

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】

令和元年度  
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2年(2020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	17
渡邊 敬浩	
2. 地方自治体試験所への ISO/IEC 17025 に準拠した業務管理導入に関する研究	46
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 重金属技能試験プログラムのパイロットスタディ	56
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	83
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	128
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	144
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	163
井部 明広	
・ 研究成果の刊行に関する一覧表	180

令和元年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

食品衛生検査を実施する試験所における品質保証システムに関する研究

### 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た。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)

食品と飼料を対象とする微生物試験の一般必要事項を示した国際規格 (ISO 7218; [Microbiology of food and animal feeding stuffs - General requirements and guidance for microbiological examinations])に含まれる内容を、微生物分析分野における内部品質管理の考え方の基礎とした。

微生物分析分野における内部品質管理への取組を決める上で必要な方法論等の基礎とすべき文書は見つからなかった。そこで専門家の協力を得て、少なくとも科学的な誤りが無く、実行可能性が担保された内部品質管理に関する考え方や方法(若しくは方法論)を示すことを目的として検討した。検討結果に基づき、内部品質管理ガイドラインを更新した。内部品質管理ガイドラインに新たに含まれることとなった、微生物分析分野における取組内容の一部は、食品衛生検査指針・微生物編(2018 年) 5 章「精度管理」(pp49-59)と整合している。

微生物分析分野における内部品質管理の開発による更新の他、内部品質管理ガイドライン全体をレビューした。その際には、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)を用いて改めて調べた。また、新たに追加した「モニタリング」の用語の定義では、ISO 9001:2015 による定義を参考にした。

## 2 地方自治体試験所への ISO/IEC 17025 に準拠した業務管理導入に関する研究 (石井研究分担)

### 2.1 ISO/IEC 17025に準拠した業務管理導入に対する課題等の抽出

「食品衛生検査施設における検査等の業務管理要領」(平成9年1月16日衛食第8号) ISO/IEC 17025:2017及びガイドライン案を比較検討し、地方自治体の食品衛生検査施設においてガイドライン案に沿って業務管理を実施する際の課題やその解決策等を検討した。

### 2.2 信頼性確保部門責任者及び内部監査員等の養成講習会の実施方法及び実施内容についての検討

令和2年2月6日、一般社団法人RMA所属の森曜子氏を講師として招聘し、模擬内部監査員養成研修会を実施した。そして、効果的な研修会の実施方法及び内容についての検討を行った。

### 2.3 技能試験への参加

令和元年10月8日～11月25日に(一財)食品薬品安全センターで安定性及び均一性の改善を目的に開発されたカドミウムを含む玄米(粉末)試料について研究協力機関8機関及び地方自治体検査機関11機関の合計19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:

新たな作製方法としてスプレードライヤを用い、玄米(粉末)を試料基材として、重金属技能試験用カドミウム添加玄米の作製を試みた。更にこれを用い、本研究の研究分担協力機関である公的検査機関21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当該試料を用いたカドミウム濃度測定の間共同試験を行った。併せて、水分含量の測定を依頼した。参加機関から得られた結果について、統計解析を行い、技能試験を行うための調査試料としての妥当性を検討した。

### 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:

小麦タンパク質を10 µg/g 添加した試料(基材としてベビーフードおよび10%精製水含有こしあん)を用い、定量試験法であるELISA法について外部精度管理調査研究を実施した。参加機関は、原則として消費者庁から提示されている3キット(モリナガキット、日本ハムキット、プリマハムキット)中任意の2種類で測定を行うこととした。参加機関から得た測定結果は測

定キットごと、および試料ごとにまとめ、ロバスト方式により統計値を算出した後、z-スコアを算出した。また、測定結果から得られた含有量を指標とした  $\bar{X}$ -R 管理図を用いた解析も行った。

### 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. 試料基材および試薬

試料基材として市販の米粉(日本製粉)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)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。玄米粉の分解には、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。

#### 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

波長：Cd；228.8 nm

点灯モード：BGC-D<sub>2</sub>法

スリット幅：2.0 nm

#### 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、電気加熱方式は 5 ~ 40 ng/mL で調製した。

#### 4. 試料溶液の調製

カドミウム 0.5 mg/kg 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。

#### 5. 試料の作製

試料基材には自家製玄米粉(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 30 kg を 0.125 mg/L カドミウム 120 L に懸濁させた(玄米粉の理論作製濃度：0.5 mg/kg)。これをスプレードライヤに供した。

#### 6. スプレードライヤによる玄米粉試料作製条件

スケールアップに用いたスプレードライヤは大川原化工機株式会社製 ODA-30 を用いた。玄米粉懸濁溶液は 100 L ポット(内径 47 cm、高さ 60 cm)に精製水 54 kg(18 kg × 3)を入れ、カドミウム標準溶液 500 mL を攪拌しながら加えた。その後、玄米粉を 15 kg 加え、10 分間羽攪拌を実施した。その後、作製した玄米粉懸濁液を 30 分間ホモミキサーで分散させた(回転数：約 5000 rpm)。分散後、200 L ポットに移した。この操作をもう一度実施し、作製した液を 200 L ポットに入れ、一つの液とした。洗いこみ用精製水を 12 kg 測り、それを米粉の分散に

使用した 100 L ポットに入れ、洗いこみを行った後、200 L ポットに加えた。作製した玄米粉懸濁液を一晩羽攪拌した。この懸濁溶液を攪拌しながらペリスタポンプでアトマイザに 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-125 型を使用した。回転数は 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。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、その玄米粉中のカドミウムの均質性を確認した。また、作製した玄米粉は顕微鏡下で粒子の観察を行った。

#### 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）

##### 4.1 ヒスタミン技能試験パイロットスタディ

2 種類の試料を作製した。試料 1 は市販さば味噌煮缶、試料 2 は市販さば水煮缶にヒスタミン二塩酸塩を添加した。

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、性能確認した分析法によりヒスタミン濃度を測定した。

国内の試験所から参加者を募集し、魚加工品中ヒスタミン分析技能試験のパイロットスタディを実施した。参加試験所には試料 1 と 2 を宅配便により送付した。分析回数は 1 回とした。

均質とみなされる試料を、一試験所において LC-MS 法、LC-蛍光法、キット法の 3 分

析法で分析し、結果を比較した。

##### 4.2 一般生菌数技能試験パイロットスタディ

市販の魚肉すり身を均質化して試料とした。

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、一般生菌数を測定した。

国内の試験所から参加者を募集し、一般生菌数分析技能試験のパイロットスタディを実施した。鍵のかかる容器に試料とドライアイスを入れ、参加試験所には宅配便(冷凍)により送付した。試料温度の変化を記録するためのロガーも同梱した。分析回数は 1 回とし、使用した分析法の概略も報告することとした。

#### 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）

##### 5.1 さばを基材としたヒスタミン技能試験のための試料開発

常温で長期間保存することを目的とした殺菌を施すために、ヒスタミンの熱安定性試験を行った。

市場に流通する缶詰めには味付けがされていることが多く、このような試料においてもマトリクスの影響を受けずに正確にヒスタミンを測定することができるか確認するために、さばの水煮とさばのみそ煮の 2 つの試料を作製した。両試料ともヒスタミンの濃度は 100 µg/g とした。

技能試験に用いた残りの試料からそれぞ

れランダムに 10 缶を抜き取り、安定性の評価を行った。安定性評価の実施時期は試料調整から 2 ヶ月後の技能試験パイロットスタディ終了時に行った。

## 5.2 魚肉すり身を基材とした一般生菌数技能試験のための試料開発

昨年度の予備検討において良好な結果を得た添加物入りの魚すり身(柳都入船 製)を用いて 130 機関を対象とした技能試験パイロットスタディ試料の作製を行った。用いたすり身の原材料は、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。さらに、「感染症発生動向調査事業等においてゆうパックで検体を送付する際の留意事項」(平成 24 年 3 月 15 日付 健感発第 0315 第 1 号)に従って試料の輸送方法を検討した。輸送時の温度上昇により技能試験試料に問題が生じないかモニタリングするために、発送時から 10 分間隔で温度をモニタリングし全ての機関が試料を受領するまでの期間の温度をモニタリングした。

安定性試験は技能試験開始時の 1 月 22 日と試験終了時の 2 月 3 日に行った。

### C.D. 研究結果および考察

#### 1 渡邊研究分担

本研究により開発された内部品質管理ガイドラインを別添として示す。本項ではまず、本ガイドラインの開発時に行ったいくつかの考察を示す。次いで、別添に示したガイドラインの最終化の段階で協力研究

者から寄せられた意見のうち、本ガイドラインへの理解を深め、取組内容を自ら考える機会となる意見とそれらへの個人的な意見を述べる。

#### 1)内部品質管理の前提

内部品質管理は、分析結果の品質を保証するための一連の取組のうちの1つである。統計的管理状態の確立が内部品質管理実施の前提となる。ある試験所がある分析結果を得るために運用する分析システムについて、統計的管理状態の確立を試みる場合、その分析システムを構成する種々の要素が異なる程度で寄与する。種々の要素のうち、特に寄与率が大きい要素は分析法の性能であろう。食品分析分野でも、化学物質を対象とし機器分析を行う分野(理化学分析分野)では、分析法の性能を評価し妥当性を確認することが日常となっている。この分析法の性能評価と妥当性確認を通じて、統計的管理状態の確立に重要な情報が取得される。一方、現在の微生物分析分野においては、分析法の性能が統計的管理状態の確立に資する内容で明らかにされることは少ないと聞いている。微生物分析の場合には、分析法の純粋な性能の観点からだけでなく、分析の目的の観点(例えば ALOP; Appropriate Level of Protection等を指標として)からも取得すべき情報があるのではないだろうか。分野において蓄積され踏襲されてきた取組方や考え方、その結果として成立した慣習等があることも理解されるため、単純な考察から軽率な意



見を提出する意図はない。しかし、内部品質管理において使用する試料への添加濃度を定める上で不可欠な検出下限への取り決めや推定方法の指示がないと言った意見も聞かれる。また「陰性」との判断に対する科学的な説明がない場合もあると聞く。一方、食品衛生検査指針・微生物編(2018年)には微生物分析法の妥当性確認(バリデーション)と性能検証(ベリフィケーション)の解説がされており、国立医薬品食品衛生研究所が中心となり標準試験法(NIHSJ法)の整備が進められていることが紹介されている。この後、これら分析法の標準化や妥当性確認への取組が進められるのに伴い、内部品質管理の適正な実施についてもより適切に検討することができるようになるものと期待する。

## 2)内部品質管理の観点から分析活動を整理する重要性

微生物分析分野に限ることではないが、内部品質管理の狙いは主に2つある。1つは分析システムの統計的管理状態が維持されていることをモニターし、そこからの逸脱を発見(予測)し、必要に応じて改善等の措置をとり、品質の保証された分析結果を生産し続けられるようにすることである。もう1つは、一時に生産される分析結果が妥当であることを、併行分析する管理用試料の分析結果から確認することである。妥当であることが確認された後でなければ、分析結果を分析依頼者(顧客)に提供することはできない。理化学分析の場合、一時に

生産される分析結果とは、1つのランによって生産される分析結果である。一般的な説明とするならば、管理用試料の分析によって、統計的管理状態からの逸脱がないことを検証・保証することが可能な範囲(時間や要員、機器等の変化の範囲)で生産される分析結果ということができるだろう。この範囲を明確にすることができなければ、効果的な内部品質管理への十分な取組は期待できない。統計的管理状態からの逸脱がないことを検証・保証する範囲をまず明確にし、次にその範囲で一時に生産される分析結果の数に応じた精緻さでモニターするための内部品質管理分析の実施頻度を検討することになる。範囲が常に一定ではないという意見が聞こえてきそうだが、内部品質管理の観点からは、品質を適正に保証できるように、分析結果の生産体制を見直すべきであるとしか言うことができない。

## 3)ガイドライン最終化で挙げられた意見

・その1；

管理用試料についてISO guide 80: 2014を引用して紹介すべきである。

個人の見解；解説文等において紹介する。

・その2；

培養器ごとに分析結果(微生物の増殖の程度)を確認すべきである。

個人の見解；培養器は分析システムの一部である。複数の培養器を用いる場合、それらを1つの分析システムに組み込まれた要素と捉えるのか、複数の分析システムに属

する独立した要素と捉えるのかによって、管理への考え方も変わりうる。内部品質管理用試料の分析結果によって、検査用試料から得られた分析結果の品質を同時に保証するという考え方が、内部品質管理の基本にある。各試験所における分析システムの捉え方並びに上記の考え方を踏まえて検討していただきたい。

・その3；

二重試験の実施について詳細を示すべきである。

個人の見解；二重試験は、ガイドライン本文中に二重分析として説明している。つまり、「同一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」行為である。

・その4；

微生物試験の特性上、ランの構成数によって管理用試料の分析数等を設定するのは適当ではない。培地作成のロットや培養器が異なる場合にそれぞれ管理用試料を分析する方が内部品質管理の意味がある。

個人の見解；2への見解を踏まえて、考察していただきたい。

・その5；

実際の検査用試料からどのような結果が得られるかは分からないため、管理用試料を二重試験することのほうがばらつきの把握には有用である。

個人の見解；実際の検査用試料のマトリクス(食品成分と共存する細菌の種類と量)が、分析結果にどのような影響を与えるか分からないからこそ、それらを二重試験すべき

と考えることもできる。もちろん、管理用試料が検査用試料に同一もしくは類似している場合には、それを二重試験することで、検査用試料から得られる分析結果のばらつきの管理に資する情報が得られる。この前提あるいは条件が満たされずまた、満たされないことをリスクと捉えるのであれば、検査用試料の二重試験を積極的に行うことを考えるべきであろう。

・その6；

規格値の5倍量ではなく、検出限界の5倍量を添加すべきである。

個人の見解；検出限界の値がどの様に推定されるかにもよるが、その値がポアソン分布に従うような低値であった場合、意図した数量で確実に添加することが困難となる。本質的には、各微生物試験において、「陰性」と判定する場合、なにを根拠としているかを明確にする必要があると考える。ある試験において、十分に信頼できる確率で「陰性」あるいは「陽性」を区別するためには、それに必要な分析法の性能を明らかにすることと、併行試験数を増やすといった試験手順の設計が必要である。ただし、一意に決まるものではなく、フィットネスフォーパースを踏まえ専門家によって議論されるべき課題であろうと考える。

・その7；

ランの長さを20を指標として区別することは、微生物試験にはなじまない。

個人の見解；内部品質管理の対象となる最

小単位は1つのランである。1つのランで取得された分析結果が、内部品質管理用試料の分析結果に基づき妥当であると判断された場合に、依頼者に提供される。この基本的な考え方を踏まえて、ランごとに統計的管理状態が確認されることは重要だと考える。ランの長さは試験所の考え方や能力によっても異なるであろうから、ガイドライン案に示された数(20)は、あくまで例と捉えればよい(そもそも、20という数に科学的根拠はない。リスクへの一般的な感覚によるのだろう)。大事なことは、ランの長さに応じて、内部品質管理によるモニターの精緻さについて配慮することである。

・その8；  
分析法の妥当性確認は内部品質管理の前提である。しかし微生物試験に関しては、この妥当性確認のための指標となる性能規準の値等に合意がない。またそのことに関連し、マトリクスにより試験結果が大きく影響を受けると考えられる場合が多々あるが、試験法の変更は多くの場合認められていない。

個人の見解；微生物分析分野の今後にとっても大きな課題であると認識はできるが、内部品質管理のガイドライン中で取り扱うべき内容ではないと考える。分析法に限らず内部品質管理に関しても、たくさんの意見や考え方があるだろうと想像するが、それらが今後、有効にとりまとめられ実用になることを期待し、本ガイドラインにはその出発点となる考え方や具体例を示し

た。

#### 4) 今後への期待

食品衛生検査指針・微生物編(2018年) 5章「精度管理」の著者等も言及しているが、内部品質管理の方法(論)は唯一無二というわけではなく、複数が考えられかつ、それぞれに一長一短があるだろう。よって、単独の方法で試験検査全体を保証することは不可能である。内部品質管理における取組を設計・構築する際には、各方法の特徴(利点・欠点)を十分に理解した上で複数の方法を適切に組み合わせ、できる限り異常を見逃すことのないよう工夫することが重要である。

本研究において開発した内部品質管理ガイドラインに含めた考え方や取組が、十分であるとは考えていない。しかし、科学的に誤りは無く、合理的であり、実行可能性にも配慮されている。本ガイドラインに示された内容を上回る内部品質管理が試験所により実施されることを妨げるものではない。そのことは、「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、自らの試験所の活動により適した内容となるよう検討した上で、内部品質管理に取組むべきである。」という文章により明示されている。そもそも、どの様な内容で内部品質管理を実施すべきかは、その試験所の活動内容と、品質保証への取組方針によって変わる。品質保証への取組方針が“ゆるすぎる”ならば、検査への信頼は得られないであろうし、“きつすぎる”なら

ば、試験活動そのものが立ちゆかなくなるだろう。「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。」ことを十分に理解し、外部専門家等によりもたらされる意見や情報も考慮材料として、フィットネスフォーパースを踏まえて専門家として判断をしつつ、顧客からの信頼につながる合理的で効果的な内部品質管理に取り組んでいただきたい。

## 2 石井研究分担

### 2.1 ISO/IEC 17025 に準拠した業務管理導入に対する課題等の抽出

課題及び解決策等は「食品衛生検査施設における検査等の業務管理要領改正（以下、業務管理要領改正）」及び「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、ガイドライン案）」に対する意見」としてまとめ、令和元年10月15日に厚生労働省医薬・生活衛生局 食品監視安全課長宛て提出した。また、11月11日に地方衛生研究所全国協議会会長とともに食品監視安全課長を訪問し、提出した意見書の内容について説明を行った。

### 2.2 信頼性確保部門責任者及び内部監査員等の養成講習会の実施方法及び実施内容についての検討

令和2年2月6日に一般社団法人RMA所属の森曜子氏を講師に「地方自治体食品衛生検査施設における内部監査」と題して研修を実施した。

この研修の受講を通して、今後、地方自治体の食品衛生検査施設においてどのような養成研修会効果的であるかを検討し、以下の項目についてまとめた。

1)日程、2)場所、3)スケジュール、4)対象者、5)内容、6)講師、7)資格制度、8)運用等に関する意見、9)その他

### 2.3 技能試験への参加

実施結果の詳細については、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）の報告書に記載のとおりである。

## 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：

スプレードライヤにより作製した試料を用い、パイロットスタディを行った。作製した試料の均質性および安定性について、良好な結果が得られた。ブランク試料中カドミウム濃度および作製工程に応じた水分含量を考慮し、調査試料の理論作製濃度を算出した。得られた算出値に対し、各検査機関平均値がよく一致した。さらに回収した検査機関の全データについて、「食品中の金属に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」の評価基準を参考に回収率やばらつきを観察した。理論作製濃度に対する各検査機関平均値の回収率を論じる際は、スプレードライヤによる作製の特性上、基材由来のカドミウム濃度およびカドミウム添加量について作製工程に応じた水分換算が必要となったが、これを算出することにより検査機関平均値は概ね算出した理論作製濃度に一致した。また、機関間で前処理方

法や測定機器等の採用手法の相違があるものの、「食品中の金属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。併せて、国際的ガイドラインの室間共同試験による分析法の妥当性評価において指標となる HorRat (R) を算出した結果、水分換算の有無に関わらず、いずれも 0.5~2 を満たす妥当な結果が得られた。以上のことから、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ことが示唆された。

### 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：

本年度の参加機関は 26 機関であり、うち、モリナガキット使用機関は 26 機関、日本ハムキット使用機関は 24 機関、プリマハムキット使用機関は 2 機関であった。各キットおよび試料ごとに解析を行ったが、プリマハムキットについては参加機関が少なかったことからキットごとの解析を行わなかった。

解析結果においてメジアン・クリーニングにより除外される機関は全体を通して 1 機関であった。また、 $z$ -スコアの絶対値が 2~3 および 3 以上となる機関が数機関認められた。 $\bar{x}$  管理図では管理限界線の範囲を超える機関は 2 機関、 $R$  管理図で管理限界線を超える機関が 1 機関認められた。

また、検量線が全体の集団から外れている場合は、測定値が外れ値を示すことがあり、背景データの検量線から明らかな乖離が認められる場合は結果の解釈に注意が必要であると考えられた。

### 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のスケールアップ

昨年度までに、玄米粉を用い 20 %懸濁液で試料作製できることが分かった。今年度は玄米粉で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 10 kg の作製検討を行い、良好な結果が示された。これまでの検討には、市販の玄米粉を用いていたが、安定供給品でないことから、今後、販売されない可能性もあり、自家製の玄米粉を用い検討することとした。市販の玄米粉（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。図 1 に市販玄米粉と自家製玄米粉の粒子径分布と顕微鏡写真の比較を示す。自家製玄米粉のほうが市販玄米粉に比べ全体的にやや粒子径が大きいものの作製には影響ないと考えられた。そこで、自家製玄米粉を用い実際の作製量である 30 kg で検討を行った。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 30 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 mg/kg）150 L を試料とした。試料懸濁液は、図 3 に示す手順で作製した。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ホモミキサーで十分に攪拌した。今回の検討に用いた玄米粉は、市販の玄米を自家粉碎したものであり、原液処理量は装置の性能から 35 kg/h（実測 32.2 kg/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96 とした(図4)。スプレードライヤで作製した自家製玄米粉は図5に示すように平均粒子径86 μmと市販の玄米粉に比べ平均粒子径は小さくなった。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。また、表2に示すように一元配置分散分析を行ったところ均質性が確認された。仕込み濃度を0.5 mg/kgに設定し、ブランク濃度が0.106 mg/kg(水分換算)であり、水分換算後の仕上がり濃度は0.692 mg/kgとなった。実測値が0.655 mg/kgであり、回収率を計算すると約95%であった。次に、さらに同様の自家製玄米粉を用い、再現性の検討を行った。均質性確認の結果を表3に示す。カドミウムの仕込み濃度は同様の0.5 mg/kgとして水分換算後の仕上がり濃度は理論値の0.677 mg/kgとなった。実測値は表3に示すように0.638 mg/kgとなり、回収率は約94%となり、先に作製した結果とほぼ同等であり、表4に示すように均質性も確認された。図6、7に経時的にサンプリングされた試料の顕微鏡

