

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】

平成 30 年度
総括・分担報告書

研究代表者

一般財団法人食品薬品安全センター 秦野研究所 渡辺 卓穂

研究分担者

国立医薬品食品衛生研究所	渡邊 敬浩
埼玉県衛生研究所	石井 里枝
一般財団法人食品薬品安全センター 秦野研究所	渡辺 卓穂
国立医薬品食品衛生研究所	松田 りえ子
実践女子大学	井部 明広

令和元年(2019年)5月

目 次

・ 総括研究報告書	
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	1
渡辺 卓穂	
・ 研究分担報告	
1. 国際整合性を踏まえた業務管理要領案の開発に関する研究	28
渡邊 敬浩	
2. ISO/IEC 17025 認定取得に向けた試験所の検討に関する研究	54
石井 里枝	
3. 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	
渡辺 卓穂	
3.1 残留農薬技能試験プログラムのパイロットスタディ	196
3.2 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	237
3.3 スプレードライヤを用いた新規技能試験用試料の作製検討	283
3.4 EU からの検査を求められている物質に関する試験法の妥当性評価の実施	304
3.5 精度管理システムの運用に係る EU リファレンスラボラトリーの現地調査の実施	317
4. 新規技能試験プログラムの開発及び統計学的評価に関する研究	321
松田 りえ子	
5. 新規技能試験プログラム用試料の開発に関する研究	339
井部 明広	
・ 研究成果の刊行に関する一覧表	356

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

総括研究報告書

研究代表者 渡辺 卓穂 一般財団法人食品薬品安全センター 秦野研究所 部長

研究要旨

厚生労働省は、食品の安全の担保と向上に加え健康危害リスクを管理することを目的に、有害物質等の上限濃度を規定した食品規格を策定し、その実効のために検査を実施する。検査での誤判定を避けるために、各試験所による分析値の品質保証が必須である。誤判定の回避は食品貿易上も重要であり、各国間での整合がCodex委員会等を通じて求められている。

本研究では、分析値の品質保証に関する取組みの指針となる業務管理要領を改訂し、品質保証に組み込まれる要素である新たな技能試験プログラムを開発する。業務管理要領は、平成8年の通知後抜本的な改訂がされていない。その間、基礎とされた国際的な品質保証の規格(当時、ISO Guide 25)は3回の改訂を重ね、現版はISO/IEC17025-2017である。そのため、現在の業務管理要領は国際的な品質保証への要求と大きく乖離しており国際整合を図るため、ISO/IEC17025の最新版を基礎とする改訂を検討する。また、改訂された業務管理要領が我が国の試験所における品質保証にどのような影響を与えるかを検証する。技能試験プログラムは、検査される全ての分析項目に対し開発されているのが理想であるが、困難さのため一部の分析項目しか開発されていない。この現実を踏まえ、新規技能試験プログラムを開発すると共に既存のプログラムの改善を図る。また、パイロットスタディにより実効性を検証し、新規プログラムとしての導入を検討する。そこで、今年度は、1. 国際整合性を踏まえた業務管理要領案の開発に関する研究(渡邊研究分担)、2. ISO/IEC 17025認定取得に向けた試験所の検討に関する研究(石井研究分担)、3. 既存技能試験プログラムの改善及び新規技能試験プログラムの導入に関する研究(渡辺研究分担)、4. 新規技能試験プログラムの開発及び統計学的評価に関する研究(松田研究分担)、5. 新規技能試験プログラム用試料の開発に関する研究(井部研究分担)の5課題について実施した。

研究分担者名 = 渡邊敬浩(国立医薬品食品衛生研究所室長)、石井里枝(埼玉衛生研究所副所長)、渡辺卓穂((一財)食品薬品安全センター秦野研究所公益事業部長)、松田りえ子(国立医薬品食品衛生研究所客員研

究員、井部明広(実践女子大学教授)

A. 研究目的

厚生労働省は、食品の安全の担保と向上に加え健康危害リスクを管理すること目的

に、有害物質等の上限濃度を規定した食品規格を策定し、その実効のために検査を実施する。検査においては、誤判定を避けるために、各試験所による分析値の品質保証が必須である。誤判定の回避は食品貿易上も重要であり、輸出入国間での係争を回避するためにも各国間での整合が Codex 委員会等を通じて求められている。

本研究では、分析値の品質保証に関する取組みの指針となる業務管理要領を改訂する。また、品質保証に組み込まれる要素である技能試験プログラムを新たに開発する。業務管理要領は、平成 8 年の通知後抜本的な改訂がされていない。その間、基礎とされた国際的な品質保証の規格(当時、ISO Guide 25)は 3 回の改訂を重ね、現版は ISO/IEC17025-2017 である。そのため、現在の業務管理要領は国際的な品質保証への要求と大きく乖離しており国際整合を図るためにも、ISO/IEC17025 の最新版を基礎とする改訂を検討する。また、改訂された業務管理要領が我が国の試験所における品質保証にどのような影響を与えるか、ISO/IEC 17025 による認定取得に向けた試験所の課題を精査することによって、実行可能性も含め検証する。技能試験プログラムは、検査される全ての分析項目に対し開発されていることが理想であるが、困難さのため一部の分析項目しか開発されていない。新規技能試験プログラムの開発を困難にしている大きな要因は、新規試料開発における技術的課題と少数データの統計的評価方法の不在にある。試料開発に関しては、貝毒及び動物用医薬品等を分析項目とする新規試料を開発する。さらに粉体工学技術を導入し、保存安定性や均質性に優れた試料の開

発も検討し、学術的にも有益な成果を得る。少数データの評価を可能にする新たな統計的評価方法の構築を検討し、スプレッドシートの開発を目指す。上記 2 つに大別される研究は、厚生労働省によるリスク管理をより堅実なものとし、健康危害の未然防止や食品貿易時の係争回避に直結する成果が期待されるため、必要かつ早急に着手すべきであり、当研究班の目的である。

B. 研究方法

1 国際整合性を踏まえた業務管理要領案の開発に関する研究(渡邊研究分担)

精度管理の一般ガイドラインの改定案(以下、内部品質管理ガイドラインとする)を開発するに当たり、整合させるべき国際的に認められた文書として、

「Harmonized Guidelines for Internal Quality Control in Analytical Chemistry Laboratories」(Pure & Appl. Chem., vol. 67, No. 4, pp. 649-666, 1995)を選定した。本論文は、CXG 65 として、Codex 委員会において採択されており、SPS 協定の条文に照らしても、整合させるべき文書として妥当である。

試験所の能力への国際的な要求水準、また国際的に整合した用語の定義を、Codex 委員会が発行するガイドライン(CAC/GL 27; Guidelines for the assessment of the competence of testing laboratories involved in the import and export control of foods、CAC/GL 70; Guidelines for settling disputes over analytical (test) results、CAC/GL 72; Guideliens

of analytical terminology、CAC/GL 83; Principles for the use of sampling and testing in international food trade等)を用いて調べた。また、CXG 65にも参照されているISO規格を含む各種文書を解析し、内部品質管理が基礎としている統計学的な原理を明らかにし、内部品質管理ガイドラインに示すべき内容について検討した。

2 ISO/IEC 17025 認定取得に向けた試験所の検討に関する研究(石井研究分担)

1) ISO/IEC 17025認定取得の視察及び情報交換

既にISO/IEC 17025の認定を取得している公的検査機関である横浜検疫所輸入食品・検疫検査センターを視察し、ISO/IEC 17025への取組み状況について、組織、資源、マネジメントシステムや現在通知されている業務管理要領との併行した運用の状況を学習した。

2) 地方衛生研究所全国協議会加盟機関への情報提供

地方衛生研究所全国協議会・臨時総会において、現在の業務管理要領に代わり、導入が予定されているガイドラインの内容や昨年度の当分担研究班の研究成果である導入に向けての課題やそれに対する解決策について地方自治体の食品衛生検査機関の長に伝達し、情報共有を図った。

3) 品質マニュアル等の例示文書の作成

マネジメントシステムの導入に求められる要求事項と業務管理要領を比較し、異なる要素を明らかにすることにより、具体

的な課題を抽出した。これらの検討から地方自治体の食品衛生検査施設においてガイドラインに従った新たな品質保証に関する取組みを実施する場合の一助となるよう、これまで業務管理要領には規定されていなかった「マネジメントシステム」、「測定の不確かさの推定と評価」及び「測定のトレーサビリティ」に関する以下の11種類のマニュアル及び手順書等の例示文書を作成し、問題点の整理を行った。

4) 技能試験への参加

(1) 残留農薬

平成30年10月11日～11月22日に(一財)食品薬品安全センターで開発した農薬4種(クロルピリホス、ダイアジノン、フェニトロチオン及びマラチオン)を含む枝豆ペースト2試料について研究協力機関17機関が参加し、技能試験を実施した。

(2) 動物用医薬品

平成30年12月6日～12月31日に井部・松田分担研究班が開発した動物用医薬品3種(エンロフロキサシン、シプロフロキサシン及びセフチオフル)を含む豚筋肉1試料について研究協力機関が参加し、技能試験を実施した。

3 既存技能試験プログラムの改善及び新規技能試験プログラムの導入に関する研究(渡辺研究分担)

3.1 残留農薬技能試験プログラムのパイロットスタディ:

1) 調査試料の作製

試料基材には市販の枝豆ペーストを用い

た。添加農薬および添加農薬の違う枝豆試料 A (以下、試料 A) および枝豆試料 B (以下、試料 B) を作製した。

ブリクサー容器に試料基材 1.80 kg を入れ、水 200 mL を添加し、パルスモードで 5 ~ 6 秒間の混合を 5 回行った後、低速運転で 20 秒間混合し、ヘラおよび大型スパテルで全体を混合した。同様の操作を繰り返し、合計 5 回行ったものを水添加枝豆試料とした (5 回目は低速運転のみ行った)。

これに、添加用農薬混合標準溶液 A (ダイアジノンおよびマラチオン 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、クロルピリホス 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、フェニトロチオン 120 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、アセトン溶液) 10 mL を正確に添加し、パルスモードで 5 ~ 6 秒間の混合を 5 回行った後、低速運転で 20 秒間混合し、ヘラおよび大型スパテルで全体を混合した。同様の操作を繰り返し、合計 5 回行ったものを容器 No.1 とした (5 回目は低速運転のみ行った)。以上の操作を更に繰り返し、合計 4 個 (容器 No.1 ~ No.4) 作製後、順次、ステンレス製のボール (50 L 容) に合わせた。その後、シリコーンゴム製ヘラで 5 分間混合し、分注用試料 A とした。(作製予定濃度: ダイアジノンおよびマラチオン 0.020 $\mu\text{g}/\text{g}$ 、クロルピリホス 0.50 $\mu\text{g}/\text{g}$ 、フェニトロチオン 0.60 $\mu\text{g}/\text{g}$)。

また、添加用農薬混合標準溶液 B (ダイアジノン 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、クロルピリホスおよびフェニトロチオン 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、マラチオン 120 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、アセトン溶液) 10 mL を正確に加え、以下、分注用試料 A と同様に操作し、作製した試料を分注用試料 B とした (作製予定濃度: ダイアジノン 0.50 $\mu\text{g}/\text{g}$ 、クロルピリホスおよびフェニトロチオン 0.020 $\mu\text{g}/\text{g}$ 、マラチオン 0.60 $\mu\text{g}/\text{g}$)。

作製した分注用試料 A および B をそれぞれ分注し、凍結後、配付試料とした。

2) 調査試料の品質評価

作製した試料 A および B それぞれについて、均質性 (作製直後) および安定性確認試験 (検査機関からのデータ回収後) を実施した。試験は、「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法」(農産物)(厚生労働省)を準用し、一斉試験法 (GC/MS) を用いて行った。分析試料は 10 容器とし、作製した調査試料全体から代表となるように、作製数量を「10」で除し、おおよそ得られた数の倍数ずつ系統的に抽出した。均質性の確認は、Journal of AOAC International, Vol. 76, No. 4, 926-940 (1993) の方法に従い、一元配置分散分析 (F 検定) により評価した (Microsoft Excel 2010)。また、安定性の確認は、均質性確認試験と同様の試験操作を行い、均質性確認試験で得られた平均濃度に対する割合 (%) で評価した。

3) パイロットスタディ (室間共同試験)

残留農薬検査のパイロットスタディとして本研究の研究分担協力機関である公的機関 17 機関を対象に室間共同試験を実施した。検査機関には試料 A および B を 1 個ずつ配付 [平成 30 年 10 月 10 日発送、ヤマト運輸 クール宅配便 (冷凍タイプ)] し、試料到着後の保管条件は冷凍 (約 -15 ~ -30) とした。試料処理および測定操作は各検査機関の方法で実施することとし、併行分析数を 5 とした。また、結果報告書、経過記録書およびアンケートを送付し、専用の返信用封筒で回収した。なお、結果報告書等の提出期限は平成 30 年

11月26日とした。

4) データの解析

解析は当財団が実施している食品衛生外部精度管理調査で採用している以下に述べる従来方式による手法を主に、参考として、ロバスト方式、Horwitz式および棄却検定による解析を行った。また、経過記録書およびアンケートについてもとりまとめ、解析を行った。

従来方式 (算術平均値および標準偏差を用いた評価方法)

各検査機関よりデータを回収後、データ・クリーニング (添加量の1/10以下および10倍以上の報告値を除外) を行い、この範囲外となる報告値および欠測値のある報告値 (5個未満) については、以後の解析対象から除外した。次いで各機関間および機関内の変動を検査機関の回収率 (機関別平均値を添加濃度で除した百分率、%) および併行相対標準偏差 (RSD_r 、%) で観察した後、機関別平均値について、基本統計量、順序統計量および正規確率プロットを作成することによりデータ分布を把握した。分布に極端な歪みや尖りが観察された場合には、2シグマ (総平均値 $\pm 2 \times$ 標準偏差) 以上の値を報告した機関を除外した後、同様の処理を行うこととした (以下、2シグマ処理)。最終的に各機関の z - スコア、回収率 (%) および併行相対標準偏差 (RSD_r 、%) に基づいて各検査機関の解析を行った。なお、回収率 (%) および併行相対標準偏差 (RSD_r 、%) は「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について」(平成22年12月24日、食安発1224第2号、以下、妥当性評価ガイドライン) の評価基準を参考にして評価し

た。 z - スコアは、機関別平均値の平均値を求めてそれを付与値としてみなし、この平均値と室間再現標準偏差 (S_R) を用いて算出し、「食品衛生検査施設等における検査等の業務の管理の実施について」(別添) 精度管理の一般ガイドライン (衛食第117号、平成9年4月1日) の評価基準に基づき評価した。

ロバスト方式 (Huber's H15のロバスト平均値およびロバスト標準偏差を用いた評価方法)

で得られた解析対象データについて The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories の recommendation に従い、メジアン \pm メジアン $\times 50\%$ の範囲を超える報告値を除外した (以下、メジアン・クリーニング)。その後、有効データについて得られたロバスト平均値を付与値としてみなし、この平均値とロバスト標準偏差を用いて z - スコアを算出した。

Horwitz式 (Huber's H15ロバスト平均値およびHorwitz式から算出した標準偏差を用いた評価方法)

Horwitz式は、化学分析法によって得られた測定値のばらつきを経験則に基づいて判断するための方法として食品分析分野で広く利用されている。本調査研究では Horwitz式のThompsonによる修正式 (以下、Horwitzの修正式) を参考として当該調査試料濃度における室間再現相対標準偏差の予測値である $PRSD_r$ (%) を算出し、これらと得られたロバスト平均値から z - スコアを算出した。

棄却検定

Cochran 検定と Grubbs 検定による棄却検定を行った。

3.2 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：

1) 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。

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。

2) 3 種タンパク質添加試料の検討

3 種タンパク質添加サンプルの調製は、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。

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。また、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。つぎに、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。

3.3 スプレードライヤを用いた新規技能試験用試料の作製検討：

1) 試料の作製

試料基材には市販の玄米粉（まるだけ）及び自家製玄米粉（宮城ひとめぼれを粉碎した）を用い、20 %懸濁溶液を作製した。すなわち、玄米粉 10 kg を 0.125 mg/L カドミウムおよび 0.125 mg/L 鉛溶液 40 L に懸濁させた（米粉の理論作製濃度：0.5 $\mu\text{g/g}$ ）。また、予備検討用として玄米粉（まるだけ）の 10 %懸濁溶液（理論作製濃度 1.0 $\mu\text{g/g}$ ）も調製した。これをスプレードライヤに供した。一方、残留農薬用試料は自家製玄米粉を用い、玄米粉 1 kg をアセトニトリル 4 L に懸濁させ、スプレードライヤに供した。

2) スプレードライヤによる玄米粉試料作製条件

作製検討に用いたスプレードライヤは大川原化工機株式会社製研究開発用スプレードライヤ L-8i、スケールアップには ODA-30 及び残留農薬用試料作製のためには窒素ガス密閉循環型スプレードライヤ CL-8i を用いた。玄米粉懸濁溶液は事前に攪拌し、均一な懸濁溶液とし、原液タンクに移し、攪拌しながらペリスタポンプでアトマイザに送液した。L-8i 及び CL-8i では 2 kg/h、ODA-30 では 30 kg/h で送液した。アトマイザにはロータリー式を用い、ディスクは MC-50 型あるいは MC-125 型を使用した。回転数は L-8i 及び CL-8i では 20000 rpm、ODA-30 では 18000 rpm に設定した。また、入り口温度は 180、出口温度は 100 とした。残留農薬試料作製では作製温度を検討した。得られた玄米粉

はマイクロトラックベル社製マイクロトラック MT3200 を用い平均粒子径を測定した。また、得られた玄米粉は原子吸光光度計でカドミウムを測定または、GC/MSで残留農薬を測定した。また、作製した玄米粉は顕微鏡下で粒子の観察を行った。

3.4 EU から検査を求められている物質に関する試験法の妥当性評価の実施：

1) 妥当性評価

アフラトキシン B₁、B₂、G₁ 及び G₂

1) 特異性

20 個のブランク試料のデータを採取し、特異性を確認した。

2) 真度

CRM 入手困難なため、添加回収率で評価した。豚筋肉試料 50 g にアフラトキシン B₁、アフラトキシン B₂、アフラトキシン G₁ 及びアフラトキシン G₂ がそれぞれ 1、1.5、2 µg/kg となるように添加し、本試験法に従って操作を行った。なお、試験は 1 日試行 6 回、3 日間実施し、-50 % ~ +20 % (50 ~ 120 %) を評価基準とした。

3) 検量線

アフラトキシン B₁、アフラトキシン B₂、アフラトキシン G₁ 及びアフラトキシン G₂ の検量線を作成した。測定に使用した標準溶液は 5、2.5、0.625、0.25 及び 0.1 µg/L の計 5 点とした。

4) 精度

添加試料の繰り返し分析により得られる試験所内変動係数(相対標準偏差；CV)が、Horwitz 式(修正式)により求めた室内再現精度の 2/3 レベル(CV:15 %)を超えないことを評価基準とした。

5) 決定限界(CC)

1-6 2)で実施した添加回収試験のデータについて、添加濃度を X 軸、分析濃度を Y 軸にプロットし、y 切片及び y 切片の室内再現性の標準偏差を求め、以下の式からアフラトキシン B₁、アフラトキシン B₂、アフラトキシン G₁ 及びアフラトキシン G₂ の CC を求めた。

$CC = y \text{ 切片の平均値} + y \text{ 切片の室内再現性の標準偏差の } 2.33 \text{ 倍}$

6) 検出能力(CC)

1-6 2)で求めた CC の値が定量限界(1 µg/kg)を下回ったことから、CC の算出には定量限界相当の添加回収試験のデータを使用した。

1-6 2)で実施した定量限界相当の添加回収試験結果(18 個)に、2 回の追加試験の結果を加えた計 20 個のデータから CC を算出した。また、各アフラトキシン毎に全ての分析値の標準偏差を求め、以下の式からアフラトキシン B₁、アフラトキシン B₂、アフラトキシン G₁ 及びアフラトキシン G₂ の CC を求めた。

$CC = CC + 20 \text{ 個のデータの標準偏差の } 1.64 \text{ 倍}$

チルバロシン

1) 特異性

20 個のブランク試料のデータを採取し、特異性を確認した。

2) 真度

CRM 入手困難なため、添加回収率で評価した。鶏肝臓試料 10 g にチルバロシン及び 3-O-アセチルタイロシンがそれぞれ 25、50、75 µg/kg となるように添加し、本試験法に従って操作を行った。なお、試験は 1 日試行 6 回、3 日間実施し、-20 % ~ +10 % (80 ~ 110 %) を評価基準とした。

3) 検量線

チルバロシン及び3-*O*-アセチルタイロシンの検量線を作成した。測定に使用した標準溶液は0.002、0.001、0.0005、0.0002及び0.0001 mg/Lの計5点とした。

4) 精度

添加試料の繰り返し分析により得られる試験所内変動係数(CV)が、Horwitz式(修正式)により求めた室間再現精度の2/3レベル(15%)を超えないことを評価基準とした。

5) 決定限界(CC)

1-6 2)で実施した基準値(MRL)相当(50 µg/kg)の添加回収試験結果(18個)に、2回の追加試験の結果を加えた計20個のデータからCCを求めた。

CC = 20個のデータの標準偏差の1.64倍

6) 検出能力(CC)

CCは、先に算出したCC相当濃度の添加試料を20回分析し、算出した標準偏差の1.64倍をCC相当濃度に加算算出される。

本研究では、CC相当濃度 = MRL相当濃度とし、MRL相当濃度の添加試料(50 µg/kg)を20回分析し、算出した標準偏差の1.64倍を決定限界(CC)相当濃度に加算算出した。

CC = CC + 20個のデータの標準偏差の1.64倍

2) 内部精度管理の実施

EU輸出モニタリングを実施する際には、適切な内部精度管理の実施が求められる。そこで、模擬的に内部精度管理を実施した。畜種ごとの30物質について、試験対象物質が検出しないこと

が明らかな試料(以下「陰性対照試料」)にEUのMRL以下の濃度(MRLが設定されていない物質については定量限界相当)となるように標準溶液を添加し、試行数1回で日を変えて3回実施した。また、各試験日には陰性対照試料についても同時に試験(ブランク試験)を実施した。選択性の許容範囲は、「定量限界 基準値 1/3」の場合、基準値相当濃度に相当するピークの1/10以下、「定量限界 > 基準値 1/3」及び「不検出」の場合、定量限界濃度に相当するピークの1/3以下とした。添加回収試験の回収率の許容範囲は70~120%とした。また、3回の添加回収試験の結果からCVを求め、Horwitz式(修正式)により求めた室間再現精度の2/3レベル(15%)以内を暫定的な管理目標とした。

3.5 精度管理システムの運用に係るEUリファレンスラボラトリーの現地調査の実施:

1) 訪問先および訪問日時

German Federal Office of consumer Protection and Food Safety (BVL)
Marienfelde、12277
Berlin、Germany

2019年3月5日

9:00~18:00(現地時間)

4 新規技能試験プログラムの開発及び統計学的評価に関する研究(松田研究分担)

1) 動物用医薬品技能試験のための試料作製

動物用医薬品技能試験のための試料基材として、検査数の多いブタ肉を選択した。

ブタに投与する動物用医薬品として、使用頻度の高いセフチオフル及びエンロフロキサシンを選択した。試料の作製として、セフチオフル及びエンロフロキサシンを投与したブタの肉から作製した試料と、豚肉にエンロフロキサシンを添加した試料を作製した。試料作製の概要を以下に示す。

セフチオフル 2 mg/kg、エンロフロキサシン 3 mg/kg の用量で、豚の頸部筋中に注射により投与した。投与約 6 時間後に屠殺し、投与試料作製用の豚枝肉を得た。得られた豚枝肉からロース芯を切り出し、サイレントカッターを用いて均質化した。これを 100 mL 容のポリプロピレン製容器に 30 g ずつ小分けし、真空フィルムに入れ真空・冷凍した。

添加試料の作製 動物用医薬品の残留がない豚ロース肉から、ロース芯を切り出しサイレントカッターで粗く粉碎したものを 4.74 kg 得た。これに、エンロフロキサシンの 2 mg/mL アセトン溶液を 5 mL 添加した(添加濃度 2.1 mg/kg)。さらにサイレントカッターで十分に均質化し、100 mL 容のポリプロピレン製容器に 60 g ずつ小分けし、真空フィルムに入れ真空・冷凍した。

2) 分析法の性能確認

均質性確認のためのセフチオフル及びエンロフロキサシン分析法の性能を確認した。セフチオフル分析法の性能確認は、豚肉 5 g にデスフロイルセフチオフル濃度が 0.2 mg/mL となるように添加し、一日 2 併行分析を 5 日間実施した。エンロフロキサシン分析法の性能確認は、豚肉 5 g にエンロフロキサシン及びシプロフロキサシン濃度が 1 mg/mL となるように添加し、一日 2 併行分析を 5 日間実施した。

3) 試料の均質性確認

試料の均質性を確認するために、作製した試料からランダムに 10 個を抜き取り、それぞれの内容物を均質化し、それぞれから 2 試験試料を採取し、セフチオフル及びエンロフロキサシン濃度を測定した。

4) パイロットスタディ

国内の試験所から参加者を募集し、ブタ筋肉中セフチオフル及びエンロフロキサシン分析技能試験のパイロットスタディを実施した。参加試験所にはそれぞれ試料 1 個を、冷凍宅配便により送付した。分析回数は 1 回とした。同時に使用した分析法の概略も報告することとした。

5) 添加試料のエンロフロキサシン分析

技能試験試料のエンロフロキサシン濃度の平均値に近い濃度のエンロフロキサシンを添加した試料を作製し、希望する試験所で、技能試験試料と同様に分析した。分析を行った試験所は 10 か所であった。

5 新規技能試験プログラム用試料の開発に関する研究(井部研究分担)

1) 技能試験のための試料開発

豚の飼育、屠殺は茨城県内の契約農場へ委託した。投与する動物用医薬品は、通常の飼育に用いているエンロフロキサシン製剤およびセフチオフル製剤とした。体重約 100 kg の豚に対して 300 mg のエンロフロキサシン、200 mg のセフチオフルを頸部筋肉中に注射した。エンロフロキサシンとセフチオフルは 1 頭の個体に対して同時に投与した。技能試験に適した均質な試料を得るために、薬剤を生体中に十分に拡散させる目的で屠殺までの時間を 6 時間とした。研究用に薬剤を投与した豚は休薬期間を遵守せ

ず屠畜をするので、肉が市場に出回らないよう屠畜場の通常作業が全て終了した後屠畜し、屠体には識別用の札を付し、全量を買上げた。得られた豚枝肉からロース芯を切り出し、サイレントカッターを用いて約3分間、均質化处理をした。これを100 mL容のポリプロピレン製容器（株式会社シントー化学製、品番 3-100）に30 g ずつ小分けし、ナイロンラミネート加工を施したポリエチレン袋（大倉工業株式会社製、品番 PNH-11 号）に入れ真空・冷凍した。技能試験用の試料として42個の試料を得た。

添加試料の作製では、動物薬の残留がない豚ロース肉から、ロース芯を切り出しサイレントカッターで粗く粉碎したものを4.74 kg 得た。これに、エンロフロキサシン2 mg/mL のアセトン溶液を5 mL 添加した（添加濃度 2.1 mg/kg）。さらにサイレントカッターで十分に均質化し、100 mL 容のポリプロピレン製容器（株式会社シントー化学製、品番 3-100）に60 g ずつ小分けし、ナイロンラミネート加工を施したポリエチレン袋（大倉工業株式会社製、品番 PNH-11 号）に入れ真空・冷凍した。技能試験用の試料として35個の試料を得た。また、作製した試料の均質性を確認するために、投与試料42個、添加試料35個から、それぞれランダムに10個を抜き取り、均質性の評価試料とした。均質性の評価は課題4「新規技能試験プログラム開発及び統計学的評価に関する研究」において実施した。

2) 開発試料の安定性確認

技能試験に供する試料に求められる要件は、均質性に加えて長期の安定性、望ましくは常温での保管・管理が可能な事である。本研究では一年目に二枚貝中の下痢性貝毒、

豚肉中の動物薬を測定対象とした2種の試料について、技能試験に供するに十分な均質性が確保された試料の開発を行った。本年度は、一年目に作製した下痢性貝毒の技能試験試料、動物薬の検討試料について1年後の安定性を確認した。

3) 一般生菌数定量試験の予備試験

複数の機関が参加する技能試験パイロットスタディに先立ち、輸送条件、分析方法を管理することが可能な参加者を募り、一般生菌数定量技能試験の予備検討を行った。参加者は試料作製を委託している研究協力機関の日本ハム株式会社の品質保証担当部署から募った。

予備検討試料の作製と同様に、添加物を配合したすり身4 kg をサイレントカッターを用いて均質化处理し、滅菌済ポリ袋（Fisher Scientific 社製、Sterile Sampling Bags 3' × 7'、Cat. No. 14955183）に約100g ずつ小分けした。小分けしたものをナイロンポリ袋（旭化成製、コーパック、品番 ST1525）に入れ、真空包装し、冷凍保管したものを予備試験用試料とした。

C.D. 研究結果および考察

1 渡邊研究分担

1) 国際的に整合すべき文書

前述の通り、国際的に整合すべき内部品質管理について示した文書は、CXG 65 [Harmonized Guidelines for Internal Quality Control in Analytical Chemistry Laboratories (Pure & Appl. Chem., vol. 67, No. 4, pp. 649-666, 1995)] である。ただし、本文書は、様々な分析分野、特に臨床生化学、地球化学、環境研究、職業衛

生学、そして食品分析の分野で発展してきている内部品質管理の手法のハーモナイゼーションを取り扱ったものである。そのため、必ずしも、食品衛生法下で検査を行う試験所において使用される内部品質管理のガイドラインとして適当であるとは言えない。そのため、本文書を十分に解析した上で、内部品質管理の原理・原則を変えることなく示し、それに加え、食品分析分野における現実を踏まえた取組を示すことを意図して、記載内容を検討した。

2) 内部品質管理ガイドラインの主旨(序文)並びに対象(スコープ)

食品衛生法下での検査を実施する試験所宛ての文書であることを明確に意識し、内部品質管理の原理に言及した上でそれに取組む必要(必然)について、主旨及び対象の項を設けて説明した。

以下、主旨及び対象の項における記載を抜粋する。

・主旨

「本ガイドラインは、食品衛生法(以下「法」という。)に基づく検査を実施する機関(以下「試験所」という。)が、分析結果の品質保証の一環として取組む内部品質管理について、基本的な考え方と具体例を示すものである。本ガイドラインに示す基本的な考え方は、Codexガイドライン(CXG 65; *Codex guidelines [Harmonized Guidelines for Internal Quality Control in Analytical Chemistry Laboratories]*)を基礎としている。

分析結果の品質保証は、試験所にとって本質的な組織インフラであり、全ての信頼できる分析結果の基礎となる。内部品質管理は、試験所における品質保証の一部であり、各試験所による実施が必須の取組である。内部品質管理における取組は、その試験所において得られる分析結果の品質の同時的な確認並びに、その変化の継続的なモニターを中心とする。

・対象

「法に基づき、食品等の成分規格への適合を判定する、すなわち検査を実施する、登録検査機関、並びに地方自治体等が所管する食品衛生検査施設により実施される、内部品質管理を本ガイドラインの対象とする。統計的管理状態のもとで継続的に実施される検査と、統計的管理状態が確立しない、一時にしか実施されない検査(アドホックな分析)とは、内部品質管理の考え方並びに取組が異なる。そのため、本ガイドラインにおいても区別されていることに留意する。」

3) 内部品質管理ガイドライン案の構成

内部品質管理ガイドラインは、本文と別添により構成した。

本文には、前出の序文と対象の項が含まれる。本文では、CXG65により示された内容を十分に踏まえ、内部品質管理の原理や原則を混乱なく理解するための記述とすることを意図した。特に、「統計的管理状態が確立されている分析システム」と、それが確立されていない(確立されない)「ア

ドホックな分析」とでは、内部品質管理の手法が大きく異なることを明確にした。また、内部品質管理のために分析する「管理用試料」の考え方を明確にした。さらに、内部品質管理のコンセプトは、「ラン毎に統計的管理状態の変化をモニターし、ラン毎に得られる分析結果の品質を保証することにある」ことにも言及した。その上で、各試験所が蓄積等した分析結果の品質に関する情報を根拠として活用し、試験所が自ら内部品質管理における取組を設計可能であるとした。このことによって、原理に従い、より合理的で効果的な、さらには継続可能な内部品質管理への取組が、試験所毎に行われ、発達していくことが期待される。

4) 内部品質管理ガイドラインに残された課題（微生物分析分野における具体的な取組み例の検討）

開発した内部品質管理ガイドラインの対象には、微生物がアナライト(分析対象)となる分析(分析システム)も含まれる。現行の精度管理の一般ガイドラインでは、「微生物学的検査における精度管理」として項が設けられている。しかし、そこに示された取組は、基本的に理化学的検査に伴う内部品質管理と同じ内容である。例えば、回収率等の確認として、「添加した既知の微生物の回収率を少なくとも、70%から120%を目安として確保すること(別途、回収率が定められている場合を除く)」と指示されている。微生物の分析において「回

収」という概念が適切であるかについては議論しないにせよ、分析結果が10の乗というオーダーであり、多くの場合に培養を伴う微生物を対象とする分析において、ここで設定されている数値の実行性には疑問を感じざるを得ない。内部品質管理ガイドラインに示すことを目的に、当該分析分野の専門家からの意見を聞きながら、実行性のある取組について検討することが、今後の課題となる。

2 石井研究分担

1) ISO/IEC 17025認定取得期間の視察及び情報交換

平成30年7月10日に、研究協力機関18機関30名が横浜検疫所輸入食品・検疫検査センターを視察し、同所のISO/IEC 17025への取組み状況について説明を伺い、施設や運用状況等について学習した後、活発な意見交換を行った。

当センターでは、平成9年に通知された業務管理要領に基づく管理が運用されている一方で、5つの分野でISO/IEC 17025の認定を取得していた。業務管理要領に規定されている管理内容をISO/IEC 17025の諸規定に紐づける形で運用しており、今後、ISO/IEC 17025に準拠した管理体制を整備する地方自治体の食品衛生検査施設にとって、非常に参考となる内容であった。また、質疑応答では、サンプリング、トレーサビリティ体系、不確かさの評価、試薬・試液の管理、検査データの管理、機器の管

理等の技術的必要事項のほか、手順、マニュアル及び記録類の作成、教育訓練とその評価手法及び判断基準、内部点検、マネジメントレビュー、組織、リスクマネジメント等のマネジメント上の必要事項について活発な意見交換がなされた。

2) 地方衛生研究所全国協議会加盟機関への情報提供

平成30年6月8日、東京都健康安全研究センターにおいて地方衛生研究所全国協議会・臨時総会が開催され、分担研究者が「ISO/IEC 17025認定取得に向けた試験所の検討に関する研究」と題して、平成29年度の当分担研究班の研究成果を講演した。講演内容は地方自治体の食品検査施設を対象とした業務管理に関するアンケート調査結果及び現在の業務管理に代わり、ISO/IEC 17025に準拠した取組みが地方自治体の食品衛生検査施設に導入された場合の検査の品質保証への影響、また、人的、物的及び組織的な課題とその解決策についてであり、地方自治体の食品衛生検査機関の長との情報共有を図った。

3) 品質マニュアル等例示文書の作成

新たな取組みの指針となるガイドラインと現行の業務管理要領との違いを明らかとするために、両者の規定内容を比較した。

マネジメント上の必要事項（以下「マネジメントシステム」という。）のうち、現行の業務管理要領にはなく、新たに規定される事項は、トップマネジメント及びマネジメントレビューである。マネジメントシ

ステムでは、組織体制において、総括的に管理するトップマネジメントから責任と権限を与えられた信頼性確保部門責任者や検査部門責任者等が定められた事項の管理を行う。

一方、業務管理要領では、トップマネジメントを規定しておらず、また、信頼性確保部門責任者については検査部門からの独立性が規定されており、地方自治体の組織体制として、主管課などの組織に信頼性確保部門責任者が配置されているケースがある。

当研究班が平成29年度に行ったアンケート調査の結果では、信頼性確保部門責任者を検査機関以外の組織に配置している機関の割合は、都道府県等49%、指定都市68%、特別区・中核市87%であった。これら地方自治体の食品衛生検査施設では、今後、トップマネジメントや信頼性確保部門責任者の組織構成について関係機関との協議が必要になるものと思われる。同様に、試料の採取を行う収去部門とも、当該ロット等を代表する試料の採取について綿密な情報共有が必要になるものと思われる。

マネジメントシステムの中で改善は新たな項目に相当し、マネジメントシステムの要となる。名称や内容が変更される事項は、内部点検が内部監査に、また、研修が教育訓練になり、それぞれ求められる内容も変更される。

現行の業務管理要領では体系的な文書の管理は行っていない。一方、ガイドラインでは、文書の管理は具体的に規定されていないが、実際にマネジメントシステムを構築するためには、品質マニュアルを一次

文書、手順書を二次文書、標準作業書等を三次文書及び記録類とし、各文書を紐づける階層構造の体系的管理が必要ではないかと考える。

マネジメントシステム導入の課題に対応するために必要でかつ重要と考えられる文書として、全体の枠組みを提供する「品質マニュアル」、それぞれのプロセスの手順を規定する「教育訓練に関する手順書」、「マネジメントレビューに関する手順書」及び「内部監査に関する手順書」を作成した。

ガイドラインではマネジメントシステム構築のためにトップマネジメント、信頼性確保部門責任者、検査部門責任者及び検査区分責任者を責任者として配することが規定されている。マネジメントシステムの運営や技術上の必要事項の達成のためには、職員の育成が必要であり、教育訓練は重要な位置づけとなる。また、さまざまな文書の適切な管理も必要となることから、今回例示した「品質マニュアル」及び「教育訓練に関する手順書」では、責任者としてガイドラインには記載されていない「教育訓練責任者」及び「文書管理責任者」を規定した。

また、技術的な必要事項として新たに加わる内容としては「測定の不確かさの推定と評価」及び「測定のトレーサビリティ」が挙げられるが、それらに対応する文書として「不確かさ評価（トップダウン方式）標準作業書」、「不確かさ評価（ボトムアッ

プ方式）標準作業書」、「天びんの内部校正、不確かさ評価、定期点検及び日常点検標準作業書」及び「分銅の内部校正標準作業書」を作成した。

なお、これらの文書類はあくまでも例示であり、それぞれの自治体の実情に合わせた文書類を作成する際の参考文書として作成したものである。

3) 技能試験への参加

実施結果については、分担研究「既存技能試験試料の改善及び新規技能試験プログラムの導入に関する研究」（渡辺卓穂研究代表者）および「新規技能試験プログラムの開発及び統計学的評価に関する研究」（松田りえ子研究分担者）の報告書に記載。

3 渡辺研究分担

3.1 残留農薬技能試験プログラムのパイロットスタディ：

1) 調査試料の作製

合計約 8 kg 相当の濃度の異なる 2 種の試料を作製した（試料 A および B）。作製した試料を 180 ~ 185 g ずつ分取しジッパー付袋に入れ（試料 A : 41 袋、試料 B : 41 袋）、ヒートシール後冷凍保管（約 -15 ~ -30 ）した。

2) 調査試料の品質評価

一元配置分散分析による調査試料の均質性の判定は、試料 A および B のいずれの添加農薬においても評価基準である F 値 < F 境界値 (3.020)、かつ P-値 > 0.05 を満たし、均質であると判断された。また、検査機関からの結果回収後に実施した安定性確認試験では、両調査試料のいずれの

添加農薬においても均質性確認試験で得られた平均濃度に対する割合 (%) が 92.5% ~ 103% であり、当財団の評価基準 80% ~ 120% の範囲内であり調査期間中の安定性にも問題はなかった。また、調査試料と同様に抽出したブランク試料から得られたクロマトグラムより、作製に用いた基材である枝豆ペーストは添加農薬の測定に問題がないことを確認した。

3) パイロットスタディ (室間共同試験)

17 機関から回収した結果について解析を行ったところ、いずれの試料および添加農薬でもデータ・クリーニングおよび欠測値により除外される機関はなかった。

試料 A および B を各農薬で低濃度群および高濃度群 (以下、低濃度および高濃度) に分類して、妥当性評価ガイドラインの回収率 (真度) についての評価基準との関係から、農薬ごとに低濃度および高濃度の回収率を機関別に比較したところ、いずれの濃度および農薬も 1 ~ 4 機関が管理限界線の範囲外となったが、他の機関においては概ね 70% ~ 120% の回収率が得られた。また、機関間において低濃度および高濃度で回収率に差があるものの、機関内での回収率はいずれの農薬でも類似していた。さらに、低濃度および高濃度間の回収率の有意差について t 検定により確認した結果、いずれの農薬でも回収率は等分散であり、2 標本の結果には有意差は認められなかった。

経過記録書を基に、回収率に影響を及ぼす要因として抽出方法、測定機器 (検出器) および検量線に着目して回収率との関係を調べた。抽出方法について回収率との関係性を調べたところ、公定法 (通知法) が 2

機関、公定法一部変更法が 8 機関、QuEChERS 法が 5 機関ならびに液-液分配および STQ 法がそれぞれ 1 機関であり、採用している抽出方法の機関数に偏りがあった。さらに、これらそれぞれには用いた測定機器 (検出器) および検量線の種類の違いがあり、明らかな関係性を見出すには至らなかった。他の着目した 2 項目についても明らかな相違は認められなかった。

妥当性評価ガイドラインに基づき、回収率および併行相対標準偏差 (RSD_r , %) の結果を確認した。回収率の評価基準は、低濃度および高濃度ともに 70% ~ 120% に対し、各機関の回収率は、ダイアジノンは 49.1% ~ 178%、クロルピリホスは 56.4% ~ 128%、マラチオンは 42.4% ~ 182%、フェニトロチオンは 28.6% ~ 127% であり、低濃度および高濃度ともいずれの農薬においても管理限界線から外れる機関があった。一方、併行相対標準偏差 (RSD_r , %) の評価基準は、いずれの農薬についても低濃度は 15% 未満、高濃度は 10% 未満が相当する。それに対し、管理限界線外は、フェニトロチオンについて低濃度および高濃度においてそれぞれ 1 機関が該当した。ちなみに、当該機関の回収率は低濃度については 70% ~ 120% の範囲内であり、高濃度については 70% ~ 120% の範囲外であった。

検量線に内標準法を採用した機関を黒色マーカーで示し、回収率および併行相対標準偏差 (RSD_r , %) の関係を調べた。その結果、内標準法は、測定装置の感度や注入量、溶解溶媒の揮発による誤差を補正することができるかとされているが、本調査研究結果では内標準法の採用の有無による併行相対標準偏差 (RSD_r , %) の明らかな差は認めら

れなかった。

3.2 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：

1) 外部精度管理調査結果

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ともモリナガ(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。キット別集計結果では、モリナガ(小麦)キットにおいて試料1では、 \bar{X} 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。また、試料2では、メジアン・クリーニング後の \bar{X} 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。日本ハム(小麦)キットにおいて、試料1では、メジアン・クリーニング後の \bar{X} 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。試料2では、メジアン・クリーニング後の \bar{X} 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。プリマハム(小麦)キットにおいては、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。

検量線については、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。

検査手法については、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。

2) 3種のタンパク質を用いた試料の検討

3種タンパク質を用いた試料の安定性については、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 種をベビ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。

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。

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、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。

3.3 スプレードライヤを用いた新規技能試験用試料の作製検討： スプレードライヤによる玄米粉試料作製検討

昨年度、カドミウムを含む 20%米粉懸

濁液(最終作製理論濃度：0.5 $\mu\text{g/g}$) 5L を試料とし、スプレードライヤ(機種 L-8i：大川原化工機株式会社)を用い作製検討した。その結果、ディスクの回転数と入り口温度は 20,000 rpm および 180 のとき最も回収率が高かった。そこで、以降の検討はこの条件を用いた。これまで、白米粉での検討を行ってきたが、玄米粉について今年度は検討を行った。玄米粉は白米粉に比べ粘性が高いことから 10%懸濁液とした。同条件下で、白米粉及び玄米粉を用い、カドミウムの最終作製濃度をそれぞれ 0.5 $\mu\text{g/g}$ および 1.0 $\mu\text{g/g}$ で作製した。白米の平均粒子径は 51.30 μm であり、玄米は白米よりやや粒子径が小さく 46.15 μm であったが、いずれも球状と不定形が混在した粉体であった。実際、白米粉および玄米粉共に原粉は平均粒子径が約 200 μm と大きな粒子も多数混在しているので、造粒した粒子と大きな不定径の粒子が混在しているものと考えられた。いずれも作製理論濃度に近い粉体が作製できることが確認された。

予備検討の結果、玄米粉を白米粉と同条件下で作製できることが確認された。つぎに、実際の作製量にスケールアップすることを試みた。予備検討では米粉 1 kg の作製であったが、10 倍の 10 kg の作製検討を行った。大型のスプレードライヤ ODA-30 はこれまで検討用に用いた L-8i に比べ、直径が約 4 倍であり、試料の処理量は格段と多くなる。実際に作製する量に匹敵する量として 10 kg を作製検討した。すなわち、20%玄米粉懸濁液(最終作製理論濃度：0.5 $\mu\text{g/g}$) 50 L を試料とした。試料懸濁液は、スプレードライヤに供する前

にさらに均一にするために十分に撹拌した。今回の検討に用いた玄米粉は、予備検討で使用したものと同様の市販の玄米粉を用いた。予備検討の条件を参考に原液処理量は装置の性能から 35kg/h とし、ディスクは MC-125 を、その回転数は、18000rpm を、入口温度、出口温度はそれぞれ 180 および 99 とした。スプレードライヤで作製した市販玄米粉は平均粒子径 184 μ m と大きな粒子径の紛体ができた。これは、原粉と比べ平均粒子径はほとんど変わらないものの粒子径の小さいものは消失した。つぎに、市販の玄米粉は安定供給品ではないことから、今後、販売されない可能性もあり、自家製玄米粉を用いた検討を行った。市販の玄米（宮城ひとめぼれ）をスクリーンサイズ 1.0 mm で遠心粉碎し、自家製玄米粉とした。スプレードライヤの作製は市販玄米粉と同様の条件で行った。作製理論濃度も同様の 0.5 μ g/g とした。玄米粉は 2.5 kg ずつ 4 袋にサンプリングした。その 2 袋目と最後の 4 袋目を図 5 で比較した結果、終了時の方が平均粒子径はやや大きくなったが、市販玄米粉を用いて作製した時と比べ、はるかに小さい粒子径となった。市販玄米粉のときと比べ、自家製玄米粉は、プレ撹拌（羽根撹拌）（10 分）ホモミキサーを用いた本撹拌（30 分、5000rpm）およびスプレードライヤに導入する前にプレ撹拌と同様羽根撹拌を 1 時間行った。これにより、原液は細かい粒子へと分散していることが確認された。よって、スプレードライヤへ導入する前の撹拌により、粒子径は小さくなることから、撹拌条件をコントロールする必要があると考えられた。作製された自家製玄米粉中の

カドミウム濃度を測定した結果、袋番号 1 は濃度がやや低いもののそれ以外はほぼ理論値濃度であることが確認された（カドミウムの濃度は水分換算した）。これらの結果より、スプレードライヤを用いることで自家製玄米粉を基材とし技能試験用重金属検査試料が作成できることが確認された。次年度は、均質性を確認し、パイロットスタディを実施し、使用の可能性を検証する。

つぎに、技能試験用試料として残留農薬検について検討した。残留農薬は水溶性のものは少なく、有機溶媒を用いた作製の検討となった。これまで用いたスプレードライヤはいずれも水溶液用であり、有機溶媒を用いる場合は、窒素ガス密閉循環型スプレードライヤがその作製には有効の装置である。本装置 CL-8i は予備検討に使用した L-8i の密閉系の装置であり、難水溶性物質の乾燥。造粒が可能であり、窒素循環させていることから酸化防止にもなり、残留農薬検査用試料作製には適した装置であると考えられた。基材としては重金属と同様の自家製玄米粉を用い、4 種の農薬を試料作製した。本装置を使用することで、溶媒も回収でき、溶媒の沸点が低いので入口温度は低く設定できる。農薬は沸点の低いものもあり、どこまで回収できるかは不明である。そこで、アトマイザーの回転数は 20000rpm とし、重金属の条件を参考にして処理量は 2kg/h に設定し、入口温度を 120、100、80 の 3 条件で検討を行った。今回用いた溶媒はアセトニトリルであり、玄米粉と懸濁させたとき玄米粉の沈降速度が速くペリスタポンプで上方へ送液中に玄米粉粒子が沈降するスピードが速く、微細な粒

子が先に導入されて、大きな粒子が遅れて導入されることがわかった。また、吸い込み口を下げると、大きな粒子も導入されるため、回収量が多くなることも確認された。よって、攪拌や導入口の位置など検討する必要があることがわかった。熱風入口温度を変えた時の粒子径を比較した顕微鏡写真から、温度が下がるに従い平均粒子径は大きくなることが確認された。Lot 1、Lot 2 および Lot 3 はそれぞれ 120、100、80 のときの回収率を示している。これらの結果から、Lot2 はいずれの農薬も回収率が低く、おそらく送液および攪拌方法を変更したことから回収率が変化したものと考えられたが、詳細は不明である。いずれの農薬も Lot1 (120) よりも Lot3 (80) の方が回収率は高くなった。また、低沸点の農薬程回収率が低くなった。これは沸点の低い農薬は容易に揮散することが推察された。これらの結果から、重金属の作製においては水を溶媒として用いたのに対して、農薬は有機溶媒を使用していることから玄米粉への溶媒の浸透度の違いがあり、農薬は玄米粉中への浸透は少なく、回収率が低くなったと考えられた。次年度は、水を添加することで回収率が改善するか検討する予定である。今後さらなる検討が必要である。

3.4 EU から検査を求められている物質に関する試験法の妥当性評価の実施：

1) EU 規制に基づく妥当性評価

アフラトキシン B₁、B₂、G₁ 及び G₂

1) 特異性

アフラトキシン B₁、アフラトキシン B₂、アフラトキシン G₁ 及びアフラトキシン G₂ のいずれにおいても、定量を妨害するピー

クがないことを確認した。

2) 真度(回収率)

真度の評価基準、-50 % ~ +20 % (50 ~ 120 %) に対し、いずれの添加濃度においても基準を満たす結果が得られた。

3) 検量線

アフラトキシン B₁、アフラトキシン B₂、アフラトキシン G₁ 及びアフラトキシン G₂ の決定係数はいずれも 0.995 以上の結果が得られた。

4) 精度

いずれの添加濃度においても、アフラトキシン B₁、アフラトキシン B₂、アフラトキシン G₁ 及びアフラトキシン G₂ は評価基準を満たす結果が得られた。

5) 決定限界(CC)

算出した。

6) 検出能力(CC)

算出した

チルバロシン

1) 特異性

チルバロシン及び 3-0-アセチルタイロシンともに、定量を妨害するピークがないことを確認した。

2) 真度(回収率)

真度の評価基準、-20 % ~ +10 % (80 ~ 110 %) に対し、いずれの添加濃度においても基準を満たす結果が得られた。

3) 検量線

チルバロシン及び 3-0-アセチルタイロシンの決定係数はいずれも 0.995 以上の結果が得られた。

4) 精度

いずれの添加濃度においても、チルバロシン及び 3-0-アセチルタイロシンは評価基準を満たす結果が得られた。

5) 決定限界(CC)

算出した。

6) 検出能力(CC)

チルバロシンの CC は 62.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、
3-*O*-アセチルタイロシンの CC は 67.7
 $\mu\text{g}/\text{kg}$ と算出された。

以上のことから、アフラトキシン B₁、B₂、
G₁ 及び G₂ の試験法は豚筋肉を対象とした定
量下限 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ での残留分析法として、ま
た、チルバロシンの試験法は鶏肝臓を対象
とした基準値 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を評価する残留分
析法として、いずれも妥当であると評価さ
れた。

2) 内部精度管理の実施

3 回のブランク試験結果、添加回収試験
の回収率及び3回の添加回収率の CV を求め、
いずれの分析法においてもブランク試験で
は定量を妨害するピークがないことを確
認した。また、添加回収率は全て 70 ~ 120 %
を満たしていた。CV は乳のエリスロマイシ
ンで 14.7 %であったが、いずれの項目でも
暫定目標とした 15 %以内であり、管理目標
として概ね妥当と考えられた。

以上のことから、試行回数 3 回と評価回数
は少ないものの、設定した管理基準に対し、
これらの試験はいずれも安定的に実施出来
ている結果が得られた。

3.5 精度管理システムの運用に係る EU リ ファレンスラボラトリーの現地調査の実 施：

1) EU モニタリングシステムと BVL の役割

EU のモニタリングシステムは、EU
reference laboratories (EURL)、National
reference laboratories (NRL)、Routine

field laboratories により構成されてい
る。その頂点に EURL、次いで NRL、Routine
field laboratories とピラミッド構造に
なっている。NRL は EU 加盟国ごとに設置
されている。EURL 及び NRL はバリデーシ
ョンコンセプトの開発、外部精度管理の実
施、分析法開発と妥当性評価、疑義が生じ
た際の確認試験などをタスクとしている。
また最大のタスクは EU 加盟国間の違いを
埋めていくことである。EURL と NRL は下
位のラボを技術的、科学的にサポートする。

BVL はドイツの Braunschweig に本部を
置く EU のリファレンスラボである。5 つ
の部門からなり、EU 内及びドイツ連邦の
食品安全管理に関与している。1999 年に
ISO17025、2017 年に ISO17043 の認証を受
けている。

訪問したラボは残留農薬や抗生物質のモ
ニタリングを担当しており、検査法の確立
などを任務としている。

2) 外部精度管理

BVL では外部精度管理も実施している。
外部精度管理試料の作製も行っており、作
製した試料は自ら測定するとともに他機
関へ配付する。外部精度管理試料は代謝物
の評価も行うために動物への投与により
行っている。最近では鶏の羽根を試料とし
た外部精度管理試料も作製している。

日本では検疫の問題で獣畜肉等をマト
リックスとする外部精度管理試料の輸入
が困難であるが、ドイツにおいても同様の
問題は発生しており、南米からの輸入など
は困難なことがある。

3) 内部精度管理

内部精度管理には CRM を用いるのが望
ましいが、CRM は手に入りにくい場合が多

い。そのため CRM が入手できない場合にはリファレンスマテリアルまたはスパイクしたブランクサンプルを用いて、分析バッチごとで添加回収試験を行う。同じ添加回収サンプルを 2 回測定する。

異なるサンプルを同時に分析する場合に何を用いて内部精度管理を行うかはメソッドによる。同じ方法のできるのであれば並行して実施する。

4) 分析法の妥当性評価

残留動物用医薬品の残留管理は Commission Decision 2002/657/EC に規定されており、分析法の妥当性評価もこれに従う。

最近ではクラシカルなバリデーション手法ではなく開発されたソフトウェア「InterVal」を利用した Alternative Validation Approach が使われている。マトリックスや畜種などを包括的に評価できるように実験設計され、統計学的に変化の要因を組み合わせることで試験回数を減らすことができることから効率的な妥当性評価が可能となり頑健性評価も可能となる。

5) 決定限界(CC)と検出能力(CC)

日本において、食品中の農薬や飼料添加物及び動物用医薬品の濃度が食品衛生法に定められている規格基準への適合性について判断を行うための試験法の妥当性評価は「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」(平成 22 年 12 月 24 日 食安発 1224 第 1 号)に示されているが、日本では食品衛生法の規格基準への適合判断において CC₁、CC₂ は用いていないため、同ガイドラインには CC₁ と CC₂ についての記載はない。しかし EU においては各試験法の CC₁、CC₂ は

結果判断の重要な判定基準となることから、その意味と算出方法を理解することは重要である。そのためそれらについてのレクチャーを受けた。

エラーは、不適合な測定値が得られたとしても、試験されたサンプルが適合している確率を意味する(誤った不適合の判断)。Commission Decision 96/23/EC の附属書 I のグループ A にリストされている物質及び基準値が設定されていない物質については、エラーは 1 % 以下でなければならない。他のすべての物質については、

エラーは 5 % 以下でなければならない。CC₁ は過剰な生産者リスクを防ぐため、95 ~ 99 % まで本当に確かでない限りは生産者に責任を負わせず(生産者保護)、許容できる範囲を本当に超えた場合のみ生産者に責任を負わせるために使用される。

一方、エラーはサンプルが適合している測定値が得られているのに真に不適合となる確率を示す。CC₂ は消費者リスクをなくするため(消費者保護)、偽陰性を 5 % 以下で排除できる分析能力を示すものである。

6) 機器分析における精度管理

BVL において実際に分析を行う際の機器の精度管理についてレクチャーを受けた。

機器測定の際、測定バッチの最初と最後に同じ濃度の標準溶液(QC 標準溶液)を測定する。SN 比または AREA 値を毎回プロットして 2 を超えたらバッチを採用しない。

測定バッチは溶媒ブランク、QC 標準溶液、検量線、測定サンプル、溶媒ブランク、QC 標準溶液の順に測定する。検量線は毎回作成する。マトリックス検量線または添加検量線の場合はマトリックスごとに検

量線を作成する。検量線用の標準溶液はキャリアオーバーの影響を排除するためにランダムに注入する。

7) その他

EUにおけるモニタリングはまずスクリーニング法が用いられる。スクリーニング法で不適合になった場合は確認法での試験を行い、結果判断される。スクリーニング法の妥当性評価は Community Reference Laboratories residues 20/1/2010 に従って実施する。

4 松田研究分担

1) 分析法性能確認結果

検量線については、デスフロイルセフチオフル濃度 0.0025、0.005、0.025、0.05、0.1 mg/mL の検量線作成用標準溶液を測定し、検量性を作成した。検量線の相関係数は 0.999 以上であった。エンロフロキサシン及びシプロフロキサシン濃度 0.25、0.5、1、2.5 及び 5 µg/L の検量線作成用標準溶液を測定し、検量線を作成した。検量線の相関係数はいずれも 0.999 以上であった。

選択性は、ブタ筋肉を試験したところ、クロマトグラム上に、デスフロイルセフチオフル、エンロフロキサシン及びシプロフロキサシンの定量を妨害するピークは現れなかった。

真度及び精度は、性能確認結果 10 個の総平均の添加量に対する比を真度とした。また、一元配置分散分析を行い、併行精度と室内精度を推定した。その結果、セフチオフル分析法の真度は 109%、併行精度は RSD 2.6%、室内精度は RSD 4.8% であった。エンロフロキサシンの真度は 85.1%、併行精度は RSD 2.3%、室内精度は RSD 3.1% であ

った。シプロフロキサシンの真度は 83.3%、併行精度は RSD 2.9%、室内精度は RSD 3.4% であった。Codex Procedural Manual¹⁾ に示された真度の規準は、セフチオフル添加量の 0.2 mg/mL、エンロフロキサシン及びシプロフロキサシンの添加量の 1.0 mg/mL では、80-110% である。性能確認で得られた真度はこの規準を満足していた。

Horwitz 式の Thompson 修正式^{2,3)} (以下 Horwitz 式) により予想される室間精度は、セフチオフル添加濃度では RSD として 20%、エンロフロキサシン及びシプロフロキサシン添加濃度では RSD として 16% である。得られた室内精度はこれらの値の 1/2 以下であり、試料の均質性確認に使用可能と判断された。

2) 試料の均質性確認

作製した試料からランダムに 10 個を抜き取り、セフチオフル及びエンロフロキサシンを 2 回分析した結果を分散分析し、繰り返しの分散と試料間の分散を求め、それぞれから標準偏差を計算した。The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories⁴⁾ に示されている Recommendation 7 及び 8 により試料の均質性の評価を行った。Recommendation 7 は、均質性試験に使用された分析法の繰り返しの標準偏差 s_{an} が Horwitz 式から予測される室間精度 $\sigma_p \times 0.5$ 以下であれば、妥当と評価される。Recommendation 8 は試料間の均質性の評価である。試料数 10、繰り返し分析数 2 であれば、試料間の分散を s_{sam}^2 、 $\sigma_{all} = 0.3 \times \sigma_p$ とするとき、

$$s_{sam}^2 < 1.88 \times \sigma_{all}^2 + 1.01 \times s_{an}^2$$

を満たせば試料は均質と判断される。均質性試験結果をTable 6に示す。全ての化合物において、Recommendation 7と8の条件を満足したため、試料は技能試験に適切な均質性を有すると評価した。

エンロフロキサシンを添加して作成した試料の均質性も、同様に確認した。この試料においても Recommendation 7 と 8 の条件を満足した。

3) 技能試験パイロットスタディ

19 か所の試験所から参加の申し込みがあった。1 か所が国の機関、12 か所が地方自治体の衛生研究所、6 か所が登録検査機関であった。各試験所に試料 1 個を送付した。分析方法は、各試験所が日常的に行っている方法とした。全ての試験所から報告があり、すべての試験所がエンロフロキサシンとシプロフロキサシンの結果を報告したが、1 試験所がエンロフロキサシンの結果のみを報告した。セフチオフルの結果を報告した試験所は5 か所であった。

エンロフロキサシンのヒストグラムは、中央が高く対称的だが、値の高い側と低い側に離れた値が見られた。シプロフロキサシンのヒストグラムは高濃度側に離れた値が2 つ見られた。エンロフロキサシン濃度はシプロフロキサシン濃度の30 倍程度のため、エンロフロキサシンとシプロフロキサシンの和のヒストグラムは、エンロフロキサシンとよく似た形となった。

4) 参加試験所の評価

参加試験所が少数の場合の評価方法を示した IUPAC/CITAC ガイド “ Selection and use of proficiency testing schemes for a limited number of participants –chemical analytical laboratories ”⁵⁾では、参加試

験所数 $N < 20$ のとき、ロバスト統計は推奨されないとされている。このような場合の試料の付与値の決定法として、認証標準物質あるいは認証物質にトレーサブルな試料を開発することが示されている。また、標準偏差としては、Horwitz の式による室間再現標準偏差の予測値を用いることが示されている。昨年度のオカダ酸技能試験では、認証標準物質を用いて真度を検証した方法で試料を分析した結果を付与値とし、Horwitz 式により求めた室間標準偏差を標準偏差とした。本年度の分析対象物質であるエンロフロキサシン及びシプロフロキサシンには適切な認証標準物質がないため、添加により性能を確認した分析法により、試料濃度を求めた。

エンロフロキサシン、シプロフロキサシン、両者の合計の通常の前平均値、ロバスト平均値、分析による付与値はほぼ一致した。一方、ロバスト標準偏差は通常の標準偏差よりも小さくなった。報告値のヒストグラムには、外れ値と考えられるような離れた値が認められており、これらの値が通常の標準偏差を大きくしたと考えられた。Horwitz 式により推定したエンロフロキサシン、エンロフロキサシンとシプロフロキサシンの合計の室間標準偏差は、ロバスト標準偏差よりやや大きかった。これに対して、シプロフロキサシンの推定室間標準偏差はロバスト標準偏差より小さかった。

エンロフロキサシンの z -スコアは-2.47 ~ 3.31 の範囲にあり、19 試験所中 17 試験所が $|z\text{-スコア}| \leq 2$ となり、満足と評価された。 $|z\text{-スコア}| \leq 3$ となり、不満足となった試験所数は1 であった。シプロフロキサシンの z -スコアは-2.43 ~ 6.81 の範囲に

あり、18 試験所中 14 試験所が | z-スコア | 2 となり、満足と評価された。| z-スコア | 3 となり、不満足となった試験所数は 2 であった。エンロフロキサシンとシプロフロキサシンの和の z-スコアは -3.07 ~ 3.75 の範囲にあり、18 試験所中 16 試験所が | z-スコア | 2 となり、満足と評価された。| z-スコア | 3 となり、不満足となった試験所数は 1 であった。また、エンロフロキサシン報告結果のロバスト標準偏差は予測された室間標準偏差よりも小さいために、ロバスト統計量から計算した z-スコアが 3 以上で、不満足となった試験所数は増加して 2 となった。

5) 添加試料のエンロフロキサシン分析

技能試験試料のエンロフロキサシン濃度の平均値に近い 2.1 mg/kg を添加した試料の分析結果の平均値は 2.08 mg/kg、標準偏差は 0.44 mg/kg であった。数が少ないためロバスト統計量は計算しなかった。平均値は添加量に近い値となり、相対標準偏差も 22% で、技能試験試料の分析結果の RSD である 21% とほぼ同じであった。このことから、動物に投与して作成した試料と添加試料間で、エンロフロキサシン分析結果の分布に大きな違いはないと考えられた。2 試料の分析を行った 10 試験所中 8 試験所のプロットは直線状に並んだが、2 試験所の結果は直線から離れていた。この 2 試験所の技能試験試料のエンロフロキサシン結果は、低い方からの 2 つであったが、添加試料では平均値よりも高い分析結果となった。

以上の結果から、通常の試験所においては、エンロフロキサシンを投与した動物から作製した試料と、エンロフロキサシンを添加した試料との分析結果には強い相関が

あると考えられた。一方、2 か所の試験所はこのような相関に従わず、投与した試料においては低濃度の結果が得られた。実際の検査では、動物に投与した動物用医薬品が残留した試料が分析されるため、投与により作製した試料による技能試験は、添加により作製した試料を用いるよりも、実際の結果の変動をよく反映していると考えられた。

5 井部研究分担

1) 試料の均質性評価

動物薬を投与した畜肉を用いて作製した試料および動物薬を添加して作製した試料について均質性の評価を行った。均質性の評価は、The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories に示されている Recommendation 8 に従った。試料数 10、繰り返し分析数 2 であれば、試料間の分散を s_{sam}^2 、 $\sigma_{all} = 0.3 \times \sigma_P$ とするとき、

$$s_{sam}^2 < 1.88 \times \sigma_{all}^2 + 1.01 \times s_{an}^2$$

であれば試料間は均質であるという条件を満たしていたので、試料は均質であると判断された。これにより、実際に動物薬を投与した畜肉を用いた技能試験用試料 42 試料、動物薬を添加した技能試験用試料 35 試料を得ることができた。

2) 下痢性貝毒の保存安定性試験

一年目に作製した試料から、製造後 12 ヶ月目と 17 ヶ月目にランダムに 2 缶を抜き取り、それぞれの内容物を均質化し、2 試験試料を採取し、オカダ酸濃度を測定した。表 1 に示すとおり、12 ヶ月目は 0.139 mg/kg、0.140 mg/kg、17 ヶ月目は 0.147 mg/kg、0.144 mg/kg であった。均質性評価時の 10

試料の 2 併行試験の総平均 0.146 mg/kg ± 0.0049 mg/kg から 95%の信頼区間を計算すると 0.136 mg/kg ~ 0.156 mg/kg であり、安定性の分析値は 95%の信頼区間に納まっていた。このことから、下痢性貝毒の技能試験試料は常温で 1 年間は安定である事が確認された。

3) 動物薬を投与した検討試料の保存安定性試験

-20 で保管をしていた均質性評価時の 10 個の残試料中のセフチオフル、エンロフロキサシン濃度を測定した。それぞれから、2 試験試料を採取し測定した結果を表 2 に示す。11 ヶ月保存後の試料中のセフチオフルの総平均は 0.151 mg/kg、標準偏差は 0.012 mg/kg、エンロフロキサシンの総平均は 1.956 mg/kg、標準偏差は 0.080 mg/kg であった。均質性評価時の 10 試料の 2 併行試験のセフチオフルの総平均は 0.163 mg/kg、標準偏差は 0.011 mg/kg、エンロフロキサシンの総平均は 2.451 mg/kg、標準偏差は 0.158 mg/kg であった。11 ヶ月の冷凍保存により、セフチオフルは約 7.4 %減少、エンロフロキサシンは約 20.2 %減少し、安定性は確認されなかった。今後は、動物薬の種類による安定性の違い、どの期間まで動物薬が安定であるのかを検証していく必要がある。

4) 一般生菌数定量試験の予備検討

試料調製の委託先である日本ハム株式会社の品質保証担当部署に予備試験の参加を募ったところ、グループ会社も含めて 4 社 8 部署 26 名の参加者が得られた。参加者の都道府県は、青森県 2 名、茨城県 5 名、神奈川県 7 名、三重県 2 名、兵庫県 3 名、宮崎県 7 名であった。試料の配送温度を常温で

実施したことから、予備試験実施時期は外気温が比較的低い 3 月 6 日に実施した。

一般生菌数定量の予備試験結果は、参加機関から報告された一般生菌数とその常用対数変換値および z スコアを算出した。z スコアの算出には微生物試験において一般的な室間再現性と言われている 0.25 を標準偏差として用いた。参加機関から報告された一般生菌数の常用対数変換値より参加機関から報告された報告値は良好な正規分布を示していた。また、参加機関の z スコアは以下の通りであった

$|z| \leq 2$: 25 人 (96.2 %)

$2 < |z| < 3$: 1 人 (3.8 %)

$|z| \geq 3$: 0 人

報告値が概ね正規分布を示す場合、 $|z| \leq 2$ となる確率は 95.5%、 $2 < |z| < 3$ となる確率は 4.28%、 $|z| \geq 3$ となる確率は 0.26% である。今回はパイロットスタディを行うにあたっての予備的な検討という事で 26 名という少数の参加者で試験を実施した。参加者数が少ないものの参加者の報告値が正規分布を示したこと、統計学的に期待される z スコアであったことから、今回の予備的な検討をスケールアップすれば、一般生菌数の技能試験パイロットスタディを問題なく実施できる事が期待される結果となった。

E. 研究発表

1. 論文発表

1) Yarita T., Otake T., Aoyagi Y., Takasaka N., Suzuki T., Watanabe T.: Comparison of assigned values from participants' results, spiked concentrations of test samples, and

isotope dilution mass spectrometric results in proficiency testing for pesticide residue analysis, *Journal of AOAC int.*, 101(4), 1199-1204 (2018)

2) Yoshimitsu M, Akutsu K, Kitagawa Y, Takatori S, Fukui N, Osakada M, Yamaguchi S, Namikawa M, Ban S, Okubo Y, Nakashima R, Maruyama R, Kakutani N, Miyamoto I, Yamashita K, Nishiyama T, Shinto M, Yamamoto N, Takai Y, Hinoshita K, Kajimura K, Obana H, Watanabe T: Enhancement of pesticide peak response in GC-MS in the presence of multiple co-existing reference pesticides, *Food Hyg. Saf. Sci.*, 59(3), 146-150 (2018)

3) Yamazaki T, Miyake S, Sato N, Hirakawa Y, Iwasa S, Narita H, Watanabe T: Development of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Analysis of Total Aflatoxins Based on Monoclonal Antibody Reactive with Aflatoxins B1, B2, G1 and G2, *Food Hyg. Saf. Sci.*, 200-205 (2018)

2. 学会発表

1) 池田真希, 久保田佳子, 八木真美, 平林尚之, 高坂典子, 鈴木達也, 渡辺卓穂: 玄米試料を用いた残留農薬技能試験プログラムのパイロットスタディ, 第114回日本食品衛生学会学術講演会(広島)2018

2) 若栗忍, 久保田佳子, 佐藤夏岐, 鈴木達也, 渡辺卓穂: アレルギー物質(卵タンパク質)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114回日本食品衛生学会学術講演会(広島)2018

F. 知的所有権の取得状況

なし

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

国際整合性を踏まえた業務管理要領案の開発に関する研究

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
研究分担者 渡邊 敬浩 国立医薬品食品衛生研究所安全情報部

研究要旨

食品衛生法並びにその施行規則により、法に基づく検査を実施する組織として、登録検査機関及び食品衛生検査施設（試験所；testing laboratory）の規定がある。平成 8 年並びに平成 9 年に発出された「業務管理要領」は、これら試験所により実施される検査が信頼される内容となるために必要な、分析結果の品質保証を含む一連の取組を求める文書である。本研究では、試験所に求められる取組を、現在、国際的に求められる水準に引き上げ整合させることを目的に、本業務管理要領の改訂案の開発を進めてきた。本年度研究では、本業務管理要領により求められる取組の 1 つでもある、内部品質管理への取組を、国際水準に引き上げ整合させることを目的に、現在示されている「内部精度管理の一般ガイドライン」の改訂案となる文書の開発を検討した。

研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所安全情報部	松田 りえ子
公益社団法人 日本食品衛生協会	荒木 恵美子
公益社団法人 日本食品衛生協会	森 曜子
一般財団法人 日本食品分析センター	杉本 敏明
公益社団法人 日本食品衛生協会	井上 誠
一般財団法人 食品分析開発センターSUNATEC	菊川 浩史
(株)日清製粉グループ本社 QE センター	山川 宏人
キュービー(株)品質保証本部食品安全科学センター	宮下 隆
株式会社ハウス食品分析テクノサービス	正田 聖二
ホクレン農業協同組合連合会農業総合研究所食品検査分析センター	石渡 智
埼玉県衛生研究所	石井 里枝

A. 研究目的

「飲食に起因する衛生上の危害の発生を防止し、もって国民の健康の保護を図る」という食品衛生法(以下、法とする)の理念のもとで、食品等の成分規格や製造等の基準が設定され、規制の実効のために検査が行われる。検査が適正でなければ、規制が実効を持つことはなく、ひいては法の理念が叶うことはない。適正な検査の重要性は法によっても認識されており、登録検査機関の適合条件の1つとして、検査への信頼を得るための一連の取組が求められている。取組の一部として、分析結果の品質保証や、組織内に専任部門を設置することが求められている。

法に基づく検査の実施機関として設置される食品衛生検査施設、及び登録される登録検査機関(以下、両者を含めて試験所; testing laboratory とする)において実施される検査への信頼を得ることを目的に、平成8年に発出された文書が「業務管理要領」である。(登録検査機関宛ての文書;平成8年5月23日付、衛食第138号、食品衛生検査施設宛ての文書;平成9年1月16日付け、衛食第8号)

業務管理要領には、各試験所に求められる取組、特に分析結果の品質保証に関する一般的な取組が示されている。しかし、業務管理要領は発出後、約20

年間に亘り抜本的な見直しがされていない。そのために、現在の試験所の取組として国際的に求められる内容からは、大きく乖離してしまっている。昨年度の研究では、法に基づく検査を実施する試験所に求められる、分析結果の品質保証を含む一連の取組を、現在の国際的な考え方や水準に整合させることを念頭に検討し、ISO/IEC 17025-2005; General requirements for the competence of testing and calibration laboratories (JIS Q 17025:2005; 試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項)を基礎として、業務管理要領に代わる新たな文書「食品衛生に関連した検査等を実施する試験所の能力の一般必要事項と分析結果の品質保証に関するガイドライン」(以下、業務管理要領改訂案とする)を開発した。

内部品質管理は、前述の業務管理要領改訂案においても求められている、分析結果の品質保証に係る取組の1つである。この取組を求めた文書が平成9年に発出された文書「精度管理の一般ガイドライン」(平成9年4月1日付け、衛食第117号)であり、この文書に従い、食品衛生法施行規則第18条に規定された精度管理を実施することとされた。(ここでいう「精度管理」が内部品質管理に相当する。精度管理という用語の

来歴は不明であるが国際的な定義は見当たらない。) 現在もこの文書に従い、内部品質管理が実施されているものと考えられる。しかし、発出された当時、我が国における分析結果の品質保証は萌芽期にあり、その現実を踏まえた検討の結果であったと想像するが、本文書には、国際的に認められた文書との乖離がある。そのため、より国際的に整合した取組を求めるためには、見直しが必要である。

本研究では、内部品質管理への取組を、現在の国際的な考え方や水準に整合させることを念頭に検討し、精度管理の一般ガイドラインに代わる新たな文書の開発を目的とした。

B. 研究方法

精度管理の一般ガイドラインの改定案(以下、内部品質管理ガイドラインとする)を開発するに当たり、整合させるべき国際的に認められた文書として、

「Harmonized Guidelines for Internal Quality Control in Analytical Chemistry Laboratories」(Pure & Appl. Chem., vol. 67, No. 4, pp. 649-666, 1995)を選定した。本論文は、CXG 65として、Codex委員会において採択されており、SPS協定の条文に照らしても、整合させるべき文書として妥当である。

試験所の能力への国際的な要求水準、また国際的に整合した用語の定義を、Codex委員会が発行するガイドライン

(CAC/GL 27; Guidelines for the assessment of the competence of testing laboratories involved in the import and export control of foods、CAC/GL 70; Guidelines for settling disputes over analytical (test) results、CAC/GL 72; Guidelines of analytical terminology、CAC/GL 83; Principles for the use of sampling and testing in international food trade等)を用いて調べた。また、CXG 65にも参照されているISO規格を含む各種文書を解析し、内部品質管理が基礎としている統計学的な原理を明らかにし、内部品質管理ガイドラインに示すべき内容について検討した。

C.D. 結果及び考察

開発途中ではあるが、本研究において検討した内部品質管理ガイドラインを別添として示す。ここでは、開発にあたり行った考察を中心に述べる。

1) 国際的に整合すべき文書

前述の通り、国際的に整合すべき内部品質管理について示した文書は、CXG 65 [Harmonized Guidelines for Internal Quality Control in Analytical Chemistry Laboratories (Pure & Appl. Chem., vol. 67, No. 4, pp. 649-666, 1995)]である。ただし、本文書は、様々な分析分野、特に臨床生化学、地球化学、環境研究、職業衛生学、そして食品分析の分野で発展してきている内部品質管理

の手法のハーモナイゼーションを取り扱ったものである。そのため、必ずしも、食品衛生法下で検査を行う試験所において使用される内部品質管理のガイドラインとして適当であるとは言えない。そのため、本文書を十分に解析した上で、内部品質管理の原理・原則を変えことなく示し、それに加え、食品分析分野における現実を踏まえた取組を示すことを意図して、記載内容を検討した。

以下に、CXG 65に示されたスコープを示す。

「本文書は、様々な分析分野、特に臨床生化学、地球化学、環境研究、職業衛生学、そして食品分析の分野で発展してきている内部品質管理の手法のハーモナイゼーションを取り扱ったものである。これら様々な分野における手法の基礎には、たくさんの共通点がある。分析化学は極めて幅広い活動を包含しているが、内部品質管理の基本原則は、これら全てを包含可能であるべきである。本文書は、事例のほぼ大半に適用されるであろうガイドラインを提供する。このポリシーにより、分析コミュニティの個別セクターに限定された内部品質管理の取組のいくつかを除外する必要がある。加えて、いくつかのセクターでは、この文書で内部品質管理と定義するものと品質保証の実践のその他の側面との統合が、普通に行われる。そのような統合に不都合はないが、何が内部品質管理の本質的な側面な

のかは明確なままに保たなければならない。

ハーモナイゼーションを達成し、内部品質管理を対象とした基礎的なガイダンスを提供するために、分析活動のいくつかのタイプは、この文書の対象外とされた。

以下が対象外とされた分析活動のタイプである。

- (i) サンプリングの品質管理。分析結果の品質は、サンプルの品質を超えて良くなることはないと認識されているが、サンプリングの品質管理は区別される課題であり、多くの分野において十分に発達していない。さらに、多くの事実として、分析試験所はサンプリングの実践とその品質の全体に亘る管理の方法を持たない。
- (ii) インライン分析と継続モニタリング。このスタイルで分析すると、まず測定が繰り返されることはない。そのため、この文書で使用されている内部品質管理のコンセプトは適用できない。
- (iii) 多変量内部品質管理。内部品質管理における多変量な方法は、未だ研究段階にあり、この文書に含める内容としては、十分に確立された方法として扱うことはできない。現在の文書では、複数のアナライトのデータは、一連の一変量内部品質管理試験に必要とされるものとして取り扱う。
- (iv) 法的なまた、契約上の必要。
- (v) 品質保証の取組。例えば、分析前ある

いは分析の間に行われる機器の安定性、波長の校正、天秤の校正の確認、クロマトグラフィーに使用するカラムの分離度の試験、また問題の診断といった取組は含まれない。現在の目的においては、それらは分析プロトコルの一部として扱われ、内部品質管理は、方法論の別の側面とともにそれらの有効性を試験する。」

2) 内部品質管理ガイドラインの主旨(序文)並びに対象(スコープ)

食品衛生法下での検査を実施する試験所宛ての文書であることを明確に意識し、内部品質管理の原理に言及した上でそれに取組む必要(必然)について、主旨及び対象の項を設けて説明した。

以下、主旨及び対象の項における記載を抜粋する。

・主旨

「本ガイドラインは、食品衛生法(以下「法」という。)に基づく検査を実施する機関(以下「試験所」という。)が、分析結果の品質保証の一環として取組む内部品質管理について、基本的な考え方と具体例を示すものである。本ガイドラインに示す基本的な考え方は、Codexガイドライン(CXG 65; Codex guidelines [Harmonized Guidelines for Internal Quality Control in Analytical Chemistry Laboratories])を基礎としている。

分析結果の品質保証は、試験所にとっ

て本質的な組織インフラであり、全ての信頼できる分析結果の基礎となる。内部品質管理は、試験所における品質保証の一部であり、各試験所による実施が必須の取組である。内部品質管理における取組は、その試験所において得られる分析結果の品質の同時的な確認並びに、その変化の継続的なモニターを中心とする。

注：本ガイドラインに示した内部品質管理の考え方は、多くの分析分野に適用可能な基本的な内容である。そのため、分析分野によっては適用が困難な場合がある。試験所は、国際的に認められた他の考え方や具体的な内容に沿って検討し、個々の試験所の活動により適した内容とした上で取組むべきである。その際、自らの活動に対する適切さの程度や、科学的特に統計的品質管理の観点から妥当な内容になっているかについて、十分な注意を払うべきである。」

・対象

「法に基づき、食品等の成分規格への適合を判定する、すなわち検査を実施する、登録検査機関、並びに地方自治体等が所管する食品衛生検査施設により実施される、内部品質管理を本ガイドラインの対象とする。統計的管理状態のもとで継続的に実施される検査と、統計的管理状態が確立しない、一時にしか実施されない検査(アドホックな分析)とでは、内部品質管理の考え方並びに取組が異なる。そ

のため、本ガイドラインにおいても区別されていることに留意する。」

3) 内部品質管理ガイドラインの構成

内部品質管理ガイドラインは、本文と別添により構成した。

本文には、前出の序文と対象の項が含まれる。本文では、CXG65により示された内容を十分に踏まえ、内部品質管理の原理や原則を混乱なく理解するための記述とすることを意図した。特に、「統計的管理状態が確立されている分析システム」と、それが確立されていない(確立されない)「アドホックな分析」とでは、内部品質管理の手法が大きく異なることを明確にした。また、内部品質管理のために分析する「管理用試料」の考え方を明確にした。さらに、内部品質管理のコンセプトは、「ラン毎に統計的管理状態の変化をモニターし、ラン毎に得られる分析結果の品質を保証することにある」ことにも言及した。その上で、各試験所が蓄積等した分析結果の品質に関する情報を根拠として活用し、試験所が自ら内部品質管理における取組を設計可能であるとした。このことによって、原理に従い、より合理的で効果的な、さらには継続可能な内部品質管理への取組が、試験所毎に行われ、発達していくことが期待される。

別添には、内部品質管理において得られるデータの解析手法として重要な、管理図を用いた方法の具体例を示すとともに

に、いくつかの分析の状況に想定を立てた上で、取組例を具体的に示した。分析状況には、理化学検査を想定し、日常的に行われる通常の分析で期待あるいは予想される分析結果に応じて細分化した。

図1に、内部品質管理ガイドラインの構造を示す。

4) 内部品質管理ガイドラインに残された課題 (微生物分析分野における具体的な取組例の検討)

開発した内部品質管理ガイドラインの対象には、微生物がアナライト(分析対象)となる分析(分析システム)も含まれる。現行の精度管理の一般ガイドラインでは、「微生物学的検査における精度管理」として項が設けられている。しかし、そこに示された取組は、基本的に理化学的検査に伴う内部品質管理と同じ内容である。例えば、回収率等の確認として、「添加した既知の微生物の回収率を少なくとも、70%から120%を目安として確保すること(別途、回収率が定められている場合を除く)」と指示されている。微生物の分析において「回収」という概念が適切であるかについては議論しないにせよ、分析結果が10の乗というオーダーであり、多くの場合に培養を伴う微生物を対象とする分析において、ここで設定されている数値の実行性には疑問を感じざるを得ない。内部品質管理ガイドラインに示すことを目的に、当該分析分野の専門

家からの意見を聞きながら、実行性のある取組について検討することが、今後の課題となる。

E . 研究発表

1. 論文発表

特になし

2. 学会発表

特になし

食品衛生に関連した検査等を実施する試験所における内部品質管理の一般ガイドライン

- | | |
|-----------------------|-------------------|
| 1. 主旨 | 5. 推奨される取組 |
| 2. 本ガイドラインの対象 | |
| 3. 用語の定義 | |
| 4. 内部品質管理の実際 | 別添1 シューハート管理図 |
| 4.1 品質保証と内部品質管理、その導入 | 別添2 内部品質管理の取組の具体例 |
| 4.2 統計的品質管理による一般的な考え方 | |
| 4.3 フィットネスフォーパーパス | |
| 4.4 管理用試料 | |
| 4.5 管理用試料の使用が困難な場合 | |

図 1 ガイドライン案の構造

食品衛生に関連した検査等を実施する試験所における内部品質管理の一般ガイドライン

1. 趣旨

本ガイドラインは、食品衛生法（以下「法」という。）に基づく検査を実施する機関（以下「試験所」という。）が、分析結果の品質保証の一環として取組む内部品質管理について、基本的な考え方と具体例を示すものである。本ガイドラインに示す基本的な考え方は、Codex ガイドライン（CXG 65; Codex guidelines [Harmonized Guidelines for Internal Quality Control in Analytical Chemistry Laboratories]）を基礎としている。

分析結果の品質保証は、試験所にとって本質的な組織インフラであり、全ての信頼できる分析結果の基礎となる。内部品質管理は、試験所における品質保証の一部であり、各試験所による実施が必須の取組である。内部品質管理における取組は、その試験所において得られる分析結果の品質の同時的な確認並びに、その変化の継続的なモニターを中心とする。

注：本ガイドラインに示した内部品質管理の考え方は、多くの分析分野に適用可能な基本的な内容である。そのため、分析分野によっては適用が困難な場合がある。試験所は、国際的に認められた他の考え方や具体的な内容に沿って検討し、個々の試験所の活動により適した内容とした上で取組むべきである。その際、自らの活動に対する適切さの程度や、科学的特に統計的品質管理の観点から妥当な内容になっているかについて、十分な注意を払うべきである。

2. 本ガイドラインの対象

法に基づき、食品等の成分規格への適合を判定する、すなわち検査を実施する、登録検査機関、並びに地方自治体等が所管する食品衛生検査施設により実施される、内部品質管理を本ガイドラインの対象とする。統計的管理状態のもとで継続的に実施される検査と、統計的管理状態が確立しない、一時にしか実施されない検査(アドホックな分析)とでは、内部品質管理の考え方並びに取組が異なる。そのため、本ガイドラインにおいても区別されていることに留意する。

3. 用語

本ガイドラインでは、慣例も踏まえ、使用する用語を以下の通り定義する。

品質保証

分析結果等の事物が、事前に必要とされた品質を満たしていることについて、十分な信頼を提供するために必要とされる、計画され体系的に行われる行動の全て。

内部品質管理

十分に信頼できる分析結果であるかを判断するために、試験所において実施される、分析に関連した行動と分析結果とを対象とした、継続的なモニタリングの一連の手順。

統計的管理状態

データに基づき統計的に予測される範囲のばらつきで分析結果が得られる、管理された分析システムの状態。

管理用試料 (管理用物質)

内部品質管理の目的で使用される試料。検査用試料と同一の分析の対象となる。

参照試料

機器の校正、分析法の性能の評価、あるいは他の試料の値付けを目的に使用される試料。試料が持つ特性値の1つが、十分に均質で確立された試料。

認証参照試料 (認証標準物質)

認証された参照試料。試料が持つ特性値の1つ以上が、トレーサビリティが確立された手順により認証されている。また、認証された各値に、宣言された信頼水準での不確かさが付随している。

検査用試料

検査のために分析される試料。分析に必要な量を秤量した一部分、並びにそれらの集合の両方をさす。

マトリクス

試料を構成する分析対象以外の物質。

アナライト

分析対象。分析による観測行為の対象となる化合物等。

ラン

併行条件下で実施される一連の分析。セット、シリーズ、バッチ等の用語と同義。

分析システム

分析結果とその品質に影響する事柄の範囲またその体系。機器、試薬、手順、試料、要員、環境そして品質保証への取組を含む。

フィットネスフォーパース(目的適合性)

ある過程を経て得られた分析結果が、その使用者に対して、技術的にまた管理上正しい決定を可能にする程度。

計測トレーサビリティ

宣言された不確かさをもつ全ての、途切れることのない比較を通じて、ある測定の結果またはある標準の値を、通常は国家あるいは国際標準である宣言された参照物に関連づけることが可能な、ある測定の結果あるいはある標準の値がもつ特性。

4. 内部品質管理の実際

内部品質管理は、その試験所において取得される分析結果が、事前に宣言される品質を満たしていることを、分析システムの全体を通じてモニターする行為である。検査において取得される分析結果の品質への要求も、事前に明確にする必要がある。妥当性確認において必要とされる分析法の性能の規準は、分析結果の品質への要求に1つの水準を与える。分析法の妥当性確認等の必要が示されておらず、そのことによって分析結果の品質への要求水準が明確でない分析あるいは分析分野については、上記の理解も参考にし、保証すべき分析結果の品質の水準を、科学的根拠を持って合理的な内容で設定し、事前に宣言することが必要である。

内部品質管理の前提として、検査の対象となる試料(マトリクスとアナライトの組み合わせ)について妥当性確認された分析法の導入が重要である。各試験所による分析法の妥当性確認あるいは検証は、平成22年12月24日付け食安発第1224第1号や平成26年12月22日付け食安発第7号により示されたガイドライン等に沿って実施することができる。試験所は、適切な条件下で推定された、分析法の性能パラメータを記録した文書を所有しなければならない。

ある分析法の使用自体が、その方法の性能が達成されることを保証するものではない。特定の分析システムにおいてその分析法を使用した場合に、分析結果の品質を標準的な水準で達成できるポテンシャルがある、というだけに過ぎない。分析法を含む分析システムの全体が、分析結果の品質を決定する。そのため、継続的なモニターが、発生する可能性のある異常の発見と改善を通じ、分析システムを正常に維持するために重要となる。これが個々の試験所が内部品質管理に取り組む理由であり、目的である。

