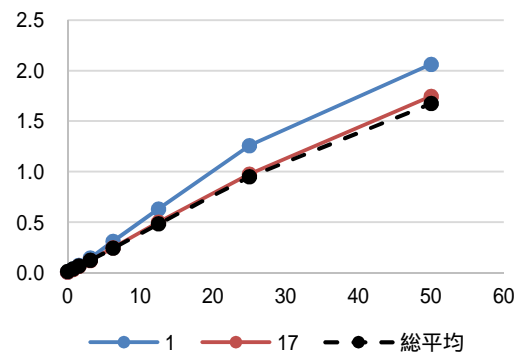
表 10 外部精度管理調査研究で使用されたモリナガ(小麦)キットのロットおよび使用機関数

ロット	使用期限	使用機関数
18OCSFGD059	2019/10/4	1
19FESFGD063	2020/2/5	2
19MASFGD064	2020/3/4	1
19MASFGD065	2020/3/14	1
19APSGD066	2020/4/3	9
19JUSFGD067	2020/6/5	7
19JLSFGD068	2020/7/17	5

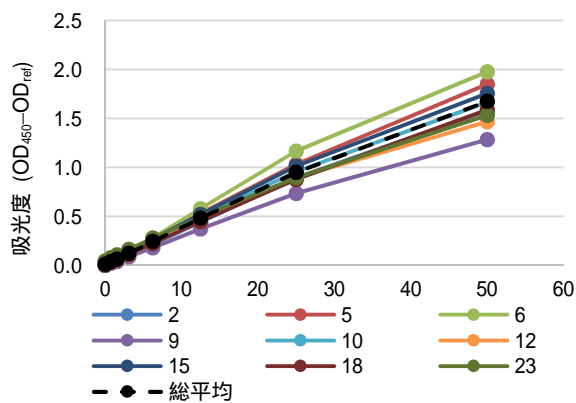
a) 18OCSFGD059,19MASFGD064,  
19MASFGD065



b) 19FESFGD063



c) 19APSGD066



タンパク質量 (ng/mL)

図 14-1 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



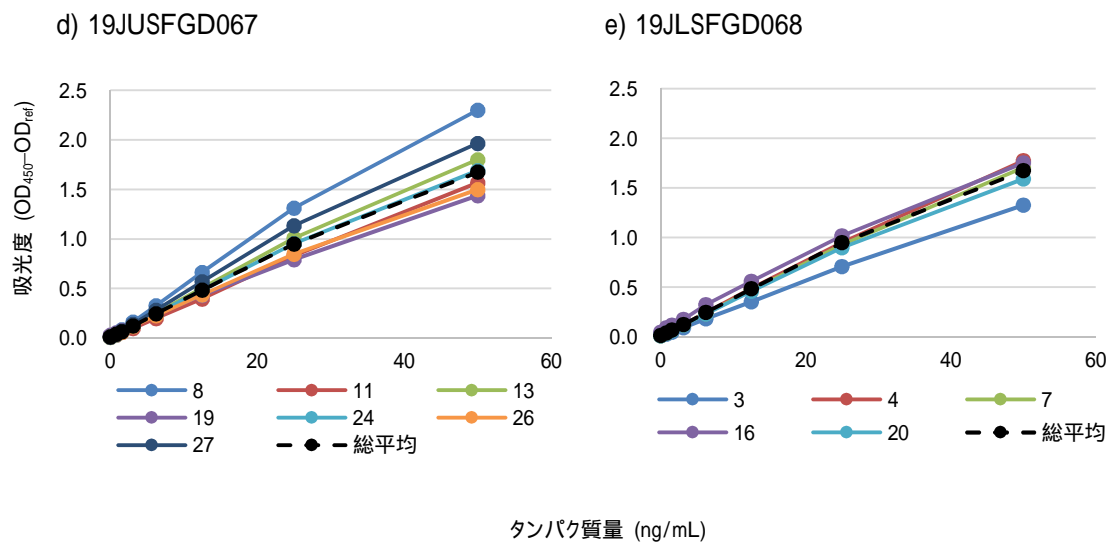


図 14-2 モリナガ(小麦)キットを用いた測定におけるロット別検量線

表 11 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
FKEW1945	2019/11	3
FKEW1947	2020/2	8
FKEW1948	2020/3	10
FKEW1949	2020/5	3