写真と粒子径分布を示す。Lot1 ~ の順でサンプリングした。サンプリング初期(Lot1)では粒子径の小さいものが認められ、徐々に大きな粒子径のものができることがわかり、最終的には10~20 μm および100~200 μmの粒子径の玄米粉となった。以上の結果より、自家製玄米粉を用い、技能試験用試料の作製にスプレードライヤを用いることが可能であることが確認された。本法を用いることでこれまで、玄米粉を用いた重金属検査用試料作製にはおおよそ3ヶ月を要していたが、本法では1週間程で作製することが可能となった。また、技能試験用としての品質には問題なく、簡便に目的濃度のものを作製することも大きな利点となり、従来の作製法に替わるものであることが示された。ただし、水分量が通常の1/3程の約5%となるため、取り扱いには注意する必要がある。

## 4 松田研究分担

### 4.1 ヒスタミン技能試験パイロットスタディ

作製した試料からランダムに10個を抜き取り、ヒスタミンを2回分析した結果を分散分析し、繰り返し及び試料間の標準偏差を計算し、結果をThe International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories4)に示されているRecommendation 7及び8に従って評価した。両試料は技能試験に適切な均質性を有すると評価した。

99か所の試験所から参加の申し込みがあ

り、95 試験所から結果が報告された。分析方法は、各試験所が日常的に行っている方法とした。報告された試料 1 及び試料 2 のヒスタミン濃度の報告数、平均値、ロバスト平均値、標準偏差、ロバスト標準偏差、推定標準偏差を求めた。ロバスト平均値およびロバスト標準偏差は Algorithm A により計算した。さらにロバスト平均値から Thompson による Horwitz 式の修正式を用いて求めた室間標準偏差を、推定標準偏差とした。

ロバスト平均値とロバスト標準偏差から報告値の z-スコアを計算した。 $|z| \geq 2$  で満足と評価された試験所数は試料 1 では 81、試料 2 では 82、 $2 < |z| < 3$  で疑わしいと評価された試験所数は試料 1 では 4、試料 2 では 5、 $|z| \geq 3$  で不満足と評価された試験所数は、試料 1 では 10、試料 2 では 8 であった。

ヒスタミン分析法として LC-蛍光法を使用した試験所が最も多かった。蛍光誘導体化試薬としてオルトフタルアルデヒドを使用した試験所が 12 か所、ダンシルクロライドを使用した試験所が 16 か所、フルオレスカミンを使用した 18 か所、AccQ-Tag を使用した試験所が 1 か所であった。キット法を使用した試験所数は 2 番目に多く、25 試験所中 22 試験所が、キッコーマンバイオケミファ社製チェックカラーヒスタミンを使用した。その他に、2 試験所が MBL 社製ヒスタマリン EIA キットを、1 試験所が R-Biopharm 社製 RIDA スクリーンヒスタミンを使用した。LC-MS 法を採用した試験所数は 16 で、10 試験所が誘導体化せず測定、ダンシル誘導体化した試験所が 2 か所、Py-Tag (2,4,6-トリエチル-3,5-ジメチルピリリ

ウムトリフルオロメタンスルホン酸塩)誘導体化を行った試験所が 1 か所あった。また、条件の記載が不足しているため誘導体化の有無が不明な試験所が 2 か所あった。

上記の他に、UV 検出器による LC 法を採用した試験所が 5 か所あり、その内の 1 試験所は LC-TOF-MS による確認を実施していた。オルトフタルアルデヒドで誘導体化する蛍光法を採用した試験所は 2 か所あった。

使用した試験所数の多かった LC-蛍光法、LC-MS 法、キット法で得られたヒスタミン濃度報告値のロバスト標準偏差には大きな違いは認められなかった。ロバスト平均を比較すると、LC-蛍光法が他の 2 つの方法よりもやや大きい、有意の差とは認められなかった。

一か所の試験所で、LC-蛍光法(ダンシル)、LC-MS 法、キット法によって得られた結果においても、LC-蛍光法の結果の平均値はキット法と比較して 10%程度大きかった。しかし、試行数が少なく、LC-蛍光法の結果の標準偏差が大きかったため、その差は有意ではなかった。

#### 4.2 一般生菌数技能試験パイロットスタディ

作製した試料からランダムに 10 個を抜き取り、一般生菌数を 2 回分析した結果 (cfu/g)の常用対数を分散分析し、繰り返しの分散と試料間の標準偏差を計算した。

ヒスタミン技能試験パイロットスタディ試料と同じく、The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories<sup>4)</sup> 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。一般生菌数分析結果に

は Horwitz 式が適用できないため、微生物試験の一般的な室間精度とされている 0.25 を  $\sigma_p$  として使用した。試料の一般生菌数の常用対数は 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。

130 か所の試験所から参加の申し込みがあり、全ての試験所から結果が報告された。分析方法は、各試験所が日常的に行っている方法とした。

報告された試料の一般生菌数 (cfu/g) を常用対数に変換した値を報告値とした。報告値の平均値、ロバスト平均値、標準偏差、ロバスト標準偏差を求めた。ロバスト平均値およびロバスト標準偏差は Algorithm A により計算した。報告値の平均値は 3.77、ロバスト平均値は 3.79 であり、ロバスト平均値と平均値はほぼ一致した。報告値の常用対数の標準偏差は 0.39、ロバスト標準偏差は 0.36 であり、ロバスト標準偏差は標準偏差よりやや小さくなった。標準偏差ロバスト標準偏差とともに、微生物試験結果を常用対数化した際の一般的な室間標準偏差と言われている 0.25 を大きく上回った。

報告値、ロバスト平均値、ロバスト標準偏差から  $z$ -スコアを計算した。 $|z| \geq 2$  で満足と評価された試験所数は 123、 $2 < |z| < 3$  で疑わしいと評価された試験所数は 6、 $|z| \geq 3$  で不満足と評価された試験所数は 1 であった。

参加試験所が採用した条件の報告値への影響を検討した。

到着時に試料が半解凍であった結果は少数 (6) であるが、凍結していたと報告された結果との平均値の違いは見られなかった一方、分布の幅が大きかった。同梱したロガ

ーで測定した温度は、全ての試料で試料到着まで 0 以下であった。試料採取量の平均値への大きな影響は見られなかった。ペプトンを加えた希釈水による平均値 (3.82) は、生理食塩水を希釈水としたときの平均値 (3.65) よりやや高く、有意の差があった。一方、希釈水を生理食塩水とした場合と、リン酸緩衝液とした場合の平均値 (3.80) には有意の差はみられなかった。標準寒天培地を使用した結果とフィルム等の培地調整を行わない方法で得られた結果に、平均値の違いは認められなかったが、培地調整を行わなかった結果の方が分布の幅が小さかった。

## 5 井部研究分担

### I. さばを基材としたヒスタミン技能試験のための試料開発

ヒスタミンの加熱による安定性は 50, 100, 150  $\mu\text{g/g}$  の 3 つの濃度帯で確認した。添加したヒスタミン二塩酸塩の量から計算される理論値はそれぞれ、50.79, 100.16, 150.29  $\mu\text{g/g}$  であり、均質化, 製缶, 加熱と一連の処理を行った試料を測定した結果は、それぞれ 48.09, 93.62, 141.20  $\mu\text{g/g}$  であった。以上より、均質化処理と 121 で 15 分間の加熱操作を行った試料のヒスタミン残存率は 94.7, 93.5, 94.0 % であり、濃度による差は確認されなかった。

試料 1 は市販のさばみそ煮缶詰 13.70 kg を基材とし 139 缶、試料 2 は市販のさば水煮缶詰 13.94 kg を基材とし 150 缶の試料を得た。ヒスタミン二塩酸塩の添加量から計算され



る試料 1 のヒスタミン理論値 99.01  $\mu\text{g/g}$ 、試料 2 のヒスタミン理論値 98.50  $\mu\text{g/g}$  に対して、実際の測定値はそれぞれ 93.66, 99.74  $\mu\text{g/g}$  であった。技能試験試料として安定性の評価は技能試験に用いた残試料(試料 1 は 30 缶、試料 2 は 41 缶)からランダムに 10 缶抜き取りそれぞれ 2 回の繰り返し試験を行い均質性試験と同様に行った。試料 1 のヒスタミン濃度は安定性試験時には均質性試験時から平均値が 3  $\mu\text{g/g}$  程度減少し、有意な差が見られたが Horwitz 式から予測される試験所間の標準偏差が 7  $\mu\text{g/g}$  程度、技能試験の室間標準偏差は 10  $\mu\text{g/g}$  程度であることから、技能試験の結果の評価には影響が小さいと考えられた。試料 1 については基材にみそ煮を使用しているため、調味料の影響によりヒスタミンが減少したことも考えられるが、残試料数が少なかったため、さらに長期の安定性試験が実施できず十分な原因追及には至らなかった。

## II. 魚肉すり身を基材とした一般生菌数技能試験のための試料開発

食品衛生法に従い 25 g のサンプリングを 2 回行えるよう、1 容器あたりに 70 g 以上試料を充填した 186 個の一般生菌数技能試験試料を得た。技能試験用の試料は作製時の 12 月 12 日から試験所に送付する 1 月 21 日まで二次容器の状態での -20℃ で保存した。

均質性の評価は作製した試料 186 個からランダムに 10 個抜き取りそれぞれ 2 回の繰り返し試験を行い The International

Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories に従って評価したところ、均質であると評価された。

安定性試験は技能試験開始時の 1 月 22 日と試験終了時の 2 月 3 日に、それぞれランダムに 3 個の試料を抜き取り、2 回の繰り返し試験を行い、微生物試験の一般的な標準偏差と言われている 0.25 を判断基準として採用した。試料調整時から試験開始時、試験終了時の常用対数値はそれぞれ 4.635, 4.438, 4.115 と試験開始時から試験終了時の 2 週間においても常用対数値で 0.323 減少しており、試料は安定ではないと評価された。昨年度実施した予備検討においては約 1 ヶ月間安定であったことから考えると、使用したすり身の自然汚染菌の種類、性質による影響ではないかと考えられる。大規模な技能試験を実施するにあたり安定性が担保された試料を供給するには、意図的に特定の食中毒菌を添加するなどの改善を行う必要がある。

今後食中毒菌の定量試験を実施する事も視野に入れ、「感染症発生動向調査事業等においてゆうパックで検体を送付する際の留意事項」(平成 24 年 3 月 15 日付 健感発第 0315 第 1 号)に従って試料の発送作業を行った。4 重包装までの梱包段階は問題なく行うことができた。しかし、試料の輸送に関しては日本郵便株式会社と打合せを重ね発送の準備までは整えたが、最終的にはドライアイスを満たした郵送物は受け入れてもらうことができず、ヤマト運輸株式会社の冷凍便により試

料を輸送することとなった。微生物の大規模な技能試験を行うに当たっては、試料調整に加えて、輸送方法等のインフラについても十分に検討しなければならないことが確認された。

## E. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

1) 池田真希, 久保田佳子, 佐藤夏岐, 八木真美, 平林尚之, 高坂典子, 渡辺卓穂: 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, 第115回日本食品衛生学会学術講演会(東京)2019

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

3) 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, AOAC Japan section シンポジウム(東京)2019

4) 松田りえ子, 荒川史博, 畝山智香子: 豚肉中エンロフロキサシン分析技能試験プログラムの開発, 日本食品衛生学会第115回学術講演会(東京)2019

5) 吉田栄充, 山元梨津子, 大坂郁恵, 井上裕子, 大門拓実, 高橋京子, 近藤貴英, 笹本剛生, 石井里枝: 「ボトムアップ方式を用いた放射性セシウム検査における不確かさの推定」令和元年度全国衛生化学技術協議会研究会(広島)2019

6) 石井里枝, 山元梨津子, 大坂郁恵, 吉田栄充, 井上裕子, 大門拓実, 高橋京子, 近藤貴英, 笹本剛生: 「電子天びんの内部校正及び不確かさ算出の検討」令和元年度全国衛生化学技術協議会研究会(広島)2019

7) 大坂郁恵, 山元梨津子, 吉田栄充, 井上裕子, 大門拓実, 高橋京子, 近藤貴英, 笹本剛生, 石井里枝: 「トップダウン方式による不確かさ算出方法の検討」令和元年度全国衛生化学技術協議会研究会(広島)2019

8) 荒川史博, 松田りえ子, 井部明広: 一般生菌数の技能試験を行うにあたっての予備検討, AOAC International Japan section 第22回年次大会(東京)2019

## F. 知的所有権の取得状況

なし

令和元年度厚生労働科学研究費補助金 食品の安全確保推進研究事業  
食品衛生検査を実施する試験所における品質保証システムに関する研究  
研究分担報告書

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

研究分担者

国立医薬品食品衛生研究所安全情報部 渡邊敬浩

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、試験所に必要とされる品質保証等の取組の指針である。本研究は、業務管理要領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として、改訂案の開発を進めてきた。本年度研究では、「内部精度管理の一般ガイドライン」の改訂案となる「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」を、微生物分析分野における取組を追加するとともに全体を点検し、更新した。

研究協力者

微生物分析分野

一般財団法人 日本食品分析センター

土屋 禎

一般財団法人 日本食品分析センター

諸藤 圭

品質保証一般

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

キューピー(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

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

埼玉県衛生研究所

実践女子大学

正田 聖二

石渡 智

石井 里枝

井部 明広

## 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、リスク管理の目的を含む措置(規制措置)の1つとして、食品等の成分規格や製造等の基準が設定される。検査は、規制の実効のために行われる。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、組織内に専任部門を設置することが求められ、分析結果の品質保証のための活動を行う。

食品衛生検査施設及び登録検査機関は、法により設置あるいは登録の要件が示された、法に基づく検査の実施機関である。以下、食品衛生検査施設と登録検査機関を試験所(**testing laboratory**)と総称する。試験所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必要とされる内容からは、大きく乖離してしまっている。一昨年度の研究では、**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る、分析結果の品質保証のための取組の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)。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、昨年度の研究では、Codex 委員会により **CXG 65** として採択されている「**Harmonized Guidelines for Internal Quality Control in Analytical Chemistry Laboratories**」(**Pure & Appl. Chem., vol. 67, No. 4, pp. 649-666, 1995**) を基礎として、精度管理の一般ガイドライン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における内部品質管理の一般ガイドライン」(以下、内部品質管理ガイドライン)を開発した。

上記の通り、内部品質管理ガイドラインは、Codexガイドライン**CXG 65**を基礎として開発した。**CXG 65**には、様々な分析分野への適用が可能であると述べられている一方で、適用が難しい分野があることにも言及がある。**CXG 65**は基本的に、化学物質を対象に機器分析を行う分析分野(理化学分析分野)における内部品質管理を扱っている。微生物分析分野での実施が可能な内部品質管理については、**CXG 65**のような国際的に認められたガイドラインが存在しない。しかし、現行の

精度管理の一般ガイドラインに示された微生物分析分野における内部品質管理への要求は、科学的側面からの合理性に乏しく、実行可能性にも欠けている(昨年度、当分担課題報告書を参照のこと)。各試験所が適正な内部品質管理を実施し、見直し等をしながら改善していくことができるようにするためにも、例えば輸出先国を含む試験所外の組織・機関・顧客に検査への信頼に疑念をもたれないようにするためにも、精度管理の一般ガイドラインは早々に改められるべきである。

本研究では、内部品質管理ガイドラインを完成させるために、新たな専門家の協力も得て、微生物分析分野を対象とした内部品質管理の取組について検討した。検討結果も踏まえ、内部品質管理ガイドラインを更新した。

## B. 研究方法

食品と飼料を対象とする微生物試験の一般必要事項を示した国際規格 (**ISO 7218; [Microbiology of food and animal feeding stuffs - General requirements and guidance for microbiological examinations]**)に含まれる内容を、微生物分析分野における内部品質管理の考え方の基礎とした。

微生物分析分野における内部品質管理への取組を決める上で必要な方法論等の基礎とすべき文書は見つからなかった。そこで専門家の協力を得て、少なくとも

科学的な誤りが無く、実行可能性が担保された内部品質管理に関する考え方や方法(若しくは方法論)を示すことを目的として検討した。検討結果に基づき、内部品質管理ガイドラインを更新した。内部品質管理ガイドラインに新たに含まれることとなった、微生物分析分野における取組内容の一部は、食品衛生検査指針・微生物編(2018年) 5章「精度管理」(pp49-59)と整合している。

微生物分析分野における内部品質管理の開発による更新の他、内部品質管理ガイドライン全体をレビューした。その際には、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)**を用いて改めて調べた。また、新たに追加した「モニタリング」の用語の定義では、**ISO 9001:2015**による定義を参考にした。

#### **C.D. 結果及び考察**

本研究により開発された内部品質管理

ガイドラインを別添として示す。本項ではまず、本ガイドラインの開発時に行ったいくつかの考察を示す。次いで、別添に示したガイドラインの最終化の段階で協力研究者から寄せられた意見のうち、本ガイドラインへの理解を深め、取組内容を自ら考える機会となる意見とそれらへの個人的な意見を述べる。

#### **1)内部品質管理の前提**

内部品質管理は、分析結果の品質を保証するための一連の取組のうちの1つである。統計的管理状態の確立が内部品質管理実施の前提となる。ある試験所がある分析結果を得るために運用する分析システムについて、統計的管理状態の確立を試みる場合、その分析システムを構成する種々の要素が異なる程度で寄与する。種々の要素のうち、特に寄与率が高い要素は分析法の性能であろう。食品分析分野でも、化学物質を対象とし機器分析を行う分野(理化学分析分野)では、分析法の性能を評価し妥当性を確認することが日常となっている。この分析法の性能評価と妥当性確認を通じて、統計的管理状態の確立に重要な情報が取得される。一方、現在の微生物分析分野においては、分析法の性能が統計的管理状態の確立に資する内容で明らかにされることは少ないと聞いている。微生物分析の場合には、分析法の純粋な性能の観点からだけでなく、分析の目的の観点(例えば**ALOP**;

**Appropriate Level of Protection**等を指標として)からも取得すべき情報があるのではないだろうか。分野において蓄積され踏襲されてきた取組方や考え方、その結果として成立した慣習等があることも理解されるため、単純な考察から軽率な意見を提出する意図はない。しかし、内部品質管理において使用する試料への添加濃度を定める上で不可欠な検出下限への取り決めや推定方法の指示がないと言った意見も聞かれる。また「陰性」との判断に対する科学的な説明がない場合もあると聞く。一方、食品衛生検査指針・微生物編(2018年)には微生物分析法の妥当性確認(バリデーション)と性能検証(ベリフィケーション)の解説がされており、国立医薬品食品衛生研究所が中心となり標準試験法(NIHSJ法)の整備が進められていることが紹介されている。この後、これら分析法の標準化や妥当性確認への取組が進められるのに伴い、内部品質管理の適正な実施についてもより適切に検討することができるようになるものと期待する。

## 2)内部品質管理の観点から分析活動を整理する重要性

微生物分析分野に限ることではないが、内部品質管理の狙いは主に2つある。1つは分析システムの統計的管理状態が維持されていることをモニターし、そこからの逸脱を発見(予測)し、必要に応じて改善等の措置をとり、品質の保証された分析

結果を生産し続けられるようにすることである。もう1つは、一時に生産される分析結果が妥当であることを、併行分析する管理用試料の分析結果から確認することである。妥当であることが確認された後でなければ、分析結果を分析依頼者(顧客)に提供することはできない。理化学分析の場合、一時に生産される分析結果とは、1つのランによって生産される分析結果である。一般的な説明とするならば、管理用試料の分析によって、統計的管理状態からの逸脱がないことを検証・保証することが可能な範囲(時間や要員、機器等の変化の範囲)で生産される分析結果といえるだろう。この範囲を明確にすることができなければ、効果的な内部品質管理への十分な取組は期待できない。統計的管理状態からの逸脱がないことを検証・保証する範囲をまず明確にし、次にその範囲で一時に生産される分析結果の数に応じた精緻さでモニターするための内部品質管理分析の実施頻度を検討することになる。範囲が常に一定ではないという意見が聞こえてきそうだが、内部品質管理の観点からは、品質を適正に保証できるように、分析結果の生産体制を見直すべきであるとしか言うことができない。

## 3)ガイドライン最終化で挙げられた意見

・その1；

管理用試料についてISO guide 80: 2014

を引用して紹介すべきである。  
個人の見解；解説文等において紹介する。

・その2；

培養器ごとに分析結果(微生物の増殖の程度)を確認すべきである。

個人の見解；培養器は分析システムの一部である。複数の培養器を用いる場合、それらを1つの分析システムに組み込まれた要素と捉えるのか、複数の分析システムに属する独立した要素と捉えるのかによって、管理への考え方も変わりうる。内部品質管理用試料の分析結果によって、検査用試料から得られた分析結果の品質を同時に保証するという考え方が、内部品質管理の基本にある。各試験所における分析システムの捉え方並びに上記の考え方を踏まえて検討していただきたい。

・その3；

二重試験の実施について詳細を示すべきである。

個人の見解；二重試験は、ガイドライン本文中に二重分析として説明している。つまり、「同一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」行為である。

・その4；

微生物試験の特性上、ランの構成数によって管理用試料の分析数等を設定するのは適当ではない。培地作成のロットや培

養器が異なる場合にそれぞれ管理用試料を分析する方が内部品質管理の意味がある。

個人の見解；2への見解を踏まえて、考察していただきたい。

・その5；

実際の検査用試料からどのような結果が得られるかは分からないため、管理用試料を二重試験することのほうがばらつきの把握には有用である。

個人の見解；実際の検査用試料のマトリクス(食品成分と共存する細菌の種類と量)が、分析結果にどのような影響を与えるか分からないからこそ、それらを二重試験すべきと考えることもできる。もちろん、管理用試料が検査用試料に同一もしくは類似している場合には、それを二重試験することで、検査用試料から得られる分析結果のばらつきの管理に資する情報が得られる。この前提あるいは条件が満たされずまた、満たされないことをリスクと捉えるのであれば、検査用試料の二重試験を積極的に行うことを考えるべきであろう。