4.1 品質保証と内部品質管理、その導入

分析結果の品質保証は、試験所にとって本質的な組織インフラであり、全ての信頼の基礎となる。内部品質管理は、分析システムのモニターを通じて、分析結果が要求される品質を達成することを確実なものにする。

内部品質管理の基本的な取組として、検査用試料と併行して管理用試料を分析する。また、ブランク試料を分析する。管理用試料の分析により真度が、試料の二重分析*によりラン内での精度が、ブランク分析によりコンタミネーションが無いこと等が確認される。これらの結果から統計的管理状態をモニターすることによって、内部品質管理が実践される。管理用試料の分析結果は、検査用試料の分析結果の受け入れを判断する基礎になる。この基本的な取組に関連する2つの注意点を挙げる。

- (i) 管理用試料から得られた分析結果の解釈は、事前に文書化された客観的な規準、並びに可能な場合には統計学的な原則に基づかなければならない。
- (ii) 管理用試料から得られた分析結果は、第一には分析システムをモニターするために評価しなければならない。個々の分析結果に付随するエラーの評価にも使用可能だが、あくまで二次的な利用に限定すべきである。同時に分析した管理用試料と検査用試料とに共通する変化があると想定し、検査用試料の分析結果を補正してはいけない。

*同一の試料から分析に必要な量で2つの部分を分取し、併行分析すること。

4.2 統計的品質管理による一般的な考え方

内部品質管理における分析結果の解釈の多くは、統計的品質管理の考え方に基づいている。統計的品質管理では、内部品質管理で得られたある1つの値 x は、平均 μ 、分散 σ^2 の正規分布から独立して、そしてランダムに得られた値として解釈される。

こうした前提のもとでは、わずかに約0.3%の結果(x)だけが、 $\mu \pm 3\sigma$ の範囲外となる。そのような極端な結果が得られた場合には、“管理外”として取り扱われ、分析システムが異なる挙動を取り始めていると解釈される。統計的管理状態が失われることは、その分析システムから得られる分析結果の品質が不明になることを意味しており、そうなれば信頼することはできない。分析を継続するためには、分析システムの検証と修復が必要となる。統計的管理状態への適合を、管理用試料から得た分析結果を評価し、別添1に挙げるシューハート管理図等の管理図を用いて視覚的にもモニターする。

内部品質管理で使用される統計的モデルを、以下に示す。ある特定のランにおける、ある分析結果(x)の値は以下により与えられる。

$$x = \text{真値} + \text{持続性のバイアス} + \text{ランの効果} + \text{ランダムエラー (+グロスエラー*)}$$

グロスエラーがない場合の x の分散(σ_x^2)は以下により与えられる。

$$\sigma_x^2 = \sigma_0^2 + \sigma_1^2$$

ここで

σ_0^2 = ランダムエラー(ラン内)の分散**

σ_1^2 = ランの効果の分散***

*操作の誤りや測定機器の不調などの突発的要因を原因とするエラー

**厳密ではないが、分析法性能の観点から捉えれば、併行精度の推定値を与える分散に相当する。

***分析法性能の観点から捉えれば、室内精度の推定値を与える室内における分散の一要素に相当する。

ランダムエラーは、ある平均値に対する正と負のランダムな偏りを分析結果に与え、ランの効果は、ある特定のランの平均値の偏りとして現れる。持続性のバイアスは分析システムに長期間に亘り影響を与え、影響は全てのデータに及ぶが、ランダムエラーに比べて小さい場合には長期間モニターしない限り、明らかにすることが難しい場合がある。

上記の統計的モデルにおいて、真値並びに持続性のバイアスは一定の値であり分散を持たない。そのため、統計的管理状態にある分析システムは、 σ_0^2 、 σ_1^2 と持続性のバイアスの値によって完全に記述される。分析システムがこの記述に合わない時には、グロスエラーの存在が暗示される。

同一のラン内で、検査用試料を二重分析することにより、ラン内での精度を限定的に管理することができる。この管理の目的は、二重分析により得た対になる分析結果の差が、 σ_0 から予測される値以下になることを確実にすることである。この管理により、ラン内での分析結果のばらつきの変化に警告が得られ、管理図を解釈する上で追加情報として役立つことができる。一般的には、検査用試料の全て、あるいはそこから無作為に選択された一部が二重分析される。検査用試料にアナライトが含まれていない場合の実行は、無意味である。二重分析により得られた 2 つの結果(x_1 と x_2)の絶対値 $|d| = |x_1 - x_2|$ が、適切な σ_0 の値に基づく管理範囲の境界に対して検証される。ただし、この検証の前提は、ラン内で分析される検査用試料におけるアナライトの濃度が、単一の σ_0 を想定できるほど、狭い幅しか持たないことである。二重分析する試料は、ラン内に無作為に配置する。意図的に連続分析してはいけない。

4.3 フィットネスフォーパース

検査を目的として取得される分析結果に必要とされる品質とその範囲を、例えば検査において使用する分析法の妥当性を確認するために満たすことが求められる性能規準の値に基づく考察から導き、その値を満たすように内部品質管理を行うことが、フィットネスフォーパースを考慮した取組だと解釈することができる。しかし、内部品質管理における管理の範囲は、このフィットネスフォーパースを考慮して導かれる品質の範囲と比較して狭くなければならない。そのような範囲での管理は、分析結果を無効にしないために必要であり、試験所の取組として健全である。

またアドホック分析と呼ばれる一時的な分析には、統計的管理の考え方を適用することができない。アドホック分析では、まれにしか扱うことのない検査用試料が対象となる。分析法の性能は十分に評価されておらず、妥当性確認されていない場合が大部分と想像される。このような状況には、内部品質管理の重要なツールである管理図を構築するための統計的基礎がない。同種の分析法に対して設定されている性能規準、過去に取

得された同種の分析結果、試料の類似性から可能な考察の結果等を用い、フィットネスフォーパースを考慮の上、アドホック分析により得られる分析結果の品質を解釈し、その結果が受け入れ可能かを判断しなければならない。

4.4 管理用試料

内部品質管理の目的で使用するこのできる試料を管理用試料という。管理用試料と検査用試料との間で、マトリクスとアナライトの組み合わせが同一と見なせる、あるいは類似している必要がある。また、検査に対して適切な濃度でアナライトを含みその値が付与されていることに加え、均質であり、意図した期間安定であることも必要である。管理用試料は、検査用試料と同一のランに挿入され併行分析される。管理用試料の分析結果は、管理図とともに評価され、持続性のバイアスとランの効果の両方を明確にする。

購入あるいは調製可能な管理用試料を、その特徴と合わせて以下に示す。検査内容や試験所による実行可能性を踏まえて適切な管理用試料を選択する。

・ 認証参照試料

認証参照試料は、理想的な管理用試料となる。ただし、検査用試料におけるマトリクスとアナライトの組み合わせに同一あるいは類似し、アナライトの濃度が検査される規格等の値といった目的にあった値となる場合は限られている。入手可能な数量、並びにその価格の点からは、全ての内部品質管理において常用することには困難が想像される。

・ 技能試験参照試料

技能試験スキームにおいて、多数の試験所により様々な方法によって分析された試料(技能試験参照試料)は、有効な管理用試料となる。明らかな偏り、あるいは異常な頻度での分析結果の分布がなければ、技能試験スキームにおいて得られた多数の試験所の分析結果に基づく値は、意味ある不確かさが付随した妥当性の確認された付与値として扱うことができる。

・ 試験所内参照試料

マトリクスとアラナイトの組み合わせ、また適切なアナライトの濃度を考慮し、個々の試験所あるいは複数の試験所が協力して参照試料を設計、調製し、値付けした上で使用することも考えられる。このような試料を試験所内参照試料と呼ぶ。試験所内参照試料に値を付与する際には、複数試験所による分析や、物理化学の原理が異なる分析法の使用等により、付与値に偏りが持ち込まれるのを避ける必要がある。付与する値のトレーサビリティを保証する目的からは、適切な認証参照試料を校正に用いることが考えられる。

4.5 管理用試料の使用が困難な場合

管理用試料の使用が現実的に困難な場合、内部品質管理の目的において、回収試験を実施する。回収試験では、検査用試料の一部を採取し、これに既知量のアナライトを添加する。この添加試料と検査用試料とを同一のランで分析する。2つの試料から得られた分析値の差を添加量で除し、アナライトの回収(マージナルリカバリー)を求める。回収試験は特に、アナライトあるいはマトリクスが安定でない場合、あるいはアドホック分析が実施される場合に有効である。

管理用試料に求められる要件を踏まえマトリクスを選び調製した添加試料を、次善の策として、管理用試料の代わりとして用い、統計的管理状態をモニターすることを、現実的には考えてもよい。ただし、異なるランで分析される検査用試料との同一性や類似性が説明できない場合、シューハート管理図等により、ラン間で異なる可能性のある分析への影響を明らかにし、分析結果の品質を保証することは不適切である。

添加試料には、試験所内参照試料と同様に、添加したアナライトの形態等、検証が困難な要素が含まれる。しかし、添加試料からの分析結果に異常が発見されれば、それ以上の異常さの程度で検査用試料が分析されていると考えることが、通常は可能である。

5. 推奨される取組

信頼性確保部門は、自らの試験所における活動に沿うように、内部品質管理の取組を調整し適合させ、その実施を指揮する。そのような適合は、例えば管理用試料の選択、二重分析やランに挿入する管理用試料の数の調整、あるいは試験所が活動する特定の分析分野にとって望ましい手段の追加などにより実行される。統計的管理状態の持続性やそれを示す証拠の蓄積を踏まえ、内部品質管理のための分析スケジュールを適合させることについて検討することも考えられる。最終的に設計された内部品質管理の内容は、その実行に伴う決定の規則とともに、明文化しなければならない。また、実施結果は記録するとともに適切に解析し、分析結果の品質保証に最大限活用しなければならない。

上記を踏まえた一般として、以下の取組が推奨される。

共通の注意点：ラン内において、各種試料は、可能な限り無作為な順番で分析する。

5.1 統計的管理状態が確立されている分析システム

(i) 類似した試料の短いラン (例えば $n < 20$)

1つのランあたり、最低限1個の管理用試料を挿入する。適切な管理図に、個々の管理用試料の分析結果、若しくは平均値をプロットする。最低限の数として、検査用試料の半数を無作為に選び、二重分析する。ただし、検査用試料に管理の対象とならない濃度でしかアナライトが含まれない場合は除く。1回のブランク分析*を挿入する。

*もっとも単純なブランクは試薬ブランクであり、それを用いたブランク分析では、

試料を供しない点を除き、全ての分析手順が実施される。最良のブランクは、検査用試料と同一あるいは類似のマトリクスでありアナライトを含まない試料ブランクである。

(ii) 類似した試料の長いラン (例えば $n > 20$)

10 個の検査用試料に約 1 個の頻度で、管理用試料を挿入する。ランの大きさがランごとに変わるようであれば、1 つのランに挿入する管理用試料の数を標準化し、平均の管理図に対し平均値をプロットする。無作為に選択した最低限 5 個の検査用試料を二重分析する。ただし、検査用試料に管理の対象とならない濃度でしかアナライトが含まれない場合は除く。10 個の検査用試料の分析ごとに 1 回の頻度を目安にブランク分析を挿入する。

(iii) 類似しているがアナライトの濃度の幅が広い検査用試料を含むラン

この場合は、ラン内の標準偏差に単一の値が想定されない。そのため管理用試料におけるアナライトの濃度を 2 水準とする。1 つの濃度は、典型的な検査用試料の中央値や、規格等に設定された値、もう 1 つの濃度は、その 10 倍あるいは 1/10 倍に相当する値を、フィットネスフォーパースを考慮して適切に決定する。1 つのランに挿入する管理用試料の数は、(i) あるいは (ii) に準じる。

管理用試料の分析結果は、それぞれに含まれるアナライトの濃度別に、2 つの管理図にプロットして解析する。最低限 5 個の検査用試料を二重分析する。ただし、検査用試料に管理の対象とならない濃度でしかアナライトが含まれない場合は除く。10 個の検査用試料の分析ごとに 1 回の頻度を目安にブランク分析を挿入する。

5.2 統計的管理状態が確立されていない分析システムによる分析(アドホック分析)

アドホック分析の場合には、統計的管理の基本的な考え方に基づく内部品質管理を行うことはできない。

全ての検査用試料を二重分析する。ただし、検査用試料に管理の対象とならない濃度でしかアナライトが含まれない場合は除く。管理用試料あるいは添加試料を適切な数(i ~ iii の通り)挿入し、分析する。必要な場合には、アナライトの濃度を変化させる。ブランク分析も実施する。管理図を利用することができないため、フィットネスフォーパースに沿った範囲あるいはその他の確立済みの規準と、分析結果の偏り並びにばらつきを比較する。

5.3 二重分析結果の解釈

(i) 濃度範囲が狭い場合

もっとも単純な状況では、そのランを構成する検査用試料はアナライトの濃度に小さな幅しか持たない。そのため、ある共通のラン内標準偏差 σ_0 を適用することができる。

$|d|$ の 95% 上限は $2\sqrt{2}\sigma_0$ であり、概して 1000 個の結果の内 3 個だけが $3\sqrt{2}\sigma_0$ をこえる。

二重分析結果の n 個のグループは、例えば、標準化された差により評価する。

$$z_d = d/\sqrt{2}\sigma_0$$

z_d は、平均値ゼロと 1 単位の標準偏差をもつ正規分布となる。標準化された差の n 個のグループの和は、 \sqrt{n} の標準偏差を持ち、そのため、1000 回のうちたった約 3 回のランのみが、 $|\sum z_d| > 3\sqrt{n}$ となる値を与える。代わりに、あるランから得られる z_d の値の n 個のグループは、 $\sum z_d^2$ の形式に統合することができ、その結果は、自由度 n のカイ二乗分布 (χ_n^2) から得たある標本として理解される。

(ii) 濃度範囲が広い場合

そのランを構成する検査用試料がアナライトの濃度に大きな幅を持つ場合、分析結果のばらつきに共通の大きさ (σ_0) を想定することができない。そのような場合には、 σ_0 を濃度と関数関係があるとして表現する。ある特定の試料から得られた分析結果の平均を求め、 σ_0 の適切な値を関数関係から得る。そこでのパラメータはあらかじめ推定しておく。

5.4 管理用試料の分析結果の解釈

別添 1. シューハート管理図等の管理図による。

シューハート管理図

1 導入

シューハート管理図(以下、管理図)の理論、構築と解釈は、工程品質管理と応用統計学の多数の文献、そしていくつかの ISO 規格において、詳細が述べられている。構築する管理図に応じた解釈を、それら文献や規格に沿って行うことも可能である。本別添では、単純な管理図のみを取り扱う。

内部品質管理では、継続するランにおいて分析された管理用試料から得られた分析結果を縦軸に、ランの番号を横軸にプロットすることで、管理図が得られる。1つのランに対し、同種の管理用試料の複数回分析を設計したとする。その場合には、個々の分析結果 x 、あるいはそれらの平均値 \bar{x} を管理図作成のために使用する。統計的管理状態の下で、管理用試料から得られる理論的な分析結果の分布である正規分布 $N(\mu, \sigma^2)$ に基づく水平線が、管理図には書き込まれる。水平線には、 $\mu, \mu \pm 2\sigma, \mu \pm 3\sigma$ を選択する。

統計的管理状態にある分析システムでは、平均として、20個のうち1個の分析結果は、“注意の境界(warning limit)”と呼ばれる $\mu \pm 2\sigma$ の水平線の外側の値となり、1000個のうち約3個の分析結果だけが、“行動の境界(action limit)”と呼ばれる $\mu \pm 3\sigma$ の水平線の外側の値となる。現実には、 \bar{x} と s を μ と σ の推定値として、管理図の作成に使用する。継続的な偏りは、 \bar{x} と付与値との間の顕著な差によって示される。

2 パラメータ μ と σ の推定値

管理下にある、ある分析システムには、2つのランダムな変動の要因がある。1つはラン内にあり分散 σ_0^2 として、もう1つはラン間にあり分散 σ_1^2 により特徴付けられている。これら2つの分散は、典型的には、同程度の大きさを持つ。個々の分析結果をプロットする管理図において使用される標準偏差 σ_x は、下式により与えられる。

$$\sigma_x = (\sigma_0^2 + \sigma_1^2)^{1/2}$$

複数の管理用試料から得た分析結果の平均値をプロットする管理図において使用される標準偏差 $\sigma_{\bar{x}}$ は、下式により与えられる。

$$\sigma_{\bar{x}} = (\sigma_0^2/n + \sigma_1^2)^{1/2}$$

上式において、 n は1ランで分析する管理用試料の数を示す。 $\sigma_{\bar{x}}$ の推定値を、管理図の作成に使用するためには、管理用試料の分析数 n は、ランごとに変わず一定でなければならない。ランごとに分析する管理用試料の数を固定することができないのであれ

ば(例えば、ランの大きさが変わる可能性があるのならば)、個別の分析結果について作成される管理図を使用しなければならない。

σ_x あるいは $\sigma_{\bar{x}}$ は、注意深く推定しなければならない。

内部品質管理の開始直後には、統計的管理状態を記述するための十分な情報がない。しかし、妥当性確認のために分析法の性能評価がされていれば、併行精度と室内精度が推定されている。ここで推定されている併行精度の値(s_0)を σ_0 の推定値とする。室内精度の値を $\sigma_{\bar{x}}$ の推定値とする。 σ_x は、同じ併行精度と室内精度の値を推定するために使用した分析結果に基づき推定することができる。

内部品質管理の開始後に、蓄積された十分な数($n=20$ 以上)の管理用試料の分析結果を解析して得られる、より頑健で実際の σ_1^2 の推定値を用いて、 σ_x あるいは $\sigma_{\bar{x}}$ の再推定を検討することもできる。ただし、統計的管理状態が維持された分析システムにおいて同一の管理用試料から得られた分析結果を無作為に使用することが、 σ_1^2 推定の基本となる。また、この再推定の実施規則はあらかじめ決めておかなければならない。無計画な、あるいは合理的でない再推定は認められない。

管理図は、管理用試料の分析結果の他、以下の式により標準化された z スコアを使用して作成することができる。 z スコアで管理図を作成する際、水平線には、 $0, 0 \pm 2, 0 \pm 3$ を選択する。

個々の分析結果に基づく z スコア

$$Z = |x_i - \bar{x}| / \sigma_x$$

複数の分析結果に基づく z スコア

$$Z = |\bar{x}_i - \bar{x}| / \sigma_{\bar{x}}$$

上の2式において、 x_i は個々の管理用試料の分析結果、 \bar{x}_i は複数の管理用試料の分析結果の平均である。また、 \bar{x} は μ の推定値である。内部品質管理の開始直後には、分析法の性能評価により得られた多数の分析結果の平均値を使用することができる。さらに、内部品質管理の開始後に蓄積した十分な数($n=20$ 以上)の管理用試料の分析結果の平均値による置き換えを検討することもできる。

上記の設計において、分析法の性能評価に用いる試料と管理用試料との間で、マトリクスとアナライトの組み合わせまたアナライト濃度が同一、あるいは類似していなければならない。

3 管理図の解釈

管理用試料から得られた個々の分析結果、あるいはそれら分析結果の平均値の管理図に対し、下記の単純な規則を適用することができる。

単一の分析結果に対する管理図

以下のいずれかが起こることで、分析システムが管理外となったことが知らされる。

- (i) 直前にプロットした値が、行動の境界を越える。
- (ii) 直近の値とその前の値のプロットが、行動の境界は超えないが、注意の境界を越える。
- (iii) プロットした値が9つ連続して、平均値(z スコアの場合は 0)の線の上下いずれか同じ側に集まる。

2つの分析結果に対する管理図

それぞれのランで2つの異なる管理用試料が分析された場合、個々の管理図は同時に検討される。このことは、タイプ1のエラー(問題のないランの棄却)の機会を増加させ、タイプ2のエラー(問題のあるランの受け入れ)の機会を減少させる。以下のいずれかが起こることで分析システムが管理外となったことが知らされる。

- (i) 少なくともプロットした値の1つが、行動の境界を越える。
- (ii) プロットした値が2つとも、注意の境界を越える。
- (iii) 同一の管理図上で直近の値とその前の値のプロットの両方が、注意の境界を越える。
- (iv) 両方の管理図で、4つ連続してプロットした値が、平均値(z スコアの場合は 0)の線の上下いずれかの側に、同時に集まる。
- (v) 2つのうちのどちらか1つの管理図で、プロットした値が9つ連続して、平均値(z スコアの場合は 0)の線の上下いずれか同じ側に集まる。

試験所は、分析システムが管理外となったことが明らかになった場合、分析の中止、該当するランから得られた結果の棄却、分析システムの修復、分析システム復旧の検証、分析再開の判断等、統計的管理状態からの逸脱に対応しなければならない。

内部品質管理の取組の具体例

全般的事項

食品衛生に関連した検査等を実施する試験所における内部品質管理の一般ガイドライン(以下、ガイドライン)に示された、内部品質管理に関する一般的な内容を踏まえ、食品衛生法に基づく検査を実施する機関(以下、「試験所」という)が、それぞれに、自らの活動に応じた内部品質管理に取組む上での参考となることを期待し、以下、いくつかの具体例を示す。

これらの具体例は、ガイドラインの 5.推奨される取組、に示された「自らの試験所における活動に沿うように内部品質管理の取組を適合させる」という必要に沿った試行でもある。

まず、本別添においては、試験所の活動として、実施する検査を理化学検査と微生物検査とに大別する。理化学検査とは、主に化学物質の定性並びに定量分析を含む検査、微生物検査とは、主に微生物の定性並びに定量分析を含む検査をさすものとする。

内部品質管理の対象となる分析は、アドホック分析とそれ以外の通常分析とに分けられる。通常分析を対象とした内部品質管理用の分析は、ラン毎に行うことが基本とされる。例えば、1週間に1回のランを行う分析では1回の内部品質管理用分析が、7回のランを行う分析では7回の内部品質管理用分析を行うのが基本である。内部品質管理の目的は、統計的管理状態のモニターであるため、その実施頻度が高いほどよりモニターは精緻になる。しかし、分析法の頑健性に関する情報等から、フィットネスフォーパーパスに影響を与えるほどの変化が統計的管理状態に起こるとは考えにくく、またラン毎の分析値の品質を保証する直接の証拠を得る必要がないと判断されるならば、数回のランに1回というように、内部品質管理用分析の頻度を減らすことを検討できる場合もあるだろう。

各試験所は、継続の重要性にも留意して内部品質管理の取組を設計すべきである。なお、内部品質管理用分析の実施頻度が分析値の品質管理の要求の1つとして含まれている場合には、それに従う。

マトリクスと濃度の組み合わせが同一であるなど、管理すべき分析値の品質に同一の目標を設定可能であり、ラン内やラン間での分析値のばらつきの程度に、共通の要素が影響すると考えられる場合には、その試験所において検査されるマトリクスとアナライトの組み合わせから代表となる一部の組み合わせを選び、内部品質管理の取組を設計することも考えられる。ただし、常に一定の組み合わせとはせず、統計的管理状態が維持

される期間等の実績をもって、定期的に組み合わせを変更することも検討する。分析法の妥当性を確認する際に得られた分析法の性能に関する情報を、試験環境や要員の技能の管理状況と合わせ、分析値のばらつきの程度を予測する最適な情報として活用すべきである。

本別添では、各検査に一定の状況を想定した上で、内部品質管理のための取組を設計し、具体例として示した。そのことを十分に理解し、自らの試験所が実施する検査の実際により即した内容で、内部品質管理の取組を設計する。なお、検査用試料、管理用試料、添加試料また、それらのうち二重分析するための試料等の様々な試料は、ラン内で可能な限り無作為な順番で分析する。

1. 理化学検査を実施する試験所における内部品質管理

1-1 食品を組成する、あるいは食品に意図的に加えられる化学物質

1-1-1 想定事項

- ・食品に含まれること、あるいは食品に意図的に加えられることが前提の化学物質であり、その量(濃度)が満たすべき値、あるいは加えることのできる上限の値として規格値が設定されている¹⁾
- ・検査する食品におけるアナライトの濃度が一定であると見なすことができる²⁾
- ・規格値に相当する濃度から得られる分析値の統計的管理状態をモニターする³⁾
- ・これに限定されないが、ある事業者によって製造販売されるある製品が、マトリクスとアナライトまたその濃度の観点から検査用試料と同一若しくは類似していると判断可能であり、安定性並びに均質性の観点からも管理用試料と見なせ、安定して調達することができる⁴⁾

¹⁾例えば、乳製品における乳脂肪。例えば、使用基準が設定された食品添加物。

²⁾分析値が同程度のばらつきを持つと想定可能な濃度の食品から調製した試料によって、1つの分析のランが構成されている。

³⁾検査における判定に直結する濃度。試験所による分析値の品質管理目標の設定によっては、その他に規格値の1/2や2倍の濃度を設定することもできるだろう。

⁴⁾このような製品を含む管理用試料が調達できない場合に、添加試料の使用を検討する。ただし、検査用試料との同一性あるいは類似性を十分に説明することが困難であり、ラン間で異なる可能性のある分析値への影響を受け、統計的管理状態の変化が同じように現れるとは限らないため、基本的に、添加試料を管理用試料とすることはできない。

1-1-2 取組の具体例

・比較的短いラン (n<20)

検査用試料数が20未満の分析で構成されるランでは、最低1つの管理用試料を分析

する。管理用試料から得られた分析値は、別添 1 に示したシューハート管理図等の管理図を用いて評価する。検査用試料の半数を目安に無作為に選び、二重分析する。二重分析結果は、本文中に示した方法により、同一試料から得られた 2 つの分析値の差により評価し、管理図を用いた評価の参考とする。ブランク分析の結果から異常な検出がないことを確認する。

管理用試料の使用が現実的に困難であり、また添加試料を管理用試料の代わりと考えることもできない場合*には、未添加試料と添加試料の分析値から算出したマージナルリカバリーが、分析法の妥当性確認で求められている回収あるいは真度の許容範囲よりも狭い範囲に含まれていることを確認する。最低 1 つの添加試料を分析する。

*検査用試料との十分な同一性や類似性、分析値が同じ影響を受け、統計的管理状態の変化が同じように現れることを説明できない場合。添加試料の調製においては、フィットネスフォーパースを踏まえ、マトリクスとアナライトまたその濃度との組み合わせを適切に設計することが重要である。

・比較的最長いラン ($n \geq 20$)

検査用試料数が 20 以上の分析で構成されるランでは、10 個の検査用試料の分析につき 1 回の頻度を目安に管理用試料を分析する。管理用試料から得られた分析結果の平均値を求め、平均値により作図された管理図を用いて評価する。5 個を目安に検査用試料を無作為に選び、二重分析する。二重分析結果は、同一試料から得られた 2 つの分析値の差により評価し、管理図を用いた評価の参考とする。ブランク分析の結果から異常な検出がないことを確認する。

管理用試料の使用が現実的に困難であり、また添加試料を管理用試料の代わりと考えることもできない場合に、未添加試料と添加試料を分析しマージナルリカバリーを算出して内部品質管理に活用する設計については、上記の通り。ただし、添加試料の分析頻度は、管理用試料の分析頻度に準じる。

1-2 残留あるいは汚染する化学物質

1-2-1 想定事項

- ・食品に残留するあるいは食品を汚染する可能性のある化学物質であり、その量(濃度)を許容する上限として規格値が設定されている¹⁾
- ・検査する食品からの検出頻度が低く、その濃度も一定と考えることができない²⁾
- ・規格値に相当する濃度から得られる分析値の統計的管理状態をモニターする³⁾
- ・一部のマトリクスとアナライトとの組み合わせについては、認証値あるいは付与値が付随した試料を第三者機関から入手することが可能であり、それらを管理用試料とすることができる⁴⁾

1)各種農薬等、環境に偏在する汚染物質等

2)検査用試料からの検出がまれであり、検出される場合にも規格値に相当する濃度に比べ十分低い値となる。このような分析値を内部品質管理により保証することはできない。内部品質管理によりできる事は、管理用試料から得られる分析値のばらつきとその変化をモニターし、それに異常がないことをもって、検査用試料から検出がなく、検出されたとしてもその値が規格値に相当しない低濃度であることを保証することである。

3)検査における判定に直結する濃度。試験所による分析値の品質保証目標の設定によっては、その他に、定量下限値といった濃度から得られる分析値をモニターすることも考えられる。規格値が不検出とされる場合には、不検出と判断される濃度を明らかにし宣言した上で、内部品質管理の目的で運用する。

4)第三者機関から管理用試料が調達できない場合には、試験所内参照試料等の調製を検討する。いずれの管理用試料の調達あるいは調製も困難な場合に、添加試料の使用を検討する。ただし、検査用試料との十分な同一性や類似性を説明することが困難であり、分析値が同じ影響を受け、統計的管理状態の変化が現れるとは限らないため、基本的に、添加試料は管理試料にはなり得ない。フィットネスフォーパースを踏まえ、ラン間で同一と見なせるマトリクスを選び、マトリクスと濃度との組み合わせを適切に設計することも重要である。検出下限値未満の濃度でしかアナライトを含まないブランク試料の調達は比較的容易である。ただし、困難な場合には、未添加試料と添加試料両方の分析値からマージナルリカバリーを求め、内部品質管理の目的で使用することも考えられる。しかしその場合には、未添加試料の濃度は、添加濃度の分析値に影響を与えない、例えば 1/2 程度の濃度であることが条件となる。検査用試料を未添加試料とすることが可能ならば、マトリクスが同一となるため、分析値の解釈上、利点となる。

1-2-2 取組の具体例

・比較的短いラン (n<20)

検査用試料数が 20 未満の分析で構成されるランでは、最低 1 つの管理用試料、あるいは管理用試料の代わりと考えることのできる添加試料を分析する。それら試料から得られた分析結果は、シェーハート管理図等の管理図を用いて評価する。また、それら試料を二重分析する。二重分析結果は、同一試料から得られた 2 つの分析値の差により評価し、管理図を用いた評価の参考とする。検査用試料から規格値に相当する濃度で検出された場合には、当該試料の二重分析を行い、同様に評価する。ブランク分析の結果から異常な検出がないことを確認する。

管理用試料の使用が現実的に困難であり、また添加試料を管理用試料の代わりと考えることもできない場合には、未添加試料と添加試料の分析結果から算出したマージナルリカバリーが、分析法の妥当性確認で求められている回収あるいは真度の許容範囲よりも狭い範囲に含まれていることを確認する*。その場合、最低 1 つの添加試料をランに

挿入し分析する。

*検出下限値未満の濃度でしかアナライトを含まないブランク試料を未添加試料とした場合には、添加量に対する分析値の割合を求めたりカバリーを評価に使用できる場合がある。また、そのような未添加試料をブランク分析に用いる。

・ 比較的長いラン (n≥20)

検査用試料数が 20 以上の分析で構成されるランには、10 個の検査用試料の分析に付き 1 回の頻度を目安に管理用試料、あるいは管理用試料の代わりと考えることのできる添加試料を分析する。それら試料から得られた分析結果の平均値を求め、平均値により作図された管理図を用いて評価する。また、それら試料を二重分析する。二重分析結果は、同一試料から得られた 2 つの分析値の差により評価し、管理図を用いた評価の参考とする。検査用試料から規格値に相当する濃度で検出された場合には、当該試料の二重分析を行い、同様に評価する。ブランク分析の結果から異常な検出がないことを確認する。

管理用試料の使用が現実的に困難であり、また添加試料を管理用試料の代わりと考えることもできない場合に、未添加試料と添加試料を分析しマージナルリカバリーを算出し内部品質管理に活用する設計について、並びにブランク試料の特性を踏まえた設計と評価は、上記の通り。ただし、添加試料の分析頻度は、管理用試料の分析頻度に準じる。

1-3 アドホック分析のための内部品質管理

全ての検査用試料を二重分析する。ただし、規格値に相当する濃度に比べ十分に低い、定量下限値未満といった濃度でしか検出されない場合を除く。管理用試料あるいは添加試料をランの大きさに準じて挿入し、分析する。検査用試料を二重分析しない場合には、これら試料を二重分析する。二重分析の結果は、同一試料から得られた 2 つの分析値の差により評価する。最低限、妥当性確認のために推定された分析法の併行精度や真度等から推測される妥当な範囲、すなわち統計学的に予測される分析値のばらつきの範囲に含まれる分析値が得られていることを確認する。ブランク分析の結果から異常な検出がないことを確認する。

2 内部品質管理における目標値の設定

内部品質管理の開始時には、統計的管理状態を示す統計パラメータがない若しくは限定されている。平成 22 年 12 月 24 日付け食安発第 1224 第 1 号や平成 26 年 12 月 22 日付け食安発第 7 号により示されているガイドライン等に沿って分析法の妥当性が確認されている場合には、性能パラメータとして推定された併行精度を σ_0 の推定値として、二重分析結果の評価に使用する。シューハート管理図を作成するための平均値には、真度を推定するために使用した平均値、標準偏差には室内精度を使用する。なお、これら

妥当性確認を目的とした性能パラメータの値は、日々繰り返される試験所の活動により達成される統計的管理状態の目標値としては、厳しすぎる場合がある。内部品質管理の開始後に、統計的管理状態の下で得られた分析値の十分な数(例えば $n=20$)の蓄積を待ち、それら分析値の平均値と標準偏差を算出して、以後の内部品質管理の目標値の設定に用いることができる。

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

ISO/IEC 17025 認定取得に向けた試験所の検討に関する研究

研究代表者	一般財団法人食品薬品安全センター	渡辺 卓穂
研究分担者	埼玉県衛生研究所	石井 里枝
研究協力者	栃木県保健環境センター	菅谷 京子
	群馬県食品安全検査センター	庄司 正
	埼玉県衛生研究所	井上 裕子
	埼玉県衛生研究所	吉田 栄充
	さいたま市健康科学研究センター	近藤 貴英
	越谷市保健所	大門 拓実
	千葉県衛生研究所	門倉 圭佑
	東京都健康安全研究センター	笹本 剛生
	神奈川県衛生研究所	脇 ますみ
	横浜市衛生研究所	高橋 京子
	川崎市健康安全研究所	橋口 成喜
	愛知県衛生研究所	小池 恭子
	地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所	栗津 薫
	堺市衛生研究所	神藤 正則
	神戸市食品衛生検査所	上田 泰人
	奈良県保健研究センター	米田 正樹
	和歌山県環境衛生研究センター	高井 靖智
	名古屋市衛生研究所	土山 智之
	国立医薬品食品衛生研究所	渡邊 敬浩

研究要旨

食品衛生検査の業務管理について、昨年度は ISO/IEC 17025 を基礎とした取組みが地方自治体の食品衛生検査施設に導入された場合の検査の品質保証に与える影響と課題を明らかにし、それらを解決する方策を検討した。

本年度はこれら研究成果を地方衛生研究所全国協議会・臨時総会において地方自治体の食品衛生検査施設の長と導入に向けての課題やその解決策、今後導入にあたり必要となる準備などについて情報共有を図った。

さらに、地方自治体への ISO/IEC 17025 に準拠した品質保証導入に向け、具体的事例として、すでに公的検査機関として5つの分野で ISO/IEC 17025 認定を取得している横浜検疫所輸入食品・検査センターを視察し、その取組みについて情報収集を行った。

この情報を基にして、昨年度当研究班(分担研究者:渡邊敬浩氏)で報告した ISO/IEC 17025 に準拠したガイドライン(案)に従った新たな取組み実施の一助となるよう、現行の業務管理要領に規定されていないマネジメントシステムや技術的な必要事項について地方自治体に向けた11種のマニュアル及び手順書案を作成した。

また、新規手法により開発された試料や安定性及び均一性の改善を目的に開発された技能試験試料を分析し、実際に分析を行う試験所の立場から技能試験プログラムの開発に資する助言を行った。

A. 研究目的

現在、地方自治体の食品衛生検査施設は平成9年に通知された「食品衛生法施行規則の一部を改正する省令の施行について」及び「食品衛生検査施設における検査等の業務管理について」の別紙「食品衛生検査施設における検査等の業務管理要領」等に従って検査を行っている。

しかし、現在の国際的な試験所の取組みは、ISO/IEC 17025 が基礎となっており、国際整合を図るために、本研究事業の別の分担研究班において、昨

年度、ISO/IEC 17025 に準拠した「食品衛生に関連した検査等を実施する試験所の能力の一般必要事項と分析結果の品質保証に関するガイドライン」(案)(以下、「ガイドライン」という。)が作成された。

昨年度の研究では、このガイドラインに基づいた食品検査の業務管理に関する取組みが、地方自治体の食品衛生検査施設に導入された場合の検査の品質保証に与える影響と課題と解決策を明らかにした。

今年度は公的試験機関で既に

ISO/IEC 17025 を認定取得している横浜検疫所輸入食品・検査センターを視察し、取組み内容を学習し、そこで得られた情報を基に、地方自治体の食品衛生検査施設においてガイドラインに沿った取組み導入の一助となるよう、現行の業務管理要領には規定されていない「マネジメントシステム」や「技術的な必要事項」についてマニュアル等の例示文書を作成した。

また、昨年度に引き続き技能試験プログラムの開発に資する助言を行うため、2つの技能試験に、実際に分析を行う試験所の立場から参加した。

B. 研究方法

1. ISO/IEC 17025認定取得機関の視察及び情報交換

既にISO/IEC 17025の認定を取得している公的検査機関である横浜検疫所輸入食品・検査センターを視察し、ISO/IEC 17025への取組み状況について、組織、資源、マネジメントシステムや現在通知されている業務管理要領との併行した運用の状況を学習した。

2. 地方衛生研究所全国協議会加盟機関への情報提供

地方衛生研究所全国協議会・臨時総会において、現在の業務管理要領に代わり、導入が予定されているガイドラインの内容や昨年度の当分担研究班の研究成果である導入に向けての課題やそれに対する

解決策について地方自治体の食品衛生検査機関の長に伝達し、情報共有を図った。

3. 品質マニュアル等の例示文書の作成
マネジメントシステムの導入に求められる要求事項と業務管理要領を比較し、異なる要素を明らかにすることにより、具体的な課題を抽出した。これらの検討から地方自治体の食品衛生検査施設においてガイドラインに従った新たな品質保証に関する取組みを実施する場合の一助となるよう、これまで業務管理要領には規定されていなかった「マネジメントシステム」、「測定の不確かさの推定と評価」及び「測定のトレーサビリティ」に関する以下の11種類のマニュアル及び手順書等の例示文書を作成し、問題点の整理を行った。

- (1) 品質マニュアル
- (2) 教育訓練に関する手順書
- (3) マネジメントレビューに関する手順書
- (4) 内部監査に関する手順書
- (5) 不確かさ評価標準作業書(トップダウン方式)
- (6) 不確かさ評価標準作業書(ボトムアップ方式)
- (7) 電子式非自動はかり(電子天びん)の内部校正標準作業書
- (8) 電子式非自動はかり(電子天びん)の不確かさの評価標準作業書
- (9) 電子式非自動はかり(電子天びん)の定期点検標準作業書

(10)電子式非自動はかり(電子天びん)
の日常点検標準作業書

(11)実用標準分銅の内部校正(値付け)
標準作業書

なお、文書の作成に当たっては、ISO/IEC 17025の認定を既に取得している公的機関及び民間機関から情報提供等の協力をいただいた。

4. 技能試験への参加

(1) 残留農薬

平成30年10月11日～11月22日に(一財)食品薬品安全センターで開発した農薬4種(クロルピリホス、ダイアジノン、フェニトロチオン及びマラチオン)を含む枝豆ペースト2試料について研究協力機関17機関が参加し、技能試験を実施した。

(2) 動物用医薬品

平成30年12月6日～12月31日に井部・松田分担研究班が開発した動物用医薬品3種(エンロフロキサシン、シプロフロキサシン及びセフトオフル)を含む豚筋肉1試料について研究協力機関が参加し、技能試験を実施した。

C.D. 結果及び考察

1. ISO/IEC 17025認定取得機関の視察及び情報交換

平成30年7月10日に、研究協力機関18機関30名が横浜検疫所輸入食品・検疫検査センターを視察し、同所のISO/IEC 17025への取組み状況について説明を伺い、施

設や運用状況等について学習した後、活発な意見交換を行った。

当センターでは、平成9年に通知された業務管理要領に基づく管理が運用されている一方で、5つの分野でISO/IEC 17025の認定を取得していた。業務管理要領に規定されている管理内容をISO/IEC 17025の諸規定に紐づける形で運用しており、今後、ISO/IEC 17025に準拠した管理体制を整備する地方自治体の食品衛生検査施設にとって、非常に参考となる内容であった。また、質疑応答では、サンプリング、トレーサビリティ体系、不確かさの評価、試薬・試液の管理、検査データの管理、機器の管理等の技術的必要事項のほか、手順、マニュアル及び記録類の作成、教育訓練とその評価手法及び判断基準、内部点検、マネジメントレビュー、組織、リスクマネジメント等のマネジメント上の必要事項について活発な意見交換がなされた。



(輸入食品・検疫検査センター 会議室にて)

2. 地方衛生研究所全国協議会加盟機関への情報提供

平成30年6月8日、東京都健康安全研究センターにおいて地方衛生研究所全国協議会・臨時総会が開催され、分担研究者が「ISO/IEC 17025認定取得に向けた試験所の検討に関する研究」と題して、平成29年度の当分担研究班の研究成果を講演した。講演内容は地方自治体の食品検査施設を対象とした業務管理に関するアンケート調査結果及び現在の業務管理に代わり、ISO/IEC 17025に準拠した取組みが地方自治体の食品衛生検査施設に導入された場合の検査の品質保証への影響、また、人的、物的及び組織的な課題とその解決策についてであり、地方自治体の食品衛生検査機関の長との情報共有を図った。(別添1)

3. 品質マニュアル等例示文書の作成

新たな取組みの指針となるガイドラインと現行の業務管理要領との違いを明らかとするために、両者の規定内容を比較した。(表1)

マネジメント上の必要事項(以下「マネジメントシステム」という。)のうち、現行の業務管理要領にはなく、新たに規定される事項は、トップマネジメント及びマネジメントレビューである。マネジメントシステムでは、組織体制において、総括的に管理するトップマネジメントから責任と権限を与えられ

た信頼性確保部門責任者や検査部門責任者等が定められた事項の管理を行う。

一方、業務管理要領では、トップマネジメントを規定しておらず、また、信頼性確保部門責任者については検査部門からの独立性が規定されており、地方自治体の組織体制として、主管課などの組織に信頼性確保部門責任者が配置されているケースがある。

当研究班が平成29年度に行ったアンケート調査の結果では、信頼性確保部門責任者を検査機関以外の組織に配置している機関の割合は、都道府県等49%、指定都市68%、特別区・中核市87%であった(図1のとおり)。これら地方自治体の食品衛生検査施設では、今後、トップマネジメントや信頼性確保部門責任者の組織構成について関係機関との協議が必要になるものと思われる。同様に、試料の採取を行う収去部門とも、当該ロット等を代表する試料の採取について綿密な情報共有が必要になるものと思われる。

マネジメントシステムをPDCAサイクルにより図式化したものが図2である。図の点線で囲った項目は新たな項目に相当し、マネジメントシステムの要となる。斜体字は、名称や内容が変更される事項である。主なものとして、内部点検が内部監査に、また、研修が教育訓練になり、それぞれ求められる内容も変更される。

現行の業務管理要領では体系的な文書の管理は行っていない。一方、ガイドラインでは、文書の管理は具体的

に規定されていないが、実際にマネジメントシステムを構築するためには、品質マニュアルを一次文書、手順書を二次文書、標準作業書等を三次文書及び記録類とし、各文書を紐づける図3のような階層構造の体系的管理が必要ではないかと考える。

一例として、文書体系図を図4に示した。これにより、既存の文書の活用、位置付けについて、理解が深まるものと考ええる。

マネジメントシステム導入の課題に対応するために必要でかつ重要と考えられる文書として、全体の枠組みを提供する「品質マニュアル」、それぞれのプロセスの手順を規定する「教育訓練に関する手順書」、「マネジメントレビューに関する手順書」及び「内部監査に関する手順書」を作成した。

ガイドラインではマネジメントシステム構築のためにトップマネジメント、信頼性確保部門責任者、検査部門責任者及び検査区分責任者を責任者として配することが規定されている。マネジメントシステムの運営や技術上の必要事項の達成のためには、職員の育成が必要であり、教育訓練は重要な位置づけとなる。また、さまざまな文書の適切な管理も必要となることから、今回例示した「品質マニュアル」及び「教育訓練に関する手順書」では、責任者としてガイドラインには記

載されていない「教育訓練責任者」及び「文書管理責任者」を規定した。

また、技術的な必要事項として新たに加わる内容としては「測定の不確かさの推定と評価」及び「測定のトレーサビリティ」が挙げられるが、それらに対応する文書として「不確かさ評価（トップダウン方式）標準作業書」、「不確かさ評価（ボトムアップ方式）標準作業書」、「天びんの内部校正、不確かさ評価、定期点検及び日常点検標準作業書」及び「分銅の内部校正標準作業書」を作成した。

なお、これらの文書類はあくまでも例示であり、それぞれの自治体の実情に合わせた文書類を作成する際の参考文献として作成したものである。

（１）品質マニュアル（別添２）

品質マニュアルは、組織の品質マネジメントシステムの仕様書として全体の枠組みを提供するもので、ガイドラインに沿った項目立てとした。

地方自治体の食品衛生検査施設の検査が、微生物学分野、理化学分野等の複数の分野に渡ることから、各項目は、基本的に概要のみを示すこととし、具体的な内容は検査分野に応じて、各手順書等に規定する方式とした。

ガイドラインの用語については、意図や内容が地方自治体の食品衛生検査施設の共通理解となるよう、例えば、要員は職員のように、一部をわかりやすい表現に置き換えた。

(2) 教育訓練に関する手順書(別添3)

教育訓練については、責任者をはじめ、役割に応じて求める力量を明確にし、既存の能力との間のギャップを埋めることや評価の実施などの要求事項が大幅に増える。

そこで、教育訓練に関する手順書では、目的や適用範囲を規定したうえで、責任者の役割を明確にし、対象者及び職務能力の要件を品質マニュアルに従

い、明確にした。

実施については、研修の種類を新任者研修、継続研修及び責任者研修とし、計画的に行うことや報告、評価方法について一連の手順を具体的に示した。

さらに、教育のプログラム化の例として化学検査の例を示した。

(3) マネジメントレビューに関する手順書(別添4)

マネジメントレビューに関する手順書では、目的及び適用範囲を規定し、責任体制を品質マニュアルに従い明確にしたうえで、実施から記録までの一連の手順を示した。特に、重要となるトップマネジメントの主体的な関与、少なくとも年に1回は実施することや、実施の際の、特にインプット項目とアウトプット項目の表現について分かりやすく示し、見直しや改善が効果的に行えるよう規定した。

マネジメントレビューについては、その目的を理解し、適切かつ有効に機

能させることが重要である。ガイドラインでは「3.1.2(5)トップマネジメントは(中略)マネジメントシステム(中略)を定期的にレビューし、継続した適切かつ有効な実施を確実にする。」とあるが、この「適切」や「有効」等の用語の説明を加えた。

(4) 内部監査に関する手順書(別添5)

業務管理要領に基づく内部点検は、検査や試験品の取扱い等、仕組みが適切に運用されているかの視点で行われる。一方、マネジメントシステムに基づく内部監査は、さらにその仕組みが要求事項に適合しているか、計画した結果が達成できているかの有効性を評価する活動である。内部監査の結果、改善が必要と認められた事項については、マネジメントレビューにインプットされ、改善措置の妥当性について評価が行われるなど、内部監査はマネジメントシステムでは重要な位置付けとなる。

このため、内部監査を実施する職員(内部監査員)には、監査システムの理解、関連文書の理解、技術的な知見等の力量が要求される。すなわち、内部監査員の養成がマネジメントシステム導入、維持の鍵になるものと思われる。

民間の内部監査員養成セミナーは、内部監査について体系的に学ぶことができるものであるが、地方自治体の食品衛生検査施設にとっては、予算や受

講機会の確保に課題があると思われる。

(5) 測定の不確かさ評価(特性要因図)

ISO/IEC 17025 に準拠したガイドラインで規定される技術的事項の一つに「測定の不確かさの推定と評価」がある。不確かさの推定値は、検査結果に対し、真の値が一定の確率で存在すると期待できる範囲を示したものであり、報告結果の信頼性を高めるのに重要な役割を果たす。

不確かさの算出にあたり、まず不確かさの要因を抽出、整理するために、以下の5種類のモデル検査(分析)法について特性要因図(フィッシュボーンダイアグラム)を作成した。(別添6)

モデル 残留農薬検査

モデル マラカイトグリーン検査

モデル カドミウム検査

モデル フラゾリドン代謝物検査

モデル 放射性セシウム検査

以下、食品検査の基本操作における不確かさ特性要因図の例を示す。

なお、検査法によっては、基本操作の複数回繰り返しがあるが(例えば、抽出や標準溶液の段階希釈など) 要因図では1つとして例示している。

1) 試料の採取

食品検査を行うにあたり、各検査法に基づき、検査部位を選別し、検体の均一化及び試料の秤量を行う。

ここでは、フードプロセッサー等の細砕器を用いて試料を均一化した後、試験

試料として電子天秤等で一定量を秤量するモデルの要因図を示す(図5)。

玄米中のカドミウム検査等においては、玄米を粉碎しない場合、分割・縮分とした要因図となる。

2) 抽出

抽出器(ホモジナイザー等)を用いた溶媒抽出を行った後、塩析を行うモデルの要因図を示す(図6)。

体積計は、ホールピペットやメスシリンダー等を使用し、塩析後、遠心分離し上清を分取するものと想定した。

体積計や定容器を使用する場合、体膨張係数も要因の1つとして挙げられる。

3) 定容

定容器具(メスフラスコ等)を用いて上清を採取し、定容したときの要因図を示す。(図7)

2)と同様、体膨張係数も要因の1つとして考えられる。

4) 精製

定容液の一部を固相カラムで精製し、溶出液を一定容としたときの要因図を図8に示す。

なお、上記要因図のうち、**体積計**は2)、**定容**は3)の内容を含む。

5) 標準調製

標準品の不確かさは、純度または品質

保証データが参考となる。ここでは、標準品が粉末であって、標準溶液を段階的に希釈する想定での要因図を図9に示す。

試薬純度、試薬の秤量及び体積計を用いた定容の繰り返しが不確かさの要因となる。

内部標準物質やサロゲートを使用する場合も同様に考えられる。

6) 機器分析

LC-MS/MSを用いた機器分析の要因図を次に示す(図10)。

相関係数は、決定係数等で表すことも可能と思われる。

また、ここには示していないが、マトリックスの影響やバイアルへの吸着、積分条件などの要因も考えられる。

7) まとめ

食品検査において、前処理方法は多様であり、同じ検査項目であっても、試験所において採用している前処理方法や使用する機器、器具は異なる。また、その試験所の環境によって考慮すべき要因も様々であると思われる。さらにマトリックスの多様性もあり、単一的な要因または独立的な要因として挙げるのが難しいと考えられる。

不確かさ算出手順は多々あるが、「トップダウン方式」と「ボトムアップ方式」が一般的である。試料マトリックスの種類が多種多様であるため不確かさの特定

が不可能な場合や、検査工程が複雑なため特性要因図が複雑で多岐に枝分かれし、要因を独立して特定することが困難な場合は「トップダウン方式」がよく用いられる。一方、「ボトムアップ方式」は検査法の手順から作成した要因特性図をもとに要因毎に不確かさを評価し、それらを合成することで最終的な不確かさを評価する。

(6) 不確かさ評価標準作業書(トップダウン方式)(別添7)

トップダウン方式による不確かさ評価方法には、Codex委員会が示した「分析結果の不確かさの推定に関わるガイドライン」(以下、CAC/GL 59-2006)が広く知られている。この方法では、Horwitzの式、EUのデフォルト値である50%、及び分析精度管理(QC)から収集した検査データを用いて系統誤差をバイアスとして合成して不確かさを評価している。バイアスの合成には、QCと技能試験、QCと認証標準物質、及びQCの回収率と100の残差の相対バイアスが計算例として挙げられている。

そのほか、「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン(平成22年12月24日付け食安発第1224第1号)」及び「食品中の有害物質等に関する分析法の妥当性確認ガイドライン(平成26年12月22日付け食安発第7号)」等(以下、妥当性評価ガイドライン)に基づき算出した室内精度を使用する方法が考え

られる。この方法では、添加試料の検査を繰り返し、得られたデータの標準偏差及び相対標準偏差から求めた室内精度から不確かさを評価する。

本研究が平成29年度に報告した「食品衛生に関連した検査等を実施する試験所の能力の一般必要事項と分析結果の品質保証に関するガイドライン」では、不確かさを評価する手順の一つとして「妥当性確認において得られたデータの活用」を例示している。そこで、本標準作業書では、既に多くの検査機関が実施している妥当性評価ガイドラインに基づき算出した室内精度から不確かさを評価する方

$$RMS'bias = \sqrt{\frac{\Sigma(100 - QC回収率)^2}{n}}$$

法を示した。妥当性評価ガイドラインでは、「試験のくり返し回数は、自由度が4以上になるように」としている。そのため、いずれも2併行で、2名が3日間又は3名が2日間の自由度5の条件と、1名が5日間又は5名が1日間の自由度4の条件に対

$$u' = \sqrt{u'(RW)^2 + (RMS'bias)^2 + u'(Cref)^2}$$

する不確かさの評価手順を例示した。前者の例示は玄米中のカドミウム、後者の例示は玄米中の残留農薬（クロルピリホス）とした。分散分析を用い複数の実施者または実施日による室内精度を算出し、不確かさを評価することとした。なお、本標準作業書では得られた検査データに

ついて併行精度及び日間の分散をそれぞれ求めているが、個々のデータを独立した変数とし、相対標準偏差を求めることも可能である。

また、Codex委員会が示した「測定の不確かさに関するガイドライン（CAC/GL 54-2004）」には、「妥当性が評価された分析方法から得られた情報は多くの状況で使用できる」との記載が有る。すなわち、CAC/GL 59-2006による方法に、妥当性評価で得た測定値をQCに当てはめて不確かさ評価を行うことは可能と考えた。よって、自由度5で例示した玄米中のカドミウムの測定値の回収率を用いてCAC/GL 59-2006付属文書「5.4の試験所内QCを使用した不確かさの推定」による不確かさ評価を試みた。

この場合、相対バイアス値の二乗平均平方根 $RMS'bias$ は、

$$= 5.21\%$$

で求められる。さらに、試験所内の再現性の相対標準偏差 $u'(RW)$ を妥当性評価から算出した室内精度は0.005384%、カドミウム標準物質の標準不確かさ $u'(Cref)$ を1%と仮定して、相対合成不確かさ u' を求めると、

$$= 5.31\%$$

となる。ここから、拡張不確かさ U を求めると、

$$U = 2u' = 10.6\%$$

となる。

なお、妥当性評価の繰り返し試験数が

CAC/GL 59-2006による評価に十分であるかについては、議論の余地があると考え

(7) 不確かさ評価標準作業書(ボトムアップ方式)(別添8)

ボトムアップ方式による不確かさを評価する一例として、ゲルマニウム半導体検出器を用いた牛乳の放射性セシウムの検査について示した。検査方法の概要及び不確かさ要因図を評価作業書別添8様式1に示す。

要因は、大きく「試料調製」、「線スペクトロメトリーによる不確かさ」及び「試料の測定」の3つに分けられる。

1) 試料調製による不確かさ

試料調製は、牛乳をマリネリ容器の標線まで入れ、その重量を量る行為のみである。よって、試料調製による相対標準不確かさは、天びんの不確かさと繰返し操作(10回)による標準偏差(相対標準不確かさとする)を合成して求めた。天びんの不確かさの詳細については、「天びんの不確かさの評価標準作業書」の項に譲るが、JCSS校正の結果、又は内部校正の結果を用いる。

2) 線スペクトロメトリーによる不確かさ

線スペクトロメトリーにおける不確かさの要因は、要因図に示すように複数考えられる(要因図では効率校正とした)。

その要因は、校正用体積線源、ピーク

面積、校正式フィッティング、減衰補正、サム効果補正、自己吸収補正、放出比、不感時間、幾何条件及び測定系の変動等が考えられる。しかし、これらの中で、Csの物理的性質に起因する要因等は、使用機器(ゲルマニウム半導体検出器)付属の放射線濃度算出ソフトにより総合的に算出されることから、不確かさに大きな影響を及ぼさない、もしくは評価しにくいと考えられ、サム効果補正、自己吸収補正、放出比、不感時間等については評価の対象としなかった。

減衰補正は、基準日時を試料採取日時とし、数日以内に試料測定が終了する通常検査においては、Cs-134及びCs-137の半減期が、それぞれ約2年及び30年であることから、その半減期補正の誤差による不確かさは非常に小さいものとして評価しなかった。ただし、評価する際は、測定に使用している核ライブラリの出典に留意する必要がある。これは放出比を評価する場合も同様である。よって、線スペクトロメトリーによる不確かさは、校正用体積線源、計数誤差及び校正式フィッティングの不確かさを対象として評価した。

校正用体積線源の不確かさ

効率校正曲線を作成するにあたり、校正用体積線源を使用するが多い。その一例とする校正用体積線源は、Cd-109、Co-57、Cs-137、Y-88、Co-60等9核種をアルミナ(基材)と混合密封したもので

ある。ここにCs-134は含まれていない。

一方、食品衛生法における放射性セシウムの基準値は、Cs-134とCs-137濃度の和としており、一般食品として100 Bq/kg、牛乳として50 Bq/kgである¹⁾。

よって、Cs-134及びCs-137について各々不確かさを算出すべきであるが、校正用体積線源にCs-134が含まれていないこと及びCs-134とCs-137の校正点（線の放出エネルギー）が近接していることから、Cs-134の不確かさは、Cs-137の不確かさを参考とすることとした。

校正用体積線源校正証明書には拡張不確かさ($k=2$)が与えられている。包含係数2で除し、体積線源の相対標準不確かさとした。

効率校正曲線作成時のピーク面積及び校正式フィッティングの不確かさ

効率校正曲線を作成するにあたり、標準線源を一定時間測定するとき、Cs-137のカウント（正味ピーク面積）及び計数誤差が得られる。正味ピーク面積は、ピーク総面積からバックグラウンド面積を引いて求められるため、正味ピーク面積の不確かさは、バックグラウンド面積の不確かさを含んでいる²⁾。しかし、その不確かさは計数誤差そのものであり、機器付属の放射線濃度算出ソフトで与えられることから、計数誤差を正味ピーク面積で除した%換算値をピーク面積の相対標準不確かさとした。

また、効率校正曲線は他の混合核種工

ネルギーの測定値（計数率）の影響を受ける。そのため、フィッティング式は、他の核種の測定値を含めて最適化された式である。そこで、校正式フィッティングの不確かさは、Cs-137の測定値（実測値）とフィッティング値の差（絶対値）を実測値で除した%換算値を用いて評価した。

及び で算出した3要因の相対標準不確かさを合成し、 γ -スペクトロメトリー（効率校正）による不確かさとした。

3) 試料測定による不確かさ

一般的に線スペクトロメトリーの試料測定におけるピーク面積(N)に対して計数誤差は(\sqrt{N})と与えられる。

ピーク面積(N)は、測定時間に依存し、概ね比例関係が成り立つ。測定時間を a 倍とすれば、計数誤差は概ね \sqrt{a} 倍となる。つまり、測定時間を長くすることで、ピーク面積の不確かさ（計数誤差を正味ピーク面積で除した%換算値）は小さくなる。

通常検査において、測定時間は各試験所によって異なることから、3600秒測定したものを示す。また、試料はその濃度が牛乳の基準値(50 Bq/kg)と同レベルのCs-137溶液（Cs-137が検出された茶葉を煮出して濃縮したもの）を用いた。

4) ゲルマニウム半導体検出器を用いた牛乳の放射性セシウムの測定結果の不確かさ評価

不確かさの評価標準作業書を別添8に、また算出方法の記録を別添8様式2に示

す。

不確かさの評価は、牛乳の基準値レベル(50 Bq/kg)でのCs-137について実施した。試料は、茶葉濃縮抽出液(21600秒測定で 46.1 ± 1.1 (計数誤差) Bq/kg)を用いた。

その結果、ゲルマニウム半導体検出器を用いた放射性セシウム(Cs-137)の測定結果の不確かさは(2Lマリネリ容器)相対拡張不確かさ(包含係数 $k=2$)で6.5%、Bq換算で3.0 Bq/kgであった。

今回の例示では、天びん校正や校正式フィッティングなどの無視し得るほど小さい相対標準不確かさ(0.01%及び0.087%)も含めて評価した。

5) 幾何条件とその不確かさについて

マリネリ容器を使用した放射性セシウム測定結果の不確かさの評価において、公財)日本適合性認定協会のガイドライン²⁾では、校正時と試料充てん時の高さの違いによる不確かさを評価している。

今回の例示は、牛乳を試料としているため、マリネリ容器の標線に合わせたときに標線の上下でばらつきはないため、評価は実施しなかった。一般食品で細切した固形試料の場合、マリネリ容器の標線に合わせにくいことがある。このような場合、試験所において、一定の上下範囲における不確かさの把握や評価、又は標準作業書において、試料充てんに関する規定等が必要と思われる。

また、試料容器を置く位置のずれ、

つまり検出器とマリネリ容器の相対位置のばらつきも考えられる。どの程度の不確かさとなるのか、試験所で把握しておくことは重要である。ただし、測定値のばらつき(標準偏差)と計数誤差のデータをよく確認する必要がある。なぜなら、条件によって計数誤差が測定値の誤差より大きくなることもあり、不確かさ評価ができないためである。

6) まとめ

不確かさの評価するにあたり、その要因は試験所の検査方法や使用機器、環境等によって異なる。最終的に不確かさに含まれない要因があったとしても、その要因の不確かさを認識し、把握しておくことは重要と考えられる。

また、不確かさを評価するにあたり、牛乳の基準値(50 Bq/kg)レベルの試料を必要とした。今回、試料は福島第一原発事故後に入手した茶葉から濃縮抽出し調製したが、これは認証標準物質がU8容器で測定するほどの小容量で固形物のものしか販売されていないことによる。マリネリ容器の標線を満たすほどの購入も難しく、日本アイソトープ協会への特注も費用面で容易ではないことから、多種多様な認証標準物質が安価に手に入るような環境が望まれる。

7) 参考文献

厚生労働省医薬食品局食品安全部・食安発0315第1号

JAB RL509:2018第4版「JAB NOTE 9

134Cs及び137Csの放射能濃度測定に係る不確かさの評価ガイドライン」
<https://www.jab.or.jp/news/2018/03012.html>
(2019.3.12確認)

(8)電子式非自動はかり(電子天びん)の内部校正標準作業書(別添9)

天びんの国際単位へのトレーサビリティ体系確立のために、JCSS校正証明書に協定質量と拡張不確かさが示された常用参照標準分銅(E2、F1またはF2級)を用いて、電子式非自動はかり(電子天びん)を自らチェックする内部校正の手順を作成した。

1) 適用範囲

本作業書は、検査に用いるマクロ天びん(または分析用天びん)及び上皿天びん(またははかり)等の電子天びんを対象とした。本作業書において校正環境(温度、湿度、気圧)等は一定の範囲内で行うこととしており、それらの不確かさは考慮していないこと、また、校正に用いる参照分銅の安定性等いくつかの要素の校正值への影響は加味していないことから、標準物質の計量等に通常、用いられているセミマイクロ天びんあるいはマイクロ天びんの校正については、JCSS校正業者による校正を実施することが望ましいと考えられた。

2) 常用参照標準分銅

校正に用いる常用参照標準分銅(参照分銅)はE2、F1またはF2級としているが、校正機関においては分銅の選択基準として、「電子はかりの性能に対して

分銅の持つ最大許容誤差が無視できる程度の値でなければならず、必要とする分銅の等級は電子はかりの目量の下桁で四捨五入しても目量に現れない $\pm 1/3$ 以下の最大許容誤差のものをJIS B 7609 表2から決める」としているようである。本作業書においても分銅選択の目安を記載しているが、校正内容(繰り返し性、偏置荷重、正確性)の3要素のうち繰り返し性、偏置荷重については分銅の精度は関係ない。また、例えばひょう量500g、目量1mgのはかりではE1クラスのものでしか、校正ができないこととなることから、効果及びコスト等を考慮し、適切な分銅を選択する必要があると言える。

参照分銅の校正の有効期間については基準器検査規則第21条及び84条に規定されており、通常、汎用されている特級基準分銅(ステンレス鋼)は3年とされていることから本作業書においても3年としたが、各検査機関の管理状況等によって設定するのが現実的などころではないかと考える。

3) 校正間隔

天びんの校正間隔については、EURACHEM/CITAC Guide "Guide to Quality in Analytical Chemistry" (QAC2016)表B1「装置と校正とキャリブレーションチェックのガイダンス」に記載されている内容を参考とし、「導入から3年間は毎年、内部校正を実施する。その後は満足できるパフォーマンスに基づき頻度を少なくすることができ

る。」としたが、上記ガイドでは「ガイダンスを目的に示したものである」とされており、各検査機関で使用の状況等によって適宜、判断されるものとする。

(9) 電子式非自動はかり(電子天びん)の不確かさの評価標準手順書(別添10)

電子天びんの不確かさを評価することが必要な場合(測定の不確かさの評価においてボトムアップ方式による評価手順を採用した場合等)を想定して、内部校正結果から天びんの不確かさを算出する手順を示した。

天びんの校正の不確かさを評価するために想定される要因や要因に含めるか否かの判断理由及び算出方法を以下に示した。

1) はかりに起因する不確かさ

指示値の丸め誤差(デジタル指示の場合)

測定前の指示値ゼロ設定及び測定の指示値 I の読み取りにより、指示値の丸めの標準不確かさ ur は実目量を d とすると次の式により算出した。

$$ur = \sqrt{2} \times \frac{1}{\sqrt{3}} \times \frac{d}{2} = d/\sqrt{6}$$

繰り返し性

各校正ポイントの荷重における校正結果の不確かさを評価するにあたり、繰り返し性の不確かさを大レンジ及び小レンジの複数の荷重(50g 及び 200g)を用いて算出した。不確かさの算出には50g 以下の負荷荷重に対しては50g の、

50g 以上ひょう量以下の負荷荷重に対しては、200g の荷重で算出した繰り返し性の標準不確かさを適用した。

偏置荷重

複数の荷重(50g 及び 200g)を用いて算出した。不確かさの評価には50g 以下の負荷荷重に対しては50g の、50g 以上ひょう量以下の負荷荷重に対しては、200g の荷重で算出した標準不確かさを適用した。

正確性

風袋なしの場合及びありの場合を示しているが、風袋ありの場合の風袋荷重の影響については考慮しないものとした。

磁性

無負荷の天びんに分銅を近づけて、指示値が変わらないことを確認することによって影響が小さいものとした。

2) 校正中の環境条件に起因する不確かさ

感度の温度特性

感度の温度特性については、校正された温度計を用いて校正時の温度変化を測定し、天びんのメーカーにより保証された感度の温度係数から、以下の式により相対標準不確かさを算出することが可能である。温度特性は一様分布・タイプ B であることから、予測される使用条件の温度範囲の幅を T 、メーカーのデータによる温度効果(ppm/K)を TK とする温度効果の相対分散(v_i)は

$$v_i = \frac{1}{12} (\Delta T \cdot TK)^2$$

相対標準不確かさ u_i は

$$u_i = \frac{1}{2\sqrt{3}} \times \Delta T \times TK$$

で求められる。

しかし、作業書を作成するにあたり、実際に温度計を用いて計測値から評価した不確かさは他の要因と比較して極めて小さかったことから、本作業書では校正は一定の範囲内の温度（室温：15～28）で、かつ急激な温度変化の無い環境下で行うことを前提とするならば、不確かさへの寄与率は低いものとみなし、要因には含めないこととした。

空気の流れ

振動・気流の影響がないことを校正前に確認することとした。

空気密度

校正に使用する分銅を校正の3時間以上前から校正しようとする室内に置き、雰囲気と平衡化させることにより影響が小さいものとした。

3) 校正に用いる参照分銅

質量校正の不確かさ

参照分銅の校正証明書に記載している拡張不確かさから算出した。また、本作業書では使用する参照分銅は単一分銅を仮定しているが、複数の参照分銅を組み合わせる場合の標準不確かさ u_s は

$$u_s = \frac{\sum_j u_{ij}}{k}$$

の式で求められる。ここで、 j は参照標準の分銅の組合せ数である。

安定性及び使用方法により生じる不確かさ

校正目標の不確かさに比べて小さく、拡張不確かさの範囲内に管理されてい

るものとした。

空気浮力に起因する不確かさ

校正目標の不確かさに比べて小さく、無視できるものとした。

環境との温度差による不確かさ

校正に使用する分銅を校正の3時間以上前から校正しようとする室内に置き、雰囲気と平衡化させることにより管理されているものとした。

また、要因とした不確かさのうち A タイプで評価されたのは繰り返し性の不確かさのみであり、繰り返し性以外の自由度は無大となる。そこで、校正結果の有効自由度 V_{eff} は、繰り返し性の測定回数を6回、合成標準不確かさを u 、繰り返し性の標準不確かさを uw とした場合、

$$V_{eff} = (6 - 1) \times \left(\frac{u}{uw}\right)^4$$

の式で求められ、10以上の十分な自由度が確保できていれば、包含係数 $k=2$ を採用し、信頼水準約95%に相当する拡張不確かさを計算することができると考えられる。

(10)電子式非自動はかり(電子天びん)の定期点検標準作業書(別添11)

食品検査で用いられるすべての天びんを対象とし、年1回を目安に実施することとした。点検方法は(8)電子式非自動はかり(電子天びん)の内部校正標準作業書に記載した方法と同様である。定期点検はトレーサビリティ体系を有する校正業者による校正をもって替えること

ができる。

(11)電子式非自動はかり(電子天びん)
の日常点検標準作業書(別添12)

日常点検は校正または定期点検に加え
て天びんの定期的な性能検証として必要
であり、また検査の品質維持を確保する
ためには必須の行為である。質量の測定
プロセス要求に適合しなくなる予兆を検
知するもので、適正な頻度及び手順によ
り日常点検が行われた場合、管理基準の
逸脱等を事前に検知することができる。

天びんの状態(外観、水平、秤量皿、
作動性)と計量(自動校正、一点計量、
ゼロ点)を点検項目とした。

(12)実用標準分銅の内部校正(値付け)
標準作業書(別添13)

本作業書では、常用参照標準分銅(参
照分銅)としてE2及びF1級のJCSSロゴマ
ーク付き標準分銅を用いて、日常点検に
使用するJIS M1級以下相当の実用標準分
銅(試験分銅)を内部校正(値付け)す
る場合の手順を示した。

参照分銅と試験分銅はJIS B7609:2008
の質量測定法/等量比較法(ABA法)C4.2
に示されたABA法を用いて質量を比較測
定することにより行った。

4. 技能試験への参加

(1) 残留農薬

実施結果については、分担研究「既存

技能試験試料の改善及び新規技能試験プ
ログラムの導入に関する研究」(渡辺班)
の報告書に記載されている。

(2) 動物用医薬品

実施結果については、分担研究「新規
技能試験プログラムの開発及び統計学的
評価に関する研究」(松田班)の報告書に
記載されている。

5. まとめ

地方自治体の食品衛生検査施設にお
いて、国際的基準であるISO/IEC 17025
に準拠した試験所運営ができるよう、公
的なISO/IEC 17025 認定取得施設を視察
し、ガイドラインと業務管理要領との比
較等により課題の抽出を行った。

ISO/IEC 17025 に準拠した新たな取組
み導入には組織体制の構築、手順書等の
整備、新たに追加された技術上の必要事
項に対する適切な実施等々、多くの作業
が予想される。このことは、平成9年に
通知された業務管理要領の単なる変更
ではなく、20年来実施してきた業務管理
の内容の大きな見直しであると言える。

今年度の分担研究の取組みとして、地
方自治体の食品衛生検査施設への
ISO/IEC 17025 に準拠した検査の品質保
証への取組み導入の参考となるよう、比
較的重要度の高い手順書等を作成した。

謝辞

例示文書作成にあたり、貴重な資料や
御助言をいただいた公的及び民間の
ISO/IEC 17025 認定取得機関の方々に深

謝いたします。

E. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

(1) 山元梨津子、大坂郁恵、吉田栄充、三宅定明、石井里枝：「ISO/IEC 17025を基礎とする新たな業務管理に向けて～地方衛生研究所の食品検査部門へのアンケート調査～」平成30年度全国衛生化学技術協議会研究会（2018）

(2) 井上裕子、只木晋一、吉田栄充、

石井里枝：「食品衛生検査におけるISO/IEC 17025に準拠したマネジメントシステム導入の検討」平成30年度地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部理化学部会研究会（2019）

F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

付録 別添一覧

地方衛生研究所全国協議会・臨時総会 講演スライド	別添	1
品質マニュアル	別添	2
教育訓練に関する手順書	別添	3
マネジメントレビューに関する手順書	別添	4
内部監査に関する手順書	別添	5
不確かさ特性要因図	別添	6
不確かさ評価標準作業書（トップダウン方式）	別添	7
不確かさ評価標準作業書（ボトムアップ方式）	別添	8
電子式非自動はかり（電子天びん）の内部校正標準作業書	別添	9
電子式非自動はかり（電子天びん）の不確かさの評価標準手順書	別添	10
電子式非自動はかり（電子天びん）の定期点検標準作業書	別添	11
電子式非自動はかり（電子天びん）の日常点検標準作業書	別添	12
実用標準分銅の内部校正（値付け）標準作業書	別添	13

表1 ガイドラインと業務管理要領の要求事項の比較

ガイドラインの要求事項	業務管理要領の要求事項
1. 趣旨	1 目的
2. 本ガイドラインの対象	—
3. マネジメント上の必要事項	—
3.1 組織	2 組織
3.1.1 マネジメントシステム	—
3.1.2 トップマネジメント	2 組織(5) 施設を管理する者
3.1.3 信頼性確保部門責任者	2 組織(3) 信頼性確保部門責任者
3.1.4 検査部門責任者	2 組織(1) 検査部門責任者
3.1.5 検査区分責任者	2 組織(2) 検査区分責任者
3.2 文書の管理	17 標本、データ等の保存 別添の1 一般的事項：標準作業書の管理
3.3 記録の管理	16 データの作成 17 標本、データ等の保存 19 その他(1)記録等
3.4 内部監査	13 内部点検
3.5 是正活動と改善	13 内部点検 14 精度管理 15 外部精度管理 19(2) その他
3.6 マネジメントレビュー	—
3.7 不適合となった業務の管理	13 内部点検 10 検査等の結果の措置
3.8 疑義申し立てへの対応	19 その他(2)苦情等の処理
4. 技術上の必要事項	—
4.1 要員	18 研修
4.2 施設及び環境の条件	3 検査室等の管理 4 機械器具の管理
4.3 設備	9 検査の操作等の管理
4.4 役務及び物品の購買	—
4.5 方法の選択	—
4.6 方法の妥当性確認と検証	19 その他 (3)不確かさ
4.7 サンプリング	—
4.8 試料の取扱	12 試験品の保存
4.9 測定の特長	—
4.10 測定の不確かさの推定と評価	19 その他 (3)不確かさ
4.11 分析結果の品質の保証	14 精度管理 15 外部精度管理調査
別添3 技術上の各種管理の例	—
1. 検査室等の管理	3 検査室等の管理
2. 機器(設備)、器具の管理	4 機械器具の管理 別添の2 機械器具保守管理標準作業書の作成
3. 試薬等の管理	5 試薬等の管理 別添の3 試薬等管理標準作業書の作成
4. 動物の管理	6 動物の管理 別添の4 動物飼育管理標準作業書の記載
5. 有毒な又は有害な物質及び危険物の管理	7 有毒な又は有害な物質及び危険物の管理
6. 試験品(試料)の取扱いの管理	8 試験品の取扱いの管理 別添の5 試験品取扱標準作業書の作成
7. 製品検査の操作等の管理	9 検査の操作等の管理 別添の6 検査実施標準作業書の作成
5. 結果の報告	10 検査等の結果の処理 11 検査結果通知書 16 データの作成 別添6(2)検査等の記録の作成
6. 能力の査定	—
別添1 用語の定義	—

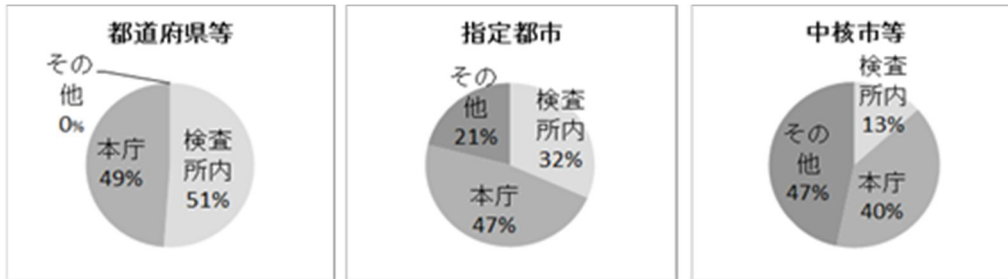


図1 信頼性確保部門責任者の配置状況

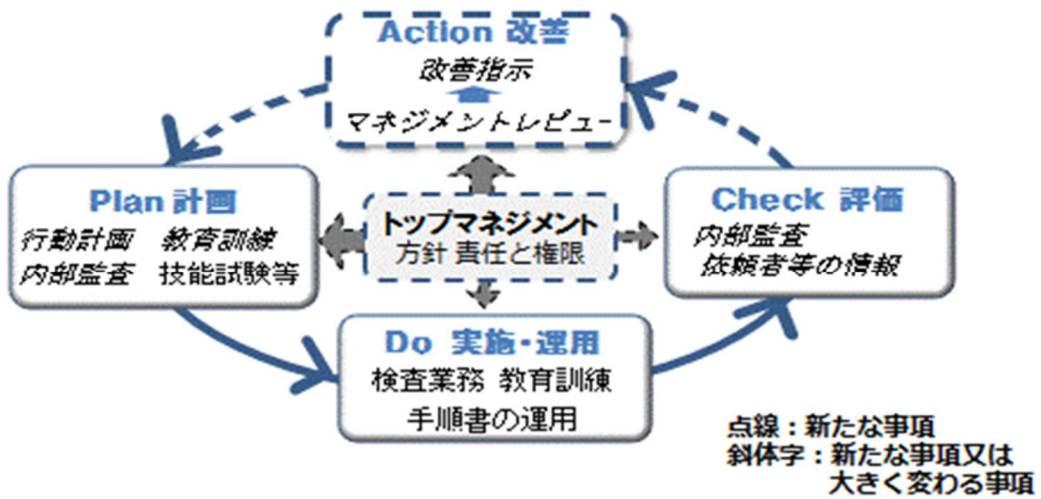


図2 マネジメントシステムによる管理モデル

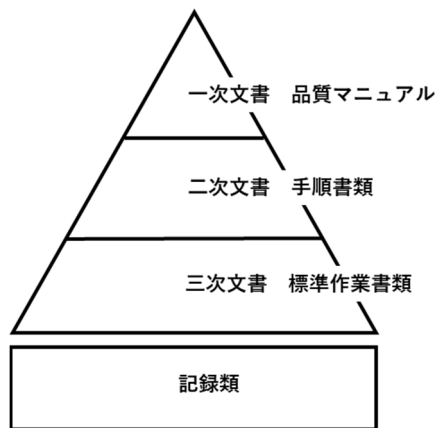
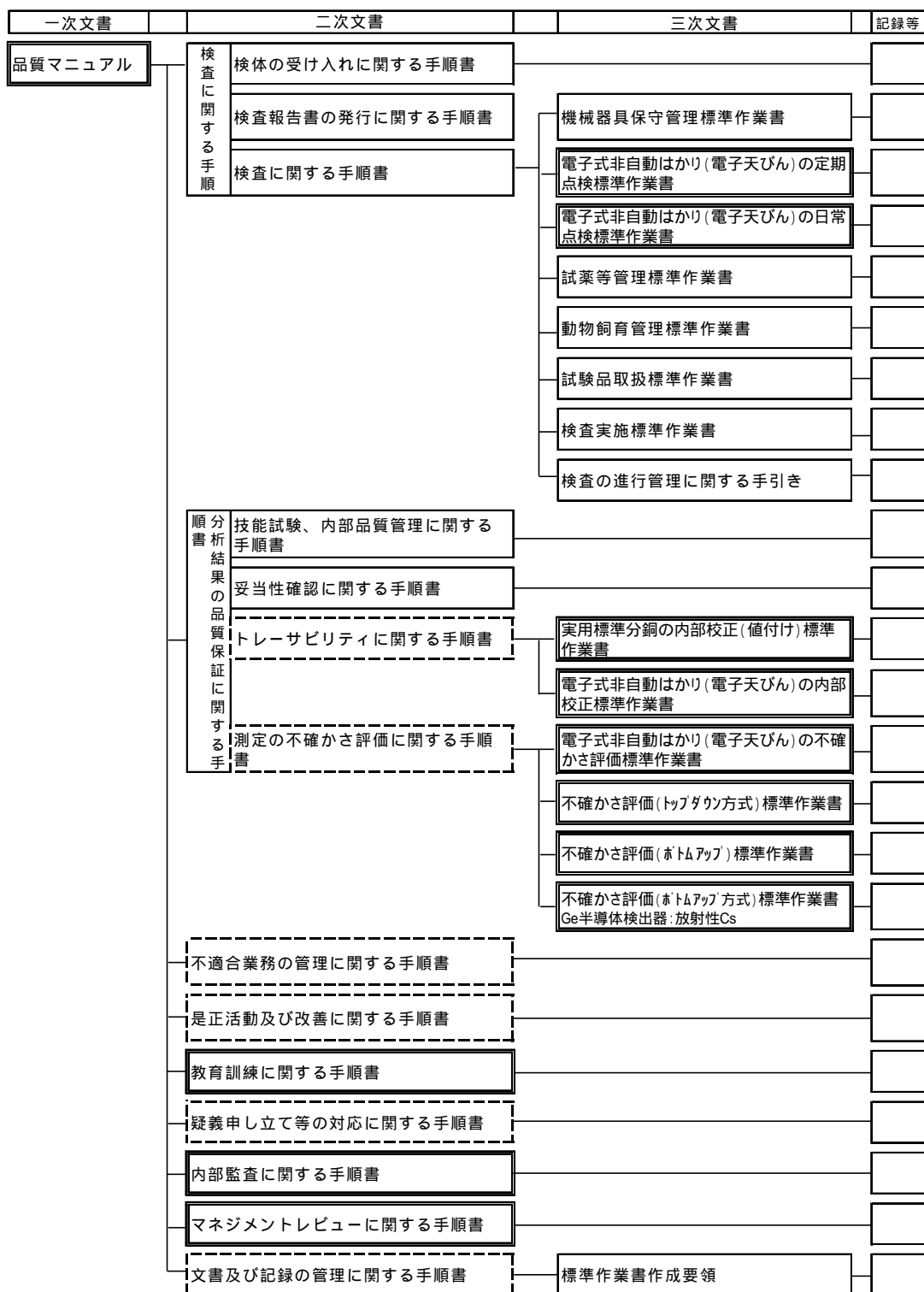


図3 文書階層図



- ・ 二重線：研究班で作成した文書
- ・ 一重線：現在、運用している文書
- ・ 点線：今後、整備が必要な文書(三次文書は記載した以外にも想定される。)

図4 文書体系図

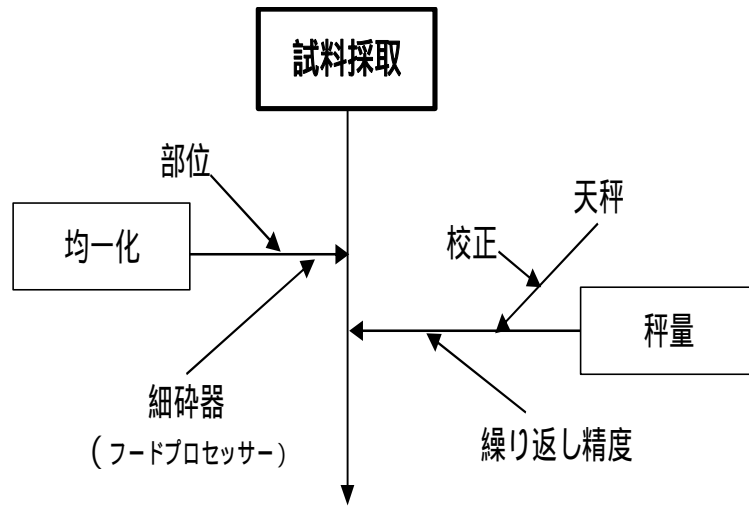


図5 試料採取における特性要因図

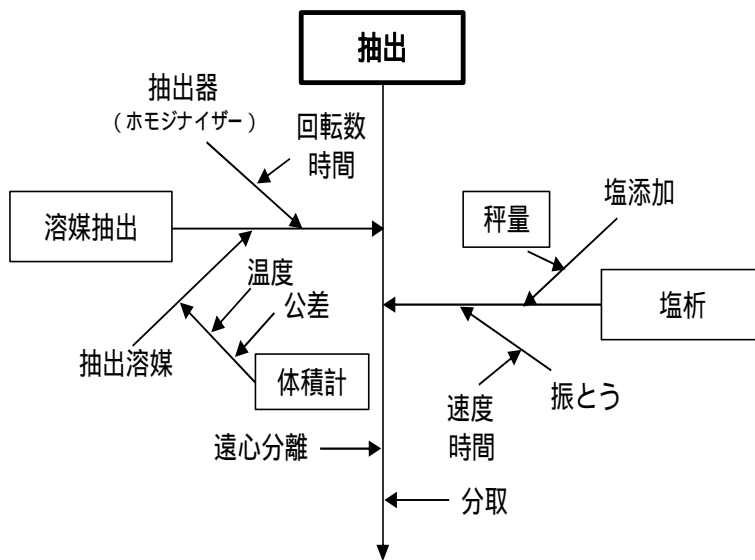


図6 抽出における特性要因図

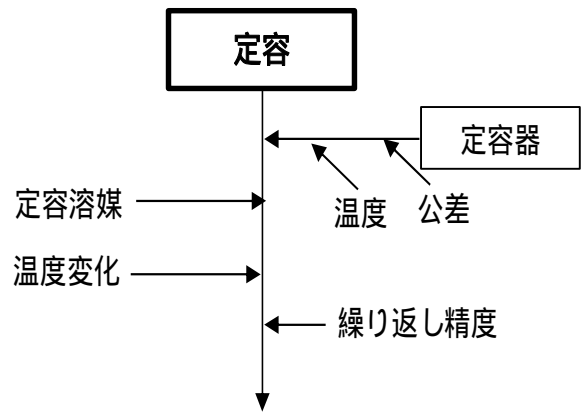


図7 定容における特性要因図

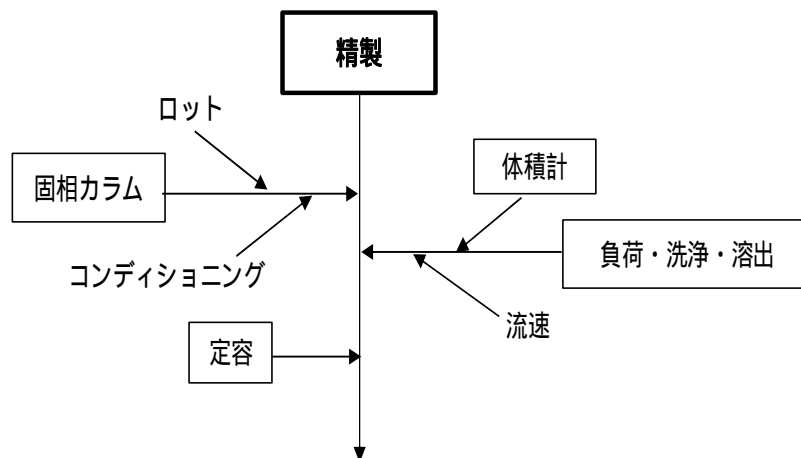


図8 精製における特性要因図

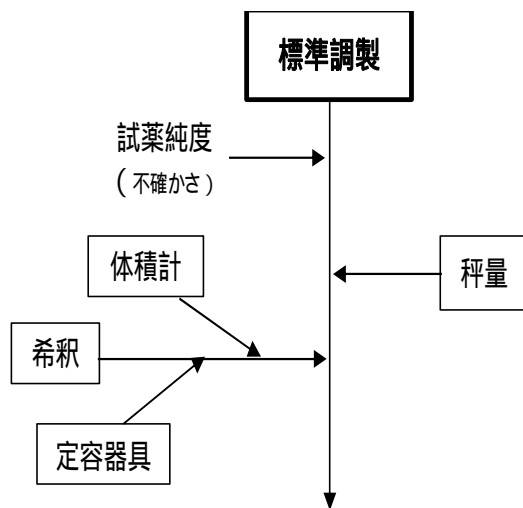


図9 標準調製における特性要因図

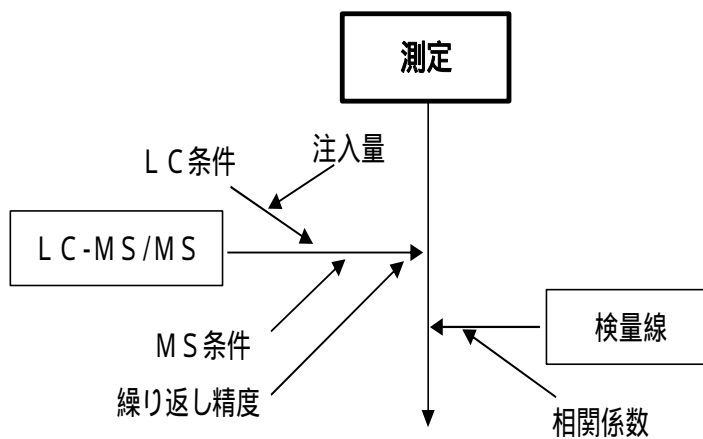


図10 機器分析における特性要因図



「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」

分担研究:

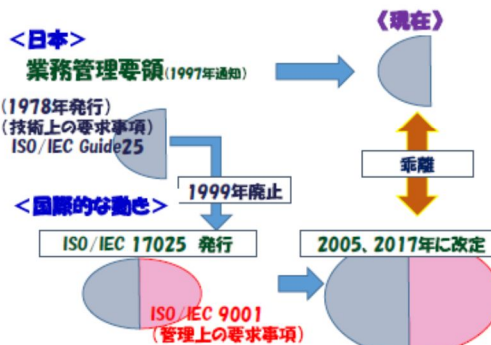
「ISO/IEC 17025認定取得に向けた
試験所の検討に関する研究」

埼玉県衛生研究所 石井里枝

1. 研究の背景・目的

- ①食品衛生検査施設における業務管理基準の制定
 - ・食品衛生法施行令等の一部を改正する政令の一部の施行及び食品衛生法施行規則の一部を改正する省令の施行について
 - H9.1.16 衛食第7号 厚生省生活衛生局長通知
 - ②業務管理要領
 - ・食品衛生検査施設における検査等の業務管理について
 - H9.1.16 衛食第8号 厚生省生活衛生局長食品保健課長通知
 - 最終改正 H20.7.9 食安監発第0709004号 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知
- 別紙: 食品衛生検査施設における検査等の業務管理要領

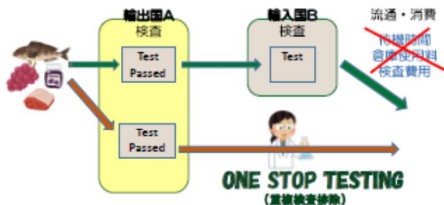
1. 研究の背景・目的
2. 平成29年度検討内容
3. 地方自治体試験所への新たな業務管理導入における品質保証への影響、課題及び課題解決の方策



ISO/IEC 17025 認定取得の必要性

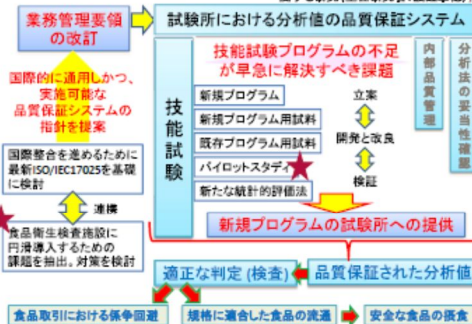
ISO: International Organization for Standardization (国際標準化機構)
IEC: International Electrotechnical Commission (国際電気標準会議)

- ・国際的物流の増大
- ・地球規模での環境問題の深刻化
- ・健康、安全、安心に関する意識の高まり



WTO-TBT協定において、加盟国は自国と同等であると認める適合性評価を行う(認定機関)の認定する技術的能力(試験所・校正機関の能力)を受け入れると規定

[研究課題: 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(主任研究者: 渡辺卓穂)]



2. 平成29年度の分担研究班 検討内容

①業務管理に関するアンケート調査による現状把握

1. 目的
 - 地方自治体の食品衛生検査施設にISO/IEC 17025を基礎とする業務管理要領が導入された場合に、検査の品質保証への影響、導入への課題及び解決策等について検討するため、地方自治体の食品衛生検査施設の業務管理の現状について把握する。
2. 調査方法
 - (1)調査対象機関
 - 地方衛生研究所全国協議会の会員機関及び厚生労働科学研究費補助金事業研究協力者である地方自治体の食品衛生検査施設1施設(非会員)の83機関
 - (2)調査方法
 - メールによるアンケート(設問数:23)を配布し、記入済のアンケート用紙をメールにより回収した。
 - (3)調査期間
 - 平成30年2月2日~2月21日
3. アンケート回収状況
 - 調査対象83機関のうち77機関から(回答率:92.8%)から回答が得られた。
 - 都道府県:独立行政法人:43施設、指定都市:19施設、特別区・中核市:15施設

②地方自治体の食品衛生検査施設へのISO/IEC 17025を基礎とする業務管理導入の課題の抽出と課題解決の方策の検討

- ・ISO/IEC 17025認定取得の実行可能性
- ・新たな業務管理導入による試験所の検査の品質保証に対する影響
- ・新たな業務管理導入への課題と課題解決の方策・提言

③パイロットスタディ

- 新規または改良技術により作製した試料の分析・評価
 - ・産薬4種
 - ・下病性貝毒
 - ・特定原材料

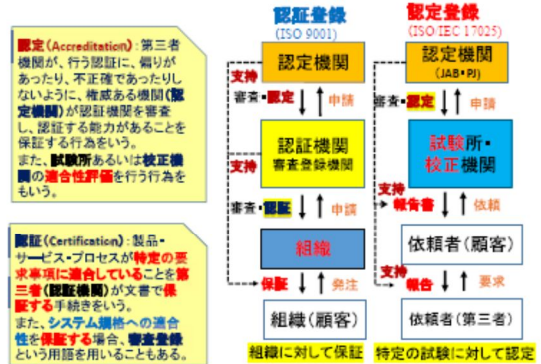
④情報発信

- ・全国衛生化学技術協議会での教育講演等
- ・セミナーの開催

3. 新たな業務管理導入の品質保証への影響、課題及び課題解決の方策

(1) ISO/IEC 17025 認定取得について

適合性評価のための認証と認定



主要国の試験所/校正機関認定状況(件数)

北米・南米 他	ヨーロッパ	アジア・オセアニア
アメリカ 7,413	イギリス 2,049	日本 774
カナダ 610	フランス 1,805	中国 6,558
ブラジル 1,113	ドイツ 2,715	韓国 864
南アフリカ 586	スウェーデン 359	台湾 1,639
		シンガポール 319
		インド 2,118
		オーストラリア ニュージーランド 2,867

2016年5月
IA Japan調査結果

(アンケート調査結果)

ISO/IEC 17025 認定取得状況について

①取得している ②取得に向けて作業を進めている ③取得することを検討中
④過去に取得していたが、現在は取得していない ⑤取得する予定はない

	回答施設数	①	②	③	④	⑤
都道府県・ 独立行政法人	43	2				41
指定都市	19			3		16
特別区・ 中核市	15					15

①取得している試験項目	1. カドミウム 濃度 2. 汚染物質含有率(鉛)の検出(2017年度以降の試験)による鉛濃度検査 3. 鉛濃度検査(鉛濃度) 4. 鉛濃度検査(鉛濃度)
②取得予定の試験項目	1. 鉛濃度の予測、人員訓練等、実施予定等について、今後、検討予定 2. 鉛濃度検査(鉛濃度)の認定取得のための準備中 3. マラカイトグリーン

ISO/IEC 17025を基礎とする業務管理の地方自治体の試験所への導入による影響、課題及び方策 ~その1~

<ISO/IEC 17025認定取得について>

- 認定取得は試験所の能力を推定する際の目安になり、また国際高取引における競争回避の面から利点は多い。
- 特定の範囲において取得した認定が、試験所が実施する検査すべての証明とはならない。
- 検査項目すべてを対象とした網羅的な認定取得は人的、財政的に困難である。
- 認定取得ではなく ISO/IEC 17025 に準拠した改定案に沿った取組みが妥当である。

3. 新たな業務管理導入の品質保証への影響、課題及び課題解決の方策

(2) マネジメントシステムの効果的な運用について

業務管理要領案の構造

食品衛生に関連した検査等を実施する試験所の能力の一般必要事項と分析結果の品質保証に関するガイドライン

- | | |
|------------------|------------------|
| 1. 趣旨 | 3.3 記録の管理 |
| 2. 本ガイドラインの対象 | 3.4 予防活動 |
| 3. マネジメント上の必要事項 | 3.5 内部監査 |
| 3.1 組織 | 3.6 マネジメントレビュー |
| 3.1.1 マネジメントシステム | 3.7 是正活動と改善 |
| 3.1.2 トップマネジメント | 3.8 不適合となった業務の管理 |
| 3.1.3 信頼性確保部門責任者 | 3.9 疑義申し立てへの対応 |
| 3.1.4 検査部門責任者 | |
| 3.1.5 検査区分責任者 | |
| 3.2 文書の管理 | |

食品衛生法関係業務管理要領案のガイドライン
分業研究会 食品衛生法関係業務管理要領案のガイドライン

業務管理要領案の構造(つづき)

- | | |
|--------------------|----------|
| 4. 技術上の必要事項 | 5. 結果の報告 |
| 4.1 要員 | 6. 能力の査定 |
| 4.2 施設及び環境の条件 | |
| 4.3 設備 | |
| 4.4 役務及び物品の購買 | |
| 4.5 方法の選択 | |
| 4.6 方法の妥当性確認と検証 | |
| 4.7 サンプルング | |
| 4.8 試料の取り扱い | |
| 4.9 測定の特異性/サビリティ | |
| 4.10 測定の不確かさの推定と評価 | |
| 4.11 分析結果の品質の保証 | |
- 用語の定義
別添
・各部門あるいは区分責任者が実施する業務
・技術上の必要事項を満たすための各種管理の例
・分析結果の品質保証への取組例
・分析結果の品質保証への取組例
1. 内部品質管理への取組例
2. 技能試験あるいは試験室間比較試験への参加

食品衛生法関係業務管理要領案のガイドライン

業務管理要領改定案～抜粋～

3. マネジメント上の必要事項

3.1 組織

(1) 試験所又はそれを一部とする組織は、食品衛生に係る法に基づく検査への責任を果たすために、本ガイドラインが挙げる必要事項を満たし、運営に必要な全ての要素や活動をマネジメントする。

3.1.1 マネジメントシステム

(2) マネジメントシステムは、トップマネジメントの下に信頼性確保部門責任者、検査部門責任者、検査区分責任者を配して構築し、マネジメントを実施すること。

3.1.2 トップマネジメント

試験所又はそれを一部とする組織の最高責任者をトップマネジメントとすること。登録検査機関においては代表権を有する者とする。自治体等の食品衛生検査施設にあつてはその長とすることが考えられる。

(3) トップマネジメントは、マネジメントシステムの構築及び実施並びに、その有効性の継続的な改善に必ず関与する。

(5) トップマネジメントは、あらかじめ決定したスケジュールと手順に従い、試験所のマネジメントシステム及び検査に係る活動とその結果を定期的にレビューし、継続した適切かつ有効な実施を確実にすること。また、必要な変更又は改善を導入する。

業務管理要領改定案～抜粋～

3.1.3 信頼性確保部門責任者

信頼性確保部門責任者には、検査への信頼に関わる分析結果の品質に関連するマネジメントが常に実施され遵守されていることを確実にするための明確な責任及び権限が付与される。信頼性確保部門責任者はトップマネジメントに直接、接触できる。

3.4 内部監査

(1) 構築したマネジメントシステムに沿って運営されていることを検証するために、定期的かつあらかじめ決定したスケジュール及び手順に従って、自らの活動の内部監査を実施する。内部監査では、試験所の運営に必要な全てのマネジメントを対象とする。

(2) 内部監査は、信頼性確保部門責任者の責任において実施する。可能な限り、監査の対象となるマネジメントまた、マネジメントの対象となる活動から独立した要員が実施する。

(3) 内部監査は12ヶ月以内に1サイクルを完了することが望ましい。

(アンケート調査結果)

信頼性確保部門責任者・信頼性保証担当者について

- [1] 信頼性確保部門責任者の所属
 ①食品衛生検査施設(貴所)
 ②本庁(主官課)
 ③その他(保健所の他の課等)
- [2] ②及び③と回答した施設のうち、信頼性保証を担当する職員の配属
 ④あり
 ⑤なし



3. 新たな業務管理導入の品質保証への影響、課題及び課題解決の方策

(3) 新たな技術上の必要事項の実施について

- ①試験法の妥当性確認
 ②測定のトレーサビリティ
 ③不確かさの推定・評価

業務管理要領改定案～抜粋～

3.6 マネジメントレビュー

(1) マネジメントレビューでは次の事項を考慮・検討する。

- 分析結果の品質に関連したマネジメントシステムの方針及び手順の適切さ
- 信頼性確保部門責任者や検査部門責任者からの報告
- 内部監査の結果
- 是正及び予防の活動
- 外部機関による審査あるいは監査(実施されている場合のみ)
- 試験所間比較又は技能試験の結果
- 検査(及びそれに伴う業務)の量及び種類の変化
- 検査結果に伴う法的措置の有無(及びその影響の大きさ)
- 改善のための提案

(2) マネジメントレビューにより発見された問題またそれらにより生じた活動を記録する。是正活動等の活動は、適切に取り決めた期限内に実施する。

(3) マネジメントレビューを実施する典型的な周期は、12ヶ月に1回である。

マネジメントシステム

良い状態を継続して、将来もより良い状態に

- 良い状態を明確にして (プロセスを明確に)
- 関係者にわかるように (手順の文書化)
- 決められたことは守る (検査実施)
- 時々確認して (経過、結果の監視)
- 実績を確認、評価して (内部監査)
- うまくいかないところは直して (是正、改善)
- より良い状態を明確にして (継続的な改善)

PDCAサイクルを回す



ISO/IEC 17025を基礎とする業務管理の地方自治体の試験所への導入による影響、課題及び方策 ～その2～

<マネジメントシステムの効果的な運用について

～信頼性確保部門責任者の研修制度～>

○改定案では試験所の取組みとその適正運用の確認、必要に応じた改善と継続のための仕組みが規定された。

○信頼性確保部門責任者の責務と権限が明確となり、マネジメントシステムの内部監査の実施主体である。

○一定レベル以上のスキルを持っている者として資格を付与されることにより、客観性を高めた評価が行われていることが対外的な説明に有効である。

○ISO/IEC17025解説、内部監査のポイント、模擬内部監査などの実践的なカリキュラムを含んだ国主導の研修の実施が有効である。

業務管理要領改定案～抜粋～

4. 技術上の必要事項

4. 6 方法の妥当性確認と検証

(1) 試験所又は、方法の導入に先立ち、その妥当性を確認する。方法の妥当性確認とは、検査における判定において、科学的根拠となる分析結果を得るといふ、特定の用途に対して用いる方法が、個々の要求事項を満たしていることを調査によって確認し、客観的な証拠を留意することである。

(3) 国際規格、地域規格若しくは国家規格等により発表された妥当性確認された方法を導入する場合には、試験所がその方法を適切に運用できることを検証する。

○分析値の範囲や精度を考慮する分析能パラメータ (選択性、検出限界、直線性、繰返し性、再現性、頑健性、相関感度、不確かさ等) を求める

業務管理要領改定案～抜粋～

4.9 測定のトレーサビリティ

- (1) 試験所は、採取される試料と試料の分析結果に重大な影響を与える可能性のある器具や機器を業務に用いる前に校正する。
- (2) 試験所は、分析の内容や原理に照らして可能な場合には、次に掲げることを通じ、測定結果が国際単位（SI）に対してトレーサブルであることを確認する。すなわち、測定のトレーサビリティを確立し、維持する。

測定のトレーサビリティとは

不確かさがすべて標記された、切れ目のない比較の連鎖〔トレーサビリティ(Traceability)連鎖〕を通じて、通常は国家標準又は国際標準である決められた標準に関連づけられ得る測定結果又は標準値の性質
(ISOガイド30:1992 (JIS Q 0030:1997))

業務管理要領改定案～抜粋～

4.10 測定の不確かさの推定と評価

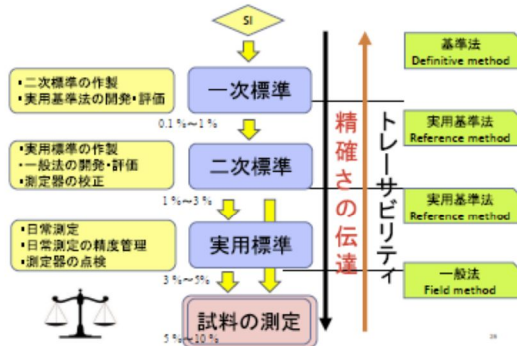
- (1) 試験所は、測定の不確かさを推定する手順を持ち、適用し、分析結果の品質の保証等において利用する。

・不確かさ (uncertainty) : 測定の結果に付随した合理的に測定量に結び付けられ得る値のばらつきを特徴付けるパラメータ。

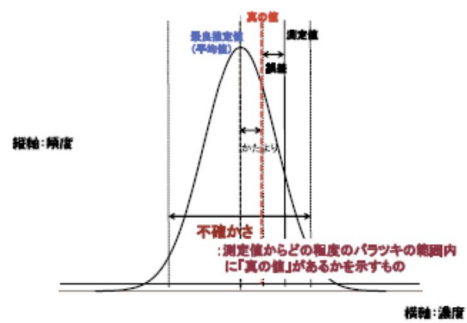
標準偏差 (あるいはその倍数) やある信頼水準を明示した信頼区間の半分の値などで表され、この幅の中に真の値が含まれるという意味をもつ。

・分析の方法、分析手順、分析者の熟練度、分析機器、試料の形態などにより不確かさは見積もられるので、分析の信頼性の指標ともいえる。

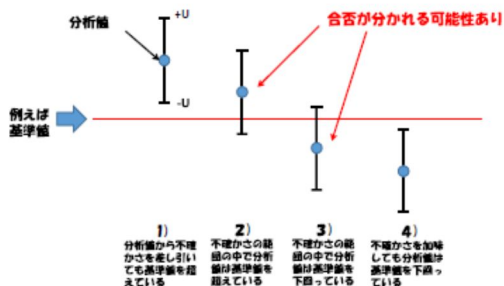
トレーサビリティ体系



「測定の不確かさ」と「誤差」



測定の不確かさが論点となる例



(参考) Guideline on Measurement Uncertainty (CAC/GL 54-2004)

〈アンケート調査結果〉

測定の不確かさの推定について

○不確かさの推定

① 全て実施した ② 一部実施済 ③ 未実施



○実施した項目

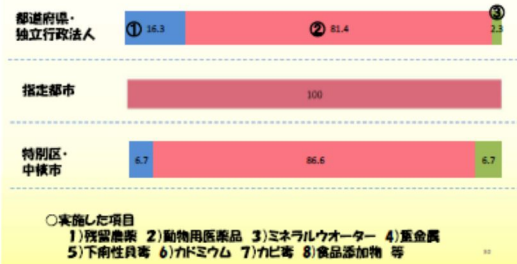
- 1) 残留農薬 2) 動物用医薬品 3) 食品添加物 4) 放射性物質 5) 水銀 6) 微生物検査の一部

〈アンケート調査結果〉

試験法の妥当性評価について

○検査法の妥当性評価について

① 全て実施した ② 一部実施済 ③ 未実施



ISO/IEC 17025を基礎とする業務管理の地方自治体の試験所への導入による影響、課題及び方策 ~その3~

〈新たな技術上必要な事項の実施について〉

○試験法の妥当性確認は通知等で発出された項目については、実施が進んでいるが、不確かさの推定・評価については多くの試験所で未実施という現状である。

○改正によって追加される技術的必要事項 (①試験法の妥当性確認・検証、②内部品質管理、③技能試験及び④不確かさの推定・評価) について具体的な実施の指針あるいはガイドライン等を国が提示することによって、より効果的、実効性のある改定となる。

3. 新たな業務管理導入の品質保証への影響、課題及び課題解決の方策

(4)アウトソーシング拡大への懸念

ISO/IEC 17025を基礎とする業務管理の地方自治体の試験所への導入による影響、課題及び方策 ~その4~

<アウトソーシング拡大への懸念>

○アンケート調査から検査員が1ないし2人と回答した試験所は理化学部門、微生物部門ともに約10%程度あり、マンパワー不足が深刻である。

○約30%の試験所が業務の一部を登録検査機関へ委託してる。

○アウトソーシングが拡大することにより、検査に必要な機器の設置、保全、人員の確保、技術の継承が困難となることが予想される。

○将来の食品に関連する健康危機管理事故・事件に対して、自治体の試験所が対応できなくなる可能性がある。

業務管理要領改定案～抜粋～

4.7 サンプルング

(1) 試験所は、検査依頼者の指定するサンプルングプラン及びサンプルング手順から逸脱してはならない。検査依頼者の指定がない場合、試験所は、検査依頼者の要求を満たすサンプルングプラン及びサンプルング手順を選択し使用する。

(3) サンプルングプランは、合理的である限り、国際的にも受け入れ可能な水準で、適切な統計的方法に基づいていること。検査の対象となる集団から抜き取る一次試料の数(サンプル数)と判定において許容する不適合の数の規定をきむ。

別添3 技術上の必要事項を満たすための各種管理の例

6.試験品(試料)の取扱いの管理

(3)①検査対象となる食品等で構成された集団(ロット)を代表させるため、無作為に試料が採取されていること。

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分担研究「ISO/IEC 17025認定取得に向けた試験所の検討に関する研究」

主任研究者: (一財)食品薬品安全センター 清辺 卓穂
 分担研究者: 埼玉県衛生研究所 石井 里枝
 研究協力機関: 栃木県保健環境センター
 群馬県食品安全検査センター
 埼玉県衛生研究所
 さいたま市健康科学研究センター
 越谷市保健所
 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
 横浜市衛生研究所
 川崎市健康安全研究所
 愛知県衛生研究所
 地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所
 堺市衛生研究所
 神戸市食品衛生検査所
 奈良県保健環境センター
 和歌山県保健衛生研究所
 国立医薬品食品衛生研究所

<アンケート調査結果> 登録検査機関への検査委託について

○監視指導計画に基づく検査を貴所(食品衛生検査施設)または主管課は登録検査機関へ委託しているか
 ①している ②していない



○委託した検査で不都合が生じたこと
 1)検出限界値の不一致 2)検査ミス

3. 新たな業務管理導入の品質保証への影響、課題及び課題解決の方策

(5)収去部門が実施するサンプルングについて

ISO/IEC 17025を基礎とする業務管理の地方自治体の試験所への導入による影響、課題及び方策 ~その5~

<収去部門が実施するサンプルングについて>

○改定案で示されているサンプルングプランは検査所のようなロット全体を把握できる場合を想定した案である。

○地方自治体の収去検査において、輸入食品あるいは他県で製造・生産された食品のロットサイズを把握することは困難。→収去検査の実施数の激減
 ○現在、自治体の検査結果を根拠として自主回収等の措置がとられ、市場からの不良食品の排除に成果が得られている。

○現在の収去量による検査では規格基準適合の判定が困難

→モニタリング検査としての位置づけ

○各自治体における監視指導計画に基づく検査のあり方や目的の整理が必要
 ○検査所と地方自治体での検査の仕組み分け等の整理が必要



例 示

品質マニュアル

制定日： 年 月 日
改訂日： 年 月 日

作成者： 年 月 日 印

確認者： 年 月 日 印

承認者： 年 月 日 印

留意事項（品質マニュアル）

品質マニュアルの定義：組織のマネジメントシステムについての仕様書（ISO 9000 3.8.8）
この品質マニュアルは、食品衛生に関連した検査等を実施する試験所の能力の一般必要事項と分析結果の品質保証に関するガイドライン（以下「ガイドライン」という。）（平成 29 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 研究分担課題「国際整合性を踏まえた業務管理要領案の開発に関する研究」）を引用しています。

「品質マニュアル」の名称については、「要綱」などとすることもできます。

改訂履歴

版数	改訂日	改訂内容	改訂者	承認者
初版				
第 2 版				
第 3 版				
第 4 版				
第 5 版				
第 6 版				
第 7 版				
第 8 版				
第 9 版				
第 10 版				

目 次

1. 目的
2. 品質マニュアルの対象
 - 2.1 適用範囲
 - 2.2 引用規格等
 - 2.3 用語の定義
 - 2.4 活動方針
 - 2.5 行動計画
3. マネジメント上の必要事項
 - 3.1 組織
 - 3.2 マネジメントシステム
 - 3.3 文書の管理
 - 3.4 記録の管理
 - 3.5 内部監査
 - 3.6 是正活動と改善
 - 3.7 マネジメントレビュー
 - 3.8 不適合となった業務の管理
 - 3.9 疑義申し立てや問い合わせへの対応
4. 技術上の必要事項
 - 4.1 職員
 - 4.2 施設及び環境の条件
 - 4.3 設備
 - 4.4 役務及び物品の購買
 - 4.5 方法の選択
 - 4.6 方法の妥当性確認と検証
 - 4.7 サンプリング
 - 4.8 試料の取扱い
 - 4.9 測定トレーサビリティ
 - 4.10 測定の不確かさの推定と評価
 - 4.11 分析結果の品質の保証
5. 結果の報告
6. 付録

1. 目的 (ガイドライン 1.)

この品質マニュアルは、 県〇〇試験所において、食品衛生法施行令第 8 条第 3 項に規定する検査に関する事務の管理について、マネジメントシステムを適正に組織運営し、信頼性の高い検査業務を行うことを目的に、2.2 引用規格等に規定するガイドラインを踏まえ、必要な事項を定める。

2. 品質マニュアルの対象 (ガイドライン 2.)

2.1 適用範囲

- (1) この品質マニュアルが適用される検査は、食品衛生法施行令第 8 条第 3 項の規定に基づき、食品等の成分規格、基準への適合を判定する検査に適用する。
- (2) この品質マニュアルによるマネジメントシステムは、一次試料の受領から検査報告書の発行までを対象とする。なお、一次試料のサンプリング (収去) は除くものとする。

2.2 引用規格等 (ガイドライン 1)

- (1) 食品衛生法、食品衛生法施行令 (以下「政令」という。)、食品衛生法施行規則 (以下「規則」という。) 及び業務管理関係通知
- (2) 食品衛生に関連した検査等を実施する試験所の能力の一般必要事項と分析結果の品質保証に関するガイドライン (案) (以下「ガイドライン」という。) (平成 29 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 研究分担課題「国際整合性を踏まえた業務管理要領案の開発に関する研究」)
- (3) ISO/IEC 17025 試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項

留意事項 (引用規格等)

引用している他の規格があれば、記載します。

2.3 用語の定義

この品質マニュアルで用いる主な用語の定義は、次のとおりとする。

- (1) 付録 1 用語の定義
- (2) ISO 17000 適合性評価 用語及び一般原則
- (3) ISO 9000 品質マネジメントシステム 基本及び用語

2.4 活動方針 (ガイドライン 3.6(2))

所長は、検査業務の品質を確保するため、活動方針を付録 2 のとおり定め、次の事項を確実に実施する。

- (1) 活動方針が組織全体に伝達され、理解される。
- (2) 活動方針が継続して適切であるよう定期的にレビューし、見直しを行う。

2.5 行動計画 (ガイドライン 3.1.1 前書き)

不適切な食品等を排除し、飲食に起因する衛生上の危害の発生を防止するため、過去の違反等発見状況、食品の特性及び食品衛生法に基づく規格基準等の整備状況を踏まえ、年度当初に定める収去検査の計画に基づき検査を実施する。

- (1) 収去検査については、マネジメントシステムの観点から次の検査体制の確保を図る。
 - 1) 食品衛生法及び関係法令等を遵守する。
 - 2) マネジメントレビューによる改善事項の進捗管理を行う。
 - 3) 内部監査の実施、技能試験への参加、内部品質管理の実施、妥当性評価の実施等を計画的に行う。
 - 4) 教育訓練を計画的に実施する。
 - 5) 検査技術の維持、向上
- (2) 行動計画の進捗状況は、マネジメントレビューで報告する。

3. マネジメント上の必要事項 (ガイドライン 3.)

3.1 組織 (ガイドライン 3.1(2))

- (1) 名称及び所在地

名称	県	試験所		
所在地	県	市	町	- -

- (2) 概況

試験所 (以下「当所」という。) は、 県における科学的、技術的分野における中核機関として、食品衛生分野の法令等に基づく行政検査等を実施するとともに、県民の疾病予防、公衆衛生の向上のために必要な幅広い調査研究を行う試験研究機関である。

- (3) 組織、事務分掌及びマネジメントシステムの対象範囲 (ガイドライン 3.1.1(2))

当所は、 規則第 号、 条例に規定する機関である。
 当所の組織は、付録 3 組織図及び事務分掌に示す。

3.2 マネジメントシステム (ガイドライン 3.1.1)

3.2.1 トップマネジメント (ガイドライン 3.1.2)

当所のトップマネジメントは所長とし、必要な次の組織体制を定める。

- (1) 責任者 (ガイドライン 3.1.1(1))

〇〇県 所長 (以下、「所長」という。) は、信頼性確保部門責任者、検査部門責任者、検査区分責任者、教育訓練責任者及び文書管理責任者 (以下「責任者」という。) を指名する。

- (2) 責任者の役割

責任者は、各々の責任の範囲においてマネジメントシステム又は検査の手順からの逸脱を発見し、その逸脱を防止又は最小化するための活動を指揮する。(ガイドライン 3.1.1(1))

- (3) 責任者の代理者 (ガイドライン 3.1.1(3))

所長は、トップマネジメント及び各責任者の業務を代理する者を指名する。

- (4) 留意事項

所長は、組織の管理にあたり、次の事項に留意する。

- 1) 法令等の遵守 (ガイドライン 3.1(3))

マネジメントシステムは、食品衛生法及び関係法令を遵守する仕組みとする。

2) 検査業務の公平性の確保(ガイドライン3.1(3))

当所は、能力、公平性、判断又は誠実性に対する信頼を損なうおそれのあるいかなる活動にも関与しない。

職員は、試験所の公平性を確実にするため検査結果に基づく行政措置には関与しない。

3.2.2 責任と権限(ガイドライン3.1.1(1))

所長はマネジメントシステムにおける責任と権限を明確にするため、各職員の遂行すべき主要な職務を次のとおり定める。

3.2.2.1 所長(ガイドライン3.1.2)

- (1) 試験所の公平性を阻害する内部・外部からの圧力の排除(ガイドライン3.1(3))
- (2) 自らの活動の持つ意味と重要性を認識し、マネジメントシステムの目標達成にどのように貢献すべきかの認識をもつ。(ガイドライン3.1.2(1))
- (3) マネジメントレビューの継続的、有効かつ確実な実施(ガイドライン3.1.2(5))
- (4) マネジメントシステム文書の作成、変更及び廃止の承認(ガイドライン3.1.2(4))
- (5) マネジメントシステムの継続的で有効な改善への関与(ガイドライン3.1.2(3))
- (6) 職員が試験所内で有効なコミュニケーションができる手段の確保(ガイドライン3.1.2(2))
- (7) 検査報告書の記名、発行の承認
- (8) 信頼性確保業務を検査等の業務から独立させること。

3.2.2.2 信頼性確保部門責任者(政令8条、規則37条、ガイドライン3.1.3)

- (1) 規則第37条第2号から第5号等に掲げる次の業務を行う。
 - 1) 内部監査の定期的、計画的な実施に関すること。
 - 2) 内部品質管理の実施に関する事務の管理に関すること。
 - 3) 技能試験を定期的に受けることに関する事務の管理に関すること。
 - 4) 内部監査、内部品質管理及び技能試験の結果の記録等事務の管理に関すること。
 - 5) その他必要な業務(通知)
- (2) 所長に直接接合できる責任者として業務を行うこと。(ガイドライン3.1.3)
- (3) マネジメントシステムの実施、遵守に関する責任及び権限が付与される。(ガイドライン3.1.3)

留意事項) 3.2.2.2 信頼性確保部門責任者(3)

「規則に掲げる次の業務」の記述は、現在の法令(規則第37条)について、内部点検を内部監査に、精度管理を内部品質管理に、外部精度管理調査を技能試験にそれぞれに読み替えています。以下、同様とします。

3.2.2.3 検査部門責任者(ガイドライン3.1.4)

規則第37条第6号及びガイドラインに掲げる次の業務を行う。

- (1) 検査部門の統括を行うこと。(ガイドライン3.1.4)
- (2) 内部監査、内部品質管理及び技能試験の結果の記録に従い講ずる改善措置を行うこと。

(規則第 37 条第 6 号)

3.2.2.4 検査区分責任者 (ガイドライン 3.1.5)

規則第 37 条第 1 号及びガイドライン掲げる次の業務を行う。

- (1) 標準作業書に基づき、検査等が適切に行われていることの確認等を行うこと。
- (2) 検査員を指揮し、検査に関わる恒久的施設、機器及び器具等の管理を行うこと。

3.2.2.5 教育訓練責任者

教育について、試験検査部門責任者及び信頼性確保部門責任者に「教育訓練に関する手順書」に基づき計画の作成、計画に基づく実施、実施後の評価及び報告を指示し、各部門責任者が作成した文書を確認し、承認する。

3.2.2.6 文書管理責任者+

「文書及び記録の管理に関する手順書」に基づき、文書の作成、改訂及び廃止等の作業が行われるよう管理する。

3.3 文書の管理 (ガイドライン 3.2)

3.3.1 文書の体系 (付録 4)

当所のマネジメントシステムは、次に示す階層から成る文書の体系で構成される。

- (1) 品質マニュアル
マネジメントシステム全体の構成を明確にした文書
- (2) 手順書 (上位) 等
品質マニュアルに基づいて、マネジメントシステム及び検査業務を確実に運用かつ管理するために要求される文書
- (3) 標準作業書 (SOP)、手順書 (下位) 等
マネジメントシステム及び検査業務を運用するために手順書 (上位) 等を補完あるいは補足するために必要な文書
- (4) 記録等
マネジメントシステム及び検査業務の運用に伴う記録、報告書等

3.3.2 管理手順

- (1) マネジメントシステムを構成する文書 (以下「文書」という。) を管理する手順を「文書及び記録の管理に関する手順書」に定める。
- (2) 文書管理責任者は、文書を作成し、又は改訂する場合は、手順書に基づき行われるよう管理する。
- (3) 各文書の作成者は「文書及び記録の管理に関する手順書」に定める。
- (4) 各文書の確認者及び承認者は表 1 のとおりとする。

表 1

文書区分

文書区分、確認者及び承認者
確認者

承認者

1	品質マニュアル	信頼性確保部門責任者、文書管理責任者	所長
2	手順書	文書及び記録の管理に関する手順書に定める。	所長
3	標準作業書等	文書及び記録の管理に関する手順書に定める。	部門責任者
4	記録等	文書及び記録の管理に関する手順書に定める。	部門責任者

留意事項（3.3 文書の管理）

ガイドライン3.3(1)～(5)は手順書に記載します。

3.4 記録の管理（ガイドライン3.3）

マネジメントシステムの運用、検査の実施に関する記録及び検査報告書等の管理については「文書及び記録の管理に関する手順書」に定める。（ガイドライン3.3（1））

留意事項（3.4 記録の管理）

ガイドライン3.3(1)の一部及び(2)～(6)は、手順書に記載します。

3.5 内部監査（ガイドライン3.4）

信頼性確保部門責任者は、当所が構築したマネジメントシステムに沿って運営されていることを検証するために内部監査を実施する。（ガイドライン3.4(1)(2)）

内部監査に関する手順は「内部監査に関する手順書」に定める。（ガイドライン3.4(1)及び(2)の一部、(3)(4)）

3.6 是正活動と改善（ガイドライン3.5）

3.6.1 是正措置（ガイドライン3.5(1)(2)(3)(4)(5)(6)）

(1) 是正措置は、各種手順からの逸脱、それらに関する問題が特定された下記の場合に適用する。是正措置は、逸脱の根本的な原因を特定し、対策を行い、同様の逸脱の再発を防止するために行う。

- 1) 依頼者及び関係機関からの疑義により発見された逸脱
- 2) 検査工程で発見した逸脱
- 3) 内部監査により発見された逸脱
- 4) マネジメントレビューにより発見された逸脱

(2) 是正措置に関する手順は、「是正活動及び改善に関する手順書」に定める。

3.6.2 改善（ガイドライン3.5(1)の一部）

所長は、内部監査、是正措置、マネジメントレビュー等を通じて、マネジメントシステムの有効性を継続的に改善する。

改善に対応するための手順は、「是正活動及び改善に関する手順書」に定める。

3.7 マネジメントレビュー（ガイドライン3.1.2(5)、3.6）

所長は、当所のマネジメントシステム及び検査活動が継続して適切かつ有効であることを確実に実施するために、定期的にレビューし、必要な変更又は改善を導入する。

マネジメントレビューは「マネジメントレビューに関する手順書」に基づき実施する。

3.8 不適合となった業務の管理（ガイドライン3.7）

検査の結果あるいは分析結果の品質が何らかの側面で、当所の手順、規定した業務内容に適合しない場合には不適合とし、適切に対応する。

不適合業務に対応する手順は、次の事項を含む「不適合業務の管理に関する手順書」に定める。

- (1) 不適合業務の責任者は、必要に応じて業務の中止及び検査報告書の発行保留を含む活動を確定する。
- (2) 不適合の重大さを評価する。
- (3) 不適合を直ちに修正するとともに、不適合を容認するかの決定を行う。
- (4) 必要であれば、検査報告書を回収する。
- (5) 業務再開を認める場合には、責任を明確にする。

3.9 疑義申し立てや問い合わせへの対応（ガイドライン3.8）

検査の依頼者からの異議申し立てや問い合わせを解決し、回答するために、調査、是正活動を行い記録する。

異議申し立て、問い合わせに対応するための手順は、「異議申し立て等の対応に関する手順」に定める。

4. 技術上の必要事項（ガイドライン4.）

4.1 職員（ガイドライン4.1）

教育訓練責任者は、検査の受付から検査報告書の発行に関わる全ての職員の力量を確保するため職務の遂行に必要な能力の要件等を定めるとともに、計画的に教育、訓練を実施する。

職務能力の要件及び教育訓練に関する次の事項の手順は、「教育訓練に関する手順書」に定める。

留意事項（4.1 職員(1)）

力量（competence）とは、意図した結果を達成するために、知識及び技能を適用する能力。

4.2 施設及び環境の条件（ガイドライン4.2、別添3 1. 検査室等の管理）

当所の施設及び環境の条件については、「検査に関する手順書」に定める。

4.3 設備（ガイドライン4.3、別添3 2. 機器(設備)、器具の管理）

当所の設備、機器等の保守計画に関する手順は、「検査に関する手順」又は「機械器具保守管理標準作業書」等に定める。

4.4 役務及び物品の購買（ガイドライン4.4）

当所の分析結果の品質に影響を与える機器、設備の保守管理業務及び修繕等役務を委託する場合並びに機器、試薬及び消耗品等物品の選定、購買等を行う場合は、次の手順に従う。

- (1) 物品の選定、購買は に従い実施する。(ガイドライン4.4(1))(ガイドライン4.4(4)は、手順に記載する。)
- (2) 物品の受け入れと保管の手順は、 に規定する。(ガイドライン4.4(1))
- (3) 役務及び物品は、適切な仕様に適合していることを確認して使用すること、その確認の結果は記録し保管することについては、 に規定する。(又は に従い実施する。)(ガイドライン4.4(2)(3))
- (4) 役務の委託については に従い実施する。(ガイドライン4.4(1))

留意事項（4.4 役務及び物品の購買）

手順の規定には、財務関係規則、施設、機械器具の保守管理に関する各規定の名称を記載することを想定しています。

4.5 方法の選択（ガイドライン4.5）

- (1) 当所の検査は「検査に関する手順書」及び「検査実施標準作業書」に基づいて行う。検査は正当な根拠があり、検査部門責任者が認めた場合を除き、検査実施標準作業書から逸脱して実施してはならない。(ガイドライン4.5(1)(2)(3))
- (2) 当所の検査方法は、国家規格、学術誌において発表された方法等、試験所が開発、改変、もしくは調整した方法から選択するものとする。(ガイドライン4.5(4))
- (3) 検査方法の開発が必要な場合は、的確な能力を備えた職員が計画的に実施し、定期的に検証する。(ガイドライン4.5(5))
- (4) 依頼者が当所で規定した各手順及び標準作業書の検査方法以外の方法を指定する場合、検査の依頼を受け付けない。

4.6 方法の妥当性確認と検証（ガイドライン4.6）

検査方法について、国家規格、学術誌において発表された方法等、又は試験所が開発、改変、もしくは調整した方法から選択した場合の妥当性の確認については「妥当性確認に関する手順書」により行う。(ガイドライン4.6(1)(3))

留意事項（4.6 方法の妥当性確認と検証）

ガイドライン4.6(2)(4)(5)は、手順書に記載します。

4.7 サンプルング（ガイドライン4.7）

試料の調製については、検査実施標準作業書に定める。

なお、一次試料を採取するサンプルング(収去)と輸送については、業務範囲の対象としない。

4.8 試料の取扱い（ガイドライン4.8）

試料の取扱いは、試料の代表性への影響、変化を確実に防止するため、受領、保護、保管及び処分又は返却に必要な手順を「試験品取扱標準作業書」に定める。(ガイドライン4.8(1))

留意事項（4.8 試料の取扱い）

ガイドライン 4.8(2)(3)及び「別添3 技術上の必要事項を満たすための各種管理の例 6. 試験品（試料）の取扱いの管理」の内容は、手順書に記載します。

4.9 測定のトレーサビリティ（ガイドライン 4.9）

測定のトレーサビリティは、「トレーサビリティに関する手順書」に定め、その手順書に記載する「トレーサビリティ体系図」に従って維持管理する。（ガイドライン 4.9(2)）

留意事項（4.9 測定のトレーサビリティ）

ガイドライン 4.9(2)(3)は、手順書に記載します。

4.10 測定の不確かさの推定と評価（ガイドライン 4.5（1）、4.10）

当所は、検査結果の品質を保証するため、測定の不確かさに関する手順を「測定の不確かさ評価に関する手順書」に定める。（ガイドライン 4.10(1)）

留意事項（4.10 測定の不確かさの推定と評価）

ガイドライン 4.10(2)(3)(4)(5)は、手順書に記載します。

4.11 分析結果の品質の保証（ガイドライン 4.11(1) (2)、(4) (3)の一部）

当所は、分析結果の品質を保証するため、検査の有効性及び分析結果について内部品質管理及び技能試験の品質管理行為をモニターする手順を「技能試験、内部品質管理に関する手順書」に以下の事項を含め定める。

- （1）品質管理データは、変化の傾向が検出できるよう記録し、解析には統計的手法を用いる。（ガイドライン 4.11(2)）
- （2）品質管理データは分析し、管理及び改善の両方に活用する。（ガイドライン 4.11(4)の一部）
- （3）モニターの結果について、変化の傾向、品質の問題を分析し、必要に応じて改善を図る。これらを踏まえ、モニターの対象、方法、計画は、マネジメントレビューで見直す。（ガイドライン 4.11(3)の一部）

留意事項（4.11 分析結果の品質の保証）

- ・ガイドライン 4.11(3)(4)は、手順書に記載します。
- ・参考資料：食品衛生に関連した検査等を実施する試験所における内部品質管理の一般ガイドライン（平成30年度厚生労働科学研究費補助金事業「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」報告書）

5. 結果の報告（ガイドライン 5. (1)の一部）

当所が実施した検査結果は、明瞭かつ客観的に正確な内容で報告するものとし、報告の手順は「検査報告書の発行に関する手順書」に定める。

留意事項（5.結果の報告）

ガイドライン 5.(1)の一部、(2)(3)(4)は、手順書に記載します。

6. 付録

付録 1

用語の定義

本品質マニュアルで使用する用語は、以下の通り定義する。

試験所：食品衛生法に基づく検査を実施する施設を運営する組織。

サンプリング：検査の対象となる同一とみなせる食品の集団(ロット等)から、当該ロット等を代表する試料を採取し、分析可能な状態に調製する行為。サンプリングプランとサンプリング手順に従う。

分析：調製された分析用試料から分析結果を得るための行為。実施内容や慣例により、試験と呼称される行為もまた、本マニュアルでは可能な範囲で分析と読み替える。

検査：試料をサンプリングし、サンプリングした試料を分析し、得られた分析結果を食品成分規格等の値と照らして適合若しくは不適合の判定を下すまでの一連の行為。

トップマネジメント：試験所若しくは、試験所が属する組織の最高責任者。試験所の活動に関する最高位の責任を負うもの。自治体等の食品衛生検査施設にあってはその長とすることが考えられる。

マネジメントシステム：試験所の活動に関して、試験所若しくは、試験所が属する組織の運営を統括する品質上、管理上及び技術上のマネジメントの連携により構築されるシステム(体系)。計画・実行・確認(評価)・改善からなる試験所の活動を根底で支えるもの。

モニタリング：試験所の様々な活動を記録とともに継続的に観察・巡視する行為。

レビュー：問題の発見や改善の必要性の判断を目的に行われる、試験所の様々な活動の定期的な見直し。

付録 2

活動方針

衛生研究所は、飲食に起因する衛生上の危害の発生を防止することにより県民の皆様の健康の保護を図るため、法令等に基づき次のとおり信頼性の高い検査を行います。

- 1 製造・流通・販売されている食品等が基準、規格に適合していることを確認するための検査を適正、公平に行います。
- 2 国際的な標準規格を基礎とした分析結果の品質保証に取り組むとともに、その取組みが常に適正であるように、継続的に見直しを行い改善します。
- 3 この活動方針は、全ての関係職員が理解を深めるよう周知します。

試験所長

留意事項（2.4 活動方針）

活動方針の例示は、予防に向けての取組みを明確にするため食品衛生法第1条の目的を抜粋し、具体的な取組みを適正、公平に行うこと、（マネジメントシステムにより）継続的改善を図ること、関係職員に周知すること、を盛り込んだものです。

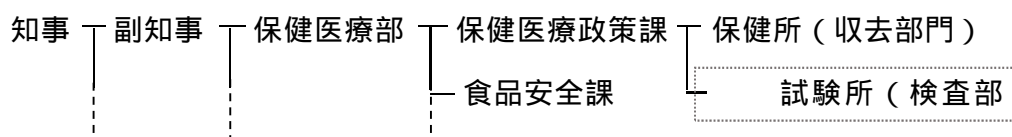
組織の状況に応じて修正してください。

付録 3

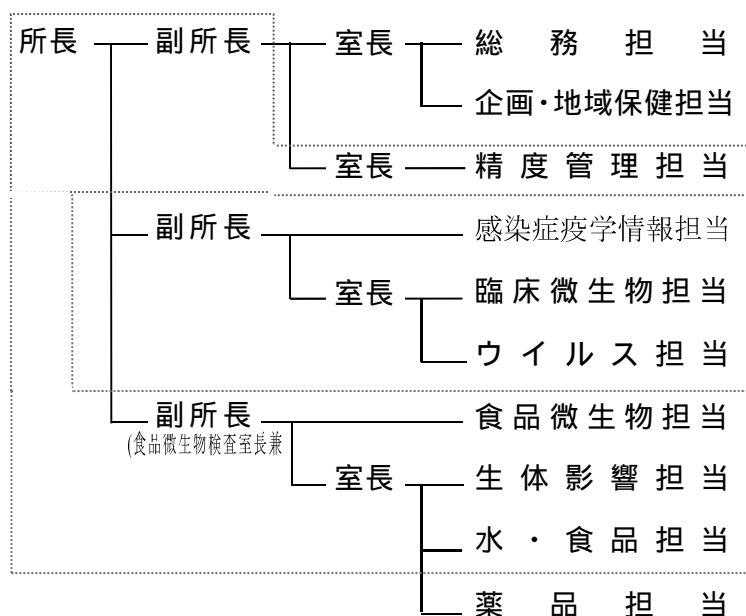
組織図及び事務分掌 (年 月 日現在)

 品質マニュアル対象組織

(1) 組織 (県全体図)



(2) 組織 (試験所)



(3) 事務分掌

1) 総務担当

予算・決算事務，物品の出納及び保管服務，給与，文書事務，福利厚生事務等

2) 企画・地域保健担当

年間実施計画及び実績の作成，保健所等の支援,研修，広聴・広報
地域保健に関する情報の解析

- 3) 精度管理担当
検査の信頼性確保業務
- 4) 感染症疫学情報担当
感染症疫学情報,健康に関する疫学的に関する解析・調査・研究
- 5) 臨床微生物担当
細菌感染症に関する試験検査・調査研究
- 6) ウイルス担当
ウイルス感染症に関する試験検査・調査研究
- 7) 食品微生物担当
食品の細菌学的試験検査・調査研究
- 8) 生体影響担当
放射能、衛生動物に関する試験検査・調査研究
- 9) 水・食品担当
食品中の化学物質に関する試験検査・調査研究
飲料水に関する試験検査・調査研究
- 10) 薬品担当
医薬品、毒劇物及び家庭用品等に関する試験検査・調査研究

留意事項

業務管理要領とマネジメントシステムの主な事項の比較は、図のとおりです

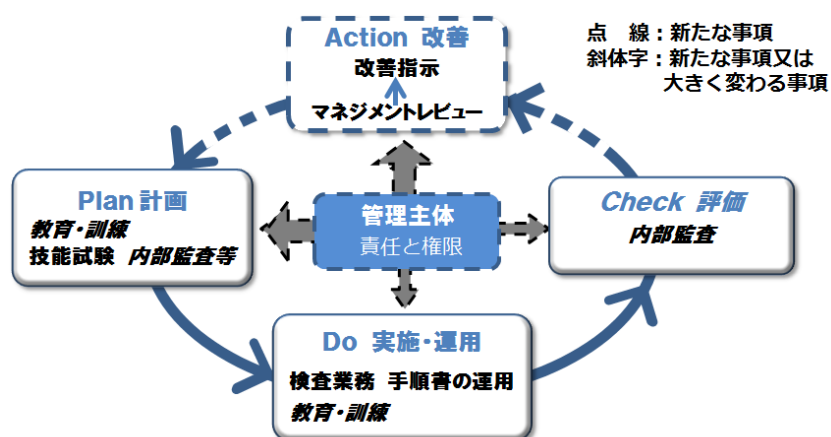
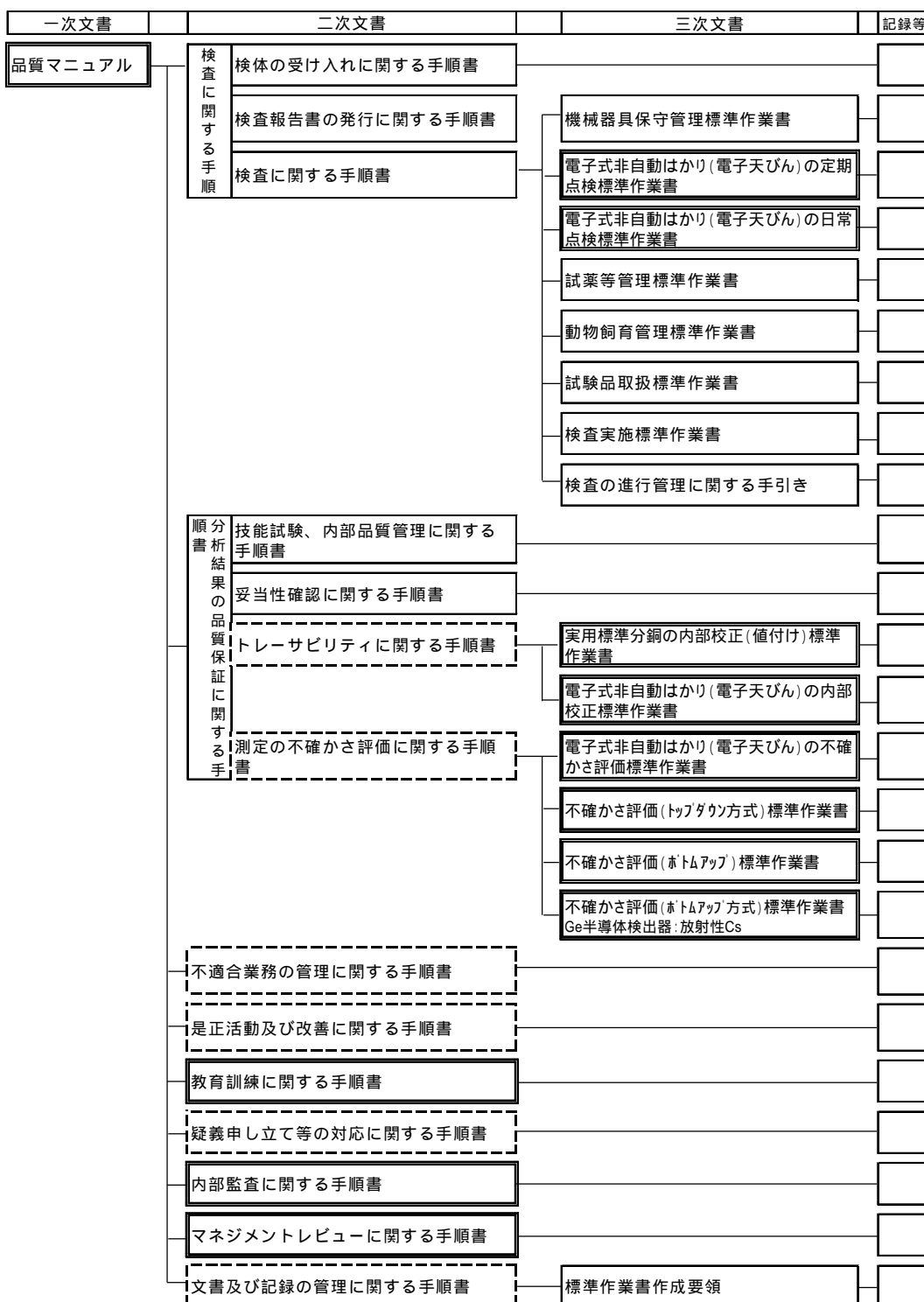


図 マネジメントシステムによる管理モデル

付録 4

文書体系図



- ・二重線：研究班で作成した文書
- ・一重線：現在、運用している文書
- ・点線：今後、整備が必要な文書(三次文書は記載した以外にも想定される。)

別添 3

例 示

教育訓練に関する手順書

制定日： 年 月 日
改訂日： 年 月 日

作成者： 年 月 日 印

確認者： 年 月 日 印

承認者： 年 月 日 印

制定・改訂の履歴

版数	改訂日	改訂内容	作成者	承認者
初版				
第2版				
第3版				
第4版				
第5版				
第6版				
第7版				
第8版				
第9版				
第10版				

目 次

- 1 目的
- 2 適用の範囲
- 3 責任者と役割
- 4 対象者
- 5 職務能力の要件
- 6 教育訓練の種類及び実施方法
 - (1) 新任者研修
 - (2) 継続研修
 - (3) 責任者研修
 - (4) 記録の管理
- 7 記録
- 8 付録

1 目的

本手順書は、**県** **所**（以下「当所」という。）の行う食品衛生法に基づく収去検査業務において、業務を担当する職員の力量を確保するため、教育訓練を計画的かつ適切に実施し、その状況を把握するために必要な手順を定めることを目的とする。

なお、本手順書は、品質マニュアルの4.1職員に基づく。

2 適用の範囲（ガイドライン3.1(2)、3.1.1(2)）

本手順書は、食品衛生法施行令第8条第3項の規定に基づき、食品等の成分規格、基準への適合を判定する検査部門及び信頼性確保部門に適用する。

留意事項（2 適用範囲）

- ・本手順の例示は、品質マニュアルで収去部門は別組織と仮定しています。
- ・トップマネジメントの下に収去部門も配置された組織の場合には、「検査部門及び監査部門の教育訓練」としてください。

3 責任者と役割

（1）**県** **所**長

県 **所**長（以下、「所長」という。）は、〇〇責任者を教育訓練の責任者として指名する。所長は、あらかじめ業務の範囲及び報告方法等を文書で定めて、教育訓練副責任者に業務の代行を指示することができる。

留意事項（3 責任者と役割（1））

ガイドライン3.1.2、3.1.3及び3.1.4ではマネジメントに関わる責任をもつ職員として、それぞれトップマネジメント、信頼性確保部門責任者及び検査部門責任者を規定しています。さらに、ガイドライン4.1 要員(1)では、「マネジメントに関わる責任者は、（中略）全ての要員にその力量があることを確実にする。」としていることから、この規定に関する権限と責任を持つ者を教育訓練責任者とし、上記の三者又は、別の管理職員のいずれかを教育訓練責任者とするようなことが考えられます。

（2）教育訓練責任者の役割

教育訓練責任者は、試験検査部門責任者及び信頼性確保部門責任者（以下、「各部門責任者」という。）に、教育訓練について、計画の作成、計画に基づく

実施、実施後の評価及び報告を行わせる。また、各部門責任者が作成する文書を確認し、承認する。

(3) 信頼性確保部門責任者の役割 (ガイドライン4.1(1) (2))

信頼性確保部門責任者は、信頼性確保部門の職員の教育訓練について、計画の作成、計画に基づく実施、実施後の評価及び報告を行う。

信頼性確保部門責任者は、内部監査のために、必要な研修を修了したと認められる職員又は同等の経験、知識があると認められる者にその権限を与える。

(4) 検査部門責任者の役割 (ガイドライン4.1(1)(2)(5))

試験検査部門責任者は、検査部門の職員の教育訓練について、計画の作成、計画に基づく実施、実施後の評価及び報告を行う。

検査部門責任者は、検査の実施、検査報告書の発行、意見及び解釈の提供並びに特定の設備の操作のために、必要な研修を修了したと認められる職員又は同等の経験、知識があると認められる者にその権限を与える。

(5) 検査区分責任者の役割

検査区分責任者は、検査報告書の内容に関する意見及び解釈を行うための教育や訓練を受け、経験及び十分な知識を備えている者とする。(ガイドライン4.1(6))

教育や訓練の途中にある職員が業務を実施する場合には、適切に監督する。

(ガイドライン4.1 (4))

4 対象者

教育及び訓練の対象者は、設備の操作、検査の実施、検査結果の評価及び検査報告書への署名を行う者、信頼性確保業務を行う者及び契約等による職員等検査に係る全ての職員とする。(ガイドライン4.1(1)(3))

5 職務能力の要件

必要な力量を確保するため、職務の遂行に必要な能力の要件等については、「表1 職務能力要件等」に示す。

表1 職務能力要件等

職務	資格要件	指名者	承認者
----	------	-----	-----

教育訓練責任者	<ol style="list-style-type: none"> 1 当所の職員で、管理監督者の職にあること。 2 検査又は食品監視員の経験、知識を有すること。 3 ガイドライン、ISO/IEC 17025 の要求事項及びマネジメントシステムに関して、専門機関又は内部の研修を受けた者であること。 	所長	所長
教育訓練副責任者	<ol style="list-style-type: none"> 1 当所の職員であること。 2 検査又は食品監視員の経験、知識を有すること。 3 ガイドライン、ISO/IEC 17025 の要求事項及びマネジメントシステムに関して、専門機関又は内部の研修を受けた者であること。 	所長	所長
信頼性確保部門責任者	<ol style="list-style-type: none"> 1 当所の職員で、管理監督者の職にあること。 2 検査又は食品監視員の経験、知識を有すること。 3 ガイドライン、ISO/IEC 17025 の要求事項及びマネジメントシステムに関して、専門機関又は内部の研修を受けた者であること。 4 内部監査員の養成に関する専門機関又は内部の研修を受けた者であること。 	所長	所長
信頼性確保部門責任者代理	<ol style="list-style-type: none"> 1 当所の職員であること。 2 検査又は食品監視員の経験、知識を有すること。 3 ガイドライン、ISO/IEC 17025 の要求事項及びマネジメントシステムに関して、専門機関又は内部の研修を受けた者であること。 4 内部監査員の養成に関する専門機関又は内部の研修を受けた者であること。 	所長	所長
検査部門責任者	<ol style="list-style-type: none"> 1 当所の職員で、管理監督者の職にあること。 2 検査の経験、知識を有すること。 3 ガイドライン、ISO/IEC 17025 の要求事項に関して、専門機関又は内部の研修を受けた者であること。 	所長	所長
検査部門責任者代理	<ol style="list-style-type: none"> 1 当所の職員であること。 2 検査の経験、知識を有すること。 3 ISO/IEC 17025 の要求事項に関して、内部の研修を受けた者であること。 	所長	所長
検査区分責任者	<ol style="list-style-type: none"> 1 当所の職員であること。 2 検査の経験、知識を有すること。 3 ガイドライン、ISO/IEC 17025 の要求事項に関して、内部の研修を受けた者であること。 	所長	所長
検査区分責任者代理	<ol style="list-style-type: none"> 1 当所の職員であること。 2 検査の経験、知識を有すること。 3 ガイドライン、ISO/IEC 17025 の要求事項に関して、内部の研修を受けた者であること。 	所長	所長

内部監査員	1 当所の職員であること。 2 ガイドライン、ISO/IEC 17025 の要求事項及びマネジメントシステムに関して、専門機関又は内部の研修を受けた者であること。 3 内部監査員の養成に関する専門機関又は内部の研修を受けた者であること。	信頼性確保部門責任者	所長
検査員	1 当所に配置されている者であること。 2 薬剤師、獣医師又は同等以上の能力があると認められる者であること。 3 必要な教育訓練を修了した者であること。	検査部門責任者	所長
文書管理責任者	1 当所の職員であること。 2 ガイドライン、ISO/IEC 17025 の要求事項及びマネジメントシステムに関して、内部の研修を受けた者であること。	信頼性確保部門責任者又は検査部門責任者	所長

留意事項（ 5 職務能力の要件）

- ・教育訓練責任者や文書管理責任者等、一人の責任者が複数の責任者の役割を兼務することも考えられます。

6 教育訓練の種類及び実施方法

教育訓練の実施方法は、次のとおり行うものとする。

なお、契約等による職員についても、本規定を全て適用する。(ガイドライン 4.1(3))

(1) 新任者研修

1) 対象者

新任者研修の対象者は、新たに試験検査部門及び信頼性確保部門（以下「各部門」という。）の担当者になった職員及び各部門責任者が受講を必要と認めた職員とする。

2) 内容等

検査部門の研修の内容は、付録 1 のプログラム等を基に、必要に応じ実施する。

信頼性確保部門の研修の内容は、付録2のプログラム等を基に、必要に応じ実施する。

なお、いずれの部門も外部の研修会等への参加によって替えることができる。

3) 計画

各部門責任者は、年度当初に年間計画を新任者研修実施計画・結果報告書(様式1)により作成し、教育訓練責任者の承認を受ける。

4) 報告及び評価

所内で実施した座学や実技訓練等については、実施者又は受講者が教育訓練実施報告書(様式2)により部門責任者に報告する。

所外の研修については、受講者が復命書兼教育訓練受講記録書(様式3)により部門責任者に報告する。

報告を受けた部門責任者は、研修の評価を「効果あり」又は「再教育の必要あり」のいずれかにより行い、教育訓練責任者が確認する。

5) 実施結果報告及び習熟度評価

各部門責任者は、新任者研修の結果及び習熟度を新任者研修実施計画・結果報告書(様式1)に記録する。なお習熟度の評価方法は、下記のとおりとする。

各部門責任者は、新任者研修実施計画・結果報告書について教育訓練責任者の確認、承認を受け、所長に報告する。

各部門責任者は、習熟度の評価に基づき検査員としての資格があるか判断する。(ガイドライン4.1(2))

なお、レベル1と判断された場合又は教育、訓練中の技術職員が業務を実施する場合には、検査部門にあっては検査区分責任者が、信頼性確保部門にあっては信頼性確保部門責任者が適切に監督する。(ガイドライン4.1(4))

< 習熟度の評価 >

レベル1：監督下で実施できる。

レベル2：一人で実施できる。

レベル3：指導ができる。

(2) 継続研修

1) 対象者

継続研修の対象者は、各部門の当該業務に従事する全ての職員とする。

2) 内容等

継続研修の内容は、知識、技能を習得するものとし、所内研修、外部研修及び学会参加等により行うものとする。

3) 計画

検査部門責任者は、年度当初に継続研修の年間計画を継続研修実施計画・結果報告書(様式4)により作成し、教育訓練責任者の承認を受ける。

4) 報告及び評価

所内で実施した座学や実技訓練等については、実施者又は受講者が教育訓練実施報告書(様式2)により部門責任者に報告する。

所外の研修については、受講者が復命書兼教育訓練受講記録書(様式3)により部門責任者に報告する。

報告を受けた部門責任者は、研修の評価を「効果あり」又は「再教育の必要あり」

のいずれかにより行い、教育訓練責任者が確認する。

5) 実施結果報告

各部門責任者は、継続研修の結果を年1回継続研修実施計画・結果報告書(様式4)により作成し、教育訓練責任者の確認を受けた後、所長に報告する。

(3) 責任者研修

1) 対象者

責任者研修の対象者は、所長及び各部門責任者とする。

2) 内容等

責任者研修の内容は知識等を習得するものとし、所内研修、外部研修及び学会参加等により行うものとする。

3) 実施方法

責任者研修は、教育訓練責任者が必要に応じ研修機会を設定するものとする。教育訓練責任者はその結果を個人別教育訓練履歴書(様式5)に記録する。

(4) 記録の管理

1) 個人別履歴の作成

検査区分責任者は検査員の記録について、教育訓練の履歴、資格・認定状況を個人別教育訓練履歴書に記録する。

2) 記録の保管

教育訓練責任者は、「文書及び記録の管理に関する手順書」に従い、教育訓練に関する記録をその職員が 県に在職する期間、保管する。

7 記録(例示なし)

様式1 新任者研修実施計画・結果報告書

様式2 教育訓練実施報告書

- 様式3 復命書兼教育訓練受講記録書
 様式4 継続研修実施計画・結果報告書
 様式5 個人別教育訓練履歴書

8 付録

付録1

教育訓練プログラム:化学検査

No.	項目
1	関係法令
(1)	食品衛生法・食品表示法 全般
(2)	食品衛生法 規格基準等
(3)	検査の業務管理(品質マニュアル等)の理解
(4)	検査された食品の生産や製造に関する知識
(5)	検査された食品の消費並びに消費されるまでの取扱いに関する知識
(6)	検査された食品の消費に関連して見られる規格、基準に不適合となることの理解
2	器具、薬品等の取扱い
(1)	化学薬品の取扱い
(2)	危険物の取扱い
(3)	ガス及びガスボンベの取扱い
(4)	各種廃棄物の取扱い
3	試験品の取扱い
4	各種機器の取扱い
	天秤、ドラフト、クリーンベンチ、オートクレーブ、ピペット、冷凍冷蔵庫、遠心分離機、ホモジナイザー、エバポレーター、超音波洗浄機等
5	各種分析機器の取扱い(HPLC、GC、LC-MS/MS、GC-MS/MS、)
6	検査法
(1)	食品添加物検査各項目(検査実施標準作業書の理解と習得:前処理、測定、解析等)
(2)	残留農薬各検査項目(検査実施標準作業書の理解と習得:前処理、測定、解析等)
(3)	動物用医薬品各検査項目(検査実施標準作業書の理解と習得:前処理、測定、解析等)
(4)	重金属各検査項目(検査実施標準作業書の理解と習得:前処理、測定、解析等)

(5)	特定原材料各検査項目(検査実施標準作業書の理解と習得:前処理、測定、解析等)
(6)	遺伝子組換え食品各検査項目(検査実施標準作業書の理解と習得:前処理、測定、解析等)
(7)	容器包装各検査項目(検査実施標準作業書の理解と習得:前処理、測定、解析等)

留意事項(別添)

教育訓練プログラムは、参考として化学検査のみ掲載しました。

付録2 教育訓練プログラム:信頼性確保部門(例示なし)

別添 4

例 示

マネジメントレビューに関する手順書

制定日： 年 月 日
改訂日： 年 月 日

作成者： 年 月 日 印

確認者： 年 月 日 印

承認者： 年 月 日 印

文書改訂の履歴

版数	改訂日	改訂定内容	作成者	承認者
初版				
第2版				
第3版				
第4版				
第5版				
第6版				
第7版				
第8版				
第9版				
第10版				

目 次

- 1 目的
- 2 適用範囲
- 3 用語の説明
- 4 責任体制
- 5 実施回数等
- 6 構成員
- 7 検討事項
- 8 実施手順
- 9 記録

1 目的（ガイドライン 3.6）

本手順書は、 県 所（以下「当所」という）のマネジメントシステム及び検査業務が継続して有効に運用されていることをトップマネジメント（以下「所長」という。）が確実に実施し、必要な改善や変更を行うため、マネジメントレビューの実施方法を定めることを目的とする。

なお、本手順書は、品質マニュアルから引用される。

留意事項（1 目的）

- ・マネジメントレビューは、トップマネジメント（所長）が決めた方針に関する全てのマネジメントシステム及び活動を対象として、その有効性及び改善の必要性の視点から見直しを行い、継続的な改善を行うものです。

2 適用範囲（ガイドライン 3.1(2)、3.1.1(2)）

- (1) この手順書は、当所において、食品衛生法施行令第 8 条第 3 項の規定に基づき、食品等の成分規格、基準への適合を判定する検査に関するマネジメントレビューに適用する。

留意事項（2 適用範囲）

- ・本手順の例示は、品質マニュアルの適用範囲で収去部門は別組織と仮定していません。
- ・トップマネジメントの下に収去部門も配置された組織の場合には、「検査部門及び監査部門のマネジメントレビュー」とすることも考えられます。

3 用語の説明

適切性：マネジメントシステムが組織の目標と合致した状態かという視点

有効性：計画した活動が実行され、計画した結果が達成された程度という視点

妥当性：要求事項が満たされているかという視点

4 責任体制（ガイドライン 3.1.2(5)）

所長は、マネジメントレビューによる検討結果、指示事項及び改善結果に対して責任をもつ。

所長は、マネジメントレビューの事務を行う責任者として を指名する。

留意事項（４ 責任体制）

- ・マネジメントレビューは、トップマネジメント（所長）自身が行わなければなりません。
- ・実施形式は、意見交換、意思統一などを考慮すれば会議体が望ましいと言えます。

5 実施回数等

当所におけるマネジメントレビューは、年1回以上、定期的を実施する。
なお、所長が必要と認める場合には、臨時に開催することができる。

留意事項（５ 実施回数等）

マネジメントレビューの頻度、実施時期は、あらかじめ定めておく必要があり、年1回は必要です。実施項目等により複数回に分けて実施することも考えられます。

6 構成員

マネジメントレビューの構成員は、所長、教育訓練責任者、信頼性確保部門責任者及び検査部門責任者とし、必要に応じ所長が指名する。

留意事項（６ 構成員）

マネジメントレビューの構成員は、組織の実態に見合った効果的なものとします。

7 検討事項（ガイドライン3.1.2(5)）

マネジメントレビューでは、次の事項を考慮、検討する。

- (1) 活動方針、品質マニュアル及び手順書の適切さ
- (2) 最近の内部監査の結果
- (3) 内部品質管理、技能試験及び試験所間比較の結果
- (4) 苦情、検査結果に伴う法的措置の有無（及びその影響の大きさ）
- (5) 検査（及びそれに伴う業務）の量、種類の変化及び業務活動範囲の変化
- (6) 資源（人的、設備・機器、予算）の適切性
- (7) 検査依頼者、本庁及び職員の提案等フィードバック
- (8) 実施した是正処置と改善の有効性
- (9) 外部機関による監査結果及びそのフォローアップ措置（実施されている場合のみ）
- (10) 当所に関連する内部及び外部の課題の変化

- (11) 行動計画の達成状況
- (12) 前回のマネジメントレビューの結果に対して行った処置の状況
- (13) マネジメントシステムの有効性に影響する潜在的な原因の特定結果
- (14) 活動の記録の状況（モニタリング）、教育訓練等の関連因子
- (15) 結果の妥当性の保証の成果
- (16) その他、当所の運営に必要な事項

8 実施手順

(1) 計画

所長が指名した事務を行う責任者は、マネジメントレビューの日程を決め、計画的に事務を実施する。

(2) 検討事項の取りまとめ

信頼性確保部門責任者及び検査部門責任者は検討事項をまとめ、所長が指名した事務を行う責任者に提出する。

留意事項（8 実施手順(1)）

- ・マネジメントレビューの対象期間は、途切れることのないよう実施してください。
例) 前回の対象期間：平成 29 年 1 月 1 日～平成 29 年 12 月 31 日の場合、
次の対象期間：平成 30 年 1 月 1 日～平成 30 年 12 月 31 日
- ・「所長が指名した事務を行う責任者」は、 とあらかじめ決めて記載しても良いと思います。

(3) 所長への報告

事務を行う責任者は、信頼性確保部門及び検査部門の検討事項を取りまとめ、所長に報告する。

(4) 改善等の指示

所長は、各部門からの報告に基づきレビューを行い、マネジメントシステムの有効性、職員、施設・設備、システム及び支援サービスなどの資源や検査に関連する活動の改善や変更の必要性について改善及び行動計画（品質マニュアル 2.5 で規定）の作成、実施を指示する。

(5) 記録

事務を行う責任者は、指示事項を含むマネジメントレビューの結果を記録にまとめ、所長に提出する。

9 記録

様式 (省略)

留意事項

- ・ マネジメントレビューは、変更と改善のために行います。
- ・ 行動計画どおりにいかなかった（有効性）原因をチェックする機能が働いていることが大切であり、原因を究明し、次年度どのように改善するかを検討します。（計画と実施状況の見直し）
- ・ 各部門や各検査グループで対応できることは、日々改善されていると考えられるため、トップマネジメントは組織等全体に及び、かつ水平展開できるシステムの改善を指示することが大切です。
- ・ マネジメントレビューの実施時期については、そのレビューの結果が次年度に生かせるよう十分に検討・準備期間が確保できる時期に実施することが望ましいと考えます。年度末にその年度分を実施するのではなく、12月や1月等に実施することが考えられます。
- ・ マネジメントレビューは規模が小さい試験所ならば全員参加による実施も考えられます。
- ・ 多くの情報をマネジメントレビューのインプット情報（検討事項）としてとりあげることによって、より有効なマネジメントレビューが実施され、実態に合った改善が図られるものと思います。
- ・ 信頼性確保部門がマネジメントレビューの事務を行うという実施形態も一つの方法であると考えます。

別添 5

例 示

内部監査に関する手順書

制定日： 年 月 日

改訂日： 年 月 日

作成者： 年 月 日 印

確認者： 年 月 日 印

承認者： 年 月 日 印

文書改訂の履歴

版数	改訂日	改訂内容	作成者	承認者
初版				
第 2 版				
第 3 版				
第 4 版				
第 5 版				
第 6 版				
第 7 版				
第 8 版				
第 9 版				
第 10 版				

目 次

- 1 目的
- 2 適用範囲
- 3 責任者と役割
- 4 内部監査員の要件
- 5 実施頻度
- 6 内容
- 7 実施手順
- 8 記録の保管
- 9 記録

1 目的 (ガイドライン 3.4(1))

本手順書は、**県** **所** (以下「当所」という。)が構築したマネジメントシステムに沿って検査業務が運営されていることを内部監査により検証するため、その手順を定めることを目的とする。

なお、本手順書は、品質マニュアル「3.5 内部監査」から引用される。

留意事項 (1 目的)

「監査」については、次の定義があります。

- ・監査 (audit) の定義：監査基準が満たされている程度を判定するために、客観的証拠を収集し、それを客観的に評価するための体系的で、独立し、文書化したプロセス。(ISO 9000 3.13.1)

2 適用範囲 (ガイドライン 3.1(2)、3.1.1(2))

この手順書は、当所において、食品衛生法施行令第 8 条第 3 項の規定に基づき、食品等の成分規格、基準への適合を判定する検査の内部監査に適用する。

留意事項 (2 適用範囲)

- ・本手順の例示は、品質マニュアルの適用範囲で収去部門は別組織と仮定しています。
- ・トップマネジメントの下に収去部門も配置された組織の場合には、「検査部門及び監査部門の内部監査」とすることも考えられます。

3 責任者と役割 (ガイドライン 3.4(2))

(1) 所長

県 **所** 所長 (以下、「所長」という。)は、信頼性確保部門責任者を内部監査の責任者とし、内部監査に関する業務を行わせる。

(2) 信頼性確保部門責任者

信頼性確保部門責任者は、内部監査の責任者として次の業務を行う。

- 1) 内部監査員の育成
- 2) 内部監査の計画及び実施
- 3) 内部監査結果の所長への報告
- 4) 信頼性確保部門による内部監査に関する事務の実施

留意事項（ 3 責任者と役割（ 2 ）信頼性確保部門責任者）

- ・信頼性確保部門責任者は自らが内部監査員となり、また、内部監査員のリーダーとして内部監査業務を行うことを想定しています。

4 内部監査員の要件（ガイドライン 3.4(2)）

内部監査の実施者は、監査の対象となる検査から独立し、かつ次の職能を有するものとする。

- （ 1 ） 当所の職員であること。
- （ 2 ） ガイドライン、ISO/IEC 17025 の要求事項及びマネジメントシステムに関して、専門機関又は内部の研修を受けた者であること。
- （ 3 ） 内部監査員の養成に関する専門機関又は内部の研修を受けた者であること。

5 実施頻度（ガイドライン 3.4(1)(5)、3.5(6)）

定期的な内部監査は、原則 1 年に 1 回とし、実施時期は信頼性確保部門責任者が定める。臨時の内部監査は、問題が大きく是正の効果を速やかに確認する必要があると信頼性確保部門責任者が判断した場合に実施する。

6 内容（ガイドライン 3.4(1)）

内部監査の内容は、全てのマネジメントシステムの運営状況を対象に検証するものとし、チェックリスト（様式 1）に基づき確認を行う。

7 実施手順

（ 1 ）実施計画（ガイドライン 3.4(1)）

信頼性確保部門責任者は、日程、内部監査員、実施範囲、監査対象及びこれまでの内部監査の結果等を考慮し内部監査計画兼通知書（様式 2）を作成する。

（ 2 ）実施、結果の記録及び通知（ガイドライン 3.4(2)(3)）

- 1) 信頼性確保部門責任者は、定期的な内部監査について内部監査計画兼通知書により検査部門責任者に通知し、実施する。
- 2) 内部監査員は内部監査を実施し、その結果を内部監査結果報告書兼是正措置要求書（様式 3）に記録する。
なお、改善が必要な事項については指摘事項欄に記載する。
- 3) 信頼性確保部門責任者は内部監査の結果を、被監査部門と相互に確認の上、内部監査結果報告書兼是正措置要求書により通知する。

(3) 是正措置等 (ガイドライン 3.4(4))

- 1) 信頼性確保部門責任者は、不適合事項については、内部監査結果報告書兼是正措置要求書を用いて、検査部門責任者に是正措置を要請する。
なお、改善を推奨する事項については、概ね適合とする。
- 2) 検査部門責任者は、是正措置の要請があった場合は、適切な措置を講ずるとともに、是正措置計画書(様式4)又は報告書により信頼性確保部門責任者に報告する。
- 3) 信頼性確保部門責任者は、講じた是正措置の内容を確認し、必要に応じて内部監査により是正措置の状況を確認し、記録する。
- 4) 信頼性確保部門責任者は、内部監査結果報告書兼是正措置要求書(様式4)により、所長に内部監査の結果を報告する。

8 記録の保管 (ガイドライン 3.4(4))

本手順書に関する記録は、「文書及び記録の管理に関する手順書」に従い、定められた期間、適切に保管する。

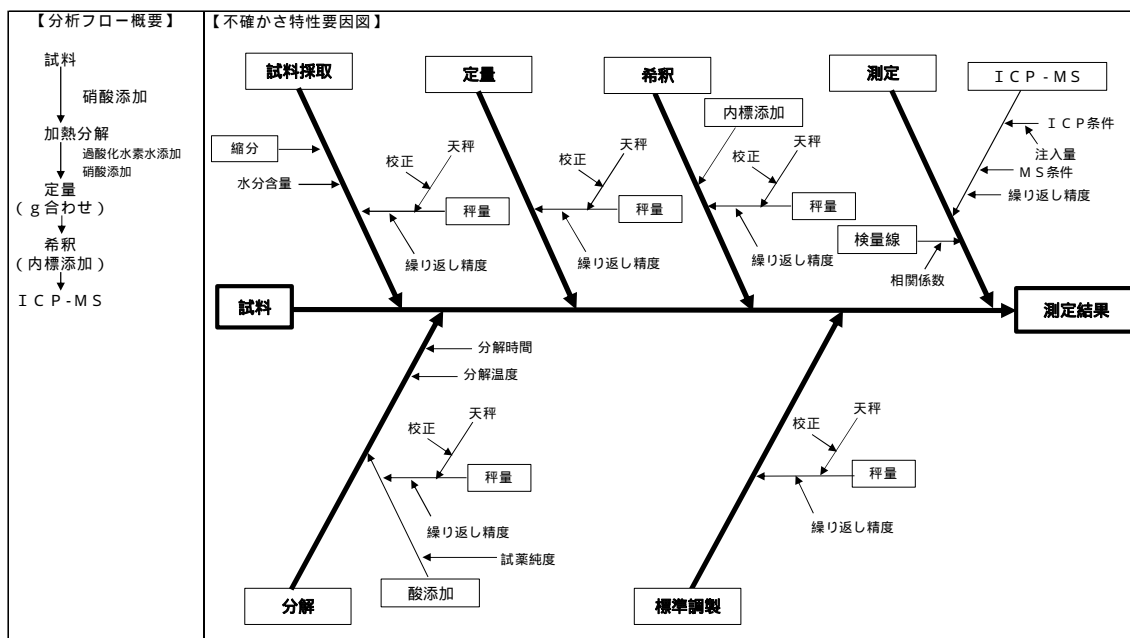
9 記録 (例示なし)

- 様式 1 チェックリスト
- 様式 2 内部監査計画兼通知書
- 様式 3 内部監査結果報告書兼是正措置要求書
- 様式 4 是正措置計画書

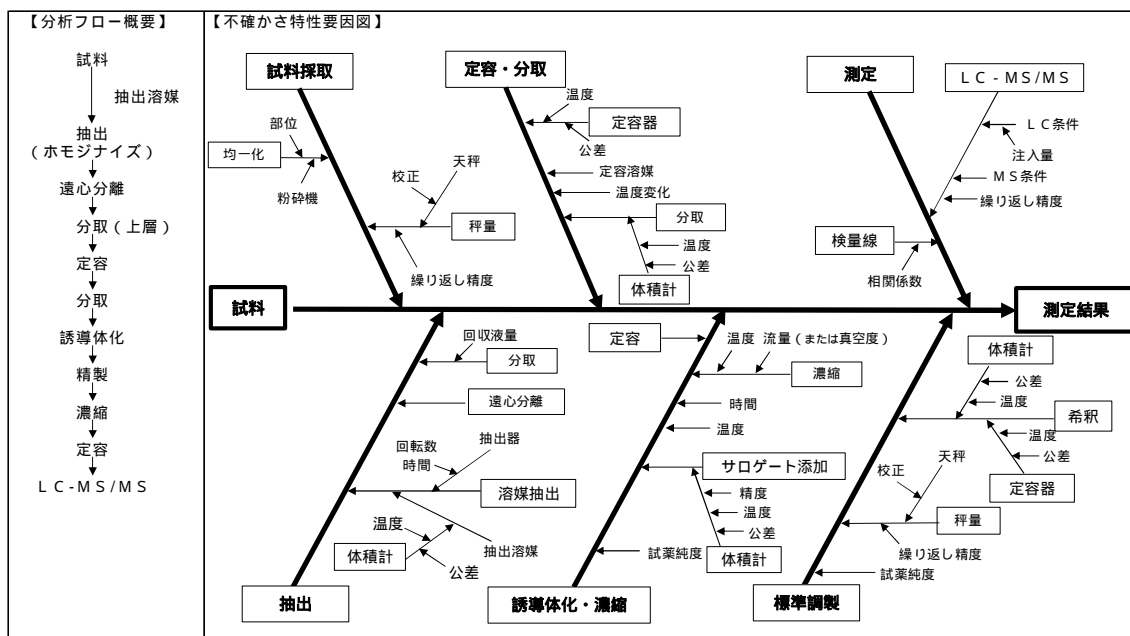
留意事項

- ・適合あるいは不適合の判断のみの内部監査では、内容の確認が不十分であり、システムが実際どのように動いているかを確認することが大切であると考えます。
- ・頻度高く起こることは手順書に盛り込む必要がありますが、全てのイレギュラーに起こりうる事象に対応する手順を手順書に盛り込むことは困難と考えられ、手順書の理解度をチェックすることが内部監査では必要であると考えます。
- ・不適合業務を責めないマネジメントシステムの構築が必要であり、速やかにかつ常に、情報がトップマネジメントまで上がることが重要と思われれます。

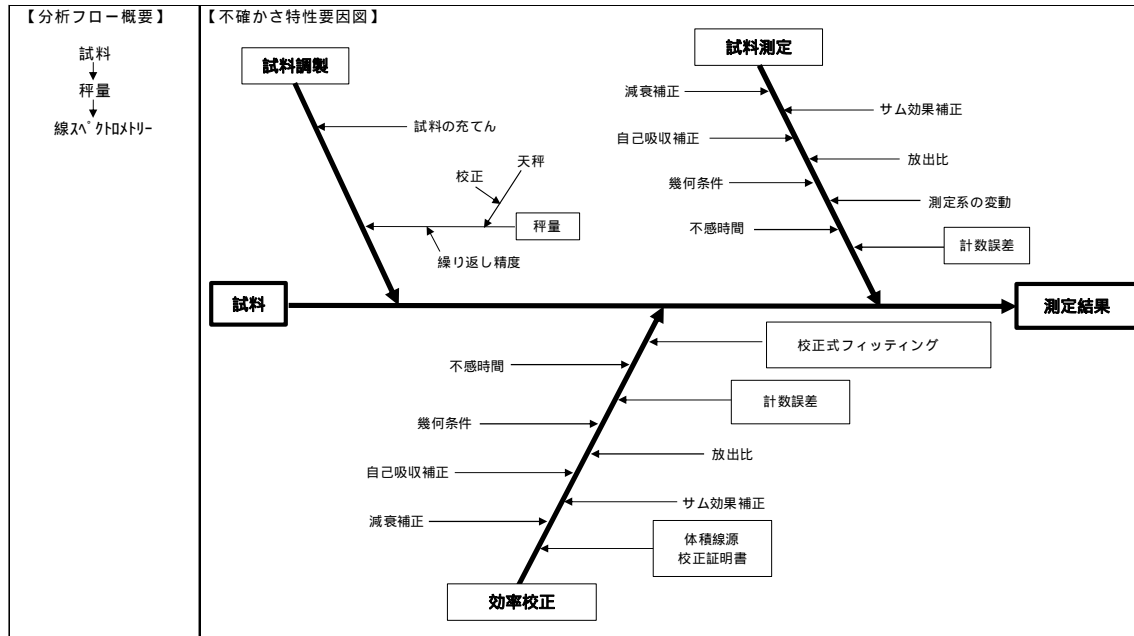
モデル : カドミウム検査



モデル : フラソリドン代謝物検査



モデル：放射性セシウム検査



- 1.牛乳等をマリネリ容器(2L)の標線まで入れる。
- 2.マリネリ容器に入れた牛乳の重量を量る。
- 3.マリネリ容器をビニール袋で覆い、ゲルマニウム半導体検出器で測定する。

別添 7

例 示

不確かさ評価標準作業書 (トップダウン方式)

妥当性評価データを用いた不確かさ評価

留意事項

この不確かさ評価標準作業書は、妥当性評価ガイドラインに基づき算出したデータからトップダウン方式で不確かさを評価する手順を例示したものです。

妥当性評価データによる方法以外のトップダウン方式による不確かさ評価は、「測定の不確かさに関するガイドライン」(Codex 委員会：CAC/GL 54-2004)及び「分析結果の不確かさの推定に関するガイドライン」(Codex 委員会：CAC/GL 59-2006)等を参考にしてください。

制定日： 年 月 日

改訂日： 年 月 日

作成者： 年 月 日 印

確認者： 年 月 日 印

承認者： 年 月 日 印

文書改訂の履歴

版数	改訂日	改訂内容	作成者	承認者
初版				
第2版				
第3版				
第4版				
第5版				
第6版				
第7版				
第8版				
第9版				
第10版				

目 次

- 1 目的
- 2 適用範囲
- 3 評価方法の概要
- 4 検査方法
- 5 算出手順
- 6 引用文書
- 7 記録

1 目的

本標準作業書は、トップダウン方式による不確かさの評価方法について定め、分析結果の品質の保証等において利用することを目的とする。

2 適用範囲

以下の理由により、ボトムアップ方式による不確かさの評価が不可能な検査に適用する。

- (1) 試料マトリクスの種類が多様であるため、不確かさの要因の評価が不可能な場合。
- (2) 検査の工程が複雑なため、不確かさ特性要因図（フィッシュボーンダイアグラム）が複雑で多岐に枝分かれし、要因を独立して評価することが困難な場合。

なお、分析フロー概要及び不確かさ特定要因図は様式 1 に記録すること。

3 評価方法の概要

食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン（平成 22 年 12 月 24 日付け食安発第 1224 第 1 号）及び食品中の有害物質等に関する分析法の妥当性確認ガイドライン（平成 26 年 12 月 22 日付け食安発第 7 号）（以下、妥当性評価ガイドライン）に基づき算出したデータを基に、不確かさを評価する。

妥当性評価ガイドラインでは、「試験のくり返し回数は、自由度が 4 以上となるように」としているため、分散分析を用いる。「自由度 4 以上の要求」を満たす実験として、下記の例が挙げられる。

- (1) 2 併行 ($N=2$) 2 名が 3 日間又は 3 名が 2 日間 ($J=6$) 実施する。
- (2) 2 併行 ($N=2$) 1 名が 5 日間又は 5 名が 1 日間 ($J=5$) 実施する。

分散分析は、日間の差を見る統計学的手法である。つまり、本標準作業書では、分散分析により、各実施者及び実施日のばらつきを評価する。

注) 分散分析は、市販の統計ソフトや表作成ソフトのツールを用いて容易に行えるが、使用するソフトによって分散分析の各用語が本作業書で用いている各用語と異なる場合があるので留意すること。

(平方和 変動、 日間 グループ間、室内、 併行 グループ内 等)

4 検査方法

各検査実施標準作業書に従う。

検査に使用した試薬及び機器、検査結果については、様式 2 及び様式 3 に記録

すること。

なお、様式 3 における「理論値」とは、承認された標準値（添加する濃度、認証標準物質に付与された認証値等）を指す。

5 算出手順

下記手順に基づき不確かさを評価する。評価結果については、様式 4 に記録すること。

(1) 併行及び日間の自由度を求める。

$$\text{併行の自由度} = J(N - 1)$$

$$\text{日間の自由度} = J - 1$$

(2) 各併行の平均値 \bar{x}_j 及び全体の平均値 \bar{x} を求める。

(3) 併行精度 σ_r を求める

1) 各測定値 x_{jn} と各併行の平均値 \bar{x}_j の残差を求める

$$\text{各測定値 } x_{jn} \text{ と各併行の平均値 } \bar{x}_j \text{ の残差} = x_{jn} - \bar{x}_j$$