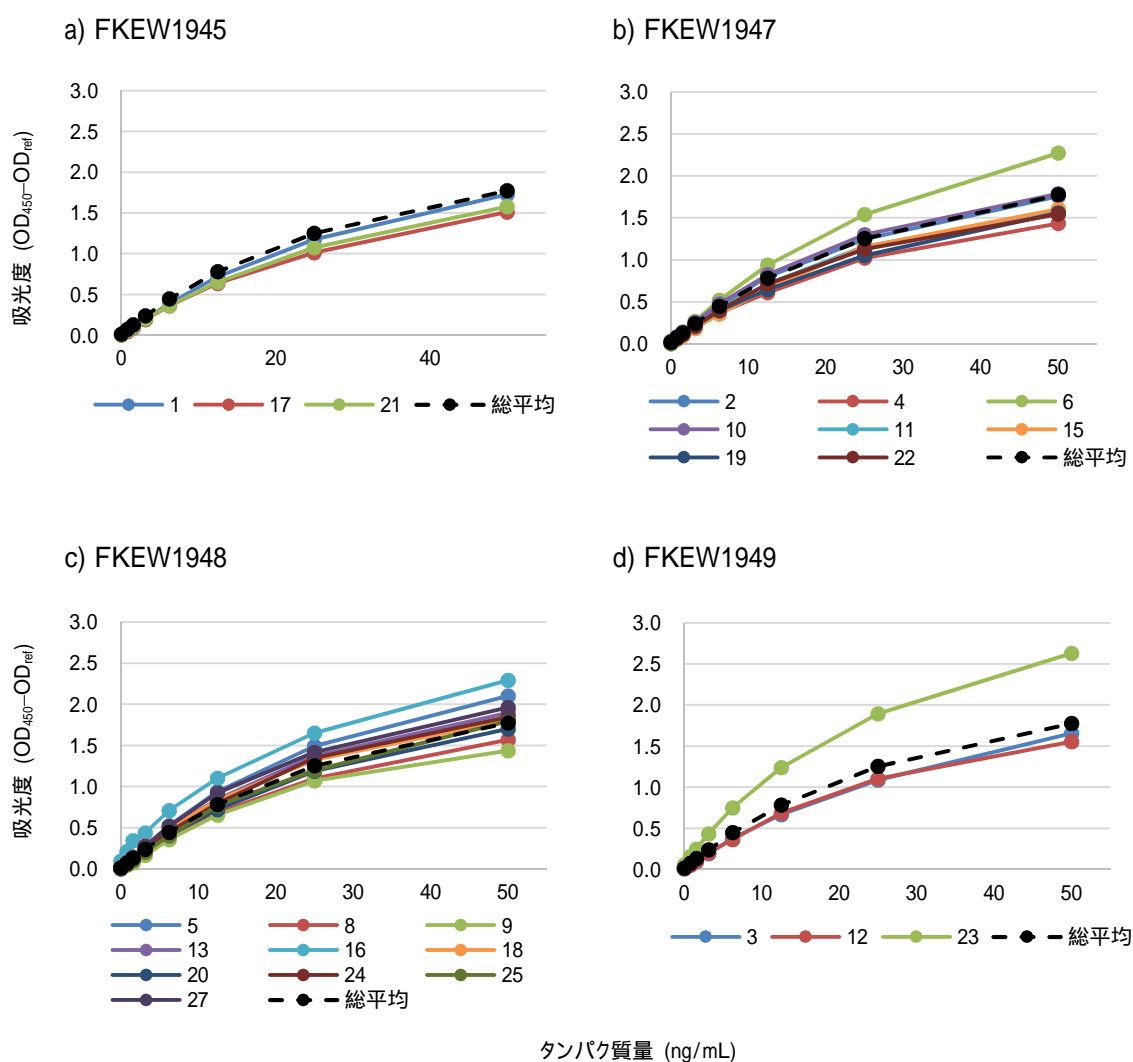
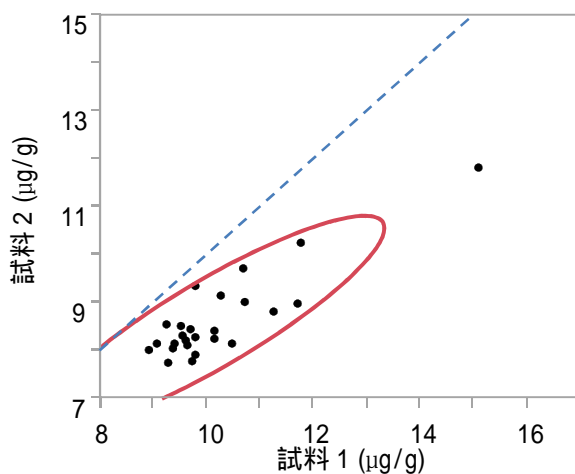