・その6；

規格値の5倍量ではなく、検出限界の5倍量を添加すべきである。

個人の見解；検出限界の値がどのようにに推定されるかにもよるが、その値がポアソン分布に従うような低値であった場合、



意図した数量で確実に添加することが困難となる。本質的には、各微生物試験において、「陰性」と判定する場合、なにを根拠としているかを明確にする必要があると考える。ある試験において、十分に信頼できる確率で「陰性」あるいは「陽性」を区別するためには、それに必要な分析法の性能を明らかにすることと、併行試験数を増やすといった試験手順の設計が必要である。ただし、一意に決まるものではなく、フィットネスフォーパースを踏まえ専門家によって議論されるべき課題であろうと考える。

・その7；

ランの長さを20を指標として区別することは、微生物試験にはなじまない。

個人の見解；内部品質管理の対象となる最小単位は1つのランである。1つのランで取得された分析結果が、内部品質管理用試料の分析結果に基づき妥当であると判断された場合に、依頼者に提供される。この基本的な考え方を踏まえて、ランごとに統計的管理状態が確認されることは重要だと考える。ランの長さは試験所の考え方や能力によっても異なるであろうから、ガイドライン案に示された数(20)は、あくまで例と捉えればよい(そもそも、20という数に科学的根拠はない。リスクへの一般的な感覚によるのだろう)。大事なことは、ランの長さに応じて、内部品質管理によるモニターの精緻さについて配

慮することである。

・その8；

分析法の妥当性確認は内部品質管理の前提である。しかし微生物試験に関しては、この妥当性確認のための指標となる性能規準の値等に合意がない。またそのことに関連し、マトリクスにより試験結果が大きく影響を受けると考えられる場合が多々あるが、試験法の変更は多くの場合認められていない。

個人の見解；微生物分析分野の今後にとっても大きな課題であると認識はできるが、内部品質管理のガイドライン中で取り扱うべき内容ではないと考える。分析法に限らず内部品質管理に関しても、たくさんの意見や考え方があるだろうと想像するが、それらが今後、有効にとりまとめられ実用になることを期待し、本ガイドラインにはその出発点となる考え方や具体例を示した。

#### 4) 今後への期待

食品衛生検査指針・微生物編(2018年)5章「精度管理」の著者等も言及しているが、内部品質管理の方法(論)は唯一無二というわけではなく、複数が考えられかつ、それぞれに一長一短があるだろう。よって、単独の方法で試験検査全体を保証することは不可能である。内部品質管理における取組を設計・構築する際には、各方法の特徴(利点・欠点)を十分に理解した上で複

数の方法を適切に組み合わせ、できる限り異常を見逃すことのないよう工夫することが重要である。

本研究において開発した内部品質管理ガイドラインに含めた考え方や取組が、十分であるとは考えていない。しかし、科学的に誤りは無く、合理的であり、実行可能性にも配慮されている。本ガイドラインに示された内容を上回る内部品質管理が試験所により実施されることを妨げるものではない。そのことは、「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、自らの試験所の活動により適した内容となるよう検討した上で、内部品質管理に取り組むべきである。」という文章により明示されている。そもそも、どのような内容で内部品質管理を実施すべきかは、その試験所の活動内容と、品質保証への取組方針によって変わる。品質保証への取組方針が“ゆるすぎる”ならば、検査への信頼は得られないであろうし、“きつすぎる”ならば、試験活動そのものが立ちゆかなくなるだろう。「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。」ことを十分に理解し、外部専門家等によりもたらされる意見や情報も考慮材料として、フィットネスフォーパースを踏まえて専門家として判断をしつつ、顧客からの信頼につながる合理的で効果的な内部品質管理に取り組んでいただきたい。

## **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. 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。具体例には、各試験所が、基本的な考え方に沿った取組を自ら構築する際の参考とされることが意図されている。具体例は、ある状況で有効となることが期待される一例に過ぎない。そのため、示された具体例どおりの取組を行う場合であっても、その有効性を検討すべきである。

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、それを実施する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リングを中心とする。

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、自らの試験所の活動により適した内容となるよう検討した上で、内部品質管理に取組むべきである。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ことの確認に、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。

#### モニタリング

分析システムや分析の工程、分析結果、又は分析活動を対象として、それら対象の状況を確定すること。通常、異なる段階または異なる時間に行われる。状況の確定のために注意深い観察が必要なこともある。モニターは動詞。「モニターする」が用法。

#### 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。各試験所による理化学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リングを通じて、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  $\mu$ 、分散  $\sigma^2$  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、付属書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( $\sigma_x^2$ )は以下により与えられる。

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

ここで

$\sigma_0^2$ =ランダムエラー(ラン内)の分散\*\*

$\sigma_1^2$ =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、 $\sigma_0^2$ 、 $\sigma_1^2$ 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、 $\sigma_0$ 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てることができる。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 $\sigma_0$ 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 $\sigma_0$ 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な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と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て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等により実行される。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なるようであれば、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  $\sigma_0$  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 ( $\chi_n^2$ ) 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 ( $\sigma_0$ ) を想定することができない。そのような場合には、 $\sigma_0$  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、 $\sigma_0$  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

付属書 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。本付属書では、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 $\mu$ と $\sigma$ 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 $\mu$ と $\sigma$ 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 $\sigma_0^2$ として、もう1つはラン間にあり分散 $\sigma_1^2$ 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 $\sigma_x$ 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、ランごとに変わら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。

$\sigma_x$ 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 $\sigma_0$ の推定値とする。室内精度の値を $\sigma_{\bar{x}}$ の推定値とする。 $\sigma_x$ 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、より頑健で実際的な $\sigma_1^2$ の推定値を用いて、 $\sigma_x$ 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、 $\sigma_1^2$ 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 $\mu$ 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) 直近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。具体例には、各試験所が、基本的な考え方に沿った取組を自ら構築する際の参考とされることが意図されている。具体例は、ある状況で有効となることが期待される一例に過ぎない。そのため、示された具体例どおりの取組を行う場合であっても、その有効性を検討すべきである。

まず、本付属書においては、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試験を含む検査をさすものとする。

理化学検査を実施する試験所における内部品質管理の取組は、ガイドライン本文に示された基本的な考え方に沿って直接検討することができる。一方、ガイドライン本文において言及されているとおり、ガイドラインに示される考え方をそのまま適用することが困難な分析分野もある。食品中の微生物検査は、そのような分析分野に該当する。フィットネスフォーパースを考慮し内部品質管理への取組を検討する場合でも、例えば分析法の妥当性に関する考え方やそれに付随する性能規準の設定等が理化学検査ほど明確にされていない。微生物検査を実施する試験所は、ガイドライン本文に示された考え方を理解した上で、本付属書に示された微生物の定性並びに定量試験の特徴と具体例を踏まえて、自らの内部品質管理の取組について検討する。

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リングであるため、その実施頻度が高いほどモニタリングはより精緻になる。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保証の要求の 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。

本付属書では、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<sup>1)</sup>

・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<sup>2)</sup>

・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<sup>3)</sup>

・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<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>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。

<sup>2)</sup>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、添加試料を管理用試料とすることは基本的にはできない。

### 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、付属書  $1$  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、同一試料から得られた  $2$  つの分析値の差を用いる方法により評価し、管理図による評価の参考とする。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<sup>1)</sup>
- ・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<sup>2)</sup>
- ・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<sup>3)</sup>
- ・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<sup>4)</sup>

1)各種農薬残留物等、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。内部品質管理に可能なことは、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、それら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、シュ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リ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 ( $n \geq 20$ )

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。

#### 1-4 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 $\sigma_0$ 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。

## 2 微生物検査を実施する試験所における内部品質管理

### 2-1 微生物試験の特徴を踏まえた全般的事項

微生物試験 (**Microbiological examination**)\*により得られる結果の品質保証の一環として行われる内部品質管理の具体例は、食品と飼料を対象とする微生物試験の一般必要事項を示した国際規格 (**ISO 7218; [Microbiology of food and animal feeding stuffs - General requirements and guidance for microbiological examinations]**)に示された基本的な考え方を踏まえて検討された。微生物試験に関する内部品質管理の取組にも、試験所の活動を継続的に評価するために、その試験所で行われる全ての手順等が含まれている。中心的な課題は、十分な検討により決められた規準を満たし、日々得られる結果の一致を確実なものにすることである。そのために実施する内部品質管理の取組においては、試験者、器具や機器が変わっても、その変動が管理下にあることを示すことが必要となる。内部品質管理の一部として定期的に行われる確認には以下が含まれるだろう。

- ・異なる汚染水準で、標的となる微生物と介在微生物叢を含む添加試料の使用
- ・ある程度の多様なマトリクスを基材とする添加試料あるいは天然汚染試料の使用
- ・参照試料(技能試験において配付された試料を含む)の使用
- ・繰り返し試験
- ・試験結果の繰り返し評価

どの様な間隔で上記の確認を行うかは、試験の性質やその実施頻度により変わりうる。可能ならば、適正な実施をモニターするための管理手順を試験ごとに組み込むことが推奨される。

\*本付属書では、分野における慣例も踏まえ、微生物の有無あるいはその量を明らかにするための活動を表す用語として「試験」を使用している。内部品質管理の考え方を理解する上

で「分析」と「試験」の用語の違いによる影響はない。

## 2-2 考慮すべき微生物試験の特徴

微生物試験には以下の特徴がある。

- ・試験に用いられる方法(試験法)は、原則として培養法である。培養法では、試験対象とする菌の増殖の可否を結果とする。
- ・理化学分析における分析対象(アナライト)は、微生物試験において、標的とする微生物に相応する。標的とする微生物として、特定の生理性状を呈する限定された菌種群を指す場合<sup>1)</sup>と、それ以外の広範囲の菌種群を指す場合<sup>2)</sup>とに大別される。

<sup>1)</sup>サルモネラ属菌に代表される食中毒菌。微生物の定性試験において標的とされる。

<sup>2)</sup>衛生指標菌。微生物の定量試験において標的とされる。

・標的とする微生物が広範囲の菌種群である場合、該当する菌種群を網羅し、それらの数の指標とすることが可能な標準は、現実的に存在しない。

・定量的な微生物試験(集落計数試験)により得られる結果(菌数)を常用対数値に変換することで、その分布が正規型に近似されることが一般に知られている。そのため、正規分布を仮定する統計学的手法を用いて試験結果を解析する場合には、常用対数値に変換した値を解析対象とする。

## 2-3 定量による微生物試験(集落計数試験)

### 2-3-1 想定事項

- ・本来的に食品にはある程度の数が存在すると考えるべき衛生指標菌について、その数を許容する上限の値として規格値が設定されている<sup>1)</sup>
- ・標的とする微生物が広範囲の菌種群であり、実際食品に含まれる状態としてもまた試験の指標としても、科学的に標準を定めることが困難である<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>例えば、粉末清涼飲料における細菌数。

<sup>2)</sup>衛生指標菌の標準を科学的に一意に定めることは困難である。しかしその困難を理解した上で、個々の試験所は実施可能な内部品質管理の取組を検討する。そのような取組の一つにおいて、均質性と安定性のある溶液として入手可能な枯草菌(*Bacillus subtilis*)の芽胞が使用可能である。本付属書においては、この枯草菌芽胞溶液を使用した内部品質管理の具体例を示す。しかしその使用方法によっては、管理状態をモニターすることのできない試験工程等があることを認識すべきである。また、衛生指標菌が標的とする微生物であることが明示された技能試験があればそれに積極的に参加し、枯草菌芽胞溶液を使用した内部品質管理の取組の適正を検証し、補完すべきである。

### 2-3-2 取組の具体例

枯草菌芽胞溶液を管理用試料と捉える。このことにより、マトリクス試験結果への影響をモニターすることができない。マトリクスの影響を検証するために、検査用試料に枯草菌芽胞溶液を添加し調製した添加試料を試験することが考えられる。添加試料から調製した試験液を段階希釈し、観察された集落数が段階希釈の倍率に整合しているかを確認することで、マトリクスの影響の程度を検証することができる。マトリクス非存在下で観察される生菌数の  $1/2 \sim 2$  倍の範囲に含まれることを、マトリクスの影響の有無を判断する際の目安にすることができる。検証されるマトリクスの影響は、あくまで枯草菌芽胞に対するものであることに留意すべきである。

#### ・比較的短いラン ( $n < 20$ )

検査用試料数が  $20$  未満の試験で構成されるランでは、管理用試料を最低  $1$  回試験する。得られた試験結果(菌数)は、常用対数値に変換した後、付属書  $1$  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。

$1$  つのランの構成数の  $10\%$  を目安に、検査用試料を無作為に選び、二重試験する。二重試験の結果は、同一試料から得られた  $2$  つの試験結果をそれぞれ常用対数値に変換した後、差を求めることにより評価し、管理図を用いた評価の参考とする。

試薬のみや滅菌済み検査用試料を用いたブランク試験を実施し、異常な検出がされないことを確認する。

#### ・比較的長いラン ( $n \geq 20$ )

検査用試料数が  $20$  以上の試験で構成されるランでは、 $10$  個の検査用試料の試験につき  $1$  回の頻度を目安に管理用試料を試験する。得られた試験結果(菌数)は、常用対数値に変換した後、付属書  $1$  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。

$1$  つのランの構成数の  $10\%$  を目安に、検査用試料を無作為に選び、二重試験する。二重試験の結果は、同一試料から得られた  $2$  つの試験結果をそれぞれ常用対数値に変換した後、差を求めることにより評価し、管理図を用いた評価の参考とする。

試薬のみや滅菌済み検査用試料を用いたブランク試験を同一のランで実施し、異常な検出がされないことを確認する。

## 2-4 定性による微生物試験

### 2-4-1 想定事項

・意図せず食品を汚染する可能性のある食中毒菌あるいはその指標菌について、存在しない(陰性である)として扱う数に規格値が設定されている <sup>1),2)</sup>

・食品からの検出頻度は一般に低く、検出される数も一定であるとは考えることができない

<sup>3)</sup>

・ポアソン分布に従う水準での菌数の統計的管理は、試験工程に含まれる手順や管理に要する労力等の点において現実的ではない。

1)例えば、生食用食肉または食肉製品におけるサルモネラ属菌。食肉製品及びナチュラルチーズにおけるリステリア・モノサイトゲネスのように、規格に菌数が示されていても、試験においては定性の結果を取得する場合、本付属書においては微生物の定性試験として扱う。

2)例えば、生食用鮮魚介類の腸炎ビブリオの最確数を求めるような試験(MPN; **Most Probable Number** 算出法)も、内部品質管理においては定性試験として扱う。

3)上記の通り、定量性のある方法(菌数を数える方法)を試験に用いる場合であっても、規格に照らした判定は定性(陽性あるいは陰性の二値性)であり、そのため定性試験と捉えられる。定性試験を対象とする内部品質管理において現実的に保証可能な内容は、偽陰性あるいは偽陽性の結果に結びつかない試験が確実に行われていることだけである。マトリクス(食品成分と食品に含まれる夾雑菌の両方を指す)は、偽陰性及び偽陽性の両方に影響する可能性がある。

#### 2-4-2 取組の具体例

1つのランを構成する検査用試料の中から、マトリクスごとに少なくとも1つを無作為に選び、目的の微生物を規格値の約5倍量加えた添加試料を調製し、同一のランで試験する。添加試料の試験結果が陽性となることを確認する。

試薬のみや滅菌済み検査用試料を用いたブランク試験を同一のランで実施し、その結果が陰性となることを確認する。

#### 2-5 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。

定量による微生物試験の内部品質管理の具体例において管理用試料として扱うとして取り上げた枯草菌芽胞溶液を試料として、事前に室内精度を推定することが可能な  $n=20$  以上の試験結果が取得されていれば、それら試験結果から平均値と標準偏差を算出し、管理図の作成に利用する。事前に併行精度を推定することが可能な  $n=20$  以上の試験結果が取得されていれば、二重試験の結果の評価に利用する。

令和元年度厚生労働科学研究費補助金 食品の安全確保推進研究事業  
食品衛生検査を実施する試験所における品質保証システムに関する研究

分担研究報告書

ISO/IEC 17025 認定取得に向けた試験所の検討に関する研究

主任研究者	一般財団法人食品薬品安全センター	渡辺 卓穂
分担研究者	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	成澤 一美
	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	鶴岡 則子
	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	棚橋 高志
	地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所	粟津 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



## 研究要旨

地方自治体の食品衛生検査施設に ISO/IEC 17025 に準拠した業務管理が導入された場合、検査の品質に与える影響や導入にあたっての課題を検討し、6 点の課題を抽出した。

挙げられた課題の一つに信頼性確保部門責任者及び内部監査員等の養成があるが、効果的な養成研修のあり方及び内容について検討し、提案した。

また、昨年度に引き続き、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

食品衛生検査施設における検査等の業務管理要領」(平成 9 年 1 月 16 日衛食第 8 号)が ISO/IEC 17025 に準拠した業務管理に抜本的に改定される予定である。本分担研究班では平成 29 年度に地方衛生研究所全国協議会加盟機関に対し、現行の食品衛生検査の業務管理の現状についてアンケート調査を実施し、実態を把握した。また、ISO/IEC 17025 に準拠した業務管理を導入した場合の試験検査の品質への影響や課題について考察した。

2017 年 12 月に ISO/IEC 17025 : 2017 が発行されたことや、本研究事業の平成 29 年度成果として「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、「ガイドライン案」という。)(渡邊敬浩氏分担研究班)が報告された。また、現在、地方自治体では、食品検査の業務管理改定についての情報が浸透しつつあることから、改めて本年度、ISO/IEC 17025 に準拠した業務管理導入に関しての課題等について検討を行った。

課題の一つとして「国内整合のとれた一

定レベルの信頼性確保部門責任者及び内部監査員の養成の必要性」が挙げられた。登録検査機関においては地方厚生局による査察や認定取得機関にあっては認定機関による審査を受けるが、自治体の試験所においては、それに代わるものが、信頼性確保部門責任者等による内部監査であると言える。そこで、地方自治体の食品衛生検査施設の信頼性確保部門責任者及び内部監査員を養成するための効果的な研修のあり方及び内容等について検討した。

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技能試験に実際、分析を行う試験所の立場から参加した。

さらに、業務管理改定等の情報を各地方自治体で共有することを目的として、地方衛生研究所加盟機関等の食品衛生検査施設の検査担当職員に対し、研修会等の機会を捉えて本分担研究班の検討成果について積極的に情報を発信した。

## B. 研究方法

1. ISO/IEC 17025 に準拠した業務管理

導入に対する課題等の抽出

「食品衛生検査施設における検査等の業務管理要領」(平成9年1月16日衛食第8号) ISO/IEC 17025:2017及びガイドライン案を比較検討し、地方自治体の食品衛生検査施設においてガイドライン案に沿って業務管理を実施する際の課題やその解決策等を検討した。

2.信頼性確保部門責任者及び内部監査員等の養成講習会の実施方法及び実施内容についての検討

令和2年2月6日、一般社団法人RMA所属の森曜子氏を講師として招聘し、模擬内部監査員養成研修会を実施した。そして、効果的な研修会の実施方法及び内容についての検討を行った。

3.技能試験への参加

令和元年10月8日～11月25日に(一財)食品薬品安全センターで安定性及び均一性の改善を目的に開発されたカドミウムを含む玄米(粉末)試料について研究協力機関8機関及び地方自治体検査機関11機関の合計19機関が参加し、技能試験を実施した。

4.地方衛生研究所全国協議会加盟機関等への情報発信

地方衛生研究所全国協議会加盟機関等

と題して研修を実施した。内容はISO/IEC 17025:2017が要求する内部監査とは?、内部監査のためのISO/IEC 17025:2017の概要及び主な改定内容、

に対して、業務管理要領の改定及び本分担当研究班の平成29及び30年度の検討成果等を研修会等において発信し、情報共有を図った。

#### C.D. 結果及び考察

1. ISO/IEC 17025に準拠した業務管理導入に対する課題等の抽出

課題及び解決策等は「食品衛生検査施設における検査等の業務管理要領改正(以下、業務管理要領改正)」及び「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、ガイドライン案)に対する意見」(別紙)としてまとめ、令和元年10月15日に厚生労働省医薬・生活衛生局食品監視安全課長宛て提出した。また、11月11日に地方衛生研究所全国協議会会長とともに食品監視安全課長を訪問し、提出した意見書の内容について説明を行った。

2.信頼性確保部門責任者及び内部監査員等の養成講習会の実施方法及び実施内容についての検討

令和2年2月6日に一般社団法人RMA所属の森曜子氏を講師に「地方自治体食品衛生検査施設における内部監査」

ISO/IEC 19011:2018(JIS Q 19011:2019)の解説を通した内部監査技術の理解、効果的な内部監査を行うための演習等の内容であった。

この研修の受講を通して、今後、地方自治体の食品衛生検査施設においてどのような養成研修会が効果的であるかを検討し、以下のとおりまとめた。

#### 1) 日程

5月または6月の第一四半期の開催が適当である。

定期人事異動を考慮すると、現在、厚生労働省が主催している信頼性確保部門責任者講習会の開催時期と同様に、第一四半期が適当と考えられた。

#### 2) 場所

関東地区と関西地区の2カ所開催、あるいは地域ブロック毎の開催が適当である。

現在、厚生労働省で開催されているが、出席者の出席しやすさ及び旅費等を考慮すると関東及び関西地区の2カ所、できれば地域ブロック毎の開催が望ましいと考えられた。

#### 3) スケジュール

1~2日の講演形式による基礎研修(座学)及び1~2日の少人数グループによる応用研修(模擬内部監査等の演習を含む実地研修)。

現行の一日の座学研修では不足であり、演習を含めた2~4日程度の日程は必要と考えられた。

#### 4) 対象者

信頼性確保部門責任者及び内部監査員。主としては信頼性確保部門責任者及び内部監査員であるが、そのほかマネジメントシステム運営に関与する責任者や検査部門職員も参加できると効果的であると考えられた。

#### 5) 内容

基礎研修： 新業務管理要領の解説、ISO/IEC 17025:2017 (JIS Q 17025:2018)の概要及び要求事項(マネジメントシステム、計量トレーサビリティ、測定の不確かさ等) 内部監査員として必要な知識とスキル、ISO 19011:2018(マネジメントシステム監査の指針)に沿った内部監査のポイント及び進め方、内部監査の実際(プログラム作成、監査のポイント等)。