2) 各測定値 x_{jn} と各併行の平均値 \bar{x}_j の残差の平方（二乗）及び平方和（各平方の総和）を求める。

$$\text{各測定値 } x_{jn} \text{ と各併行の平均値 } \bar{x}_j \text{ の残差の平方} = (x_{jn} - \bar{x}_j)^2$$

$$\text{平方和} = \sum_j \sum_n (x_{jn} - \bar{x}_j)^2$$

3) 併行の分散 V_r （平方和を併行の自由度で除した値）及び標準偏差すなわち併行精度 σ_r を求める。

$$V_r = \frac{\sum_j \sum_n (x_{jn} - \bar{x}_j)^2}{J(N-1)}$$

$$\sigma_r = \sqrt{V_r}$$

(4) 日間の分散 V_{RW} を求める。

1) 各併行の平均値 \bar{x}_j と全体の平均値 \bar{x} の残差を求める

$$\text{各併行の平均値 } \bar{x}_j \text{ と全体の平均値 } \bar{x} \text{ の残差} = \bar{x}_j - \bar{x}$$

2) 各併行の平均値 \bar{x}_j と全体の平均値 \bar{x} の残差の平方（二乗）及び平方和（各平方の総和）を求める。

$$\text{各併行の平均値 } \bar{x}_j \text{ と全体の平均値 } \bar{x} \text{ の残差の平方} = (\bar{x}_j - \bar{x})^2$$

$$\text{平方和} = \sum_j \sum_n (\bar{x}_j - \bar{x})^2$$

3) 日間の分散 V_{RW} (平方和を日間の自由度で除した値) を求める

$$V_{RW} = \frac{\sum_j \sum_n (\bar{x}_j - \bar{x})^2}{J-1}$$

(5) 不確かさ U を求める。

1) 母平均の分散 σ_d^2 を求める。

$$\sigma_d^2 = (V_{RW} - V_r) / N$$

2) 併行精度 σ_r と母平均の分散 σ_d^2 を合成し、室内精度すなわち標準不確かさ u を求める。

$$u = \sqrt{(\sigma_r^2 + \sigma_d^2)}$$

3) 包含係数 k を乗じ、拡張不確かさ U を求める。

$$U = u \times k \quad (k=2)$$

6 引用文書

「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」(平成 22 年 12 月 24 日付け食安発第 1224 第 1 号)

「食品中の有害物質等に関する分析法の妥当性確認ガイドライン」(平成 26 年 12 月 22 日付け食安発第 7 号)

「分析・測定データの統計処理 分析化学データの扱い方」([著]田中秀幸、[協力]高津章子：朝倉書店)

7 記録

様式 1 分析フロー概要及び不確かさ特性要因図の記録

様式 2 使用試薬及び機器の記録

様式 3 検査結果の記録

様式 4 不確かさ評価のための算出手順の記録

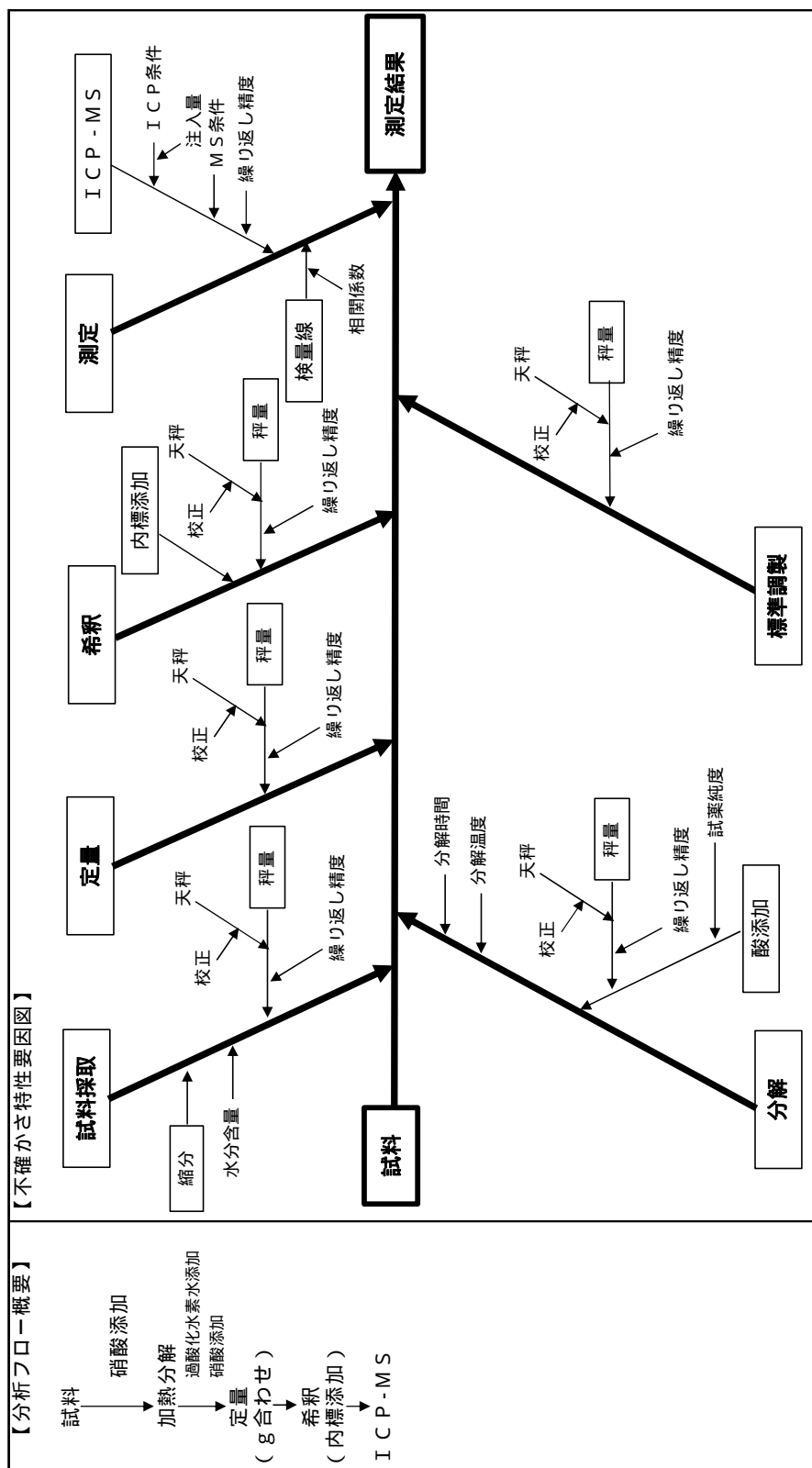
< 記載例 1 玄米中のカドミウム分析 >

様式1 分析フロー概要及び不確かさ特性要因図の記録

SOP番号：A-35
SOP検査項目：カドミウム

評価対象：カドミウム
試験品の種類：米（玄米及び精米）

作成年月日：2019.03.04



様式2 使用試薬及び機器の記録

SOP番号： A-035
 SOP検査項目：カドミウム

評価対象：カドミウム
 試験品の種類：米（玄米及び精米）
 検査年月日：2019.03.04

(1) 標準品の記録

試薬名	グレード	ロット番号	メーカー名	使用期限	標準原液調製日	調製溶媒
カドミウム標準液 100ppm	金属分析用	123456	Accu	2020.4.15		
イットリウム標準液 100ppm	金属分析用	asdfgghh	Accu	2019.9.7		

(2) 試薬の記録

試薬名	グレード	ロット番号	メーカー名
硝酸	有害金属測定用	qwer56	関東化学
過酸化水素	有害金属測定用	98ikmn	関東化学

(3) 機器の記録

機器名	グレード	ロット番号	メーカー名	機種名
ヒートブロック式加熱分解装置		kjhgfd56	ジーエルサイエンス	DigiPrep Jr.
100mL分解チューブ		ijnv67uh	ジーエルサイエンス	DigiTube
メンブランフィルター(PTFE、0.45μm)		876hgbf	アドバンテック東洋	DISMIC-13HP

(4) 分析機器の記録

機器名	管理番号	シリアル番号	メーカー名	機種名
誘導結合プラズマ質量分析計	k-12(1)	zxcvbn89	アジレントテクノロジー	Agilent 7700S

様式3 検査結果の記録

SOP番号： A-035

SOP検査項目：カドミウム

評価対象：カドミウム

試験品の種類：米（玄米及び精米）

検査年月日：2019.03.04

理論値： 0.28ppm ((標準溶液 (ID:) を〇mL添加))

	繰り返し1		繰り返し2		繰り返し1と2の平均		試験実施日	実施者
	測定値 (ppm)	回収率 (%)	測定値 (ppm)	回収率 (%)	測定値 (ppm)	回収率 (%)		
1日目	0.2696	96.29	0.2710	96.79	0.2703	96.54	2018.04.05	A
2日目	0.2740	97.86	0.2601	92.89	0.2671	95.38	2018.04.06	B
3日目	0.2700	96.43	0.2594	92.64	0.2647	94.54	2018.04.07	C
4日目	0.2636	94.14	0.2573	91.89	0.2605	93.02	2018.04.08	A
5日目	0.2698	96.36	0.2691	96.11	0.2695	96.23	2018.04.09	B
6日目	0.2657	94.89	0.2661	95.04	0.2659	94.96	2018.04.10	C

平均値	0.2663
標準偏差	0.005229
変動係数	1.96

試験実施記録簿（SOP別紙）及び測定条件（機器から打ち出したメソッド等）を添付すること。

様式4 不確かさ評価のための算出手順の記録

SOP番号： A-035
 SOP検査項目：カドミウム

評価対象：カドミウム
 試験品の種類：米（玄米及び精米）
 評価年月日：2019.03.04
 理論値：0.28ppm

下記の に数値を入力すること

繰返し数 (N)	日数 (J)
2	6

1 併行及び日間の自由度を計算する

併行の自由度	$J(N - 1)$
日間の自由度	$J - 1$
併行	日間
6	5

2 測定値 x_{jn} を入力する

	x_{1n} (1日目)	x_{2n} (2日目)	x_{3n} (3日目)	x_{4n} (4日目)	x_{5n} (5日目)	x_{6n} (6日目)
x_{j1} (繰返し1)	0.26960	0.27400	0.27000	0.26360	0.26980	0.26570
x_{j2} (繰返し2)	0.27100	0.26010	0.25940	0.25730	0.26910	0.26610

3 各併行の平均値 \bar{x}_j 及び全体の平均値 \bar{x} を求める

\bar{x}_1 (1日目)	\bar{x}_2 (2日目)	\bar{x}_3 (3日目)	\bar{x}_4 (4日目)	\bar{x}_5 (5日目)	\bar{x}_6 (6日目)	\bar{x} 全体
0.27030	0.26705	0.26470	0.26045	0.26945	0.26590	0.26631

4 併行精度 σ_r を求める

4-1 各測定値 x_{jn} と各併行の平均値 \bar{x}_j の残差を求める

	$x_{1n} - \bar{x}_1$ (1日目)	$x_{2n} - \bar{x}_2$ (2日目)	$x_{3n} - \bar{x}_3$ (3日目)	$x_{4n} - \bar{x}_4$ (4日目)	$x_{5n} - \bar{x}_5$ (5日目)	$x_{6n} - \bar{x}_6$ (6日目)
x_{j1} (繰返し1)	-0.0007000	0.0069500	0.0053000	0.0031500	0.0003500	-0.0002000
x_{j2} (繰返し2)	0.0007000	-0.0069500	-0.0053000	-0.0031500	-0.0003500	0.0002000

4-2 各測定値 x_{jn} と各併行の平均値 \bar{x}_j の残差の平方及び平方和を求める

	$(x_{1n} - \bar{x}_1)^2$ (1日目)	$(x_{2n} - \bar{x}_2)^2$ (2日目)	$(x_{3n} - \bar{x}_3)^2$ (3日目)	$(x_{4n} - \bar{x}_4)^2$ (4日目)	$(x_{5n} - \bar{x}_5)^2$ (5日目)	$(x_{6n} - \bar{x}_6)^2$ (6日目)	$\sum_j \sum_n (x_{jn} - \bar{x}_j)^2$ 平方和
x_{j1} (繰返し1)	4.90E-07	4.83E-05	2.81E-05	9.92E-06	1.23E-07	4.00E-08	1.74E-04
x_{j2} (繰返し2)	4.90E-07	4.83E-05	2.81E-05	9.92E-06	1.22E-07	4.00E-08	

4-3 各併行の分散 V_r 及び標準偏差すなわち併行精度 σ_r を求める

$$V_r = \frac{\sum_j \sum_n (x_{jn} - \bar{x}_j)^2}{J(N-1)}$$

$$\sigma_r = \sqrt{V_r}$$

V_r	σ_r
2.90E-05	5.38E-03

5 日間の分散 V_{RW} を求める

5-1 各併行の平均値 \bar{x}_j と全体の平均値 \bar{x} の残差を求める

$\bar{x}_1 - \bar{x}$	$\bar{x}_2 - \bar{x}$	$\bar{x}_3 - \bar{x}$	$\bar{x}_4 - \bar{x}$	$\bar{x}_5 - \bar{x}$	$\bar{x}_6 - \bar{x}$
(1日目)	(2日目)	(3日目)	(4日目)	(5日目)	(6日目)
0.003992	0.000742	-0.001608	-0.005858	0.003142	-0.000408

5-2 各併行の平均値 \bar{x}_j と全体の平均値 \bar{x} の残差の平方および平方和を求める

$(\bar{x}_1 - \bar{x})^2$	$(\bar{x}_2 - \bar{x})^2$	$(\bar{x}_3 - \bar{x})^2$	$(\bar{x}_4 - \bar{x})^2$	$(\bar{x}_5 - \bar{x})^2$	$(\bar{x}_6 - \bar{x})^2$	$\sum_j \sum_n (\bar{x}_j - \bar{x})^2$
(グループ1)	(グループ2)	(グループ3)	(グループ4)	(グループ5)	(グループ6)	平方和
1.59E-05	5.50E-07	2.59E-06	3.43E-05	9.87E-06	1.67E-07	1.27E-04

5-3 日間の分散 V_{RW} を求める

$$V_{RW} = \frac{\sum_j \sum_n (\bar{x}_j - \bar{x})^2}{J-1}$$

V_{RW}
2.54E-05

6 不確かさ U を求める

6-1 母平均の分散 σ_d^2 を求める

$$\sigma_d^2 = (V_{RW} - V_r) / N$$

σ_d^2
0.00E+00

6-2 併行精度 σ_r と母平均の分散 σ_d^2 を合成し、室内精度すなわち標準不確かさ u を求める

$$u = \sqrt{(\sigma_r^2 + \sigma_d^2)}$$

u
0.005384

6-3 包含係数 k を乗じ拡張不確かさ U を求める

$$U = u \times k \quad (k=2)$$

U
0.01077

様式2 使用試薬及び機器の記録

SOP番号： P-100
 SOP検査項目：GC-MS/MS測定農薬

評価対象：クロルピリホス
 試験品の種類：玄米
 検査年月日：2019.03.04

(1)標準品の記録

試薬名	グレード	ロット番号	メーカー名	使用期限	標準原液調製日	調製溶媒
クロルピリホス標準品	食品分析用	123456	関東化学	2020.4.15	2019.02.25	アセトン

(2)試薬の記録

試薬名	グレード	ロット番号	メーカー名
アセトン	残留農薬試験用	asdfgghh	関東化学
クエン酸	特級	qwer56	関東化学
リン酸	特級	98ikmn	関東化学
アセトニトリル	HPLC用	99ikmn	関東化学
塩化ナトリウム	特級	100ikmn	関東化学
無水硫酸ナトリウム	特級	yo20sh19imi	関東化学
蒸留水	HPLC用	03e05wai	関東化学
固相ミニカラムC18-50	-	sa31itama	アイステイサイエンス
固相ミニカラムPLS3-20	-	sa45itama	アイステイサイエンス
固相ミニカラムPSA-30	-	sa62itama	アイステイサイエンス

(3)機器の記録

機器名	グレード	ロット番号	メーカー名	機種名
汎用天秤	-	zxcvbn89	島津製作所	AP224Y
ホモジナイザー	-	kjhgfcd56	マイクロテックニチオン	ヒスコロン
遠心分離機	-	ijnv67uh	久保田商事	5500
振とう機	-	876hgbfv	タイテック	SR2D
マニホールド	-	877hgbfv	スペルコ	R410A
メスピペット(1mL)	スーパーグレード	-	アズワン	-
メスピペット(2mL)	スーパーグレード	-	アズワン	-
メスピペット(10mL)	スーパーグレード	-	アズワン	-

(4)分析機器の記録

機器名	管理番号	シリアル番号	メーカー名	機種名
高速液体クロマトグラフ質量分析計	k-11(5)	abcd1234	日本ウォーターズ	Xevo TQD
高速液体クロマトグラフ質量分析計分析カラム	-	hap78py23	ジーエルサイエンス	Inertsil ODS

様式3 検査結果の記録

SOP番号： P-100
 SOP検査項目：GC-MS/MS測定農薬

評価対象：クロルピリホス
 試験品の種類：玄米
 検査年月日：2019.03.04
 理論値： 0.01ppm (標準溶液 (ID:) を〇mL添加)

	繰り返し1		繰り返し2		繰り返し1と2の平均		試験実施日	実施者
	測定値 (ppm)	回収率 (%)	測定値 (ppm)	回収率 (%)	測定値 (ppm)	回収率 (%)		
1日目	0.00888	88.80	0.00834	83.40	0.0086	86.10	2018.05.05	A
2日目	0.00846	84.60	0.00921	92.10	0.0088	88.35	2018.05.06	B
3日目	0.00982	98.20	0.01149	114.90	0.0107	106.55	2018.05.07	C
4日目	0.01040	104.00	0.00858	85.80	0.0095	94.90	2018.05.08	D
5日目	0.00925	92.50	0.01169	116.90	0.0105	104.70	2018.05.09	E

平均値	0.0096
標準偏差	0.001218
変動係数	12.67

検査実施記録簿 (SOP別紙) 及び測定条件 (機器から打ち出したメソッド等) を添付すること。

様式4 不確かさ評価のための算出手順の記録

SOP番号： P-100
 SOP検査項目：GC-MS/MS測定農薬

評価対象：クロルピリホス
 試験品の種類：玄米
 評価年月日：2019.03.04
 理論値：0.01ppm

下記の に数値を入力すること

繰返し数(N)	日数(J)
2	5

1 併行及び日間の自由度を計算する

併行の自由度	$J(N - 1)$
日間の自由度	$J - 1$
併行	日間
5	4

2 測定値 x_{jn} を入力する

	x_{1n} (1日目)	x_{2n} (2日目)	x_{3n} (3日目)	x_{4n} (4日目)	x_{5n} (5日目)
x_{j1} (繰返し1)	0.00888	0.00846	0.00982	0.01040	0.00925
x_{j2} (繰返し2)	0.00834	0.00921	0.01149	0.00858	0.01169

3 各併行の平均値 \bar{x}_j 及び全体の平均値 \bar{x} を求める

\bar{x}_1 (1日目)	\bar{x}_2 (2日目)	\bar{x}_3 (3日目)	\bar{x}_4 (4日目)	\bar{x}_5 (5日目)	\bar{x} 全体
0.00861	0.00884	0.01066	0.00949	0.01047	0.00961

4 併行精度 σ_r を求める

4-1 各測定値 x_{jn} と各併行の平均値 \bar{x}_j の残差を求める

	$x_{1n} - \bar{x}_1$ (1日目)	$x_{2n} - \bar{x}_2$ (2日目)	$x_{3n} - \bar{x}_3$ (3日目)	$x_{4n} - \bar{x}_4$ (4日目)	$x_{5n} - \bar{x}_5$ (5日目)
x_{j1} (繰返し1)	0.000270	-0.000375	-0.000835	0.000910	-0.001220
x_{j2} (繰返し2)	-0.000270	0.000375	0.000835	-0.000910	0.001220

4-2 各測定値 x_{jn} と各併行の平均値 \bar{x}_j の残差の平方及び平方和を求める

	$(x_{1n} - \bar{x}_1)^2$ (1日目)	$(x_{2n} - \bar{x}_2)^2$ (2日目)	$(x_{3n} - \bar{x}_3)^2$ (3日目)	$(x_{4n} - \bar{x}_4)^2$ (4日目)	$(x_{5n} - \bar{x}_5)^2$ (5日目)	$\Sigma_j \Sigma_n (x_{jn} - \bar{x}_j)^2$ 平方和
x_{j1} (繰返し1)	7.29E-08	1.41E-07	6.97E-07	8.28E-07	1.49E-06	6.45E-06
x_{j2} (繰返し2)	7.29E-08	1.41E-07	6.97E-07	8.28E-07	1.49E-06	

4-3 併行の分散 V_r 及び標準偏差すなわち併行精度 σ_r を求める

$$V_r = \frac{\sum_j \sum_n (x_{jn} - \bar{x}_j)^2}{J(N-1)}$$

$$\sigma_r = \sqrt{V_r}$$

V_r	σ_r
1.29E-06	1.14E-03

5 日間の分散 V_{RW} を求める

5-1 各併行の平均値 \bar{x}_j と全体の平均値 $\bar{\bar{x}}$ の残差を求める

$\bar{x}_1 - \bar{\bar{x}}$ (1日目)	$\bar{x}_2 - \bar{\bar{x}}$ (2日目)	$\bar{x}_3 - \bar{\bar{x}}$ (3日目)	$\bar{x}_4 - \bar{\bar{x}}$ (4日目)	$\bar{x}_5 - \bar{\bar{x}}$ (5日目)
-0.00100	-0.00078	0.00104	-0.00012	0.00086

5-2 各併行の平均値 \bar{x}_j と全体の平均値の残差 $\bar{x}_j - \bar{\bar{x}}$ の平方及び平方和を求める

$(\bar{x}_1 - \bar{\bar{x}})^2$ (1日目)	$(\bar{x}_2 - \bar{\bar{x}})^2$ (2日目)	$(\bar{x}_3 - \bar{\bar{x}})^2$ (3日目)	$(\bar{x}_4 - \bar{\bar{x}})^2$ (4日目)	$(\bar{x}_5 - \bar{\bar{x}})^2$ (5日目)	$\sum_j \sum_n (\bar{x}_j - \bar{\bar{x}})^2$ 平方和
1.00E-06	6.04E-07	1.09E-06	1.49E-08	7.36E-07	6.89E-06

5-3 日間の分散 V_{RW} を求める

$$V_{RW} = \frac{\sum_j \sum_n (\bar{x}_j - \bar{\bar{x}})^2}{J-1}$$

V_{RW}
1.72E-06

6 不確かさ U を求める

6-1 母平均の分散 σ_d^2 を求める

$$\sigma_d^2 = (V_{RW} - V_r) / N$$

σ_d^2
2.16E-07

6-2 併行精度 σ_r と母平均の分散 σ_d^2 を合成し、室内精度すなわち標準不確かさ u を求める

$$u = \sqrt{(\sigma_r^2 + \sigma_d^2)}$$

0.001228

6-3 包含係数 k を乗じ拡張不確かさ U を求める

$$U = u \times k \quad (k = 2)$$

0.0025

別添 8

例 示

不確かさ評価標準作業書 (ボトムアップ方式)

ゲルマニウム半導体検出器を用いた牛乳の放射性セシウム

測定結果の不確かさ評価 (牛乳：マリネリ容器 2L)

制定日： 年 月 日
改訂日： 年 月 日

作成者： 年 月 日 印

確認者： 年 月 日 印

承認者： 年 月 日 印

文書改訂の履歴

版数	改訂日	改訂内容	作成者	承認者
初版				
第2版				
第3版				
第4版				
第5版				
第6版				
第7版				
第8版				
第9版				
第10版				

目 次

- 1 目的
- 2 適用範囲
- 3 検査方法
- 4 評価方法の概要
- 5 算出手順
- 6 注記
- 7 引用文書
- 8 記録

1 目的

本作業書は、ゲルマニウム半導体検出器を用いた牛乳の放射性セシウム検査（マリネリ 2L 容器）における不確かさの評価方法について定め、分析結果の品質の保証等において利用することを目的とする。

2 適用範囲

ゲルマニウム半導体検出器を用いた牛乳の放射性セシウム検査（マリネリ 2L 容器）において、牛乳の基準値レベル（放射性セシウム 50 Bq/kg）での Cs-137 測定の不確かさ評価に適用する。

3 検査方法

検査実施標準作業書に従う。

- (1) 液体試料をマリネリ容器 2L の標線まで入れる。
- (2) マリネリ容器に入れた牛乳の重量を量る。
- (3) マリネリ容器をビニール袋で覆い、ゲルマニウム半導体検出器で 3600 秒（ライブタイム（LT））測定する。

< 検査機器等 >

天秤：BW32KH（島津製作所）

ゲルマニウム半導体検出器：GC2018 波高分析器：DSA1000（キャンベラジャパン）

校正用体積線源：放射能標準ガンマ体積線源（混合核種、MX033MR、線源番号 0123）

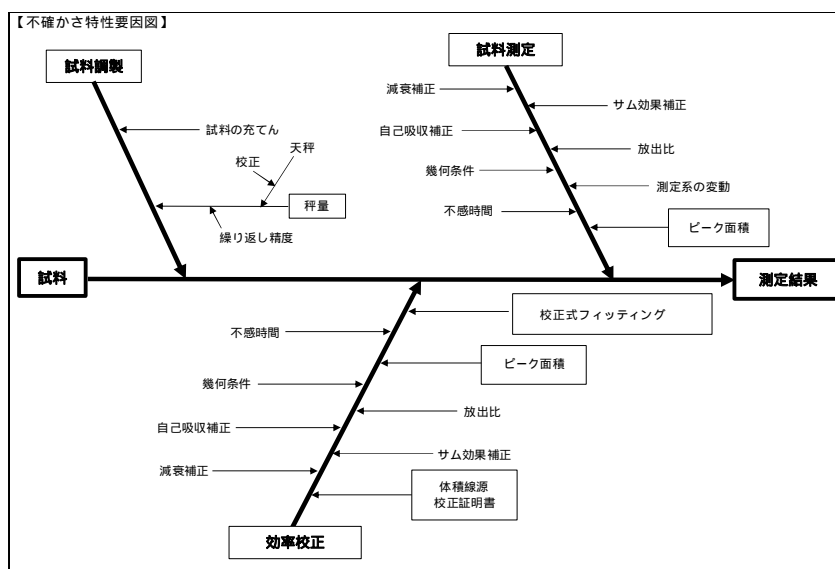
測定時間（LT）7200 秒

試料溶液：あらかじめ 50 Bq/kg 程度に調製した液体試料

（ここでは、調製した茶葉抽出液（ 46.1 ± 1.1 Bq/kg、21600 秒測定））

4 評価方法の概要

検査方法の手順から不確かさの要因を抽出し、特性要因図（下図：様式 1 の一部）を作成する。



試料調製、効率校正及び試料測定における不確かさを評価する要因は以下のとおりである。

- (1) 試料調製の不確かさ：天秤、繰返し精度
- (2) 効率校正の不確かさ：校正用体積線源、ピーク面積、校正式フィッティング
- (3) 試料測定の不確かさ：ピーク面積

(1) ~ (3) ごとに相対 (合成) 標準不確かさを算出し、さらに (1) ~ (3) の不確かさを合成する。この値を、ゲルマニウム半導体検出器を用いた牛乳の放射性セシウム測定 (マリネリ 2L 容器) の相対合成標準不確かさとする。

相対拡張不確かさは、相対合成標準不確かさに包含係数 k ($k = 2$) を乗じて求める。

5 算出手順

(1) 試料調製の不確かさ

- 1) 天びんの不確かさは、天びんに付与されている不確かさを使用する。
- 2) 秤量の繰返し精度は、同一試料を用いて充てん操作を 10 回繰返し、その重量の平均値及び標準偏差を求め、さらに次式を用いて相対標準偏差を求める。この値を相対標準不確かさとする。

$$\text{相対標準不確かさ (\%)} = \text{標準偏差} \div \text{平均値} \times 100$$

- 3) 1) 及び 2) で求めた相対標準不確かさを合成して、試料調製の不確かさとする。

(2) 効率校正の不確かさ

- 1) 校正用体積線源の不確かさは、校正証明書に記載されている Cs-137 の相対拡張不確かさを 2 で除した値を使用する。
- 2) ピーク面積による不確かさは、効率校正曲線作成時の Cs-137 の正味ピーク面積 (カウント) と計数誤差 (カウント) を用いて、次式により相対計数誤差を算出する。この値を効率校正曲線のピーク面積についての相対標準不確かさとする。

$$\text{相対標準不確かさ (\%)} = \text{計数誤差} \div \text{正味ピーク面積} \times 100$$

- 3) 校正式フィッティングの不確かさは、得られるフィッティング値と実測値を用いて次式より相対標準不確かさを算出する。

$$\text{相対標準不確かさ (\%)} = | \text{実測値} - \text{フィッティング値} | \div \text{実測値} \times 100$$

- 4) 1)、2) 及び 3) で求めた相対標準不確かさを合成して、効率校正の不確かさとする。

(3) 試料測定の不確かさ

試料測定時のピーク面積による不確かさは、試料の Cs-137 の正味ピーク面積 (カウント) と計数誤差 (カウント) を用いて、次式により相対計数誤差を算出する。この値を試料測定の相対標準不確かさとする。

$$\text{相対標準不確かさ (\%)} = \text{計数誤差} \div \text{正味ピーク面積} \times 100$$

(4) 放射性セシウム検査 (牛乳、マリネリ 2L 容器) の不確かさ

(1) ~ (3) から得た相対標準不確かさを合成する。この合成値を放射性セシウム検査 (牛乳、マリネリ 2L 容器) の相対合成標準不確かさとする。

相対拡張不確かさは、相対合成標準不確かさに包含係数 k ($k = 2$) を乗じて求める。

6 注記

適用範囲の項にも記載したが、この不確かさ評価は、牛乳の基準値レベル（放射性セシウム 50 Bq/kg）の Cs-137（46.1 Bq/kg）を実測した場合の例示である。なお、Cs-134 は標準線源に含まれていないが、校正点は近接しているため、Cs-134 の不確かさは、Cs-137 の不確かさを参考とすることとした。

7 引用文書

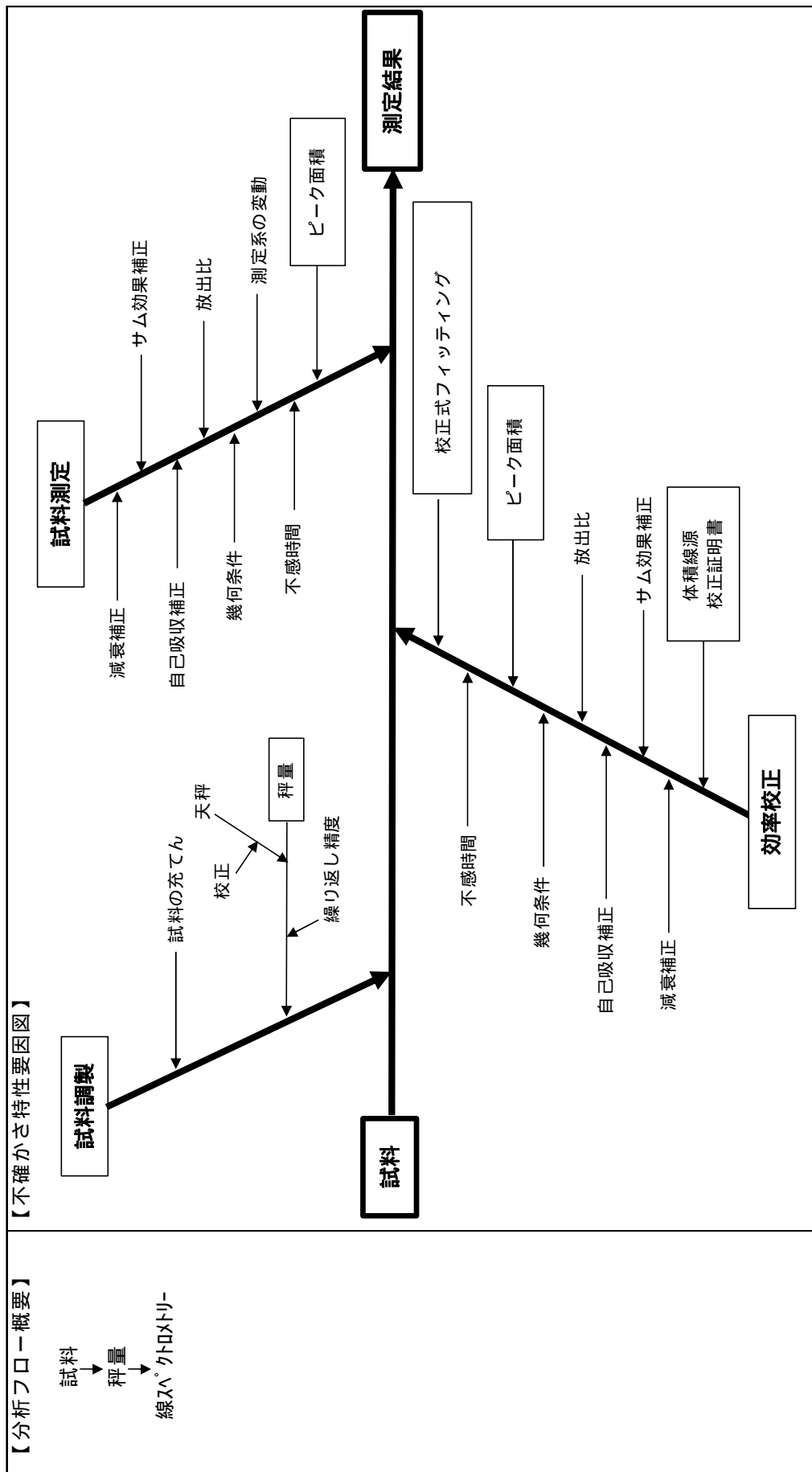
JAB RL509 : 2018 第 4 版「JAB NOTE 9 134Cs 及び 137Cs の放射能濃度測定に係る不確かさの評価ガイドライン」<https://www.jab.or.jp/news/2018/03012.html>（2019.3.12 確認）

8 記録

様式 1 分析フロー概要及び不確かさ特定要因図の記録

様式 2 不確かさ評価のための算出方法の記録

様式1 分析フロー概要及び不確かさ特定要因図の記録
モデル セシウム検査（牛乳、マリネリ容器）



- 1.牛乳等をマリネリ容器(2L)の標線まで入れる。
- 2.マリネリ容器に入れた牛乳の重量を量る。
- 3.マリネリ容器をピニール容器で覆い、ゲルマニウム半導体検出器(3600秒)で測定する。

様式2 不確かさ評価のための算出方法の記録

牛乳の放射性セシウム測定結果の不確かさ評価

評価年月日: _____

(1) 試料調製の不確かさ

天秤の不確かさ

天秤: BW32KH (島津製作所) READABILITY 0.1g MAX32Kg

天秤の不確かさは、JCSS校正により付与された不確かさ、または内部校正により付与された不確かさを採用する。

相対標準不確かさ	0.01%	u_1
----------	-------	-------

天秤による繰り返し精度

同一試料を用いて操作を10回繰り返し、その相対標準偏差(変動係数)を求めて、繰り返し精度の不確かさとする。

測定結果 (g)		平均
1981.9	1987.3	1986.35
1987.9	1980.6	標準偏差
1988.4	1982.2	4.59
1988.3	1994.9	変動係数
1990.2	1981.8	0.231%

u_2

試料調製の不確かさ	0.232%	$\sqrt{u_1^2 + u_2^2}$
-----------	--------	------------------------

(2) 効率校正の不確かさ

体積線源の不確かさ

校正用体積線源: MX033MR 線源番号: 0123 (平成28年度購入)

校正用体積線源の校正証明書からCs-137の拡張不確かさを引用する。

拡張不確かさ	包含係数	相対標準不確かさ
4.5%	2	2.25%

u_3

計数誤差による不確かさ

ゲルマニウム半導体検出器: GC2018 波高分析器: DSA1000 (キャンベラジャパン)

効率作成(7200秒測定)時のCs-137の測定データを使用して算出する。

正味ピーク面積	計数誤差	相対標準不確かさ
163343.20	428.86	0.263%

u_4

校正式フィッティングの不確かさ

効率作成（7200秒測定）時のCs-137の測定データを使用して算出する。

フィッティング値	実測値	相対標準不確かさ
0.00798093	0.00798790	0.087%

u_5

効率校正の不確かさ	2.27%	$\sqrt{u_3^2 + u_4^2 + u_5^2}$
-----------	-------	--------------------------------

(3) 試料測定の不確かさ

試料：茶葉抽出液（Cs-137：46 ± 1.1 Bq/kg，21600秒測定）

試料測定（3600秒）時のCs-137の測定データを使用して算出する。

正味ピーク面積	計数誤差	相対標準不確かさ
1982.4	45.7	2.31%

u_6

試料測定の不確かさ	2.31%
-----------	-------

*****放射性セシウム検査の不確かさ(牛乳：マリネリ2L)*****

牛乳の基準値レベル（放射性セシウム50 Bq/kg）でのCs-137（46.1 Bq/kg）の不確かさの評価

天秤：BW32KH（島津製作所）

ゲルマニウム半導体検出器：GC2018 波高分析器：DSA1000（キャンベラジャパン）

校正条件：校正用体積線源MX033MR 線源番号0123 測定条件：（LT）7200秒

測定条件：茶葉抽出液（Cs-137 46.1 ± 1.1 Bq/kg） 測定条件：（LT）3600秒

不確かさの要因	相対標準不確かさ	合成相対標準不確かさ
(1) 試料調製の不確かさ		0.232%
天秤の不確かさ	0.01%	-
繰返し精度	0.232%	-
(2) 効率校正の不確かさ		2.27%
体積線源の不確かさ	2.25%	-
計数誤差の不確かさ	0.263%	-
校正式フィッティングの不確かさ	0.087%	-
(3) 試料測定の不確かさ		2.31%
計数誤差の不確かさ	2.31%	-
相対合成標準不確かさ		3.2%
相対拡張不確かさ (k = 2)		6.5%

検査実施記録簿（SOP別紙）を添付すること

別添 9

例 示

電子式非自動はかり（電子天びん） の内部校正標準作業書

制定日： 年 月 日

改訂日： 年 月 日

作成者： 年 月 日 印

確認者： 年 月 日 印

承認者： 年 月 日 印

文書改訂の履歴

版数	改訂日	改訂内容	作成者	承認者
初版				
第2版				
第3版				
第4版				
第5版				
第6版				
第7版				
第8版				
第9版				
第10版				

目 次

- 1 目的
- 2 適用範囲
- 3 用語
- 4 方法
- 5 頻度
- 6 引用文書
- 7 記録
- 8 トレーサビリティ体系図

1 目的

食品の検査において正確さや有効性に影響する質量の精確な計量結果を保証するために、はかり（電子天びん）の内部校正の手順を示す。

2 適用範囲

食品の検査に用いるマクロ天びん（または分析用天びん）及び上皿天びん（またははかり）の電子天びんに適用する。また、ここに示す校正はトレーサビリティ体系を有する校正機関による校正をもってかえることができる。

3 用語

- ・器差：はかりの指示値から質量の（みなしの）真の値を引いた値。
- ・協定質量：温度 20 、空気密度 1.2 kg/m³ の環境においてつりあう密度 8,000kg/m³ の標準分銅の質量。
- ・検定公差：検定において許容される器差。
- ・指示値：測定器または測定システムが提示する量の値。
- ・実目量（d）：最小表示。目量より小さい量の表示。はかりの器差又は計量値の決定に使用することができる。
- ・実用標準：測定器または測定システムの校正または検証をするために、日常的に用いる測定標準。
- ・常用参照標準：ある組織又はある場所で、ある種類の量の他の測定標準を校正するために指定される測定標準。
- ・目量（e）：隣接する実目量を除く、目盛標識のそれぞれが表す物象の状態の量の差。感量（はかりが反応することができる質量の最小変化）を含む。最小表示（d）の 10 倍。
- ・ひょう量：加算式風袋量を考慮しないで計量することができる最大の量。
- ・天びんの分類：読み取り限度に従って表 1 のように分類する。

表 1 天びんの分類

読取限度	用語	通常のひょう量
0.1 μg	ウルトラマイクロ天びん	5g 未満
1 μg	マイクロ天びん	1 ~ 25g
10 μg	セミマイクロ天びん	30 ~ 200g
0.1 mg	マクロ天びんまたは分析用天びん	50 ~ 500g
1mg以上	上皿天びんまたははかり	100g 以上

4 方法

1. 校正しようとする実用標準天びんの情報

導入時に校正機関が発行した校正証明書及び実機を確認し、管理番号、製造者名、型式、ひょう量、目量及び最小表示単位（実目量）を校正記録簿に記載する。〈天びん 内部校正記録簿 1〉

2. 等級と検定公差

天びんの等級と検定公差（最大許容誤差）を決定する。〈天びん 内部校正記録簿 1及び2〉

(1) 天びんの最小表示（d）とひょう量との組み合わせにより等級を決定し（表2）、決定した等級に応じて検定公差を設定する（表3）

(2) デュアルレンジの天びん（副目量はかり）は、レンジ毎に等級と検定公差を設定する。

表2 等級

最小表示 d	目量 e	最大目量数 = ひょう量 / 目量e			
		500	5,000	50,000	>50,000
10> 1g	10g	4	3	2	1
0.1g	1g	4	3	2	1
0.01g	0.1g	3	3	2	1
0.001g	0.01g	2	2	2	1
0.0001g	0.001g	2	2	2	1
<0.0001g	0.0001g	AA	AA	AA	AA

表3 検定公差

等級	分銅の重さの目量数 = 分銅の重さ / 目量 e								
	50	200	500	2,000	5,000	20,000	50,000	200,000	>200,000
4	±0.5e	±1e	±1.5e						
3	±0.5e	±0.5e	±0.5e	±1e	±1.5e				
2	±0.5e	±0.5e	±0.5e	±0.5e	±0.5e	±1e	±1.5e		
1	±0.5e	±0.5e	±0.5e	±0.5e	±0.5e	±0.5e	±0.5e	±1e	±1.5e
AA	±1e	±1e	±1e	±1e	±1e	±1e	±1e	±2e	±3e

3. 校正に用いる常用参照標準分銅（参照分銅）

(1) JCSS ロゴマーク付標準分銅（ステンレス鋼製）(E2、F1 または F2 級) を用いる。

(2) 使用する分銅の等級は、JIS B 7609 表2 から目量の ± 1/3 以下の最大許容誤差のものを目安とする。

(3) 参照分銅はトレーサビリティ体系を有する校正機関による校正がなされており、原則、有効期限（3年）以内のものを使用する。

(4) 繰り返し性の校正にはひょう量の 1/2 付近またはそれ以上でひょう量以下の単一分銅を用いる。

(5) 偏置誤差の校正にはひょう量の 1/3 ~ 1/2 付近またはそれ以上でひょう量以下の単一分

銅を用いる。

- (6) 正確さの校正には以下の点を参考にして、かつ、ひょう量の約 1/4、約 1/2、約 3/4、ひょう量の 4 点等、測定間隔はなるべく等分になるようにする。
 - 1) ひょう量範囲を均等に分割した値またはその近辺
 - 2) 検定公差の切り替わる点
 - 3) 校正者が通常の測定において、頻度高く使用する荷重域
- (7) 風袋としてひょう量の 1/4 ~ 1/2 程度の分銅を用い、ひょう量以下となるように荷重分銅を選択する。
- (8) それぞれの分銅の協定質量及び拡張不確かさを校正機関が発行した校正証明書から、また、最大許容誤差を JIS B 7609 表 2 から校正記録簿に記載する。 <天びん 内部校正記録簿 2>
- (9) 参照分銅はピンセット及び手袋等を用いて、ひょう量皿の上に静かに載せる。

4. 外観及び機能

以下の項目について外観及び機能上に異常のないことを確認する。 <天びん 内部校正記録簿 3>

- (1) 水準器(水平器): 水平であること。
- (2) ウォームアップ: 規定された時間、電源を投入した状態にしておく。
- (3) 表示器: 数字や記号に欠損がなく、安定であること。
- (4) 振動・気流の影響: ないこと。
- (5) 磁性の影響: 無負荷の天びんに分銅を近づけて、指示値が変わらないこと。
- (6) 分銅慣らし: 分銅を校正の 3 時間以上前から校正しようとする室内に置き、雰囲気と平衡化させる。

5. 校正環境 <天びん 内部校正記録簿 4>

校正は以下の環境下で実施する。

- (1) 温度: 室温: 15 ~ 28
- (2) 相対湿度: 約 30% ~ 70% の範囲
- (3) 気圧: 台風等の悪天候時を避ける

6. 校正

- (1) 繰り返し性(デュアルレンジの場合は大小レンジ共に校正する。) <天びん 内部校正記録簿 5(1)>
 - 1) ひょう量の 1/2 付近またはそれ以上の単一分銅を 6 回以上載せ降ろしし、ゼロ点と荷

重時の指示値を記録する。ゼロ点の指示値を記録する代わりに、毎回表示をゼロに設定してから荷重を載せて

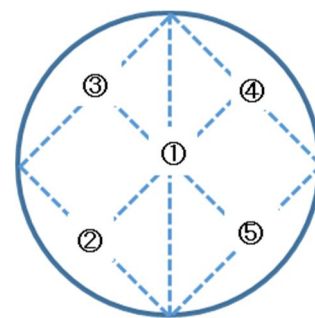
荷重時の指示値のみ記録する方法でもよい。

- 2) ゼロ点と荷重時の指示値、それぞれ(前項でゼロ点の測定をしなかった場合は荷重時の値のみ)において、指示値(I) (荷重時の指示値 I_w ゼロ点指示値 I_0) を求め、載せた分銅の協定値 との差(器差)を算出し、その値が検定公差以内であれば「適」とする。

(2) 偏置誤差 <天びん 内部校正記録簿 5(2)>

- 1) ひょう量の 1/3 ~ 1/2 付近またはそれ以上の単一分銅を右記の位置に順番(. . .)に乗せ、指示値を記録する。

- 2) 中央に乗せた値 2 つの平均値と、偏置誤差(中央以外の位置での指示値の差)がすべて検定公差以内であれば「適」とする。



(3) 正確さ <天びん 内部校正記録簿 5(3)>

- 1) 設定した観測点に対応する分銅を以下の順番で載せて指示値を記録する。

ゼロ点 第 1 (最小) 観測点 第 2 観測点 第 3 観測点 最大観測点(ひょう量付近)
ゼロ点

- 2) 前項で求めた値から器差を算出し、それらすべてが検定公差以内であれば「適」とする。

- 3) 風袋荷重用として、ひょう量の 1/4 程度の重さの分銅を負荷し、風袋引きを行う。指示値がゼロであることを確認し、校正用分銅(ひょう量の 1/4 程度)を皿の中央に載せ、指示値を記録する。風袋荷重用として、ひょう量の 1/2、3/4 程度の重さの分銅を用いて、同様に指示値を記録する。

- 4) 前項で求めた値から器差を算出し、それらすべてが検定公差以内であれば「適」とする。

5 頻度

導入から 3 年間は毎年、校正機関による校正または内部校正を実施する。その後は満足できるパフォーマンスに基づき頻度を少なくすることができる。

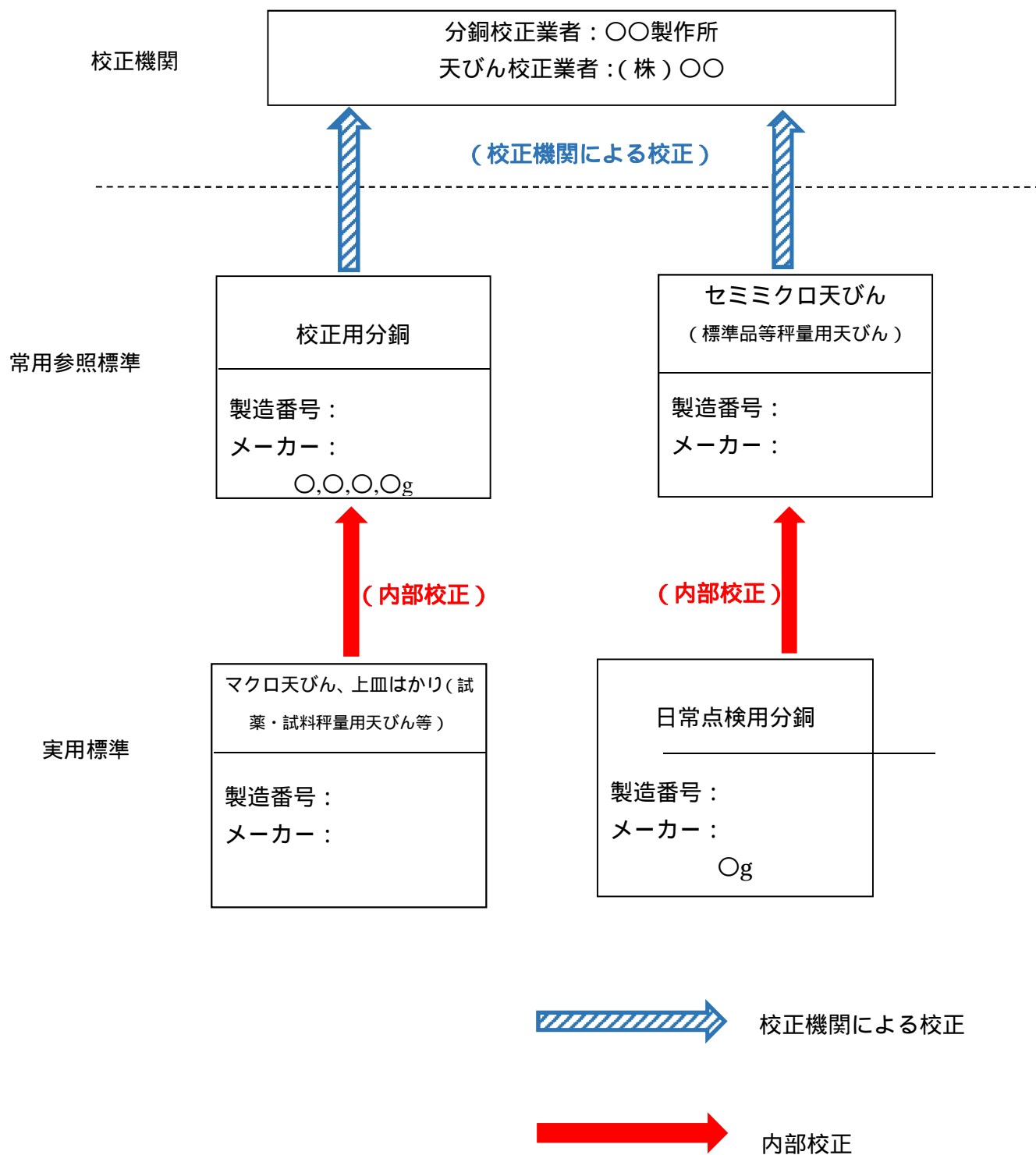
6 引用文書

- ・ JCG203S21 不確かさの見積もりに関するガイド(はかり)
- ・ JIS B 7611-1 : 非自動はかり - 性能要件及び試験方法 - 第 1 部 : 一般計量器
- ・ JIS B 7609 : 分銅

7 記録

様式 1 天びん 内部校正記録簿

8 トレーサビリティ体系図



様式 1

天びん 内部校正記録簿

校正年月日:

校正実施者:

1. 校正する電子天びん

管理番号	天びん-1
製造者名	〇〇〇(株)
型式	〇〇〇

小レンジ

精度等級	2	
ひょう量	100	g
目量(e)	1	mg
最小表示単位 実目量(d)	0.1	mg

大レンジ

精度等級	2	
ひょう量	220	g
目量(e)	10	mg
最小表示単位 実目量(d)	1	mg

2. 校正に用いる参照分銅

No	公称値(g)	協定質量(g)	拡張不確かさ(mg)	最大許容誤差(mg)	等級	検定公差
1	0.1	0.100013	0.014	0.05	F 1	±0.5mg
2	20	20.000048	0.036	0.25	F 1	±0.5mg
3	50	50.000042	0.10	0.3	F 1	±0.5mg
4	100	100.000059	0.20	0.5	F 1	± 1mg
5	200	199.999901	0.25	1	F 1	± 1mg

3. 外観及び機能

水準器・水平	良・不良
ウォームアップ	適・不適
表示の安定性	正常・不良
振動・気流の影響	有・無
磁性の影響	有・無
分銅慣らし	適・不適

4. 校正環境

	範囲内
温度	○
相対湿度	○
気圧	○

5. 測定結果

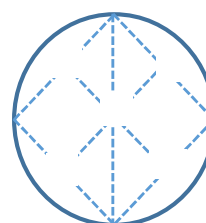
(1) 繰り返し性

参照分銅 3		検定公差: ±0.5 mg				
回数	協定質量(L)	荷重時の指示値(iw)	ゼロ点指示値(l ₀)	指示値(l = w - l ₀)	器差(l - L)	判定
	g	g	g	g	mg	
1	50.000042	50.0001	0.0000	50.0001	0.068	適
2	50.000042	50.0002	0.0001	50.0001	0.058	適
3	50.000042	50.0001	0.0000	50.0001	0.048	適
4	50.000042	50.0001	0.0000	50.0001	0.048	適
5	50.000042	50.0001	0.0000	50.0001	0.048	適
6	50.000042	50.0001	0.0000	50.0001	0.068	適

標準偏差 = 0.0098
 平均値 = 0.0563

参照分銅 5		検定公差: ± 1 mg				
回数	協定質量(L)	荷重時の指示値(iw)	ゼロ点指示値(l ₀)	指示値(l = w - l ₀)	器差(l - L)	判定
	g	g	g	g	mg	
1	199.999901	200.000	0.000	200.000	0.099	適
2	199.999901	200.000	0.000	200.000	0.099	適
3	199.999901	200.000	0.000	200.000	0.099	適
4	199.999901	200.000	0.001	199.999	-0.901	適
5	199.999901	200.000	0.000	200.000	0.099	適
6	199.999901	200.000	0.000	200.000	0.099	適

標準偏差 = 0.4082
 平均値 = -0.0677



(2) 偏置誤差

参照分銅 3		検定公差: ± 0.5 mg		
位置	協定質量(L)	指示値(l)	の平均値との差	判定
	g	g	mg	
	50.000042	50.0001	-	
	50.000042	50.0002	-0.1	適
	50.000042	50.0001	0.0	適
	50.000042	50.0001	0.0	適
	50.000042	50.0001	0.0	適
	50.000042	50.0001	-	

最大差 = 0.10 mg

参照分銅 5	検定公差: ± 1 mg			
	協定質量(L)	指示値(I)	の平均値との差	判定
位置	g	g	mg	
	199.999901	200.000	-	
	199.999901	200.000	0.0	適
	199.999901	200.000	0.0	適
	199.999901	199.999	1.0	適
	199.999901	200.000	0.0	適
	199.999901	200.000	-	
			最大差=	1.0 mg

(3) 正確さ:

風袋なし

検定公差: ± 0.5 mg / 1 mg				
分銅 No.	協定質量(L)	指示値(I)	器差(I - L)	判定
	g	g	mg	
1	0.100013	0.1001	0.087	適
2	20.000048	20.0000	-0.048	適
3	50.000042	50.0000	-0.042	適
4	100.000059	100.000	-0.059	適
5	199.999901	199.999	-0.901	適

風袋あり

検定公差: ± 0.5 mg / 1 mg					
風袋分銅	分銅 No.	荷重分銅の協定質量(L)	指示値(I)	器差(I - L)	判定
g		g	g	mg	
50	3	50.000042	50.0000	-0.042	適
100	3	50.000042	50.0000	-0.042	適
150	3	50.000042	50.0010	0.958	適

6. 総合判定

適 ・ 不適

管理責任者: _____ 印

例 示

電子式非自動はかり（電子天びん）の 不確かさの評価標準作業書

制定日： 年 月 日

改訂日： 年 月 日

作成者： 年 月 日 印

確認者： 年 月 日 印

承認者： 年 月 日 印

文書改訂の履歴

版数	改訂日	改訂内容	作成者	承認者
初版				
第2版				
第3版				
第4版				
第5版				
第6版				
第7版				
第8版				
第9版				
第10版				

目 次

- 1 目的
- 2 適用範囲
- 3 不確かさの要因
- 4 方法
- 5 引用文書
- 6 記録

1 目的

電子天びんの不確かさを評価することを目的とする。

2 適用範囲

測定の不確かさの評価においてボトムアップ方式による評価手順を採用し、電子天びんの不確かさを評価することが必要な場合等に、その内部校正結果から算出する手順を示す。

3 不確かさの要因

不確かさは以下の要因について算出する。〈様式 1 天びん 不確かさ算出記録簿〉

- (1) 指示値の丸め誤差 (三角分布・タイプ B)
- (2) 繰り返し性 (正規分布・タイプ A)
- (3) 偏置荷重誤差 (一様分布・タイプ B)
- (4) 正確性
- (5) 校正分銅の不確かさ (タイプ B)

なお、本作業書では以下の項目について、不確かさの要因に含めないこととする。

- (1) はかりに起因する不確かさ
 - 1) 正確さ
 - 風袋ありの場合の風袋荷重の影響
 - 2) 磁性
- (2) 測定中の環境条件に起因する不確かさ
 - 感度の温度特性
- (3) 校正に用いる参照分銅
 - 1) 安定性及び使用方法により生じる不確かさ
 - 2) 空気浮力に起因する不確かさ
 - 3) 環境との温度差による不確かさ

4 算出手順

内部校正結果から以下の項目を算出する。

- (1) 指示値の丸め誤差 (三角分布・タイプ B) (単目量、複目量のはかりの場合)

指示値の丸めの誤差による標準不確かさ u_r は、実目量を d とすると

$$u_r = d/\sqrt{6}$$
- (2) 繰り返し性 (正規分布・タイプ A)

測定値 $W_1 \sim W_n$ とすると

$$\text{標準偏差 } (s) = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (W_i - \bar{W})^2} \quad \text{ただし、} \bar{W} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n W_i$$

標準不確かさ u_w は $u_w = s$

(3) 偏置荷重誤差 (一様分布・タイプ B)

偏置荷重と中心荷重との指示値の最大差を E 、試験荷重を P 、ひょう量を Max とすると

$Max/3$ に正規化された誤差は $E1 = E \frac{Max}{3P}$ となり、

偏置荷重の相対標準不確かさは $u_e = \frac{1}{\sqrt{3}} \times \frac{E1}{Max} = \frac{1}{3\sqrt{3}} \times \frac{E}{P}$

と評価される。

(4) 校正 (参照) 分銅 (タイプ B)

校正に使用した分銅の拡張不確かさ U_i 、包含係数 k 、とすると校正分銅の不確かさ (u_s) は

$$u_s = \frac{U_i}{k}$$

(5) 合成標準不確かさ及び拡張不確かさ

偏置誤差の校正に使用した参照分銅の質量 (mg) を W とすると、合成標準不確かさ (u) は

$$u = \sqrt{u_r^2 + u_w^2 + u_s^2 + u_e^2 \times W^2}$$

により計算される。したがって拡張不確かさ U は、包含係数 (k) とすると

$$U = k \times u$$

(6) 正確性

それぞれの参照分銅荷重時の不確かさを (5) の合成標準不確かさ及び拡張不確かさの式を用いて算出する。

5 引用文書

- ・ JCG203S21 不確かさの見積もりに関するガイド (はかり)
- ・ JIS B 7611-1 : 非自動はかり - 性能要件及び試験方法 - 第 1 部 : 一般計量器
- ・ JIS B 7609 : 分銅

6 記録

様式 1 天びん 不確かさ算出記録簿

様式 1

天びん 不確かさ算出記録簿

校正年月日： _____
 校正実施者： _____

1. 校正結果

校正 No.	分銅 No.	分銅公称質量	校正結果		
			分銅質量 (L)	指示値 (I)	偏差 (I - L)
		g	g	g	mg
1	3	50	50.000042	50.0001	-0.070
2	5	200	199.999901	200.000	-0.099

2. 要因別不確かさ

校正 No.	不確かさの要因			
	指示値丸め誤差の標準不確かさ (u_r)	繰り返し性の標準不確かさ (u_w)	偏置荷重誤差の相対標準不確かさ (u_e)	参照分銅の標準不確かさ (u_s)
	mg	mg		mg
1	0.0408	0.0098	0.00000038	0.050
2	0.4082	0.4082	0.00000096	0.125

3. 合成標準不確かさ

校正 No.	合成標準不確かさ	包含係数 (k)	拡張不確かさ
	mg		mg
1	0.0681	2	0.14
2	0.6213	2	1.2

4. 正確さ(風袋なし)

検定公差: ± 0.5/1mg

分銅 No.	協定質量 (L)	指示値 (I)	器差 (I - L)	不確かさ	拡張不確かさ
	g	g	mg	mg	mg
1	0.100013	0.1001	0.087	0.0426	0.09
2	20.000048	20.0000	-0.048	0.0463	0.09
3	50.000042	50.0000	-0.042	0.0681	0.14
4	100.000059	100.000	-0.059	0.5938	1.2
5	199.999901	199.999	-0.901	0.6213	1.2

正確さ(風袋あり)

検定公差: ± 0.5/1 mg

風袋分銅	分銅 No.	荷重分銅の協定質量 (L)	指示値 (I)	器差 (I - L)	不確かさ	拡張不確かさ
		g	g	mg	mg	mg
50	3	50.000042	50.0000	-0.042	0.0681	0.14
100	3	50.000042	50.0000	-0.042	0.0681	0.14
150	3	50.000042	50.0010	0.958	0.0681	0.14

5. 算出結果確認

管理責任者: _____ 印

例 示

電子式非自動はかり（電子天びん） の定期点検標準作業書

制定日： 年 月 日

改訂日： 年 月 日

作成者： 年 月 日 印

確認者： 年 月 日 印

承認者： 年 月 日 印

文書改訂の履歴

版数	改訂日	改訂内容	作成者	承認者
初版				
第2版				
第3版				
第4版				
第5版				
第6版				
第7版				
第8版				
第9版				
第10版				

目 次

- 1 目的
- 2 適用範囲
- 3 用語
- 4 方法
- 5 頻度
- 6 引用文書
- 7 記録

1 目的

食品の検査において正確さや有効性に影響する質量の精確な計量結果を保証するために、はかり（電子天びん）の定期点検の手順を示す。

2 適用範囲

食品の検査に用いる電子天びんに適用する。また、ここに示す定期点検はトレーサビリティ体系を有する校正機関による校正をもってかえることができる。

3 用語

- ・器差：はかりの指示値から質量の（みなしの）真の値を引いた値。
- ・協定質量：温度 20 、空気密度 1.2 kg/m³ の環境においてつりあう密度 8,000kg/m³ の標準分銅の質量。
- ・検定公差：検定において許容される器差。
- ・指示値：測定器または測定システムが提示する量の値。
- ・実目量（d）：最小表示。目量より小さい量の表示。はかりの器差又は計量値の決定に使用することができる。
- ・実用標準：測定器または測定システムの校正または検証をするために、日常的に用いる測定標準。
- ・常用参照標準：ある組織又はある場所で、ある種類の量の他の測定標準を校正するために指定される測定標準。
- ・目量(e)：隣接する実目量を除く、目盛標識のそれぞれが表す物象の状態の量の差。感量（はかりが反応することができる質量の最小変化）を含む。最小表示（d）の 10 倍。
- ・ひょう量：加算式風袋量を考慮しないで計量することができる最大の量。

4 方法

1 . 点検しようとする実用標準天びんの情報

導入時に校正機関が発行した校正証明書及び実機を確認し、管理番号、製造者名、型式、ひょう量、目量及び最小表示単位（実目量）を点検記録簿に記載する。＜天びん定期点検記録簿 1＞

2 . 等級と検定公差

天びんの等級と検定公差（最大許容誤差）を決定する。＜天びん定期点検記録簿 1 及び 2＞

- （1）天びんの最小表示（d）とひょう量との組み合わせにより等級を決定し（表 1）、決定した等級に応じて検定公差を設定する（表 2）。
- （2）デュアルレンジの天びん（副目量はかり）は、レンジ毎に等級と検定公差を設定する。

表1 等級

最小表示 d	目量 e	最大目量数 = ひょう量 / 目量e			
		500	5,000	50,000	>50,000
10> 1g	10g	4	3	2	1
0.1g	1g	4	3	2	1
0.01g	0.1g	3	3	2	1
0.001g	0.01g	2	2	2	1
0.0001g	0.001g	2	2	2	1
<0.0001g	0.0001g	AA	AA	AA	AA

表2 検定公差

等級	分銅の重さの目量数 = 分銅の重さ / 目量 e								
	50	200	500	2,000	5,000	20,000	50,000	200,000	>200,000
4	±0.5e	±1e	±1.5e						
3	±0.5e	±0.5e	±0.5e	±1e	±1.5e				
2	±0.5e	±0.5e	±0.5e	±0.5e	±0.5e	±1e	±1.5e		
1	±0.5e	±0.5e	±0.5e	±0.5e	±0.5e	±0.5e	±0.5e	±1e	±1.5e
AA	±1e	±1e	±1e	±1e	±1e	±1e	±1e	±2e	±3e

3. 点検に用いる常用参照標準分銅 (参照分銅)

- (1) JCSS ロゴマーク付標準分銅 (ステンレス鋼製)(E2、F1 または F2 級) を用いる。
- (2) 使用する分銅の等級は、JIS B 7609 表2 から目量の ±1/3 以下の最大許容誤差のものを目安とする。
- (3) 参照分銅はトレーサビリティ体系を有する校正機関による校正がなされており、原則、有効期限 (3年) 以内のものを使用する。
- (4) 繰り返し性の点検にはひょう量の 1/2 付近またはそれ以上でひょう量以下の単一分銅を用いる。
- (5) 偏置誤差の点検にはひょう量の 1/3 ~ 1/2 付近またはそれ以上でひょう量以下の単一分銅を用いる。
- (6) 正確さの点検には以下の点を参考にして、かつ、ひょう量の約 1/4、約 1/2、約 3/4、ひょう量の 4 点等、測定間隔はなるべく等分になるようにする。
 - 1) ひょう量範囲を均等に分割した値またはその近辺
 - 2) 検定公差の切り替わる点
 - 3) 点検者が通常の測定において、頻度高く使用する荷重域
- (7) 風袋としてひょう量の 1/4 ~ 1/2 程度の分銅を用い、ひょう量以下となるように荷重分銅を選択する。
- (8) それぞれの分銅の協定質量及び拡張不確かさを校正機関が発行した校正証明書から、また、最大許容誤差を JIS B 7609 表2 から点検記録簿に記載する。 <天びん定期点検記録簿 2>
- (9) 参照分銅はピンセット及び手袋等を用いて、ひょう量皿の上に静かに載せる。

4. 外観及び機能

以下の項目について外観及び機能上に異常のないことを確認する。 <天びん定期点検記録簿 3>

- (1) 水準器(水平器): 水平であること。
- (2) ウォームアップ: 規定された時間、電源を投入した状態にしておく。
- (3) 表示器: 数字や記号に欠損がなく、安定であること。
- (4) 振動・気流の影響: ないこと。
- (5) 磁性の影響: 無負荷の天びんに分銅を近づけて、指示値がかわらないこと。
- (6) 分銅慣らし: 分銅を点検の3時間以上前から点検しようとする室内に置き、雰囲気と平衡化させる。

5. 点検環境 <天びん定期点検記録簿 4>

点検は以下の環境下で実施する。

- (1) 温度: 室温: 15~28
- (2) 相対湿度: 約30%~70%の範囲
- (3) 気圧: 台風等の悪天候時を避ける

6. 点検手順

- (1) 繰り返し性(デュアルレンジの場合は大小レンジ共に点検する。)

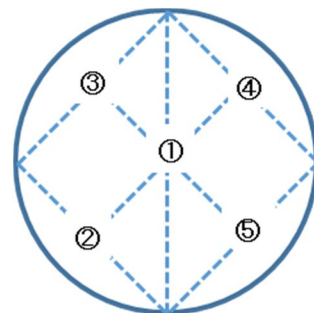
<天びん定期点検記録簿 5(1)>

- 1) ひょう量の1/2付近またはそれ以上の単一分銅を6回以上載せ降ろしし、ゼロ点と荷重時の指示値を記録する。ゼロ点の指示値を記録する代わりに、毎回表示をゼロに設定してから荷重を載せて荷重時の指示値のみ記録する方法でもよい。
- 2) ゼロ点と荷重時の指示値それぞれ(前項でゼロ点の測定をしなかった場合は荷重時の値のみ)において、指示値(I) (荷重時の指示値 I_w ゼロ点指示値 I_0) を求め、載せた分銅の協定値との差(器差)を算出し、その値が検定公差以内であれば「適」とする。

- (2) 偏置誤差(デュアルレンジの場合は大レンジのみでも良い。)

<天びん定期点検記録簿 5(2)>

- 1) ひょう量の1/3~1/2付近またはそれ以上の単一分銅を右記の位置に順番(. . .)に乗せ、指示値を記録する。
- 2) 中央に乗せた値2つの平均値と、偏置誤差(中央以外の位置での値の差)がすべて検定公差以内であれば「適」とする。



- (3) 正確さ <天びん定期点検記録簿 5(3)>

- 1) 設定した観測点に対応する分銅を以下の順番で載せて指示値を記録する。

ゼロ点 第1(最小)観測点 第2観測点 第3観測点 最大観測点(ひょう量付近) ゼロ点

- 2) 前項で求めた値から器差を算出し、それらすべてが検定公差以内であれば「適」とする。

- 3) 風袋荷重用として、ひょう量の 1/4 程度の重さの分銅を負荷し、風袋引きを行う。指示値がゼロであることを確認し、校正用分銅(ひょう量の 1/4 程度)を皿の中央に載せ、指示値を記録する。風袋荷重用として、ひょう量の 1/2、3/4 程度の重さの分銅を用いて、同様に指示値を記録する。
- 4) 前項で求めた値から器差を算出し、それらすべてが検定公差以内であれば「適」とする。

5 頻度

年に 1 回実施する。

6 引用文書

- ・ JCG203S21 不確かさの見積もりに関するガイド(はかり)
- ・ JIS B 7611-1 : 非自動はかり - 性能要件及び試験方法 - 第 1 部 : 一般計量器
- ・ JIS B 7609 : 分銅

7 記録

様式 1 天びん 定期点検記録簿

様式 1

天びん 定期点検記録簿

点検年月日:

点検実施者:

1. 点検する電子天びん

管理番号	天びん-1
製造者名	〇〇〇(株)
型式	〇〇〇

小レンジ

精度等級	2	
ひょう量	100	g
目量(e)	1	mg
最小表示単位 実目量(d)	0.1	mg

大レンジ

精度等級	2	
ひょう量	220	g
目量(e)	10	mg
最小表示単位 実目量(d)	1	mg

2. 点検に用いる参照分銅

No	公称値(g)	協定質量(g)	拡張不確かさ(mg)	最大許容誤差(mg)	等級	検定公差
1	0.1	0.100013	0.014	0.05	F 1	±0.5mg
2	20	20.000048	0.036	0.25	F 1	±0.5mg
3	50	50.000042	0.10	0.3	F 1	±0.5mg
4	100	100.000059	0.20	0.5	F 1	± 1mg
5	200	199.999901	0.25	1	F 1	± 1mg

3. 外観及び機能

水準器・水平	良・不良
ウォームアップ	適・不適
表示の安定性	正常・不良
振動・気流の影響	有・無
磁性の影響	有・無
分銅慣らし	適・不適

4. 点検環境

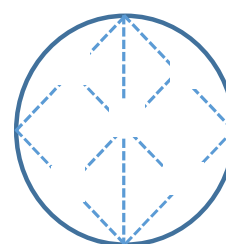
	範囲内
温度	○
相対湿度	○
気圧	○

5. 測定結果

(1) 繰り返し性

参照分銅 3		検定公差: ±0.5 mg				
回数	協定質量 (L)	荷重時の指示値 (I _w)	ゼロ点指示値 (I ₀)	指示値 (I = I _w - I ₀)	器差 (I - L)	判定
	g	g	g	g	mg	
1	50.000042	50.0001	0.0000	50.0001	0.068	適
2	50.000042	50.0002	0.0001	50.0001	0.058	適
3	50.000042	50.0001	0.0000	50.0001	0.048	適
4	50.000042	50.0001	0.0000	50.0001	0.048	適
5	50.000042	50.0001	0.0000	50.0001	0.048	適
6	50.000042	50.0001	0.0000	50.0001	0.068	適
					標準偏差 =	0.0098
					平均値 =	0.0563

参照分銅 5		検定公差: ±1 mg				
回数	協定質量 (L)	荷重時の指示値 (I _w)	ゼロ点指示値 (I ₀)	指示値 (I = I _w - I ₀)	器差 (I - L)	判定
	g	g	g	g	mg	
1	199.999901	200.000	0.000	200.000	0.099	適
2	199.999901	200.000	0.000	200.000	0.099	適
3	199.999901	200.000	0.000	200.000	0.099	適
4	199.999901	200.000	0.001	199.999	-0.901	適
5	199.999901	200.000	0.000	200.000	0.099	適
6	199.999901	200.000	0.000	200.000	0.099	適
					標準偏差 =	0.4082
					平均値 =	-0.0677



(2) 偏置誤差

参照分銅 3		検定公差: ±0.5 mg		
位置	協定質量 (L)	指示値 (I)	の平均値との差	判定
	g	g	mg	
	50.000042	50.0001	-	
	50.000042	50.0002	-0.1	適
	50.000042	50.0001	0.0	適
	50.000042	50.0001	0.0	適
	50.000042	50.0001	0.0	適
	50.000042	50.0001	-	
			最大差 =	0.10 mg

参照分銅 5		検定公差: ± 1 mg		
	協定質量 (L)	指示値 (I)	の平均値との差	判定
位置	g	g	mg	
	199.999901	200.000	-	
	199.999901	200.000	0.0	適
	199.999901	200.000	0.0	適
	199.999901	199.999	1.0	適
	199.999901	200.000	0.0	適
	199.999901	200.000	-	
最大差=				1.0 mg

(3) 正確さ:

風袋なし

		検定公差: ± 0.5 mg / 1 mg		
分銅 No.	協定質量 (L)	指示値 (I)	器差 (I - L)	判定
	g	g	mg	
1	0.100013	0.1001	0.087	適
2	20.000048	20.0000	-0.048	適
3	50.000042	50.0000	-0.042	適
4	100.000059	100.0000	-0.059	適
5	199.999901	199.999	-0.901	適

風袋あり

		検定公差: ± 0.5 mg / 1 mg			
風袋分銅	分銅 No.	荷重分銅の協定質量 (L)	指示値 (I)	器差 (I - L)	判定
g		g	g	mg	
50	3	50.000042	50.0000	-0.042	適
100	3	50.000042	50.000	-0.042	適
150	3	50.000042	50.001	0.958	適

6. 総合判定

適 ・ 不適

管理責任者: _____ 印

例 示

電子式非自動はかり（電子天びん）の 日常点検標準作業書

制定日： 年 月 日
改訂日： 年 月 日

作成者： 年 月 日 印

確認者： 年 月 日 印

承認者： 年 月 日 印

文書改訂の履歴

版数	改訂日	改訂内容	作成者	承認者
初版				
第2版				
第3版				
第4版				
第5版				
第6版				
第7版				
第8版				
第9版				
第10版				

目 次

- 1 目的
- 2 適用範囲
- 3 方法
- 4 記録

1 目的

天びんの管理基準からの逸脱を事前に検知するために、定期的な性能検証のための手順を示す。

2 適用範囲

食品の検査に用いるセミマイクロ天びん、マクロ天びん（または分析用天びん）及び上皿天びん（又ははかり）の電子天びんに適用する。

3 方法

1 日常点検

（1）使用開始時点検

使用者は機器を用いて測定するときは、機器使用開始時点検を行う。

（2）使用終了時点検

使用を終了するとき（メインスイッチを切る場合）は使用終了時点検を行う。

2 日常点検手順

使用者は機器の使用を開始する前及び使用を終了するとき（メインスイッチを切る場合）は日常点検手順（表）に従って点検し、日常点検簿に記入する。点検に用いる分銅はピンセット及び手袋等を用いて、ひょう量皿の上に静かに載せる。

日常点検手順（表）

点検項目	点検方法	管理基準	処置	
天 秤 の 状 態	外 観	秤量室及び天秤の周囲に試料等が散乱していないか確認すること	試料、試薬が散乱していないこと 清掃を行なう	
	水 平	水準器により水平を確認すること	水平であること 水平に調節する	
	秤量皿	ひょう量皿が汚れていないか確認する フックの点検（吊下型） 支持部の点検（上皿型）	汚れていないこと きちんと掛っている きちんと掛っている	清掃を行う 正常な位置にセットする
	作動性	表示部を確認すること	エラー等の表示を示さず表示が安定している	風圧等の影響を除く 修理する
	自動校正	自動校正機能が備わっている天秤は、校正を実施すること	エラー等の表示を示さず表示が安定している 正常にならない時は修理を依頼する。	

計 量	50g 分銅	ゼロ点調整後，分銅50gを皿の中央に載せ，計量値と分銅の質量の差を求める	計量値と分銅の質量の差が基準範囲内 ¹ であること	内蔵分銅で校正する 内臓分銅による校正を行っても基準範囲内にならない場合は修理を依頼する
	ゼロ点	上記分銅で計量後，分銅を除いたときの表示を確認する	ゼロを表示すること	取扱説明書に従い調整する 正常にならない場合は修理を依頼する

1) : セミマイクロ天びんの許容誤差は±〇〇mg、マクロ天秤の許容誤差は±〇〇mg、上皿天びんの許容誤差は±〇〇mgとする。

<参考> 天びんの分類（読み取り限度に従って分類）

読取限度	用語	通常のひょう量
0.1 μg	ウルトラマイクロ天びん	5g 未満
1 μg	マイクロ天びん	1 ~ 25g
10 μg	セミマイクロ天びん	30 ~ 200g
0.1 mg	マクロ天びんまたは分析用天びん	50 ~ 500g
1mg以上	上皿天びんまたははかり	100g 以上

4 記録

様式 1 天びん 日常点検簿

様式 1

天びん 日常点検簿

管理番号：〇-〇 ()

機 種：

分 類：セミマイクロ天びん マクロ天びん 上皿天びん

使用分銅：No.： 質量：50g (計量値 g) 管理基準：〇〇mg

点検項目	天びんの状態				自動校正	計量値		判定	点検者
	外観	水平	秤量皿	作動性		50g分銅	ゼロ点		
管理基準	清潔 整頓	水平	清潔 指示部の 安定性	エラーなし 表示安定	エラーなし 表示安定	管理 基準内	ゼロを 表示		
月日	区分								
	開始 終了							良好 / 不良 良好 / 不良	
	開始 終了							良好 / 不良 良好 / 不良	
	開始 終了							良好 / 不良 良好 / 不良	
	開始 終了							良好 / 不良 良好 / 不良	
	開始 終了							良好 / 不良 良好 / 不良	
	開始 終了							良好 / 不良 良好 / 不良	
	開始 終了							良好 / 不良 良好 / 不良	
	開始 終了							良好 / 不良 良好 / 不良	
	開始 終了							良好 / 不良 良好 / 不良	
	開始 終了							良好 / 不良 良好 / 不良	
	開始 終了							良好 / 不良 良好 / 不良	
	開始 終了							良好 / 不良 良好 / 不良	

管理責任者確認： 年 月 日 印

例 示

実用標準分銅の 内部校正（値付け）標準作業書

制定日： 年 月 日
改訂日： 年 月 日

作成者： 年 月 日 印

確認者： 年 月 日 印

承認者： 年 月 日 印

文書改訂の履歴

版数	改訂日	改訂内容	作成者	承認者
初版				
第2版				
第3版				
第4版				
第5版				
第6版				
第7版				
第8版				
第9版				
第10版				

目 次

- 1 目的
- 2 適用範囲
- 3 用語
- 4 方法
- 5 引用文書
- 6 記録
- 7 トレーサビリティ体系図

1 目的

日常点検で使用する実用標準分銅を校正（値付け）することにより、計量の精確さを確保することを目的とする。

2 適用範囲

食品検査で用いる電子天びんの日常点検で使用する JIS M1 級以下相当の実用標準分銅に適用する。

3 用語

- ・協定質量：温度20℃、空気密度1.2kg/m³の環境においてつりあう密度8,000kg/m³の標準分銅の質量。
- ・指示値：測定器または測定システムが提示する量の値。
- ・実目量（d）：最小表示。目量より小さい量の表示。はかりの器差又は計量値の決定に使用することができる。
- ・実用標準：測定器または測定システムの校正または検証をするために、日常的に用いる測定標準。
- ・常用参照標準：ある組織又はある場所で、ある種類の量の他の測定標準を校正するために指定される測定標準。
- ・目量（e）：隣接する実目量を除く、目盛標識のそれぞれが表す物象の状態の量の差。感量（はかりが反応することができる質量の最小変化）を含む。最小表示（d）の10倍。
- ・ひょう量：加算式風袋量を考慮しないで計量することができる最大の量。

4 方法

本標準作業書では、常用参照標準分銅（参照分銅）として E2 及び F1 級の JCSS ロゴマーク付き標準分銅を用いて、JIS M1 級以下相当の実用標準分銅（試験分銅）を校正（値付け）する場合の方法である。

参照分銅と試験分銅は JIS B 7609 :2008 の質量測定法/等量比較法（ABA 法）C4.2 に示された ABA 法を用いて質量を比較測定する。なお、試験分銅の最小測定回数は5回とした。

1 校正しようとする実用標準分銅（試験分銅）

（1）試験分銅が JIS 規格品である場合は等級、公称質量及び最大許容誤差（JIS B 7609 表2）等を校正記録簿に記載する。 <分銅 校正（値付け）記録簿 1>

（2）試験分銅はピンセット及び手袋等を用いて、ひょう量皿の上に静かに載せる。

2 校正に用いる常用参照標準分銅（参照分銅）

（1）参照分銅：JCSS ロゴマーク付標準分銅（E2 または F1）を用いる。

（2）参照分銅はトレーサビリティ体系を有する校正機関による校正がなされており、原則、有効期限（3年）以内のものを使用する。

（3）分銅の管理番号、校正証明書番号、等級、公称値、協定質量及び拡張不確かさを校正機関が発行した校正証明書から、また、最大許容誤差を JIS B 7609 表2 から校正記録簿に記載する。

<分銅 校正（値付け）記録簿 2>

- (4) 参照分銅は天びん及び分銅の内部校正及び定期点検以外には使用しない。
- (5) 参照分銅はピンセット及び手袋等を用いて、ひょう量皿の上に静かに載せる。

3 校正に用いる常用参照標準天びん (参照天びん)

天びん：トレーサビリティ体系を有する校正機関により校正された常用参照標準天びん(参照天びん)を用いる。

校正記録書及び実機を確認し、管理番号、製造者名、型式、精度等級、ひょう量、目量、最小表示単位(実目量)を校正記録簿に記載する。 <分銅 校正(値付け)記録簿 3>

4 内部校正の頻度

試験分銅は参照分銅及び校正直後の参照天びんを用いて2年に1回以上校正する。

5 参照天びんの外観及び機能 <分銅 校正(値付け)記録簿 3>

以下の項目について外観及び機能上に異常のないことを確認する。

- (1) 水準器(水平器): 水平であること。
- (2) ウォームアップ: 規定された時間、天びんの電源を投入した状態にしておく。
- (3) 表示器: 数字や記号に欠損がなく、安定であること。
- (4) 振動・気流の影響: ないこと。
- (5) 磁性の影響: 無負荷の参照天びんに分銅を近づけて、指示値が変わらないこと。
- (6) 分銅慣らし: 分銅を校正の3時間以上前から校正室内に置き、室温と平衡化させる。

6 校正環境 <分銅 校正(値付け)記録簿 4>

校正は以下の環境下で実施する。

- (1) 温度: 室温: 15~28
- (2) 相対湿度: 約30%~70%の範囲
- (3) 気圧: 台風等の悪天候時を避ける

7 校正

(1) 質量差 <分銅 校正(値付け)記録簿 5>

参照天びんを用いて、試験分銅を挟み込む形で、参照分銅および試験分銅を交互に測定する。天びん指示のドリフトの影響を補償するためにAを参照分銅、Bを試験分銅として、ABA(A1,B1 A2)の3測定法を実施する。

$$\Delta I = B1 - (A1 + A2) / 2$$

A : 参照分銅

B : 試験分銅

ΔI : 天秤指示値の差 (質量差)

(2) 校正値の算出 <分銅 校正 (値付け) 記録簿 6>

ABA 法を 5 反復実施し, それらの質量差の平均を算出し, 参照分銅の校正証明書記載の協定値から質量差の平均値を加えたものを内部校正値とする。

1) 試験分銅を挟む参照分銅の測定結果の平均値を算出する。

(例: 参照分銅 1 回目と 2 回目の平均値 平均値 A)

2) 試験分銅と参照分銅の平均値の差 (質量差) を算出する。

(例: 被校正分銅 1 回目と平均値 A の差 質量差 A)

3) 質量差の平均を算出する。

(例: 質量差 5 回 の平均 質量差の平均)

4) 参照分銅の校正証明書記載の協定値に質量差の平均を加えたものを内部校正値とする。

8 試験分銅の JIS 等級への適合性評価

試験分銅の適合性について必要に応じて評価する。 <分銅 校正 (値付け) 記録簿 8>

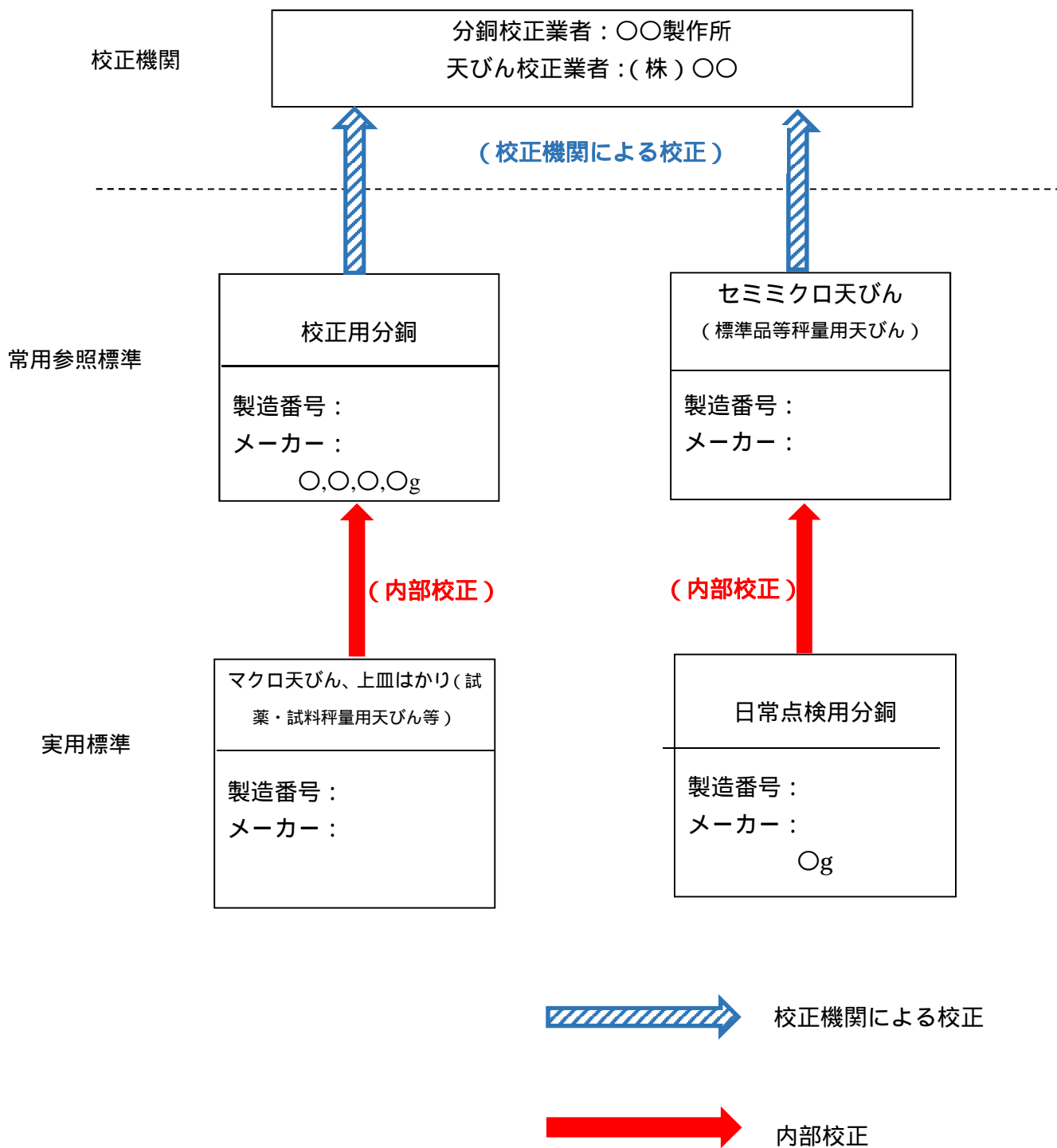
5 引用文書

- ・ JIS B7609 : 2008 分銅
- ・ JCG203S11 不確かさの見積もりに関するガイド (分銅等)

6 記録

様式 1 分銅 校正 (値付け) 記録簿

7 トレーサビリティ体系図



様式 1

分銅 校正(値付け)記録簿

校正年月日: _____

校正実施者: _____

1. 校正する試験(実用)分銅

管理番号	
等級	M1
公称質量	50 g
最大許容差	3 mg

2. 校正に用いる参照分銅

管理番号	1
校正証明書番号	
等級	F1
公称値	50 g
協定質量	50.000042 g
協定質量-公称値	0.000042 mg
拡張不確かさ	0.10 mg
最大許容誤差	0.3 mg

3. 校正に用いる参照天びん

管理番号	天びん-1
製造者名	〇〇〇(株)
型式	〇〇〇
精度等級	AA
ひょう量	100 g
目量(e)	0.1 mg
最小表示単位 実目量(d)	0.01 mg