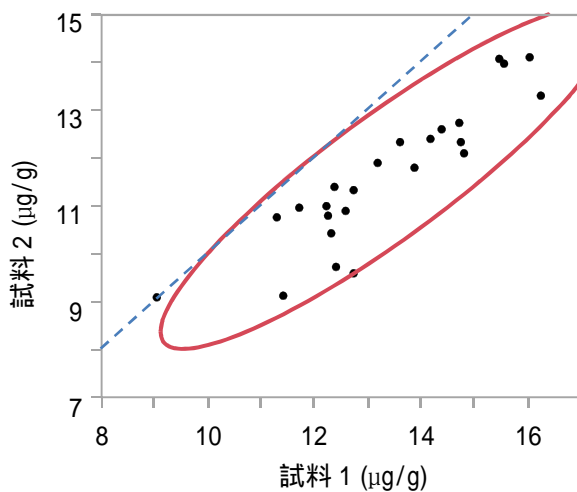
図 15 日本ハム(小麦)キットを用いた測定におけるロット別検量線

a) モリナガ(小麦)キット(26 機関)



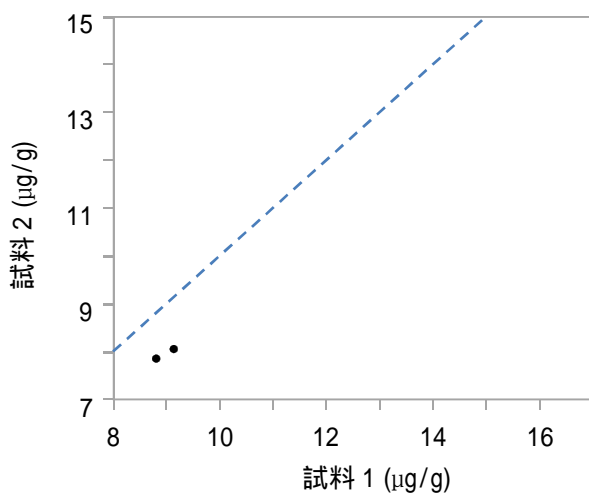
試料 1:  $10.12 \pm 1.31 \mu\text{g/g}$   
 試料 2:  $8.58 \pm 0.91 \mu\text{g/g}$   
 $R = 0.885$  ( $p < 0.0001$ )

b) 日本ハム(小麦)キット(55 機関)



試料 1:  $13.33 \pm 1.73 \mu\text{g/g}$   
 試料 2:  $11.62 \pm 1.46 \mu\text{g/g}$   
 $R = 0.900$  ( $p < 0.0001$ )

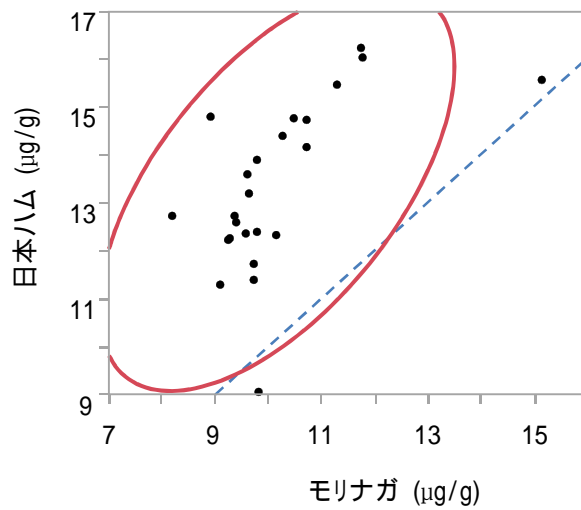
c) プリマハム(小麦)キット(4 機関)