応用研修： 監査チェックリストの作成方法、監査報告書の作成、不適合の表明、是正措置の評価、ケーススタディ、ロールプレイング、FAQを用いた演習等が考えられた。

特に新任の信頼性確保部門責任者等には講義形式による基礎的な研修は必須である。

今回の模擬研修を受講し、参加者の多くからグループディスカッションによるケーススタディが大変参考となったとの意見があった。一方的な講義形式の座学による研修だけでなく、ロールプレイングやケーススタディによる研修は、実践的なスキルの習得に有効であり、かつ、他の自治体の内部監査の進め方等の状況について情報交換もでき、効果的であると考えられた。

#### 6) 講師

ISO/IEC 17025 認定機関で食品衛生検査施設の認定経験を持つ認定員、内部監査員養成研修を主催している民間機関の講師、登録検査機関の監督及び査察業務を担当している地方厚生局職員、

ISO/IEC 17025 認定取得試験所（検疫所輸入食品検査センターまたは登録検査機関）で信頼性確保部門責任者職相当の者、または内部監査員としての勤務経験を持つ者、信頼性確保部門責任者として実務経験豊富な自治体職員などが適任と考えられた。

今回の内部監査員養成研修で講師として招聘した森曜子先生は登録検査機関での検査経験、公益財団法人日本適合性認定協会での認定員としての経歴を持たれ、現在、民間機関で ISO/IEC 17025 等に関連するさまざまな研修の講師も務められており、そのような実務経験を持っておられる講師が適任であると考えられた。

#### 7) 資格制度

養成研修終了時に理解度の確認のための試験を実施し、合格したものに修了証を発行するなどして、内部監査を行える者としての資格を付与する。また、原則として資格を有しない者による内部監査を実施不可とすることで、対外的にも一定レベルの有資格者による監査が実施されていることの説明が可能となる。また、国内においても整合のとれた信頼性保証が継続的に保たれることにも繋がると考える。

#### 8) 運用等に関する意見

運用方法等について以下の提案がなされた。

研修会受講前に自治体へ事前質問を募集し、研修会の中で講師から回答をいただくなどすれば、より現場に役立つ研修内容なることが考えられる。

研修会受講前に内部監査員として求

められるスキルの具体的な水準や必要となる基礎知識を国から示していただきたい。また、各年度で実施した研修会の資料等（PowerPoint 等）を厚生労働省のホームページ等へ掲載するなどして事前学習ができれば、より効果的な学習が可能となる。また、それらの資料は伝達講習に利用でき、参加できなかった者が教材としても容易に活用することができる。

基礎的な事項については研修前の事前学習（e-ラーニング等）を前提にすることで、講義時間を効率的に活用することができる。また、それらは事後復習にも活用できる。

国立保健医療科学院の短期研修と位置づけ、実施する。宿泊施設があることから、地方からの参加が容易となる。

民間機関や認定機関が開催している内部監査員養成セミナーではさまざまな分野に共通するような内容であることが多いため、実践的な講義内容であっても参考にしにくい側面がある。そのため、食品衛生分野に特化した内容の研修がより具体的かつ実践的である。

#### 9) その他

信頼性確保部門責任者等に対する研修だけでなく検査部門職員を対象とした実地・演習を含めた研修、測定の不確かさ評価に関する研修等を国主導で実施していただきたい。例えば、自治体職員を対象とした国立保健医療科学院で行われている細菌検査コースやウイルス検査コースのようなもので、理化学バージョンの研修も効果的であると思われる。

地方自治体においても業務管理に関し

て、主体的に取り組んでいく必要がある。例えばブロック毎に、信頼性確保部門及び検査部門担当者が参加できるような研修会を開催し、新しい業務管理要領に沿って各自治体が実際に取り組んだ内部監査の内容(指摘事項、改善措置等)を自治体間で議論し、かつ、ケーススタディや他の施設への模擬監査等を行うことが必要である。そのことによって、自治体間の情報交換及び情報共有が可能となり、実践的なスキルアップに繋がれると考えた。

### 3. 技能試験への参加

実施結果の詳細については、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」(渡辺卓穂班)の報告書に記載のとおりである。

### 4. 地方衛生研究所全国協議会加盟機関等への情報提供

以下の研修会等において、分担研究者がこれまでの成果を発信し、地方自治体食品衛生検査を担当する職員との情報共有を図った。

1)令和元年度「地域保健総合推進事業」関東甲信静ブロック会議(主催:地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部)

月日:令和元年9月18日

場所:長野市生涯学習センター

参加者:地研協議会加盟機関職員41名

演題:「地方自治体の食品衛生検査を実施する試験所へのISO/IEC 17025に準拠

した業務管理導入について」

2)第37回全国食肉衛生検査所協議会理化学部会研修会(主催:全国食肉衛生検査所協議会理化学部会)

月日:令和元年10月4日

場所:市民会館おおみや

参加者:地方自治体の食肉衛生検査所職員 約100名

演題:「地方自治体食品衛生検査を実施する試験所へのISO/IEC 17025に準拠した業務管理導入に関する検討」

3)令和元年度精度管理研究会(主催:群馬県食品安全検査センター)

月日:令和2年1月17日

場所:群馬県衛生環境研究所

参加者:関東近県の地方自治体職員約60名

演題:「ISO/IEC 17025に準拠した食品検査の業務管理～電子天びんの点検・校正について～」

### 5. まとめ

地方自治体の食品衛生検査施設へのISO/IEC 17025に準拠した業務管理導入についての課題と解決策について検討した。また、課題の一つとして挙げられた信頼性確保部門責任者及び内部監査員の効果的な養成研修のあり方や研修内容について検討した。

### E. 研究発表

#### 1. 論文発表

なし

#### 2. 学会発表

(1)吉田栄充、山元梨津子、大坂郁恵、

井上裕子、大門拓実、高橋京子、近藤貴英、  
笹本剛生、石井里枝：「ボトムアップ方式  
を用いた放射性セシウム検査における不  
確かさの推定」令和元年度全国衛生化学  
技術協議会研究会（2019）

（2）石井里枝、山元梨津子、大坂郁恵、  
吉田栄充、井上裕子、大門拓実、高橋京子、  
近藤貴英、笹本剛生：「電子天びんの内部  
校正及び不確かさ算出の検討」令和元年  
度全国衛生化学技術協議会研究会（2019）

（3）大坂郁恵、山元梨津子、吉田栄充、  
井上裕子、大門拓実、高橋京子、近藤貴英、  
笹本剛生、石井里枝：「トップダウン方式  
による不確かさ算出方法の検討」令和元  
年度全国衛生化学技術協議会研究会  
（2019）

< 別紙 >

「食品衛生検査施設における検査等の業務管理要領改正（以下、業務管理要領改正）」及び「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、ガイドライン案）」に対する意見

1．自治体主管課及び収去部門に対する業務管理要領改正及びガイドライン（案）の内容説明に関する要望

食品衛生監視指導計画を策定している自治体の主管課及びサンプリングを担当している収去部門に対して、事前に十分な業務管理要領改定及びガイドライン（案）についての十分な説明及び意見照会をお願いしたい。

2．ガイドライン案に対応する十分な準備期間の確保

ガイドライン（案）に基づく信頼性保証の取組みの実施は、平成9年に業務管理要領が通知されて以来の大改正である。各自治体においては、自治体独自の業務管理要綱等の改正、新ガイドラインに沿ったマネジメント上及び技術上の必要事項に対する対応、人材育成、予算及び人員獲得のため、十分な準備期間の確保が必須であり、約3年程度の猶予期間が必要である。

3．ISO/IEC 17025：2017（最新版）に準拠したガイドライン（案）の作成について

提示されたガイドライン（案）はISO/IEC 17025：2005年版の章立てに沿って構成されている。2017年に改定されたISO/IEC 17025最新版は、2005年版と内容は大きく変わらないものの、より理念的な書き振りとなっているほか、用語や章立てが他のISO/IEC 17000シリーズと整合されている。改めて業務管理を見直すにあたり、章立て等については、最新版のISO/IEC 17025と整合させた方が良いと考える。

4．信頼性部門責任者等の養成研修の実施

ガイドライン（案）では、信頼性確保部門責任者の責務と権限がより明確となり、また、試験所の取組みとその適正の確認、必要に応じた改善が適正に運用されているかを検証するために内部監査を規定している。内部監査が効果的に機能するためには信頼性確保部門責任者及び内部監査員（信頼性確保部

門責任者等)のスキルを一定水準レベルに養成することが重要である。

登録検査機関においては地方厚生局による査察があることから、認定に相当する評価が行われているとも言えるが、自治体の試験所においては、それに代わるものが、信頼性確保部門責任者等による内部監査であると言える。

国主導による信頼性確保部門責任者等の養成研修の受講者に対して、内部監査を行えるものとしての資格を付与することは、信頼性保証に関する国内の整合が確保され、自治体間の格差も無く、客観性を高めた評価が行われていることの対外的な説明にも有効である。

研修の具体的な例として、現在、毎年5月頃に実施されている厚生労働省主催の信頼性確保部門責任者等研修会の内容をさらに強化して、ISO/IEC 17025(マネジメント上の必要事項及び技術上の必要事項)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めた継続的な研修にすることなどが考えられる。

一方、地方ブロックにおいては首都圏に参集しにくい実情があることから、首都圏で開催される研修会と同様の内容の研修会を地方ブロック単位で開催することは、より国内整合性の確保に有効であると考えられる。

## 5. サンプルング及び自治体が行う食品検査の位置づけについて

ガイドライン(案)では、サンプルングプランは適切な統計学的方法に基づいた内容であることや集団(ロット)を代表し、無作為に試料が採取されていることが要求されている。自治体自らが管轄する製造所等で生産・製造された食品についてはロットの全体を把握することが可能かもしれないが、輸入食品や他の自治体で生産・製造された食品のロットの全体像を食品衛生監視員が流通現場で把握することは困難であり、ガイドライン(案)のサンプルングの要求事項を必須とした場合には、収去検査の実施が不可能になる、あるいは実施数が激減することが危惧される。

一方、地方自治体による収去検査は、不良食品を市場から排除するだけでなく、継続的に流通食品を監視するという目的がある。このようなモニタリング的な検査において、違反の疑いのある食品を発見した場合に、製造所等を管轄する他自治体や検疫所等へ通報し、該当ロットを把握した後に、追跡調査あるいは後続のロットについて監視・調査等ができるような仕組みは、食品の安心・安全確保にとって有益であると考えられる。このような自治体の実施するモニタリング的収去検査の位置づけの明確化及び体制作りを国主導で行っていただきたい。



## 6．妥当性評価ガイドライン等の提示

ガイドライン(案)では、試験所が方法を導入する際には妥当性を確認することが要求されている。現在、残留農薬等の一部の分野について妥当性評価ガイドラインが示されているが、真度や精度等の評価基準が分野によって異なっている。

現在、ガイドラインが示されていない分野について自治体において独自に妥当性評価を実施しようとした際に、参考とすべき評価方法及び評価基準が自治体によってまちまちとなることが考えられる。

については、食品添加物等のガイドラインが示されていない分野について、評価方法及び評価基準を提示していただきたい。

令和元年度 厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

食品衛生検査を実施する試験所における品質保証システムに関する研究

### 研究分担報告書

既存技能試験試料の改善および新規技能試験プログラムの導入に関する研究（1）  
重金属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
	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
	佐藤 夏岐	（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
	西垣 嘉人	（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）を行う上で、適正な技能試験用試料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。

今年度は新たな作製方法として、スプレードライヤを用いる方法について、残留農薬検査用調査試料の作製検討に先立ち、玄米（粉末）を試料基材に用い、農薬よりも熱や水分に安定である重金属を添加し、カドミウム添加玄米試料の作製を試みた。更に、作製した調査試料を用い、本調査研究の研究分担協力機関である公的検査機関21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当該試料を用いたカドミウム濃度測定の室間共同試験を行った。併せて、水分含量の測定を依頼した。作製した調査試料は均質性および安定性ともに良好な結果が得られた。21機関から回収したデータについて、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。理論作製濃度に対する各検査機関平均値の回収率を論じる際は、スプレードライヤによる作製の特性上、作製工程に応じた水分換算が必要となったが、これを算出することにより検査機関平均値は概ね理論作製濃度に一致した。また、機関間で前処理方法や測定機器等の採用手法の相違があるものの、「食品中の金属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。併せて、国際的ガイドラインの室間共同試験による分析法の妥当性評価において指標となるHorRat (R) を算出した結果、評価基準である0.5～2を満たした。以上のことから、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ことが示唆された。

## 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）には、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。

重金属検査用調査試料作製方法として、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新たな作製方法について平成29年から平成30年に亘り厚生労働科学研究費補助金において検討を行った。この結果、検討された方法により作製された試料は、調査試料として用いることが可能であることが示唆された。そこで今年度は、この新たな方法により調査試料を作製し、技能試験を行うための調査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、玄米粉〔銘柄：ひとめぼれ、平成30年産水稲うるち玄米（市販品）を予め遠心粉碎機で粉碎（粉碎条件：スクリーン孔径1.0 mmで2回）、以下、玄米粉〕を用いた。標準品として、カドミウム標準液（1000 mg/L溶液、化学分析用、関東化学）を用いた。添加用標準溶液の調製には日本薬局方注射用水（以下、注射用水、光製薬）、試料調製には、日本薬局方精製水（以下、水、小堺製薬）を使用した。

調査試料等の湿式分解には、硝酸1.38（有害金属測定用、以下、硝酸、関東化学）および硫酸（有害金属測定用、関東化学）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、ヴァーダー・サイエンティフィック製の遠心粉碎機（ZM-200、スクリーン孔径1.0 mm）および徳寿工作所製のV型混合機（V-30型、寿ミクスウェル）を使用した。

試料の分解には、三商製のケルダール窒素分解装置（SKN-6R）を用いた。

試料中のカドミウム濃度の測定は、島津製作所製原子吸光光度計（島津AA6800）を用いた。原子吸光光度法測定条件を以下に示す。

原子化方式：フレイム方式

使用ガス：可燃性ガス（アセチレン）  
支燃性ガス（空気）

ランプ：カドミウム中空陰極ランプ  
波長：228.8 nm

点灯モード：BGC-D2法

スリット幅：2.0 nm

水分含量測定には、加熱乾燥に東京理化学器械製のウィンディオーブン（WF0-601SD）、秤量にザルトリウス製の電子天秤（MSA225S100D1）を使用した。

### 3. 調査試料の作製

作製法の概略を図1に示す。

試料基材には、玄米粉を用い、20%懸濁液（玄米粉30 kgを0.125 mg/Lカドミウム溶液120 Lに懸濁）を調製し、これをスプレードライヤ（大川原化工機）に供した（作製濃度 0.5 mg/kg）。スプレードライ

ヤにより得られた試料を、V型混合機を用いて全体を混合後、生産日本社製 ラミジップ (AL-12) に分注した。更にヒートシーラーを用いてシールした。線照射処理 (15 kGy、ラジエ工業) 後、得られた試料を調査試料とした。

#### 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

調査試料について、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。

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)。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。

試験溶液の調製方法は以下のとおりである。

調査試料10.0 g (1容器につき、n=2) を量りとり、硝酸および硫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硝酸溶液を加えて全量を一定容量として試験溶液とした。これを原子吸光光度計測定に供した。

別に、調査試料の作製に用いた試料基材 (以下、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 (n=5)。試験溶液と同様に測定

した。

##### 2) 水分含量測定

試験法は、「食品衛生検査指針 理化学編 2015 第1章食品成分 1.水分 直接法 (公定法)」に準じ、ブランク試料 (n=3) および調査試料 (3容器からn=2) について行った。

予め加熱乾燥し恒量が確認されたガラス製秤量瓶に、試料約0.5 gを精密に秤量し、135 で1.5時間加熱乾燥後、デシケータ (シリカゲル) 内で30分間放冷後、秤量した。加熱乾燥前後の質量差を水分含量として求めた。なお、恒量は繰り返し秤量における前後の質量差が0.5 mg以下のときとした。

#### 5. パイロットスタディ (室間共同試験)

重金属検査のパイロットスタディとして本調査研究の研究分担協力機関である公的機関21機関を対象にパイロットスタディ (以下、室間共同試験) を実施した。検査機関には調査試料を1個ずつ配付 [令和元年10月8日発送、ヤマト運輸クール宅急便 (冷蔵タイプ)] した。試料処理および測定操作は各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、水分含量測定も併せて依頼し、併行分析数を3とした。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令和元年11月25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（機関別平均値を理論作製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）以上の報告値を除外した後、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「食品中の金属に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」（平成20年9月26日、食安発0926001、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、これらとで得られたロバスト平均値から $z$ -スコアを算出した。また、「Guidelines on Analytical Terminology」（Codex, CAC/GL 72-2009、以下、CAC/GL 72-2009）を参考に、室間共同試験から得られた室間再現相対標準

偏差 ( $RSD_R$ , %) と室間再現相対標準偏差の予測値 ( $PRSD_R$ , %) の比である HorRat (R) を算出した。

#### 棄却検定

室間共同試験のハーモナイズドプロトコル (Pure & Appl.Chem., 67 (1995).) や AOAC の室間共同試験のガイドライン (AOAC Int.(2005).Appendix D) に準じ、Cochran 検定と Grubbs 検定 (Single Grubbs 検定および Paired Grubbs 検定) を行い、外れ機関を確認した。

#### (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

玄米粉20%懸濁液 (玄米粉30 kgを120 Lに懸濁) を調製し、スプレードライヤによる処理後、玄米粉約25 kgが回収された。回収された玄米粉全量を、V型混合機を用いて混合後、1個当たり130 g~135 gとなるように分注し、ヒートシールした。分注した試料のうち150個につき、線照射処理 (線量 15 kGy) 後、冷蔵保管した。

#### 2. 調査試料の品質評価

均質性確認試験の結果を表1に、安定性確認試験の結果を表2に示す。また、水分含量測定結果を、表3に示す。表1および表2には水分換算前の質量 (以下、湿質量) および水分換算した質量 (以下、乾燥質量) あたりの測定結果を併記した。

なお、均質性および安定性は乾燥質量あたりの測定結果について評価した。また、ブランク試料中カドミウム濃度測定結果を表4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、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、均質性確認試験で得られた平均濃度に対する割合 (%) が、湿質量で99.8%、乾燥質量で100%であり、当財団の評価基準90%~110%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、試験溶液と同様にして得られたブランク試料中カドミウム濃度は、作製濃度の約1/5に相当し、理論作製濃度を論ずる際に考慮する必要があると考えられたため、以下、2) に示すとおり、ブランク試料中カドミウム濃度を作製濃度に加えて調査試料の理論作製濃度の算出を行った。

#### 2) 調査試料の理論作製濃度の算出

調査試料の理論作製濃度算出の概要を表5に示す。また、各検査機関および当財団の水分含量結果一覧を表6に示す。表4より、今回作製に供したブランク試料中カドミウム濃度の測定結果が0.0896 mg/kgであり、理論作製濃度の算出に考慮する必要があると考えられた。また、表3より、スプレードライヤに供する前のブランク試料の水分含量 (14.8%) と、作製された調査試料の水分含量が約5%~6%と大きく異なることが明らかとなったため、それぞれの水分含量を一律で0%と

し、調査試料中カドミウム濃度を算出した。さらに、調査試料の水分含量を用いてカドミウム濃度を補正し、これを、理論作製濃度とした。なお、調査試料の水分含量は、表6に示す各検査機関（19機関）および当財団で測定された水分含量の平均値（5.41%）を用いた。

その結果、調査試料の理論作製濃度は、湿質量（水分含量5.41%）あたり濃度として、0.654 mg/kg、また乾燥質量あたり濃度として、0.691 mg/kgと算出された。

### 3. 室間共同試験

対象とした全21機関から結果を回収した。ただし、水分含量測定については、実施不可と事前連絡があった2機関を除く19機関から回収した。解析の結果および評価一覧を表7-1～表8-3に示す。

### 4. データの解析

21機関から回収した結果より解析を行った、湿質量あたりの結果を表7-1～表7-3に、乾燥質量あたりの結果を表8-1～表8-3に示す。水分換算前後（湿質量および乾燥質量）のいずれにおいても、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2-2）。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。なお、本解析においては、2シ

グマ処理は行わなかった。

$z$ -スコアは、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、湿質量あたりおよび乾燥質量あたりの報告値について限界外機関数は、 $|z\text{-スコア}| \geq 3$ に該当する機関がいずれも同機関で1機関あった。 $2 \leq |z\text{-スコア}| < 3$ に該当する機関はなかった。

#### 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2-2）。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、いずれもメジアン・クリーニングで除外される機関はなかった。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、湿質量あたりおよび乾燥質量あたりの報告値について限界外機関数は、 $|z\text{-スコア}| \geq 3$ に該当する機関がいずれも同機関で1機関あった。 $2 \leq |z\text{-スコア}| < 3$ はいずれも同機関で2機関ずつ該当した。

#### Horwitz式

で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、 $2 \leq |z\text{-スコア}|$ となる機関はいずれも該当しなかった。

CAC/GL 72-2009を参考に、室間共同試験から得られた室間再現相対標準偏差（ $RSD_R$ 、%）と室間再現相対標準偏差の予測

値 ( $PRSD_R$ , %) の比であるHorRat (R) を算出した結果、湿質量あたりおよび乾燥質量あたりの値いずれも0.5~2の規定を満たす妥当な結果であった。

#### 棄却検定

Cochran検定およびGrubbs検定 (Single Grubbs検定およびPaired Grubbs検定) による棄却検定 (棄却限界はいずれも2.5%) を行った結果、Cochran検定では湿質量あたりおよび乾燥質量あたりの値でそれぞれ2機関、Single Grubbs検定では湿質量あたりおよび乾燥質量あたりの値でそれぞれ1機関、外れ機関が検出された。なお、湿質量あたりの値で該当した機関および乾燥質量あたりの値で該当した機関は同一であった。

#### 水分含量の測定

水分含量測定を行った検査機関 (19機関) および当財団が測定した水分含量の平均値を100%とした場合の、各機関の水分含量の割合を算出した結果を表6に示す。1機関は割合が73.2%と80%を下回り、2機関が111%~112%と110%を超える結果であったが、他の16機関においては80%~110%の割合であり、全体としては大きなばらつきはなかった。