3. 天びんの外観及び機能

水準器・水平	良・不良
ウォームアップ	適・不適
表示の安定性	正常・不良
振動・気流の影響	有・無
磁性の影響	有・無
分銅慣らし	適・不適

4. 校正環境

	範囲内
温度	○
相对湿度	○
気圧	○

5. 質量差

n	参照分銅(A)	試験分銅(B)	質量差 (I)
	B1-(A1+A2)/2		
	g	g	mg
1	50.0001	50.0000	-0.1
2	50.0001	50.0000	-0.1
3	50.0001	50.0000	-0.1
4	50.0001	50.0000	-0.1
5	50.0001	50.0001	0
6	50.0001	-	-
質量差の平均 =			-0.08

6. 校正値の算出

天びん表示の平均質量差	-0.08	mg	平均値 n = 5
試験分銅の内部校正値	49.999962	g	参照分銅の協定質量 + /1000

7. 試験分銅のJIS等級への適合性評価

試験分銅の等級	公称質量	最大許容差	協定質量-公称質量 (5 -)	判定
	g	mg	mg	
M1	50	3	-0.038	適

8. 総合判定

適 ・ 不適

管理責任者: _____ 印

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（1）
枝豆試料を用いた残留農薬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	高坂 典子	（一財）食品薬品安全センター秦野研究所	室長補佐
	平林 尚之	（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
	佐藤 夏岐	（一財）食品薬品安全センター秦野研究所	研究員
	池田 真季	（一財）食品薬品安全センター秦野研究所	研究員
	八木 真美	（一財）食品薬品安全センター秦野研究所	研究員

研究要旨

食品衛生検査を実施する試験所におけるデータの信頼性確保のためには内部および外部精度管理が必須である。この一環で行う外部精度管理調査（技能試験）を実施する上で、適正な技能試験用試料の作製は非常に重要であり、それらの対象物質濃度の均質性および安定性の確保は必須である。

今年度は残留農薬検査の技能試験用に枝豆ペーストを試料基材に用い、既に確立した調査試料の作製方法により 4 種農薬（ダイアジノン、クロルピリホス、馬拉チオンおよびフェニトロチオン）を添加し濃度の異なる 2 種類の枝豆試料を作製した。これらを用い、本研究の研究分担協力機関である公的検査機関 17 機関を対象に当該試料の技能試験用試料としての妥当性を確認するため、パイロットスタディとして室間共同試験を行った。均質性確認試験の結果、作製した枝豆試料 2 種類ともに均質性および安定性について良好な結果が得られた。17 機関から回収したデータについて統計処理を行い、機関別平均値および併行標準偏差等から回収率やばらつきを観察した。その結果、機関間で抽出方法や測定機器等の採用手法の相違があるものの、添加した全ての農薬について概ね、「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」の評価基準を満たす結果が得られた。以上のことから新たに開発した枝豆ペーストを用いた技能試験用の試料は、各検査機関が一般的に用いる各種試験法に対応可能な堅牢性を有する技能試験用試料として妥当であると考えられた。

A. 研究目的

食品衛生検査を実施する試験所におけるデータの信頼性確保のためには内部および外部精度管理が必須である。この一環で行う外部精度管理調査（技能試験）を実施する上で、適正な技能試験用試料（以下、調査試料）の作製は非常に重要であり、それらの対象物質濃度の均質性および安定性の確保は必須である。また、検査対象となる食品が多岐に亘ることを考慮すると、試料基材にもバリエーションが必要であり、技能試験提供者として新たな試料基材について開発を行っているところである。残留農薬検査用調査試料としてこれまで調査試料中の均質化や試料処理を考慮して水分含量が高いたんぱく質や脂質含有量の低い野菜ペーストを採用し、外部精度管理調査等において実績を残してきた。次の段階として試料処理でより高い技能が要求されると考えられる新たな調査試料を開発すべく、従来の野菜ペーストと比較してたんぱく質および脂質含有量が高い枝豆（ペースト）を基材とした調査試料作製方法を検討し、所定の水分量を添加し均質化するという新たな作製方法を平成26年から平成28年に亘り厚生労働科学研究費補助金において確立した。今年度は、この確立した方法により調査試料を作製し、技能試験用の試料としての妥当性を検討することを目的とし、パイロットスタディとして室間共同試験を行った。

B. 方法

1. 試料基材および試薬

試料基材として、市販の枝豆ペースト

を用い、標準品にはDr.Ehrenstorfer製のダイアジノン、クロルピリホス、マラチオンおよびフェニトロチオンを、内標準物質としてシグマアルドリッチ製のピレンを使用した。その他の試薬として光製薬製の注射用水（日本薬局方、以下、水）、富士フィルム和光純薬製の蒸留水、アセトニトリル（高速液体クロマトグラフ用）、アセトン、ヘキサン（n-ヘキサン）（残留農薬・PCB試験用、濃縮300）、トルエン5000（残留農薬・PCB試験用）、塩化ナトリウム、硫酸ナトリウム（無水）、リン酸水素二カリウムおよびリン酸水素二カリウム（試薬特級）を用い、器材としてGLサイエンス製のグラファイトカーボン/エチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲル積層（以下、GC/NH₂）ミニカラム（InertSep GC/NH₂、500 mg/500 mg/6 mL）を用いた。

2. 使用機器および測定条件

調査試料作製用機器として、エフ・エム・アイ製のブリクサー5プラス（以下、ブリクサー）を使用した。

試験溶液の調製における抽出では、OMNI-International製のオムニミキサーおよび東京理化学器械製の減圧濃縮装置を使用した。

試験溶液の測定は、島津製作所製のガスクロマトグラフ質量分析計（以下、GC/MS）：GCMS-QP2010を用いて行った。GC/MSによる測定には、カラムはDB-5MS（内径0.25 mm、長さ30 m、膜厚0.25 μm）、キャリアーガスにはヘリウム、カラム流量は1.7 mL/min、カラムの昇温条件は50 で1分間保持、その後毎分

25 で昇温し、125 到達後更に毎分10 で昇温し、300 に到達後10分間保持することとした。注入口温度は250 、注入量は2 μL 、イオン源温度は230 、イオン化電圧は70 eV、ポジティブモードとした。

3. 調査試料の作製

試料基材には市販の枝豆ペーストを用いた。作製方法の概略を図1に、枝豆試料A (以下、試料A) および枝豆試料B (以下、試料B) の添加農薬および添加濃度を表1に示す。

ブリクサー容器に試料基材1.80 kgを入れ、水200 mLを添加し、パルスモードで5~6秒間の混合を5回行った後、低速運転で20秒間混合し、ヘラおよび大型スパーテルで全体を混合した。同様の操作を繰り返し、合計5回行ったものを水添加枝豆試料とした (5回目は低速運転のみ行った)。

これに、添加用農薬混合標準溶液A (ダイアジノンおよびマラチオン4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、クロルピリホス100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、フェニトロチオン120 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、アセトン溶液) 10 mLを正確に添加し、パルスモードで5~6秒間の混合を5回行った後、低速運転で20秒間混合し、ヘラおよび大型スパーテルで全体を混合した。同様の操作を繰り返し、合計5回行ったものを容器No.1とした (5回目は低速運転のみ行った)。以上の操作を更に繰り返し、合計4個 (容器No.1~No.4) 作製後、順次、ステンレス製のボール (50 L容) に合わせた。その後、シリコーンゴム製ヘラで5分間混合し、分注用試料Aとした。(作製予定濃度：ダイアジノンおよびマラチオン0.020 $\mu\text{g}/\text{g}$ 、ク

ロルピリホス0.50 $\mu\text{g}/\text{g}$ 、フェニトロチオン0.60 $\mu\text{g}/\text{g}$)。

また、添加用農薬混合標準溶液B (ダイアジノン100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、クロルピリホスおよびフェニトロチオン4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、マラチオン120 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、アセトン溶液) 10 mLを正確に加え、以下、分注用試料Aと同様に操作し、作製した試料を分注用試料Bとした (作製予定濃度：ダイアジノン0.50 $\mu\text{g}/\text{g}$ 、クロルピリホスおよびフェニトロチオン0.020 $\mu\text{g}/\text{g}$ 、マラチオン0.60 $\mu\text{g}/\text{g}$)。

作製した分注用試料AおよびBをそれぞれ分注し、凍結後、配付試料とした。

4. 調査試料の品質評価

1) 調査試料の均質性および安定性

作製した試料AおよびBそれぞれについて、均質性 (作製直後) および安定性確認試験 (検査機関からのデータ回収後) を実施した。試験は、「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法」(農産物)(厚生労働省)を準用し、一斉試験法 (GC/MS) を用いて行った。分析試料は10容器とし、作製した調査試料全体から代表となるように、作製数量を「10」で除し、おおよそ得られた数の倍数ずつ系統的に抽出した。均質性の確認は、Journal of AOAC International, Vol. 76, No. 4, 926-940 (1993) の方法に従い、一元配置分散分析 (F検定) により評価した (Microsoft Excel 2010)。また、安定性の確認は、均質性確認試験と同様の試験操作を行い、均質性確認試験で得られた平均濃度に対する割合 (%) で評価した。一斉試験法で用いた試験溶液の調製方

法は以下のとおりである。

試料20.0 g (容器10個につき、各n=2)を硬質ガラス製容器 (以下、容器) に量りとり、アセトニトリル40 mLを加え、3分間ホモジナイズした後、吸引ろ過した。ろ紙上の残留物をろ紙ごと容器に戻し、アセトニトリル20 mLを加え、再び3分間ホモジナイズした後、吸引ろ過した。容器内とろ紙上の残留物をアセトニトリルでそれぞれ洗浄した。得られたろ液および洗液を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に100 mLとし、試料溶液とした。

予め塩化ナトリウム10 gおよび0.5 mol/Lリン酸緩衝液 (pH7.0) 20 mLを入れた分液漏斗 (100 mL容) に試料溶液を正確に20 mLとり、振とう機を用いて10分間振とうした。30分以上静置した後、分離した水層 (下層) を除いた。

予め硫酸ナトリウム (無水) 5 gを入れた100 mL容の三角フラスコにアセトニトリル層を全量移しとり、時々振り混ぜながら15分間静置して脱水した。硫酸ナトリウム (無水) をろ別 (綿栓ろ過) した後、ろ液 (100 mL容ナス型フラスコ) を40 以下で減圧濃縮し、溶媒を除去した。残留物にアセトニトリルおよびトルエン (3:1) 混液2 mLを加え、超音波処理により溶解した。

予めGC/NH₂ミニカラムに、アセトニトリルおよびトルエン (3:1) 混液10 mLを注入し、流出液は捨てた。このカラムをナス型フラスコ (50 mL容) にセットし、上記抽出操作で得られた溶液を注入した後、アセトニトリルおよびトルエン (3:1) 混液20 mLを注入し、全溶出液をとった (溶出速度1~2滴/秒を目安とした)。

溶出液を40 以下で1 mL以下に減圧濃縮し、これにアセトン10 mLを加えて再び40 以下で1 mL以下に減圧濃縮した。再度アセトン5 mLを加えて減圧濃縮し、溶媒を完全に除去した。

残留物にアセトンおよびヘキサン (1:1) 混液4 mLを正確に加え、超音波処理により溶解した (試料基材1 g/mLに相当)。

さらに、この溶液と試験溶液用内標準溶液をそれぞれ正確に1 mLずつ合わせて良く混合し、これを試験溶液とした (内標準濃度0.01 µg/mL、試料基材0.5 g/mL相当)。

また、定量はマトリックス添加・内標準法検量線により行った。

別に、調査試料の作製に用いた試料基材 (ブランク試料) を試験溶液の調製と同様に操作して、ブランク試験溶液とした (試料AおよびBについて各n=1)。試験溶液と同様に測定し、得られたクロマトグラム上に添加農薬の測定に影響を及ぼす妨害ピーク等がないことを確認した。

5. パイロットスタディ (室間共同試験)

残留農薬検査のパイロットスタディとして本研究の研究分担協力機関である公的機関17機関を対象に室間共同試験を実施した。検査機関には試料AおよびBを1個ずつ配付 [平成30年10月10日発送、ヤマト運輸 クール宅配便 (冷凍タイプ)] し、試料到着後の保管条件は冷凍 (約-15 ~ -30) とした。試料処理および測定操作は各検査機関の方法で実施することとし、併行分析数を5とした。また、結果報告書、

経過記録書およびアンケートを送付し、専用の返信用封筒で回収した。なお、結果報告書等の提出期限は平成30年11月26日とした。

6. データの解析

解析は当財団が実施している食品衛生外部精度管理調査で採用している以下に述べる従来方式による手法を主に、参考として、ロバスト方式、Horwitz式および棄却検定による解析を行った。また、経過記録書およびアンケートについてもとりまとめ、解析を行った。

従来方式（算術平均値および標準偏差を用いた評価方法）

各検査機関よりデータを回収後、データ・クリーニング（添加量の1/10以下および10倍以上の報告値を除外）を行い、この範囲外となる報告値および欠測のある報告値（5個未満）については、以後の解析対象から除外した。次いで各機関間および機関内の変動を検査機関の回収率（機関別平均値を添加濃度で除した百分率、%）および併行相対標準偏差（ $RSDr$ 、%）で観察した後、機関別平均値について、基本統計量、順序統計量および正規確率プロットを作成することによりデータ分布を把握した。分布に極端な歪みや尖りが観察された場合には、2シグマ（総平均値 $\pm 2 \times$ 標準偏差）以上の値を報告した機関を除外した後、同様の処理を行うこととした（以下、2シグマ処理）。最終的に各機関の z -スコア、回収率（%）および併行相対標準偏差（ $RSDr$ 、%）に基づいて各検査機関の解析を行った。なお、回収率（%）および併行相対標準偏

差（ $RSDr$ 、%）は「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について」（平成22年12月24日、食安発1224第2号、以下、妥当性評価ガイドライン）の評価基準を参考にし、 z -スコアは、機関別平均値の平均値を求めてそれを付与値としてみなし、この平均値と室間再現標準偏差（ S_R ）を用いて算出し、「食品衛生検査施設等における検査等の業務の管理の実施について」（別添）精度管理の一般ガイドライン（衛食第117号、平成9年4月1日）の評価基準に基づき評価した。

ロバスト方式（Huber's H15のロバスト平均値およびロバスト標準偏差を用いた評価方法）

で得られた解析対象データについてThe International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratoriesのrecommendationに従い、メジアン \pm メジアン $\times 50\%$ の範囲を超える報告値を除外した（以下、メジアン・クリーニング）。その後、有効データについて得られたロバスト平均値を付与値としてみなし、この平均値とロバスト標準偏差を用いて z -スコアを算出した。

Horwitz式（Huber's H15ロバスト平均値およびHorwitz式から算出した標準偏差を用いた評価方法）

Horwitz式は、化学分析法によって得られた測定値のばらつきを経験則に基づいて判断するための方法として食品分析分野で広く利用されている。本調査研究ではHorwitz式のThompsonによる修正式（以下、Horwitzの修正式）を参考として当該

調査試料濃度における室間再現相対標準偏差の予測値である $PRSD_R$ (%) を算出し、これらと で得られたロバスト平均値から z - スコアを算出した。

棄却検定

Cochran検定とGrubbs検定による棄却検定を行った。

(倫理面への配慮)

倫理面への配慮として、検査機関をコード番号化し、調査に関する秘密保持を図った。

C. D. 研究結果および考察

1. 調査試料の作製

合計約8 kg相当の濃度の異なる2種の試料を作製した (試料AおよびB)。作製した試料を180~185 gずつ分取しジッパー付袋に入れ (試料A: 41袋、試料B: 41袋)、ヒートシール後冷凍保管 (約-15 ~ -30) した。

2. 調査試料の品質評価

均質性確認試験の結果を表2に、安定性確認試験の結果を表3に示す。

1) 調査試料の均質性および安定性

一元配置分散分析による調査試料の均質性の判定は、試料AおよびBのいずれの添加農薬においても評価基準である F 値 < F 境界値 (3.020)、かつ P -値 > 0.05を満たし、均質であると判断された。また、検査機関からの結果回収後に実施した安定性確認試験では、両調査試料のいずれの添加農薬においても均質性確認試験で得られた平均濃度に対する割合 (%) が 92.5%~103%であり、当財団の評価基準

80%~120%の範囲内であり調査期間中の安定性にも問題はなかった。また、調査試料と同様に抽出したブランク試料から得られたクロマトグラムより、作製に用いた基材である枝豆ペーストは添加農薬の測定に問題がないことを確認した。

3. 室間共同試験

対象とした全17機関から結果を回収し、その測定および解析結果を表4-1~表11-3に示す。

4. データの解析

表4-1~表11-3のとおり、17機関から回収した結果について解析を行ったところ、いずれの試料および添加農薬でもデータ・クリーニングおよび欠測値により除外される機関はなかった。

従来方式

検査機関の回収率 (%) および併行相対標準偏差 (RSD_r , %) で観察した結果は、以下 に述べる。機関別平均値について、正規確率プロットを作成した (図2-1~図2-4)。図中のデータ分布を観察したところ、概ね直線状に分布していると考えられた。また、分布に極端な歪みや尖りが観察されたため、2シグマ処理を行った。クロルピリホスについてはいずれも該当機関はなかったが、ダイアジノンおよびフェニトロチオンについては試料Aで1機関ずつ該当した。また、マラチオンについては試料AおよびBでそれぞれ1機関ずつ該当し、これらは同一機関であった。

z - スコアは、データ・クリーニング後あるいは2シグマ処理後の機関別平均値の平均値を付与値としてみなし、この平

均値と室間再現標準偏差 (S_R) を用いて算出した。

その結果、試料Aの限界外機関数については、 $2 < |z\text{-スコア}| < 3$ はダイアジノン、クロルピリホスおよびマラチオンについて1機関ずつ該当した。そのうち、ダイアジノンおよびマラチオンについては同一機関であった。 $|z\text{-スコア}| > 3$ は該当しなかった。

試料Bの限界外機関数については、 $2 < |z\text{-スコア}| < 3$ はマラチオンについて2機関、その他のいずれの農薬についても1機関であった。そのうち、マラチオンおよびフェニトロチオンについては同一機関であり、また、ダイアジノンおよびマラチオンについても同一機関であった。 $|z\text{-スコア}| > 3$ は該当しなかった。

ロバスト方式

ロバスト方式についてもと同様に正規確率プロットを作成した (図2-1~図2-4)。なお、ロバスト方式の図中の青線は、解析手順に従い一定範囲を超えたデータを置換した後の最小値および最大値を示す。ロバスト方式により解析した結果、試料Bのダイアジノンおよびクロルピリホスを除くいずれの試料および農薬でも1~3機関を、メジアン・クリーニングにより除外した。この結果得られたロバスト平均値を付与値としてみなし、この平均値とロバスト標準偏差を用いて z -スコアを算出したところ、試料Aの限界外機関数については、 $2 < |z\text{-スコア}| < 3$ はダイアジノンおよびフェニトロチオンについて1機関ずつ該当した。さらに、 $|z\text{-スコア}| > 3$ はマラチオンについて1機関が該当し、これはダイアジノンにつ

いて $2 < |z\text{-スコア}| < 3$ となった機関と同一であった。

試料Bの限界外機関数については、 $2 < |z\text{-スコア}| < 3$ はダイアジノンおよびマラチオンはそれぞれ1機関、クロルピリホスは4機関が該当した。 $|z\text{-スコア}| > 3$ は該当しなかった。

Horwitz式

得られたロバスト平均値とHorwitzの修正式による室間再現相対標準偏差の予測値 ($PRSD_R$, %) から z -スコアを算出した結果、試料Aの限界外機関数については、 $2 < |z\text{-スコア}| < 3$ はフェニトロチオンについて1機関が該当した。 $|z\text{-スコア}| > 3$ は該当しなかった。

試料Bの限界外機関数については、 $2 < |z\text{-スコア}| < 3$ はダイアジノンについて1機関が該当した。 $|z\text{-スコア}| > 3$ は該当しなかった。

棄却検定

Cochran検定 (上側危険率2.5%) と Grubbs検定 (片側危険率1.25%) による棄却検定を行った結果、クロルピリホスではいずれも外れ機関はなかったが、ダイアジノンについては試料AおよびBでそれぞれ2機関ずつ、マラチオンについては試料Aで2機関、フェニトロチオンについては試料Bで3機関の外れ機関が検出された。

低濃度および高濃度試料の回収率の比較

表12に示すとおり、試料AおよびBを各農薬で低濃度群および高濃度群 (以下、低濃度および高濃度) に分類して、妥当性評価ガイドラインの回収率 (真度) についての評価基準との関係を示した結果を図3に示す。以降の図中のUCLは上部管

管理限界線（回収率120%）を、LCLは下部管理限界線（回収率70%）を示す。農薬ごとに低濃度および高濃度の回収率を機関別に比較したところ、いずれの濃度および農薬も1~4機関が管理限界線の範囲外となったが、他の機関においては概ね70%~120%の回収率が得られた。また、機関間において低濃度および高濃度で回収率に差があるものの、機関内での回収率はいずれの農薬でも類似していた。さらに、低濃度および高濃度間の回収率の有意差についてt検定により確認した結果、いずれの農薬でも回収率は等分散であり、2標本の結果には有意差は認められなかった。

各採用手法から見た回収率

経過記録書を基に、回収率に影響を及ぼす要因として抽出方法、測定機器（検出器）および検量線に着目して回収率との関係を調べた（図4~図6）。なお、図中のAvgは17機関全体の平均値を示す。

抽出方法について回収率との関係性を調べたところ、公定法（通知法）が2機関、公定法一部変更法が8機関、QuEChERS法が5機関ならびに液-液分配およびSTQ法がそれぞれ1機関であり、採用している抽出方法の機関数に偏りがあった。さらに、これらそれぞれには用いた測定機器（検出器）および検量線の種類の違いがあり、明らかな関係性を見出すには至らなかった。他の着目した2項目についても明らかな相違は認められなかった。

回収率と併行相対標準偏差

各農薬の低濃度および高濃度ごとに昇順に並び替えた回収率とそれに対応する併行相対標準偏差（ $RSDr$ 、%）を図7-1~

図7-2に示す。

妥当性評価ガイドラインに基づき、回収率および併行相対標準偏差（ $RSDr$ 、%）の結果を確認した。回収率の評価基準は、低濃度および高濃度ともに70%~120%に対し、各機関の回収率は、ダイアジンは49.1%~178%、クロルピリホスは56.4%~128%、マラチオンは42.4%~182%、フェニトロチオンは28.6%~127%であり、述べたとおり、低濃度および高濃度ともいずれの農薬においても管理限界線から外れる機関があった。一方、併行相対標準偏差（ $RSDr$ 、%）の評価基準は、いずれの農薬についても低濃度は15%未満、高濃度は10%未満が相当する。それに対し、図7-2に示すとおり管理限界線外は、フェニトロチオンについて低濃度および高濃度においてそれぞれ1機関が該当した。ちなみに、当該機関の回収率は低濃度については70%~120%の範囲内であり、高濃度については70%~120%の範囲外であった。

併行相対標準偏差と内標準法

図7-1~図7-2に検量線に内標準法を採用した機関を黒色マーカで示し、回収率および併行相対標準偏差（ $RSDr$ 、%）の関係を調べた。

内標準法は、測定装置の感度や注入量、溶解溶媒の揮発による誤差を補正することができるかとされているが、本調査研究結果では内標準法の採用の有無による併行相対標準偏差（ $RSDr$ 、%）の明らかな差は認められなかった。

なお参考として、表13-1~表13-3に本調査研究における採用手法の質問事項一覧および回答結果一覧（共通質問）を、

表14-1～表14-3に農薬別の質問事項一覧および回答結果一覧を示す。表15-1～表15-2に採用手法の度数表、表16-1～表16-4に農薬別の採用手法の度数表を示す。

E. 結論

技能試験における適正な調査試料作製は重要であり、調査対象物質の均質性および安定性の確保が必須である。また、試料基材のバリエーションが必要であり、今年度は新たに開発した作製方法による試料基材を用い、室間共同試験を実施して当該試料の妥当性を確認し以下の結論を得た。

残留農薬検査の新たな調査試料とすべく従来用いていた野菜ペーストよりもたんぱく質および脂質成分の含有量が高い枝豆ペーストを試料基材に、ダイアジノン、クロルピリホス、マラチオンおよびフェニトロチオンの4種農薬を低濃度および高濃度とするそれぞれ2濃度を設定し、試料AおよびBを作製した。これらの試料の均質性および安定性は良好な結果が得られた。室間共同試験を実施した結果、機関間で抽出方法や測定機器等の採用手法の相違があるものの、添加した全ての農薬について概ね、妥当性評価ガイドラインの評価基準である回収率70%～120%相当および併行相対標準偏差 (RSD_r , %) 10%未満または15%未満相当である結果が得られた。以上のことから新たに開発した枝豆ペーストを用いた調査試料は、各検査機関が一般的に用いる各種試験法に対応可能な堅牢性を有する技能試験用試料として妥当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

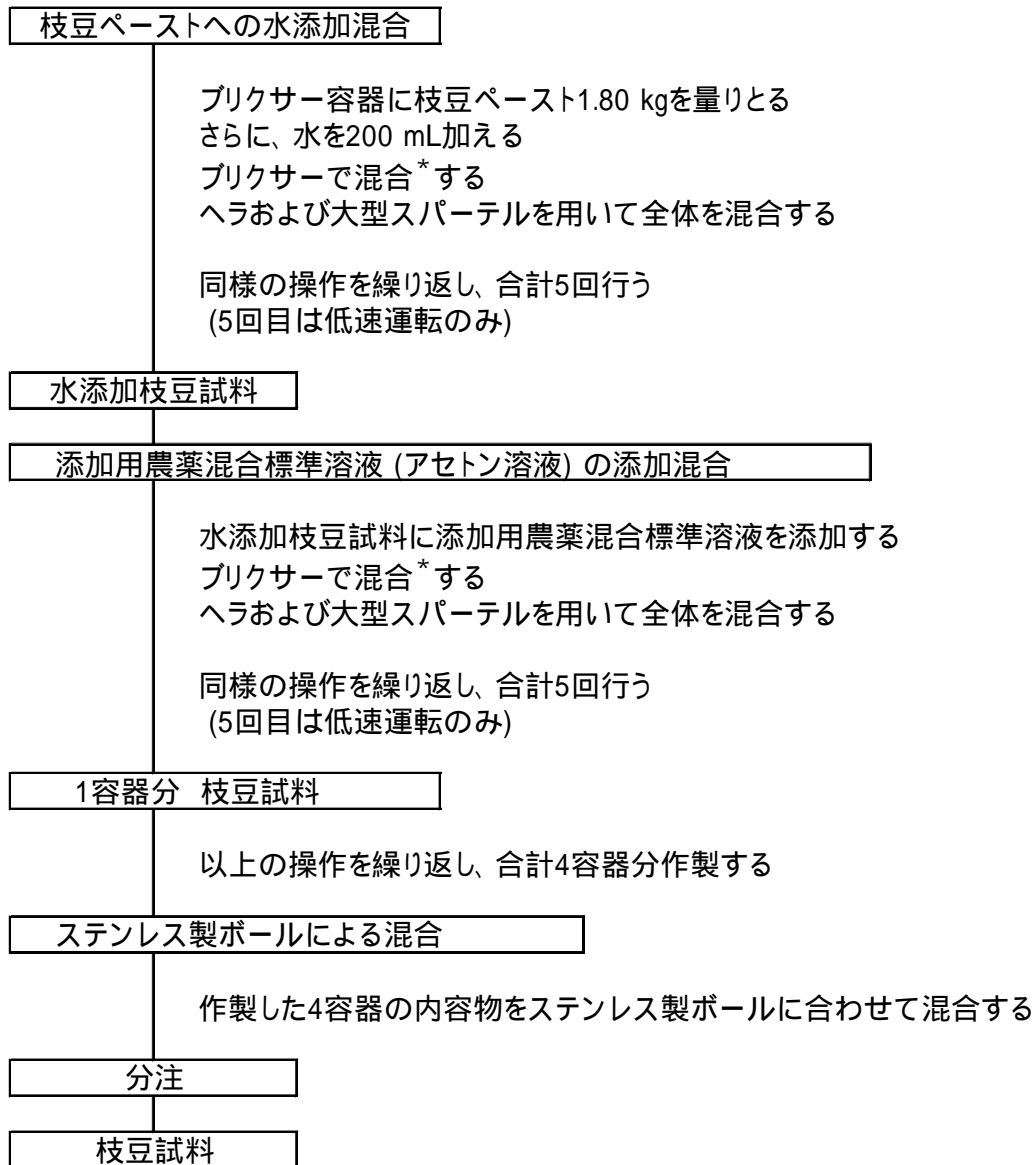
なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

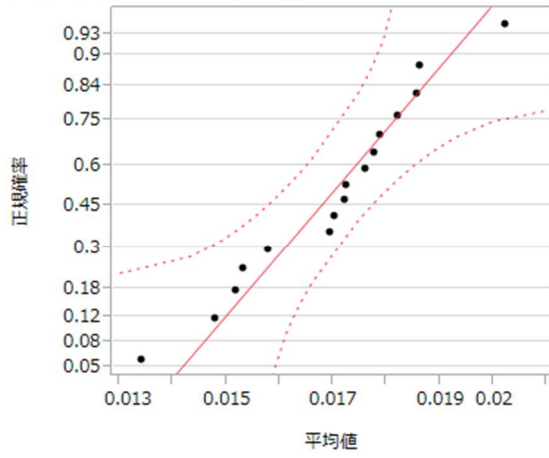
なし



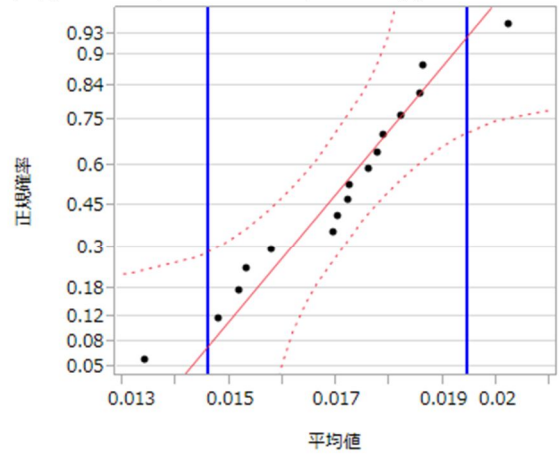
図中「*」: パルスモードで5～6秒間の混合を5回実施後、低速運転で20秒間混合

図1 枝豆試料の作製方法の概略

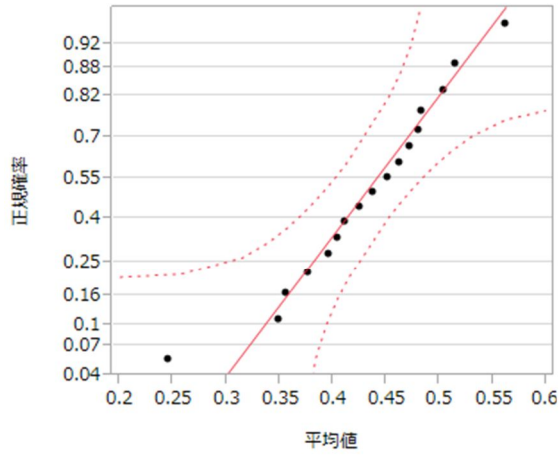
試料A 従来方式2シグマ処理後



試料A ロバスト方式メジアン・クリーニング後



試料B 従来方式データ・クリーニング後



試料B ロバスト方式データ・クリーニング後

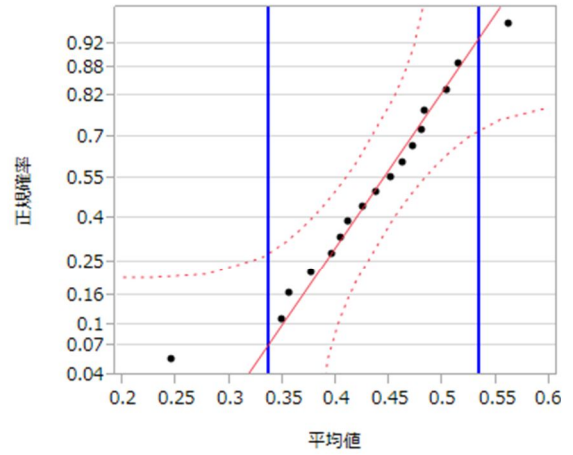
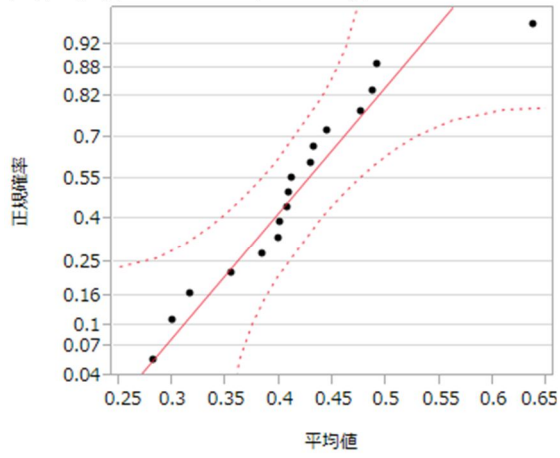
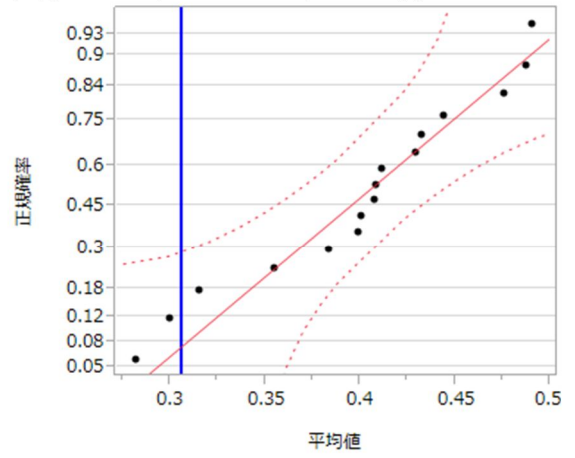


図2-1 ダイアジノンの試料別正規確率プロット

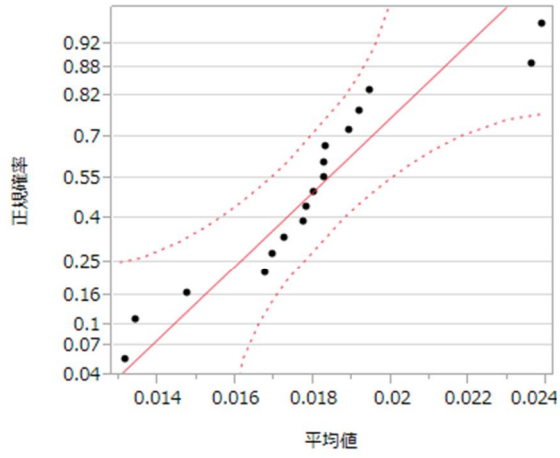
試料A 従来方式データ・クリーニング後



試料A ロバスト方式メジアン・クリーニング後



試料B 従来方式データ・クリーニング後



試料B ロバスト方式データ・クリーニング後

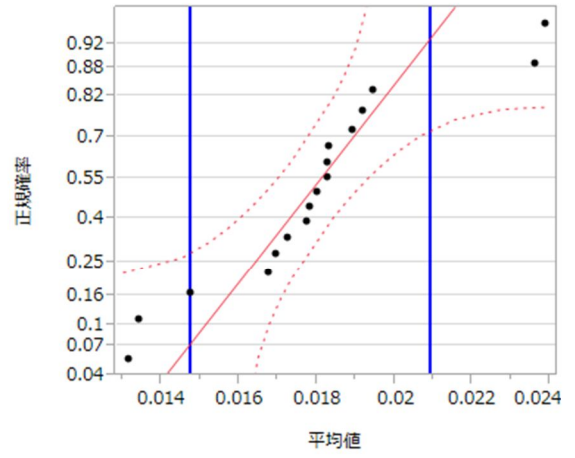
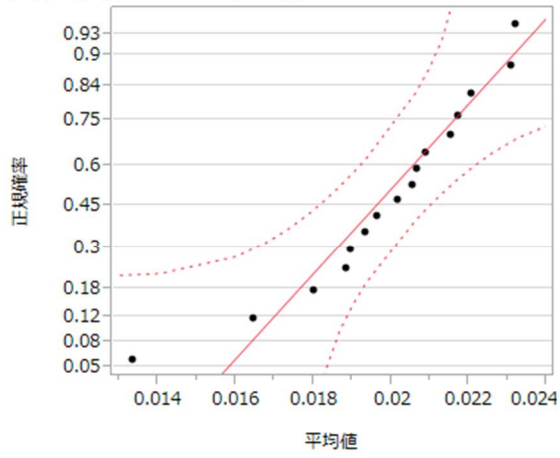
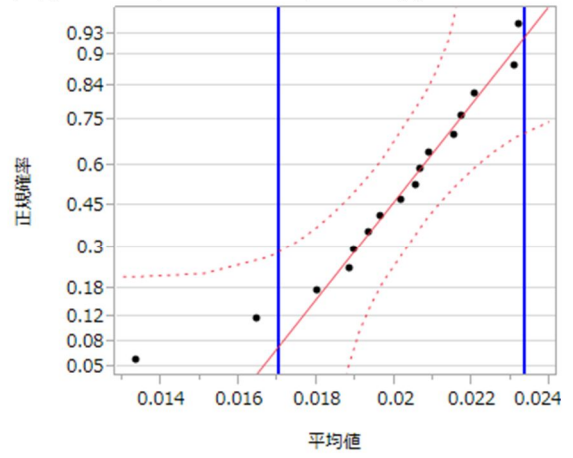


図2-2 クロルピリホスの試料別正規確率プロット

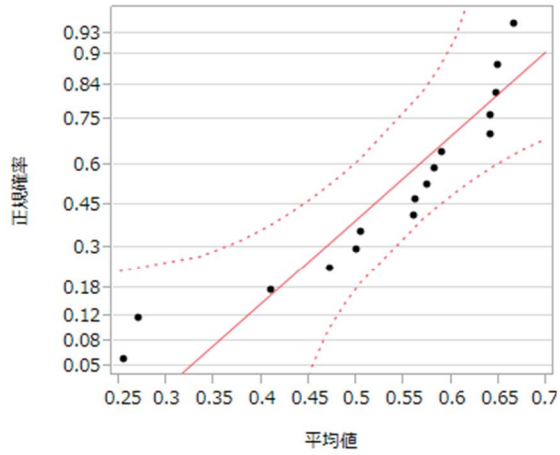
試料A 従来方式2シグマ処理後



試料A ロバスト方式メジアン・クリーニング後



試料B 従来方式2シグマ処理後



試料B ロバスト方式メジアン・クリーニング後

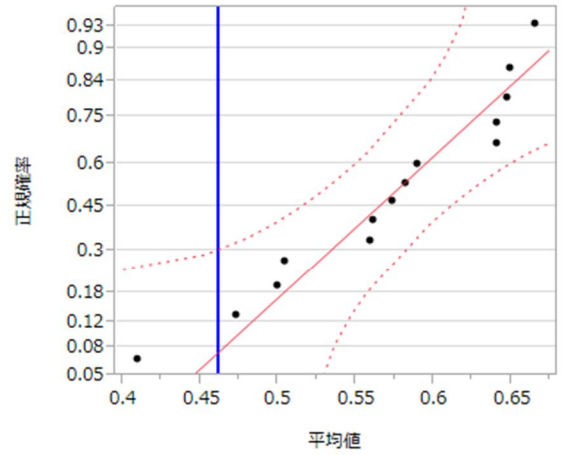
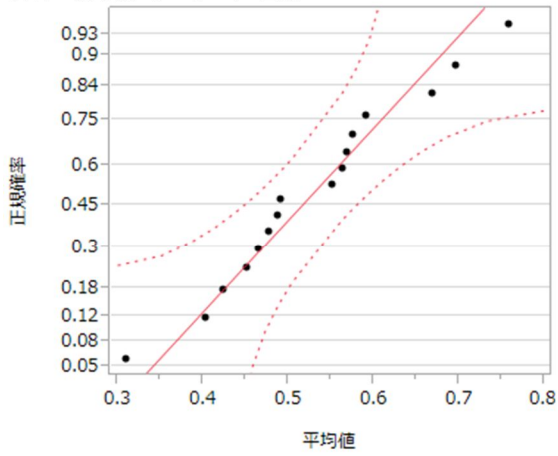
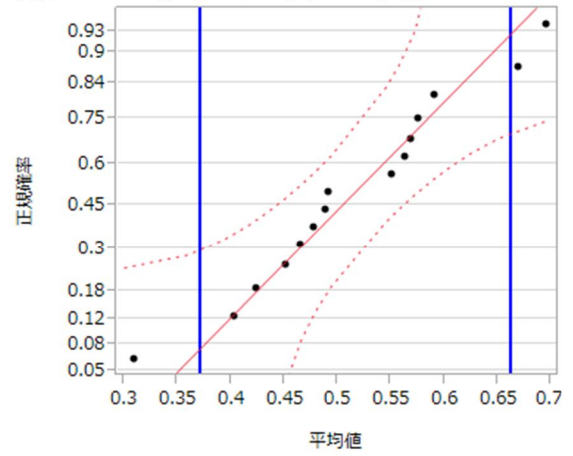


図2-3 マラチオンの試料別正規確率プロット

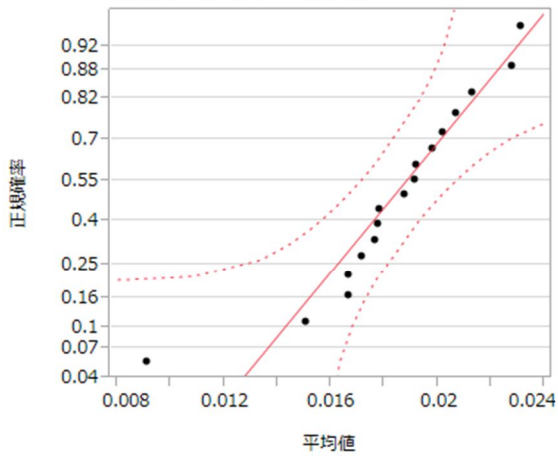
試料A 従来方式2シグマ処理後



試料A ロバスト方式メジアン・クリーニング後



試料B 従来方式データ・クリーニング後



試料B ロバスト方式メジアン・クリーニング後

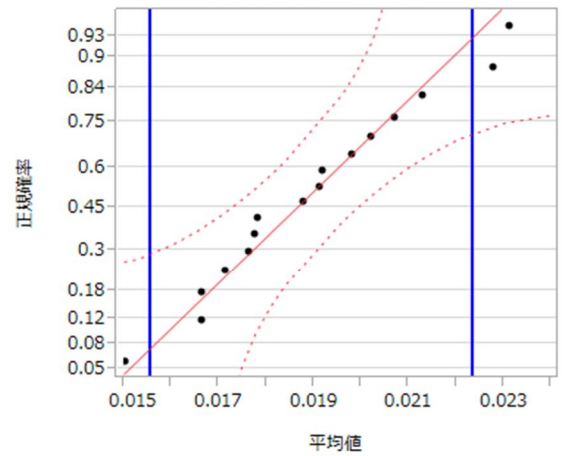


図2-4 フェニトロチオンの試料別正規確率プロット

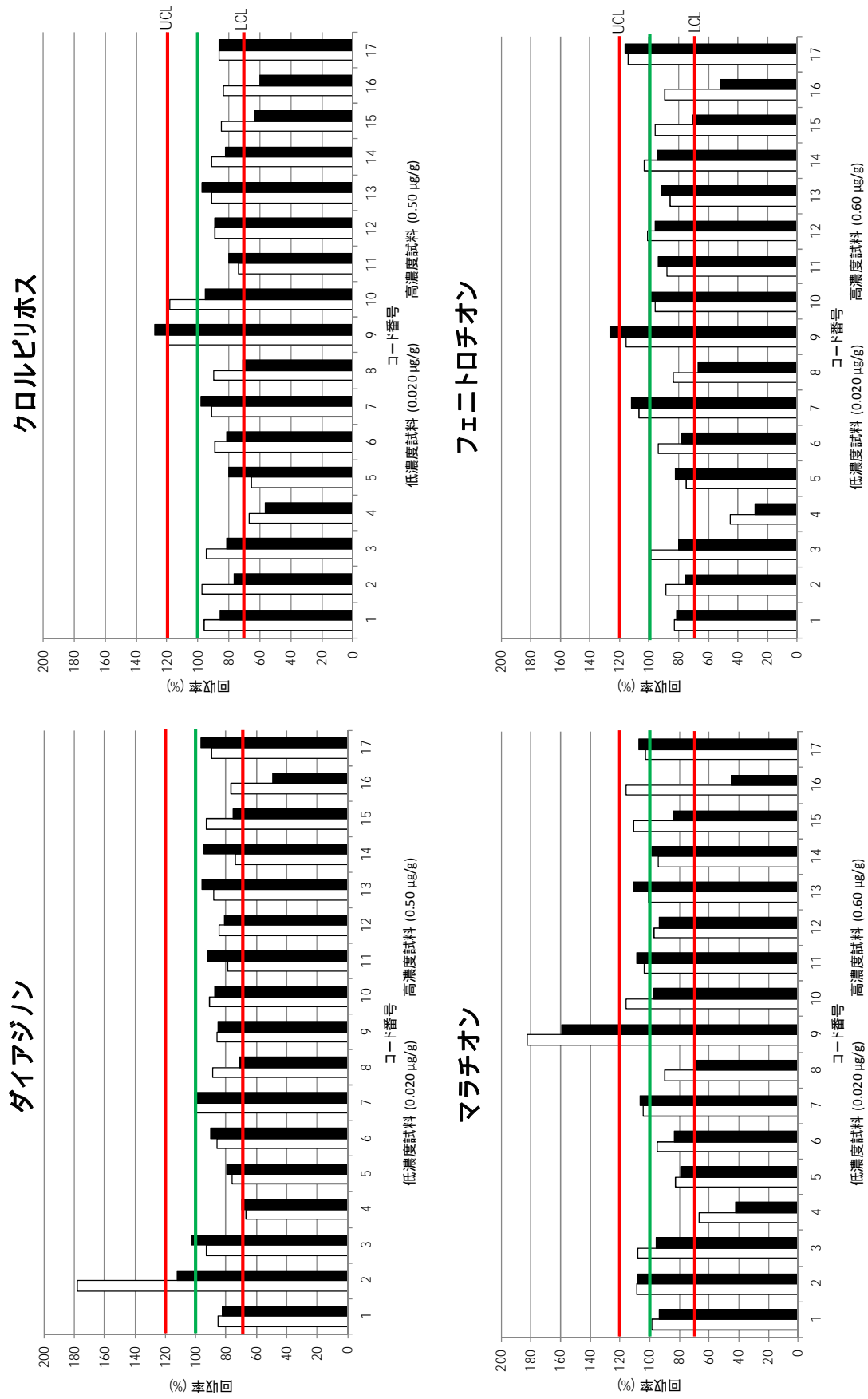
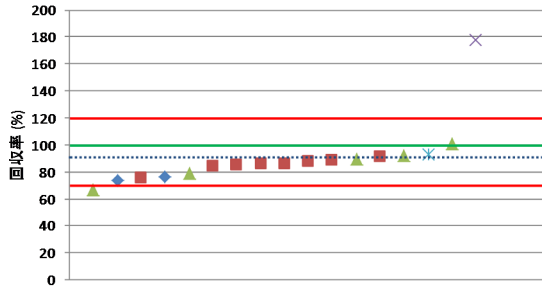


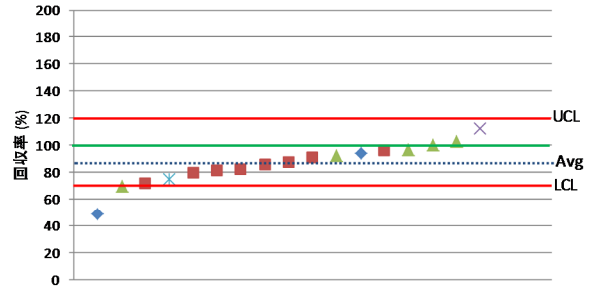
図3 機関別の低濃度および高濃度試料の回収率の比較

ダイアジノン

低濃度 (0.020 µg/g)

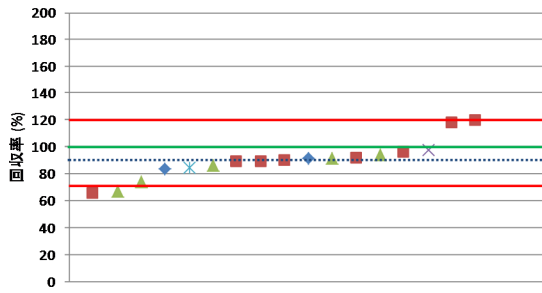


高濃度 (0.50 µg/g)

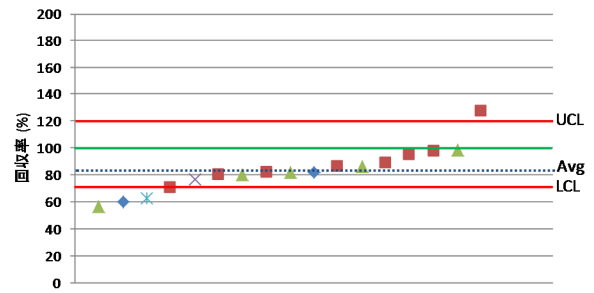


クロルピリホス

低濃度 (0.020 µg/g)

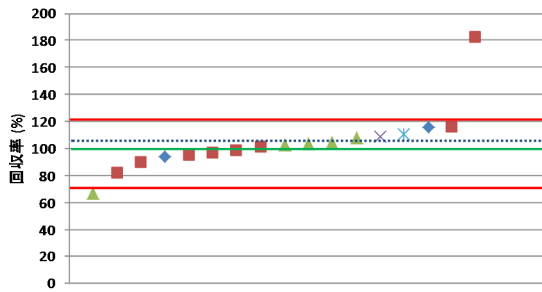


高濃度 (0.50 µg/g)

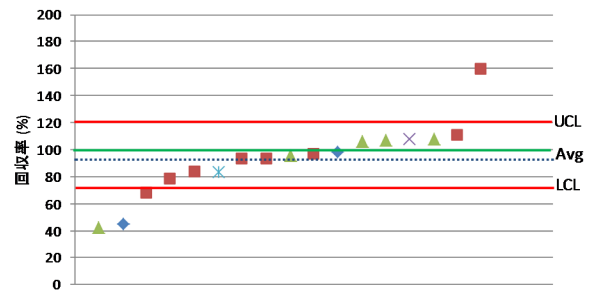


馬拉チオン

低濃度 (0.020 µg/g)

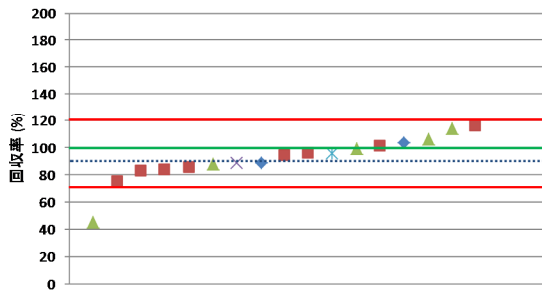


高濃度 (0.60 µg/g)

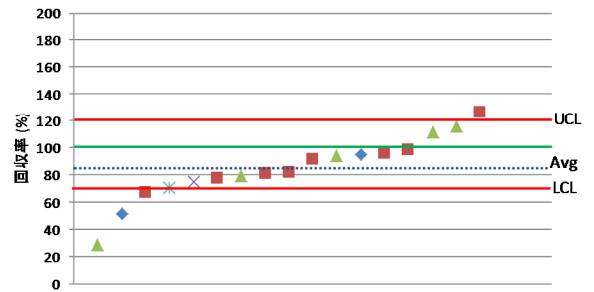


フェニトロチオン

低濃度 (0.020 µg/g)



高濃度 (0.60 µg/g)



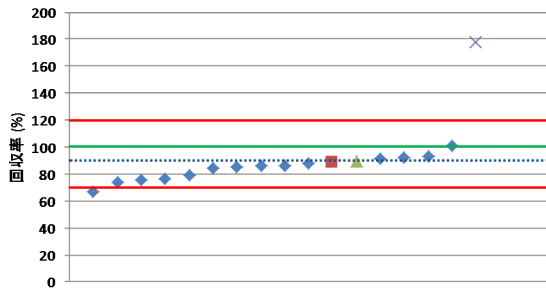
◆ 公定法(通知法) ■ 公定法一部変更法 ▲ QuEChERS法 × 液-液分配 * STQ法

平均値 (n=5) の回収率 (%) を昇順で並び替えて横軸に配列した

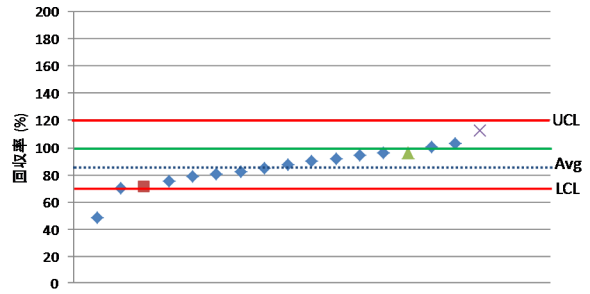
図4 抽出方法の種類と回収率

ダイアジノン

低濃度 (0.020 µg/g)

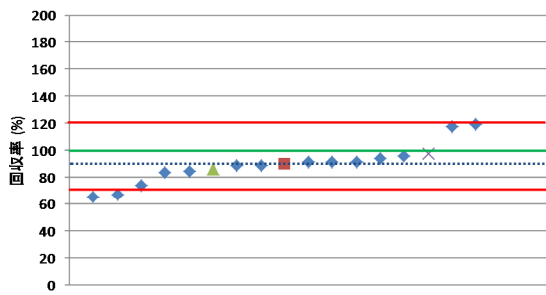


高濃度 (0.50 µg/g)

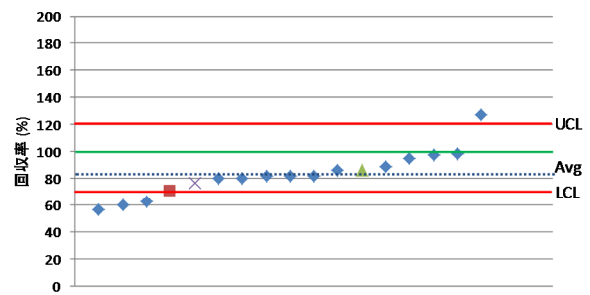


クロルピリホス

低濃度 (0.020 µg/g)

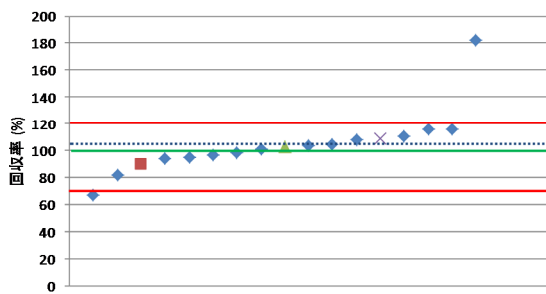


高濃度 (0.50 µg/g)

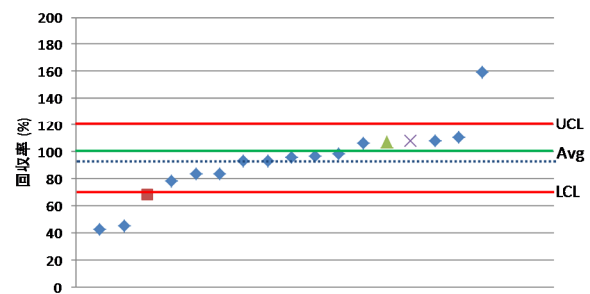


馬拉チオン

低濃度 (0.020 µg/g)

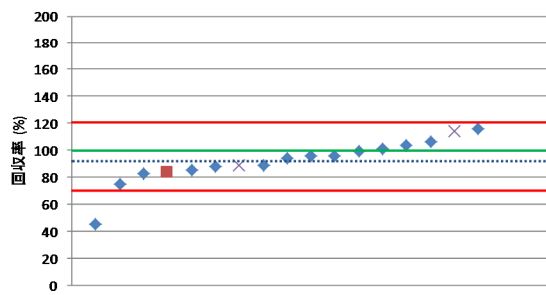


高濃度 (0.60 µg/g)

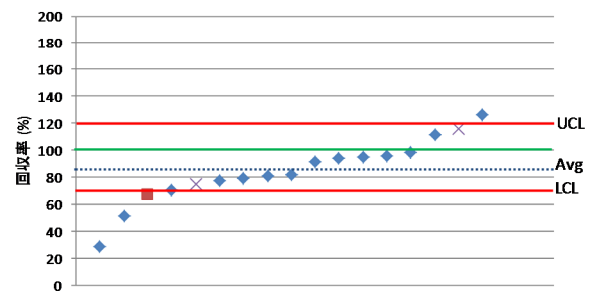


フェントロチオン

低濃度 (0.020 µg/g)



高濃度 (0.60 µg/g)



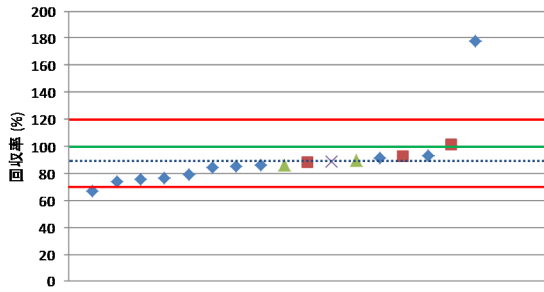
◆ GC-MS/MS ■ GC/MS ▲ LC-MS/MS × GC-FPD

平均値 (n=5) の回収率 (%) を昇順で並び替えて横軸に配列した

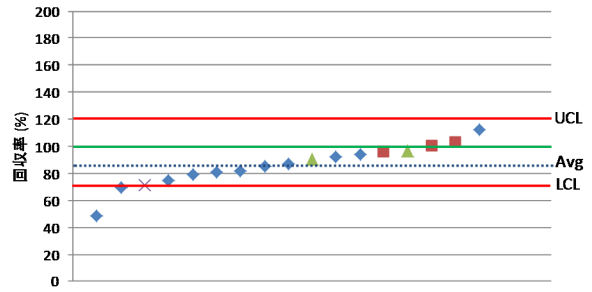
図5 測定機器(検出器)の種類と回収率

ダイアジノン

低濃度 (0.020 µg/g)



高濃度 (0.50 µg/g)

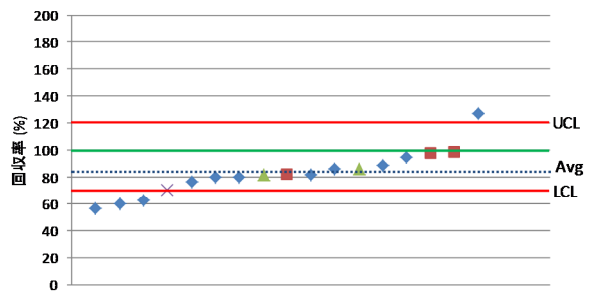


クロルピリホス

低濃度 (0.020 µg/g)

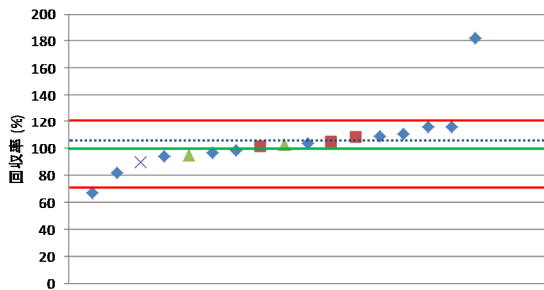


高濃度 (0.50 µg/g)

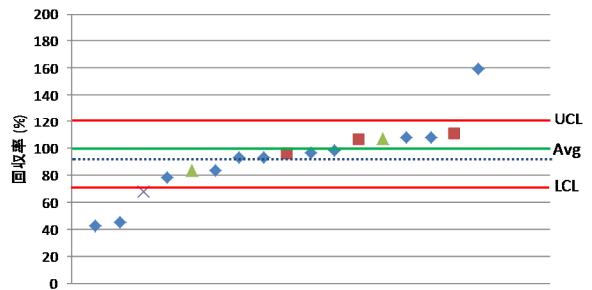


馬拉チオン

低濃度 (0.020 µg/g)

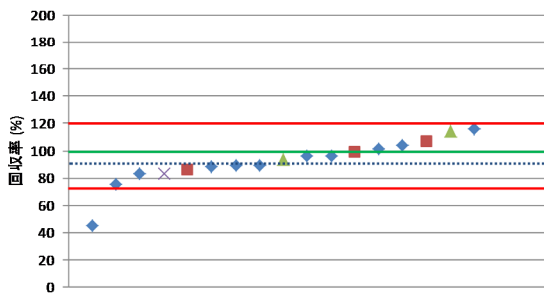


高濃度 (0.60 µg/g)

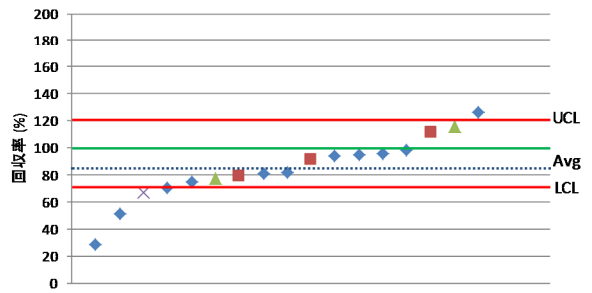


フェニトロチオン

低濃度 (0.020 µg/g)



高濃度 (0.60 µg/g)

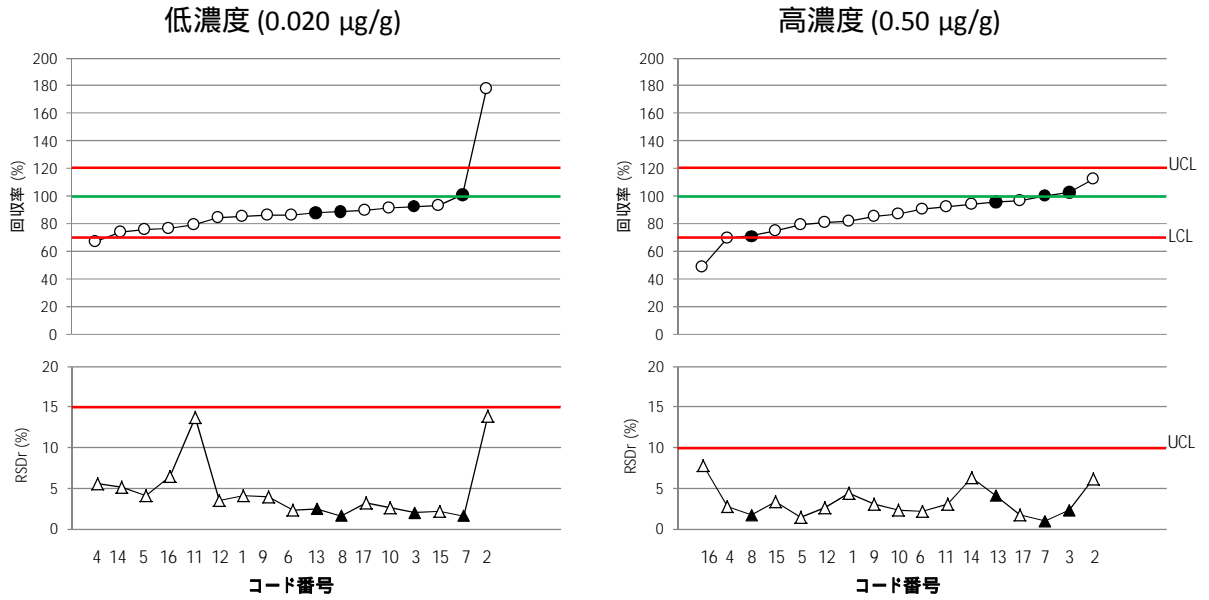


◆マトリクス添加・絶対検量線 ■マトリクス添加・内標準法 ▲マトリクス非添加・絶対検量線 ×マトリクス非添加・内標準法

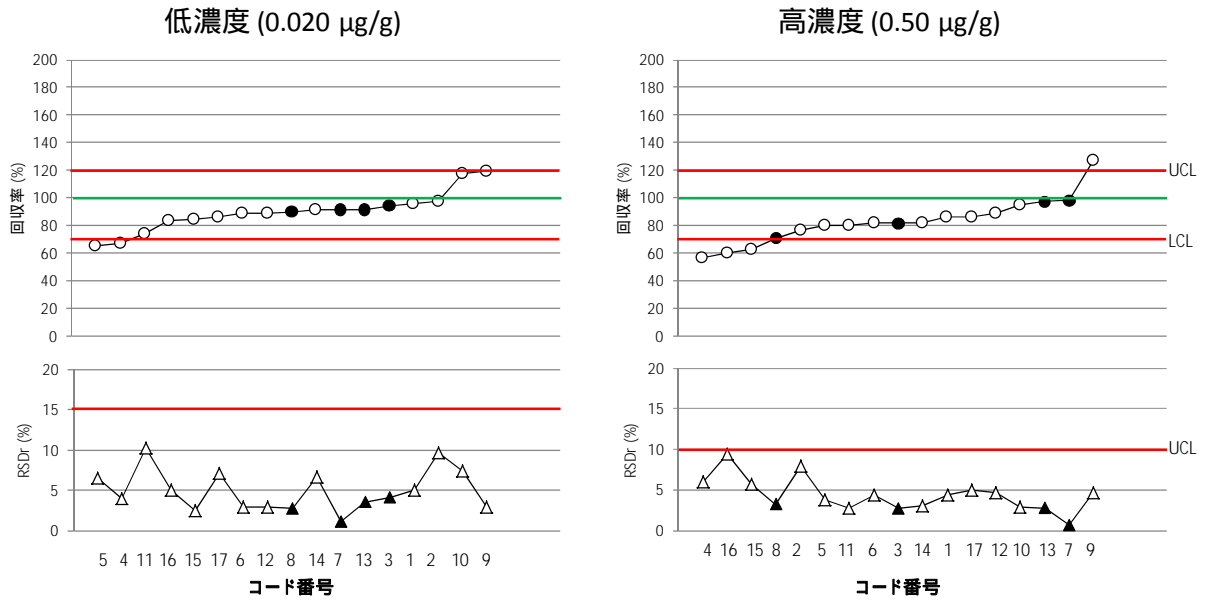
平均値 (n=5) の回収率 (%) を昇順で並び替えて横軸に配列した

図6 検量線の種類と回収率

ダイアジノン



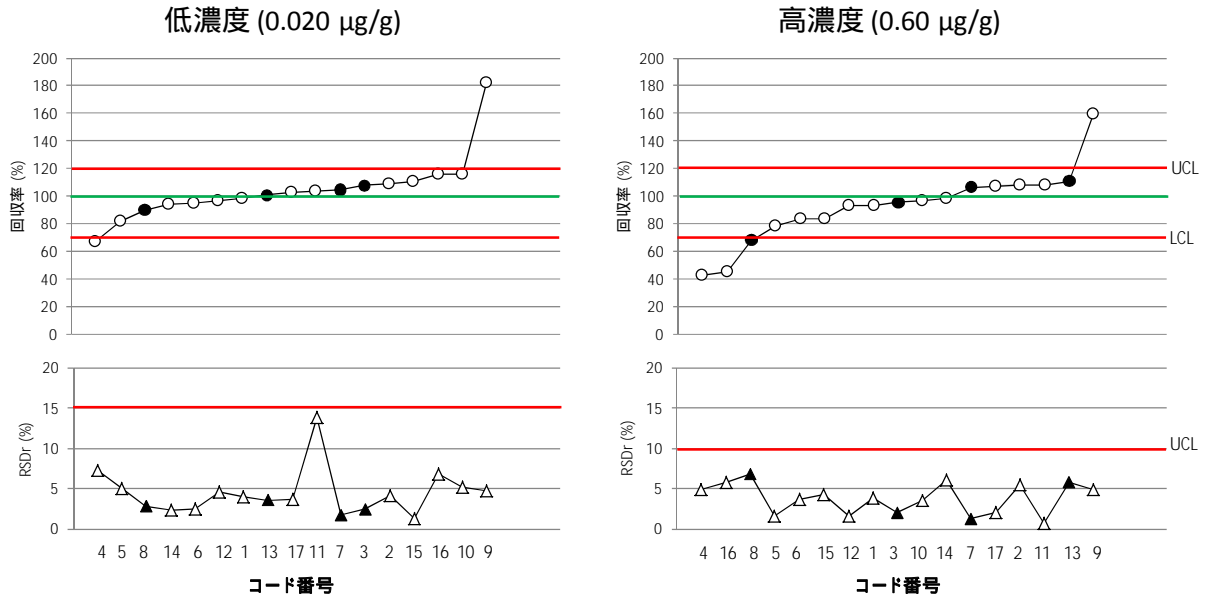
クロルピリホス



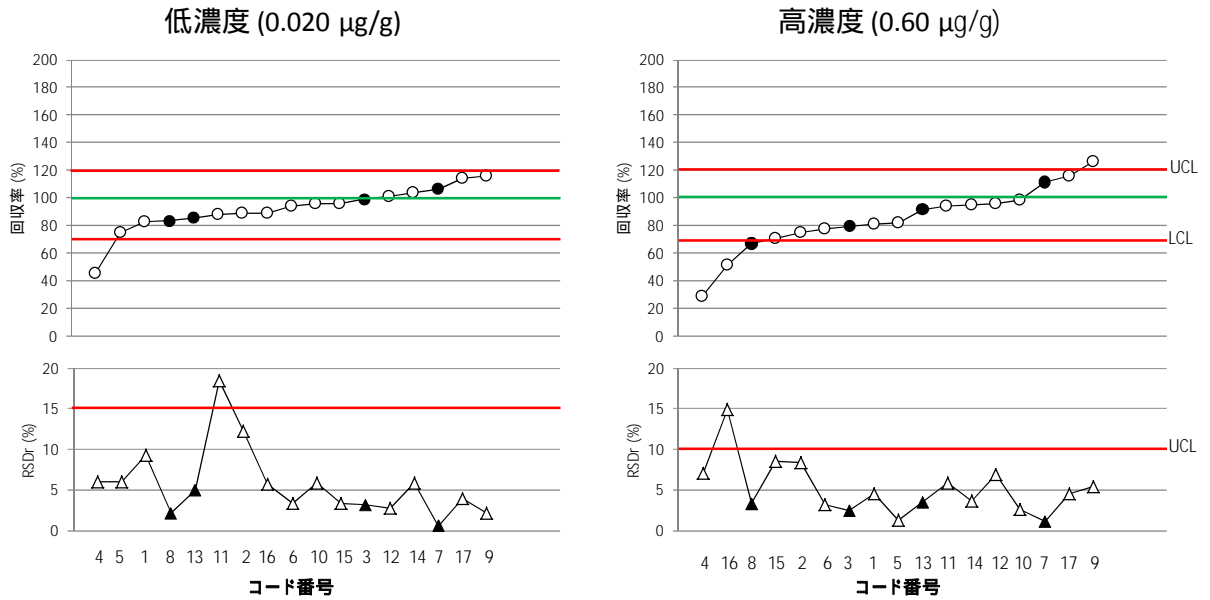
黒色マーカーは、検量線に内標準法を採用した機関を示す

図7-1 各農薬における昇順に並び替えた回収率とそれに対応する併行相対標準偏差および検量線(内標準法)の関係

マラチオン



フェニトロチオン



黒色マーカーは、検量線に内標準法を採用した機関を示す

図7-2 各農薬における昇順に並び替えた回収率とそれに対応する併行相対標準偏差および検量線(内標準法)の関係

表1 枝豆試料への添加農薬および添加濃度

(単位: µg/g)

添加農薬	ダイアジノン	クロルピリホス	マラチオン	フェントロチオン
枝豆試料A	0.020	0.50	0.020	0.60
枝豆試料B	0.50	0.020	0.60	0.020

表2 均質性確認試験結果

一斉試験法 (GC/MS)				
試料A	ダイアジノン	クロルピリホス	マラチオン	フェントロチオン
添加濃度 (µg/g)	0.020	0.50	0.020	0.60
平均濃度 (µg/g)	0.0191	0.477	0.0202	0.572
標準偏差 (µg/g)	0.000637	0.0100	0.000471	0.0110
変動係数	0.033	0.021	0.023	0.019
F値	1.383	2.851	1.805	2.437
P-値	0.309	0.059	0.185	0.091
F境界値	3.020	3.020	3.020	3.020
回収率 (%) [*]	95.4	95.3	101	95.3
試料B	ダイアジノン	クロルピリホス	マラチオン	フェントロチオン
添加濃度 (µg/g)	0.50	0.020	0.60	0.020
平均濃度 (µg/g)	0.0508	0.0203	0.616	0.0204
標準偏差 (µg/g)	0.0126	0.000540	0.0162	0.000619
変動係数	0.025	0.027	0.026	0.030
F値	1.333	1.062	1.036	1.023
P-値	0.329	0.460	0.474	0.482
F境界値	3.020	3.020	3.020	3.020
回収率 (%) [*]	102	102	103	102

*回収率: 平均濃度を添加濃度で除した百分率

試験は調査試料から10容器の分析試料を抽出し、各n=2の試験溶液を調製した。

表3 安定性確認試験結果

一斉試験法 (GC/MS)				
試料A	ダイアジノン	クロルピリホス	マラチオン	フェントロチオン
添加濃度 (µg/g)	0.020	0.50	0.020	0.60
平均濃度 (µg/g)	0.184	0.490	0.0203	0.566
標準偏差 (µg/g)	0.000326	0.00564	0.000329	0.00831
変動係数	0.018	0.012	0.016	0.015
F値	0.257	0.317	0.464	0.351
P-値	0.974	0.951	0.868	0.935
F境界値	3.020	3.020	3.020	3.020
安定性 (%) [*]	96.2	103	101	98.9
試料B	ダイアジノン	クロルピリホス	マラチオン	フェントロチオン
添加濃度 (µg/g)	0.50	0.020	0.60	0.020
平均濃度 (µg/g)	0.485	0.0196	0.580	0.0189
標準偏差 (µg/g)	0.00830	0.000325	0.00984	0.000365
変動係数	0.017	0.017	0.017	0.019
F値	1.637	0.725	0.711	0.474
P-値	0.227	0.680	0.690	0.862
F境界値	3.020	3.020	3.020	3.020
安定性 (%) [*]	95.5	96.5	94.1	92.5

*安定性: 安定性確認試験で得られた平均濃度を均質性確認試験結果で得られた平均濃度で除した百分率

試験は調査試料から10容器の分析試料を抽出し、各n=2の試験溶液を調製した。

表4-1 ダイアジン 結果一覧-試料A(低濃度:0.020 µg/g)

コード 番号	併行分析数					RSDr (%)	回収率 (%)	z-スコア
	1	2	3	4	5			
1	0.0174	0.0159	0.0169	0.0172	0.0177	0.01702	4.05	0.003
2	0.0318	0.0335	0.0441	0.0335	0.0348	0.03554	13.79	0.002
3	0.0185	0.0187	0.0180	0.0186	0.0190	0.01856	1.96	0.915
4	0.0136	0.0137	0.0143	0.0131	0.0123	0.01340	5.58	-2.089
5	0.0154	0.0157	0.0155	0.0152	0.0141	0.01518	4.15	-1.053
6	0.0169	0.0179	0.0172	0.0170	0.0173	0.01726	2.26	0.158
7	0.0203	0.0206	0.0202	0.0197	0.0203	0.02022	1.61	1.881
8	0.0174	0.0176	0.0180	0.0177	0.0181	0.01776	1.62	0.449
9	0.0179	0.0163	0.0173	0.0178	0.0168	0.01722	3.92	0.135
10	0.0188	0.0176	0.0183	0.0185	0.0179	0.01822	2.61	0.717
11	0.0162	0.0185	0.0136	0.0170	0.0136	0.01578	13.65	-0.704
12	0.0169	0.0163	0.0179	0.0168	0.0168	0.01694	3.45	-0.028
13	0.0176	0.0183	0.0176	0.0171	0.0175	0.01762	2.45	0.367
14	0.0155	0.0150	0.0150	0.0135	0.0150	0.01480	5.12	-1.274
15	0.0181	0.0192	0.0186	0.0185	0.0188	0.01864	2.16	0.961
16	0.0164	0.0160	0.0154	0.0149	0.0139	0.01532	6.38	-0.972
17	0.0182	0.0173	0.0186	0.0180	0.0173	0.01788	3.19	0.519
全機関の項目別平均値						0.01808	4.59	0.517

RSDr: 併行相対標準偏差(当該調査試料濃度における評価基準:15%未満)

表4-2 機関別平均濃度に係る結果
(2シグマ処理後)

最小値(µg/g)	0.01340	該当機関数	1/17
最大値(µg/g)	0.02022	回収率(%)	<70
平均値(µg/g)	0.01699	回収率(%)	>120
分散	0.00000295	データ・クリーニング	0/17
中央値(メジアン)	0.01724	従来方式	2シグマ処理
室間再現標準偏差 S _R (µg/g)	0.001718	ロバスト方式	メジアン・クリーニング
室間再現相対標準偏差 RSD _R (%)	10.1	従来方式	2 z-スコア <3
室間再現相対標準偏差の予測値PRSD _R (%)	22		z-スコア 3

表4-3 項目別該当機関数

回収率(%)	<70	1/17
回収率(%)	>120	1/17
従来方式	2シグマ処理	1/17
ロバスト方式	メジアン・クリーニング	1/17
従来方式	2 z-スコア <3	1/16
	z-スコア 3	0/16

*:2シグマ処理による除外

注)別途、Coc Iran検定(上側危険率2.5%)およびGurbb検定(片側危険率1.25%)による棄却検定の結果、Coc Iran検定で2機関(コード番号:2および11)が該当した。

表5-1 ダイアジン 結果一覧-試料B (高濃度:0.50 µg/g)

コード 番号	併行分析数					機関別平均値 (µg/g)	RSDr (%)	回収率 (%)	z-スコア		
	1	2	3	4	5				従来方式	ロバスト方式	Horwitz式
1	0.414	0.413	0.417	0.382	0.431	0.4114	4.36	82.3	-0.263	-0.346	-0.296
2	0.555	0.528	0.557	0.620	0.547	0.5614	6.18	112	1.747	1.877	1.607
3	0.524	0.518	0.525	0.501	0.502	0.5140	2.28	103	1.112	1.175	1.006
4	0.354	0.359	0.354	0.334	0.346	0.3494	2.80	69.9	-1.094	-1.265	-1.082
5	0.400	0.395	0.395	0.403	0.389	0.3964	1.35	79.3	-0.464	-0.568	-0.486
6	0.451	0.465	0.453	0.451	0.437	0.4514	2.20	90.3	0.273	0.247	0.211
7	0.503	0.510	0.502	0.502	0.497	0.5028	0.92	101	0.962	1.009	0.863
8	0.360	0.350	0.350	0.358	0.363	0.3562	1.66	71.2	-1.003	-1.164	-0.996
9	0.445	0.410	0.420	0.423	0.429	0.4254	3.04	85.1	-0.076	-0.138	-0.118
10	0.435	0.427	0.443	0.452	0.432	0.4378	2.24	87.6	0.090	0.045	0.039
11	0.478	0.474	0.446	0.449	0.460	0.4614	3.11	92.3	0.407	0.395	0.338
12	0.405	0.415	0.414	0.394	0.394	0.4044	2.53	80.9	-0.357	-0.449	-0.385
13	0.472	0.510	0.479	0.456	0.483	0.4800	4.10	96.0	0.656	0.671	0.574
14	0.514	0.460	0.489	0.442	0.451	0.4712	6.30	94.2	0.538	0.540	0.463
15	0.387	0.385	0.363	0.385	0.363	0.3766	3.30	75.3	-0.730	-0.861	-0.737
16	0.263	0.236	0.233	0.269	0.226	0.2454	7.85	49.1	-2.488	-2.806	-2.402
17	0.495	0.477	0.477	0.488	0.476	0.4826	1.76	96.5	0.691	0.709	0.607
全機関の項目別平均値						0.4310	3.29	86.2			

RSDr: 併行相対標準偏差 (当該調査試料濃度における評価基準:10%未満)

表5-2 機関別平均濃度に係る結果
(データ・クリーニング後)

最小値 (µg/g)	0.2454	該当機関数	2/17
最大値 (µg/g)	0.5614	回収率(%)	<70
平均値 (µg/g)	0.4310	回収率(%)	>120
分散	0.00556844	データ・クリーニング	
中央値 (メジアン)	0.4378	従来方式	2シグマ処理
室間再現標準偏差 S _R (µg/g)	0.07462	ロバスト方式	メジアン・クリーニング
室間再現相対標準偏差 RSD _R (%)	17.3	従来方式	2 z-スコア <3
室間再現相対標準偏差の予測値PRSD _R (%)	18	z-スコア	3

表5-3 項目別該当機関数

回収率(%)	<70	該当機関数	2/17
回収率(%)	>120	該当機関数	0/17
データ・クリーニング			
従来方式	2シグマ処理	該当機関数	0/17
ロバスト方式	メジアン・クリーニング	該当機関数	0/17
従来方式			
z-スコア	<3	該当機関数	1/17
z-スコア	3	該当機関数	0/17

注) 別途、Coc Iran検定 (上側危険率2.5%) およびGurbb検定 (片側危険率1.25%) による棄却検定の結果、Coc Iran検定で2機関 (コード番号:2および14) が該当した。

表6-1 クロルピリホス結果一覧-試験A (高濃度: 0.50 µg/g)

コード 番号	併行分析数					RSDr (%)	回収率 (%)	z-スコア		
	1	2	3	4	5			機関別平均値 (µg/g)	従来方式	ロバスト方式
1	0.410	0.449	0.421	0.418	0.450	0.4296	4.33	0.169	0.390	0.355
2	0.393	0.397	0.403	0.395	0.329	0.3834	7.99	-0.384	-0.296	-0.270
3	0.412	0.407	0.390	0.415	0.418	0.4084	2.70	-0.084	0.075	0.068
4	0.285	0.297	0.285	0.291	0.253	0.2822	6.04	-1.595	-1.801	-1.638
5	0.388	0.410	0.389	0.420	0.389	0.3992	3.72	-0.194	-0.062	-0.056
6	0.411	0.436	0.406	0.394	0.392	0.4078	4.33	-0.092	0.066	0.060
7	0.492	0.490	0.495	0.486	0.492	0.4910	0.67	0.904	1.303	1.185
8	0.366	0.348	0.341	0.353	0.368	0.3552	3.26	-0.721	-0.716	-0.651
9	0.665	0.609	0.618	0.676	0.622	0.6380	4.74	2.664	-	-
10	0.470	0.482	0.497	0.471	0.461	0.4762	2.89	0.727	1.083	0.985
11	0.397	0.398	0.397	0.420	0.391	0.4006	2.79	-0.178	-0.041	-0.037
12	0.473	0.437	0.456	0.434	0.419	0.4438	4.72	0.339	0.601	0.547
13	0.500	0.497	0.466	0.482	0.491	0.4872	2.81	0.860	1.246	1.134
14	0.424	0.413	0.410	0.391	0.420	0.4116	3.10	-0.046	0.123	0.112
15	0.292	0.336	0.310	0.331	0.309	0.3156	5.67	-1.195	-1.304	-1.186
16	0.346	0.307	0.290	0.284	0.274	0.3002	9.41	-1.380	-1.533	-1.394
17	0.444	0.438	0.414	0.459	0.408	0.4326	4.91	0.205	0.435	0.396
全機関の項目別平均値							0.4154	4.36		

RSDr: 併行相対標準偏差 (当該調査試験濃度における評価基準: 10%未満)

表6-2 機関別平均濃度に係る結果
(データ・クリーニング後)

最小値 (µg/g)	0.2822
最大値 (µg/g)	0.6380
平均値 (µg/g)	0.4154
分散	0.00697788
中央値 (メジアン)	0.4084
室間再現標準偏差 S _R (µg/g)	0.08353
室間再現相対標準偏差 RSD _R (%)	20.1
室間再現相対標準偏差の予測値PRSD _R (%)	18.