試料 1:  $8.99 \pm 0.17 \mu\text{g/g}$   
 試料 2:  $7.97 \pm 0.11 \mu\text{g/g}$

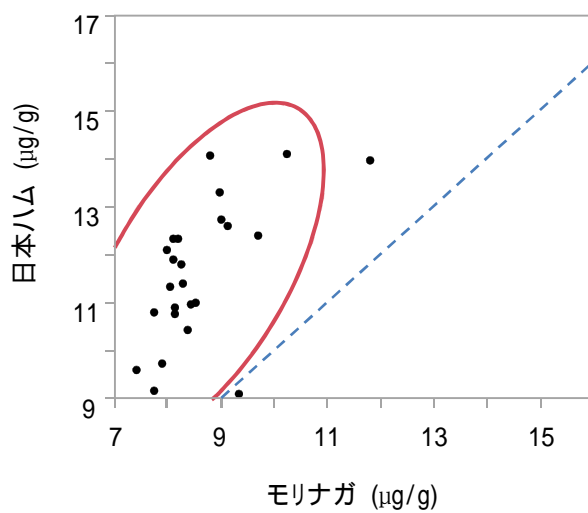
図 16 同一キット内における測定値の試料間の相関性  
 図中の楕円は 95%の確率楕円を示す。点線は  $y = x$

a) 試料1 (55 機関)



モリナガ:  $10.14 \pm 1.36 \mu\text{g/g}$   
 日本ハム:  $13.33 \pm 1.73 \mu\text{g/g}$   
 $R = 0.597$  ( $\rho = 0.0021$ )

b) 試料2 (55 機関)



モリナガ:  $8.60 \pm 0.95 \mu\text{g/g}$   
 日本ハム:  $11.62 \pm 1.46 \mu\text{g/g}$   
 $R = 0.607$  ( $\rho = 0.0016$ )

図 17 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 12 2019 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
抽出方法	振盪 26	ホモジェナイズ 0			
振盪時間(12h <) (h)	< 14 1	14 - 16 18	16 < 7		
振盪速度 (rpm)	< 90 0	90 - 110 24	110 < 1	不明 1	
ろ過	実施 20	実施せず 6			
遠心分離	実施 26	実施せず 0			
抽出溶液等 の希釈操作	手動 26	自動 0			
試薬の添加時の ピペットタイプ	手動				電動
	連続分注		マルチch	シングルch	
	マルチch 3	シングルch 1	21	1	0
洗浄方法	手動 10	自動 16			
検量線の 回帰法	4PL* 25	5PL** 1***			

(26 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

\*\*\*: Microplate Manager, Version 5.1, BIORAD

表 13 2019 年度外部精度管理調査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(26 機関)、使用ロット数 7 ロット

項目	1	2	3	4
抽出液の 保存期間(日)	0 21	1 4	> 1 1	
抽出液の 保存条件	室温 2	冷蔵 3		
試料添加時間 (分)	≤ 10 21	10 - 20 4	≥ 20 1	
操作中の室温 (範囲)	≤ 24°C 9	24-26°C 10	≥ 26°C 0	その他 5

b) 日本ハム(小麦)キット(24 機関)、使用ロット数 4 ロット

項目	1	2	3	4
抽出液の 保存期間(日)	0 14	1 7	> 1 3	
抽出液の 保存条件	室温 1	冷蔵 8	無回答 1	
試料添加時間 (分)	≤ 10 20	10 - 20 4	≥ 20 0	
操作中の室温	≤ 24°C 9	24-26°C 10	≥ 26°C 0	その他 5

c) プリマハム(小麦)キット(2 機関)、使用ロット数 1 ロット

項目	1	2	3	4
抽出液の 保存期間(日)	0 0	1 2	> 1 0	
抽出液の 保存条件	室温 1	冷蔵 1		
試料添加時間 (分)	≤ 10 1	10 - 20 1	≥ 20 0	
操作中の室温	≤ 24°C 0	24-26°C 0	≥ 26°C 0	その他 2