#### 水分換算の有無による回収率の比較

湿質量あたりおよび乾燥質量あたりのカドミウム濃度算出値について、妥当性評価ガイドラインの回収率 (真度) における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は上部管理限界線 (回収率110%) を、LCLは下部管理限界線 (回収率80%) を示す。水分換算前後の回収率を機関別に比較したところ、いずれにおいても1機関がUCLを超える報告値

であったが、他の機関においては80%~110%の回収率が得られ、評価基準の範囲内であった。乾燥質量あたりの回収率に対する湿質量あたりの回収率の割合について、表9に示す。算出された値 (絶対値) が大きい場合、測定操作において、水分含量測定が正確に行われなかった、または、水分含量測定用試料の秤量操作とカドミウム測定用試料の秤量操作に、環境 (湿度等) により試料中水分含量の差の影響があった等の要因が考えられる。表9より、算出された値 (絶対値) はいずれの機関も小さく、水分含量測定に関する操作は問題なく行われていたことが推察された。また、水分換算については、換算の有無で全体の様相に相違はなかった。水分含量測定が正しく行われた場合は、乾燥質量あたりの結果を用いる方が、より精度の高い解析となるが、水分含量測定のばらつきを含めるため、本調査研究においては、水分換算を行わず、湿質量あたりの結果を用いた統計解析でも問題ないと考えられた。

#### 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、分解時に使用した酸の種類、測定機器の種類、測定に原子吸光度計 (フレーム) を使用した機関の測定用溶液の種類および検量線に着目して、湿質量あたりの報告値について昇順に並び替えた回収率との関係を調べた (図4~図7)。

図4より、使用した酸の種類について回収率との関係性を調べたところ、硝酸のみが4機関、硝酸および硫酸の混酸が7機関、硝酸および過酸化水素の混酸が9機



関、硝酸、硫酸および過酸化水素の混酸が1機関であった。また図5より、測定機器の種類について回収率との関係性を調べたところ、原子吸光光度計（フレーム）が8機関、原子吸光光度計（フレームレス）が5機関、ICP-OESが2機関およびICP-MSが6機関であった。用いる酸の種類あるいは組み合わせと回収率について、または測定機器と回収率については、明らかな関係性を見出すには至らなかった。また、他の着目した2項目についても明らかな関係性は認められなかった。

#### 回収率と併行相対標準偏差

経過記録書を基に回収率に影響を及ぼす要因として、試料採取量および試料前処理方法について着目し、湿質量あたりの報告値について昇順に並び替えた回収とそれに対応する併行相対標準偏差（ $RSD_r$ 、%）の関係性を図8～図9に示す。

妥当性評価ガイドラインに基づき、湿質量あたりの報告値について昇順に並び替えた回収率および対応する併行相対標準偏差（ $RSD_r$ 、%）の結果を確認した。回収率の評価基準80%～110%に対し、各機関の回収率は81.4%～125%であり、1機関が管理限界外となった。一方、併行相対標準偏差（ $RSD_r$ 、%）の評価基準10%未満に対し、試料採取量が0.5 gと少量の場合も良好な併行相対標準偏差（ $RSD_r$ 、%）が得られ（5機関）、いずれも基準値内であった。管理限界外となった機関について、試料採取量および前処理法について考察を行ったが、明らかな要因は見出せなかった。

なお参考として、表10-1～表10-3に本調査研究における採用手法の質問事項一

覧および表11-1～表11-2に回答結果一覧を示す。また、表12-1～表12-2に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。新たな作製方法として、スプレードライヤを用いる方法について、残留農薬検査用調査試料の作製検討に先立ち、玄米（粉末）を試料基材に用い、農薬よりも熱や水分に安定である重金属を添加し、カドミウム添加玄米試料の作製を試みた。今年度は、この新たな方法により作製した調査試料を用い、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。

作製した試料は、良好な均質性および安定性が得られた。理論作製濃度の算出には、スプレードライヤによる処理前のブランク試料中水分含量およびカドミウム濃度の測定、ならびに、作製後の調査試料中水分含量測定が必要である。これらのデータを基に算出した理論作製濃度は、作製直後に行った均質性確認試験で得られたカドミウム濃度（平均値）ともよく一致し、作製濃度のコントロールも可能であると考えられた。この方法で作製した調査試料を用いて室間共同試験を実施した結果、機関間で、妥当性評価ガイドラインの評価基準である回収率80%～110%相当および併行相対標準偏差（ $RSD_r$ 、%）10%未満である結果が得られた。また、併せて、国際的ガイドラインの室間共同試験による分析法の妥当性評

価において指標となるHorRat (R) を算出した結果、水分換算の有無に関わらず、いずれも0.5~2を満たす妥当な結果が得られたことから、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調査試料として妥当であることが示唆された。

#### **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

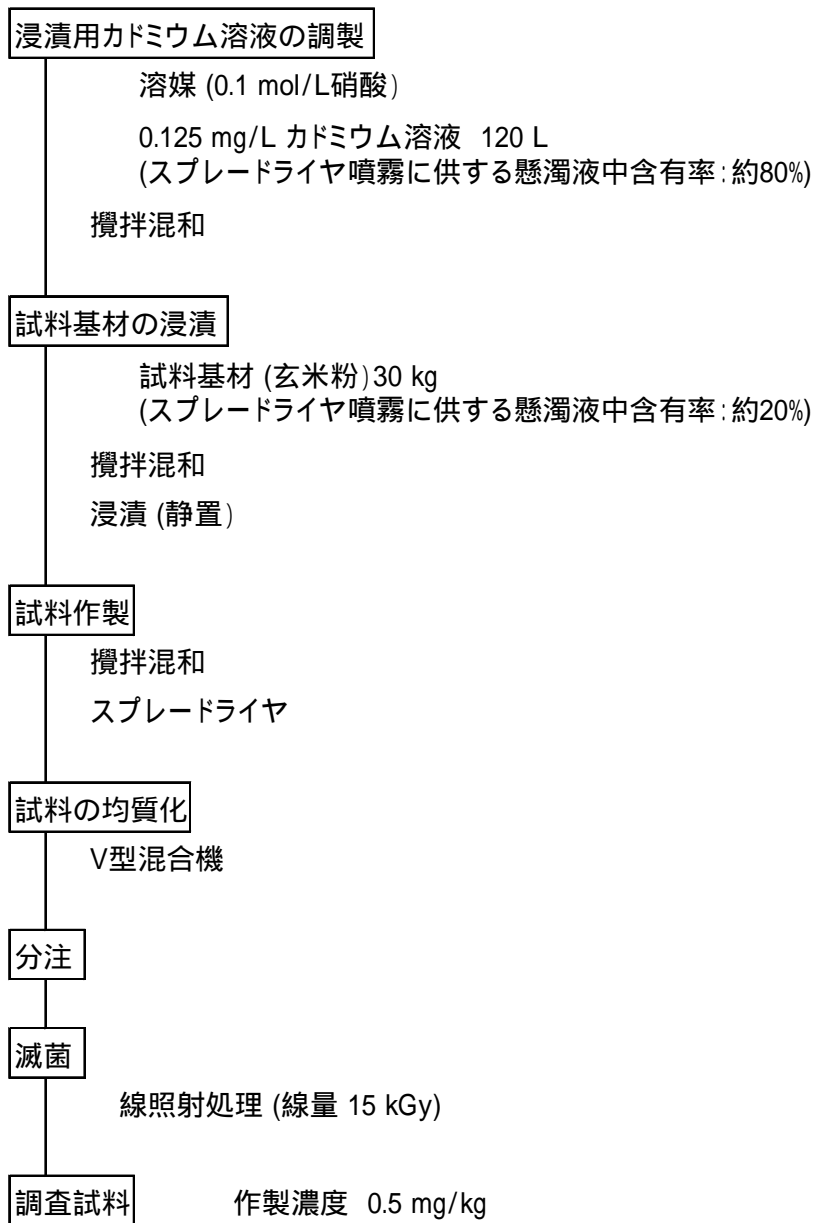
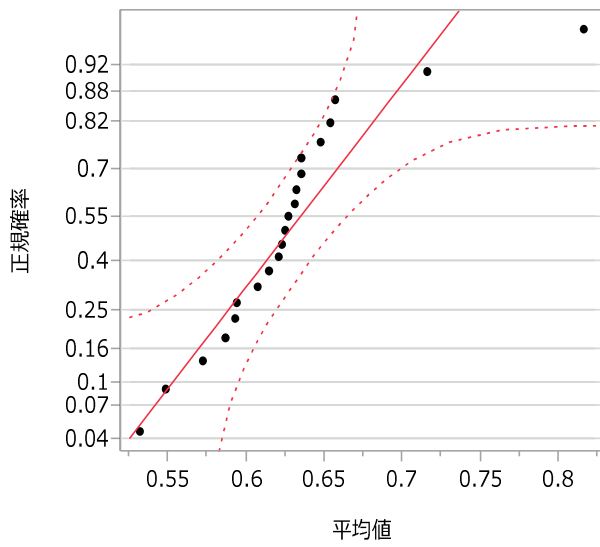


図1 重金属検査技能試験用試料作製法の概略

従来方式データ・クリーニング後



ロバスト方式データ・クリーニング後

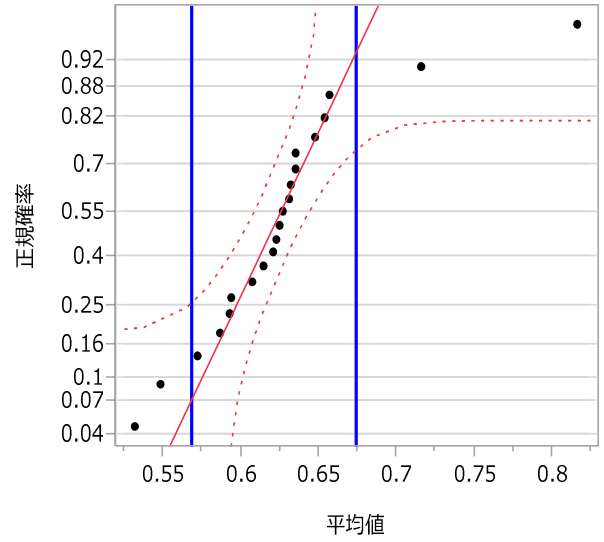
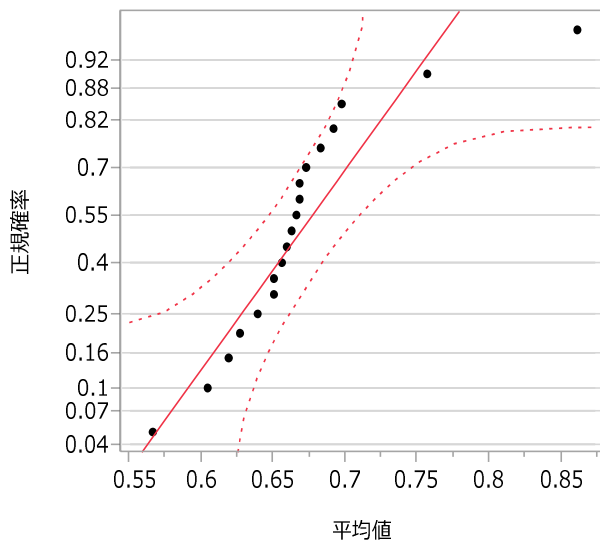


図2-1 調査試料中カドミウム濃度(湿質量あたり)正規確率プロット

従来方式データ・クリーニング後



ロバスト方式データ・クリーニング後

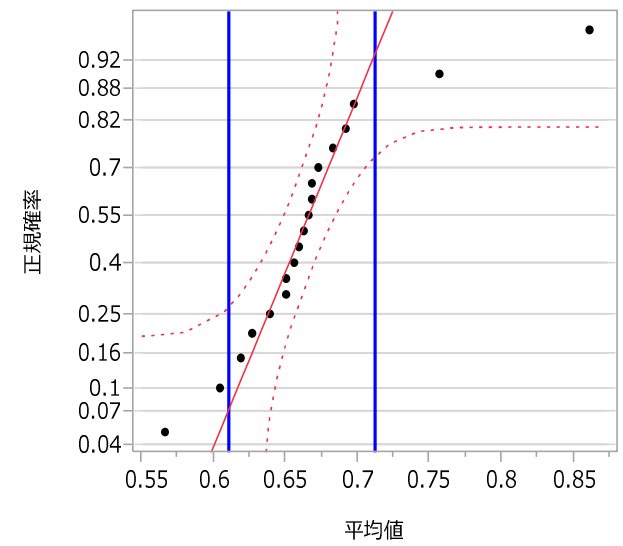
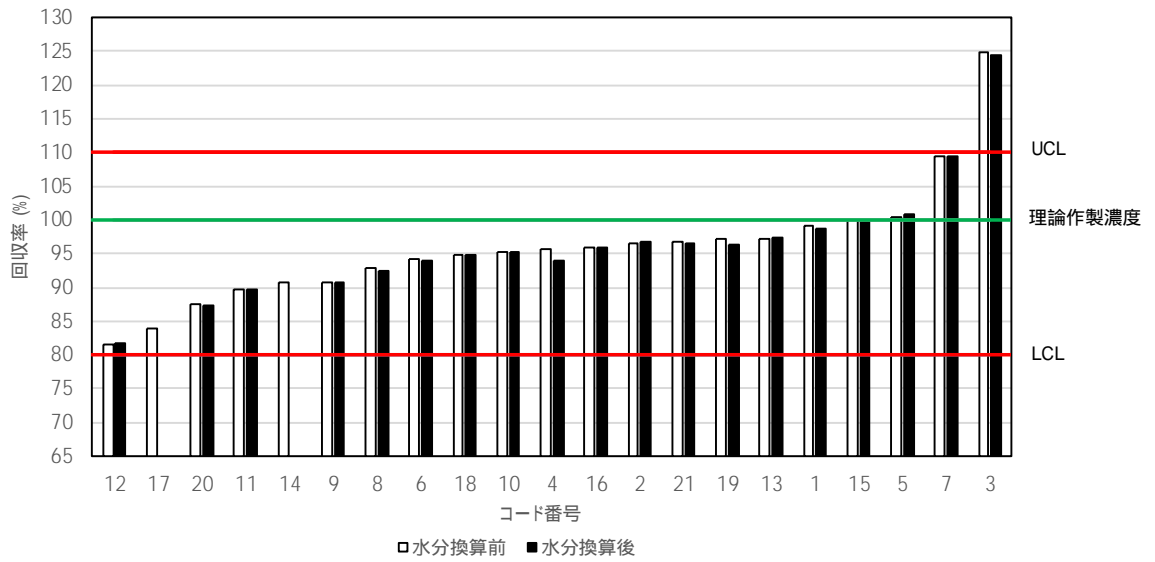


図2-2 調査試料中カドミウム濃度(乾燥質量あたり)正規確率プロット



UCLは上部管理限界線 (理論作製濃度の110%)、LCLは下部管理限界線 (理論作製濃度の80%)

理論作製濃度 (mg/kg): 湿質量あたり濃度 0.654

乾燥質量あたり濃度 0.691

コード番号 14および17は水分含量測定を実施せず

図3 水分換算前後による理論作製濃度に対する回収率の比較

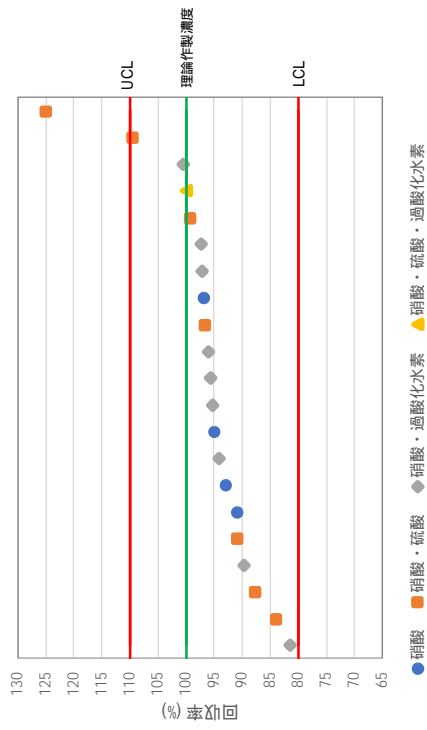


図4 使用した酸の種類と湿質量あたりの理論作製濃度に対する回収率

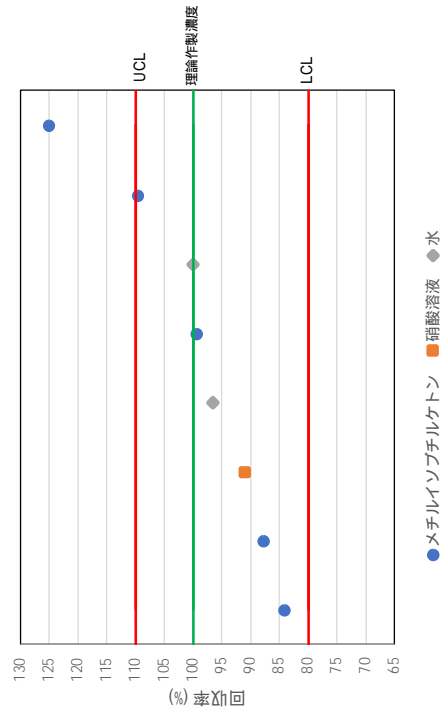


図6 原子吸光度計(フレイム)を使用した機種の測定用溶液の種類と湿質量あたりの理論作製濃度に対する回収率

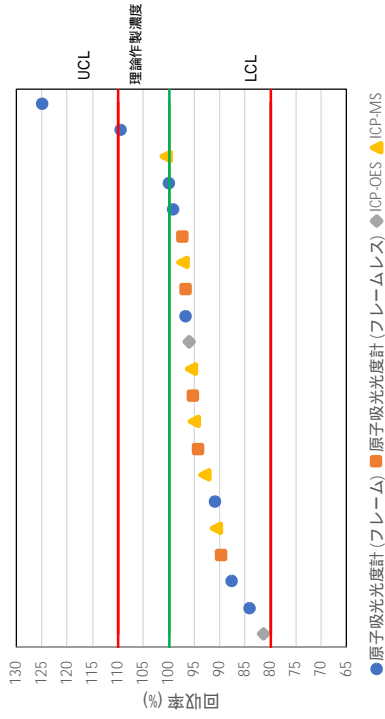


図5 測定機器の種類と湿質量あたりの理論作製濃度に対する回収率

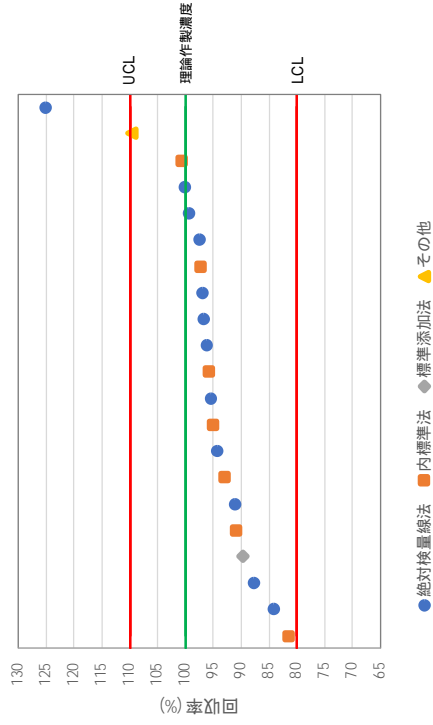


図7 検査線の種類と湿質量あたりの理論作製濃度に対する回収率

UCLは上部管理限界線(理論作製濃度の110%)、LCLは下部管理限界線(理論作製濃度の80%)

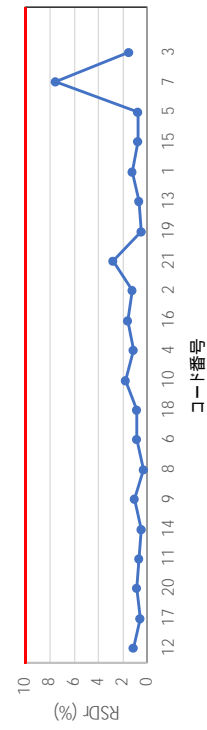
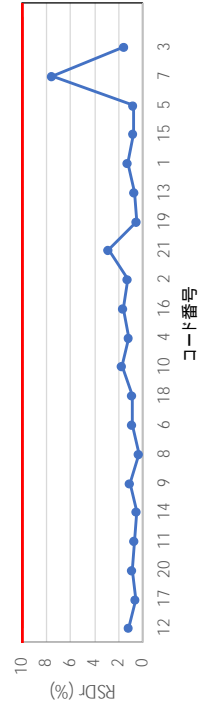
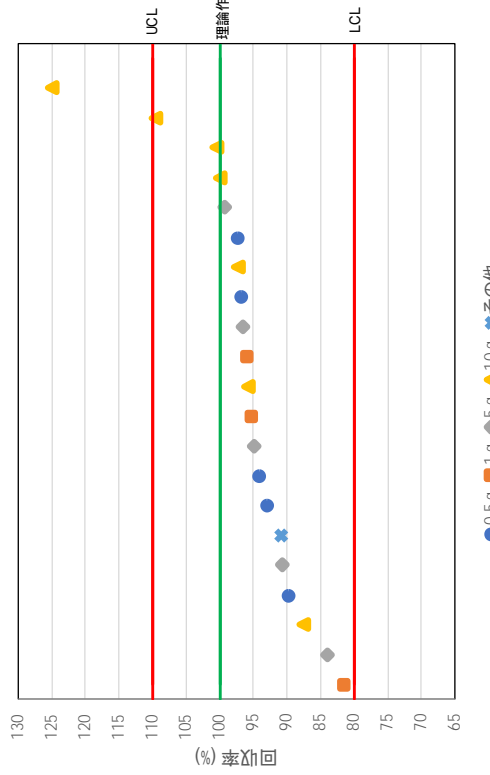
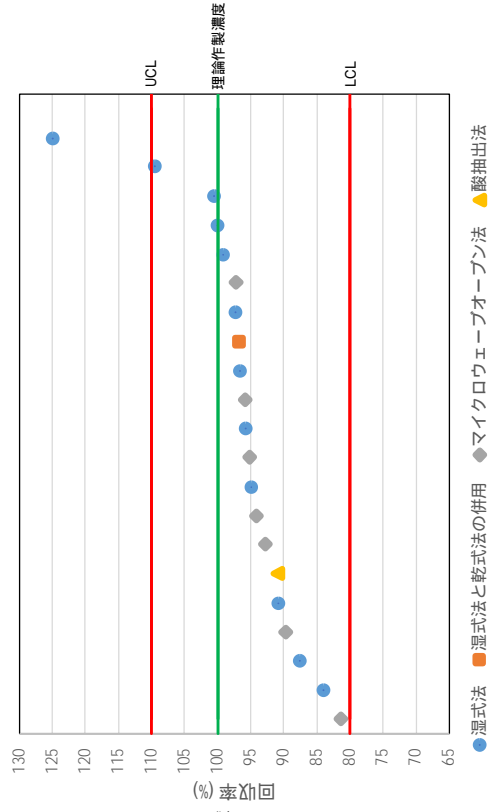