表6-3 項目別該当機関数

回収率 (%)	該当機関数
< 70	3/17
> 120	1/17
データ・クリーニング	0/17
従来方式	2シグマ処理
ロバスト方式	メジアン・クリーニング
従来方式	2 z-スコア < 3
	z-スコア
	3 0/17

注) 別途、Coc Iran検定 (上側危険率2.5%) およびGurbb検定 (片側危険率1.25%) による棄却検定の結果、該当機関はなかった。

表7-1 クロルピリホス結果一覧- 試料B (低濃度: 0.020 µg/g)

コード 番号	併行分析数					機関別平均値 (µg/g)	RSDr (%)	回収率 (%)	z-スコア		
	1	2	3	4	5				従来方式	ロバスト方式	Horwitz式
1	0.0201	0.0190	0.0178	0.0201	0.0189	0.01918	5.01	95.9	0.421	0.639	0.346
2	0.0226	0.0185	0.0192	0.0176	0.0194	0.01946	9.72	97.3	0.519	0.771	0.418
3	0.0200	0.0189	0.0190	0.0178	0.0188	0.01890	4.13	94.5	0.322	0.508	0.275
4	0.0140	0.0135	0.0138	0.0131	0.0127	0.01342	3.92	67.1	-1.608	-2.072	-1.123
5	0.0130	0.0123	0.0131	0.0146	0.0128	0.01316	6.54	65.8	-1.700	-2.194	-1.189
6	0.0181	0.0180	0.0182	0.0176	0.0169	0.01776	2.99	88.8	-0.080	-0.029	-0.016
7	0.0181	0.0185	0.0185	0.0181	0.0182	0.01828	1.12	91.4	0.104	0.216	0.117
8	0.0187	0.0180	0.0176	0.0175	0.0183	0.01802	2.75	90.1	0.012	0.093	0.051
9	0.0236	0.0238	0.0229	0.0247	0.0244	0.02388	2.95	119	2.076	2.852	1.545
10	0.0250	0.0216	0.0247	0.0250	0.0218	0.02362	7.44	118	1.985	2.730	1.479
11	0.0156	0.0163	0.0129	0.0156	0.0134	0.01476	10.21	73.8	-1.136	-1.441	-0.781
12	0.0178	0.0176	0.0174	0.0187	0.0176	0.01782	2.87	89.1	-0.058	-0.001	0.000
13	0.0189	0.0184	0.0179	0.0174	0.0189	0.01830	3.56	91.5	0.111	0.225	0.122
14	0.0199	0.0179	0.0191	0.0169	0.0175	0.01826	6.68	91.3	0.097	0.206	0.112
15	0.0175	0.0172	0.0169	0.0166	0.0165	0.01694	2.45	84.7	-0.368	-0.415	-0.225
16	0.0175	0.0159	0.0168	0.0177	0.0159	0.01676	5.09	83.8	-0.432	-0.500	-0.271
17	0.0157	0.0177	0.0190	0.0168	0.0170	0.01724	7.06	86.2	-0.263	-0.274	-0.148
全機関の項目別平均値						0.01799	4.97	89.9			

RSDr: 併行相対標準偏差 (当該調査試料濃度における評価基準: 15%未満)

表7-2 機関別平均濃度に係る結果

(データ・クリーニング後)		該当機関数
最小値 (µg/g)	0.01316	2/17
最大値 (µg/g)	0.02388	0/17
平均値 (µg/g)	0.01799	0/17
分散	0.00000806	0/17
中央値 (メジアン)	0.01802	0/17
室間再現標準偏差 S _R (µg/g)	0.002839	0/17
室間再現相対標準偏差 RSD _R (%)	15.8	1/17
室間再現相対標準偏差の予測値PRSD _R (%)	22	3/17

表7-3 項目別該当機関数

回収率 (%)	該当機関数
< 70	2/17
> 120	0/17
データ・クリーニング	
従来方式	2シグマ処理
ロバスト方式	メジアン・クリーニング
従来方式	
z-スコア	< 3
z-スコア	3

注) 別途、Coc Iran検定 (上側危険率2.5%) およびGurbb検定 (片側危険率1.25%) による棄却検定の結果、該当機関はなかった。

表8-1 マラチオン結果一覧-試験A (低濃度:0.020 µg/g)

コード 番号	併行分析数					RSDr (%)	回収率 (%)	z-スコア		
	1	2	3	4	5			従来方式	ロバスト方式	Horwitz式
1	0.0200	0.0202	0.0183	0.0196	0.0201	0.01964	3.98	-0.108	-0.243	-0.120
2	0.0203	0.0223	0.0217	0.0218	0.0226	0.02174	4.07	0.728	0.717	0.353
3	0.0220	0.0218	0.0207	0.0214	0.0218	0.02154	2.40	0.648	0.626	0.308
4	0.0134	0.0145	0.0139	0.0131	0.0119	0.01336	7.28	-2.606	-3.115	-1.535
5	0.0158	0.0162	0.0162	0.0179	0.0162	0.01646	5.00	-1.373	-1.697	-0.836
6	0.0189	0.0196	0.0191	0.0183	0.0188	0.01894	2.49	-0.386	-0.563	-0.278
7	0.0211	0.0208	0.0214	0.0205	0.0207	0.02090	1.69	0.393	0.333	0.164
8	0.0179	0.0179	0.0174	0.0188	0.0181	0.01802	2.81	-0.752	-0.984	-0.485
9	0.0370	0.0337	0.0378	0.0378	0.0359	0.03644	4.71	-	-	-
10	0.0230	0.0230	0.0229	0.0252	0.0220	0.02322	5.09	1.316	1.394	0.687
11	0.0204	0.0241	0.0181	0.0231	0.0177	0.02068	13.92	0.306	0.232	0.114
12	0.0186	0.0184	0.0206	0.0196	0.0195	0.01934	4.56	-0.227	-0.380	-0.187
13	0.0196	0.0201	0.0212	0.0194	0.0205	0.02016	3.58	0.099	-0.005	-0.003
14	0.0194	0.0190	0.0187	0.0182	0.0189	0.01884	2.33	-0.426	-0.609	-0.300
15	0.0223	0.0221	0.0223	0.0216	0.0221	0.02208	1.29	0.863	0.872	0.430
16	0.0257	0.0232	0.0222	0.0228	0.0216	0.02310	6.81	1.269	1.339	0.660
17	0.0199	0.0209	0.0216	0.0198	0.0206	0.02056	3.61	0.258	0.177	0.087
全機関の項目別平均値						0.02088	4.45			

RSDr: 併行相対標準偏差 (当該調査試料濃度における評価基準:15%未満)

表8-2 機関別平均濃度に係る結果
(2シグマ処理後)

最小値 (µg/g)	0.01336	該当機関数	1/17
最大値 (µg/g)	0.02322	1/17	1/17
平均値 (µg/g)	0.01991		
分散	0.00000632		
中央値 (メジアン)	0.02036		
室間再現標準偏差 S _R (µg/g)	0.002514		
室間再現相対標準偏差 RSD _R (%)	12.6		
室間再現相対標準偏差の予測値PRSD _R (%)	22		

注) 別途、Coc Iran 検定 (上側危険率2.5%) および Gurbb 検定 (片側危険率1.25%) による棄却検定の結果、Coc Iran 検定で1機関 (コード番号:11)、Gurbb 検定で1機関 (コード番号:9) が該当した。

表8-3 項目別該当機関数

回収率 (%)	<70	該当機関数	1/17
回収率 (%)	>120	1/17	1/17
従来方式	2シグマ処理	1/17	1/17
ロバスト方式	メジアン・クリーニング	1/17	1/17
従来方式	z-スコア <3	1/16	1/16
	z-スコア	3	0/16

*: 2シグマ処理による除外

表9-1 マラチオン結果一覧-試料B (高濃度:0.60 µg/g)

コード 番号	併行分析数					RSDr (%)	回収率 (%)	z-スコア		
	1	2	3	4	5			機械別平均値 (µg/g)	従来方式	ロバスト方式
1	0.585	0.561	0.528	0.572	0.561	0.5614	3.76	0.226	-0.171	-0.135
2	0.636	0.612	0.654	0.705	0.629	0.6472	5.50	0.900	0.921	0.724
3	0.585	0.585	0.575	0.565	0.560	0.5740	1.98	0.325	-0.011	-0.009
4	0.269	0.258	0.263	0.241	0.242	0.2546	4.94	-2.181	-	-
5	0.485	0.469	0.474	0.470	0.465	0.4726	1.61	-0.470	-1.302	-1.023
6	0.523	0.510	0.488	0.502	0.476	0.4998	3.67	-0.257	-0.956	-0.751
7	0.644	0.646	0.648	0.635	0.630	0.6406	1.20	0.848	0.837	0.658
8	0.447	0.411	0.415	0.404	0.369	0.4092	6.81	-0.968	-2.110	-1.657
9	1.02	0.948	0.983	0.902	0.929	0.9564	4.82	-	-	-
10	0.600	0.566	0.584	0.603	0.556	0.5818	3.54	0.387	0.088	0.069
11	0.651	0.645	0.650	0.645	0.656	0.6494	0.71	0.917	0.950	0.746
12	0.553	0.564	0.559	0.550	0.572	0.5596	1.57	0.212	-0.194	-0.153
13	0.631	0.681	0.644	0.646	0.726	0.6656	5.78	1.044	1.156	0.908
14	0.631	0.581	0.621	0.549	0.564	0.5892	6.04	0.445	0.183	0.144
15	0.505	0.538	0.506	0.486	0.486	0.5042	4.21	-0.222	-0.900	-0.707
16	0.285	0.264	0.262	0.288	0.252	0.2702	5.77	-2.058	-	-
17	0.636	0.626	0.657	0.651	0.636	0.6412	1.95	0.853	0.845	0.664
全機関の項目別平均値							0.5575	3.76	92.9	

RSDr: 併行相対標準偏差 (当該調査試料濃度における評価基準:10%未満)

表9-2 機関別平均濃度に係る結果
(2シグマ処理後)

最小値 (µg/g)	0.2546
最大値 (µg/g)	0.6656
平均値 (µg/g)	0.5325
分散	0.01624444
中央値 (メジアン)	0.5677
室間再現標準偏差 S _R (µg/g)	0.1275
室間再現相対標準偏差 RSD _R (%)	23.9
室間再現相対標準偏差の予測値PRSD _R (%)	17

表9-3 項目別該当機関数

該当機関数	
回収率 (%)	<70
回収率 (%)	>120
データ・クリーニング	
従来方式	2シグマ処理
ロバスト方式	メジアン・クリーニング
従来方式	
	z-スコア <3
	z-スコア 3

*:2シグマ処理による除外

注)別途、Coc Iran検定 (上側危険率2.5%) およびGurbb検定 (片側危険率1.25%) による棄却検定の結果、該当機関はなかった。

表10-1 フェニトロチオン結果一覧-試験料A (高濃度: 0.60 µg/g)

コード 番号	併行分析数					RSDr (%)	回収率 (%)	機関別平均値 (µg/g)		z-スコア	
	1	2	3	4	5			従来方式	ロバスト方式		Horwitz式
1	0.468	0.514	0.469	0.482	0.510	0.4886	4.52	81.4	-0.363	-0.279	-0.308
2	0.466	0.472	0.483	0.452	0.387	0.4520	8.41	75.3	-0.680	-0.643	-0.709
3	0.483	0.476	0.459	0.485	0.488	0.4782	2.42	79.7	-0.453	-0.383	-0.422
4	0.167	0.182	0.181	0.176	0.153	0.1718	7.02	28.6	-	-	-
5	0.483	0.500	0.492	0.492	0.492	0.4918	1.22	82.0	-0.336	-0.248	-0.273
6	0.475	0.485	0.463	0.450	0.452	0.4650	3.22	77.5	-0.567	-0.514	-0.566
7	0.672	0.671	0.678	0.658	0.670	0.6698	1.08	112	1.204	1.522	1.677
8	0.393	0.392	0.395	0.414	0.420	0.4028	3.27	67.1	-1.105	-1.132	-1.248
9	0.812	0.733	0.732	0.794	0.724	0.7590	5.37	127	1.976	-	-
10	0.573	0.597	0.590	0.584	0.614	0.5916	2.58	98.6	0.528	0.745	0.821
11	0.514	0.553	0.582	0.602	0.569	0.5640	5.88	94.0	0.289	0.470	0.518
12	0.638	0.568	0.583	0.556	0.533	0.5756	6.84	95.9	0.389	0.586	0.645
13	0.576	0.543	0.547	0.527	0.565	0.5516	3.48	91.9	0.182	0.347	0.382
14	0.592	0.572	0.573	0.536	0.572	0.5690	3.57	94.8	0.332	0.520	0.573
15	0.398	0.375	0.447	0.460	0.442	0.4244	8.51	70.7	-0.919	-0.918	-1.011
16	0.388	0.317	0.285	0.285	0.275	0.3100	14.96	51.7	-1.908	-2.055	-2.264
17	0.666	0.711	0.699	0.665	0.739	0.6960	4.51	116	1.431	1.783	1.964
全機関の項目別平均値						0.5095	5.11	85.0			

RSDr: 併行相対標準偏差 (当該調査試験料濃度における評価基準: 10%未満)

表10-2 機関別平均濃度に係る結果
(2シグマ処理後)

最小値 (µg/g)	0.3100	該当機関数	3/17
最大値 (µg/g)	0.7590	回収率 (%)	<70
平均値 (µg/g)	0.5306	回収率 (%)	>120
分散	0.01336331	データ・クリーニング	0/17
中央値 (メジアン)	0.5217	従来方式	2シグマ処理
室間再現標準偏差 S _R (µg/g)	0.1156	ロバスト方式	メジアン・クリーニング
室間再現相対標準偏差 RSD _R (%)	21.8	従来方式	2 z-スコア <3
室間再現相対標準偏差の予測値PRSD _R (%)	17	z-スコア	3

注) 別途、Coc Iran検定 (上側危険率2.5%) およびGurbb検定 (片側危険率1.25%) による棄却検定の結果、該当機関はなかった。

表10-3 項目別該当機関数

回収率 (%)	<70	該当機関数	3/17
回収率 (%)	>120	該当機関数	1/17
従来方式	2シグマ処理	該当機関数	1/17
ロバスト方式	メジアン・クリーニング	該当機関数	2/17
従来方式	2 z-スコア <3	該当機関数	0/16
z-スコア	3	該当機関数	0/16

*: 2シグマ処理による除外

表11-1 フェニトロチオン結果一覧-試料B (低濃度:0.020 µg/g)

コード 番号	併行測定回数					RSDr (%)	回収率 (%)	機関別平均値		Horwitz式
	1	2	3	4	5			(µg/g)	従来方式	
1	0.0158	0.0183	0.0156	0.0152	0.0183	0.01664	9.19	83.2	-0.542	-0.983
2	0.0216	0.0166	0.0171	0.0165	0.0170	0.01776	12.17	88.8	-0.197	-0.504
3	0.0208	0.0198	0.0197	0.0191	0.0196	0.01980	3.13	99.0	0.430	0.370
4	0.00975	0.00958	0.00854	0.00875	0.00881	0.00909	5.95	45.4	-2.867	-
5	0.0158	0.0153	0.0159	0.0143	0.0139	0.01504	5.97	75.2	-1.034	-1.669
6	0.0192	0.0191	0.0190	0.0189	0.0177	0.01878	3.26	93.9	0.116	-0.067
7	0.0213	0.0214	0.0213	0.0214	0.0211	0.02130	0.57	107	0.892	1.012
8	0.0172	0.0165	0.0168	0.0163	0.0165	0.01666	2.10	83.3	-0.536	-0.975
9	0.0228	0.0238	0.0226	0.0229	0.0235	0.02312	2.19	116	1.452	1.792
10	0.0200	0.0202	0.0193	0.0174	0.0188	0.01914	5.86	95.7	0.227	0.087
11	0.0180	0.0209	0.0142	0.0207	0.0144	0.01764	18.46	88.2	-0.234	-0.555
12	0.0199	0.0200	0.0198	0.0212	0.0201	0.02020	2.82	101	0.553	0.541
13	0.0181	0.0174	0.0163	0.0162	0.0177	0.01714	4.96	85.7	-0.388	-0.769
14	0.0222	0.0200	0.0217	0.0193	0.0203	0.02070	5.84	104	0.707	0.755
15	0.0193	0.0184	0.0200	0.0196	0.0187	0.01920	3.39	96.0	0.246	0.113
16	0.0189	0.0169	0.0178	0.0188	0.0167	0.01782	5.76	89.1	-0.179	-0.478
17	0.0223	0.0234	0.0239	0.0216	0.0228	0.02280	3.95	114	1.354	1.655
全機関の項目別平均値							0.01840	5.62		
RSDr: 併行相対標準偏差 (当該調査試料濃度における評価基準:15%未満)										

表11-2 機関別平均濃度に係る結果

(データ・クリーニング後)	該当機関数
最小値 (µg/g)	0.00909
最大値 (µg/g)	0.02312
平均値 (µg/g)	0.01840
分散	0.00001056
中央値 (メジアン)	0.01878
室間再現標準偏差 S _R (µg/g)	0.003249
室間再現相対標準偏差 RSD _R (%)	17.7
室間再現相対標準偏差の予測値PRSD _R (%)	22

注) 別途、Coc Iran検定 (上側危険率2.5%) およびGurbb検定 (片側危険率1.25%) による棄却検定の結果、Coc Iran検定で2機関 (コード番号:2および11)、Gurbb検定で1機関 (コード番号:4) が該当した。

表11-3 項目別該当機関数

回収率 (%)	該当機関数
<70	1/17
>120	0/17
データ・クリーニング	0/17
従来方式	2シグマ処理
ロバスト方式	メジアン・クリーニング
従来方式	z-スコア <3
	z-スコア
	3
	0/17

表12 低濃度および高濃度試料に分類した場合の調査試料中農薬および濃度

添加農薬	(単位:μg/g)			
	ダイアジノン	クロルピリホス	マラチオン	フェニトロチオン
低濃度試料	0.020	0.020	0.020	0.020
高濃度試料	0.50	0.50	0.60	0.60

表13-1 本調査研究における採用手法の質問事項一覧(共通質問) - 1/2

[1] 試験法				
1) 定性試験	公定法 (通知法) 通り		公定法一部変更法	その他
2) 定量試験	公定法通りの一斉試験法 公定法通りの個別試験法		公定法一部変更の一斉試験法 公定法一部変更の個別試験法	その他
[2] 試料採取量				
	5 g	10 g	20 g	その他
[3] 抽出と精製				
1) 抽出で使用した溶媒	アセトン	アセトニトリル	酢酸エチル	その他
2) 溶媒抽出後の操作方法	液-液分配 GPC QuEC HERS法	固相抽出 (オープンカラム含む) および の併用 その他		および の併用 、 および の併用
3) 2)で固相抽出 (、 、 および) を選択した場合:カラムの種類	シリカゲル GC/PSA	活性炭 SAX/PSA	ODS (C18) その他	GC/ NH2
[4] 標準品				
1) 種類	農薬混合標準液	個別標準品	および の併用	その他
2) 各標準品に関するサプライヤー (製造元) の指定	1ヶ所を指定している	複数メーカーを指定している		指定していない
3) 未開封品の使用期限の設定の有無	メーカー表示に従う	機関において設定している		設定していない
4) 開封後の使用期限の設定の有無	メーカー表示に従う	機関において設定している		設定していない

表13-2 本調査研究における採用手法の質問事項一覧(共通質問) - 2/2

[5] 標準原液				
1) 純度換算	換算する	換算しない		
2) 1)で	を選択した場合: 純度換算実施時点			
	標準品の採取量で調整	検量線作成時の設定濃度で調整		
	測定後に得られた試験溶液中濃度で調整			
3) 調製について	測定ごとに標準品を秤量して標準原液を調製する			
	一定濃度の標準原液を調製し保管して使用する			
	その他			
[6] 標準溶液				
1) 中間希釈標準溶液	測定ごとに調製する	調製済みを使用する		その他
2) 検量線用標準溶液	測定ごとに調製する	調製済みを使用する		その他
[7] 検量線				
1) 回帰式	一次式	二次式	その他	
2) 検量線の採用判断基準	有り	無し		
3) 検量線の作成に用いた標準溶液に含まれる農薬の種類総数	10以下	11~50	51~100	101~150
	151~200	201~250	251以上	
[8] 測定				
1) 農薬別質問においてマトリックス添加検量線を選択した場合: 試験溶液が検量線の範囲外となったときの操作	検量線を再作成する	試験溶液を希釈する		そのまま採用する
2) 1)で	あるいは	を選択した場合: 検量線および試験溶液のマトリックス濃度		
	マトリックス濃度を合わせる	マトリックス濃度を合わせない		その他
3) 標準溶液の測定回数	1回	複数回測定の平均値		その他
4) 試験溶液の測定回数	1回	複数回測定の平均値		その他
5) 結果の品質保証について (システム適合性、QC試料等の測定)	測定開始前	測定終了後		試験溶液測定の間
	および の併用	および の併用		および の併用
	、および の併用	その他		測定しない
6) 5)で	以外の場合: 測定する溶液の種類			
	標準溶液最低濃度	標準溶液中間濃度		標準溶液最高濃度
	標準添加試験溶液	その他		

表13-3 本調査研究における採用手法の回答結果一覧(共通質問)

以下、表中のNは、該当なしを示す。

		コード番号																
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
[1]	1)	N	N	3	3	2	3	3	3	2	3	3	2	3	1	3	1	3
	2)	5	5	5	5	2	5	5	5	2	2	5	2	5	1	5	1	5
[2]	試料採取量	2	3	1	4	2	2	2	3	3	2	2	3	3	3	2	3	2
	1)	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	2)	2	1	3	2,7	3	2	2	6	3	3	2	3	2	3	2	3	8
	3)	3,7	N	3,5	3,5	3,4	5	3,5	7	5	3,4	3,5	5	3,5	5	3,7	4	7
	1)	2	2	1	1	2	1	2	2	2	2	1	2	2	2	1	3	1
	2)	3	3	3	1	1	1	3	2	3	3	3	3	3	3	1	3	2
	3)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	1	1	1	3	1
	4)	1	2	1	1	1	2	1	1	2	1	1	3	2	1	1	3	1
	1)	1	1	2	2	2	2	1	2	1	2	1	2	2	2	2	2	1
	2)	1	1	N	N	N	N	1	N	1	N	1	N	N	N	N	N	1
	3)	2	2	2	2	2	2	2	2	3	2	2	2	2	2	3	2	2
[6]	1)	2	2	2	2	1	2	2	2	1	1	2	1	2	1	1	2	2
	2)	2	1	2	1	1	1	2	1	1	1	2	1	2	1	1	2	1
	1)	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	2	1	1	1	1	2	1
	2)	1	1	1	1	1	2	2	1	1	1	1	2	2	2	1	2	2
	3)	3	1	7	7	1	3	1	1	1	1	7	1	6	1	7	1,7	5
	1)	2	2	2	1	1	N	1	N	2	1	2	1,2	1,2	1,2	2	2	N
	2)	1	1	1	1	1	N	1	N	1	1	1	3	1	1	2	1	N
	3)	1	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1	2	1	1	2	1	2
	4)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	5)	4	4	2	4	2	3	9	3	7	9	1	9	4	4	4	9	9
	6)	4	5	3	2	1,2,3	2	N	2	1,2,3,4	N	4	N	1	2	4	N	N

表14-1 本調査研究における採用手法の質問事項一覧(農薬別質問)

[1] 測定機器						
1) 定性で使⽤した測定機器 (検出器)						
測定機器	検出器					
GC	MS	MS/MS	FPD	FTD (NPD)	その他 (GC)	
LC	MS	MS/MS	その他 (LC)			
2) 定量で使⽤した測定機器 (検出器)						
測定機器	検出器					
GC	MS	MS/MS	FPD	FTD (NPD)	その他 (GC)	
LC	MS	MS/MS	その他 (LC)			
[2] 定性の方法						
マススペクトルの測定 (MS/MS [MRM] を含む) [SCAN]						
特徴的なフラグメントイオンの強度比の確認 (用いたフラグメントイオンの質量数) [SIM]						
標準品との保持時間の比較 (相対保持時間の比較を含む)						
その他						
[3] 標準品 (各農薬のメーカー)						
富士フイルム和光純薬		関東化学	Dr.Ehrenstor GmbH			
シグマアルドリッチ		林純薬工業	その他			
[4] 検量線						
1) 作成における原点について						
原点を検量点として採用しない			原点を検量点として採用			
原点強制通過						
2) 最高/最低濃度の比率						
1 ~ 10倍		11 ~ 50倍	51 ~ 100倍	101倍以上		
3) ゼロ点を含めない濃度の点数						
4) 種類						
絶対検量線 (マトリックス非添加)			絶対検量線 (マトリックス添加)			
内標準法 (マトリックス非添加)			内標準法 (マトリックス添加)			
標準添加法		その他				

表14-2 本調査研究における採用手法の回答結果一覧(農薬別質問)

以下、表中のNは、該当なしを示す。

ダイアジン	コード番号																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
[1] 測定機器	N	N	2	2	2	2	2	1	2	2	2	1,2	2	2	2	2	7
[2] 定性の方法	N	N	1,2,3	2,3	1,3	1,2,3	1,3	2,3	2,3	1,3	1,3	1,3	2,3	1,3	1,2,3	2,3	1,2,3
[3] 標準品	1	1	2	2	1	5	1	4	3	3	2	1	1	2	2	1,5	2
[4] 検量線	1,2	2	2	1	1,2	2	4	1,2	1	1	2	2	2	1	2	1	2
	4,5	6	6	4	6	4	15	5	4	4	6	5	6	5	8	4	4
	2	2	4	2	2	1	4	3	2	2	2	2	4	2	2	2	1

クロルピリホス	コード番号																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
[1] 測定機器	N	N	2	2	2	2	2	1	2	2	2	1,2	2	2	2	2	7
[2] 定性の方法	N	N	1,2,3	2,3	1,3	1,2,3	1,3	2,3	2,3	1,3	1,3	1,3	2,3	1,3	1,2,3	2,3	1,2,3
[3] 標準品	1	3	2	2	1	5	1	1	3	1	2	1	1	2	2	1,5	2
[4] 検量線	1,2	2	2	1	1,2	2	4	1,2	1	1	2	2	2	1	2	1	2
	4,5	6	6	4	6	4	15	5	4	4	6	5	6	5	8	4	4
	2	2	4	2	2	1	4	3	2	2	2	2	4	2	2	2	1

表14-3 本調査研究における採用手法の回答結果一覧(農薬別質問)

以下、表中のNは、該当なしを示す。

マラチオン	コード番号																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
[1] 測定機器	N	N	2	2	2	2	2	1	2	2	2	1,2	2	2	2	2	7
[2] 定性の方法	N	N	1,2,3	2,3	1,3	1,2,3	1,3	2,3	2,3	1,3	1,3	1,3	2,3	1,3	1,2,3	2,3	1,2,3
[3] 標準品	4	3	2	2	3	5	1	1	3	3	2	4	3	1	2	1,5	2
[4] 検量線	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1,2	2	2	1	1,2	2	4	1,2	1	1	2	2	2	1	2	1	2
	4,5	6	6	4	6	4	15	5	4	4	6	5	6	5	8	4	4
	2	2	4	2	2	1	4	3	2	2	2	2	4	2	2	2	1

フェイトロチオン	コード番号																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
[1] 測定機器	N	N	2	2	2	2	2	1	2	2	2	1,2	2	2	2	2	1
[2] 定性の方法	N	N	1,2,3	2,3	1,3	1,2,3	1,3	2,3	2,3	1,3	1,3	1,3	2,3	1,3	1,2,3	2,3	1,3
[3] 標準品	6	3	2	2	3	5	1	1	3	1	2	5	1	1	2	1,5	1
[4] 検量線	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1,2	2	2	1	1,2	2	4	1,2	1	1	2	2	2	1	2	1	1
	4,5	6	6	4	6	4	15	5	4	4	6	5	6	5	8	4	3
	2	2	4	2	2	1	4	3	2	2	2	2	4	2	2	2	1

表15-1 本調査研究の残留農薬検査における採用手法の度数表

変数名	1	2	3	4	5	6	7	8	9
合計									
試験法定性試験	15	公定法通り	公定法一部変更法	その他					
定量試験	17	公定法通りの一言試験法	公定法一部変更の一言試験法	公定法通りの個別試験法	公定法一部変更の個別試験法	その他			
試料採取量	17	5.g	10.g	20.g	その他				
抽出で使用した溶媒	17	アセトン	アセトン/トリル	酢酸エチル	その他				
溶媒抽出後の操作方法	18	液-液分配	固相抽出	併用	GC	併用	GC/PISA	併用	GC/PISA
固相抽出の場合：カラムの種類	25	シカゲル	活性炭	ODS(C18)	GC/NH2	GC/PISA	SAX/PISA	その他	その他
標準品種類	17	農薬混合標準液	個別標準品	併用	その他				
サブライヤーの指定	17	1ヶ所を指定	複数メーカーを指定	指定していない					
未開封品の使用期限	17	メーカー表示に従う	機関において設定	設定していない					
開封後の使用期限	17	メーカー表示に従う	機関において設定	設定していない					

複数回答を含む

表15-2 本調査研究の残留農薬検査における採用手法の度数表

変数名	1	2	3	4	5	6	7	8	9
合計	17	6	11	17	17	17	17	17	17
標準原液 純度換算	換算する	換算しない							
換算する場合:	標準品の採取量で 調整	検量線作成時の 設定濃度で調整	試験溶液中濃度で 調整						
純度換算実施時点	6	0	0						
調製について	測定ごとに標準品を 秤量して原液を調製	一定濃度を調製し 保管して使用	その他						
標準溶液 中間希釈標準溶液	測定ごとに調製	調製済みを使用	その他						
検量線用標準溶液	測定ごとに調製	調製済みを使用	その他						
検量線 帰式	一次式	二次式	その他						
検量線の採用判断基準	有	無							
検量線の作成に用いた標準溶液に 含まれる農薬の種類総数	10以下	11~50	51~100	101~150	151~200	201~250	251以上		
マトリックス添加検量線の場合: 検量線の範囲外となったときの操作 操作を再度行う場合: 試験溶液のマトリックス濃度	検量線を再作成	試験溶液を希釈	そのまま採用						
標準溶液の測定回数	合わせる	合わせない	その他						
試験溶液の測定回数	1回	複数回測定 の平均値	その他						
結果の品質保証	測定開始前	測定終了後	試験溶液測定 の中間	併用	併用	併用	併用	併用	測定しない
結果の品質保証を実施する場合: 測定する溶液の種類	1	2	2	6	0	0	1	0	5
	3	6	3	4	1				

複数回答を含む

表16-1 本調査研究の残留農薬検査(ダイアジノン)における採用手法の度数表

変数名	合計								
	1	2	3	4	5	6	7	8	
定性で使用した測定機器	GC/MS 2	GC/MS/MS 13	GC/FPD 0	GC/FTD(NPD) 0	GCその他 0	LC/MS 0	LC/MS/MS 1	LCその他 0	
定量で使用した測定機器	GC/MS 1	GC/MS/MS 14	GC/FPD 1	GC/FTD(NPD) 0	GCその他 0	LC/MS 0	LC/MS/MS 1	LCその他 0	
定性の方法	10	9	15	0	0	0	0	0	
	マスマイクトルの測定		フラスコイオンの 強度比の確認		標準品との 保持時間の比較				
	その他								
農薬のメーカー	7	6	2	1	2	0	0	0	
	富士フイルム和光純薬		関東化学		Dr. Ehrenstorfer GmbH		シグマアルドリッチ	林純薬工業	その他
検量線作成における原点	検量点として 採用しない		検量点として採用		原点強制通過				
濃度範囲	17	0	0	0	0	0	0	0	
	1~10倍		11~50倍		51~100倍		101倍以上		
濃度の点数	4	11	5	6	8	15	1	0	
	7	4	4	5	8	1	1	0	
検量線の種類	絶対検量線		絶対検量線		内標準法		内標準法		
	(マトリクス非添加)		(マトリクス添加)		(マトリクス非添加)		(マトリクス添加)		
	2	11	1	1	3	0	0	0	

複数回答を含む

表16-2 本調査研究の残留農薬検査(クロルピリホス)における採用手法の度数表

変数名	合計							
	1	2	3	4	5	6	7	8
定性で使用した測定機器	GC/MS 2	GC/MS/MS 13	GC/FPD 0	GC/FTD(NPD) 0	GCその他 0	LC/MS 0	LC/MS/MS 1	LCその他 0
定量で使用した測定機器	GC/MS 1	GC/MS/MS 14	GC/FPD 1	GC/FTD(NPD) 0	GCその他 0	LC/MS 0	LC/MS/MS 1	LCその他 0
定性の方法	10	9	15	0	0	0	0	0
	マスのハクトルの測定 フラスコ内の 強度比の確認 標準品との 保持時間の比較 その他							
農薬のメーカー	8	6	2	0	2	0	2	0
	富士フイルム和光純薬 関東化学 Dr. Ehrenstorfer GmbH シグマアルドリッチ 林純薬工業 その他							
検量線作成における原点	17	0	0	0	0	0	0	0
	検量点として採用しない 検量点として採用 原点強制通過							
濃度範囲	17	8	11	0	0	1	1	0
	1~10倍 11~50倍 51~100倍 101倍以上							
濃度の点数	4	5	6	8	15	1	1	0
	絶対検量線 絶対検量線 絶対検量線 内標法 内標法 (マトリクス非添加) (マトリクス添加) (マトリクス非添加) (マトリクス添加)							
検量線の種類	2	11	1	3	0	0	0	0
	標準添加法 標準添加法 標準添加法 標準添加法 標準添加法 標準添加法 標準添加法 標準添加法							

複数回答を含む

表16-3 本調査研究の残留農薬検査(マラチオン)における採用手法の度数表

変数名	合計						
	1	2	3	4	5	6	7
定性で使用した測定機器	GC/MS 2	GC/MS/MS 13	GC/FPD 0	GC/FTD(NPD) 0	GCその他 0	LC/MS 0	LC/MS/MS 1
定量で使用した測定機器	GC/MS 1	GC/MS/MS 14	GC/FPD 1	GC/FTD(NPD) 0	GCその他 0	LC/MS 0	LC/MS/MS 1
定性の方法	10	9	15	0	0	0	0
	マスのハクトルの測定 フラスコ内の 強度比の確認 標準品との 保持時間の比較 その他						
農薬のメーカー	4	5	5	2	2	0	0
	富士フイルム和光純薬 関東化学		Dr. Ehrenstorfer GmbH		シグマアルドリッチ	林純薬工業	その他
検量線作成における原点	検量点として採用しない		検量点として採用		原点強制通過		
濃度範囲	17	0	0	0	0	0	0
	1~10倍		11~50倍		51~100倍		101倍以上
濃度の点数	4	11	5	6	8	15	1
	7	4	5	5	1	1	1
検量線の種類	絶対検量線 (マトリクス非添加)		絶対検量線 (マトリクス添加)		内標準法 (マトリクス非添加)		内標準法 標準添加法 (マトリクス添加)
	2	11	1	1	3	0	0

複数回答を含む

表16-4 本調査研究の残留農薬検査(フェニトロチオン)における採用手法の度数表

変数名	合計						
	1	2	3	4	5	6	7
定性で使用した測定機器	GC/MS 3	GC/MS/MS 13	GC/FPD 0	GC/FTD(NPD) 0	GCその他 0	LC/MS 0	LC/MS/MS 0
定量で使用した測定機器	GC/MS 1	GC/MS/MS 14	GC/FPD 2	GC/FTD(NPD) 0	GCその他 0	LC/MS 0	LC/MS/MS 0
定性の方法	10	8	15	0	その他		
農薬のメーカー	富士フイルム和光純薬 7	関東化学 4	Dr. Ehrenstorfer GmbH 3	シグマアルドリッチ 0	林純薬工業 3	その他 1	
検量線作成における原点	検量点として採用しない 17	検量点として採用 0	原点強制通過 0				
濃度範囲	1~10倍 9	11~50倍 10	51~100倍 0	101倍以上 1			
濃度の点数	3 1	4 6	5 4	6 5	8 1	15 1	
検量線の種類	絶対検量線 (マトリクス非添加) 2	絶対検量線 (マトリクス添加) 11	内標準法 (マトリクス非添加) 1	内標準法 (マトリクス添加) 3	標準添加法 (マトリクス添加) 0	その他 0	複数回答を含む

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(ハッピーレシピ 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rik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 $\mu\text{g/g}$ に対し、試料 1 で 8.6 ~ 10.3 $\mu\text{g/g}$ 、試料 2 で 8.5 ~ 9.7 $\mu\text{g/g}$ 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 \pm ロバスト標準偏差は $10.768 \pm 0.968 \mu\text{g/g}$ 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 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 \pm ロバスト標準偏差は $10.386 \pm 0.916 \mu\text{g/g}$ 、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、試験の手法の正確性と同様に、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

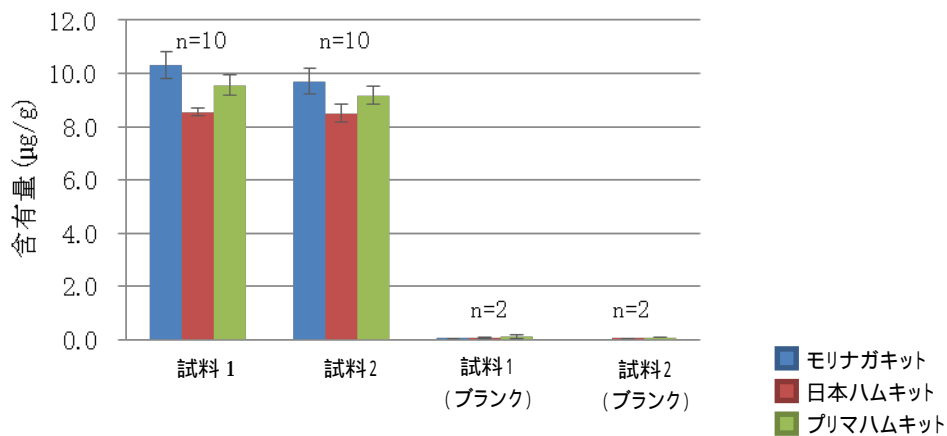
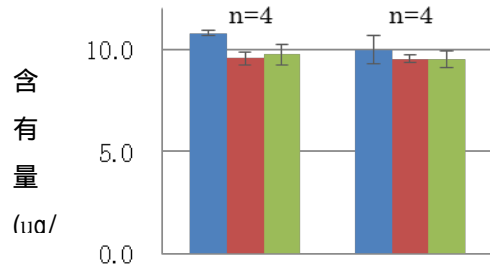


図1 外部精度管理調査試料(小麦)の均質性試験結果

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)

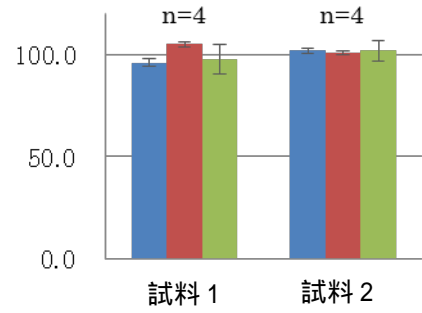
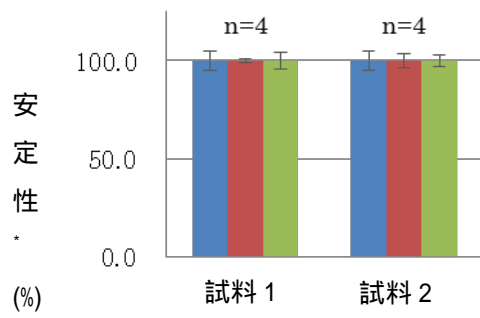
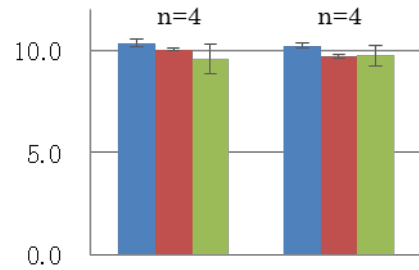


図 2 外部精度管理調査試料(小麦)の含有量および安定性

*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

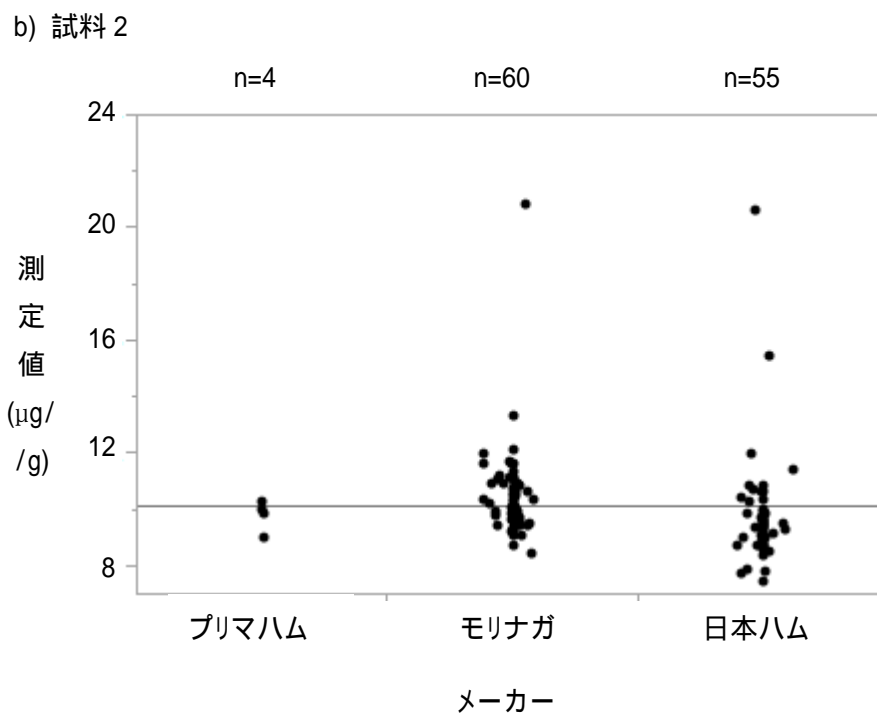
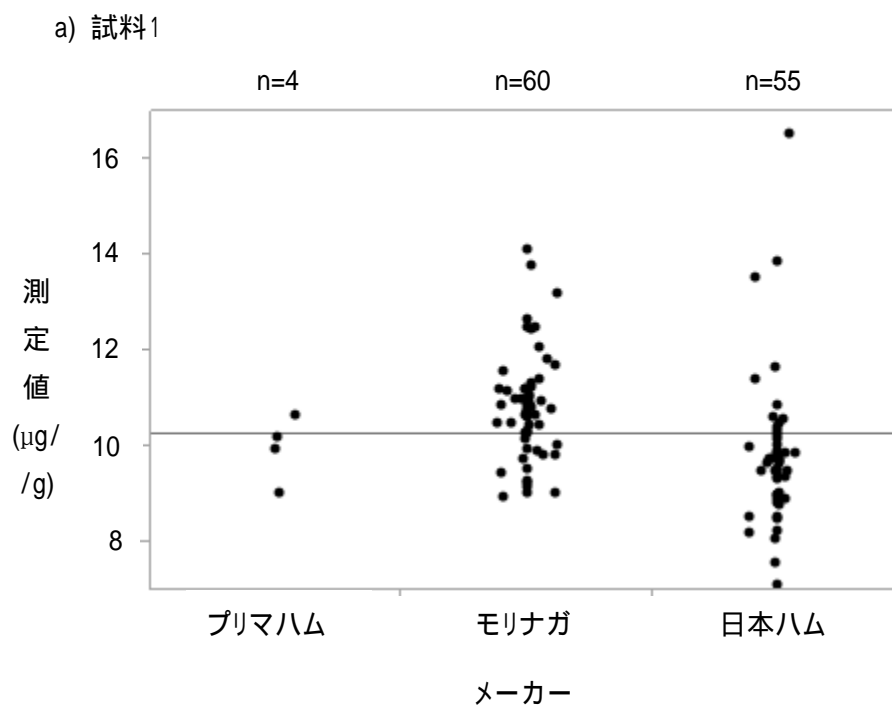


図3 外部精度管理調査研究での各試料(小麦)におけるキットごとのデータ分布

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

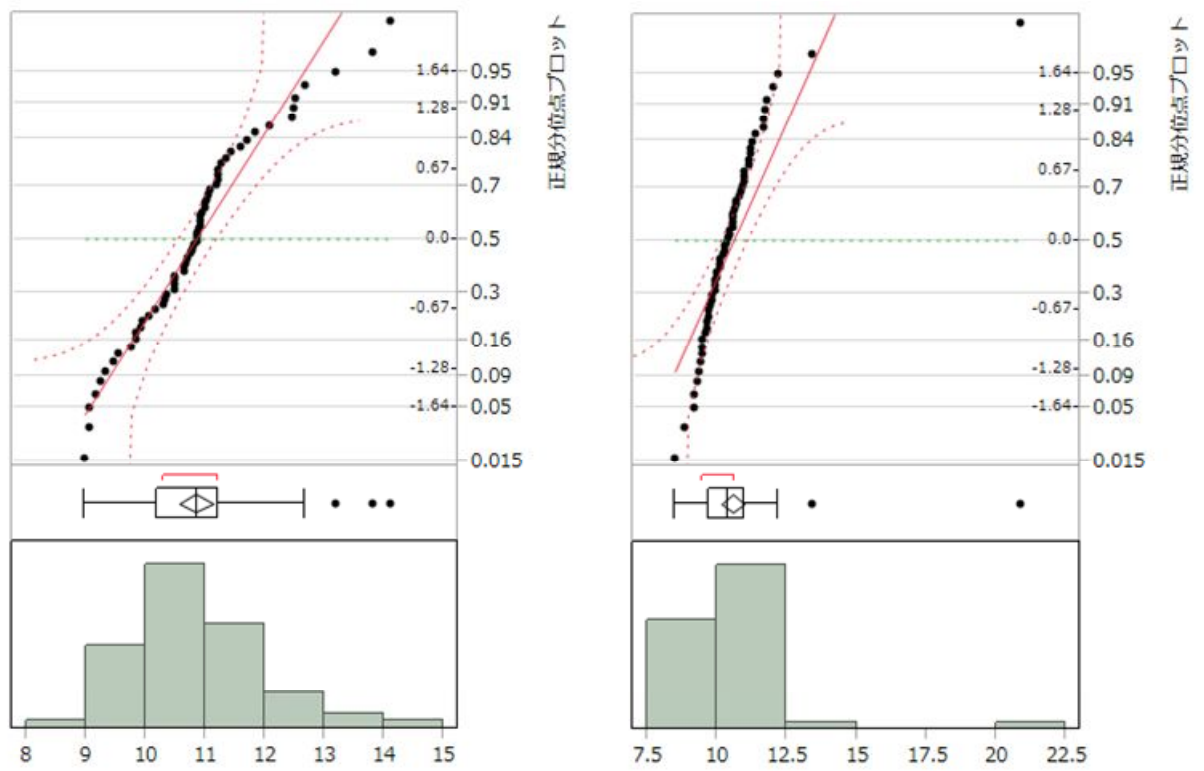
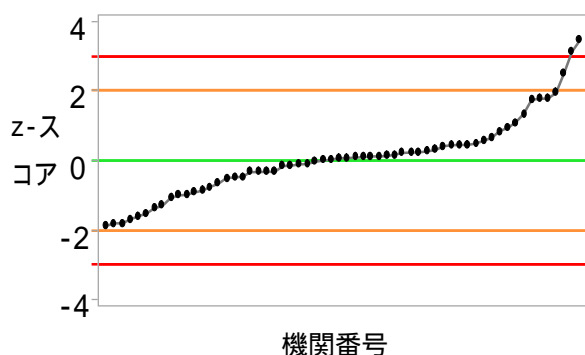
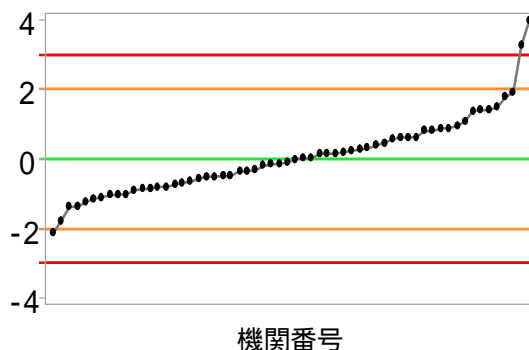


図 4 モリナガ(小麦)キットを用いた測定によるヒストグラムおよび正規分位点プロット

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

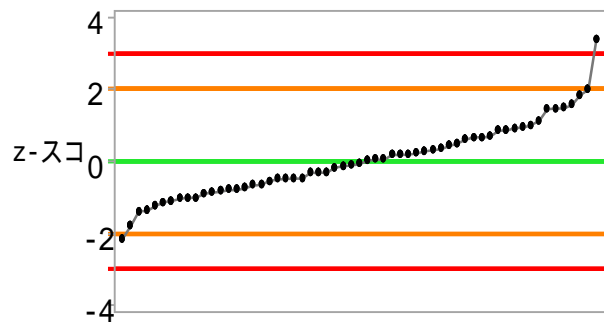
z-スコア ≤ -2 の順位	z-スコア	2 ≤ z-スコア の順位	z-スコア
1	-2.103	1	11.484
		2	3.281

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

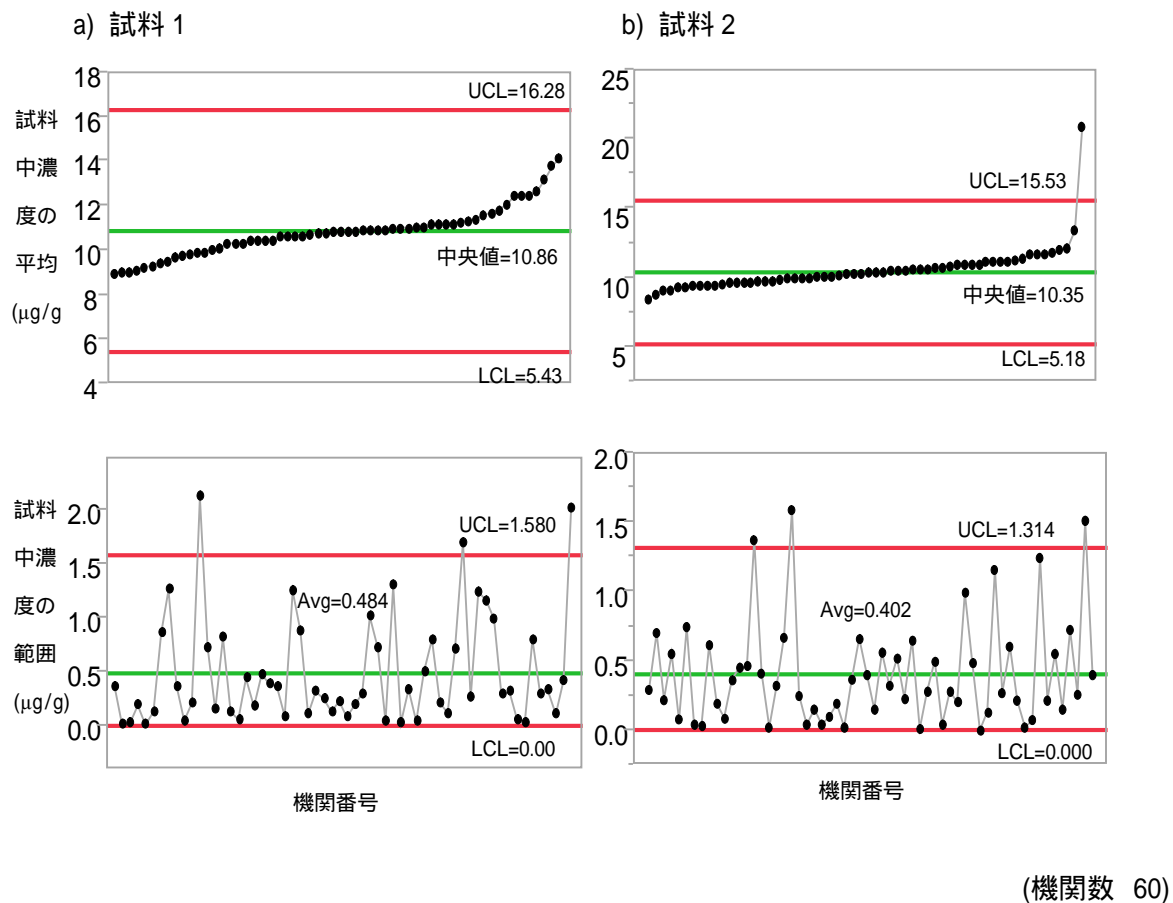


図 7 モリナガ(小麦)キットを用いた測定による Xbar-R 管理図

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。

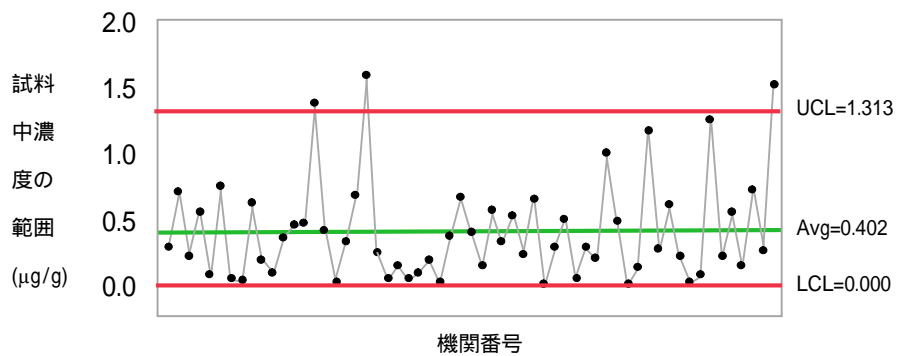
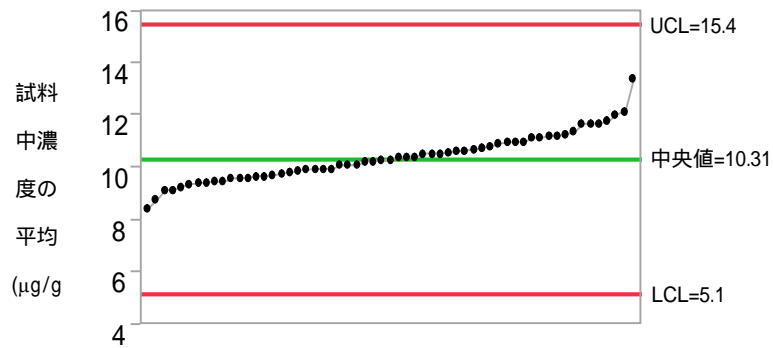


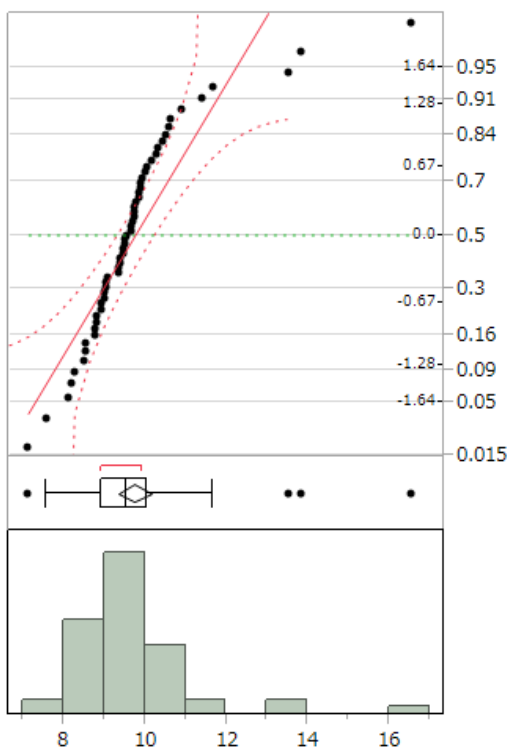
図8 モリナガ(小麦)キットを用いた測定による Xbar-R 管理図(試料2、メジアン・クリーニング後)

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

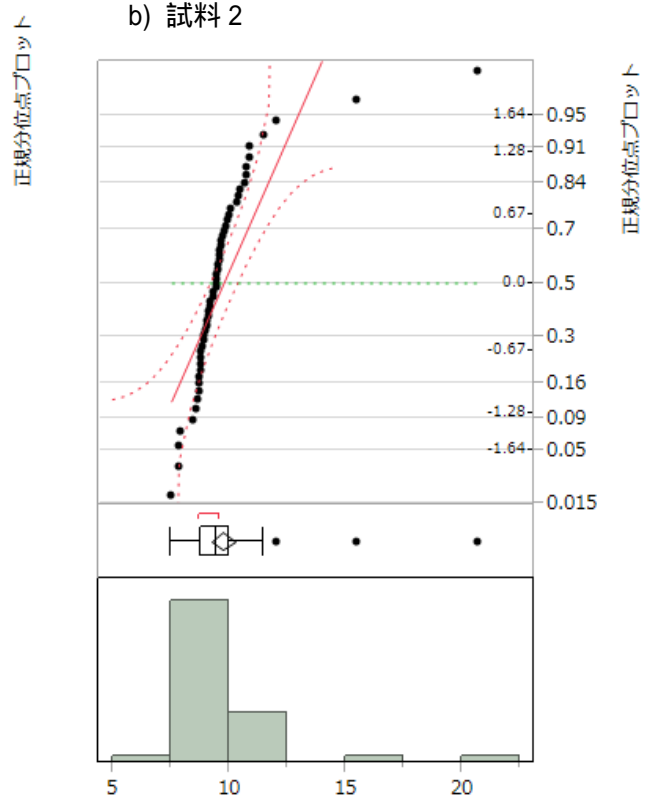
Xbar 管理図(上段)の上部管理限界線(UCL)および下部管理限界線(LCL)は中央値 \pm 50%とした。R 管理図(下段)のUCLおよびLCLはRの平均値とJISハンドブックの係数D4(=3.267)から算出した。

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

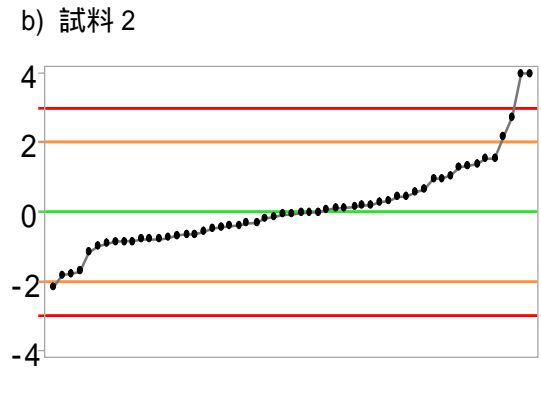
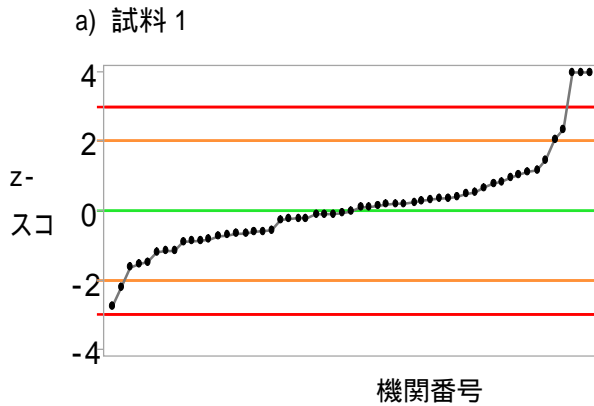


b) 試料 2



(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

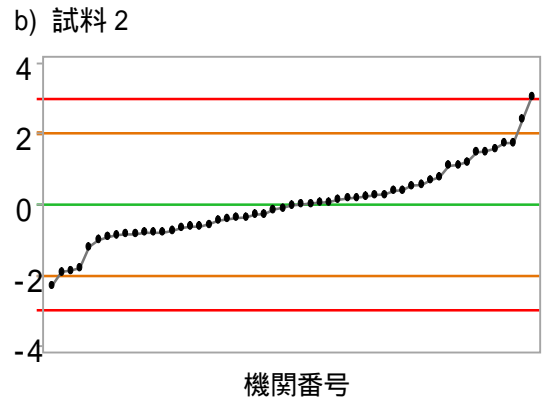
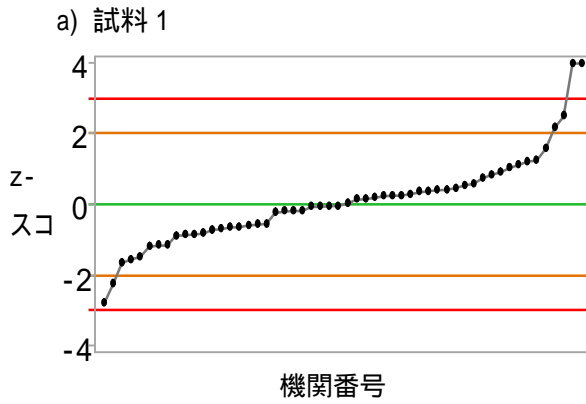
z-スコア ≤ -2 の順位	z-スコア	2 ≤ z-スコア の順位	z-スコア
1	-2.143	1	12.165
		2	6.546
		3	2.749
		4	2.174

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

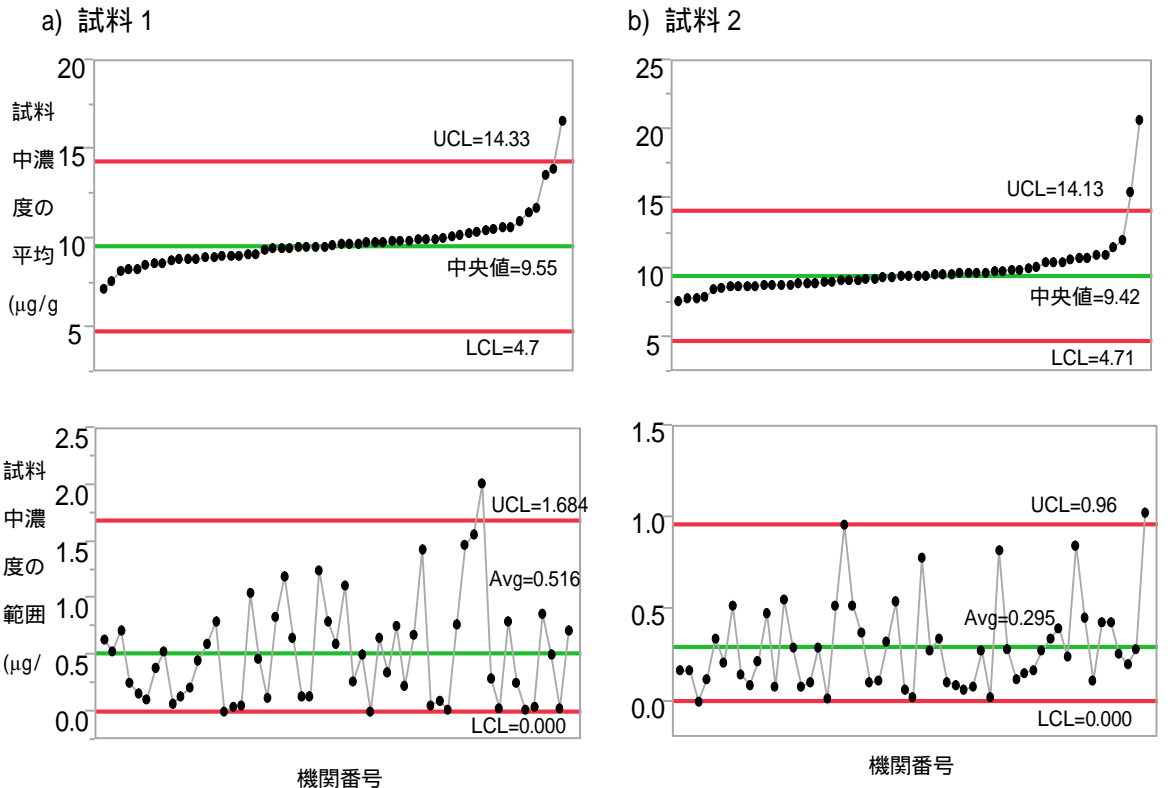
図中 z-スコア 4 以上は 4 に設定 (機関数 54)

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。

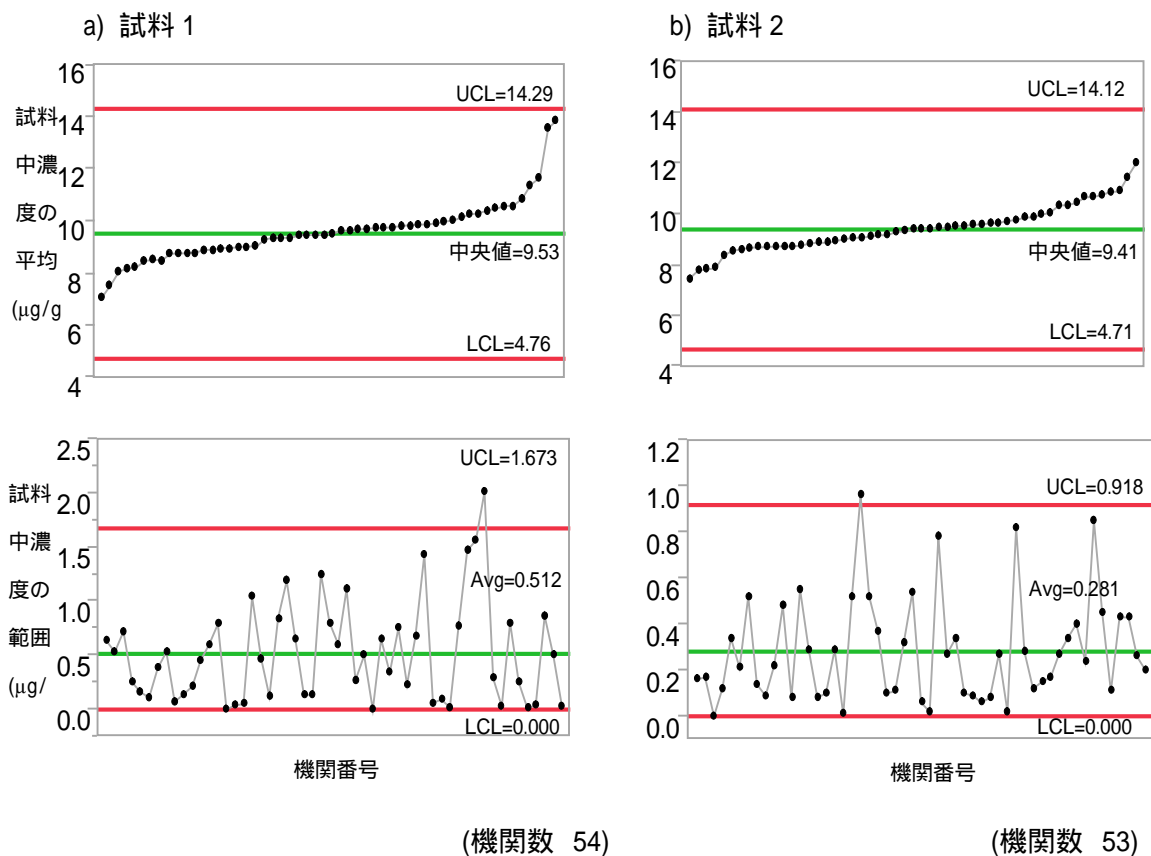
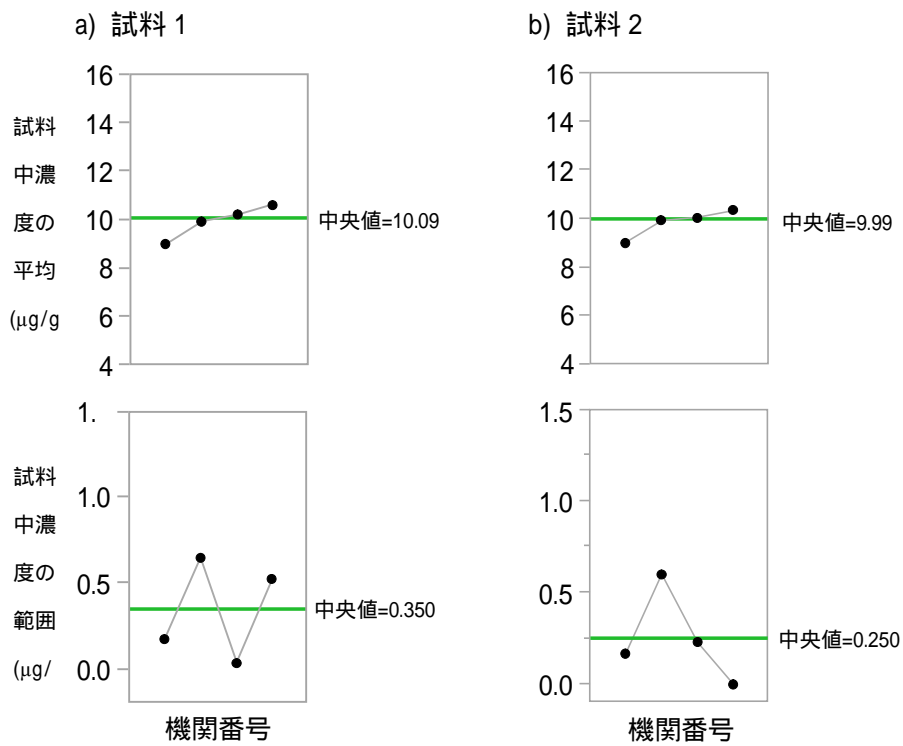


図 13 日本ハム(小麦)キットを用いた測定による Xbar-R 管理図(メジアン・クリーニング後)

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

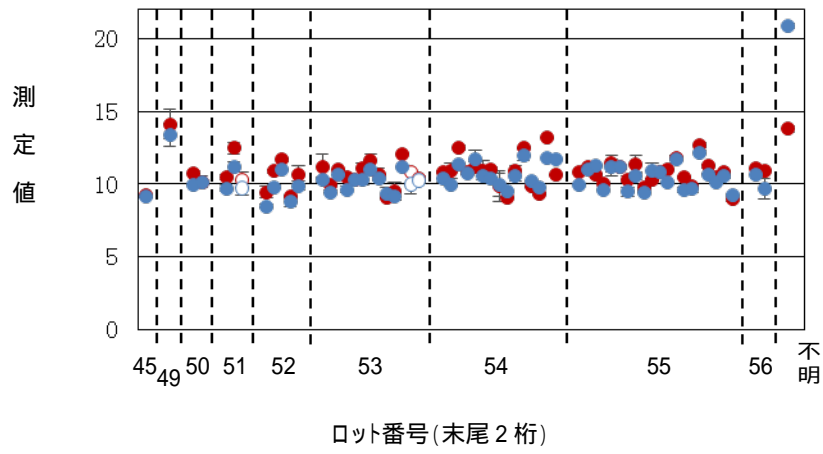
Xbar 管理図(上段)の上部管理限界線(UCL)および下部管理限界線(LCL)は中央値 \pm 50%とした。R 管理図(下段)の UCL および LCL は R の平均値と JIS ハンドブックの係数 $D4 (=3.267)$ から算出した。



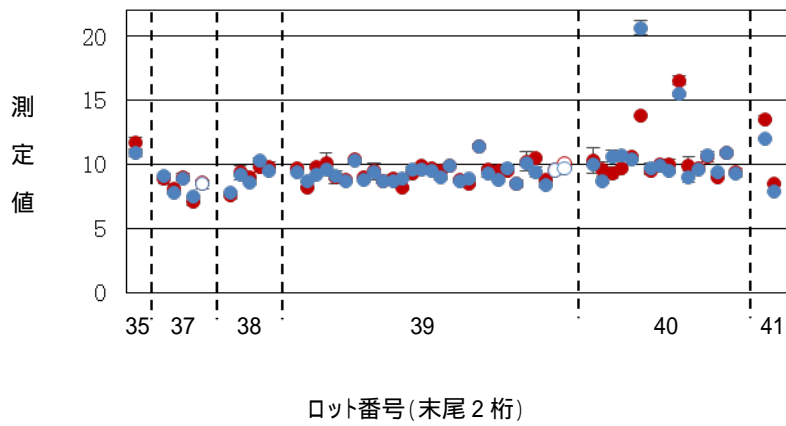
(機関数 4)

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

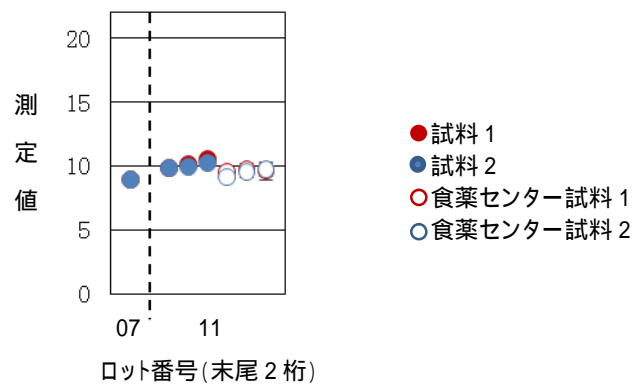


図 15 各キットで得られた測定値のロット間比較

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

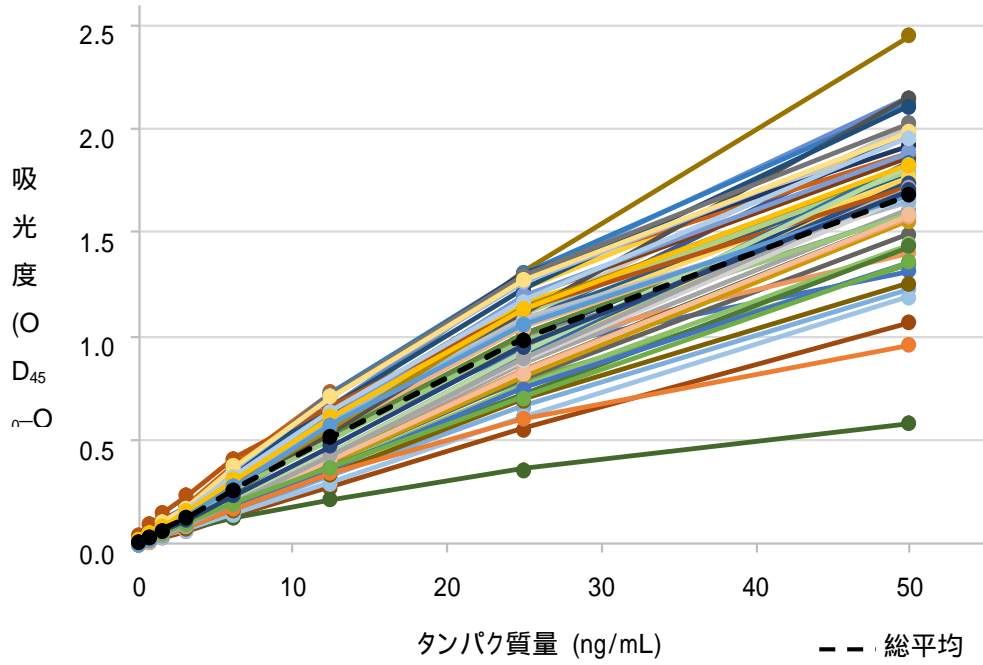


図 16 モリナガ(小麦)キットを用いた測定における検量線(60 機関)
個別は図 19 を参照

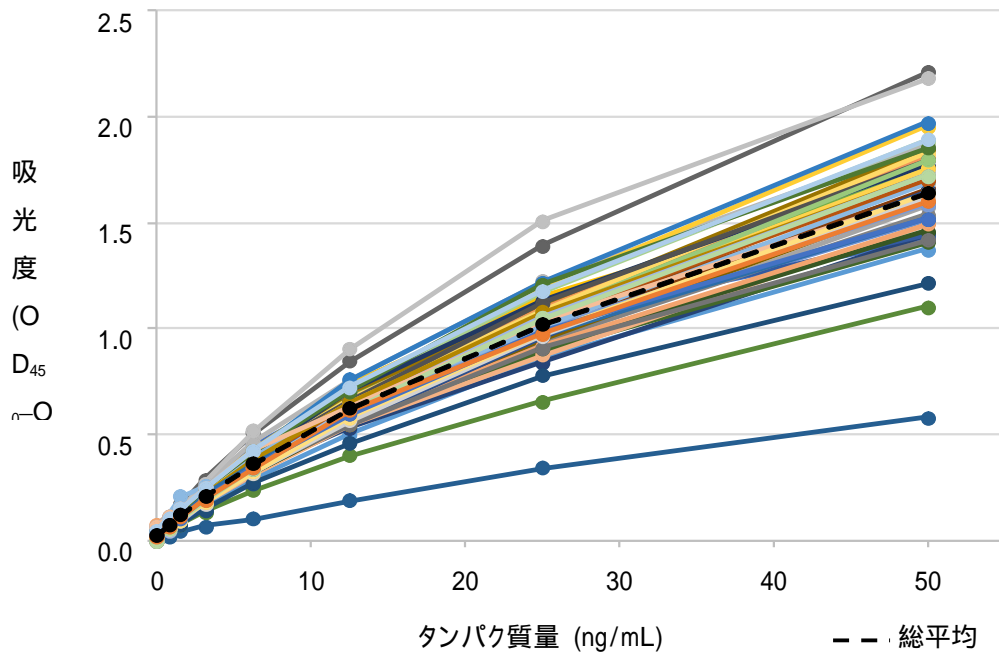


図 17 日本ハム(小麦)キットを用いた測定における検量線(55 機関)
個別は図 20 を参照

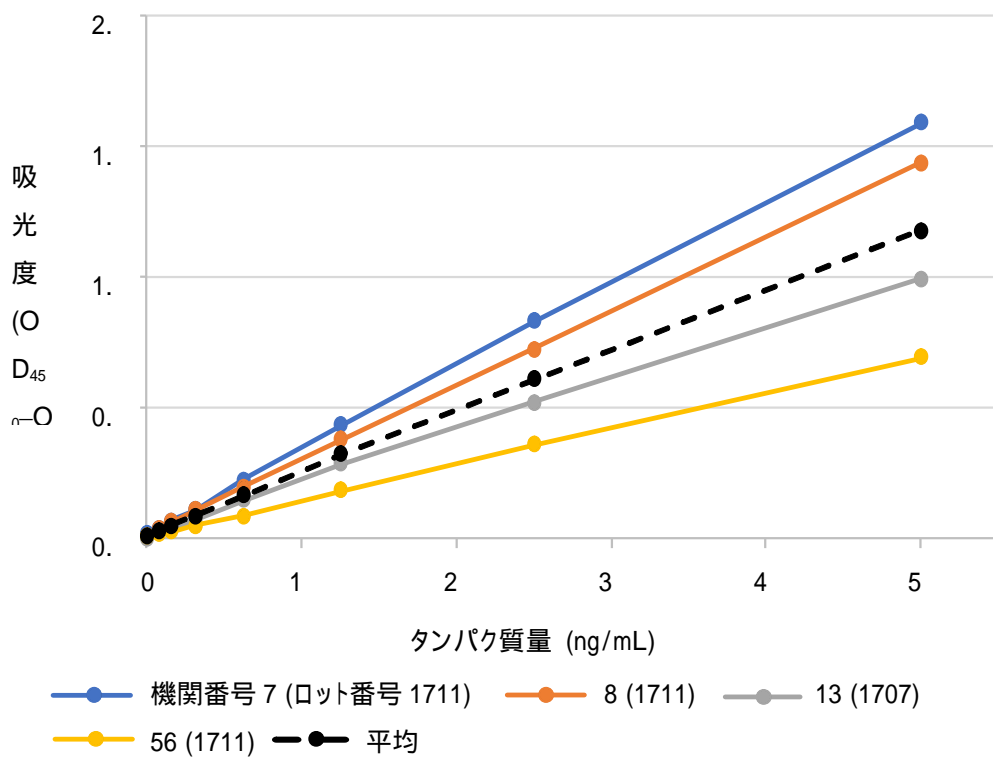


図 18 プリマハム(小麦)キットを用いた測定における検量線(4 機関)

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

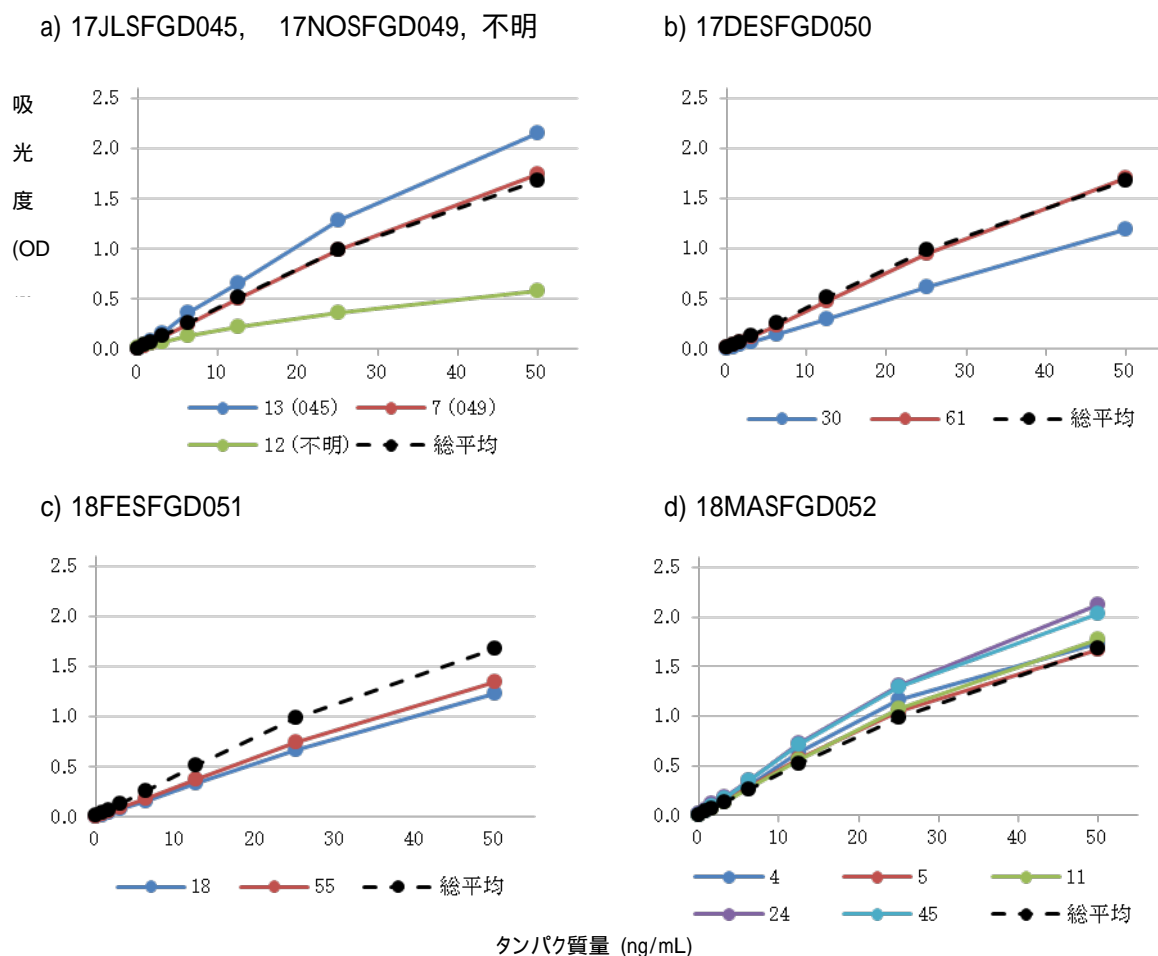
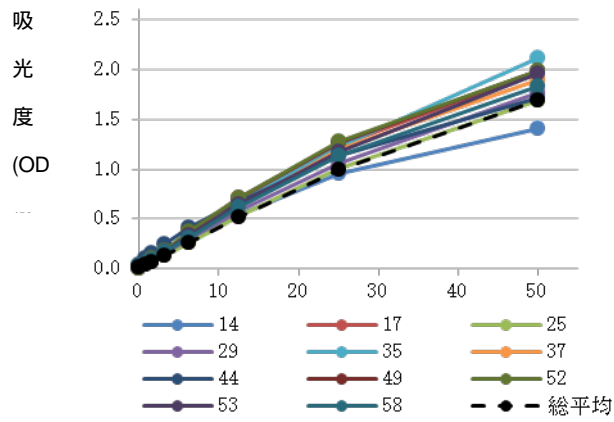
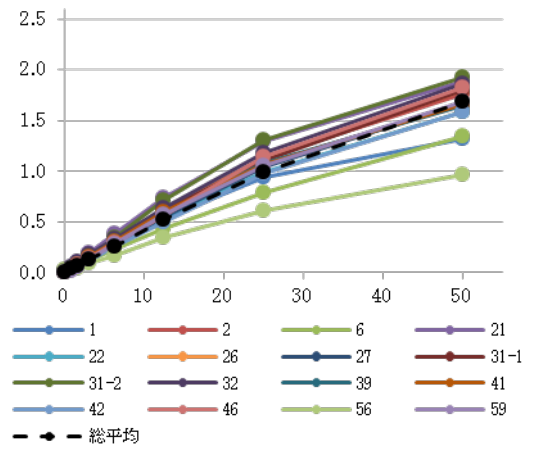


図 19-1 モリナガ(小麦)キットを用いた測定におけるロット別検量線

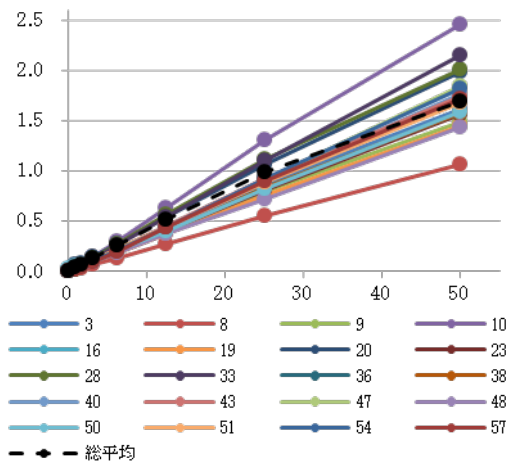
e) 18APSF053



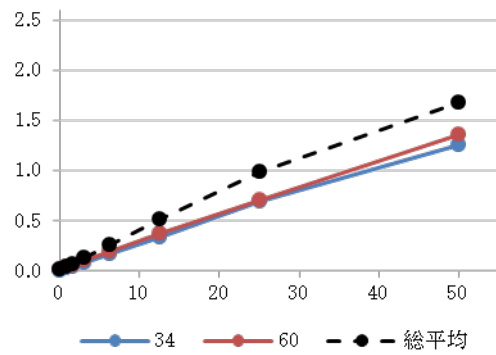
f) 18MYSFGD054



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

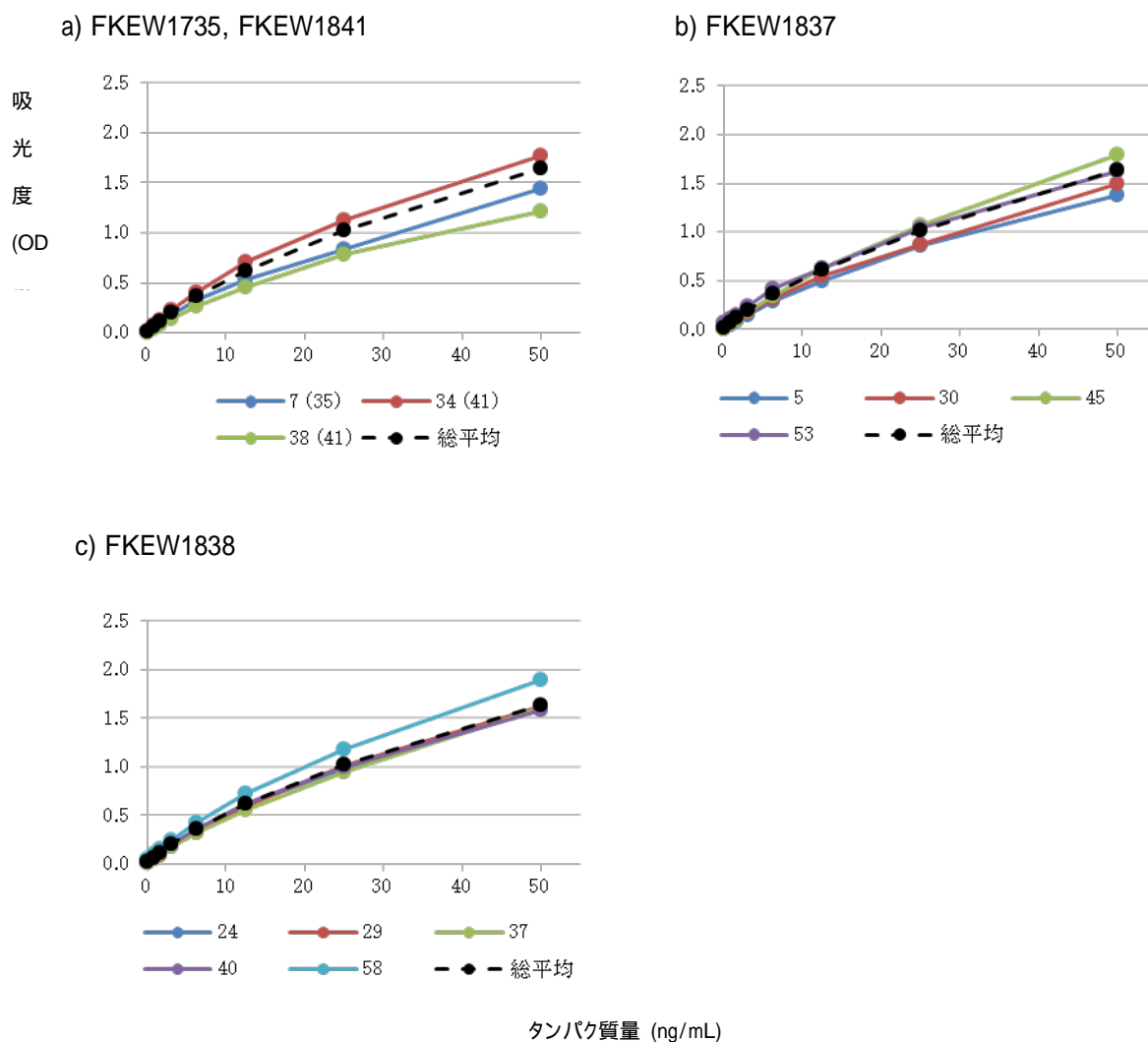


図 20-1 日本ハム(小麦)キットを用いた測定におけるロット別検量線

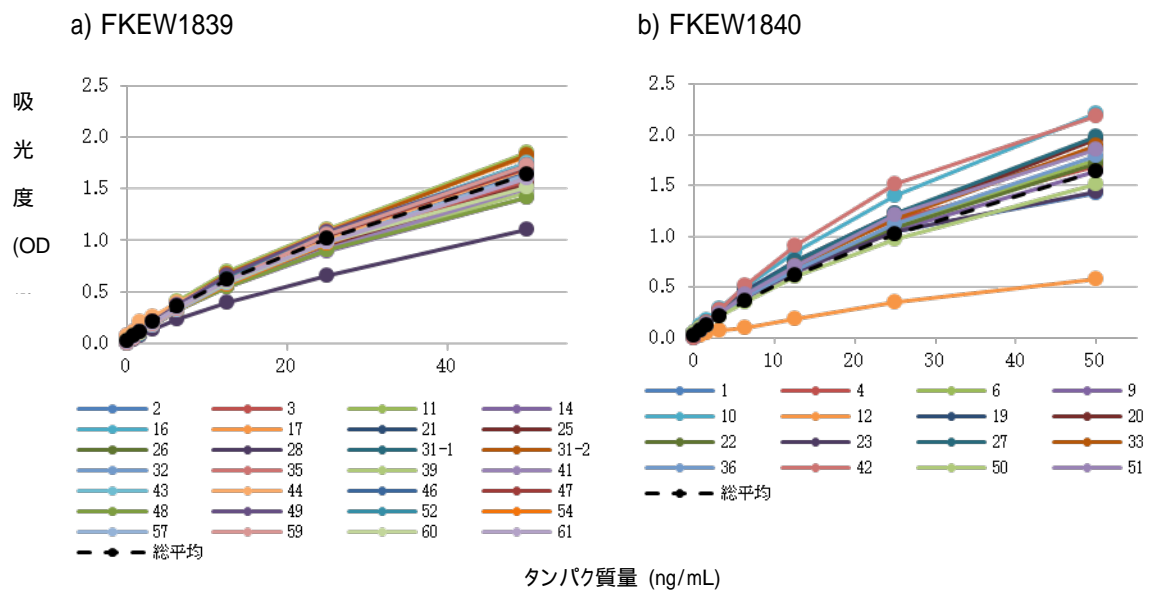
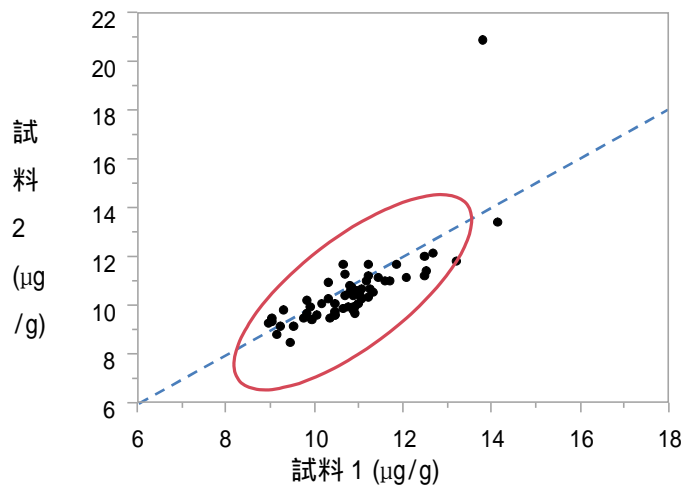


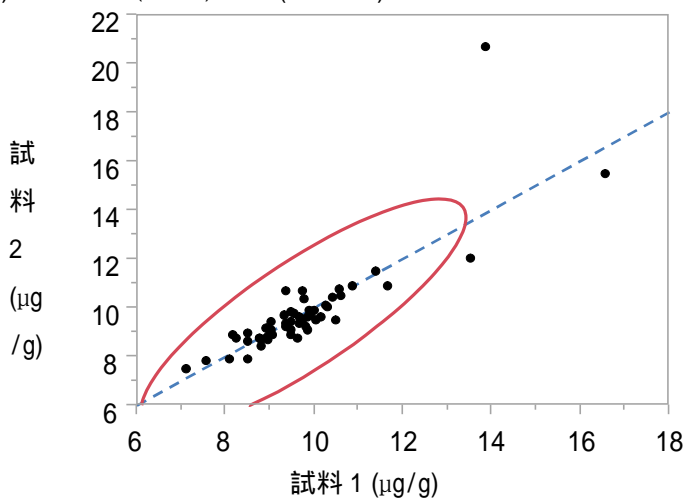
図 20-2 日本ハム(小麦)キットを用いた測定におけるロット別検量線

a) モリナガ(小麦)キット(60 機関)



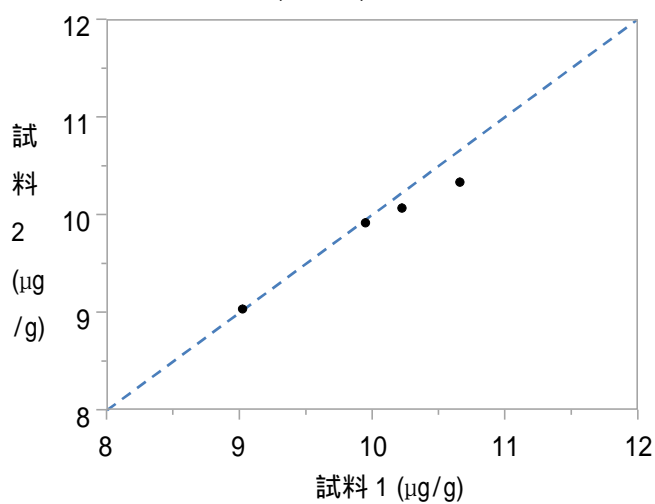
試料 1: $10.85 \pm 1.10 \mu\text{g/g}$
 試料 2: $10.56 \pm 1.63 \mu\text{g/g}$
 $R = 0.742 (p < 0.0001)$

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)