表 14 2018 年度の特定原材料6種(卵、乳、小麦、そば、落花生、甲殻類)の検査実績種類数

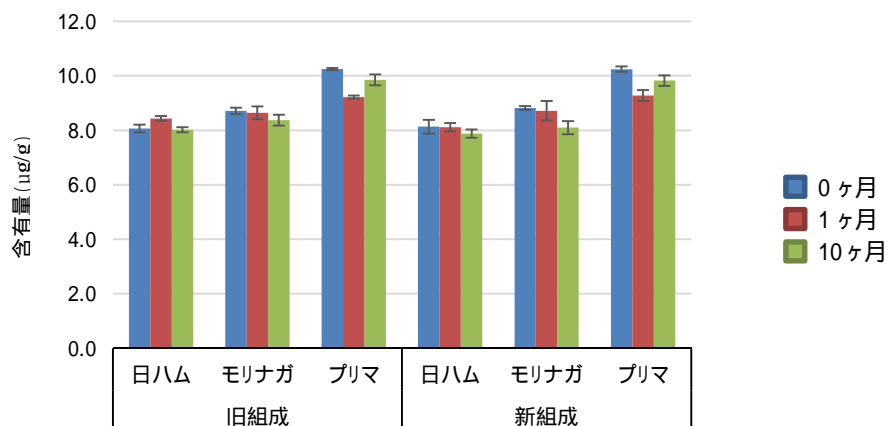
	特定原材料 6 種中の実施種類数						
	0	1	2	3	4	5	6
実施機関数	0	3	4	2	4	4	8

(回答 25 機関)

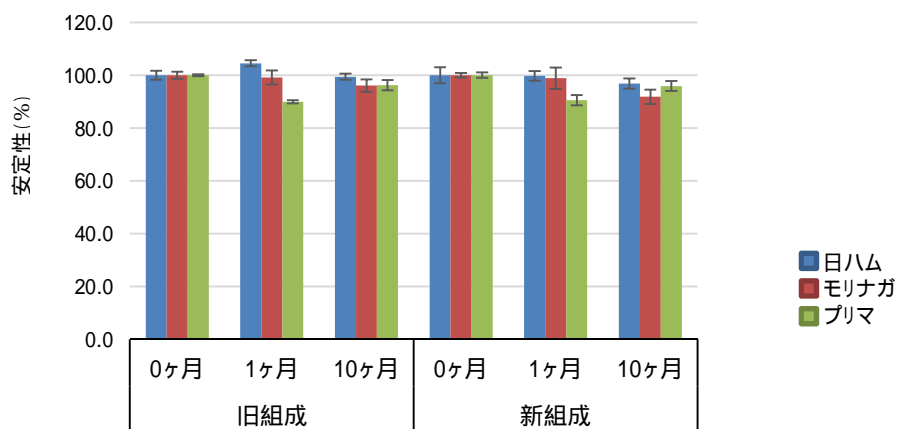
表 15 2018 年度の参加機関の検査実績および使用キット

		特定原材料					
		卵	乳	小麦	そば	落花生	甲殻類
ELISA	実施機関数	22	21	20	14	14	10
(回答 25)		使用キット [複数回答]					
	モリナガ	20	20	19	14	13	
	日本ハム	21	20	19	14	13	
	プリマハム	1	0	1	0	0	
	ニッスイ						11
	マルハ						9
	総試験数	4855	4929	4740	4760	4720	2313
	陽性検出機関数	5	10	8	2	1	4
	検出試験数	485	484	878	40	56	66
確認試験	実施機関数	2	3	6	2	2	3
(回答 26)	試験数	47	21	114	19	7	62
	陽性検出機関数	2	3	4	1	0	3
	検出試験数	10	7	13	6	0	8