図8 昇順に並び替えた湿質量あたりの理論作製濃度に対する回収率とそれに対応する併行相対標準偏差および試料採取量の関係

図9 昇順に並び替えた湿質量あたりの理論作製濃度に対する回収率とそれに対応する併行相対標準偏差および試料の前処理方法の関係

UCLは上部管理限界線(理論作製濃度の110%)、LCLは下部管理限界線(理論作製濃度の80%)

表1 均質性確認試験結果

	湿質量	乾燥質量
理論作製濃度 (mg/kg)	0.654	0.691
平均濃度 (mg/kg)	0.617	0.655
標準偏差 (mg/kg)	0.00350	0.00377
相対標準偏差 (%)	0.567	0.576
回収率 <sup>*1</sup> (%)	94.3	94.7
F値	1.595	1.595
P-値	0.239	0.239
F境界線	3.020	3.020

\*1 : 平均濃度を理論作製濃度で除した百分率、%

表2 安定性確認試験結果

	湿質量	乾燥質量
理論作製濃度 (mg/kg)	0.654	0.691
平均濃度 (mg/kg)	0.616	0.656
標準偏差 (mg/kg)	0.00306	0.00340
相対標準偏差 (%)	0.497	0.518
安定性 <sup>*2</sup> (%)	99.8	100
F値	1.325	1.397
P-値	0.332	0.304
F境界線	3.020	3.020

\*2 : 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、%

各々の試験において、試料は調査試料から10容器の分析用試料を抽出し、各々2個の分析試料を取り出した



表3 水分含量測定結果

	ブランク試料	調査試料	
		均質性確認	安定性確認
試料数	3	6 (3容器、n=2)	6 (3容器、n=2)
平均値 (%)	14.8	5.73	6.11
標準偏差 (%)	0.0767	0.0989	0.134
相対標準偏差 (%)	0.518	1.73	2.19

表4 ブランク試料中カドミウム濃度測定結果

水分含量 (%)	14.8	0
平均値 (mg/kg)	0.0896	0.105
標準偏差 (mg/kg)	0.000894	0.000894
相対標準偏差 (%)	0.998	0.851

表5 調査試料の理論作製濃度算出の概要

作製に供した玄米粉質量 (水分含量14.8%)	30 kg
水分換算後の玄米粉質量 (水分含量0%)	25.6 kg
カドミウム添加量 (0.125 mg/Lカドミウム溶液、120 L)	15 mg
玄米粉質量 (水分含量14.8%) としてのカドミウム作製濃度	0.5 mg/kg
水分換算後の玄米粉質量 (水分含量0%) としてのカドミウム作製濃度	0.586 mg/kg
ブランク試料中カドミウム濃度 (水分含量14.8%)	0.0896 mg/kg
水分換算後のブランク試料中カドミウム濃度 (水分含量0%)	0.105 mg/kg
調査試料中カドミウム理論作製濃度 (水分含量0%)	+ 0.691 mg/kg
測定試料として供した調査試料中カドミウム理論作製濃度 [調査試料水分含量 (5.41 %) * ]	0.654 mg/kg

\* : 参加機関および当財団測定水分含量平均値

表6 水分含量結果一覧

コード 番号	併行分析数			機関別平均値 (%)	RSD <sub>r</sub> (%)	参加機関および当財 団測定水分含量平均 値に対する割合(%)
	1	2	3			
1	5.207	5.175	5.229	5.20	0.5	96.1
2	5.835	5.615	5.718	5.72	1.9	106
3	5.177	5.195	5.162	5.18	0.3	95.7
4	4.180	3.699	3.999	3.96	6.0	73.2
5	5.917	5.989	6.044	5.98	1.0	111
6	5.399	5.514	5.565	5.49	1.6	101
7	5.496	5.406	5.435	5.45	0.9	101
8	5.045	5.183	5.142	5.12	1.3	94.6
9	5.259	5.317	5.568	5.38	2.9	99.4
10	5.834	5.525	5.530	5.63	3.1	104
11	5.488	5.387	5.467	5.45	0.9	101
12	6.071	6.048	6.073	6.06	0.1	112
13	5.637	5.711	5.674	5.67	0.7	105
14	-	-	-	-	-	-
15	5.564	5.524	5.517	5.54	0.5	102
16	5.390	5.382	5.663	5.48	2.9	101
17	-	-	-	-	-	-
18	5.607	5.420	5.490	5.51	1.6	102
19	4.808	4.743	4.700	4.75	1.0	87.8
20	5.378	5.371	5.366	5.37	0.1	99.3
21	5.696	5.389	5.347	5.48	3.4	101

RSD<sub>r</sub> : 併行相対標準偏差

平均値 (%)	5.39
室間再現標準偏差 $S_R$ (%)	0.455
室間再現相対標準偏差 $RSD_R$ (%)	8.4
当財団 (均質性確認試験) 測定水分含量 (%)	5.73
参加機関および当財団測定水分含量平均値 (%)	5.41

表7-1 湿質量あたりカドミウム濃度 結果および評価一覧 (全21機関)

コード 番号	併行分析数					機関別平均値 (mg/kg)	RSD <sub>r</sub> (%)	回収率* (%)	z-スコア		
	1	2	3	4	5				従来方式	ロバスト Horwitz	
1	0.651	0.648	0.653	0.656	0.635	0.6486	1.25	99.2	0.362	0.758	0.256
2	0.643	0.626	0.628	0.636	0.624	0.6314	1.25	96.5	0.068	0.282	0.095
3	0.837	0.809	0.821	0.811	0.806	0.8168	1.54	125	3.234	5.419	1.832
4	0.630	0.623	0.626	0.634	0.615	0.6256	1.15	95.7	-0.031	0.121	0.041
5	0.655	0.658	0.666	0.653	0.653	0.6570	0.82	100	0.505	0.991	0.335
6	0.621	0.608	0.611	0.619	0.618	0.6154	0.90	94.1	-0.205	-0.161	-0.055
7	0.728	0.761	0.751	0.625	0.715	0.7160	7.54	109	1.513	2.626	0.888
8	0.610	0.609	0.605	0.606	0.607	0.6074	0.34	92.9	-0.342	-0.383	-0.129
9	0.586	0.602	0.594	0.598	0.591	0.5942	1.04	90.9	-0.567	-0.749	-0.253
10	0.605	0.629	0.624	0.622	0.634	0.6228	1.76	95.2	-0.079	0.044	0.015
11	0.584	0.586	0.582	0.591	0.590	0.5866	0.65	89.7	-0.697	-0.959	-0.324
12	0.534	0.532	0.525	0.542	0.530	0.5326	1.16	81.4	-1.619	-2.455	-0.830
13	0.632	0.637	0.635	0.633	0.643	0.6360	0.68	97.2	0.147	0.409	0.138
14	0.597	0.590	0.596	0.591	0.592	0.5932	0.52	90.7	-0.584	-0.776	-0.262
15	0.652	0.656	0.646	0.657	0.659	0.6540	0.78	100	0.454	0.908	0.307
16	0.627	0.627	0.613	0.629	0.641	0.6274	1.58	95.9	0.000	0.171	0.058
17	0.553	0.545	0.548	0.552	0.548	0.5492	0.59	84.0	-1.335	-1.995	-0.675
18	0.623	0.625	0.623	0.622	0.611	0.6208	0.89	94.9	-0.113	-0.012	-0.004
19	0.636	0.638	0.639	0.630	0.635	0.6356	0.55	97.2	0.140	0.398	0.135
20	0.569	0.577	0.566	0.575	0.576	0.5726	0.84	87.6	-0.936	-1.347	-0.455
21	0.625	0.607	0.631	0.649	0.649	0.6322	2.79	96.7	0.082	0.304	0.103
全機関の項目別平均値						0.6274	1.36	95.9			

RSD<sub>r</sub> : 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) \* : 理論作製濃度 (0.654 mg/kg) に対する

表7-2 機関別平均値に係る結果 (データ・クリーニング後)

最小値 (mg/kg)	0.5326
最大値 (mg/kg)	0.8168
平均値 (mg/kg)	0.6274
分散	0.003429
中央値 (メジアン)	0.6256
空間再現標準偏差 S <sub>R</sub> (mg/kg)	0.05856
空間再現相対標準偏差 RSD <sub>R</sub> (%)	9.3
空間再現相対標準偏差の予測値 PRSD <sub>R</sub> (%)	17
HorRat (R)	0.5

注) 別途、Coc Iran検定 Single Gurbb検定 Paired Gurbb検定 (いずれも棄却限界は2.5%) による棄却検定の結果、Coc Iran検定で2機関 (コード番号 : 7および21)、Single Gurbb検定で1機関 (コード番号 : 3) が該当した。

表7-3 項目別該当機関数

		該当機関数	
回収率 (%)	< 80	0/21	
回収率 (%)	> 110	1/21	
従来方式	データ・クリーニング	0/21	
ロバスト方式	メジアン・クリーニング	0/21	
従来方式	2   z-スコア   < 3	0/21	
	z-スコア   3	1/21	

表8-1 乾燥質量あたりカドミウム濃度 結果および評価一覧 (19機関)

コード 番号	併行分析数					機関別平均値 (mg/kg)	RSDr (%)	回収率* (%)	z-スコア				
	1	2	3	4	5				従来方式	ロバスト	Horwitz		
1	0.686	0.683	0.688	0.691	0.669	0.6834	1.25	98.9	1	0.239	0.635	0.196	
2	0.682	0.663	0.666	0.674	0.661	0.6692	1.30	96.8	2	0.006	0.227	0.070	
3	0.882	0.853	0.865	0.855	0.850	0.8610	1.51	125	3	3.154	5.735	1.774	
4	0.655	0.648	0.651	0.660	0.640	0.6508	1.15	94.2	4	-0.296	-0.301	-0.093	
5	0.696	0.699	0.708	0.694	0.694	0.6982	0.83	101	5	0.482	1.060	0.328	
6	0.657	0.643	0.646	0.654	0.653	0.6506	0.90	94.2	6	-0.300	-0.307	-0.095	
7	0.769	0.804	0.794	0.661	0.756	0.7568	7.51	110	7	1.444	2.743	0.848	
8	0.642	0.641	0.637	0.638	0.639	0.6394	0.32	92.5	8	-0.484	-0.629	-0.194	
9	0.619	0.636	0.627	0.632	0.624	0.6276	1.06	90.8	9	-0.677	-0.968	-0.299	
10	0.641	0.666	0.661	0.659	0.671	0.6596	1.72	95.5	10	-0.152	-0.049	-0.015	
11	0.617	0.619	0.615	0.625	0.624	0.6200	0.70	89.7	11	-0.802	-1.186	-0.367	
12	0.568	0.566	0.558	0.576	0.564	0.5664	1.15	82.0	12	-1.682	-2.725	-0.843	
13	0.669	0.675	0.673	0.671	0.681	0.6738	0.68	97.5	13	0.081	0.359	0.111	
14	-	-	-	-	-	-	-	-	14	-	-	-	
15	0.690	0.694	0.683	0.695	0.697	0.6918	0.80	100	15	0.377	0.876	0.271	
16	0.663	0.663	0.648	0.665	0.678	0.6634	1.60	96.0	16	-0.090	0.060	0.019	
17	-	-	-	-	-	-	-	-	17	-	-	-	
18	0.659	0.661	0.659	0.658	0.646	0.6566	0.91	95.0	18	-0.201	-0.135	-0.042	
19	0.667	0.669	0.670	0.661	0.666	0.6666	0.52	96.5	19	-0.037	0.152	0.047	
20	0.601	0.609	0.598	0.607	0.608	0.6046	0.79	87.5	20	-1.055	-1.628	-0.504	
21	0.661	0.642	0.667	0.686	0.686	0.6684	2.77	96.7	21	-0.007	0.204	0.063	
全機関の項目別平均値									0.6689			1.45	96.8

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) \* : 理論作製濃度 (0.691 mg/kg) に対する

表8-2 機関別平均値に係る結果 (データ・クリーニング後)

最小値 (mg/kg)	0.5664
最大値 (mg/kg)	0.8610
平均値 (mg/kg)	0.6689
分散	0.003711
中央値 (メジアン)	0.6634
空間再現標準偏差 $S_R$ (mg/kg)	0.06091
空間再現相対標準偏差 $RSD_R$ (%)	9.1
空間再現相対標準偏差の予測値 $FRSD_R$ (%)	17
HorRat (R)	0.5

注) 別途、Cochran検定 Single Gurbbb 検定 Paired Gurbbb 検定 (いずれも棄却限界は2.5%) による棄却検定の結果、Cochran検定で2機関 (コード番号 : 7および21)、Single Gurbbb 検定で1機関 (コード番号 : 3) が該当した。

表8-3 項目別該当機関数

回収率 (%)	該当機関数
< 80	0/19
> 110	1/19
データ・クリーニング	
従来方式	データ・クリーニング 0/19
ロバスト方式	メジアン・クリーニング 0/19
従来方式	
	2   z-スコア   < 3 0/19
	z-スコア   3 1/19

表9 乾燥質量あたりの回収率に対する湿質量あたりの回収率の割合（19機関）

コード 番号	回収率* (%)		100-[乾燥質量あたり回収率 に対する湿質量あたり回収率 の割合(%)]
	湿質量あたり	乾燥質量あたり	
1	99.2	98.9	0.3
2	96.5	96.8	-0.3
3	124.9	124.6	0.2
4	95.7	94.2	1.6
5	100.5	101.0	-0.5
6	94.1	94.2	-0.1
7	109.5	109.5	0.0
8	92.9	92.5	0.4
9	90.9	90.8	0.1
10	95.2	95.5	-0.3
11	89.7	89.7	0.0
12	81.4	82.0	-0.7
13	97.2	97.5	-0.3
14	-	-	-
15	100.0	100.1	-0.1
16	95.9	96.0	-0.1
17	-	-	-
18	94.9	95.0	-0.1
19	97.2	96.5	0.7
20	87.6	87.5	0.1
21	96.7	96.7	0.0

\*: 各理論作製濃度に対する

表10-1 本調査研究における採用手法の質問事項一覧 -1/3

前処理方法

[1] 試料採取量	0.5 g	1 g	2 g	5 g	10 g	20 g	その他
[2] 試料の前処理等	湿式法		乾式法		および	の併用	
	マイクロウェーブオープン法				酸抽出法		その他
【 [2] で 湿式法、および の併用、マイクロウェーブオープン法 を選択した場合 】							
[3] 使用した酸の種類	1種類のみ		混酸				
【 [3] で 1種類のみ を選択した場合 】							
[4] 使用した酸の種類	硝酸		硫酸		その他		
【 [3] で 混酸 を選択した場合 】							
[5] 使用した酸の種類 (全て)	硝酸		硫酸		過塩素酸		塩酸
	過酸化水素		その他				
【 [2] で 乾式法、および の併用 を選択した場合 】							
[6] 使用した容器の種類	磁製		石英		白金		ガラス製
	その他						
【 [2] で 酸抽出法 を選択した場合 】							
[7] 使用した酸の種類	塩酸		硝酸		混酸		その他

表10-2 本調査研究における採用手法の質問事項一覧 -2/3

## 測定方法

---

[ 8 ] 測定用溶液の調製方法						
前処理後、酸溶液または水で溶解あるいは希釈して測定						
前処理後、溶媒抽出して測定						
【 [8] で 前処理後、酸溶液または水で溶解あるいは希釈して測定 を選択した場合 】						
[ 9 ] 溶液の種類						
塩酸溶液	硝酸溶液	水	その他			
【 [8] で 前処理後、溶媒抽出して測定 を選択した場合 】						
[ 10 ] キレート剤の種類						
DDTC	A PDC	ジチゾン	その他			
【 [8] で 前処理後、溶媒抽出して測定 を選択した場合 】						
[ 11 ] 溶媒の種類						
メチルイソブチルケトン	酢酸エチル	酢酸ブチル				
四塩化炭素	その他					
[ 12 ] 使用機器						
原子吸光光度計 (フレイム)	原子吸光光度計 (フレイムレス)					
ICP	ICP-MS	その他				
【 [12] で 原子吸光光度計 (フレイムレス) を選択した場合 】						
[ 13 ] マトリックス修飾剤について						
使用しなかった	マグネシウム	パラジウム	ニッケル			
	りん酸二水素アンモニウム	その他				
【 [12] で ICP、 ICP-MS を選択した場合 】						
[ 14 ] 内標準について						
使用しなかった	Y	Yb	R h	In	Sc	
Tl	C s	その他				
【 [12] で ICPを選択した場合 】						
[ 15 ] ICPの種類						
マルチチャンネル型	シーケンシャル型				その他	
【 [12] で ICPを選択した場合 】						
[ 16 ] プラズマの観測方式 (観測方向)						
横方向	軸方向	その他				
【 [12] で ICPを選択した場合 】						
[ 17 ] ネブライザの種類						
標準ネブライザ	超音波ネブライザ				その他	
【 [12] で ICP-MS を選択した場合 】						
[ 18 ] コリジョン/リアクションモードの使用について						
無	有					

---

表10-3 本調査研究における採用手法の質問事項一覧 -3/3

測定パラメータ

---

[ 19 ] バックグラウンド補正の有無について			
無	有		
【 [19] で 有 を選択した場合 】			
[ 20 ] バックグラウンド補正方法			
D <sub>2</sub> 法	ゼーマン法	SR法	その他
[ 21 ] 定量計算法			
絶対検量線法	標準添加法	内標準法	その他
[ 22 ] 検量線作成における原点について			
原点を通して	原点を通して	いない	
【 [22] で 原点を通していない を選択した場合 】			
[ 23 ] 測定に用いる溶液の種類とその取り扱い			
濃度ゼロとした溶液を測定し、その実測値を採用している			
原点用としての溶液は特に測定していない			
その他			
【 [23] で 濃度ゼロとした溶液を測定し、その実測値を採用している を選択した場合 】			
[ 24 ] 濃度ゼロとした溶液の種類			
水	標準溶液の希釈に用いた溶液	抽出に用いた溶媒	
抽出時における試薬ブランク	その他		
[ 25 ] 濃度の点数			
[ 26 ] 回帰式			
一次式	二次式	その他	

---



表11-1 本調査研究における採用手法の回答結果一覧 -1/2

以下、表中のNIは、該当なしを示す。

前処理方法	コード番号																				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
[1]	4	4	5	5	1	5	1	7	2	1	2	1	4	5	2	4	4	5	5	1	
[2]	1	1	1	1	4	1	4	5	4	4	4	4	1	1	1	4	1	1	1	1	3
[3]	2	2	2	2	2	2	2	1	N	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	1
[4]	N	N	N	N	N	N	N	1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	1	N	N	1
[5]	1,2	1,2	1,2	1,5	1,5	1,5	1,2	N	1,5	1,5	1,5	1,5	1,2	1,2,5	1,5	1,2	N	1,5	1,2	N	N
[6]	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	1
[7]	N	N	N	N	N	N	N	N	2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N

測定方法	コード番号																				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
[8]	2	1	2	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	2	1
[9]	N	3	N	2	3	3	N	2	2	3	3	2	2	2	3	2	N	2	2	N	2
[10]	1	N	1	N	N	N	1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	1	N	N	1	N
[11]	1	N	1	N	N	N	1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	1	N	N	1	N
[12]	1	1	1	4	4	2	1	4	1	2	2	3	2	4	1	3	1	4	4	1	2
[13]	N	N	N	N	N	3,6	N	N	N	2,3	5,6	N	3	N	N	N	N	N	N	N	2,3
[14]	N	N	N	2	5	N	N	5	N	N	N	2	N	5	N	2	N	2	5	N	N
[15]	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	1	N	N	1	1	N	N	N	N	N
[16]	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	2	N	N	2	2	N	N	N	N	N
[17]	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	1	N	N	1	1	N	N	N	N	N
[18]	N	N	N	2	2	N	N	1	N	N	N	N	N	1	N	N	N	1	2	N	N

表11-2 本調査研究における採用手法の回答結果一覧 -2/2

以下、表中のNIは、該当なしを示す。

測定パラメータ	コード番号																				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
[19]	2	2	2	1	1	2	2	1	2	2	2	2	2	1	2	2	2	1	1	2	2
[20]	2	1	1	N	N	2	3	N	1	2	1	4	2	N	1	4	2	N	N	1	2
[21]	1	1	1	3	3	1	4	3	1	1	2	3	1	3	1	1	1	3	3	1	1
[22]	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	N	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2
[23]	1	2	1	1	2	1	3	2	1	1	N	2	1	1	1	1	1	1	1	N	2
[24]	3	N	4	2	N	2	N	N	2,4	2	N	N	2	1	1	5	2	2	2	N	N
[25]	4	5	7	4	5	7	8	5	6	6	5	5	5	4	4	6	4	5	7	1	5
[26]	1	1	1	1	1	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