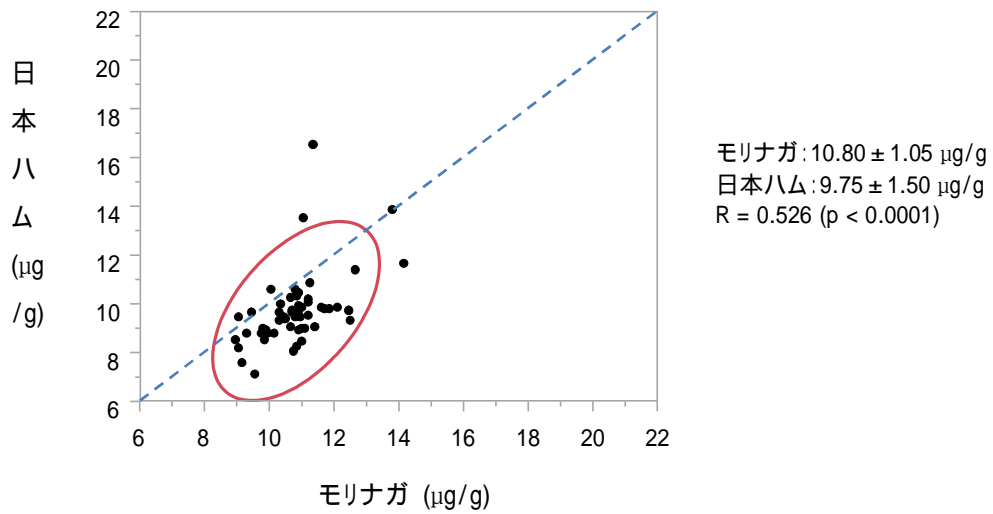


試料 1: $9.97 \pm 0.69 \mu\text{g/g}$
 試料 2: $9.84 \pm 0.57 \mu\text{g/g}$

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)

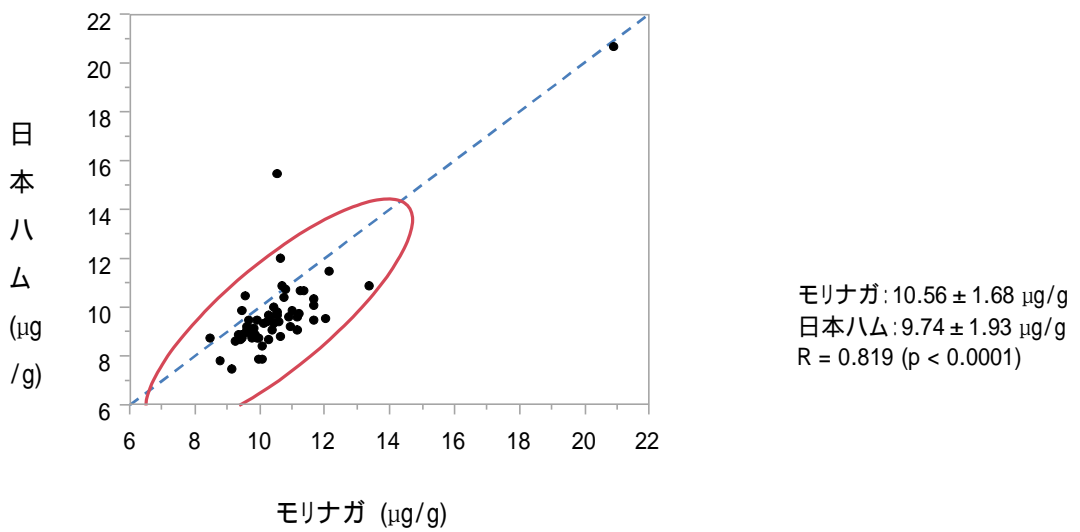


図 22 同一試料内での測定値のキット間の相関性
 楕円は 95%の確率楕円を示す。点線は $y = x$

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	
	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	その他
	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

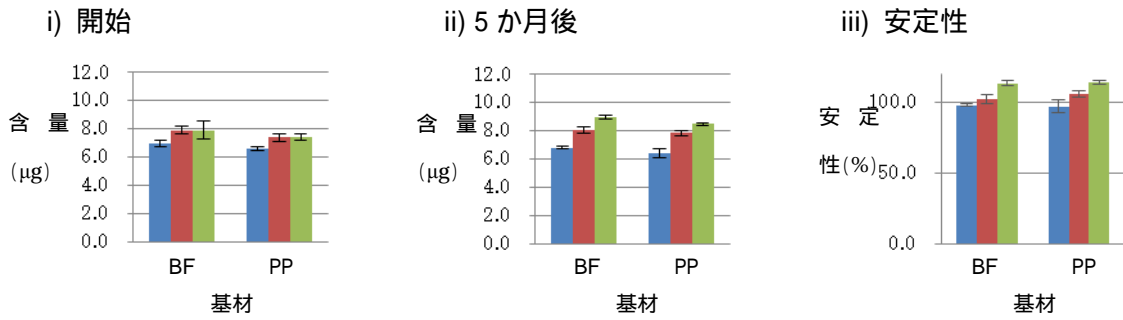
(回答 58 機関)

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

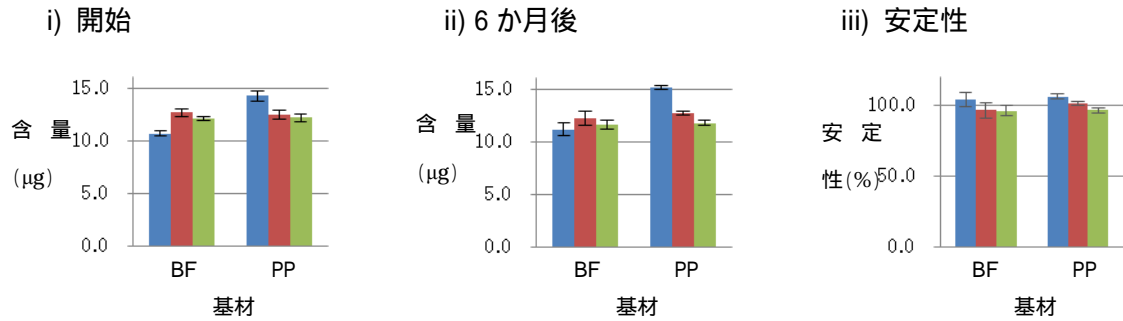
		特定原材料					
		卵	乳	小麦	そば	落花生	甲殻類
ELISA	実施機関数	43	40	41	34	26	25
	使用キット [複数回答]						
	モリナガ	42	39	39	33	25	
	日本ハム	42	39	40	34	26	
	プリマハム	2	1	1	1	1	
	ニッスイ						25
	マルハ						25
	総試験数	4188	4712	3512	3248	3073	1518
確認試験	実施機関数	5	5	11	4	2	4
	試験数	21	14	86	16	13	38

(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

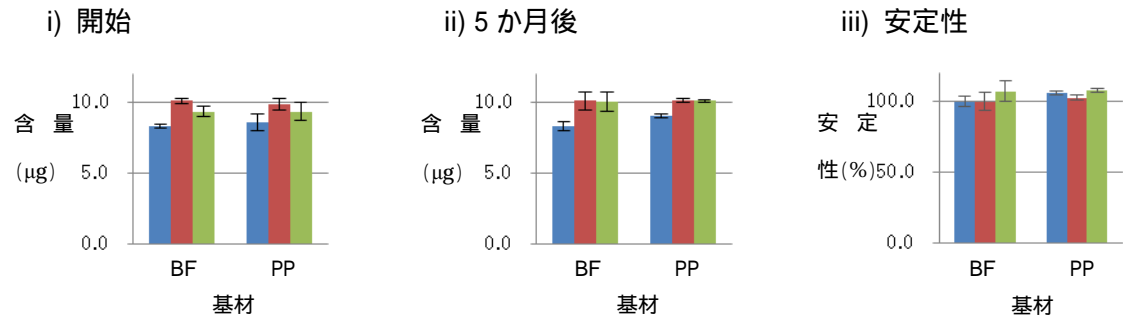


図 23 3 種タンパク質添加試料の安定性結果

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

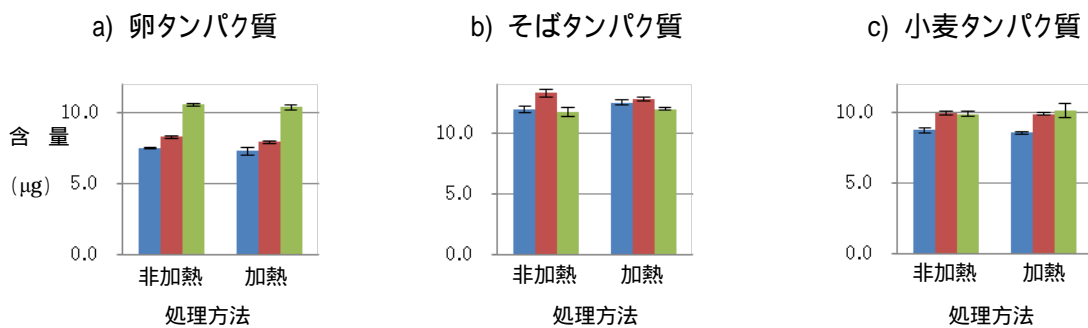


図 24 非加熱および加熱サンプル中の 3 種タンパク質の ELISA 法による含有量測定結果

■ 日本ハムキット
 ■ モリナガキット
 ■ プリマハムキット

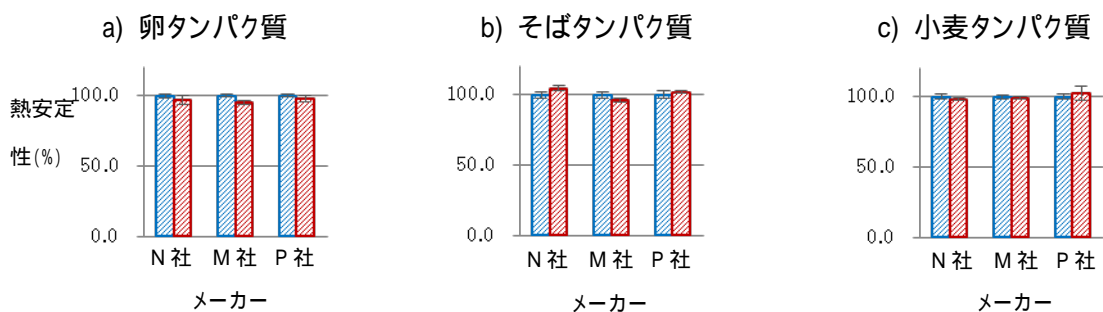


図 25 加熱による試料中の 3 種タンパク質の安定性結果

■ 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

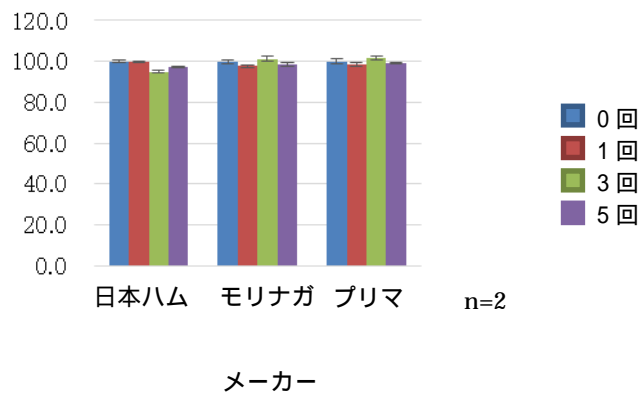


図 26 かぼちゃペーストに乾燥全卵タンパク質を添加した試料の凍結融解による影響

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

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

既存技能試験プログラムの改善及び新規技能試験プログラムの導入に関する研究（3）

スプレードライヤを用いた新規技能試験用試料の作製検討

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	高坂 典子	（一財）食品薬品安全センター秦野研究所 室長補佐
	平林 尚之	（一財）食品薬品安全センター秦野研究所 研究員
	八木 真美	（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
	池田 真季	（一財）食品薬品安全センター秦野研究所 研究員

研究要旨

前年度、技能試験プログラム用試料作製に、食品の乾燥に用いられているスプレードライヤを用いることを試み、モデルとして米粉を用い、分解のないカドミウムおよび鉛の溶液に米粉を懸濁させて創生条件を検討した。今年度は、実情に即したラージスケールでの玄米粉を用いた検討を行うと共に、玄米粉中の残留農薬について基礎検討を行った。市販の玄米粉10 kg又は自家製玄米粉10 kgを1.25 mg/Lカドミウムおよび鉛溶液40 Lに懸濁させ（米粉の理論作製濃度：0.5 µg/g）、これをスプレードライヤに供した。米粉懸濁溶液は事前に攪拌し、均一な懸濁溶液とし、原液タンクに移し、攪拌しながらペリスタポンプでアトマイザに34.6 kg/hで送液した。アトマイザにはロータリー式を用い、ディスクはMC-50型を使用した。回転数（18,000 rpm）、入り口温度（180 ℃）、出口温度（100 ℃）で作製し、得られた玄米粉の平均粒子径を測定した。また、得られた米粉は原子吸光光度計でカドミウムおよび鉛含量を測定した。その結果、理論値に近い回収率が得られ、スモールスケールで検討した結果と一致し、実用化できる可能性が示唆された。さらに、玄米粉中の残留農薬については、アセトニトリルにダイアジノン、フェニトロチオン、マラチオン及びクロルピリホスを溶解させ、玄米粉を加え懸濁攪拌させた。今回はスプレードライヤの入り口温度を120 ℃、100 ℃、80 ℃で比較検討した結果、回収率は5 %～25 %と非常に低く、農薬の沸点が回収率に関与していることが推察された。

A. 研究目的

これまで技能試験プログラム用試料は実試料に近い湿試料を開発し作成していた。湿試料の場合、長時間にわたる安定性を維持することは非常に困難であった。野菜ペースト中の残留農薬や豚肉ペースト中の残留動物用医薬品などはその基材由来の成分や酵素などにより分解を受け易く、安定性を担保することが課題である。これら技能試験プログラム用試料は、安定性ばかりではなく、均質性も求められ、両者を満たさなければ試料として用いることができない。一方、湿試料に比べ乾試料は安定性が良いことは知られており、安定性を期待する試料として紛体の乾試料を用いて技能試験も行われている。そこで、紛体の技能試験プログラム用試料の開発を目的とした。

乾燥した紛体の作製には、試料の分解を考慮すると凍結乾燥法が有力であるが、多量の試料を作製するためには向かない。また、紛体と紛体を混合しても、粒子径が同じでなければ均質なものはできない。そこで、液体原料を熱風中に噴霧して液滴の比表面積を増加させ短時間で水分を蒸発させる乾燥法であるスプレードライヤ（噴霧乾燥法）をこの技能試験プログラム用試料作製に応用できないか検討した。スプレードライヤは 20 世紀初めに脱脂粉乳の乾燥に用いられ発達した技術であり、種々の食品に応用されている。前年度、モデルとして白米粉を用い、分解のないカドミウム、鉛の溶液に白米粉を懸濁させて作製条件の検討を行なった。今年度は玄米粉を用い、作製をスケールアップさせ、実際の作製スケ-

ルにあわせた量の作製の検討を行った。また、同じ玄米粉を基材として用い、残留農薬用試料作製の基礎検討を行った。

B. 研究方法

1. 試料基材および試薬

試料基材として市販の米粉(日本製粉)市販の玄米粉(まるだけ)および自家製玄米粉(宮城ひとめぼれを粉碎した)を用いた。標準品としてカドミウム標準溶液(1000 mg/L 溶液、化学分析用、関東化学)および鉛標準溶液(1000 mg/L、化学分析用、関東化学)を用いた。また、試料調製には注射用蒸留水(日本薬局方、以下、水、光製薬)を使用した。米粉の分解には、硝酸 1.38(有害金属測定用、以下、硝酸、関東化学)および硝酸 1.42(Ultrapur-100、以下、高純度硝酸、関東化学)を用いた。また、農薬(ダイアジノン標準品、フェニトロチオン標準品、マラチオン標準品、クロルピリホス標準品)はいずれも Dr.Ehrenstorfer 製を用いた。また、溶解、抽出にアセトニトリル(HPLC 用、富士フイルム和光純薬)、トルエン(富士フイルム和光純薬)、ヘキサン(残留農薬用、富士フイルム和光純薬)、アセトン(残留農薬用、富士フイルム和光純薬)および水(HPLC 用、富士フイルム和光純薬)を用いた。

2. 使用機器および測定条件

玄米粉の秤量にはメトラート社製電子天秤(PR803)を、分解には電子レンジ(RE-T2、シャープ)およびホットプレート(NP-6 型、柴田科学)を用いた。玄米粉中のカドミウムおよび鉛は島津製作所製原子吸光光度計(島津

AA6800) を使用した。

原子吸光光度法測定条件を以下に示す。

(1) フレーム方式

使用ガス：可燃性ガス（アセチレン）

：支燃性ガス（空気）

ランプ：Cd；カドミウム中空陰極ランプ

Pb；鉛中空陰極ランプ

波長：Cd；228.8 nm

Pb；283.3 nm

点灯モード：BGC-D₂法

スリット幅：2.0 nm

残留農薬標準品の秤量にはザルトリウス社製電子天秤 (MSA225S100DI) を用いた。農薬の測定には島津製作所社製 GC/MS-QP2010 を使用した。カラムは DB-5MS (Agilent J&W) を用い、以下の測定条件で行った。

GC/MS 測定条件

カラムオープン温度：50

気化室温度：250

注入モード：スプリットレス

サンプリング時間：1.5 分

線速度：47.2 cm/秒

スプリット比：15:1

温度プログラム：50（1分） 125
（25 /分） 300（10 /分） 10分

3. 標準溶液の調製

原子吸光光度計では検量線作成用として、カドミウム標準溶液は 0.05 ~ 0.4 μg/mL の範囲で、鉛標準溶液はフレーム方式で 0.5 ~ 4 μg/mL、電気加熱方式は 5 ~ 40 ng/mL で調製した。

一方、農薬の標準原液は、ダイアジノン、フェニトロチオン、マラチオンおよびクロルピリホスについて、それぞれの農薬標準原液を調製した。すなわち、各

標準品を当該成績書の純度に基づき換算し、100.0 mg となるよう精密に量りとり、これにアセトンを加えて溶かし、正確に 100 mL として各農薬の標準原液（1000 μg/mL）とした。

4. 試料溶液の調製

1) 鉛およびカドミウム 0.5 μg/g 添加試料

試料を精密に量り取り、硝酸を用いた湿式分解法により分解を行った。分解後、0.1 mol/L 硝酸溶液を加えて残留物を溶解し、更に 0.1 mol/L 硝酸溶液を加えて全量を一定容量とし試料溶液とした。なお、各元素の添加濃度により、適宜 0.1 mol/L 硝酸溶液で希釈した。これを原子吸光光度計測定用試料とした。

2) GC/MS 用試料

試料 10.0 g に水 20 mL 加え、15 分間放置し、アセトニトリル 40 mL 添加し、3 分間ホモジナイズした。ホモジナイザー (GLH-115) のシャフトを少量のアセトニトリルで洗い、ホモジナイズした試料と合わせ、ホモジナイズした試料を吸引ろ過した (受器：100 mL 容メスフラスコ、桐山ロート、No.5A ろ紙)。残渣をろ紙ごと回収 (スパーテル、ピンセット等を用いて抽出容器に戻した) し、アセトニトリル 20 mL を添加、攪拌後、再度 3 分間ホモジナイズした。シャフトを少量のアセトニトリルで洗い、ホモジナイズした試料と合わせ、吸引ろ過し、抽出容器内及び残渣をアセトニトリルで洗い込み、ろ液を全て合わせ、アセトニトリルで正確に 100 mL とした。分液ロートに抽出液 20 mL を正確にとり、振とう機で 10 分間振とうした。30 分以上静置

した後、分離した下層（水）を除去し、予めC18ミニカラムをアセトニトリル10 mLでコンディショニングした。このカラムを吸引マニホールドにセットし、分離したアセトニトリル層を注入した。さらに、アセトニトリル2 mLを注入し、全溶出液を回収した。脱水後（15分間放置、この間3回程度振り混ぜた）、無水硫酸ナトリウムを綿栓ろ過によりろ別した（受器：100 mL容ナス型フラスコ）。得られたろ液を40°C以下（設定35°C）で濃縮乾固した。残留物にアセトニトリル及びトルエン（3：1）混液2 mLに溶解後、超音波処理した。精製には、予めGC/NH₂ミニカラムをアセトニトリル及びトルエン（3：1）混液10 mLでコンディショニングした。抽出液全量（約2 mL）をGC/NH₂カラムに負荷し（受器：50 mL容ナス型フラスコ）、ナス型フラスコ内をアセトニトリル及びトルエン（3：1）混液10 mLで洗い、この液をGC/NH₂カラムに負荷することを2回繰り返した（10 mL×2回）。次に溶出液を40°C以下（35°C設定）で1 mL以下に濃縮し、これにアセトン10 mLを加えて40°C以下（35°C設定）で1 mL以下に濃縮、再度アセトン5 mLを加えて濃縮した溶媒を除去した。残留物にA/H混液2 mLを正確に加えて溶解後、超音波処理して試験溶液及び空試験溶液とし（試料基材1 g/mL相当）し、試料溶液及び空試料溶液は共栓試験管（10 mL容）に移し、測定日まで冷蔵庫で保管した。

5. 試料の作製

試料基材には市販の玄米粉（まるだけ）及び自家製玄米粉（宮城ひとめぼれを粉碎した）を用い、20%懸濁溶液を作製した。すなわち、玄米粉10 kgを0.125 mg/Lカドミウムおよび0.125 mg/L鉛溶液40 Lに懸濁させた（米粉の理論作製濃度：0.5 µg/g）。また、予備検討用として玄米粉（まるだけ）の10%懸濁溶液（理論作製濃度1.0 µg/g）も調製した。これをスプレードライヤに供した。

一方、残留農薬用試料は自家製玄米粉を用い、玄米粉1 kgをアセトニトリル4 Lに懸濁させ、スプレードライヤに供した。

5. スプレードライヤによる玄米粉試料作製条件

作製検討に用いたスプレードライヤは大川原化工機株式会社製研究開発用スプレードライヤL-8i、スケールアップにはODA-30及び残留農薬用試料作製のためには窒素ガス密閉循環型スプレードライヤCL-8iを用いた。玄米粉懸濁溶液は事前に攪拌し、均一な懸濁溶液とし、原液タンクに移し、攪拌しながらペリスタポンプでアトマイザに送液した。L-8i及びCL-8iでは2 kg/h、ODA-30では30 kg/hで送液した。アトマイザにはロータリー式を用い、ディスクはMC-50型あるいはMC-125型を使用した。回転数はL-8i及びCL-8iでは20000 rpm、ODA-30では18000 rpmに設定した。また、入り口温度は180、出口温度は100とした。残留農薬試料作製では作製温度を検討した。得られた玄米粉はマイクロトラックベル社製マイクロトラックMT3200を用い平均粒子径を測定した。また、得られた玄米

粉は原子吸光光度計でカドミウムを測定し、その玄米粉中の金属の分布の物性を検討した。また、作製した玄米粉は顕微鏡下で粒子の観察を行った。

(倫理面への配慮)

食品の安全に関する研究であり、倫理面への配慮をする必要はなかった。

C. D. 研究結果および考察

1. スプレードライヤによる玄米粉試料作製検討

昨年度、カドミウムを含む 20%米粉懸濁液（最終作製理論濃度：0.5 $\mu\text{g/g}$ ）5L を試料とし、スプレードライヤ（機種 L-8i：大川原化工機株式会社）を用い作製検討した。その結果、ディスクの回転数と入り口温度は 20,000 rpm および 180 のとき最も回収率が高かった。そこで、以降の検討はこの条件を用いた。これまで、白米粉での検討を行ってきたが、玄米粉について今年度は検討を行った。玄米粉は白米粉に比べ粘性が高いことから 10%懸濁液とした。同条件下で、白米粉及び玄米粉を用い、カドミウムの最終作製濃度をそれぞれ 0.5 $\mu\text{g/g}$ および 1.0 $\mu\text{g/g}$ で作製した。図 1 にスプレードライヤで作製した時の白米粉と玄米粉の粒度分布の比較を示す。白米の平均粒子径は 51.30 μm であり、玄米は白米よりやや粒子径が小さく 46.15 μm であったが、いずれも球状と不定形が混在した粉体であった。実際、白米粉および玄米粉共に原粉は平均粒子径が約 200 μm と大きな粒子も多数混在しているので、造粒した粒子と大きな不定径の粒子

が混在しているものと考えられた。作製した白米粉と玄米粉のカドミウム濃度を表 1 に示す。いずれも作製理論濃度に近い粉体が作製できることが確認された。玄米粉の作製理論濃度は白米粉の 2 倍としたが、白米粉と同様の真度、精度が得られたことから、白米粉と同様の条件で作製することが可能であることが推察された。以後の玄米粉を用いた作製では 20%懸濁液を用いることとした。

予備検討の結果、玄米粉を白米粉と同条件で作製できることが確認された。つぎに、実際の作製量にスケールアップすることを試みた。予備検討では米粉 1 kg の作製であったが、10 倍の 10 kg の作製検討を行った。それに伴い、スケールアップのために用いた大型のスプレードライヤ ODA-30 の外観を図 2 に示す。ODA-30 はこれまで検討用に用いた L-8i に比べ、直径が約 4 倍であり、試料の処理量は格段と多くなる。実際に作製する量に匹敵する量として 10 kg を作製検討した。すなわち、20%玄米粉懸濁液（最終作製理論濃度：0.5 $\mu\text{g/g}$ ）50 L を試料とした。試料懸濁液は、スプレードライヤに供する前にさらに均一にするために十分に攪拌した（図 3）。今回の検討に用いた玄米粉は、予備検討で使用したものと同様の市販の玄米粉を用いた。予備検討の条件を参考に原液処理量は装置の性能から 35kg/h とし、ディスクは MC-125 を、その回転数は、18000rpm を、入口温度、出口温度はそれぞれ 180 および 99 とした。スプレードライヤで作製した市販玄米粉は図 4 に示すように平均粒子径 184 μm と大きな粒子

径の紛体ができた。これは、原粉と比べ平均粒子径はほとんど変わらないものの粒子径の小さいものは消失した。次に、市販玄米粉中のカドミウム濃度（作製理論濃度：0.5 µg/g）を測定した結果、表2に示すようにカドミウム濃度は袋番号1、2で0.532 および 0.534 µg/g とほぼ同濃度であったが、袋番号3では、濃度の上昇がみられた。これは、袋番号の順にスプレードライヤで作製した試料を採取しており、袋番号3においては沈降している固形物が多く、溶液濃度が異なっていることから、作製濃度が高くなったと考えられた。従って、スプレードライヤでの作製において最初のコンディショニングを除けば、懸濁液からスプレードライヤへの導入は攪拌しながら均質の懸濁液を導入することで安定した紛体の作製が可能であると考えられた。つぎに、市販の玄米粉は安定供給品ではないことから、今後、販売されない可能性もあり、自家製玄米粉を用いた検討を行った。市販の玄米（宮城ひとめぼれ）をスクリーンサイズ 1.0 mm で遠心粉碎し、自家製玄米粉とした。スプレードライヤの作製は市販玄米粉と同様の条件で行った。作製理論濃度も同様の 0.5 µg/g とした。図5にスプレードライヤで作製した自家製玄米粉の粒子径とその顕微鏡写真を示す。玄米粉は2.5 kg ずつ4袋にサンプリングした。その2袋目と最後の4袋目を図5で比較した結果、終了時の方が平均粒子径はやや大きくなったが、市販玄米粉を用いて作製した時と比べ、はるかに小さい粒子径となった。市販玄米粉のときと比べ、自家製玄米粉は、プ

レ攪拌（羽根攪拌）（10分）ホモミキサーを用いた本攪拌（30分、5000rpm）およびスプレードライヤに導入する前にプレ攪拌と同様羽根攪拌を1時間行った。これにより、原液は細かい粒子へと分散していることが確認された。よって、スプレードライヤへ導入する前の攪拌により、粒子径は小さくなることから、攪拌条件をコントロールする必要があると考えられた。作製された自家製玄米粉中のカドミウム濃度を測定した結果を表3に示す。袋番号1は濃度がやや低いもののそれ以外はほぼ理論値濃度であることが確認された（カドミウムの濃度は水分換算した）。これらの結果より、スプレードライヤを用いることで自家製玄米粉を基材とし技能試験用重金属検査試料が作成できることが確認された。次年度は、均質性を確認し、パイロットスタディを実施し、使用の可能性を検証する。

つぎに、技能試験用試料として残留農薬検について検討した。残留農薬は水溶性のものは少なく、有機溶媒を用いた作製の検討となった。これまで用いたスプレードライヤはいずれも水溶液用であり、有機溶媒を用いる場合は、窒素ガス密閉循環型スプレードライヤがその作製には有効の装置である。本装置 CL-8i は予備検討に使用した L-8i の密閉系の装置であり、難水溶性物質の乾燥。造粒が可能であり、窒素循環させていることから酸化防止にもなり、残留農薬検査用試料作製には適した装置であると考えられた。基材としては重金属と同様の自家製玄米粉を用い、4種の農薬を図6に示す

ように試料作製した。図7には用いたスプレードライヤ CL-8i の外観を示す。本装置を使用することで、溶媒も回収でき、溶媒の沸点が低いので入口温度は低く設定できる。農薬は沸点の低いものもあり、どこまで回収できるかは不明である。そこで、アトマイザーの回転数は20000rpmとし、重金属の条件を参考にして処理量は2kg/hに設定し、入口温度を120、100、80の3条件で検討を行った。今回用いた溶媒はアセトニトリルであり、玄米粉と懸濁させたとき玄米粉の沈降速度が速くペリスタポンプで上方へ送液中に玄米粉粒子が沈降するスピードが速く、微細な粒子が先に導入されて、大きな粒子が遅れて導入されることがわかった。また、吸い込み口を下げると、大きな粒子も導入されるため、回収量が多くなることも確認された。よって、攪拌や導入口の位置など検討する必要があることがわかった。熱風入口温度を変えた時の粒子径を比較した顕微鏡写真を図8に示す。温度が下がるに従い平均粒子径は大きくなった。表4～表7に各温度で作製した農薬の回収率を示す。Lot 1、Lot 2 および Lot 3 はそれぞれ120、100、80のときの回収率を示している。これらの結果をまとめたものを図9に示す。Lot2はいずれの農薬も回収率が低く、おそらく送液および攪拌方法を変更したことから回収率が変化したものと考えられたが、詳細は不明である。いずれの農薬も Lot1 (120) よりも Lot3 (80) の方が回収率は高くなった。また、低沸点の農薬程回収率が低くなった。これは沸点の低い農薬は容易

に揮散することが推察された。これらの結果から、重金属の作製においては水を溶媒として用いたのに対して、農薬は有機溶媒を使用していることから玄米粉への溶媒の浸透度の違いがあり、農薬は玄米粉中への浸透は少なく、回収率が低くなったと考えられた。次年度は、水を添加することで回収率が改善するか検討する予定である。今後さらなる検討が必要である。

E. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

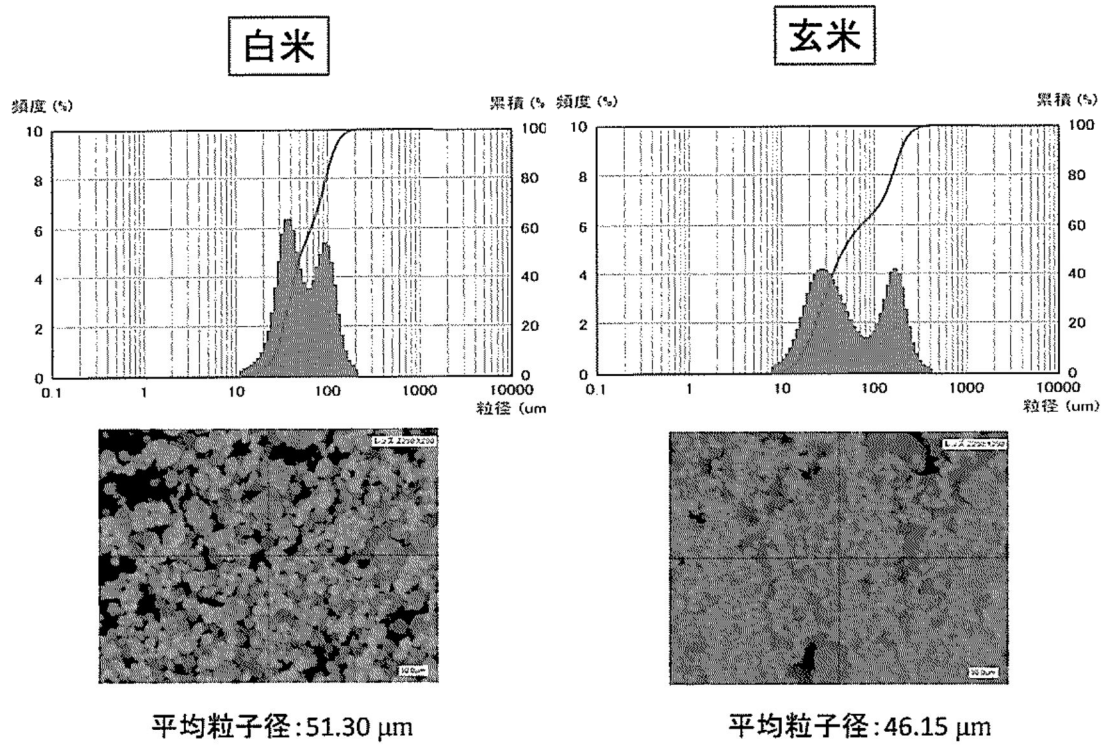
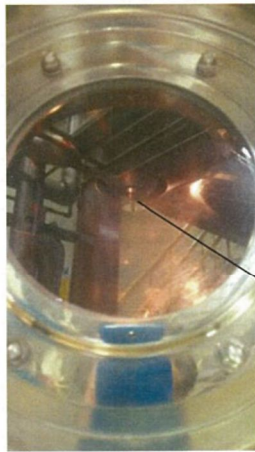


図1 スプレードライヤで作製した白米粉と玄米粉の粒度分布の比較



ローター



ODA-30の外観



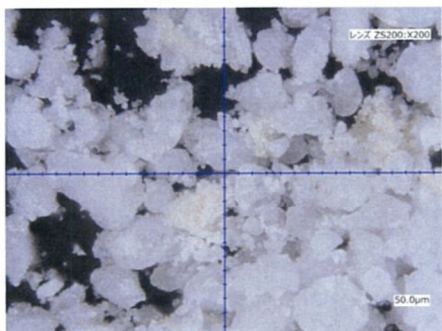
操作パネル

図2 スケールアップのために用いたスプレードライヤODA-30型の外観



図3 スプレードライヤに供する前の攪拌操作

スプレードライヤで作製した市販玄米粉



市販玄米粉原粉

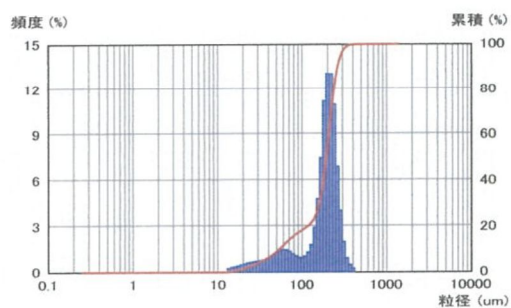
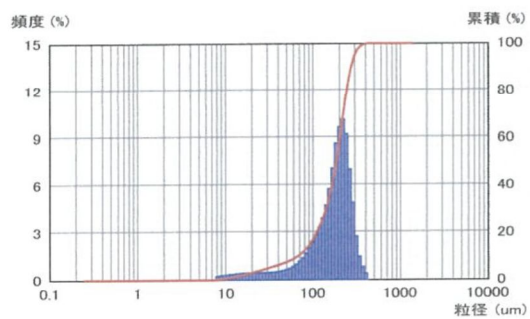
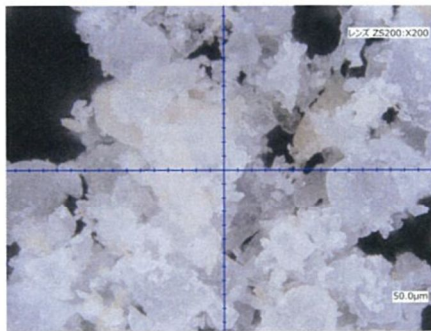


図4 スプレードライヤで作製した市販玄米粉の粒子径と顕微鏡写真

開始時 No.2



終了時 No.4

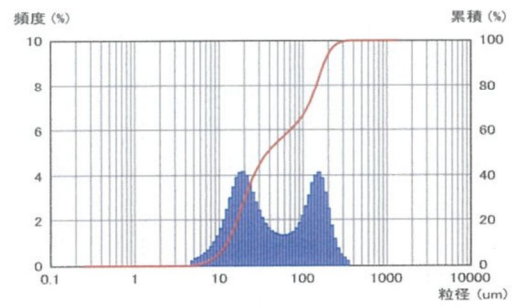
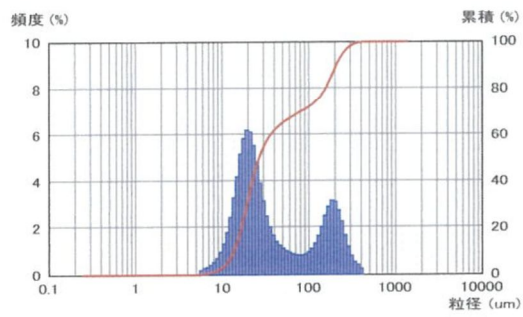
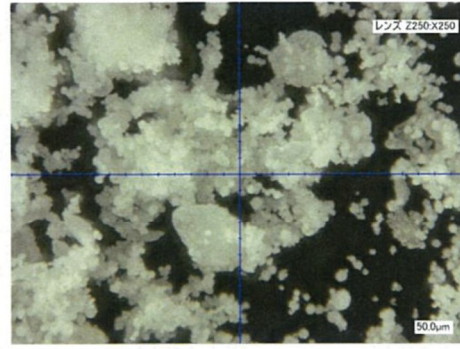


図5 スプレードライヤで作製した自家製玄米粉の粒子径と顕微鏡写真

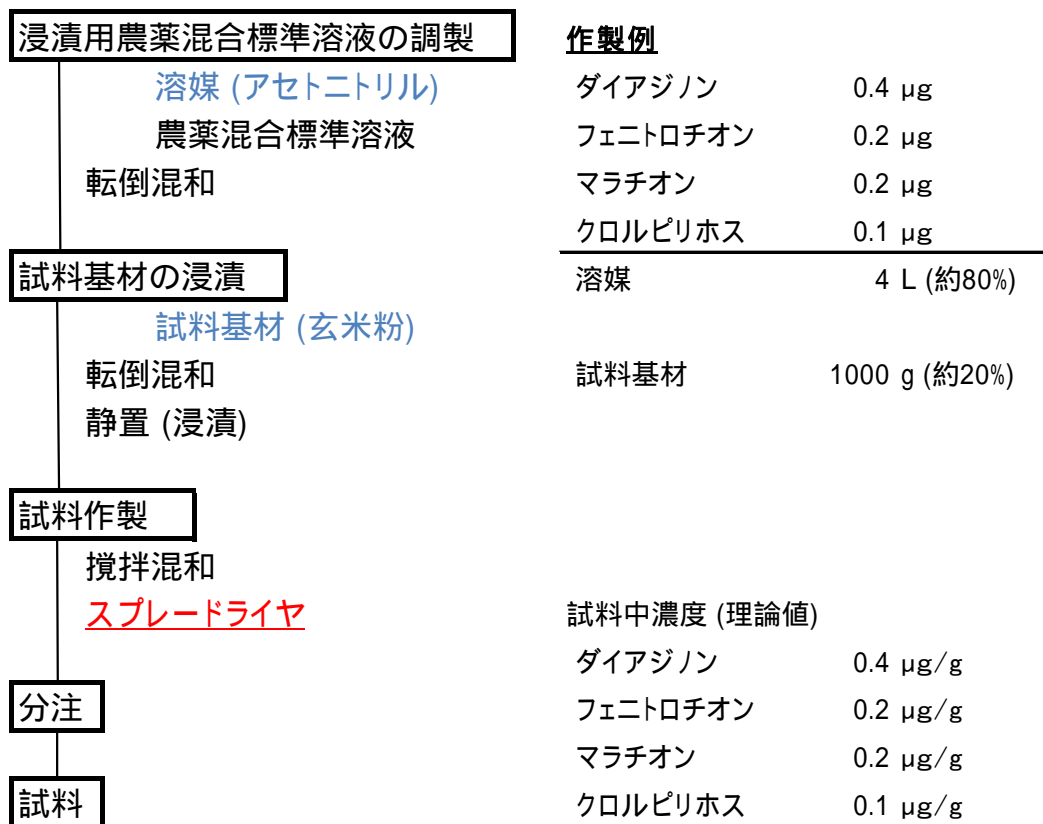


図6 スプレードライヤによる技能試験用残留農薬検査試料作製スキーム



図7 窒素ガス密閉循環型プレートドライヤCL-8iの外観

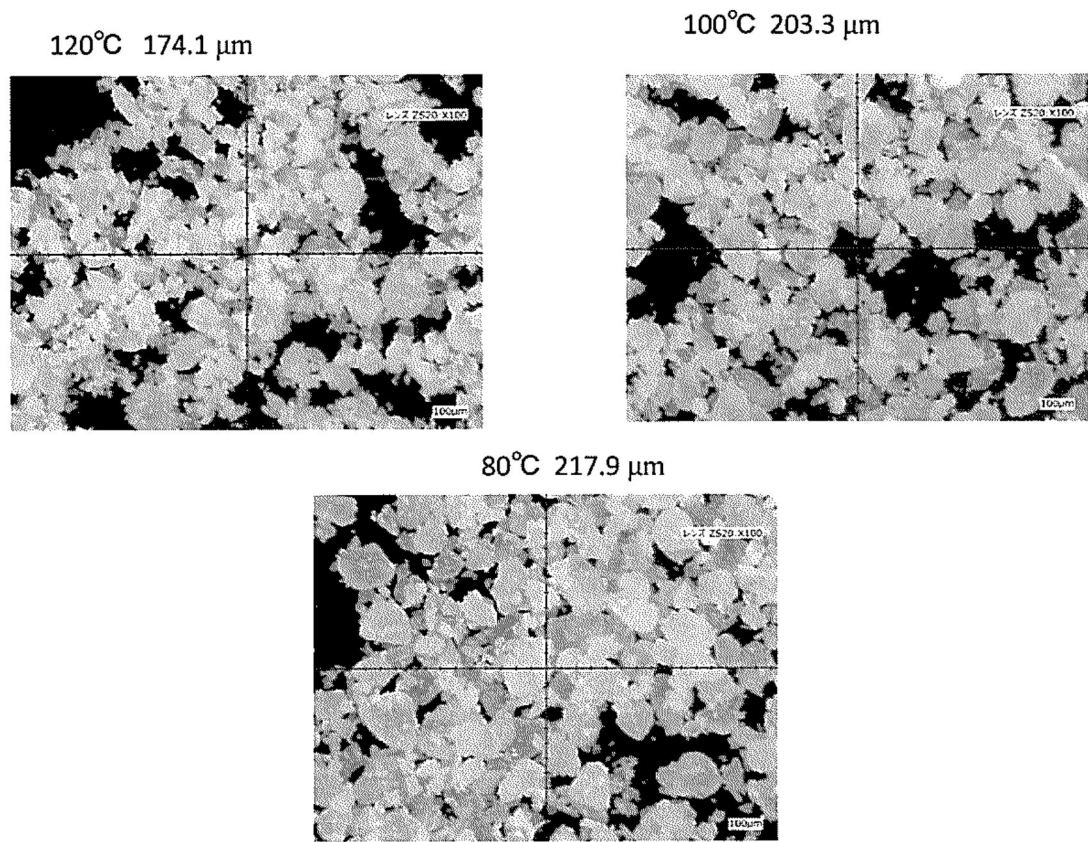


図8 熱風入口温度を変えた時の粒子径の顕微鏡写真

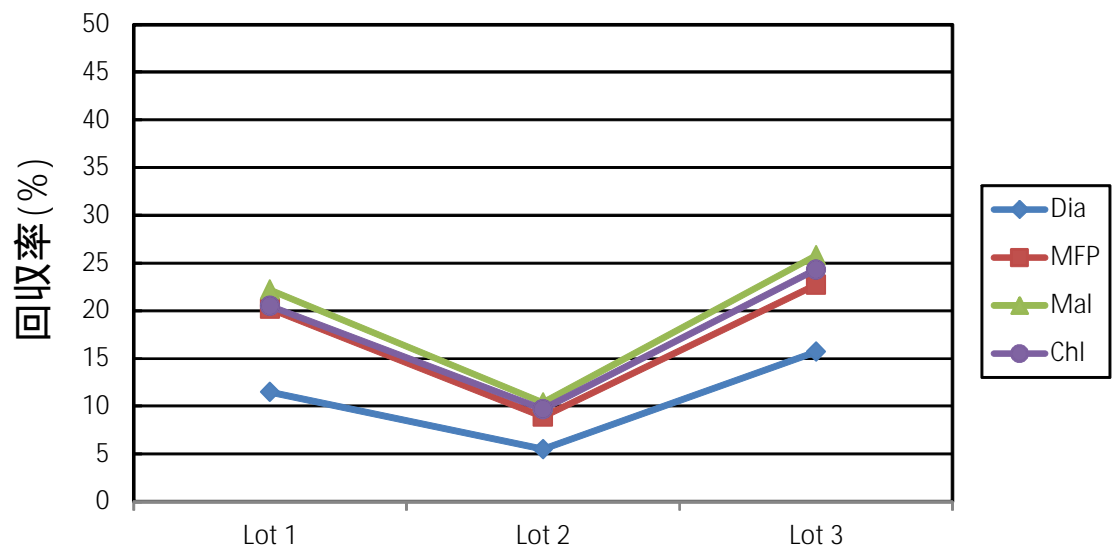


図9 スプレードライヤにより作製した玄米粉中農薬の回収率の比較

Lot1:120 、 Lot2:100 、 Lot3:80

表1 スプレードライヤで作製した白米粉と玄米粉中のカドミウム濃度

白米粉

作製理論濃度: 0.5 µg/g

(µg/g)

測定濃度	平均	SD	RSD (%)
0.532			
0.514			
0.503	0.522	0.0149	2.9
0.522			
0.541			

20%溶液

玄米粉

作製理論濃度: 1.0 µg/g

(µg/g)

測定濃度	平均	SD	RSD (%)
1.055			
1.035			
1.006	1.044	0.0253	2.4
1.073			
1.052			

10%溶液

表2 スケールアップした時の市販玄米粉試料中のカドミウム濃度

袋番号	試料溶液 番号	a	b	c	f=(a*b)/c		平均値 標準偏差 CV%
		試験溶液濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	試料溶液定容量 (mL)	試料採取量 (g)	試料中濃度 ($\mu\text{g/g}$)		
1	1	0.1054	10.0	2.003	0.5262	0.526	
	2	0.1068	10.0	2.004	0.5329	0.532	
	3	0.1099	10.0	2.001	0.5492	0.549	0.532
	4	0.1062	10.0	2.000	0.5310	0.531	0.0101
	5	0.1049	10.0	2.002	0.5239	0.523	1.9
2	1	0.1022	10.0	2.004	0.5099	0.509	
	2	0.1050	10.0	2.001	0.5247	0.524	
	3	0.1083	10.0	2.004	0.5404	0.540	0.534
	4	0.1111	10.0	2.000	0.5555	0.555	0.0179
	5	0.1088	10.0	2.001	0.5437	0.543	3.4
3	1	0.1369	10.0	2.003	0.6834	0.683	
	2	0.1368	10.0	2.002	0.6833	0.683	
	3	0.1427	10.0	2.002	0.7127	0.712	0.680
	4	0.1321	10.0	2.001	0.6601	0.660	0.0215
	5	0.1322	10.0	2.002	0.6603	0.660	3.2

作製理論濃度: 0.5 $\mu\text{g/g}$

20%溶液

表3 スケールアップした時の市販玄米粉試料中のカドミウム濃度

袋番号	試料溶液 番号	a	d	e	f=(a*d)/(e)		水分換算 (mg/kg)	ブランク差引 (mg/kg)	平均値
		試験溶液濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	試料溶液定容量 (mL)	試料採取量 (g)	調査試料中濃度 (mg/kg)				SD
									RSD (%)
									回収率(%)
1	1-1	0.4935	10.0	10.001	0.4934	0.493	0.526	0.410	
	1-2	0.4896	10.0	10.002	0.4895	0.489	0.522	0.406	0.410
	1-3	0.4880	10.0	10.004	0.4878	0.487	0.520	0.404	0.00576
	1-4	0.5019	10.0	10.003	0.5017	0.501	0.535	0.419	1.40
	1-5	0.4935	10.0	10.002	0.4934	0.493	0.526	0.410	82.0
2	2-1	0.5712	10.0	10.002	0.5710	0.571	0.604	0.488	
	2-2	0.5754	10.0	10.002	0.5752	0.575	0.609	0.493	0.488
	2-3	0.5694	10.0	10.004	0.5691	0.569	0.602	0.486	0.00286
	2-4	0.5720	10.0	10.002	0.5718	0.571	0.604	0.488	0.59
	2-5	0.5684	10.0	10.004	0.5681	0.568	0.602	0.486	97.6
3	3-1	0.5730	10.0	10.002	0.5728	0.572	0.606	0.490	
	3-2	0.5786	10.0	10.001	0.5785	0.578	0.612	0.496	0.491
	3-3	0.5760	10.0	10.004	0.5757	0.575	0.609	0.493	0.00374
	3-4	0.5683	10.0	10.002	0.5681	0.568	0.602	0.486	0.76
	3-5	0.5726	10.0	10.001	0.5725	0.572	0.606	0.490	98.2
4	4-1	0.6014	10.0	10.002	0.6012	0.601	0.634	0.518	
	4-2	0.5980	10.0	10.004	0.5977	0.597	0.630	0.514	0.516
	4-3	0.5971	10.0	10.002	0.5969	0.596	0.629	0.513	0.00339
	4-4	0.6043	10.0	10.003	0.6041	0.604	0.637	0.521	0.66
	4-5	0.5980	10.0	10.003	0.5978	0.597	0.630	0.514	103.2

表4 スプレードライヤにより作製した玄米粉中のクロルピリホスの回収率

容器 No.	試料溶液 番号	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>e</i>	<i>f</i>	調査試料中濃度 (g^{-1})	
		試験溶液中濃度 (ng/mL)	試料採取量 (g)	試料溶液定容量 (mL)	試料溶液採取量 (mL)	最終試験溶液量 (mL)	希釈率	$g = a * f * e / d * c / b / 1000$	
Lot 1-	1-1	10.67096	10.006	100	20	2	2	0.021329123	0.0213
	1-2	9.74059	10.024	100	20	2	2	0.019434537	0.0194
	1-3	10.49834	10.006	100	20	2	2	0.02098409	0.0209
	Mean							0.020533333	0.0205
	SD							0.001001665	0.00100
	RSD (%)							4.87804878	4.9
	Recovery (%)							20.5	20.5
Lot 2-	2-1	4.74058	10.040	100	20	2	2	0.009443386	0.00944
	2-2	4.89639	10.005	100	20	2	2	0.009787886	0.00978
	2-3	4.92681	10.007	100	20	2	2	0.009846727	0.00984
	Mean							0.009686667	0.00969
	SD							0.000215716	0.000216
	RSD (%)							2.229102167	2.2
	Recovery (%)							9.69	9.7
Lot 3-	3-1	12.28380	10.027	100	20	2	2	0.024501446	0.0245
	3-2	11.40209	10.038	100	20	2	2	0.022717852	0.0227
	3-3	12.88956	10.007	100	20	2	2	0.025761087	0.0257
	Mean							0.0243	0.0243
	SD							0.001509967	0.00151
	RSD (%)							6.21399177	6.2
	Recovery (%)							24.3	24.3

表5 スプレードライヤにより作製した玄米粉中のマラチオンの回収率

容器 No.	試料溶液 番号	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>e</i>	<i>f</i>	調査試料中濃度 (g^{-1})	
		試験溶液中濃度 (ng/mL)	試料採取量 (g)	試料溶液定容量 (mL)	試料溶液採取量 (mL)	最終試験溶液量 (mL)	希釈率	$g = a * f * e / d * c / b / 1000$	
Lot 1-	1-1	23.02711	10.006	100	20	2	2	0.046026604	0.0460
	1-2	20.73501	10.024	100	20	2	2	0.04137073	0.0413
	1-3	23.04779	10.006	100	20	2	2	0.046067939	0.0460
	Mean							0.044433333	0.0444
	SD							0.002713546	0.00271
	RSD (%)							6.103603604	6.1
	Recovery (%)							22.2	22.2
Lot 2-	2-1	10.49447	10.040	100	20	2	2	0.020905319	0.0209
	2-2	10.46807	10.005	100	20	2	2	0.020925677	0.0209
	2-3	10.13202	10.007	100	20	2	2	0.020249865	0.0202
	Mean							0.020666667	0.0207
	SD							0.000404145	0.000404
	RSD (%)							1.951690821	2.0
	Recovery (%)							10.35	10.4
Lot 3-	3-1	26.94140	10.027	100	20	2	2	0.053737708	0.0537
	3-2	23.66189	10.038	100	20	2	2	0.04714463	0.0471
	3-3	27.10523	10.007	100	20	2	2	0.054172539	0.0541
	Mean							0.051633333	0.0516
	SD							0.003931073	0.00393
	RSD (%)							7.61627907	7.6
	Recovery (%)							25.8	25.8

表6 スプレードライヤにより作製した玄米粉中のフェニトロチオンの回収率

容器 No.	試料溶液 番号	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>e</i>	<i>f</i>	調査試料中濃度 (g^{-1})	
		試験溶液中濃度 (ng/mL)	試料採取量 (g)	試料溶液定容量 (mL)	試料溶液採取量 (mL)	最終試験溶液量 (mL)	希釈率	$g = a * f * e / d * c / b / 1000$	($\mu g / g$)
Lot 1-	1-1	20.74131	10.006	100	20	2	2	0.041457745	0.0414
	1-2	19.25388	10.024	100	20	2	2	0.038415563	0.0384
	1-3	20.74984	10.006	100	20	2	2	0.041474795	0.0414
	Mean							0.0404	0.0404
	SD							0.001732051	0.00173
	RSD (%)							4.282178218	4.3
	Recovery (%)							20.2	20.2
Lot 2-	2-1	9.03353	10.040	100	20	2	2	0.01799508	0.0179
	2-2	9.02143	10.005	100	20	2	2	0.018033843	0.0180
	2-3	8.76516	10.007	100	20	2	2	0.017518057	0.0175
	Mean							0.0178	0.0178
	SD							0.000264575	0.000265
	RSD (%)							1.488764045	1.5
	Recovery (%)							8.9	8.9
Lot 3-	3-1	23.32933	10.027	100	20	2	2	0.046533021	0.0465
	3-2	20.92426	10.038	100	20	2	2	0.041690098	0.0416
	3-3	24.15481	10.007	100	20	2	2	0.048275827	0.0482
	Mean							0.045433333	0.0454
	SD							0.003426855	0.00343
	RSD (%)							7.55066079	7.6
	Recovery (%)							22.7	22.7

表7 スプレードライヤにより作製した玄米粉中のダイアジノンの回収率

容器 No.	試料溶液 番号	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>e</i>	<i>f</i>	調査試料中濃度 (g^{-1})	
		試験溶液中濃度 (ng/mL)	試料採取量 (g)	試料溶液定容量 (mL)	試料溶液採取量 (mL)	最終試験溶液量 (mL)	希釈率	$g = a * f * e / d * c / b / 1000$	($\mu g / g$)
Lot 1-	1-1	22.64000	10.006	100	20	2	2	0.045252848	0.0452
	1-2	22.50853	10.024	100	20	2	2	0.044909278	0.0449
	1-3	24.14283	10.006	100	20	2	2	0.048256706	0.0482
	Mean							0.0461	0.0461
	SD							0.001824829	0.00182
	RSD (%)							3.947939262	3.9
	Recovery (%)							11.525	11.5
Lot 2-	2-1	11.09523	10.040	100	20	2	2	0.022102052	0.0221
	2-2	10.64191	10.005	100	20	2	2	0.021273183	0.0212
	2-3	11.16097	10.007	100	20	2	2	0.022306326	0.0223
	Mean							0.021866667	0.0219
	SD							0.000585947	0.000586
	RSD (%)							2.675799087	2.7
	Recovery (%)							5.475	5.5
Lot 3-	3-1	32.05634	10.027	100	20	2	2	0.063940042	0.0639
	3-2	29.31570	10.038	100	20	2	2	0.058409444	0.0584
	3-3	33.05882	10.007	100	20	2	2	0.06607139	0.0660
	Mean							0.062766667	0.0628
	SD							0.003924708	0.00392
	RSD (%)							6.242038217	6.2
	Recovery (%)							15.7	15.7

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(4)

EU から検査を求められている物質に関する試験法の妥当性評価の実施

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	鳥海 栄輔	(一財)日本食品分析センター 農薬試験課	課長
	小杉 正樹	(一財)日本食品分析センター 微量試験課	課長
	猪之鼻修一	(一財)日本食品分析センター	主任研究員
	福沢 栄太	(一財)日本食品分析センター	主任研究員

研究要旨

日本産畜産物をEUへ輸出するにあたり、EUから検査を求められている物質についてモニタリング検査を実施しなければならないが、それに用いる試験法は妥当性が評価された国際的にも信頼性の高いものであることが必要である。現在、EU輸出モニタリングに用いる試験法は「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」(平成22年12月24日 食安発1224第1号)に従って妥当性を評価しており、EU規則のCOMMISSION DECISION (2002/657/EC)に示された妥当性評価は一部の試験法でしか実施していない。そこで本研究では、EU規則による妥当性評価が未実施であるアフラトキシンB₁、B₂、G₁及びG₂とチルパロシンについてCOMMISSION DECISION (2002/657/EC)に従った妥当性評価を実施し、特異性、真度、精度が要求性能基準を満たしているか否かを確認するとともに、決定限界(CC)及び検出能力(CC)を算出した。

EU規則に従い実施した豚筋肉のアフラトキシンB₁、B₂、G₁及びG₂分析法及び鶏肝臓のチルパロシン分析法において、特異性、真度、精度はいずれも要求性能基準を満たしていることが確認でき、「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」で妥当性評価したアフラトキシンB₁、B₂、G₁及びG₂とチルパロシンの分析法はEU規則による要求性能基準も満たすことが示唆された。なお、アフラトキシンB₁、B₂、G₁及びG₂のCC はそれぞれ0.27、0.17、0.29、0.21 µg/kg、CC はそれぞれ0.36、0.24、0.41、0.31 µg/kgと算出され、チルパロシン及び3-O-アセチルタイロシンのCC はそれぞれ56.3、58.8 µg/kg、CC はそれぞれ62.6、67.7 µg/kgと算出

された。

また「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」で評価した豚、鶏、卵及び乳のEU輸出モニタリングに使用する試験法について、模擬的な内部精度管理を実施したところ、すべての試験法において、選択性と真度等の目標値を十分に満たした結果が得られた。これらの試験法を用いた日常的な試験は安定的に実施出来ていたことから、EU輸出モニタリングの実施が可能と考えられた。

A. 研究目的

日本産畜産物をEUへ輸出するにあたり、EUから検査を求められている物質についてモニタリング検査を実施しなければならないが、それに用いる試験法は国際的にも信頼の高いものであることが必要である。現在、EU輸出モニタリングに用いる試験法は「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」(平成22年12月24日 食安発1224第1号)(以下、ガイドライン)に従って妥当性を評価しており、EU規則のCOMMISSION DECISION (2002/657/EC)に示された妥当性評価は一部の試験法でしか実施していない。

そこでEU規則による妥当性評価が未実施であるアフラトキシンB₁、B₂、G₁及びG₂とチルバロシンについてCOMMISSION DECISION (2002/657/EC)に従った妥当性評価を実施し、特異性、真度(回収率)、精度が目標値に合致しているか否かを確認するとともに、決定限界(CC)及び検出能力(CC)を算出することを目的とした。

また、豚、鶏、卵及び乳のEU輸出モニタリングに使用するために開発した試験法について模擬的な内部精度管理を実施し、目標とした管理基準に対して、内部精度管理の結果の状況を確認することを目的とした。

B. 方法

1. EU規則に基づく妥当性評価

1-1 試料基材および試薬

アフラトキシンB₁、B₂、G₁及びG₂

試料基材として、豚筋肉を用い、標準品には富士フィルム和光純薬製のアフラトキシン混合標準液(アフラトキシンB₁、アフラトキシンB₂、アフラトキシンG₁及びアフラトキシンG₂ 各25 mg/L)を使用した。その他の試薬として富士フィルム和光純薬製のメタノール(高速液体クロマトグラフ用)、関東化学製のアセトニトリル(高速液体クロマトグラフ用)、昭和電工製のAutoprep MF-A 1000(多機能カートリッジカラム)を用いた。

チルバロシン

試料基材として、鶏肝臓を用い、標準品にはToronto Research Chemicals製のチルバロシン標準品及び3-0-アセチルタイロシン標準品(共に純度96%)を使用した。その他の試薬として関東化学製のアセトニトリル及びメタノール(高速液体クロマトグラフ用)、アセトン(残留農薬試験用)、ギ酸(特級)、Waters製のOasis HLB(ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム)を用いた。

1-2 使用機器および測定条件

アフラトキシンB₁、B₂、G₁及びG₂

試料作製用機器として、ロボ・クープ製のフードプロセッサ―(BLIXER-3D)を使用した。

試料溶液の抽出では、エスエムテ―製の水モジナイザ―及びコクサン製の遠心分離機を使用した。

試料溶液の測定は、島津製作所製の蛍光分光検出器(フォトケミカルリアクター装着)付き高速液体クロマトグラフ(HPLC) : LC-20ADを用いて行った。

HPLCによる測定には、カラムは Mightysil RP-18 GP(4.6 mm、長さ250 mm、粒径5 μ m)、移動相には水及びメタノールの混液(60:40)、カラム流量は0.7 mL/min、オープン温度は40 °C、測定波長は蛍光励起波長365 nm、蛍光測定波長450 nmとした。

チルバロシン

試料作製用機器として、ロボ・クープ製のフードプロセッサ―(BLIXER-3D)を使用した。

試料溶液の抽出では、IKAジャパン製の水モジナイザ―を使用した。

試料溶液の測定は、SCIEX製の液体クロマトグラフ タンデム質量分析計(LC-MS/MS) : Triple Quad 6500+を用いて行った。

LC-MS/MSによる測定には、カラムは InertSustain C18 (2.1 mm、長さ150 mm、粒径5 μ m)、移動相には水及びギ酸の混液(1000:1)とアセトニトリルを用いたグラジエント条件とした。カラム流量は0.2 mL/min、オープン温度は40 °C、イオン化時のコーン電圧及びコリジョンエネルギーはチルバロシンでそれぞれ46 V、45 eV、3-*O*-アセチルタイロシンでそ

れぞれ11 V、45 eVに設定し、ポジティブモードとした。

1-3 標準溶液の調製

アフラトキシン B₁、B₂、G₁及びG₂

アフラトキシン混合標準液を4 mL分取し、アセトニトリルで200 mLに定容し500 μ g/Lの混合標準原液を調製した。混合標準原液をアセトニトリル及び水の混液(9:1)で適宜希釈し、5、2.5、0.625、0.25及び0.1 μ g/Lの混合標準溶液を調製し、これを検量線用標準溶液とした。

チルバロシン

チルバロシン標準品約5 mgを精密に量り取り、50 mL容全量フラスコに入れ、メタノールを加えて溶解(超音波照射)した後定容し、これをチルバロシン標準原液(100 mg/L)とした。一方で3-*O*-アセチルタイロシンは標準品約2 mgを精密に量り取り、100 mL容全量フラスコに入れ、メタノールを加えて溶解(超音波照射)した後定容し、これを3-*O*-アセチルタイロシン標準原液(20 mg/L)とした。チルバロシン標準原液5 mLをメタノールで25 mLに定容し、20 mg/Lチルバロシン標準溶液を調製した。20 mg/Lチルバロシン標準溶液及び3-*O*-アセチルタイロシン標準原液各1 mLをメタノールで20 mLに定容し、1 mg/Lの混合標準溶液を調製した。この液を適宜メタノールで希釈し、0.002、0.001、0.0005、0.0002及び0.0001 mg/L混合標準溶液を調製し、これを検量線用標準溶液とした。

1-4 試料溶液の調製

アフラトキシンB₁、B₂、G₁及びG₂

試料基材には豚筋肉を、抽出溶媒にはアセトニトリル及び水の混液(9:1)を用いた。

試料50 gを500 mL容器に量り取り、アセトニトリル及び水の混液(9:1)200 mLを加え、ホモジナイザーで5分間攪拌後、2500 r/minで5分間遠心分離した抽出液の上清を綿栓ろ過した。

ろ液約5 mLをAutoprep MF-A 1000に負荷し、得られた溶出液約1.5 mLを試料溶液とした。

チルバロシン

試料基材には鶏肝臓を、抽出溶媒にはアセトンを用いた。

試料10 gを250 mL容器に量り取り、アセトン100 mLを加え、ホモジナイザーで1分間攪拌後、吸引ろ過した。ろ過器上の残留物を広口ポリ瓶に戻し、アセトン50 mLを加えてホモジナイザーで1分間攪拌した後、吸引ろ過した。得られたろ液を200 mL容全量フラスコに合わせ、アセトンで定容した。抽出液4 mL(試料0.2 g相当)を遠心管に分取し、水15 mLを加え、Oasis HLB (あらかじめメタノール10 mL、水及びメタノールの混液(3:2)10 mLで洗浄したもの)に負荷した。遠心管内を水及びメタノールの混液(3:2)5 mLで洗い、洗液をカラムに負荷、洗浄する操作を2回繰り返した。メタノール10 mLで溶出し、10 mL容全量フラスコに定容したものを試験溶液とした。

1-5 定量

アフラトキシン B₁、B₂、G₁及びG₂

検量線用標準溶液の各 10 µL を高速液体クロマトグラフに注入し、得られたアフラトキシン B₁、アフラトキシン B₂、アフラトキシン G₁ 及びアフラトキシン G₂ のピーク高から検量線を作成した。

試料溶液 10 µL を高速液体クロマトグラフに注入し、検量線及び得られたアフラトキシン B₁、アフラトキシン B₂、アフラトキシン G₁ 及びアフラトキシン G₂ のピーク高から、試料溶液中の各物質の濃度を求めた。試料中の各物質の回収率を算出した。

チルバロシン

検量線用標準溶液の各 2 µL を液体クロマトグラフ - タンデム質量分析計に注入し、得られたチルバロシン及び 3-O-アセチルタイロシンのピーク面積から検量線を作成した。

試料溶液 2 µL を液体クロマトグラフ - タンデム質量分析計に注入し、検量線及び得られたチルバロシン及び 3-O-アセチルタイロシンのピーク面積から、試料溶液中の物質の濃度を求めた。試料中の各物質の回収率を算出した。

1-6 妥当性評価

アフラトキシンB₁、B₂、G₁及びG₂

1) 特異性

20個のブランク試料のデータを採取し、特異性を確認した。

2) 真度

CRM入手困難なため、添加回収率で評価した。豚筋肉試料50 gにアフラトキ

シンB₁、アフラトキシンB₂、アフラトキシンG₁及びアフラトキシンG₂がそれぞれ1、1.5、2 µg/kgとなるように添加し、本試験法に従って操作を行った。なお、試験は1日試行6回、3日間実施し、-50 % ~ +20 % (50 ~ 120 %) を評価基準とした。

3) 検量線

アフラトキシンB₁、アフラトキシンB₂、アフラトキシンG₁及びアフラトキシンG₂の検量線を作成した。測定に使用した標準溶液は5、2.5、0.625、0.25及び0.1 µg/Lの計5点とした。

4) 精度

添加試料の繰り返し分析により得られる試験所内変動係数(相対標準偏差; CV)が、Horwitz式(修正式)により求めた室間再現精度の2/3レベル(CV: 15 %)を超えないことを評価基準とした。

5) 決定限界(CC)

1-6 2)で実施した添加回収試験のデータについて、添加濃度をX軸、分析濃度をY軸にプロットし、y切片及びy切片の室内再現性の標準偏差を求め、以下の式からアフラトキシンB₁、アフラトキシンB₂、アフラトキシンG₁及びアフラトキシンG₂のCC を求めた。

$CC = y\text{切片の平均値} + y\text{切片の室内再現性の標準偏差の}2.33\text{倍}$

6) 検出能力(CC)

1-6 2)で求めたCC の値が定量限界(1 µg/kg)を下回ったことから、CC の算出には定量限界相当の添加回収試験のデータを使用した。

1-6 2)で実施した定量限界相当の添加回収試験結果(18個)に、2回の追加試験

の結果を加えた計20個のデータからCC を算出した。また、各アフラトキシン毎に全ての分析値の標準偏差を求め、以下の式からアフラトキシンB₁、アフラトキシンB₂、アフラトキシンG₁及びアフラトキシンG₂のCC を求めた。

$CC = CC + 20\text{個のデータの標準偏差の}1.64\text{倍}$

チルバロシン

1) 特異性

20個のブランク試料のデータを採取し、特異性を確認した。

2) 真度

CRM入手困難なため、添加回収率で評価した。鶏肝臓試料10 gにチルバロシン及び3-0-アセチルタイロシンがそれぞれ25、50、75 µg/kgとなるように添加し、本試験法に従って操作を行った。なお、試験は1日試行6回、3日間実施し、-20 % ~ +10 % (80 ~ 110 %) を評価基準とした。

3) 検量線

チルバロシン及び3-0-アセチルタイロシンの検量線を作成した。測定に使用した標準溶液は0.002、0.001、0.0005、0.0002及び0.0001 mg/Lの計5点とした。

4) 精度

添加試料の繰り返し分析により得られる試験所内変動係数(CV)が、Horwitz式(修正式)により求めた室間再現精度の2/3レベル(15 %)を超えないことを評価基準とした。

5) 決定限界(CC)

1-6 2)で実施した基準値(MRL)相当(50 µg/kg)の添加回収試験結果(18個)に、2回の追加試験の結果を加えた計20個のデ

ータからCC を求めた。

CC = 20個のデータの標準偏差の1.64倍

6)検出能力(CC)

CC は、先に算出したCC 相当濃度の添加試料を20回分析し、算出した標準偏差の1.64倍をCC 相当濃度に加算算出される。

本研究では、CC 相当濃度 = MRL相当濃度とし、MRL相当濃度の添加試料(50 µg/kg)を20回分析し、算出した標準偏差の1.64倍を決定限界(CC)相当濃度に加算算出した。

CC = CC + 20個のデータの標準偏差の1.64倍

2. 内部精度管理の実施

EU輸出モニタリングを実施する際には、適切な内部精度管理の実施が求められる。そこで、模擬的に内部精度管理を実施した。表-12に掲げた畜種ごとの30物質について、試験対象物質が検出しないことが明らかな試料(以下「陰性対照試料」)にEUのMRL以下の濃度(MRLが設定されていない物質については定量限界相当)となるように標準溶液を添加し、試行数1回で日を変えて3回実施した。また、各試験日には陰性対照試料についても同時に試験(ブランク試験)を実施した。選択性の許容範囲は、「定量限界 基準値 1/3」の場合、基準値相当濃度に相当するピークの1/10以下、「定量限界 > 基準値 1/3」及び「不検出」の場合、定量限界濃度に相当するピークの1/3以下とした。添加回収試験の回収率の許容範囲は70 ~ 120 %とした。また、3回の添加回収

試験の結果からCVを求め、Horwitz式(修正式)により求めた室間再現精度の2/3レベル(15 %)以内を暫定的な管理目標とした。

C. D. 研究結果および考察

1. EU 規則に基づく妥当性評価

アフラトキシン B₁、B₂、G₁及びG₂

1) 特異性

アフラトキシンB₁、アフラトキシンB₂、アフラトキシンG₁及びアフラトキシンG₂のいずれにおいても、定量を妨害するピークがないことを確認した。

2) 真度(回収率)

添加回収率の結果を表-1~4に示した。真度の評価基準、-50 % ~ +20 %(50 ~ 120 %)に対し、いずれの添加濃度においても基準を満たす結果が得られた。

3) 検量線

アフラトキシンB₁、アフラトキシンB₂、アフラトキシンG₁及びアフラトキシンG₂の検量線の一例を図-1に示した。

アフラトキシンB₁、アフラトキシンB₂、アフラトキシンG₁及びアフラトキシンG₂の決定係数はいずれも0.995以上の結果が得られた。

4) 精度

結果は表-1~4に併記した。いずれの添加濃度においても、アフラトキシンB₁、アフラトキシンB₂、アフラトキシンG₁及びアフラトキシンG₂は評価基準を満たす結果が得られた。

5) 決定限界(CC)

結果を表-5に示した。

6) 検出能力(CC)

結果を表-6及び表-7に示した。

チルバロシン

1) 特異性

チルバロシン及び3-*O*-アセチルタイロシンともに、定量を妨害するピークがないことを確認した。

2) 真度(回収率)

添加回収率の結果を表-8及び9に示した。真度の評価基準、-20 % ~ +10 % (80 ~ 110 %) に対し、いずれの添加濃度においても基準を満たす結果が得られた。

3) 検量線

チルバロシン及び3-*O*-アセチルタイロシンの検量線の一例を図-2に示した。

チルバロシン及び3-*O*-アセチルタイロシンの決定係数はいずれも0.995以上の結果が得られた。

4) 精度

結果は表-8及び9に併記した。いずれの添加濃度においても、チルバロシン及び3-*O*-アセチルタイロシンは評価基準を満たす結果が得られた。

5) 決定限界(CC)

結果を表-10及び11に示した。

6) 検出能力(CC)

チルバロシンのCC は62.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、3-*O*-アセチルタイロシンのCC は67.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ と算出された。

以上のことから、アフラトキシンB₁、B₂、G₁及びG₂の試験法は豚筋肉を対象とした定量下限1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ での残留分析法として、また、チルバロシンの試験法は鶏肝臓を対象とした基準値50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を評価する残留分析法として、いずれも妥当であると評価された。

2. 内部精度管理の実施

表-12に3回のブランク試験結果、添加回収試験の回収率及び3回の添加回収率のCVを示した。いずれの分析法においてもブランク試験では定量を妨害するピークがないことを確認した。また、添加回収率は全て70 ~ 120 %を満たしていた。CVは乳のエリスロマイシンで14.7 %であったが、いずれの項目でも暫定目標とした15 %以内であり、管理目標として概ね妥当と考えられた。

以上のことから、試行回数3回と評価回数は少ないものの、設定した管理基準に対し、これらの試験はいずれも安定的に実施出来ている結果が得られた。

E. 結論

EU規則に従い実施した豚筋肉のアフラトキシンB₁、B₂、G₁及びG₂分析法及び鶏肝臓のチルバロシン分析法において、特異性、真度(回収率)、精度はいずれも目的値に合致していることが確認できた。EU規則では添加回収試験による真度や精度は3濃度で評価する点等、ガイドラインとは目的、手法の異なる点があるため留意する必要はあるが、ガイドラインで妥当性を評価した試験法が、EU規則が要求する性能基準を満たすことが示唆された。

また豚、鶏、卵及び乳のEU輸出モニタリングに使用する試験法について模擬的な内部精度管理を実施したところ、実施した30物質すべてにおいて、安定的実施出来ていたことから、EU輸出モニタリングの実施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

表-1 アフラトキシンB₁の添加回収試験の結果

試料	添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	測定値($\mu\text{g}/\text{kg}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)	
		試行	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	6回目				全平均
豚筋肉	1	1日目	1.0498	1.0060	1.1016	1.0627	1.0350	1.0454	1.0239	102.4	3.8	5.9
		2日目	1.0113	1.0294	0.9396	0.9386	0.9598	0.9244				
		3日目	1.0239	1.0644	1.1100	0.9997	1.0877	1.0412				
	1.5	1日目	1.4864	1.4713	1.4544	1.5138	1.5299	1.4620	1.4781	98.5	2.3	3.7
		2日目	1.3903	1.4553	1.4110	1.4061	1.4564	1.4611				
		3日目	1.5202	1.5429	1.4476	1.5718	1.5132	1.5114				
	2	1日目	2.0295	2.0391	2.0193	2.0391	2.0378	1.9814	1.9900	99.5	2.5	5.2
		2日目	1.9282	1.8178	1.8970	1.9171	1.8919	1.8574				
		3日目	2.0740	2.0180	1.9895	2.0012	2.1708	2.1110				

表-2 アフラトキシンB₂の添加回収試験の結果

試料	添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	測定値($\mu\text{g}/\text{kg}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)	
		試行	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	6回目				全平均
豚筋肉	1	1日目	0.9846	0.9799	1.0431	0.9931	1.0064	0.9864	0.9869	98.7	2.6	5.4
		2日目	0.9374	0.9744	0.9125	0.9257	0.9157	0.9388				
		3日目	1.0662	1.0231	1.0338	0.9811	1.0534	1.0092				
	1.5	1日目	1.4716	1.4673	1.4542	1.4630	1.4442	1.4348	1.4541	96.9	1.5	4.2
		2日目	1.3992	1.4104	1.3922	1.3599	1.3950	1.4114				
		3日目	1.5114	1.5572	1.4940	1.5313	1.4953	1.4816				
	2	1日目	1.9570	1.9662	2.0014	1.9518	2.0098	1.8907	1.9567	97.8	1.9	3.6
		2日目	1.9162	1.8323	1.8402	1.9378	1.9205	1.9053				
		3日目	2.0299	2.0056	2.0096	1.9909	2.0233	2.0316				

表-3 アフラトキシンG₁の添加回収試験の結果

試料	添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	測定値($\mu\text{g}/\text{kg}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)	
		試行	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	6回目				全平均
豚筋肉	1	1日目	1.0568	1.1122	1.1636	1.1172	1.1365	1.1305	1.0626	106.3	3.6	8.6
		2日目	0.9920	0.9194	0.9256	0.9791	0.9482	1.0257				
		3日目	1.1229	1.0628	1.0727	1.1306	1.1524	1.0780				
	1.5	1日目	1.6043	1.5984	1.4983	1.5866	1.5571	1.5197	1.5554	103.7	3.4	4.0
		2日目	1.4656	1.5133	1.4911	1.5678	1.4902	1.5606				
		3日目	1.6315	1.6266	1.5043	1.5233	1.6845	1.5736				
	2	1日目	2.1417	2.1368	2.2002	2.1704	2.1297	2.1144	2.0893	104.5	2.0	4.8
		2日目	2.0124	2.0221	2.0030	1.9741	1.9697	1.9127				
		3日目	2.1835	2.0825	2.1735	2.0698	2.1173	2.1930				

表-4 アフラトキシンG₂の添加回収試験の結果

試料	添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	測定値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)							全平均	平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
		試行	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	6回目				
豚筋肉	1	1日目	1.0984	1.0766	1.1098	1.1036	1.1087	1.0861	1.0548	105.5	1.6	6.5
		2日目	0.9905	0.9914	0.9733	0.9839	0.9686	0.9602				
		3日目	1.1194	1.0805	1.0890	1.0596	1.1135	1.0728				
	1.5	1日目	1.5812	1.5579	1.5449	1.5665	1.5633	1.5371	1.5390	102.6	1.3	3.7
		2日目	1.4800	1.4864	1.4590	1.4594	1.4750	1.5124				
		3日目	1.5697	1.6153	1.5750	1.5958	1.5813	1.5412				
	2	1日目	2.0699	2.1359	2.1623	2.1137	2.0770	2.0152	2.0729	103.6	1.7	3.9
		2日目	2.0323	1.9503	1.9739	2.0157	1.9974	1.9786				
		3日目	2.1222	2.1201	2.1483	2.1130	2.1403	2.1469				

表-5 アフラトキシンB₁、アフラトキシンB₂、アフラトキシンG₁及びアフラトキシンG₂のCC の算出結果

	アフラトキシンB ₁	アフラトキシンB ₂	アフラトキシンG ₁	アフラトキシンG ₂
y切片の平均値 : (a)	0.048181	0.011300	0.029036	0.028297
y切片の室内再現性の 標準偏差 : (b)	0.091876	0.064957	0.108655	0.076687
(b) × 2.33 : (c)	0.214072	0.151349	0.253165	0.178680
(a)+(c)	0.262253	0.162649	0.282201	0.206977
CC	0.27	0.17	0.29	0.21

表-6 追加で試験した定量限界相当の添加回収試験結果(単位 : $\mu\text{g}/\text{kg}$)

	アフラトキシンB ₁	アフラトキシンB ₂	アフラトキシンG ₁	アフラトキシンG ₂
追加試験1回目	0.9608	1.0028	1.0758	1.0764
追加試験2回目	1.0313	1.0195	1.1294	1.1151

表-7 アフラトキシンB₁、アフラトキシンB₂、アフラトキシンG₁及びアフラトキシンG₂のCC の算出結果

	アフラトキシンB ₁	アフラトキシンB ₂	アフラトキシンG ₁	アフラトキシンG ₂
n=20の標準偏差 (SD)	0.054103	0.045216	0.076918	0.056864
1.64 × SD : (d)	0.088728	0.074154	0.126145	0.093257
CC +(d)	0.350981	0.236802	0.408346	0.300234
CC	0.36	0.24	0.41	0.31

表-8 チルバロシンの添加回収試験の結果

試料	添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	測定値($\mu\text{g}/\text{kg}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)	
		試行	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	6回目				全平均
鶏肝臓	25	1日目	26.2598	26.5209	27.6753	24.6935	25.5547	24.7298	25.5924	102.4	6.0	6.0
		2日目	28.4264	26.0960	25.8069	24.7610	25.2414	23.7223				
		3日目	24.6058	23.8795	25.3324	24.3942	24.2542	28.7090				
	50	1日目	48.4422	47.6158	48.2320	47.8589	47.6373	49.6415	49.8269	99.7	7.0	8.3
		2日目	49.0453	47.8458	48.0527	46.9695	48.8451	49.7659				
		3日目	53.8606	54.4627	45.3092	46.0634	57.5996	59.6377				
	75	1日目	74.3550	74.8921	70.9227	71.9909	74.7689	70.9252	72.3384	96.5	2.0	3.8
		2日目	75.9626	73.3099	74.4980	72.7203	74.0410	75.8843				
		3日目	69.6336	70.3783	68.5645	70.5972	70.0059	68.6420				

表-9 3-0-アセチルタイロシンの添加回収試験の結果

試料	添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	測定値($\mu\text{g}/\text{kg}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)	
		試行	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	6回目				全平均
鶏肝臓	25	1日目	24.7901	26.4833	26.6497	24.5770	25.6568	23.9308	24.2247	96.9	4.9	9.1
		2日目	24.1056	21.3754	22.5502	21.0496	22.3792	20.5221				
		3日目	26.5863	23.5630	24.5496	25.4485	26.5320	25.2956				
	50	1日目	47.8695	45.2712	46.8005	50.1080	47.0636	48.2859	47.8872	95.8	3.7	13.8
		2日目	40.0295	42.4216	42.4514	42.3299	40.8355	41.8368				
		3日目	55.4465	55.9657	52.3429	50.5577	55.8422	56.5125				
	75	1日目	81.0024	72.5907	77.1592	84.3082	77.1777	84.0849	71.6894	95.6	4.6	10.6
		2日目	64.7492	66.6047	65.9929	64.8725	62.1989	70.5448				
		3日目	68.5661	72.3953	66.7070	70.9361	69.9749	70.5446				

表-10 チルバロシンのCC

添加濃度: 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当	
繰り返しNo.	濃度($\mu\text{g}/\text{kg}$)
1	48.44215
2	47.61577
3	48.23197
4	47.85885
5	47.63732
6	49.64145
7	49.04532
8	47.84582
9	48.05272
10	46.96952
11	48.84512
12	49.76587
13	53.86060
14	54.46272
15	45.30917
16	46.06340
17	57.59962
18	59.63767
19	47.47125
20	46.66655
標準偏差	3.824337744
1.64倍	6.2719139
CC	56.2719139

表-11 3-0-アセチルタイロシンのCC

添加濃度: 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当	
繰り返しNo.	濃度($\mu\text{g}/\text{kg}$)
1	47.86952
2	45.27117
3	46.80050
4	50.10797
5	47.06355
6	48.28585
7	40.02945
8	42.42160
9	42.45137
10	42.32985
11	40.83547
12	41.83677
13	55.44647
14	55.96565
15	52.34287
16	50.55765
17	55.84217
18	56.51245
19	44.25080
20	47.12640
標準偏差	5.390432375
1.64倍	8.840309094
CC	58.84030909

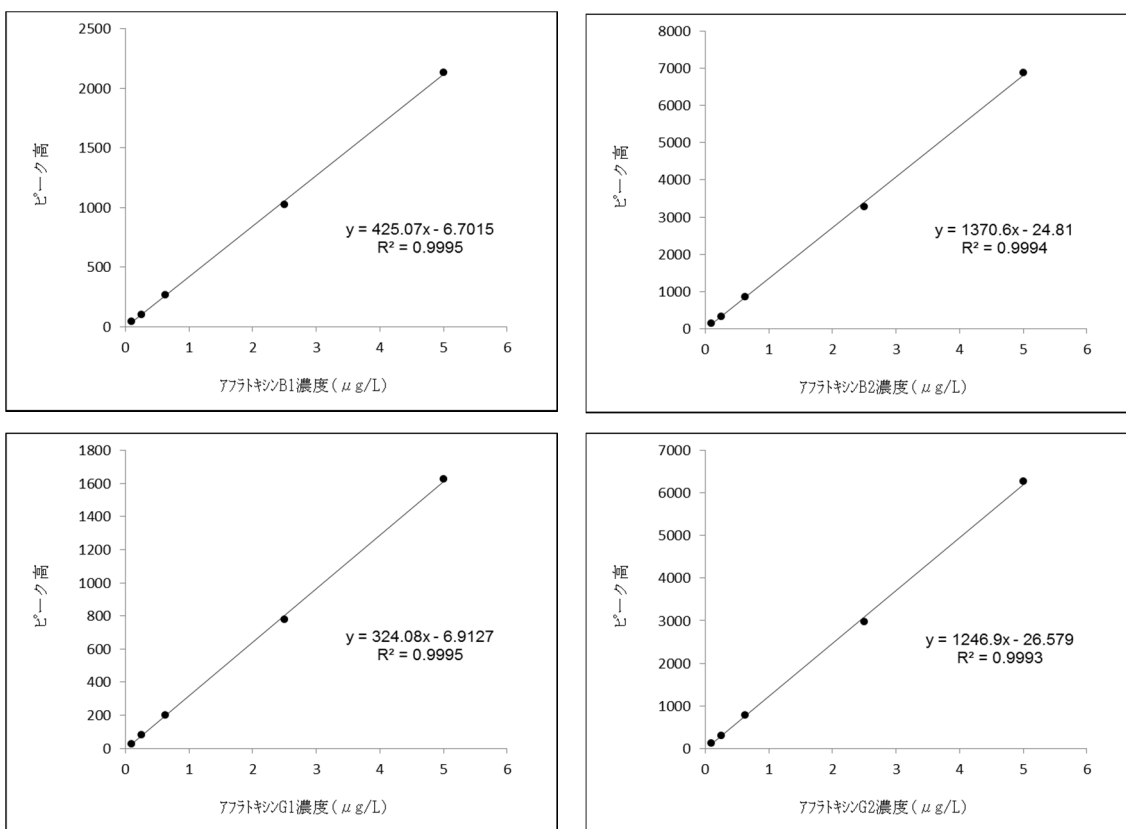


図-1 アフラトキシンB₁、アフラトキシンB₂、アフラトキシンG₁及びアフラトキシンG₂の検量線例

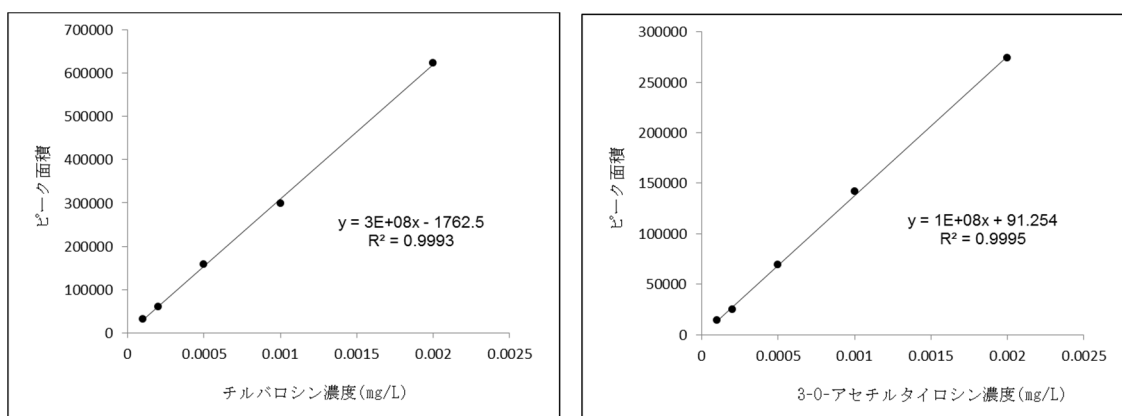


図-2 チルバロシン及び3-0-アセチルタイロシンの検量線例

表12 内部精度管理結果

畜種	試験項目名	測定物質	対象組織	試験方法	EU MRL (μg/kg)	定量下限 (μg/kg)	添加濃度 (μg/kg)	1日目		2日目		3日目		相対標準偏差(%)
								ブランク試験	添加回収率(%)	ブランク試験	添加回収率(%)	ブランク試験	添加回収率(%)	
豚	ジフルアテロール	ジフルアテロール	尿	LC-MS/MS	-	1	1	①	77.2	①	87.5	②	81.6	6.3
	シクロロール	シクロロール	尿	LC-MS/MS	-	0.5	0.5	①	96.1	①	104.3	②	93.8	5.6
	エンフロキサシン	エンフロキサシン	肝臓	LC-MS/MS	200	10	10	①	97.7	①	82.9	①	84.2	9.3
	フルプロキサシン	フルプロキサシン	肝臓	LC-MS/MS	-	10	10	①	77.3	①	95.5	①	79.3	11.9
	オフロキサシン	オフロキサシン	肝臓	LC-MS/MS	-	10	10	①	98.6	①	100.0	①	95.0	2.6
	オルビフロキサシン	オルビフロキサシン	肝臓	LC-MS/MS	-	10	10	②	86.5	②	87.3	①	82.2	3.2
	マルボフロキサシン	マルボフロキサシン	肝臓	LC-MS/MS	-	10	10	②	84.0	②	86.5	①	89.1	2.9
	ダフロキサシン	ダフロキサシン	肝臓	LC-MS/MS	150	10	10	①	103.7	①	101.1	①	97.7	3.0
	スルファモキシシン	スルファモキシシン	肝臓	LC-MS/MS	200	10	10	①	82.1	①	96.9	①	85.5	8.8
	スルファモキシシン	スルファモキシシン	肝臓	LC-MS/MS	100	10	50	①	88.0	①	82.4	①	103.8	12.1
	スルファモキシシン	スルファモキシシン	肝臓	LC-MS/MS	100	10	50	①	93.2	①	87.6	①	98.7	6.0
	スルファジメトキシシン	スルファジメトキシシン	肝臓	LC-MS/MS	100	10	50	①	85.9	①	88.7	①	102.1	9.4
	ハルネムリン	ハルネムリン	肝臓	LC-MS/MS	500	10	500	②	81.1	②	81.9	②	82.9	1.1
	エリスロマイシン	エリスロマイシン	腎臓	LC-MS/MS	200	10	100	②	101.5	②	92.9	①	110.2	8.5
	クリスチン	クリスチン	腎臓	LC-MS/MS	200	100	174.2	②	111.4	②	91.8	②	101.6	9.6
鶏	ジフルアテロール	ジフルアテロール	肝臓	LC-MS/MS	-	5	5	①	83.1	①	82.2	①	97.3	9.7
	シクロロール	シクロロール	肝臓	LC-MS/MS	-	0.5	0.5	①	98.7	①	99.5	①	103.8	2.7
	チンファンコロール	チンファンコロール	肝臓	LC-MS/MS	50	10	50	①	100.3	①	97.8	①	92.9	3.9
	フロロエニコロール	フロロエニコロール	肝臓	LC-MS/MS	2500	10	2500	①	100.3	①	99.6	①	99.4	0.5
	リンコマイシン	リンコマイシン	腎臓	LC-MS/MS	1500	10	100	①	96.8	①	107.0	①	97.2	5.8
	ヒパキシシン	ヒパキシシン	腎臓	LC-MS/MS	-	200	200	①	79.7	①	82.3	①	74.2	5.3
	シロトリン	シロトリン(異性体の和)	脂肪	LC-MS/MS	-	50	50	①	106.3	①	95.6	①	96.9	5.9
	知ギカム	知ギカム	筋肉	LC-MS/MS	-	10	10	①	103.9	①	103.4	①	103.0	0.4
	エンラマイシン	エンラマイシン	卵	LC-MS/MS	-	30	30	①	113.6	①	95.2	①	89.1	12.8
	アンゴリカム	アンゴリカム	卵	LC-MS/MS	-	10	10	①	91.1	①	93.3	①	95.9	2.6
	サリマイシン	サリマイシン	卵	LC-MS/MS	-	5	5	①	72.0	①	73.4	①	75.8	2.6
	チサロド	チサロド A	卵	LC-MS/MS	160	5	5	①	87.2	①	86.9	①	95.8	5.6
	エリスロマイシン	エリスロマイシン A	乳	LC-MS/MS	40	10	10	①	103.6	①	82.0	①	109.3	14.7
	オキリニク酸	オキリニク酸	乳	LC-MS/MS	-	10	10	②	101.3	②	102.2	②	106.6	2.7
	クリスチン	クリスチン	乳	LC-MS/MS	50	50	43.55	②	113.9	②	100.3	②	104.9	6.5
アミピリン	アミピリン	乳	LC-MS/MS	-	10	10	①	98.3	①	98.5	①	104.2	3.3	