a) 含有量

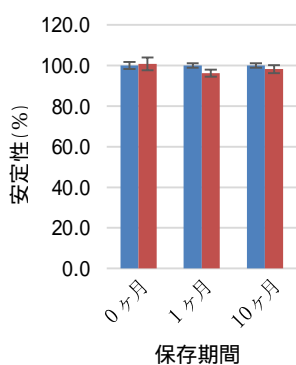


b) 安定性

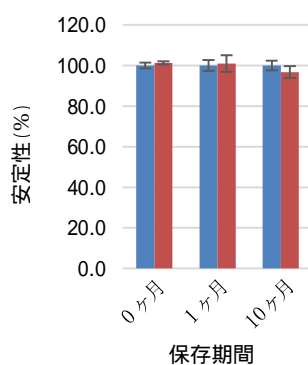


c) 旧基材に対する新基材の安定性

i) 日ハム



ii) モリナガ



iii) プリマ

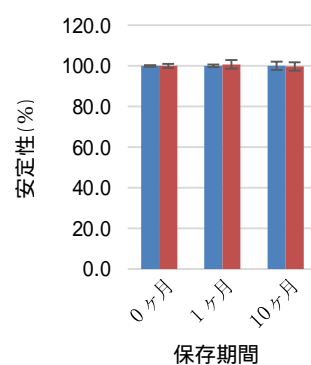


図 18 新旧ベビーフードによる試料の安定性結果

■ 旧組成  
■ 新組成



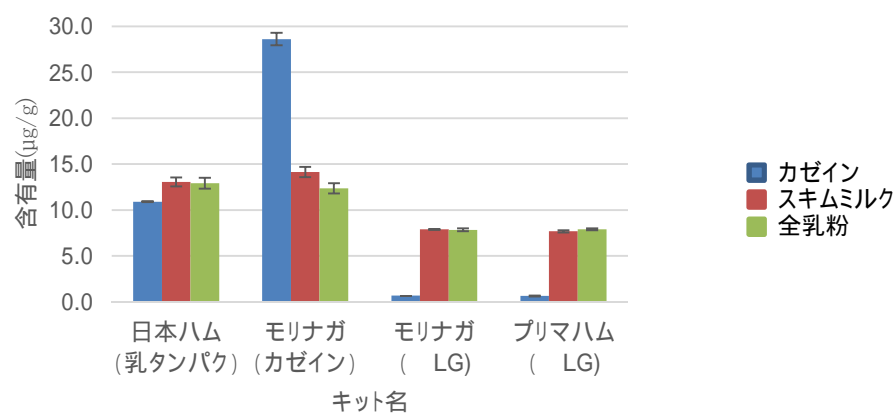


図 19 各種キットを用いた ELISA 法による試料中の乳タンパク含有量

表 16 各種乳タンパク質における ELISA 法による回収率

乳タンパク源	回収率(%)			
	日本ハム (乳)	モリナガ (カゼイン)	モリナガ ( LG)	プリマハム ( LG)
カゼイン	109.1 ± 0.5	286.1 ± 6.8	6.9 ± 0.1	6.3 ± 0.5
スキムミルク	130.6 ± 4.8	141.3 ± 5.4	78.9 ± 0.6	76.8 ± 1.3
全乳粉	129.2 ± 5.9	123.7 ± 5.6	78.4 ± 1.5	79.1 ± 1.0

LG: -ラクトグロブリン

表 17 各添加タンパク質の測定日と保存期間

a) 卵タンパク質

測定日	試料 18/10	試料 19/5
2019.2.8	○(初回)	×
2019.5.22	×	○(初回)
2019.8.16	○(10 ヶ月)	○(3 ヶ月)
2020.1.24	○(15 ヶ月)	○(8 ヶ月)

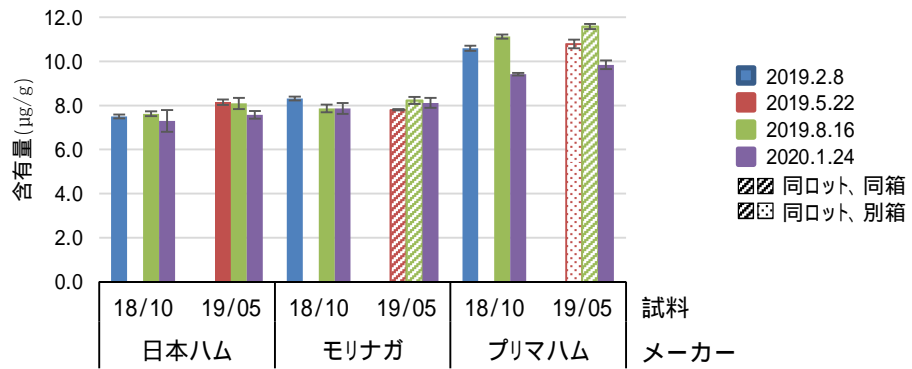
b) 小麦タンパク質

測定日	試料 18/10	試料 19/5
2019.2.22	○(初回)	×
2019.5.24	×	○(初回)
2019.7.24	○(9 ヶ月)	○(2 ヶ月)
(2019.9.20)	(○)	(○)
2019.11.27	○(13 ヶ月)	○(6 ヶ月)