表12-1 重金属検査における採用手法の度数表-1/2

		測定のカテゴリ									
		合計	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>前処理方法</b>											
試料採取量		21	0.5g	1.9	2.9	5.9	10.9	20.9	その他		
			5	3	0	5	7	0	1	( $\pm 2.5g$ )	
前処理		21	湿式法	乾式法	併用	マイクロウェーブ オープン法	酸抽出法	その他			
			12	0	1	7	1	0			
湿式法、湿式法と乾式法の併用、 マイクロウェーブオープン法の場合：		20	1種類のみの 酸の種類	混合酸							
酸の種類			3	17							
1種類のみの場合：		3	硝酸	硫酸	その他						
酸の種類			3	0	0						
混合酸の場合：		35	硝酸	硫酸	過塩素酸	塩酸	過酸化水素	その他			
酸の種類			17	8	0	0	10	0			
乾式法、湿式法と乾式法の併用の場合：		1	磁製 容器の種類	石英	白金	ガラス製	その他				
酸抽出法の場合：		1	塩酸	硝酸	混合酸	その他					
酸の種類			0	1	0	0					
<b>測定方法</b>											
測定用溶液の調製方法		21	酸溶液または水で溶解 あるいは希釈	溶媒抽出							
			16	5							
酸溶液または水で溶解あるいは希釈の場合：		16	塩酸溶液	硝酸溶液	水	その他					
溶媒抽出の種類			0	10	6	0					
溶媒抽出の場合：		5	D.D.T.C.	APDC	ジチオン	その他					
キレート剤の種類			5	0	0	0					
溶媒抽出の場合：		5	メチルソルフィドケトン	酢酸エチル	酢酸エチル	四塩化炭素	その他				
溶媒抽出の種類			5	0	0	0	0				

複数回答を含む



令和元年度 厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

食品衛生検査を実施する試験所における品質保証システムに関する研究

### 研究分担報告書

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

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

#### 研究要旨

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

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

今年度は小麦タンパク質を10 µg/g添加した試料(基材としてベビーフードおよび10%精製水含有こしあん)を用い、定量試験法であるELISA法について外部精度管理調査研究を実施した。参加機関は26機関で、各機関、原則として消費者庁から提示されている3キット中任意の2種類で測定を行うこととした。参加機関から得た測定結果は試料ごと、および測定キットごとにまとめ、ロバスト方式により統計値を算出した後、z-スコアを算出した。また、測定結果から得られた含有量を指標としたXbar-R管理図を用いた解析も行った。

その結果、各キットおよび試料ごとの解析結果においてメジアン・クリーニングにより除外される機関は全体を通して1機関であった。また、z-スコアの絶対値が2~3および3以上となる機関が数機関認められた。Xbar管理図では管理限界線の範囲を超える機関は2機関、R管理図で管理限界線を超える機関が1機関認められた。

また、組成が変更となった基材についての確認や、卵、小麦およびそばタンパク質、3種の特定原材料を精製水含有こしあん基材に同時に添加した試料を作製し、長期の安定性についての検討等も行った。

## A. 研究の目的

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

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

検査法としてELISA法による定量試験、PCR法またはウェスタンブロッティング法による定性試験を行うことが、消費者次長通知「アレルギー物質を含む食品の検査方法について」(平成22年9月10日消食表第286号、平成26年3月26日消食表第36号一部改正)および消費者庁食品表示企画課事務連絡「アレルギー物質を含む食品の検査方法について(参考)」(平成22年9月10日、平成26年3月26日一部改正)(以下、通知法)に記載されている。

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

我々はこれまでに外部精度管理調査用として卵または小麦を添加した試料を配布し、データの解析を行ってきた。本年度は、添加タンパク質は昨年同様小麦タンパク質とし、基材を変えた試料を配布し、回収したデータの解析を行った。

また、新規の外部精度管理調査用試料の作製の検討として多種のアレルゲンを同時に添加した試料作製についての検討、新規試料作製のための検討等も引き続き行った。

## B. 研究方法

### 1. 基材

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

### 2. 各種添加溶液の調製

#### 1) 添加用卵タンパク質の調製

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

#### 2) 添加用小麦タンパク質の調製

日清 全粒粉お菓子・料理用(以下、小麦粉)(日清フーズ)から、添加用小麦タンパク質液を調製した。小麦粉を1g/50-mLチューブに分取後、0.6% SDSおよび0.1 M 亜硫酸ナトリウムを含有する0.1 M Tris-HCl (pH 8.6)を20 mL/チューブ添加し、室温下で1晩振盪した。懸濁液は遠心(10,000×g, 30 min)後、上清をでろ過(0.8 μm フィルター)し、添加用小麦タンパク質調製液とした。

### 3) 添加用そばタンパク質の調製

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

### 4) 添加用乳タンパク質のための検討

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

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

各物質を1 g/50-mL チューブに分取後、0.6% SDS, 0.1 M 亜硫酸ナトリウム, 含有PBS (pH 7.4)を20 mL/チューブ添加し、室温下で1晩振盪した。懸濁液は遠心(10,000 ×g, 30 min)後、上清をろ過(0.8 μm フィルター)し、添加用乳タンパク質調製液とした。

### 5) タンパク質量の測定

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

## 3. 試料調製

### 1) 外部精度管理調査試料の調製

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

ードおよびこしあんを使用し、これに添加用小麦タンパク質溶液をそれぞれ総小麦タンパク量で10 μg/g となるように添加した。

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

それぞれの試料は約10 g ずつ分注、パラフィルムを巻いた後、送付まで-20 で凍結保存した。ベビーフード試料を試料1、こしあん試料を試料2とし、調査研究試料とした。均質性および安定性はこれらの試料を用いて確認を行った。

### 2) 長期安定性を確認するための3種タンパク質を添加したこしあん試料の作製

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

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

それぞれの試料はいずれも約10 g ずつ分注し、-20 で凍結保存した。

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

### 3) 組成が変わった基材の確認

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

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

#### 4. ELISA キット

特定原材料として卵タンパク質、小麦タンパク質、そばタンパク質および乳タンパク質の検出は、通知法に記載のELISAキットを使用した。また、乳タンパク質の検出には、通知法に記載はないが、森永生科学研究所のβ-ラクトグロビン検出キットも使用した。

##### 1)小麦タンパク質検出

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

##### 2)そばタンパク質検出

- FASTKIT エライザ Ver. III そば(日本ハム)(以下、日本ハム(そば)キット)
- モリナガ FASPEK エライザ II そば(森永生科学研究所)(以下、モリナガ(そば)キット)
- アレルゲンアイ ELISA® II そば(プリマハム)(以下、プリマハム(そば)キット)

##### 3)卵タンパク質検出

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

ルブミン)(森永生科学研究所)(以下、モリナガ(卵)キット)

- アレルゲンアイ ELISA® II 卵(オボアルブミン)(プリマハム)(以下、プリマハム(卵)キット)

#### 4)乳タンパク質検出

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

#### 5.外部精度管理調査試料の均質性および安定性

外部精度管理調査用試料について均質性および安定性の確認を行った。均質性の確認は、試料の作製1ヶ月後に行った。調査試料の各基材についてそれぞれランダムに10容器からn=1でサンプリングして、ELISA法による小麦タンパク質濃度の測定を行い、平均値、標準偏差、変動係数を算出した後、均質であるかどうかを判断した。また、試料作製後5ヶ月(調査期間後)において試料を測定し、均質性測定における濃度に対する割合として安定性を算出した。

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



吸光度測定および濃度計算にはマイクロプレートリーダー-EL 808IU および計算ソフトウェア DeltaSoft JV Ver.1.80 (Bio-Tek Instruments, Inc.) を使用した。

## 6. 外部精度管理調査の実施

外部精度管理調査には 26 機関が参加した。これらの機関には 2019 年 9 月 30 日に調査試料と実施要領を宅配便(冷凍)にて送付した。

測定には、原則として各機関、日本ハム(小麦)キット、モリナガ(小麦)キット、プリマハム(小麦)キットのうち、任意の 2 種類を使用することとした。測定法は測定キットのプロトコールおよび各機関の SOP に従い、サンプリング数は 1 試料につき 2 抽出、ELISA 測定は 1 抽出につき 3 ウェル併行とした。また、報告書の回収期限は 2019 年 11 月 1 日とした。

## 7. 外部精度管理調査結果の解析

参加機関から提出された測定値は、通知法の別紙 5「アレルギー物質を含む食品の検査方法を評価するガイドライン」の「4. 特定原材料検知法開発者が公表すべき検査方法の性能とその範囲に関する提言」に「免疫化学反応に基づく定量法では、用いる抗体により定量値が異なることが予想される」との記載があることから、試料別、測定キット別に集計した。

これらのデータについては Xbar-R 管理図を代用した解析を実施した。

なお、Xbar 管理図の管理限界線の値は [ロバスト平均値 ± ロバスト平均値の 30%] とした。管理限界線に採用した 30% は ELISA キットの室間精度 25 % (前出、通知の別紙 5 内に記載されている定量法の評価のための試験室間バリデーションの基準) とこれまでのデータを基

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

また、測定値から算出した小麦タンパク質量については、用いるキットにより検出される抗原のプロファイルが異なることから、各試料およびキットごとに算出したロバスト平均値を付与値として解析を行った。

ロバスト方式の統計は、Huber の proposal 2 の推定方式による統計をエクセル・マクロによるプログラム〔作成：システムサポート、大隅昇〕により行い、得られたロバスト平均値およびロバスト標準偏差を用いて z-スコアを算出した。さらに、アンケート結果をとりまとめ、検討を加えた。今回の外部精度管理調査研究でモリナガ(小麦)キットを使用した機関は 26 機関、日本ハム(小麦)キットを使用した機関は 24 機関、プリマハム(小麦)キットを使用した機関は 2 機関であった。プリマハム(小麦)キットは使用機関数が少なかったことからキットごとの統計解析を行わなかった。

## 8. 添加用乳タンパク質の検討

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

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

## 9. 3 種タンパク質を添加したこしあん試料

## の安定性

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

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

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

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

### （倫理面への配慮）

添加試料が食材であるため、誤って口に入ることが無いよう、試料の残余や廃棄物は速やかに焼却処分とした。

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

## C. D. 結果および考察

### 1. 外部精度管理調査

#### 1) 外部精度管理調査試料の均質性

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

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

#### 2) 外部精度管理調査試料の安定性

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

したがって、調査試料は、調査期間中、安定性であったと結論した。

#### 3) 外部精度管理調査結果(回収データの集計結果)

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

変動係数はモリナガ(小麦)キットで 0.0729~0.0741、日本ハム(小麦)キットでは 0.1304~0.1392 と日本ハム(小麦)キットでやや高い値を示した。

#### 4) キット別集計結果

##### (1) モリナガ(小麦)キット

モリナガ(小麦)キットを用いて測定した全 26 機関のデータにより算出された統計量を表 3 に示した。また、報告値のヒスト

グラムおよび正規確率プロットを図 3 に、試料 1 および試料 2 の結果および評価一覧を表 4 および表 5 に記載した。

#### a) 試料 1 の解析結果

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

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

#### b) 試料 2 の解析結果

モリナガ(小麦)キットを用いて測定した全 26 機関中、MC で除外された機関はなかった。全機関のロバスト平均値±ロバスト標準偏差は  $8.447 \pm 0.626 \mu\text{g/g}$  であった。これに基づき z-スコアを算出したところ、z-スコアの絶対値が 3 以上の機関が 1 機関あり、これは明らかな外れ値と考えられた。また、z-スコアの絶対値が 2 以上、3 未満の機関は 1 機関であった [図 4、b)]。

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

#### (2) 日本ハム(小麦)キット

日本ハム(小麦)キットを用いて測定した全 24 機関のデータにより算出された統計量を表 6 に示した。また、報告値のヒストグラムおよび正規確率プロットを図 6 に、試料 1 および試料 2 の結果および評価一覧

を表 7 および表 8 に記載した。

#### a) 試料 1 の解析結果

日本ハム(小麦)キットを用いて測定した全 24 機関中、MC で除外された機関はなかった。全機関のロバスト平均値±ロバスト標準偏差は  $13.392 \pm 1.746 \mu\text{g/g}$  であった。これに基づき z-スコアを算出したところ、z-スコアの絶対値が 3 以上の機関はなかった。また、z-スコアの絶対値が 2 以上、3 未満の機関は 1 機関であった [図 7、a)]。

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

#### b) 試料 2 の解析結果

日本ハム(小麦)キットを用いて測定した全 24 機関中、MC で除外された機関はなかった。全機関のロバスト平均値±ロバスト標準偏差は  $11.618 \pm 1.617 \mu\text{g/g}$  であった。これに基づき z-スコアを算出したところ、z-スコアの絶対値が 2 以上の機関は認められなかった [図 7、b)]。

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

#### (3) プリマハム(小麦)キット

プリマハム(小麦)キットを用いて測定した機関は 2 機関であったため、統計解析は行わず各機関の平均値および濃度の範囲についてのみ記載した(図 9)。

#### (4) キットのロットと測定値について

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

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

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

日本ハム(小麦)キット [図10、b)] については全4ロット中2ロットがそれぞれ3機関の使用で、残りの2ロットでは8および10機関が使用していた。全体の分布からは明確なロット差は認められなかった。

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

#### (5) 検量線について

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

モリナガ(小麦)キットおよび日本ハム

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

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

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

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

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

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

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

#### (6) 測定値の相関性

##### a) 同一キットにおける試料間の測定値の相関性

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

##### b) 同一試料におけるキット間の測定値の相関性

各試料におけるモリナガ(小麦)キットと日本ハム(小麦)キット間の相関を図 17 に示した。その結果、試料 1 では相関係数が 0.597、試

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

#### 5) 回収データの確認

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

#### 6) 検査手法のまとめ

各参加機関が検査に用いた方法を表 12 および表 13 に示した。

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

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

試料溶液の添加はすべての機関が 20 分以内に行っていた。

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

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

## 7) 検査実績のまとめ

参考として参加機関における検査実績(平成 29 年度)を表 14 および表 15 に示した。

卵、乳、小麦、そば、落花生、甲殻類の特定原材料 6 種中、すべてで実績があるのは 8 機関であり、参加機関の約 1/3 であった。

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

## 2. 組成が変わった基材の確認

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

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

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

## 3. 添加用乳タンパク質の検討

乳検出のための試料作製を行うに際し、添加する乳タンパク質サンプルの検討を行

った。

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

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

したがって添加用乳タンパク質はスキムミルク又は全乳粉を使用することとした。

## 4. 3 種タンパク質を添加したこしあん試料の安定性

小麦タンパク質調製液、そばタンパク質調製液、卵タンパク質調製液の 3 種をこしあんに 10% DW を添加した基材に添加し、試料を作製し、その安定性を測定した。測定は ELISA 法により行い、各特定原材料につき 3 種のキットを用いた。

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

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

卵タンパク質の含有量に関しては、日本

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

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

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

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

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

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

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

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

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

#### E . 結論

本年度は、小麦タンパク質を添加したベビーフードおよびこしあんを用いた外部精度管理調査を、26 機関を対象に実施した。

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

また、全体を通して、Xbar 管理図では管理限界線の範囲を超える機関は2 機関、R 管理図で管理限界線を超える機関が1 機関認められた。

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

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

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

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

#### F . 健康危険情報

なし

#### G . 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

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

#### H . 知的所有権の取得状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし



表 1 外部精度管理調査試料の均質性試験における各キットの結果

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

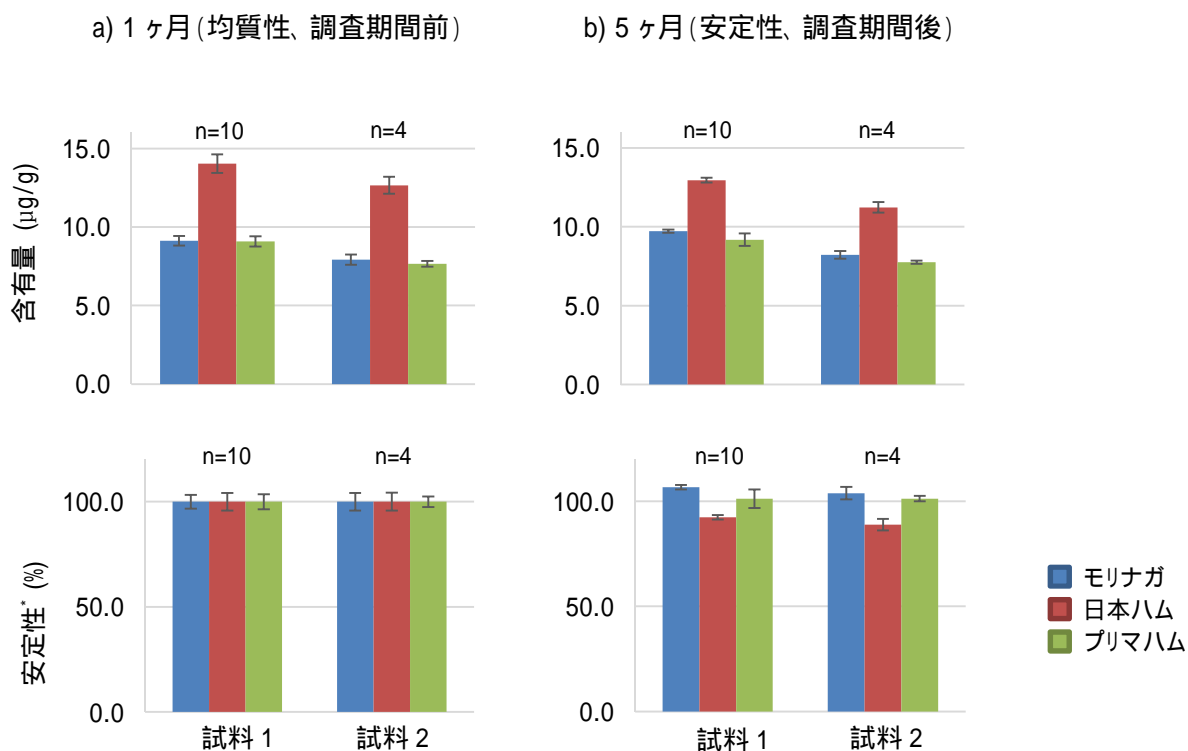


図 1 外部精度管理調査試料(小麦)の含有量および安定性

\*安定性は均質性の値を 100%として算出

上段は含有量、下段は安定性

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

	試料 1			試料 2		
	モリナガ*	日本ハム	プリマハム**	モリナガ	日本ハム	プリマハム**
データ数	25	24	( 2 )	26	24	( 2 )
平均値 (μg/g)	9.865	13.392	( 8.99 )	8.447	11.618	( 7.97 )
標準偏差 (μg/g)	0.719	1.746	( 0.165 )	0.626	1.617	( 0.105 )
変動係数	0.0729	0.1304	( 0.0184 )	0.0741	0.1392	( 0.0132 )
添加量 (μg/g)		10			10	

\*MC 後の値

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

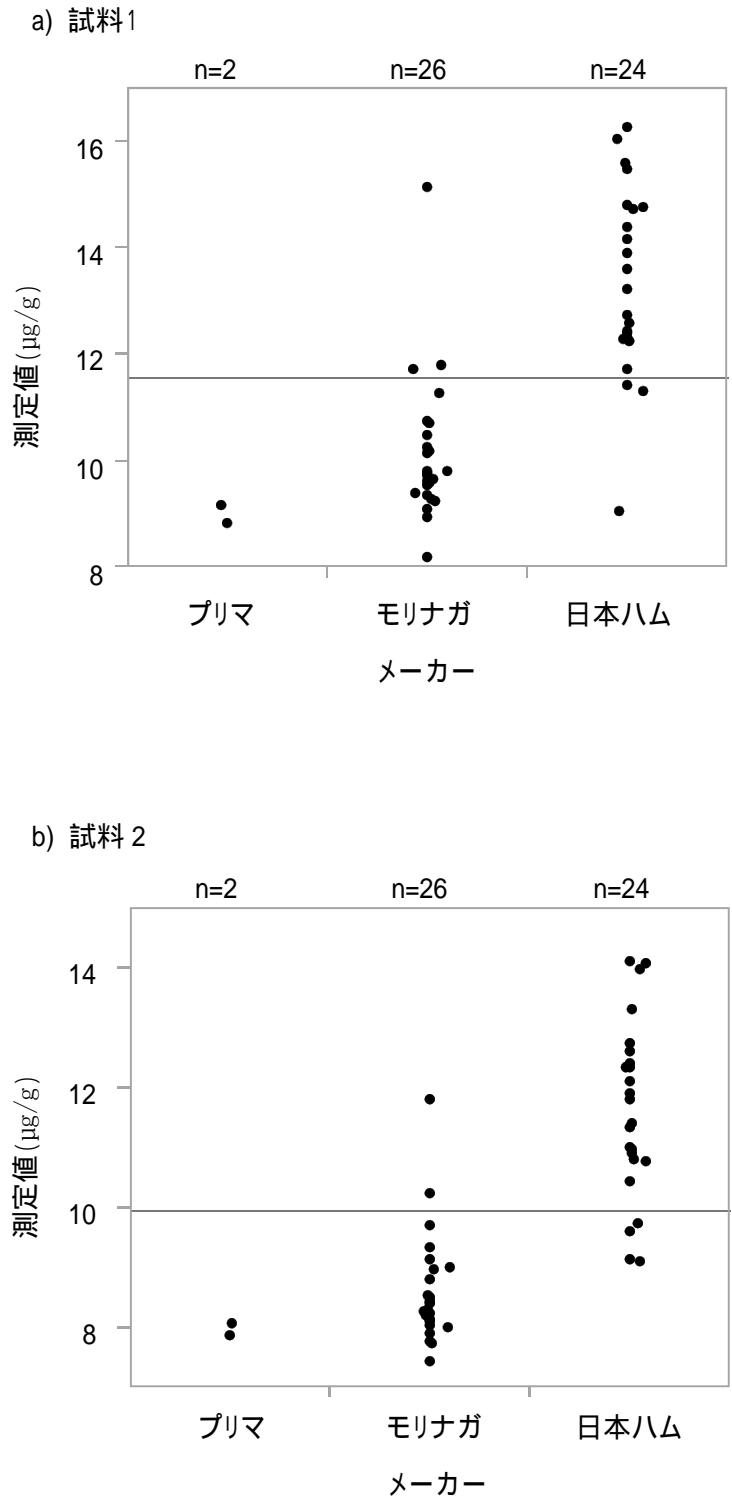
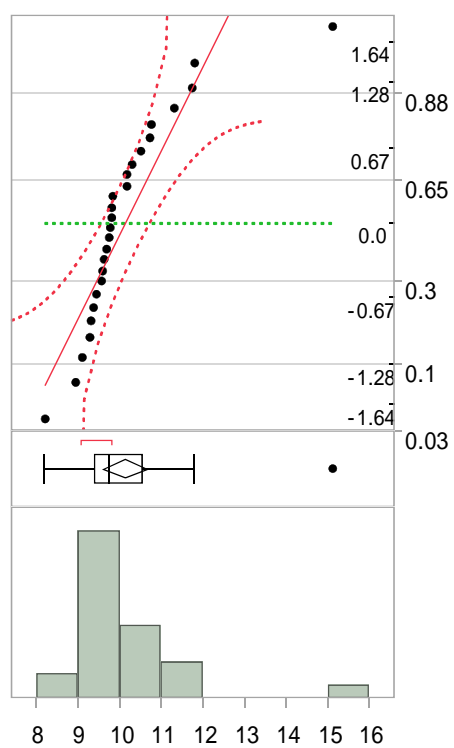