*:①妨害ピーク検出せず

②定量限界相当のピーク面積(高さ)の1/3以下のピーク

③基準値濃度に相当するピーク面積(高さ)の1/10以下のピーク

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（5）
精度管理システムの運用に係る EU リファレンスラボラトリーの現地調査の実施

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 後藤 浩文 （一財）日本食品分析センター 微量試験部 副部長
中村 歩 （一財）日本食品分析センター 農薬試験課 課長補佐
成相 舞子 （一財）日本食品分析センター 動薬試験課 主任

研究要旨

日本産畜産物をEUへ輸出するにあたり、EUから検査を求められている物質についてモニタリング検査を実施しなければならないが、それに用いる試験法は妥当性が評価された国際的にも信頼性の高いものであることが必要である。

EUにおける精度管理システムはEU規則に従って運用されているが、妥当性評価などの実際について、それらの知見や技能を有しているEUのリファレンスラボラトリーを訪問し、現地調査及び現地専門家との意見交換を実施することにより種々の情報を得ることを目的とした。

EUリファレンスラボの一つであるBVL(ドイツ、ベルリン)を2019年3月5日(現地時間)に訪問し、EUにおける動物用医薬品を中心としたモニタリングシステム、妥当性評価の実際について調査し、現地専門家と意見交換した。それによりEUにおける具体的なモニタリングや妥当性評価に関する知見を得ることができ、円滑なEU輸出モニタリング実施に資するものである。

A. 研究目的

日本産畜産物をEUへ輸出するにあたり、EUから検査を求められている物質についてモニタリング検査を実施しなければならないが、それに用いる試験法は妥当性が評価された国際的にも信頼性の高いものであることが必要である。

EUにおける精度管理システムはEU規則に従って運用されているが、妥当性評価などの実際について、それらの知見や技能を有しているEUのリファレンスラボラトリーを訪問し、現地調査及び現地専門家との意見交換を実施することにより得ることを目的とした。

B. 方法

1. 訪問先

German Federal Office of consumer
Protection and Food Safety (BVL)
Marienfelde、 12277
Berlin、 Germany

2. 訪問日時

2019年3月5日

9:00 ~ 18:00(現地時間)

C. D. 研究結果および考察

BVLの専門家によるプレゼンテーション
及び質疑応答による意見交換で得られた情
報を以下に示した。

1. EUモニタリングシステムとBVLの役割

EUのモニタリングシステムは、EU
reference laboratories (EURL)、
National reference laboratories (NRL)、
Routine field laboratoriesにより構成さ
れている。その頂点にEURL、次いでNRL、
Routine field laboratoriesとピラミッド
構造になっている。NRLはEU加盟国ごとに
設置されている。EURL及びNRLはバリデー
ションコンセプトの開発、外部精度管理の
実施、分析法開発と妥当性評価、疑義が生
じた際の確認試験などをタスクとしている。
また最大のタスクはEU加盟国間の違いを埋
めていくことである。EURLとNRLは下位の
ラボを技術的、科学的にサポートする。

BVLはドイツのBraunschweigに本部を置
くEUのリファレンスラボである。5つの部
門からなり、EU内及びドイツ連邦の食品安
全管理に関与している。1999年にISO17025、
2017年にISO17043の認証を受けている。

訪問したラボは残留農薬や抗生物質のモニ
タリングを担当しており、検査法の確立など
を任務としている。

2. 外部精度管理

BVLでは外部精度管理も実施している。
外部精度管理試料の作製も行っており、作
製した試料は自ら測定するとともに他機関
へ配付する。外部精度管理試料は代謝物の
評価も行うために動物への投与により行っ
ている。最近では鶏の羽根を試料とした外
部精度管理試料も作製している。

日本では検疫の問題で獣畜肉等をマトリ
ックスとする外部精度管理試料の輸入が困
難であるが、ドイツにおいても同様の問題
は発生しており、南米からの輸入などは困
難なことがある。

3. 内部精度管理

内部精度管理にはCRMを用いるのが望ま
しいが、CRMは手に入りにくい場合が多い。
そのためCRMが入手できない場合にはリフ
ァレンスマテリアルまたはスパイクしたブ
ランクサンプルを用いて、分析バッチごと
で添加回収試験を行う。同じ添加回収サン
プルを2回測定する。

異なるサンプルを同時に分析する場合に
何を用いて内部精度管理を行うかはメソ
ッドによる。同じ方法でできるのであれば並
行して実施する。

4. 分析法の妥当性評価

残留動物用医薬品の残留管理は
Commission Decision 2002/657/ECに規定
されており、分析法の妥当性評価もこれに
従う。

最近ではクラシカルなバリレーション手

法ではなく開発されたソフトウェア「InterVal」を利用したAlternative Validation Approachが使われている。マトリックスや畜種などを包括的に評価できるように実験設計され、統計学的に変化の要因を組み合わせることで試験回数を減らすことができることから効率的な妥当性評価が可能となり頑健性の評価も可能となる。

5. 決定限界(CC)と検出能力(CC)

日本において、食品中の農薬や飼料添加物及び動物用医薬品の濃度が食品衛生法に定められている規格基準への適合性について判断を行うための試験法の妥当性評価は「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」(平成22年12月24日 食安発1224第1号)に示されているが、日本では食品衛生法の規格基準への適合判断においてCC、CCは用いていないため、同ガイドラインにはCCとCCについての記載はない。しかしEUにおいては各試験法のCC、CCは結果判断の重要な判定基準となることから、その意味と算出方法を理解することは重要である。そのためそれらについてのレクチャーを受けた。

エラーは、不適合な測定値が得られたとしても、試験されたサンプルが適合している確率を意味する(誤った不適合の判断)。Commission Decision 96/23/ECの附属書IのグループAにリストされている物質及び基準値が設定されていない物質については、エラーは1%以下でなければならず、他のすべての物質については、エラーは5%以下でなければならない。CCは過剰な生産者リスクを防ぐため、95~99%まで本当に確かでない限りは生産者に責任を負わせず(生産者保護)、許容できる範囲を本当に超えた場合のみ生産者に責

任を負わせるために使用される。

一方、エラーはサンプルが適合している測定値が得られているのに真に不適合となる確率を示す。CCは消費者リスクをなくするため(消費者保護)、偽陰性を5%以下で排除できる分析能力を示すものである。

6. 機器分析における精度管理

BVLにおいて実際に分析を行う際の機器の精度管理についてレクチャーを受けた。

機器測定の際、測定バッチの最初と最後に同じ濃度の標準溶液(QC標準溶液)を測定する。SN比またはAREA値を毎回プロットして2を超えたらバッチを採用しない。

測定バッチは溶媒ブランク、QC標準溶液、検量線、測定サンプル、溶媒ブランク、QC標準溶液の順に測定する。検量線は毎回作成する。マトリックス検量線または添加検量線の場合はマトリックスごとに検量線を作成する。検量線用の標準溶液はキャリーオーバーの影響を排除するためにランダムに注入する。

7. その他

EUにおけるモニタリングはまずスクリーニング法が用いられる。スクリーニング法で不適合になった場合は確認法での試験を行い、結果判断される。スクリーニング法の妥当性評価はCommunity Reference Laboratories residues 20/1/2010に従って実施する。

E. 結論

BVLを訪問し専門家からEUにおけるモニタリングシステムや試験法の妥当性評価法についてのレクチャーを受けた。また試験室を見学しながら実際の分析時の機器及び分析法の

精度管理について説明を受けることができた。

この訪問により、EUにおけるモニタリングの実際に触れることができ、また最新の妥当性評価法など、文書からだけでは読み取れない情報も得ることができた。またこれを機会に日本の現状を知ってもらうこともでき、より親密な関係性を築くこともできた。

以上のことは、今後の円滑なEU輸出モニタリング実施に資するものである。

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

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

新規技能試験プログラムの開発及び統計学的評価に関する研究

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

研究分担者 松田 りえ子 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

食品衛生に関わる多くの検査においては、有害物質の定量結果を規格に定められた値（規格値）と比較することによって、検査対象となった食品ロットの適合を判定している。従って、誤った判定を避けるためには、検査に携わる試験所が正しい分析結果を得ることが必要である。消費者からの検査への信頼性を確保するため、また国際的な食品の輸出入にあっては、検査の結果が正しいことを示すためには、分析結果の品質保証が必須である。

試験所間比較による技能試験は、分析結果の品質保証において必須である。それぞれの試験所が実施する試験の分析対象と食品の組合せによる技能試験に参加できることが理想であるが、現実には、限られた組合せの技能試験スキームが提供されているに過ぎない。新規技能試験プログラムの開発を困難にしている大きな要因として、技能試験での使用に耐えうる均質性と安定性を備えた試料開発の困難さが挙げられる。

本分担課題では、上記の要因を解決し、新規技能試験プログラムの開発を促進することを目的とした。試料開発の課題と協力して、実際にエンロフロキサシンとセフチオフルを投与したブタの筋肉を試料とする技能試験のパイロットスタディを実施した。また、ブタの筋肉にエンロフロキサシンを添加した試料の分析も行い、両試料における分析結果の分布の差を検討した。

研究協力者 井部 明広 実践女子大学
荒川 史博 日本ハム株式会社中央研究所品質科学センター
渡邊 敬浩 国立医薬品食品衛生研究所

A. 研究目的

厚生労働省は、食品による健康危害リスクを管理すること目的に、有害物質等の上限濃度を規定した食品規格を策定し、規格への適合を判断するための検査を実施している。多くの検査においては、有害物質の定量結果を規格に定められた値（規格値）と比較することによって、検査対象となった食品ロットの適合を判定している。従って、誤った判定を避けるためには、検査に携わる試験所が正しい分析結果を得ることが必要である。消費者からの検査への信頼性を確保するため、また国際的な食品の輸出入にあっては、検査の結果が正しいことを示すためには、分析結果が正しいことの根拠となる品質保証システムが必須である。

分析結果の品質保証では、妥当性を確認（validate）された分析法を採用すること、それが正しく実施できることを確認（verify）すること、試験に関わる手順の文書（SOP）化し、SOPの手順通りに行われたことを確認し記録することが必要である。これらの結果として、分析結果がある一定の範囲に納まるような管理状態が達成される。さらに継続して管理状態にあることは、内部品質管理によって確認される。以上の手順は試験所内において実施されるが、分析結果の妥当性を客観的に評価するためには、他の試験所との比較により評価される技能試験への参加が必須であり、食品分野も例外ではない。

それぞれの試験所が実施する分析の分析対象と食品の組合せによる技能試験に参加できることが理想であるが、現実には限られた組合せの技能試験スキームが提供されているに過ぎない。技能試験スキームを計画する際には、分析対象、試料のマトリクスを選定するだけでなく、予想される参加者数、技能試験試料の作製法、試料の均質性及び安定性、参加試験所の報告結果処理に使用する統計方法とパフォーマンス評価方法を考慮しなくてはならない。これらの中で、新規の食品技能試験プログラムの開発を困難にしている大きな要因として、技能試験での使用に耐えうる均質性と安定性を備えた試料開発の困難さが挙げられる。食品分析の技能試験で必要な試料のマトリクスは当然食品であるが、多くの食品は均質化することが難しく、また生物由来のため安定性にも乏しい。

本分担課題では、食品分析を対象とした新規技能試験プログラムを計画し、パイロットスタディを行うことにより、上記の問題点の解決法を探ることを目的とした。初年度の平成29年には、最初のパイロットスタディの対象として、二枚貝中の下痢性貝毒を選択し、技能試験を行った。二年目の本年度は、実際に動物用医薬品を投与した動物の筋肉から調製した試料を用いた技能試験のパイロットスタディを実施した。

B. 研究方法

技能試験の対象とする食品と化合物の選

定

動物用医薬品技能試験のための試料基材として、検査数の多いブタ肉を選択した。ブタに投与する動物用医薬品として、使用頻度の高いセフトフル及びエンロフロキサシンを選択した。

試料の作製

セフトフル及びエンロフロキサシンを投与したブタの肉から作製した試料と、豚肉にエンロフロキサシンを添加した試料を作製した。試料作製の概要を以下に示す。

投与試料の作製 セフトフル2 mg/kg、エンロフロキサシン3 mg/kgの用量で、豚の頸部筋中に注射により投与した。投与約6時間後に屠殺し、投与試料作製の豚枝肉を得た。得られた豚枝肉からロース芯を切り出し、サイレントカッターを用いて均質化した。これを100 mL容のポリプロピレン製容器に30 gずつ小分けし、真空フィルムに入れ真空・冷凍した。

添加試料の作製 動物用医薬品の残留がない豚ロース肉から、ロース芯を切り出しサイレントカッターで粗く粉碎したものを4.74 kg得た。これに、エンロフロキサシンの2 mg/mLアセトン溶液を5 mL添加した（添加濃度2.1 mg/kg）。さらにサイレントカッターで十分に均質化し、100 mL容のポリプロピレン製容器に60 gずつ小分けし、真空フィルムに入れ真空・冷凍した。

分析法の性能確認

均質性確認のためのセフトフル及びエンロフロキサシン分析法の性能を確認した。セフトフル分析法の性能確認は、豚肉5 gにデスフロイルセフトフル濃度が0.2 mg/mLとなるように添加し、一日2併行分析を5日間実施した。エンロフロキサシン分析法の性能確認は、豚肉5 gにエンロフロキサシン及びシプロフロキサシン濃度が1 mg/mLとなるように添加し、一日2併行分析を5日間実施した。

分析は一般財団法人日本食品分析センター彩都研究所で実施した。セフトフル及びエンロフロキサシン分析法を以下に示す。

セフトフル分析法

試薬

塩化カリウム、四ほう酸ナトリウム十水和物、リン酸二水素カリウム、リン酸水素二ナトリウム十二水和物、リン酸、水酸化ナトリウム、メタノール、ジチオエリスリトール、クロロホルムは試薬特級を使用した。ヨードアセトアミドは試薬一級を使用した。ギ酸及びアセトニトリルはLC/MS用を使用した。オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムはSep-pak C18 Classic (Waters製)を使用した。

セフトフル塩酸塩標準品（純度99.3%）はSIGMA-ALDRICH社製を使用した。

試液等

リン酸緩衝液 (pH7): リン酸二水素カリウム6.80 g及び1 mol/L水酸化ナトリウム溶液29 mLを水1000 mLに溶解し、pHを7.0に調整した。

試料抽出液 (ジチオエリスリトール・ホウ酸緩衝液): 塩化カリウム3.7 g、ジチオエリスリトール4.0 g及び四ほう酸ナトリウム十水和物19.0 gを精製水1000 mLに溶解した。

ヨードアセトアミド・リン酸緩衝液: ヨードアセトアミド7.0 gをリン酸緩衝液 (pH 7.0) 50 mLに溶解した。

1%リン酸緩衝液 (pH 6.0): リン酸二水素カリウム7.0 g及びリン酸水素二ナトリウム十二水和物6.0 gを水750 mLに溶解し、pHをリン酸で6.0に調整した後、水を加えて1000 mLとした。

セフチオフル標準液: セフチオフル塩酸塩標準品を精密に量り、1%リン酸緩衝液 (pH6.0)を加えて溶解し、デスフロイルセフチオフルとして1000 mg/Lの標準原液を調製した。標準原液を精製水で希釈し、4 mg/Lとした。この液1 mLに試料抽出液14 mLを加え、50 で15分間振とうした後、ヨードアセトアミド・リン酸緩衝液を3 mL加え室温で30分間放置、さらに4 で30分間冷却した。あらかじめメタノール10 mL、リン酸緩衝液 (pH 7.0) 5 mLで洗浄したSep-pak C18 Classicに負荷し、カラムをリン酸緩衝液 (pH 7.0) 5 mLで洗浄後、水及びメタノールの混液 (8:2) 5 mLで溶出した。溶出液をロータリーエバポレーター (40)で濃縮し、室温で窒素ガ

スを通じ溶媒を除去した。残留物を水及びメタノールの混液 (8:2) 10 mLに溶解し、水及びメタノールの混液 (8:2) で適宜希釈し、0.0025、0.005、0.025、0.05及び0.1 mg/mLの標準溶液を調製し、これを検量線用標準液とした。

試料溶液の調製

- 1) デスフロイル化: 試料5 gを量り取り、試料抽出液70 mLを加えホモジナイズした。クロロホルム100 mLを加え10分間振とうし、毎分3500回転で10分間遠心分離し、上層をろ過した。窒素ガスで溶媒を除去後、15 mLを分取し、50 、15分間振とうした後、ヨードアセトアミド・リン酸緩衝液3 mLを加え良く混合し、室温で30分間放置、さらに4 で30分間冷却した。その後、4 で毎分3500回転で10分間遠心分離し、水層を分取した。
- 2) 精製: 1)で得た水層を、あらかじめメタノール10 mL、リン酸緩衝液 (pH 7.0) 5 mLで洗浄したSep-pak C18 Classicに負荷し、カラムをリン酸緩衝液 (pH 7.0) 5 mLで洗浄後、水及びメタノールの混液 (8:2) 5 mLで溶出した。溶出液をロータリーエバポレーター (40)で濃縮し、室温で窒素ガスを通じ溶媒を除去した。
- 3) 定容: 残留物を水及びメタノールの混液 (8:2) 10 mLに溶解し、メンブランフィルターでろ過したものを試料溶液とした。

定量

検量線用標準溶液の各5 µLを液体クロマトグラフ - タンデム型質量分析計に注入し、ピーク面積から検量線を作成した。

試料溶液5 µLを液体クロマトグラフ - タンデム型質量分析計に注入し、検量線及び得られたピーク面積から、試料溶液中の物質の濃度を求めた。

液体クロマトグラフ - タンデム型質量分析計操作条件

機種：LC部 島津製作所製LC-30AD、MS部
AB SCIEX製4000 QTRAP

カラム：東ソー製TSKgel Super-ODS、内径2.0 mm、長さ100 mm

移動相：水：ギ酸（1000：1）及びアセトニトリルの混液（95：5）

流量：0.3 mL/min

カラム温度：40

注入量：5 µL

イオン化モード：ESI正イオン検出

コリジョンガス：窒素

コリジョンエネルギー：29 eV

質量数： m/z 487 241

エンロフロキサシン分析法

試薬

メタノール、メタリン酸、塩酸、酢酸アンモニウム、25%アンモニア水、水酸

化ナトリウムは試薬特級を使用した。ギ酸はLC/MS用を使用した。アセトニトリルは試薬特級及びLC/MS1用を使用した。自ビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムはOasis HLB（60 mg）を使用した。

エンロフロキサシン標準品（純度99.8%）は富士フィルム和光純薬工業製を、シプロフロキサシン塩酸塩一水和物標準品（純度100.0%）はSIGMA-ALDRICH社製を使用した。

試液等

0.2%メタリン酸溶液：メタリン酸1 gを水500 mLに溶解した。

0.1 mol/L水酸化ナトリウム溶液：水酸化ナトリウム4 gを水750 mLに溶解後1000 mLに定容した。

1 mol/L酢酸アンモニウム溶液：酢酸アンモニウム77.08 gを水に溶解して1000 mLとした。

1 vol%ギ酸含有50 mmol/L酢酸アンモニウム（pH 3.5）：1 mol/L酢酸アンモニウム溶液25 mLにギ酸5 mLを加え、25 %アンモニア水でpH 3.5に調整したものを水で500 mLとした。

エンロフロキサシン標準原液：エンロフロキサシン標準品10 mgを精密に量り、メタノールを加えて超音波照射により溶解した後、100 mLに定容し、エンロフロキサシン標準原液（100 mg/L）とした。

シプロフロキサシン標準原液：シプロフ

ロキサシン塩酸塩一水和物標準品約10 mgを精密に量り、0.1 mol/L水酸化ナトリウム溶液1 mL及びメタノールを加えて超音波照射により溶解した後、メタノールで100 mLに定容し、シプロフロキサシン標準原液(100 mg/L)とした。

検量線用標準溶液：エンロフロキサシン標準原液及びシプロフロキサシン標準原液各2.5 mLを、水、メタノール、塩酸の混液(500:500:1)で50 mLに定容し、5 mg/Lの混合標準溶液を調製した。この液を水、メタノール、塩酸の混液(500:500:1)で希釈し、0.5 mg/L混合標準溶液及び0.05 mg/L混合標準溶液を調製した。さらに希釈し、0.25、0.5、1、2.5及び5 µg/Lの混合標準溶液を調製し、検量線用標準溶液とした。

試料溶液の調製

- 1) 抽出：試料5 gを量り取り、0.2%メタリン酸溶液及びアセトニトリルの混液(3:2)を80 mL加えた後、ホモジナイズした。毎分3500回転で5分間遠心分離後、上清をろ過し、0.2%メタリン酸溶液及びアセトニトリルの混液(3:2)で100 mLに定容した。
- 2) 精製：抽出液10 mLをロータリーエバポレーター(40℃)で約3 mLに濃縮した。濃縮液をあらかじめメタノール5 mL、水10 mLで洗浄したOasis HLBに負荷した。メタノール5 mLで溶出し、溶出液をロータリーエバポレーター(40℃)で1 mL以下に濃縮し、室温で窒素ガスを通じ溶媒を除去した。

- 3) 定容：残留物を水、メタノール、塩酸の混液(500:500:1)10 mLに溶解し、メンブランフィルターでろ過したものを試料溶液とした。

定量

検量線用標準溶液の各10 µLを液体クロマトグラフ - タンデム型質量分析計に注入し、ピーク面積から検量線を作成した

試料溶液10 µLを液体クロマトグラフ - タンデム型質量分析計に注入し、検量線及び得られたピーク面積から、試料溶液中の物質の濃度を求めた。

液体クロマトグラフ - タンデム型質量分析計操作条件

機種：LC部 島津製作所製LC-30AD、MS部 AB SCIEX製4000 QTRAP

カラム：Waters製 ACQUITY UPLC HSS C18、内径2.1 mm、長さ100 mm

移動相：1 vol%ギ酸含有50 mmol/L酢酸アンモニウム(pH 3.5)とアセトニトリルのグラジエント

流量：0.35 mL/min

カラム温度：40

注入量：10 µL

イオン化モード：ESI正イオン検出

コリジョンガス：窒素

コリジョンエネルギー：29 eV(エンロフ

ロキサシン)、31 eV(シプロフロキサシン)

質量数： m/z 360 316(エンロフロキサシン)、 m/z 332 314(シプロフロキサシン)

試料の均質性確認

試料の均質性を確認するために、作製した試料からランダムに10個を抜き取り、それぞれの内容物を均質化し、それぞれから2試験試料を採取し、セフトオフル及びエンロフロキサシン濃度を測定した。

パイロットスタディ

国内の試験所から参加者を募集し、ブタ筋肉中セフトオフル及びエンロフロキサシン分析技能試験のパイロットスタディを実施した。参加試験所にはそれぞれ試料1個を、冷凍宅配便により送付した。分析回数は1回とした。同時に使用した分析法の概略も報告することとした。

添加試料のエンロフロキサシン分析

技能試験試料のエンロフロキサシン濃度の平均値に近い濃度のエンロフロキサシンを添加した試料を作製し、希望する試験所で、技能試験試料と同様に分析した。分析を行った試験所は10か所であった。

C. 結果と考察

分析法性能確認結果

検量線

デスフロイルセフトオフル濃度0.0025、0.005、0.025、0.05、0.1 mg/mLの検量線作成用標準溶液を測定し、検量性を作成した。検量線の相関係数は0.999以上であった。

エンロフロキサシン及びシプロフロキサシン濃度0.25、0.5、1、2.5及び5 µg/Lの検量線作成用標準溶液を測定し、検量線を作成した。検量線の相関係数はいずれも0.999以上であった。

選択性

ブタ筋肉を試験したところ、クロマトグラム上に、デスフロイルセフトオフル、エンロフロキサシン及びシプロフロキサシンの定量を妨害するピークは現れなかった。

真度及び精度

セフトオフル分析法の性能確認で得られた分析結果をTable 1に、エンロフロキサシンの分析法の性能確認で得られた分析結果をTable 2に示す。

性能確認結果10個の総平均の添加量に対する比を真度とした。また、一元配置分散分析を行い、併行精度と室内精度を推定した。結果をTable 3に示す。

セフトオフル分析法の真度は109%、併行精度はRSD 2.6%、室内精度はRSD 4.8%であった。エンロフロキサシンの真度は85.1%、併行精度はRSD 2.3%、室内精度はRSD 3.1%であった。シプロフロキサシ

ンの真度は83.3%、併行精度はRSD 2.9%、室内精度はRSD 3.4%であった。

Codex Procedural Manual¹⁾に示された真度の規準は、セフチオフル添加量の0.2 mg/mL、エンロフロキサシン及びシプロフロキサシンの添加量の1.0 mg/mLでは、80-110%である。性能確認で得られた真度はこの規準を満足していた。

Horwitz式のThompson修正式^{2,3)}（以下Horwitz式）により予想される室間精度は、セフチオフル添加濃度ではRSDとして20%、エンロフロキサシン及びシプロフロキサシン添加濃度ではRSDとして16%である。得られた室内精度はこれらの値の1/2以下であり、試料の均質性確認に使用可能と判断された。

試料の均質性確認

作製した試料からランダムに10個を抜き取り、セフチオフル及びエンロフロキサシンを2回分析した結果をTable 4及びTable 5に示す。これらの結果を分散分析し、繰り返しの分散と試料間の分散を求め、それぞれから標準偏差を計算した。

The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories⁴⁾に示されているRecommendation 7及び8により試料の均質性の評価を行った。Recommendation 7は、均質性試験に使用された分析法の繰り返しの標準偏差 s_{an} がHorwitz式から予測される室間精度 $\sigma_p \times 0.5$ 以下であれば、妥当と評価される。

Recommendation 8は試料間の均質性の評価である。試料数10、繰り返し分析数2であれば、試料間の分散を s_{sam}^2 、 $\sigma_{all} = 0.3 \times \sigma_p$ とするとき、

$$s_{sam}^2 < 1.88 \times \sigma_{all}^2 + 1.01 \times s_{an}^2$$

を満たせば試料は均質と判断される。

均質性試験結果をTable 6に示す。全ての化合物において、Recommendation 7と8の条件を満足したため、試料は技能試験に適切な均質性を有すると評価した。

エンロフロキサシンを添加して作成した試料の均質性も、同様に確認した。この試料においてもRecommendation 7と8の条件を満足した。

技能試験パイロットスタディ

19か所の試験所から参加の申し込みがあった。1か所が国の機関、12か所が地方自治体の衛生研究所、6か所が登録検査機関であった。各試験所に試料1個を送付した。分析方法は、各試験所が日常的に行っている方法とした。全ての試験所から報告があり、すべての試験所がエンロフロキサシンとシプロフロキサシンの結果を報告したが、1試験所がエンロフロキサシンの結果のみを報告した。セフチオフルの結果を報告した試験所は5か所であった。報告結果をTable 7に、エンロフロキサシン、シプロフロキサシン、両者の和のヒストグラムをFig.1に示す。

エンロフロキサシンのヒストグラムは、中央が高く対称的だが、値の高い側と低い側に離れた値が見られた。シプロフロ

キサシンのヒストグラムは高濃度側に離れた値が2つ見られた。エンロフロキサシン濃度はシプロフロキサシン濃度の30倍程度のため、エンロフロキサシンとシプロフロキサシンの和のヒストグラムは、エンロフロキサシンとよく似た形となった。

参加試験所の評価

参加試験所が少数の場合の評価方法を示したIUPAC/CITACガイド “ Selection and use of proficiency testing schemes for a limited number of participants – chemical analytical laboratories ”⁵⁾では、参加試験所数 $N < 20$ のとき、ロバスト統計は推奨されないとされている。このような場合の試料の付与値の決定法として、認証標準物質あるいは認証物質にトレーサブルな試料を開発することが示されている。また、標準偏差としては、Horwitzの式による室間再現標準偏差の予測値を用いることが示されている。昨年度のオカダ酸技能試験では、認証標準物質を用いて真度を検証した方法で試料を分析した結果を付与値とし、Horwitz式により求めた室間標準偏差を標準偏差とした。本年度の分析対象物質であるエンロフロキサシン及びシプロフロキサシンには適切な認証標準物質がないため、添加により性能を確認した分析法により、試料濃度を求めた。

参加試験所からのエンロフロキサシン、シプロフロキサシン、両者の合計の報告値から平均、標準偏差、ロバスト平均、ロバスト標準偏差を計算した。ロバスト

平均及び標準偏差の計算はalgorithm A⁶⁾を用いた。セフチオフルの報告結果は少数であるため、ロバスト平均及びロバスト標準偏差の計算を行わなかった。通常の平均値、通常の標準偏差、ロバスト平均値、ロバスト標準偏差、分析により求めた付与値、Horwitz式により求めた標準偏差をTable 8に示す。

エンロフロキサシン、シプロフロキサシン、両者の合計の通常の平均値、ロバスト平均値、分析による付与値はほぼ一致した。一方、ロバスト標準偏差は通常の標準偏差よりも小さくなった。報告値のヒストグラムには、外れ値と考えられるような離れた値が認められており、これらの値が通常の標準偏差を大きくしたと考えられた。Horwitz式により推定したエンロフロキサシン、エンロフロキサシンとシプロフロキサシンの合計の室間標準偏差は、ロバスト標準偏差よりやや大きかった。これに対して、シプロフロキサシンの推定室間標準偏差はロバスト標準偏差より小さかった。

参加者の技能の評価は、妥当性確認された方法による分析によって求めた付与値と、Horwitz式から求めた室間の標準偏差を用いて計算したz-スコアによることとした。計算したz-スコアをTable 9に示す。参考のためにロバスト平均値とロバスト標準偏差から計算したz-スコアも示した。Fig.2にはz-スコアを昇順に並べたバーチャートを示す。

エンロフロキサシンのz-スコアは-2.47～3.31の範囲にあり、19試験所中17

試験所が |z-スコア| 2となり、満足と評価された。|z-スコア| 3となり、不満足となった試験所数は1であった。シプロフロキサシンのz-スコアは-2.43 ~ 6.81の範囲にあり、18試験所中14試験所が |z-スコア| 2となり、満足と評価された。|z-スコア| 3となり、不満足となった試験所数は2であった。エンロフロキサシンとシプロフロキサシンの和のz-スコアは-3.07 ~ 3.75の範囲にあり、18試験所中16試験所が |z-スコア| 2となり、満足と評価された。|z-スコア| 3となり、不満足となった試験所数は1であった。

エンロフロキサシン報告結果のロバスト標準偏差は予測された室間標準偏差よりも小さいために、ロバスト統計量から計算したz-スコアが3以上で、不満足となった試験所数は増加して2となった。

分析条件

参加試験所から報告されたエンロフロキサシンの分析条件は、通知された「エンロフロキサシン、オキシリニック酸、オフロキサシン、オルピフロキサシン、サラフロキサシン、ジフロキサシン、ダノフロキサシン、ナリジクス酸、ノルフロキサシン及びフルメキン試験法（畜水産物）」を準用した方法が大部分であった。

抽出溶媒はアセトニトリル及び0.2%メタリン酸溶液の他、ギ酸を添加したアセトニトリル、アセトニトリル-メタノールがあった。

精製として、ジビニルベンゼン-*N*-ビニ

ルピロリドン共重合体ミニカラムを使用した試験所が9か所あったが、カラム精製を実施していない試験所も7か所あった。また、ヘキサンによる脱脂を行った試験所は8か所あった。

17か所の試験所がLC-MS/MSにより測定を行ったが、TOFMSを用いた試験所が1か所、蛍光検出により測定した試験所が1か所あった。

これらの分析条件と分析結果のz-スコア間に、関係性は認められなかった。

添加試料のエンロフロキサシン分析

技能試験試料のエンロフロキサシン濃度の平均値に近い2.1 mg/kgを添加した試料の分析結果の平均値は2.08 mg/kg、標準偏差は0.44 mg/kgであった。数が少ないためロバスト統計量は計算しなかった。平均値は添加量に近い値となり、相対標準偏差も22%で、技能試験試料の分析結果のRSDである21%とほぼ同じであった。このことから、動物に投与して作成した試料と添加試料間で、エンロフロキサシン分析結果の分布に大きな違いはないと考えられた。

Fig.3には2つの試料のエンロフロキサシン分析結果のプロットを示す。2試料の分析を行った10試験所中8試験所のプロットは直線状に並んだが、2試験所の結果は直線から離れていた。この2試験所の技能試験試料のエンロフロキサシン結果は、低い方からの2つであったが、添加試料では平均値よりも高い分析結果となった。

以上の結果から、通常の試験所においては、エンロフロキサシンを投与した動物から作製した試料と、エンロフロキサシンを添加した試料との分析結果には強い相関があると考えられた。一方、2か所の試験所はこのような相関に従わず、投与した試料においては低濃度の結果が得られた。実際の検査では、動物に投与した動物用医薬品が残留した試料が分析されるため、投与により作製した試料による技能試験は、添加により作製した試料を用いるよりも、実際の結果の変動をよく反映していると考えられた。

セフチオフル分析

使用頻度の高い動物用医薬品であるセフチオフルを技能試験の対象として選択し、試料を作成したが、技能試験に参加した試験所数は5にとどまった。参加した試験所は登録検査機関と国の機関であり、自治体の試験所からの参加はなかった。セフチオフルの分析法にはデスフロイル化の操作が含まれ、安定した結果が得られにくいことが、参加機関が少ない原因となっている可能性がある。

妥当性確認した方法により技能試験用試料を分析した結果は0.131 mg/kgであり、技能試験結果の平均値は0.109 mg/kgであった。標準偏差は0.026 mg/kgであり、Horwitz式により予測した標準偏差と同程度であった。

E. 研究発表

1. 論文発表

特になし

2. 学会発表

特になし

参考文献

- 1) Codex Alimentarius Commission, Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization, Codex procedural manual
- 2) W. Horwitz, L. R. Kamps and K. W. Boyer, J. Assoc. Off. Anal. Chem., 63, 1344 (1980)
- 3) Thompson M., Analyst (Lond.), 125, 385-386, 2000
- 4) Thompson M, Ellison L. R., Wood R, Pure Appl. Chem., 78, 145-196, 2006
- 5) Kuselman I, Fajgelj A, Pure Appl. Chem., 82, 1099-1135, 2010
- 6) ISO 13528 Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison, 2016

Table 1 セフチオフル分析法の性能確認で得られた分析結果

日	1	2
1	0.231	0.220
2	0.229	0.225
3	0.217	0.217
4	0.205	0.204
5	0.204	0.217

Table 2 エンロフロキサシン分析法の性能確認で得られた分析結果

エンロフロキサシン			シプロフロキサシン		
日	1	2	日	1	2
1	0.831	0.860	1	0.825	0.821
2	0.897	0.881	2	0.874	0.850
3	0.846	0.821	3	0.844	0.819
4	0.853	0.846	4	0.841	0.850
5	0.813	0.858	5	0.768	0.836

Table 3 セフチオフル分析法及びエンロフロキサシン分析法の性能確認結果

化合物	添加濃度 mg/mL	真度	併行精度 RSD	室内精度 RSD
セフチオフル	0.2	108.5%	2.6%	4.8%
エンロフロキサシン	1.0	85.1%	2.3%	3.1%
シプロフロキサシン	1.0	83.3%	2.9%	3.4%

Table 4 セフチオフル均質性確認結果

試料No.	1	2
3	0.131	0.137
4	0.139	0.140
5	0.132	0.132
9	0.130	0.129
13	0.124	0.130
14	0.127	0.123
22	0.131	0.131
34	0.131	0.133
36	0.126	0.128
42	0.128	0.128

Table 5 エンロフロキサシン均質性確認結果

エンロフロキサシン			シプロフロキサシン		
試料No.	1	2	試料No.	1	2
3	2.302	2.430	3	0.068	0.068
4	2.338	2.303	4	0.066	0.066
5	2.141	2.259	5	0.070	0.069
9	2.184	2.019	9	0.071	0.066
13	2.309	2.148	13	0.070	0.066
14	2.262	2.333	14	0.071	0.072
22	2.302	2.168	22	0.073	0.067
34	2.528	2.329	34	0.075	0.071
36	2.061	2.152	36	0.068	0.069
42	2.229	2.121	42	0.070	0.068

Table 6 均質性試験結果

化合物	平均値 mg/kg	くり返しSD mg/kg	試料間SD mg/kg	$p \times 0.5$ mg/kg	S_{sam}^2	$1.88 \times S_{all}^2$ $+1.01 \times S_{an}^2$
セフチオフル	0.131	0.0022	0.0044	0.0142	2.18.E-10	1.41.E-04
エンロフロキサシン	2.246	0.091	0.125	0.159	5.41.E-05	2.56.E-02
シプロフロキサシン	0.0692	0.0023	0.0025	0.0076	8.62.E-13	4.48.E-05

Table 7 技能試験パイロットスタディ報告値

試験所 番号	報告値			
	エンロフロキサシン mg/kg	シプロフロキサシン mg/kg	両者の和 mg/kg	セフチオフル mg/kg
1	1.63	0.0644	1.6944	-
2	2.4	0.058	2.458	-
3	2.26	0.06	2.32	0.12
4	2.36	0.12	2.48	-
5	1.46	0.0322	1.4922	-
6	2.49	0.0752	2.5652	-
7	2.1	0.06	2.16	0.12
8	3.3	0.0833	3.3833	-
9	2.22	0.0486	2.2686	-
10	1.668	0	-	-
11	2.52	0.06	2.58	0.09
12	2.39	0.0979	2.4879	-
13	2.3	0.08	2.38	-
14	2.31	0.0571	2.3671	-
15	2.3	0.1	2.4	-
16	2.7	0.087	2.787	0.14
17	2.11	0.0562	2.1662	0.076
18	2.35	0.0603	2.4103	-
19	2.33	0.173	2.503	-

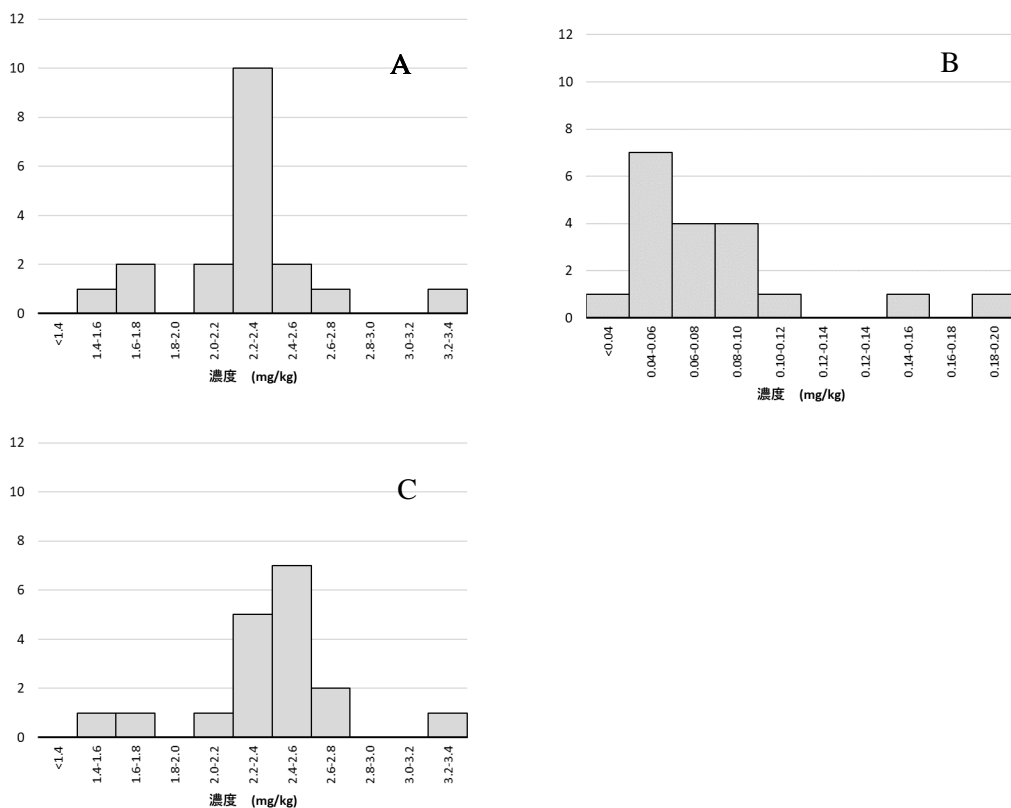


Fig. 1 技能試験パイロットスタディ報告値のヒストグラム
A:エンロフロキサシン、B:シプロフロキサシン、C:両者の和

Table 8 技能試験報告結果の平均値と標準偏差

	エンロフロキサシン mg/kg	シプロフロキサシン mg/kg	両者の和 mg/kg	セフトリオキサリン (mg/kg)
平均値	2.27	0.076	2.38	0.109
ロバスト平均値	2.29	0.072	2.40	-
分析による付与値	2.25	0.069	2.32	0.131
標準偏差	0.40	0.032	0.40	0.026
ロバスト標準偏差	0.27	0.024	0.23	-
室間標準偏差予測値	0.32	0.015	0.33	0.028

Table 9 参加試験所の z-スコア

試験所 番号	z-スコア*			試験所 番号	z-スコア**		
	エンロフロ キサシン	シプロフロ キサシン	両者の和 mg/kg		エンロフロ キサシン	シプロフロ キサシン	両者の和 mg/kg
1	-1.94	-0.32	-1.90	1	-2.44	-0.33	-3.04
2	0.48	-0.74	0.44	2	0.41	-0.59	0.27
3	0.04	-0.61	0.01	3	-0.10	-0.51	-0.33
4	0.36	3.33	0.51	4	0.27	1.99	0.36
5	-2.47	-2.43	-2.52	5	-3.07	-1.67	-3.92
6	0.77	0.39	0.77	6	0.75	0.12	0.73
7	-0.46	-0.61	-0.48	7	-0.70	-0.51	-1.02
8	3.31	0.92	3.27	8	3.75	0.46	4.28
9	-0.08	-1.35	-0.14	9	-0.25	-0.98	-0.55
10	-1.82	-	-	10	-2.30	-	-
11	0.86	-0.61	0.81	11	0.86	-0.51	0.80
12	0.45	1.88	0.53	12	0.38	1.07	0.40
13	0.17	0.71	0.20	13	0.04	0.32	-0.07
14	0.20	-0.80	0.16	14	0.08	-0.63	-0.13
15	0.17	2.02	0.26	15	0.04	1.15	0.02
16	1.43	1.17	1.45	16	1.53	0.61	1.69
17	-0.43	-0.86	-0.46	17	-0.66	-0.67	-1.00
18	0.33	-0.59	0.29	18	0.23	-0.50	0.06
19	0.26	6.81	0.58	19	0.15	4.19	0.46

* 付与値と Horwitz 式から求めた室間の標準偏差を用いて計算した z-スコア

** 報告値のロバスト平均値とロバスト標準偏差を用いて計算した z-スコア

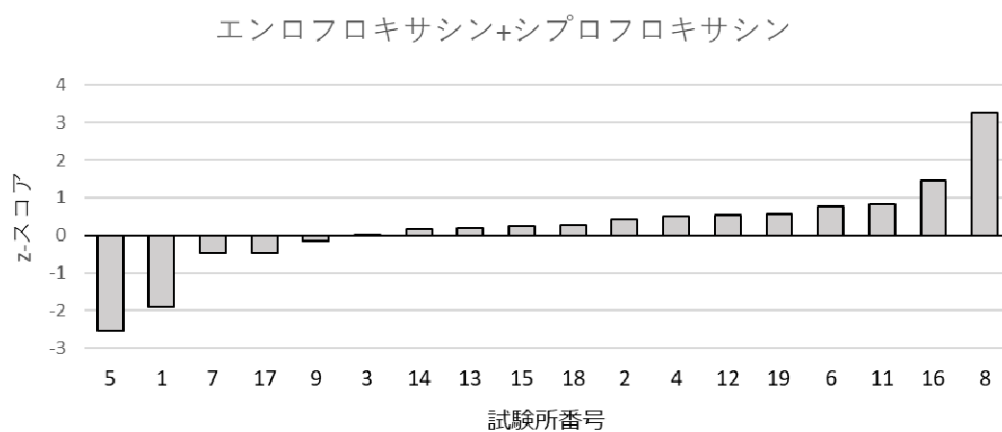
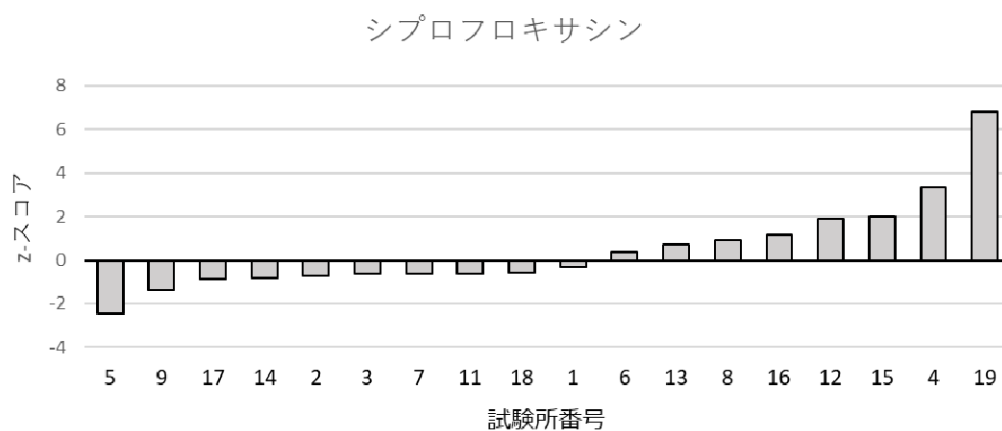
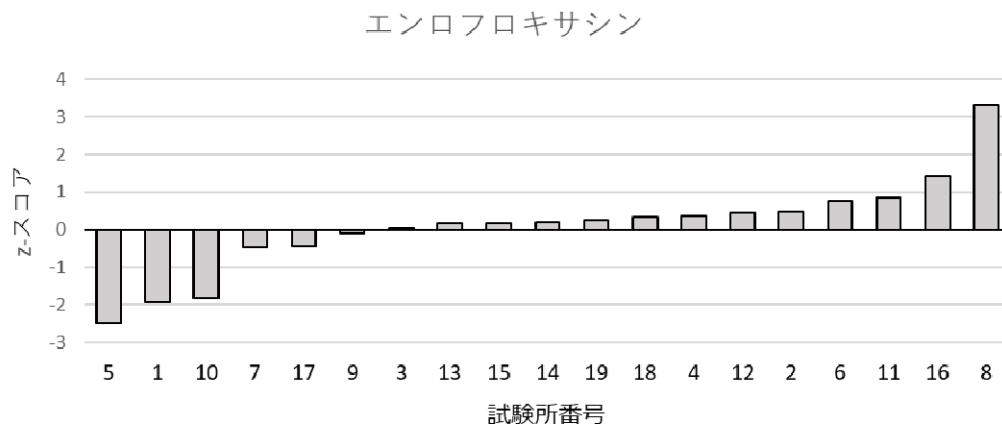


Fig.2 参加試験所の z-スコア

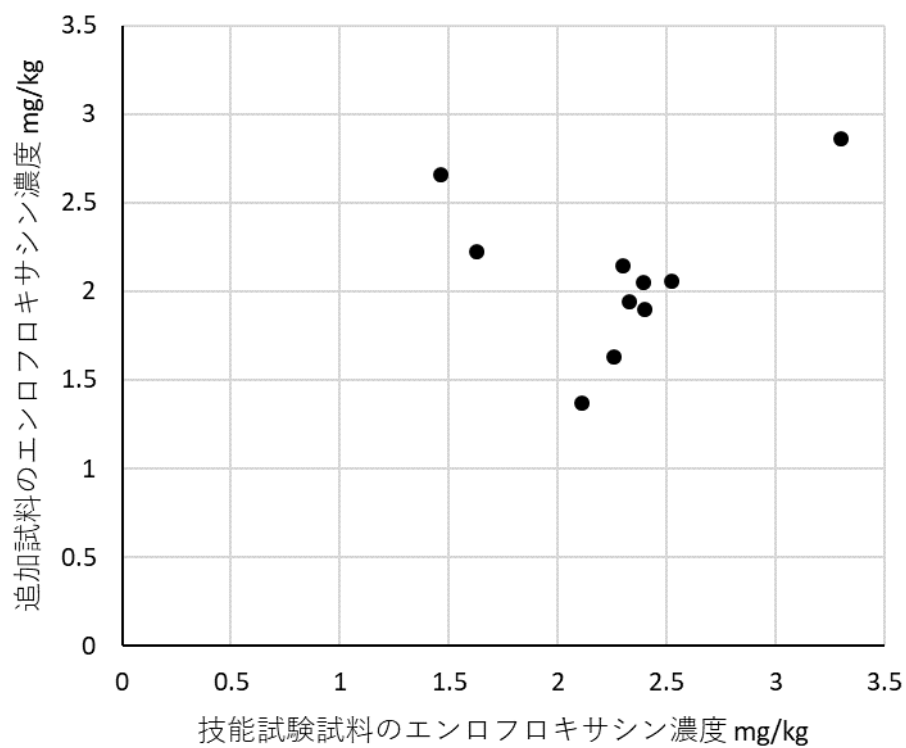


Fig.3 技能試験試料と添加試料のエンロフロキサシン濃度

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

新規技能試験プログラム用試料の開発に関する研究

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
研究分担者	井部 明広	実践女子大学
研究協力者	荒川 史博	日本ハム株式会社中央研究所品質科学センター

研究要旨

厚生労働省は、食品の安全の担保と品質の向上に加えて食品による健康危害リスクを管理することを目的に、有害物質等の上限濃度を規定した食品規格を策定し、その実効のために検査を実施している。多くの検査においては、有害物質の定量結果を規格に定められた値（基準値）と比較することによって、検査対象となった食品ロットの適合を判定している。従って、誤った判定を避けるためには、検査に携わる試験所が正しい分析結果を得ることが必要である。消費者からの検査への信頼性を確保するため、また国際的な食品の輸出入にあっては、検査の結果が正しいことを示すためには、分析結果の品質保証が必須である。

試験所間比較による技能試験は、分析結果の品質保証において必須である。それぞれの試験所が実施する試験に適合したアナライトと食品の組合せによる技能試験に参加できることが理想であるが、現実には、限られた組合せの技能試験スキームが提供されているに過ぎない。新規技能試験プログラムの開発を困難にしている大きな要因は、技能試験での使用に耐えうる均質性と安定性を備えた試料開発の困難さが挙げられる。また、分析を実施している試験所数が少なく、参加者が限られると予想される場合には、通常の評価方法が適用できないことも新規技能試験プログラム開発を困難にしている。

本分担課題では、上記の要因を解決し、新規技能試験プログラムの開発を進めることを目的とした。昨年度の結果を踏まえて、動物薬技能試験用試料の開発を行った。また、

次年度に一般生菌数の技能試験を実施できるように、基材の選択や輸送方法等、試料開発に必要な条件の検討に着手した。

A. 研究目的

厚生労働省は、食品の安全の担保と向上に加えて食品による健康危害リスクを管理することを目的に、有害物質等の上限濃度を規定した食品規格を策定し、その実効のために検査を実施している。多くの検査においては、有害物質の定量結果を規格に定められた値（基準値）と比較することによって、検査対象となった食品ロットの適合を判定している。従って、誤った判定を避けるためには、検査に携わる試験所が正しい分析結果を得ることが必要である。消費者からの検査への信頼性を確保するため、また国際的な食品の輸出入にあっては、検査の結果が正しいことを示すためには、分析結果の品質保証が必須である。

分析結果の品質保証では、妥当性を確認（validation）した分析法を採用すること、それが正しく実施できることを確認（verification）すること、試験に関わる手順の文書化、手順通りに行われたことの確認と記録が必要である。これらの結果として、分析結果が一定の範囲に納まるような管理状態を達成する。さらに管理状態にあることは、内部品質管理によって確認される。これらは試験所内において実施されるが、分析結果の妥当性を客観的に

評価するためには、試験所間比較による技能試験への参加が必須である。

技能試験スキームの計画では、技能試験の対象となるアナライト、食品だけではなく、予想される参加者数、技能試験試料の作製法、試料の均質性および安定性、参加試験所の報告結果処理に使用する統計方法とパフォーマンス評価方法を考慮しなくてはならない。それぞれの試験所が実施する試験のアナライトと食品の組合せによる技能試験に参加できることが理想であるが、現実には、限られた組合せの技能試験スキームが提供されているに過ぎない。

新規技能試験プログラムの開発を困難にしている大きな要因は、技能試験での使用に耐えうる均質性と安定性を備えた試料開発の困難さが挙げられる。

本分担課題では、本研究で実施されている課題「新規技能試験プログラム開発及び統計学的評価に関する研究」と連携して、新規技能試験を行うに際し、必要な試験試料の開発を行うことを目的とした。

本研究初年度の平成 29 年には、最初のパイロットスタディの対象として、二枚貝中の下痢性貝毒を選択し、試料開発を行った。さらに、動物薬を投与した豚を用いて技能試験用試料の作製

を検討した。二年目にあたる本年度は、実際に動物薬を投与した豚の筋肉から調整した技能試験用試料の作製を行った。あわせて初年度に作製した下痢性貝毒、動物薬の検討試料について1年後の安定性を確認した。また、次年度に食品を基材とした一般生菌数について技能試験を行えるよう、基材の選択、試料調製ならびに輸送方法等、試料開発に必要な条件の検討に着手した。

1. 実際に動物薬を投与した畜肉を試料として用いる技能試験のための試料開発

B. 研究方法

動物薬、農薬等の有害物質で自然汚染された標準物質は、その性質から開発されているものが少なく、多くの試験機関では汚染していないマトリクスにアナライトを添加、混合した試料を用いて試験の精度を担保している。しかし、抽出から測定まで一連の試験の精度を評価するには、添加・混合された標準物質では十分ではないと考えられる。そこで本分担研究では、昨年度、あらかじめ動物薬によって汚染された標準物質の開発について検討を行った。予備検討の結果、豚生体に動物薬を投与し、6時間後に屠殺した枝肉からロース肉を切り出し、3分間サイレントカッター（KILIA社製）で粉碎するという条

件により均質な試料を作製できることが確認された。

試料の作製

投与試料の作製

豚の飼育、屠殺は茨城県内の契約農場へ委託した。投与する動物用医薬品は、通常の飼育に用いているエンロフロキサシン製剤およびセフトフル製剤とした。体重約100kgの豚に対して300mgのエンロフロキサシ、200mgのセフトフルを頸部筋肉中に注射した。エンロフロキサシンとセフトフルは1頭の個体に対して同時に投与した。技能試験に適した均質な試料を得るために、薬剤を生体中に十分に拡散させる目的で屠殺までの時間を6時間とした。研究用に薬剤を投与した豚は休薬期間を遵守せず屠畜をするので、肉が市場に出回らないよう屠畜場の通常作業が全て終了した後屠畜し、屠体には識別用の札を付し、全量を買上げた。

得られた豚枝肉からロース芯を切り出し、サイレントカッターを用いて約3分間、均質化処理をした。これを100mL容のポリプロピレン製容器（株式会社シントー化学製、品番3-100）に30gずつ小分けし、ナイロンラミネート加工を施したポリエチレン袋（大倉工業株式会社製、品番PNH-11号）に入れ真空・冷凍した。技能試験用の試料として42個の試料を得た。

添加試料の作製

動物薬の残留がない豚ロース肉から、ロース芯を切り出しサイレントカッターで粗く粉砕したものを4.74 kg得た。これに、エンロフロキサシン2 mg/mLのアセトン溶液を5 mL添加した（添加濃度2.1 mg/kg）。さらにサイレントカッターで十分に均質化し、100 mL容のポリプロピレン製容器（株式会社シントー化学製、品番3-100）に60 gずつ小分けし、ナイロンラミネート加工を施したポリエチレン袋（大倉工業株式会社製、品番PNH-11号）に入れ真空・冷凍した。技能試験用の試料として35個の試料を得た。

均質性評価の概略

作製した試料の均質性を確認するために、投与試料42個、添加試料35個から、それぞれランダムに10個を抜き取り、均質性の評価試料とした。

均質性の評価は課題4「新規技能試験プログラム開発及び統計学的評価に関する研究」において実施した。

C. D. 結果と考察

試料の均質性評価

動物薬を投与した畜肉を用いて作製した試料および動物薬を添加して作製した試料について均質性の評価を行った。

均質性の評価は、The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical

Chemistry Laboratories に示されている Recommendation8 に従った。試料数10、繰り返し分析数2であれば、試料間の分散を s_{sam}^2 、 $\sigma_{all} = 0.3 \times \sigma_p$ とするとき、

$$s_{sam}^2 < 1.88 \times \sigma_{all}^2 + 1.01 \times s_{an}^2$$

であれば試料間は均質であるという条件を満たしていたので、試料は均質であると判断された。これにより、実際に動物薬を投与した畜肉を用いた技能試験用試料42試料、動物薬を添加した技能試験用試料35試料を得ることができた。

II. 開発試料の安定性確認

B. 研究方法

技能試験に供する試料に求められる要件は、均質性に加えて長期の安定性、望ましくは常温での保管・管理が可能な事である。本研究では一年目に二枚貝中の下痢性貝毒、豚肉中の動物薬を測定対象とした2種の試料について、技能試験に供するに十分な均質性が確保された試料の開発を行った。本年度は、一年目に作製した下痢性貝毒の技能試験試料、動物薬の検討試料について1年後の安定性を確認した。

下痢性貝毒の保存安定性試験

常温化におけるオカダ酸の安定性を確認するために、17 ~ 28 の温度条件で12ヶ月、17ヶ月保存した試料の安定性を確認した。

試料中のオカダ酸の測定

12ヶ月、17ヶ月それぞれの保存期間で2缶ずつオカダ酸濃度を測定した。オカダ酸測定法を以下に示す。

装置：LC-MS/MS Waters 社製 Xevo TQ(R-006-03)

カラム：ODS

測定質量数：803.5 255.0

測定溶液作製：試料2gから90%メタノールでオカダ酸を抽出し、2.5M水酸化ナトリウムを加え76℃で加水分解した。加水分解後の溶液をODSカートリッジカラムにより精製し、LC-MS/MSにより定量した。

分析は一般社団法人青森県薬剤師会衛生検査センターで実施した。

動物薬を投与した検討試料の保存安定性試験

動物薬技能試験用に検討した試料は基材が未加熱の肉であることから保存温度は-20℃、保存期間は11ヶ月とした。安定性に使用した試料はセフトオフル、エンロフロキサシン投与後6時間で屠殺し、得られた肉を3分間粉碎した区を用いた。

試料中のセフトオフル、エンロフロキサシンの測定

11ヶ月間-20℃で保存した試料のセフトオフル、エンロフロキサシン濃度を測定した。

装置：LC-MS/MS Waters 社製 Xevo TQ(R-006-03)

カラム：ODS

測定質量数：803.5 255.0

測定溶液作製：試料2gから90%メタノールでオカダ酸を抽出し、2.5M水酸化ナトリウムを加え76℃で加水分解した。加水分解後の溶液をODSカートリッジカラムにより精製し、LC-MS/MSにより定量した。

分析は均質性評価を実施した公益社団法人日本食品衛生協会で行った。

C. D. 結果と考察

下痢性貝毒の保存安定性試験

一年目に作製した試料から、製造後12ヶ月目と17ヶ月目にランダムに2缶を抜き取り、それぞれの内容物を均質化し、2試験試料を採取し、オカダ酸濃度を測定した。表1に示すとおり、12ヶ月目は0.139 mg/kg、0.140 mg/kg、17ヶ月目は0.147 mg/kg、0.144 mg/kgであった。均質性評価時の10試料の2併行試験の総平均0.146 mg/kg ± 0.0049 mg/kgから95%の信頼区間を計算すると0.136 mg/kg ~ 0.156 mg/kgであり、安定性の分析値は95%の信頼区間に納まっていた。このことから、下痢性貝毒の技能試験試料は常温で1年間は安定である事が確認された。

動物薬を投与した検討試料の保存安定性試験

-20 で保管をしていた均質性評価時の10個の残試料中のセフトフル、エンロフロキサシン濃度を測定した。それぞれから、2試験試料を採取し測定した結果を表2に示す。11ヶ月保存後の試料中のセフトフルの総平均は0.151 mg/kg、標準偏差は0.012 mg/kg、エンロフロキサシンの総平均は1.956 mg/kg、標準偏差は0.080 mg/kgであった。均質性評価時の10試料の2併行試験のセフトフルの総平均は0.163 mg/kg、標準偏差は0.011 mg/kg、エンロフロキサシンの総平均は2.451 mg/kg、標準偏差は0.158 mg/kgであった。11ヶ月の冷凍保存により、セフトフルは約7.4%減少、エンロフロキサシンは約20.2%減少し、安定性は確認されなかった。今後は、動物薬の種類による安定性の違い、どの期間まで動物薬が安定であるのかを検証していく必要がある。

III. 食品を基材とした一般生菌数技能試験のための試料開発

B. 研究方法

日本国内の微生物検査においては、大腸菌群やE.coliの試験が衛生指標菌として一般的に用いられているが、問題点として、腸管出血性大腸菌やサルモネラ等の主要な病原菌を検出対象とされていない点が挙げられている。一方、国際的には、より広範囲に病原菌

を検出対象とする Enterobacteriaceae (腸内細菌科菌群)が衛生指標菌として用いられてきている。また、食品衛生法で公定法として示されているこれらの試験法は、最終製品の規格基準への適合性の判定を意図した定性法であるのに対し、ISO法では、フードチェーン全般の HACCP による工程管理の妥当性確認及び検証、並びにモニタリングのためにデータを供給することを前提とするため、衛生指標菌の試験法は基本的に定量法である。

上記より、海外との整合性を視野に入れた工程管理のための微生物試験の必要性が高まることが考えられる。そこで腸内細菌科菌群定量のための技能試験試料の開発を検討する。本年度は、腸内細菌科菌群定量試験用試料の開発を行うにあたっての予備検討として、一般生菌数を対象とした定量試験試料の作製と輸送条件の検討を行う。

基材の選択

微生物の定量試験用試料は、アナライトの性質から過度な冷凍条件では微生物が冷凍損傷を受け、時間の経過とともに定量値が低くなる。一方で、十分な低温状態が保てていないと、低温で増殖可能な微生物が増え、時間の経過とともに定量値が高くなる。このように長期の安定性を確保できない事が試料開発の妨げの要因となっていた。

そこで、試料作製に用いる基材として、生菌の保護作用が期待される添加物入りのすり身と無添加のすり身で基材の検討を行った。添加物入りのすり身は、株式会社柳都入船製の魚肉ねり製品（魚肉生すり身）を用いた。原材料は、ぐち、いとより、卵白、でん粉、砂糖、食塩、みりん、酒精、調味料（アミノ酸等）、リン酸塩（Na）であった。無添加のすり身は、橘水産業株式会社製の魚肉すり身（ハンバーグ用）を用いた。原材料は、アジ、キンメダイ、ホッケ、小麦粉であった。

安定性評価

添加物を配合した試料、無添加の試料ともに1 kgをサイレントカッターで均質化し、滅菌済ポリ袋（Fisher Scientific社製、Sterile Sampling Bags 3' ' × 7' '、Cat. No. 14955183）に約100gずつ小分けした。小分けしたものをナイロンポリ袋（旭化成製、コーパック、品番 ST1525）に入れ、真空包装し、冷凍保管した。

添加物を配合した試料、無添加の試料についてそれぞれ、1週間ごとに3週間まで一般生菌数の測定を行い、異なる基材での安定性を確認した。

輸送条件の検討

微生物の定量試験はアナライトの性質上、試験試料輸送時や保管時の温度による影響を受けやすい。従って理想

的には、輸送時、保管時とも冷凍状態を維持することが望ましいが、あらかじめ一定数以上の生菌がいるものは輸送時に多くの制約を受け、冷凍での配送が困難な場合がある。そこで、試料の漏えいがなく、常温便で配送しても試験試料の品質を劣化させない輸送方法を検討した。

一般生菌数定量試験の予備試験

複数の機関が参加する技能試験パイロットスタディに先立ち、輸送条件、分析方法を管理することが可能な参加者を募り、一般生菌数定量技能試験の予備検討を行った。参加者は試料作製を委託している研究協力機関の日本ハム株式会社の品質保証担当部署から募った。

予備検討試料の作製と同様に、添加物を配合したすり身4 kgをサイレントカッターを用いて均質化处理し、滅菌済ポリ袋（Fisher Scientific社製、Sterile Sampling Bags 3' ' × 7' '、Cat. No. 14955183）に約100gずつ小分けした。小分けしたものをナイロンポリ袋（旭化成製、コーパック、品番 ST1525）に入れ、真空包装し、冷凍保管したものを予備試験用試料とした。

C. D. 結果と考察

基材の選択

添加物を配合した試料、無添加の試

料について試料調整時から 3 週間目までの一般生菌数を図 1 に示す。添加物を配合したすり身では、試料調製直後が 2.4×10^6 cfu、1 週間後が 2.5×10^6 cfu、2 週間後が 2.4×10^6 cfu、3 週間後が 2.3×10^6 cfu と安定であった。これに対し、添加物を配合していないすり身を用いた試料では、試料調製直後が 7.5×10^5 cfu、1 週間後が 7.1×10^5 cfu、2 週間後が 4.0×10^5 cfu、3 週間後が 4.6×10^5 cfu と保存期間が長くなるにつれて生菌数が減少する傾向が確認された。詳細なメカニズムの解明には至っていないが、添加物を配合した試料では食塩を添加したことによる塩溶性たんぱくのクッション作用、リン酸塩を添加したことによる保水作用により遊離水分が少なくなり、生菌に対する冷凍損傷を抑える効果があると示唆された。

以上より、一般生菌数定量試験用試料の作製には添加物を配合したすり身を基材に用いる事とした。

輸送条件の検討

試料の漏えいがなく、常温で配送しても試験結果に影響しない輸送方法として、発砲スチロール加工を施した鍵付きのアルミケースを作製し、これにドライアイスを含めて試料を参加者へ送付する方法を採用した。試料の発送元は茨城県で、同一県内の参加者（参加者番号 14）と宮崎県の参加者（参加者番号 18）へ送付した試料にデータロ

ガーを同梱し、輸送時の温度モニタリングを行った。温度モニタリングの結果を図 2 に示す。試料を受け取った時を図 2 中に○印で示した。受取時の温度は茨城県、宮崎県に送付した試料とも 0 を若干超えていたが、参加者 14 の報告値が 2.5×10^5 、参加者 18 の報告値が 5.7×10^5 、均質性評価時の総平均が 3.9×10^5 、試料の輸送を伴わない試料調製場所からの参加者（参加者番号 26）が 5.9×10^5 であったことから、今回に限っては輸送時の温度は試験結果に影響しなかったと考えられた。しかし、生菌数が 10^5 オーダーと大きかったことから温度の要因が測定結果に及ぼす影響が小さかったことも考えられるので、更なる輸送条件の改良が必要である。

一般生菌数定量試験の予備検討

試料調製の委託先である日本ハム株式会社の品質保証担当部署に予備試験の参加を募ったところ、グループ会社も含めて 4 社 8 部署 26 名の参加者が得られた。参加者の都道府県は、青森県 2 名、茨城県 5 名、神奈川県 7 名、三重県 2 名、兵庫県 3 名、宮崎県 7 名であった。

試料の配送温度を常温で実施したことから、予備試験実施時期は外気温が比較的低い 3 月 6 日に実施した。

試料の均質性評価

添加物を配合したすり身 4 kg から 48

個の試験試料を得た。Microsoft Excelで発生させた乱数表に従って10個の試料を選択し、試料中の一般生菌数を測定した。

試料を良く混合し、25 g をフィルター付きストマッカー袋に無菌的に採取し、225 mL のリン酸緩衝液に希釈した。1 分間ストマッキングし、このストマッキング液を 10 倍系列で段階希釈した。希釈済み試験液 1 mL を標準寒天培地に混釈し、倒置状態で 35 ℃, 48 時間培養し、培地上に形成されたコロニー数を計測した。培地上に形成したコロニー数が 30-300 の希釈段階のものを試料中の一般生菌数として採用した。均質性の評価結果は表 3-1 に示す。10 試料の 2 試験から得られた一般生菌数を常用対数に変換した数値に一元配置分散分析をし、同一袋の 2 分割間、試料間の標準偏差と相対標準偏差を算出した(表 3-2)。2 分割間の相対標準偏差は 0.56%、試料間の相対標準偏差は 1.00%であった。以上から、本試料は一般生菌数定量試験の予備検討試料に使用できる均質性を有していると判断した。

一般生菌数定量の予備試験結果

参加者数 26 人

試料発送日 2019 年 3 月 6 日

結果報告締切 2019 年 3 月 30 日

結果報告数 26

参加機関から報告された一般生菌数

とその常用対数変換値および z スコアを表 4 に示した。z スコアの算出には微生物試験において一般的な室間再現性と言われている 0.25 を標準偏差として用いた。参加機関から報告された一般生菌数の常用対数変換値を図 3 にヒストグラムとして示した。参加機関から報告された報告値は良好な正規分布を示していた。また、参加機関の z スコアは以下の通りであった

$|z| \leq 2$: 25 人 (96.2%)

$2 < |z| < 3$: 1 人 (3.8%)

$|z| \geq 3$: 0 人

報告値が概ね正規分布を示す場合、 $|z| \leq 2$ となる確率は 95.5%、 $2 < |z| < 3$ となる確率は 4.28%、 $|z| \geq 3$ となる確率は 0.26% である。今回はパイロットスタディを行うにあたっての予備的な検討という事で 26 名という少数の参加者で試験を実施した。参加者数が少ないものの参加者の報告値が正規分布を示したこと、統計学的に期待される z スコアであったことから、今回の予備的な検討をスケールアップすれば、一般生菌数の技能試験パイロットスタディを問題なく実施できる事が期待される結果となった。

E. 研究発表

1. 論文発表

特になし

2. 学会発表

AOAC International Japansection 第
21 回年次大会

2018 年 7 月 26 日

動物用医薬品試験に用いる精度管理試
料の開発

荒川 史博，松田 りえ子，井部 明広，
渡辺 卓穂

表 1 ホタテガイ試料中のオカダ酸の保存安定性

	試料番号	オカダ酸濃度 (mg/kg)	
		1	2
均質性評価時	1709-05	0.149	0.141
	1709-14	0.143	0.142
	1709-19	0.142	0.144
	1709-20	0.146	0.138
	1709-21	0.137	0.138
	1709-24	0.148	0.153
	1709-28	0.148	0.150
	1709-31	0.149	0.149
	1709-37	0.155	0.153
	1709-44	0.150	0.146
作製1ヶ月後	1709-10	0.145	0.149
	1709-36	0.149	0.145
作製3ヶ月後	1709-46	0.146	0.157
	1709-49	0.156	0.156
作製12ヶ月後	1709-43	0.133	0.145
	1709-47	0.140	0.139
作製17ヶ月後	1709-45	0.147	0.146
	1709-50	0.144	0.144

表 2 豚肉試料中のセフトオフル、エンロフロキサシンの保存安定性

化合物名	試料番号	保管期間 試行	単位: mg/kg			
			作製時		11ヶ月後	
			1	2	1	2
セフトオフル (デスフロイルセフトオフルとして)	1		0.167	0.163	0.166	0.148
	2		0.176	0.155	0.146	0.163
	3		0.169	0.173	0.164	0.157
	4		0.170	0.176	0.150	0.155
	5		0.163	0.155	0.158	0.122
	6		0.177	0.164	0.167	0.158
	7		0.136	0.161	0.146	0.144
	8		0.154	0.158	0.139	0.144
	9		0.153	0.147	0.132	0.142
	10		0.174	0.171	0.160	0.159
	総平均			0.163		0.151
	標準偏差			0.011		0.012
化合物名	試料番号	保管期間 試行	単位: mg/kg			
			作製時		11ヶ月後	
			1	2	1	2
エンロフロキサシン (エンロフロキサシン及び シプロフロキサシンの和)	1		2.762	2.459	1.846	1.939
	2		2.525	2.570	1.855	2.099
	3		2.767	2.517	1.960	1.967
	4		2.435	2.400	1.984	1.924
	5		2.411	2.284	1.880	1.846
	6		2.485	2.304	2.031	1.889
	7		2.723	2.468	2.046	1.894
	8		2.309	2.306	1.901	1.945
	9		2.281	2.429	1.957	2.034
	10		2.267	2.309	2.117	2.002
	総平均			2.451		1.956
	標準偏差			0.158		0.080

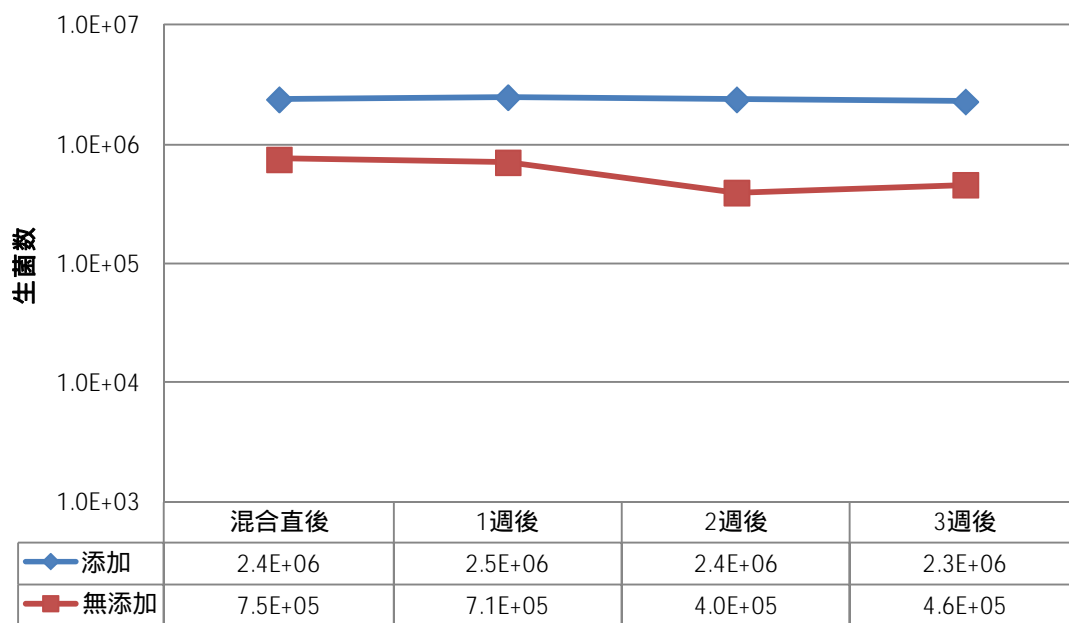


図 1 微生物定量試験のための基材選定

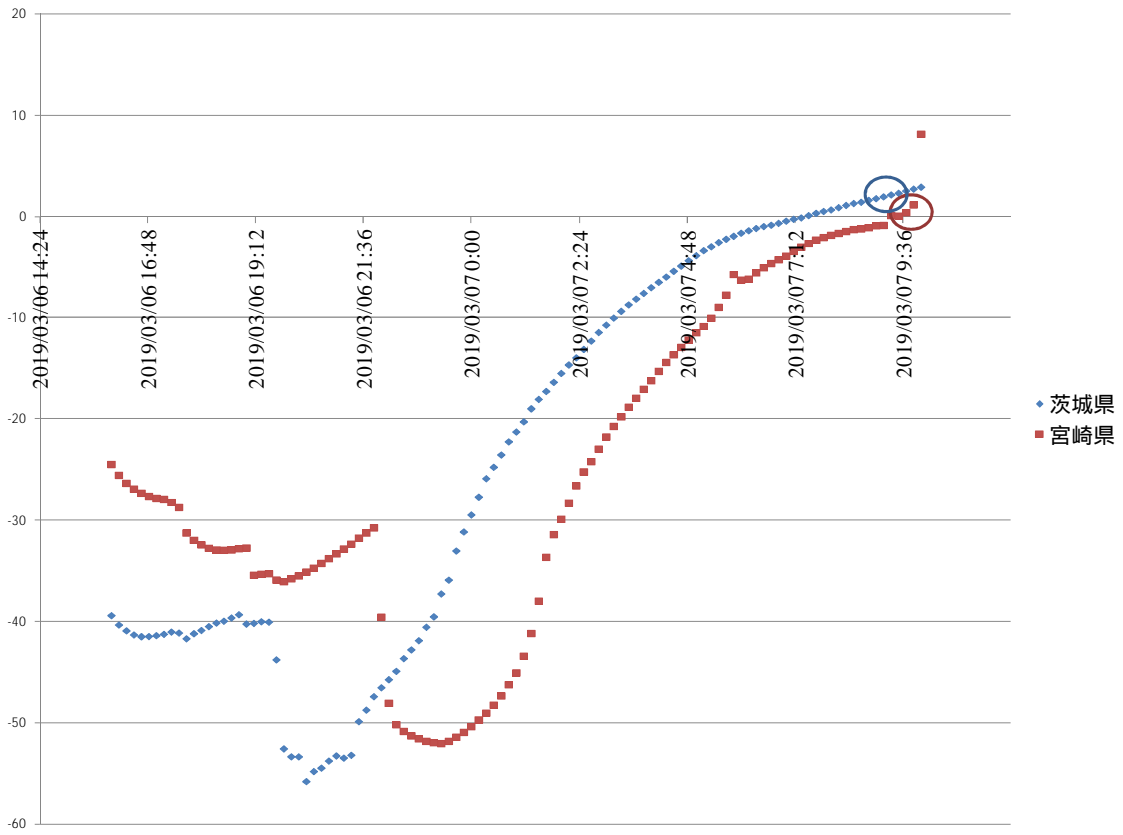


図 2 微生物試料輸送時の温度モニタリング

表 3-1 一般生菌数定量試験の予備検討試料の均質性評価(コロニー数)

試料番号	測定1	測定2
4	335000	329000
6	425000	435000
8	440000	430000
21	385000	365000
25	385000	340000
28	340000	330000
29	385000	335000
35	390000	500000
43	320000	315000
47	480000	455000
総平均		385950
	SD	RSD(CV)
2分割間	30009	7.78
試料間	49403	12.80

表 3-2 一般生菌数定量試験の予備検討試料の均質性評価(常用対数)

試料番号	測定1	測定2
	5.53	5.52
	5.63	5.64
	5.64	5.63
	5.59	5.56
	5.59	5.53
	5.53	5.52
	5.59	5.53
	5.59	5.70
	5.51	5.50
	5.68	5.66
総平均		5.58
	SD	RSD(CV)
2分割間	0.0314	0.56
試料間	0.0555	1.00

表4 一般生菌数定量試験の予備検討 参加者から報告された測定値とzスコア

試験者番号	CFU/g	常用対数	zスコア
1	4.2E+5	5.62	0.47
2	3.9E+5	5.59	0.34
3	3.6E+5	5.56	0.20
4	4.2E+5	5.62	0.47
5	3.1E+5	5.49	-0.06
6	3.2E+5	5.51	-0.01
7	3.8E+5	5.58	0.29
8	5.5E+5	5.74	0.93
9	4.5E+5	5.65	0.59
10	9.0E+4	4.95	-2.21
11	2.5E+5	5.40	-0.44
12	2.4E+5	5.38	-0.51
13	1.8E+5	5.26	-1.01
*14	2.5E+5	5.40	-0.44
15	2.5E+5	5.40	-0.44
16	2.8E+5	5.45	-0.24
17	8.2E+5	5.91	1.63
*18	5.7E+5	5.76	1.00
19	1.8E+5	5.26	-1.01
20	1.8E+5	5.26	-1.01
21	3.2E+5	5.51	-0.01
22	3.2E+5	5.51	-0.01
23	6.5E+5	5.81	1.22
24	3.2E+5	5.51	-0.01
25	2.0E+5	5.30	-0.82
26	5.9E+5	5.77	1.06

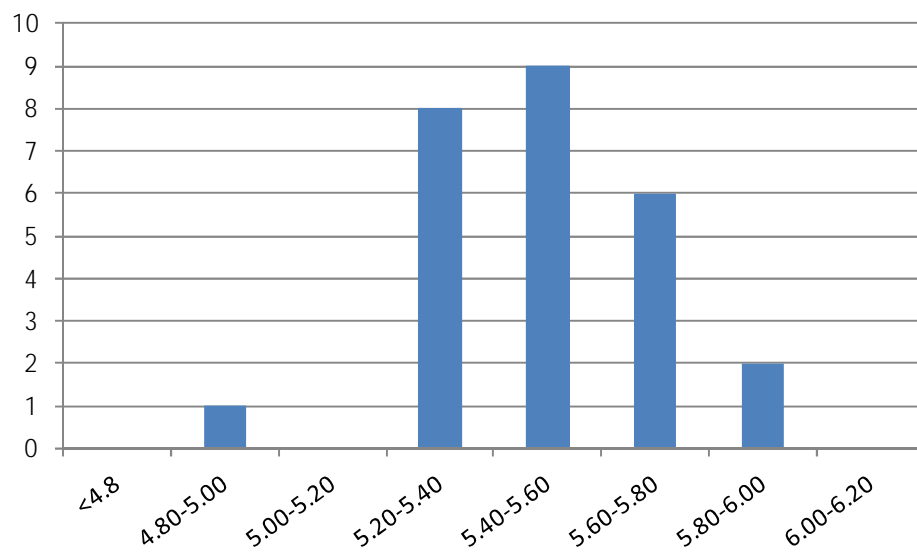


図3 参加機関から報告された一般生菌数の常用対数のヒストグラム

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
なし							

誌上発表

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻号	ページ	出版年
Yarita T., Otake T., Aoyagi Y., Takasaka N., Suzuki T., <u>Watanabe T</u>	Comparison of assigned values from participants' results, spiked concentrations of test samples, and isotope dilution mass spectrometric results in proficiency testing for pesticide residue analysis	<i>Journal of AOAC int.</i>	101(4)	1199-1204	2018
Yoshimitsu M, Akutsu K, Kitagawa Y, Takatori S, Fukui N, Osakada M, Yamaguchi S, Namikawa M, Ban S, Okubo Y, Nakashima R, Maruyama R, Kakutani N, Miyamoto I, Yamashita K, Nishiyama T, Shinto M, Yamamoto N, Takai Y, Hinoshita K, Kajimura K, Obana H, <u>Watanabe T</u>	Enhancement of pesticide peak response in GC-MS in the presence of multiple co-existing reference pesticides	Food Hyg. Saf. Sci.	59(3)	146-150	2018
Yamazaki T, Miyake S, Sato N, Hirakawa Y, Iwasa S, Narita H, <u>Watanabe T</u>	Development of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Analysis of Total Aflatoxins Based on Monoclonal Antibody Reactive with Aflatoxins B1, B2, G1 and G2	Food Hyg. Saf. Sci.	59(5)	200-205	2018

学会発表

発表者氏名	タイトル名	発表学会名	出版年
池田真希, 久保田佳子, 八木真美, 平林尚之, 高坂典子, 鈴木達也, <u>渡辺卓穂</u>	玄米試料を用いた残留農薬技能試験プログラムのパイロットスタディ	第 114 回日本食品衛生学会学術講演会 (広島)	2018
若栗忍, 久保田佳子, 佐藤夏岐, 鈴木達也, <u>渡辺卓穂</u>	アレルギー物質 (卵タンパク質) 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 114 回日本食品衛生学会学術講演会 (広島)	2018
松田りえ子, 荒川史博, 納谷隆行, 大城直雅	ホタテガイ中オカダ酸分析技能試験プログラムの開発及び統計学的評価	第 114 回日本食品衛生学会学術講演会 (広島)	2018
山元梨津子, 大坂郁恵, 吉田栄充, 三宅定明, <u>石井里枝</u>	ISO/IEC 17025 を基礎とする新たな業務管理に向けて ~ 地方衛生研究所の食品検査部門へのアンケート調査 ~	平成 30 年度全国衛生化学技術協議会研究会	2018
井上裕子, 只木晋一, 吉田栄充, <u>石井里枝</u>	食品衛生検査における ISO/IEC 17025 に準拠したマネジメントシステム導入の検討	平成 30 年度地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部理化学部会研究会	2019
荒川史博, 松田りえ子, <u>井部明広</u> , <u>渡辺卓穂</u>	動物用医薬品試験に用いる精度管理試料の開発	AOAC International Japan section 第 21 回年次大会	2018

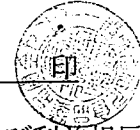
平成31年 3月 15日

厚生労働大臣 殿

機関名 一般財団法人食品薬品安全センター 秦野研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 金澤 由基子



次の職員の平成30年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業
2. 研究課題名 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
3. 研究者名 (所属部局・職名) 公益事業部 ・ 部長
(氏名・フリガナ) 渡辺 卓穂 (ワタナベ タカホ)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

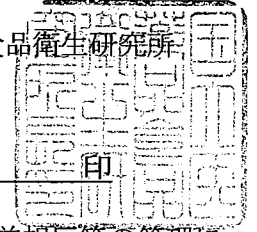
31年3月29日

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 奥田晴宏



次の職員の平成 年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業
- 研究課題名 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
- 研究者名 (所属部局・職名) 安全情報部 ・ 第一室長
(氏名・フリガナ) 渡邊 敬浩 ・ ワタナベ タカヒロ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する口にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

平成31年 3月 8日

厚生労働大臣 殿

機関名 埼玉県衛生研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 中島 守



次の職員の平成30年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業
- 2. 研究課題名 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
- 3. 研究者名 (所属部局・職名) 副所長兼食品微生物検査室長
(氏名・フリガナ) 石井 里枝・イシイ リエ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する口にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

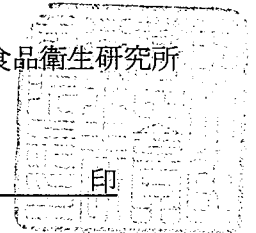
31年3月29日

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 奥田晴宏



次の職員の平成 年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業
- 2. 研究課題名 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
- 3. 研究者名 (所属部局・職名) 安全情報部 ・ 客員研究員
(氏名・フリガナ) 松田 りえ子 ・ マツダ リエコ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・ 該当する□にチェックを入れること。
・ 分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

平成31年 3月 26日

厚生労働大臣 殿

機関名 実践女子大学

所属研究機関長 職名 学長

氏名 城島 栄一



次の職員の平成30年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業
- 2. 研究課題名 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
- 3. 研究者名 (所属部局・職名) 生活科学部 教授
(氏名・フリガナ) 井部 明広 ・ イベ アキヒロ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入(※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査(※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針(※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他(特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (無の場合はその理由:平成30年度内に整備・策定予定である)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:食品薬品安全センターに委託)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。