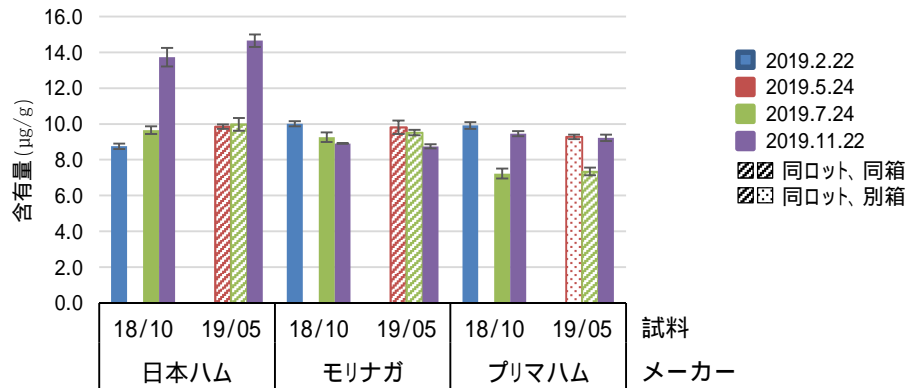
c) そばタンパク質

測定日	試料 18/10	試料 19/5
2019.2.15	○(初回)	×
2019.6.6	×	○(初回)
2019.8.14	○(10 ヶ月)	○(3 ヶ月)
2019.11.19	○(13 ヶ月)	○(6 ヶ月)

a) 卵タンパク質



b) 小麦タンパク質



c) そばタンパク質

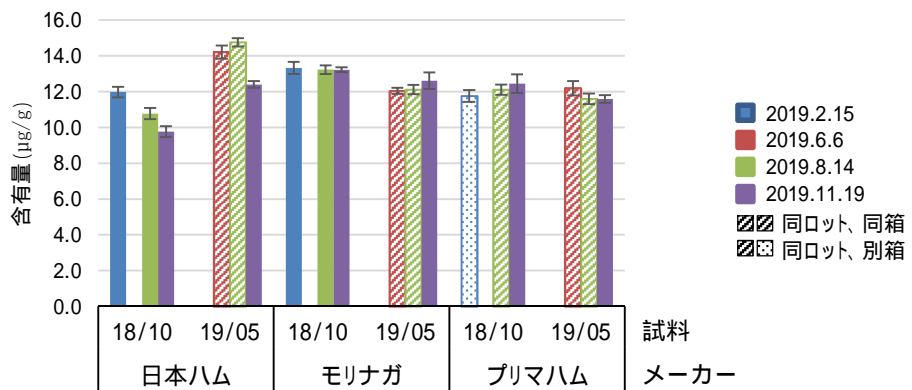
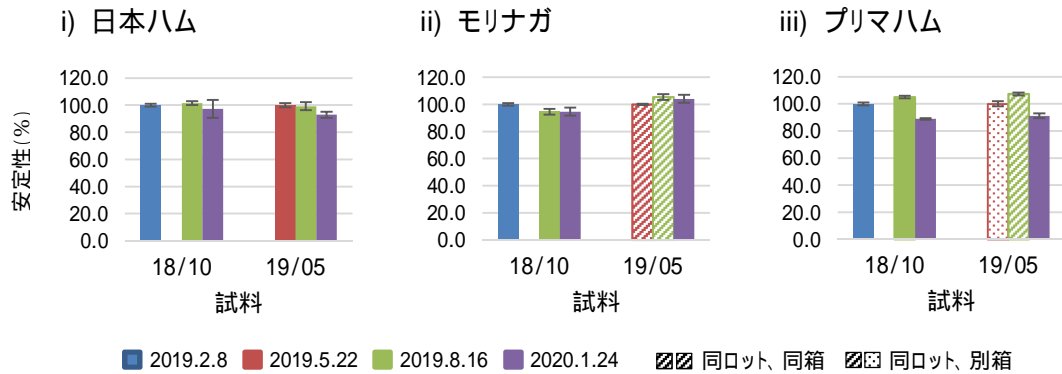
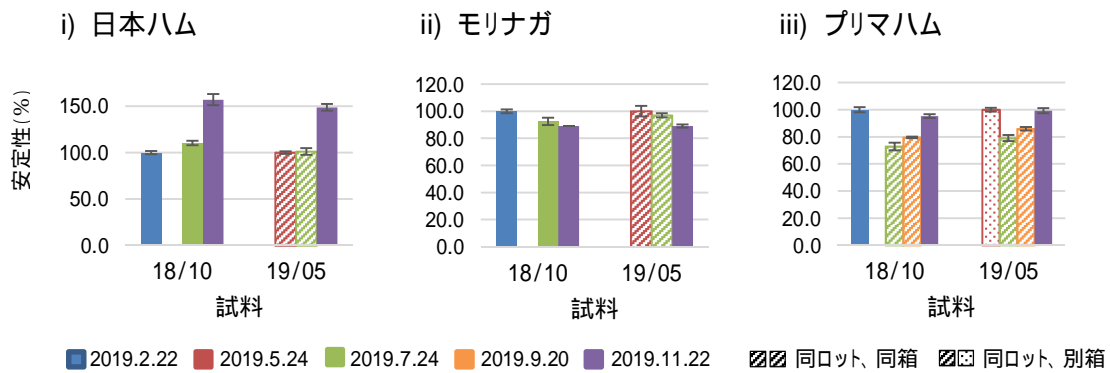


図 20 こしあん試料中の 3 種タンパク質の ELISA 法による含有量測定結果

a) 卵タンパク質



b) 小麦タンパク質



c) そばタンパク質

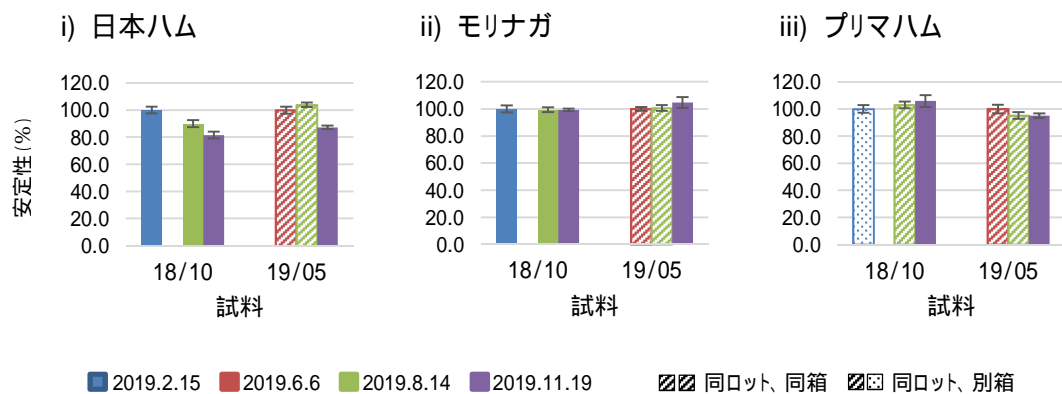


図 21 こしあん試料中の 3 種タンパク質の安定性結果

## 補足資料

### 2019 年度特定原材料検査外部精度管理調査研究参加機関

青森県環境保健センター  
宮城県保健環境センター  
山形県衛生研究所  
栃木県保健環境センター  
群馬県食品安全検査センター  
千葉県衛生研究所  
中央区保健所  
神奈川県衛生研究所  
川崎市健康安全研究所  
新潟市衛生環境研究所  
長野県環境保全研究所  
長野市保健所  
静岡市環境保健研究所  
浜松市保健環境研究所  
豊田市保健所  
岡崎市保健所  
滋賀県衛生科学センター  
神戸市環境保健研究所  
山口県環境保健センター  
福岡市環境局保健環境研究所保健科学課  
一般財団法人 食品分析開発センター-SUNATEC  
一般財団法人 広島県環境保健協会  
いであ株式会社 食品・生命科学研究所 食品分析センター  
オリエンタル酵母工業株式会社  
日本生活協同組合連合会  
日本ハム株式会社