図2 外部精度管理調査研究での各試料におけるキットごとのデータ分布

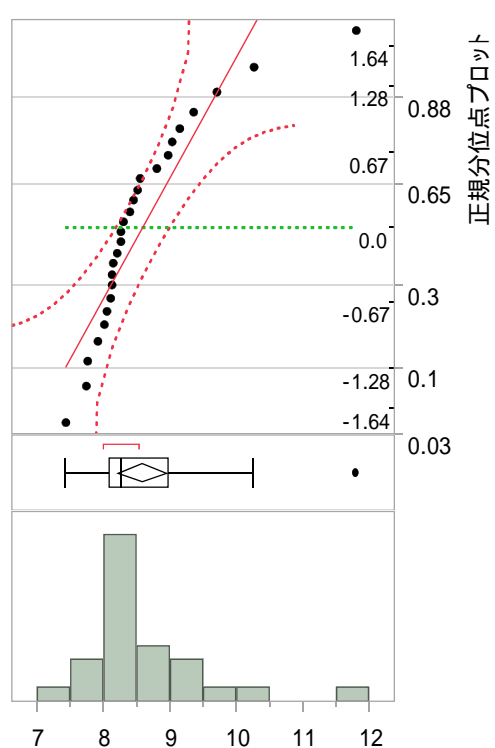
表3 モリナガ(小麦)キットによる測定結果の統計量一覧

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

a) 試料 1



b) 試料 2



(機関数 26)

図3 モリナガ(小麦)キットを用いた測定によるヒストグラムおよび正規分位点プロット

表4 モリナガ(小麦)キットによる試料1の結果および評価一覧

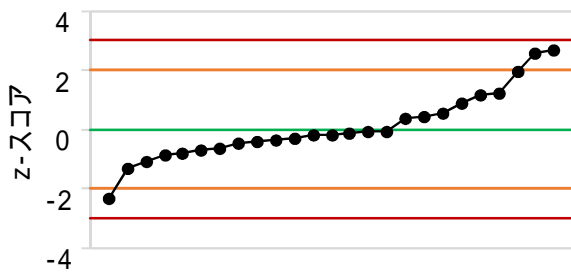
コード 番号	試料1の報告値		$\bar{X}$ 管理図		$R$ 管理図		$z$ -スコア (MC後)	
	1	2	$\bar{X}$	評価	$R$	評価	$z$ -スコア	評価
1	8.62	7.76	8.19	満足	0.86	満足	-2.33	満足
20	8.49	9.35	8.92	満足	0.86	満足	-1.31	満足
5	9.02	9.16	9.09	満足	0.14	満足	-1.08	満足
18	9.59	8.92	9.26	満足	0.67	満足	-0.85	満足
27	9.57	9.00	9.29	満足	0.57	満足	-0.81	満足
6	9.09	9.64	9.37	満足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

\*: MC後の平均および標準偏差より再計算(参考値)

表5 モリナガ(小麦)キットによる試料2の結果および評価一覧

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

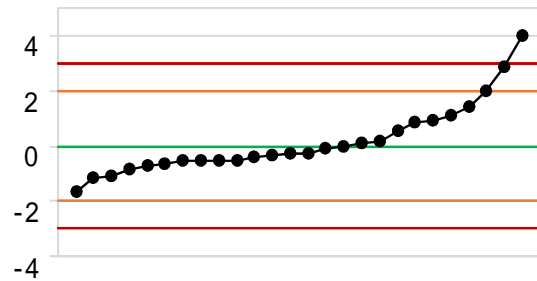
a) 試料 1 (MC 後)



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

(機関数 25)

b) 試料 2



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

図中 z-スコア 4 以上は 4 に設定

(機関数 26)

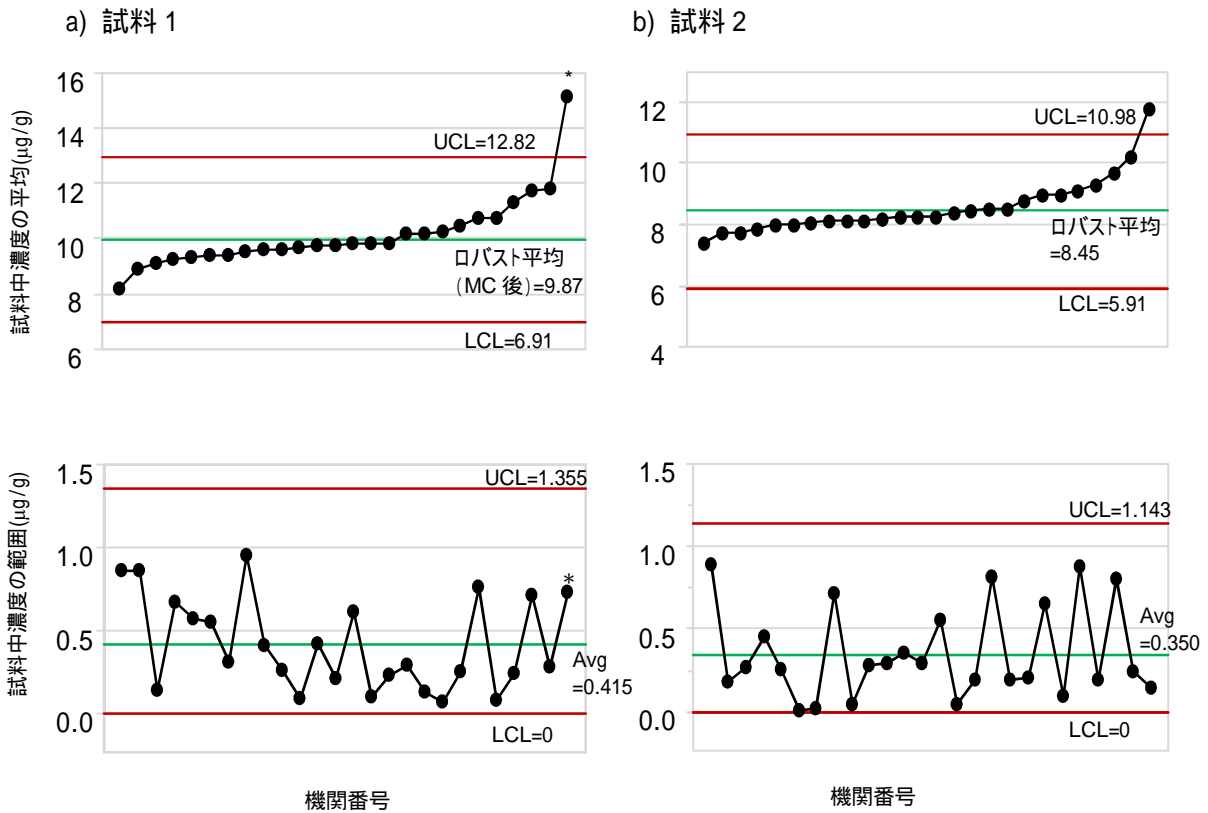
図 4 モリナガ(小麦)キットを用いた測定による z-スコアおよび順位

コード番号(左から)

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

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





(機関数 26)

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

コード番号(左から)

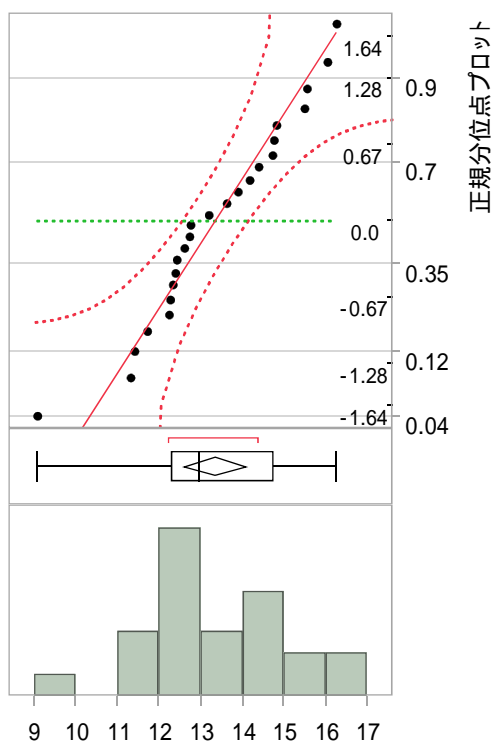
試料1: 1, 20, 5, 18, 27, 6, 13, 7, 4, 21, 2, 24, 15, 12, 9, 11, 10, 26, 3, 22, 19, 17, 23, 16, 8, 25\*  
(\* MC で除外)

試料2: 1, 27, 15, 9, 20, 6, 2, 22, 5, 13, 21, 26, 12, 4, 10, 24, 7, 18, 23, 16, 17, 3, 11, 19, 8, 25  
 $\bar{X}$  管理図(上段)の上部管理限界線(UCL)および下部管理限界線(LCL)はロバスト平均 $\pm 30\%$ とした。 $R$  管理図(下段)の UCL および LCL は  $R$  の平均値と JIS ハンドブックの係数  $D4 (=3.267)$  から算出した。

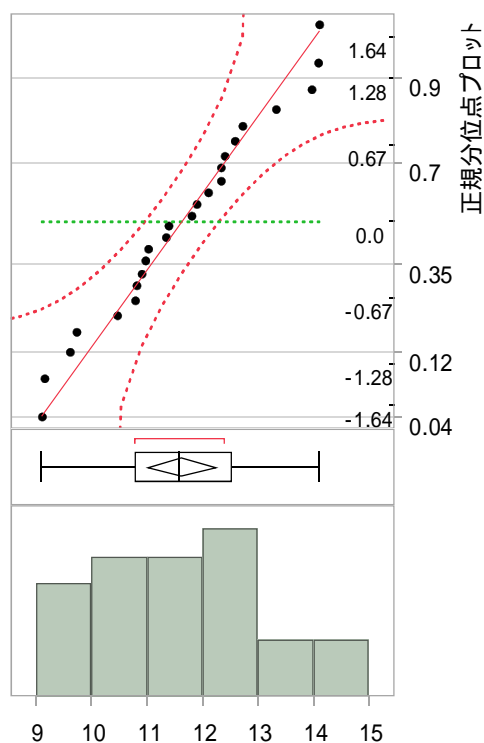
表 6 日本ハム(小麦)キットによる測定結果の統計量一覧

試料名		試料 1	試料 2
統計量の種類		ロバスト方式	ロバスト方式
測定 の統 計量	データ数 (有効機能数)	24	24
	平均値	13.392	11.618
	分散	3.047	2.614
	標準偏差	1.746	1.617
	変動係数	0.13034	0.13917
	第 1 四分位数 (Q1)	12.280	10.776
	中央値(メジアン)	12.968	11.593
	第 3 四分位数 (Q3)	14.743	12.538
	最大値	15.955	13.992
	最小値	10.829	9.243
	範囲	5.126	4.748
	四分位範囲	2.463	1.761
測定 の差	R の平均	0.558	0.470
	上部管理限界	1.823	1.535

a) 試料 1



b) 試料 2



(機関数 24)

図 6 日本ハム(小麦)キットを用いた測定によるヒストグラムおよび正規分位点プロット

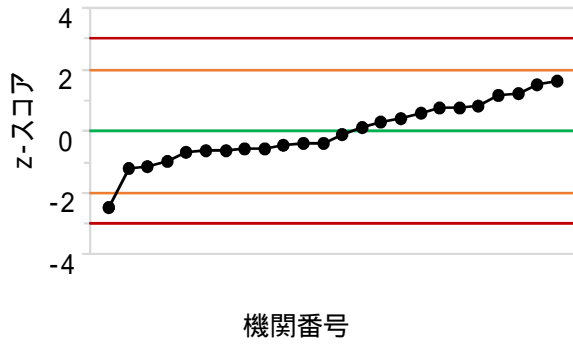
表7 日本ハム(小麦)キットによる試料1の結果および評価一覧

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

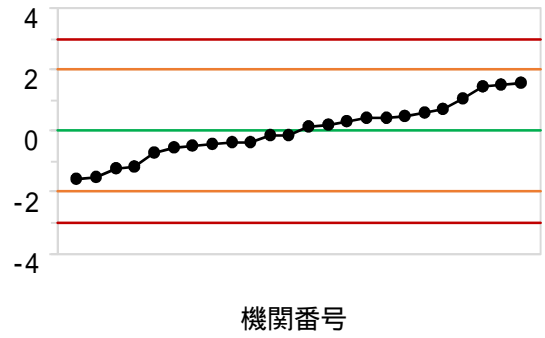
表 8 日本ハム(小麦)キットによる試料 2 の結果および評価一覧

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

a) 試料 1



b) 試料 2



z-スコア ≤ -2 の順位	z-スコア	2 ≤ z-スコ アの順位	z-スコア
1	-2.48		

図中 z-スコア 4 以上は 4 に設定

(機関数 24)

図 7 日本ハム(小麦)キットを用いた測定による z-スコアおよび順位

コード番号(左から)

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

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

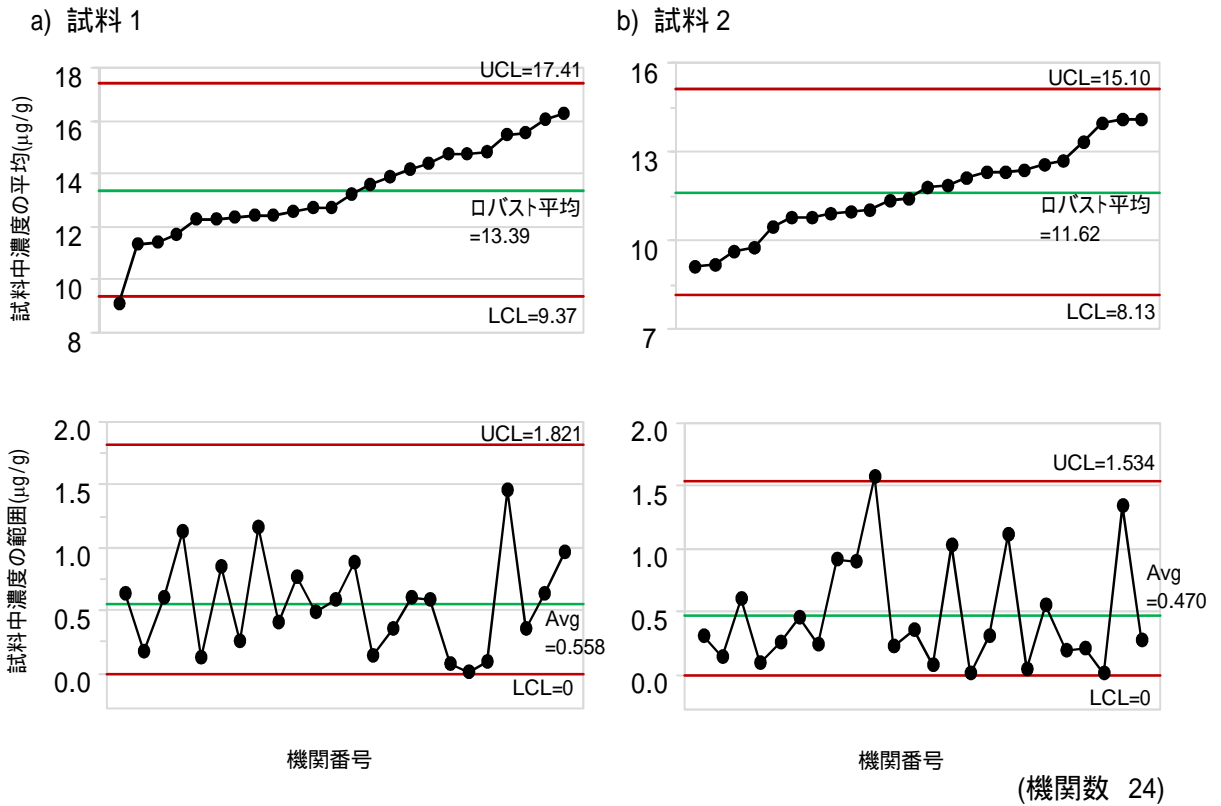


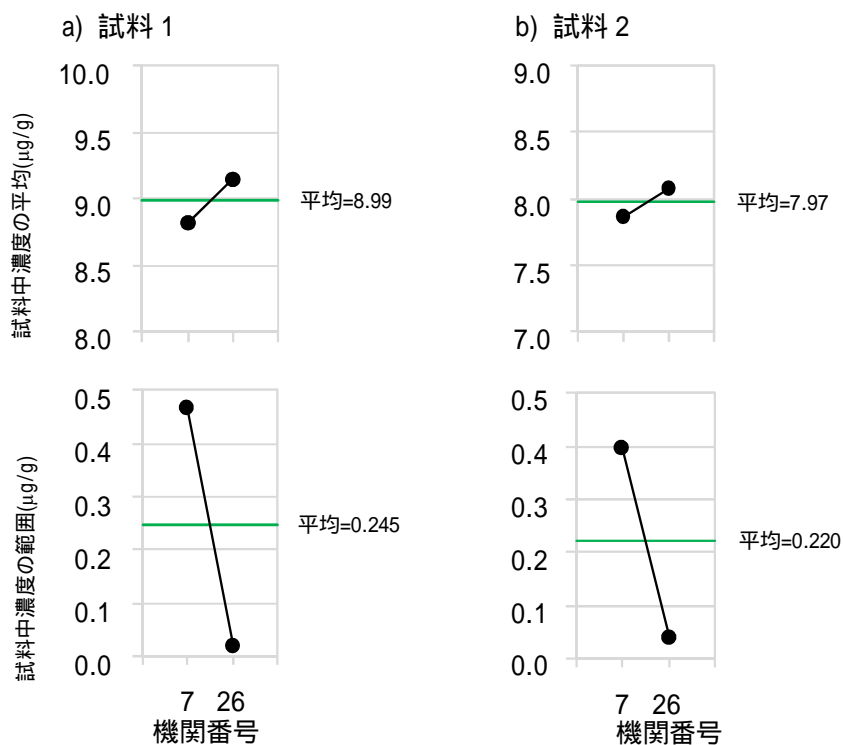
図 8 日本ハム(小麦)キットを用いた測定による Xbar-R 管理図

コード番号(左から)

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

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

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)はロバスト平均 ± 30%とした。R 管理図(下段)の UCL および LCL は R の平均値と JIS ハンドブックの係数 D4(=3.267)から算出した。

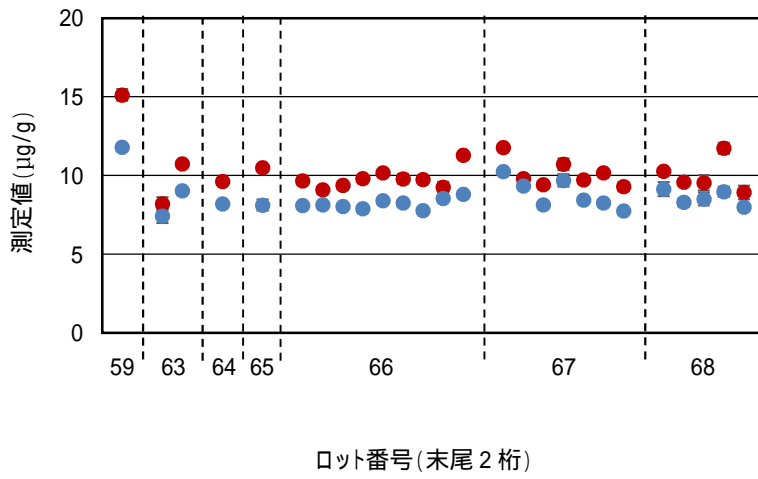


(機関数 2)

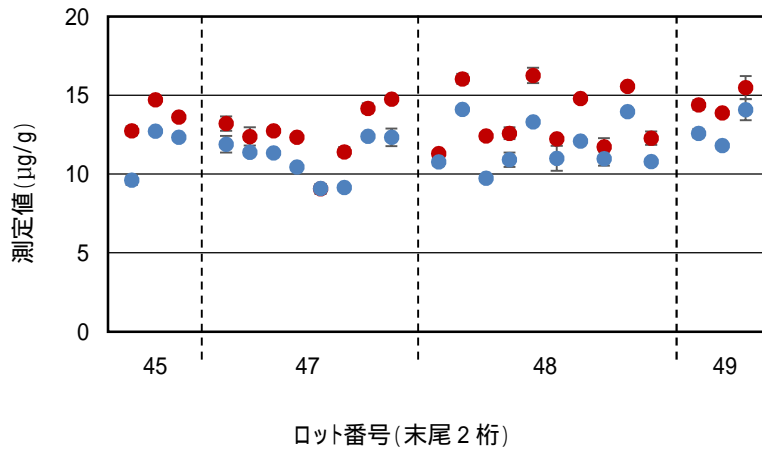
図 9 プリマハム(小麦)キットを用いた測定による平均値および濃度の範囲



a) モリナガ(小麦)キット



b) 日本ハム(小麦)キット



c) プリマハム(小麦)キット

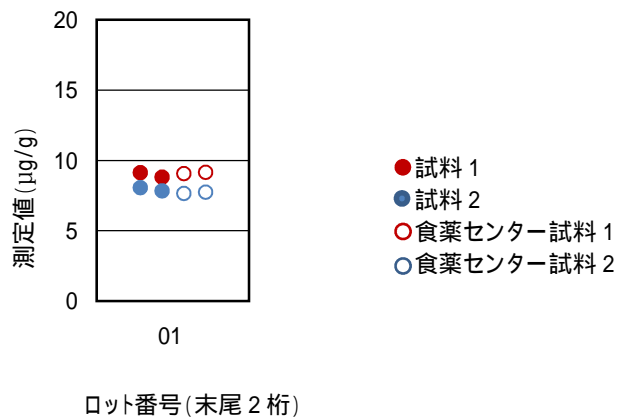


図 10 各キットで得られた測定値のロット間比較

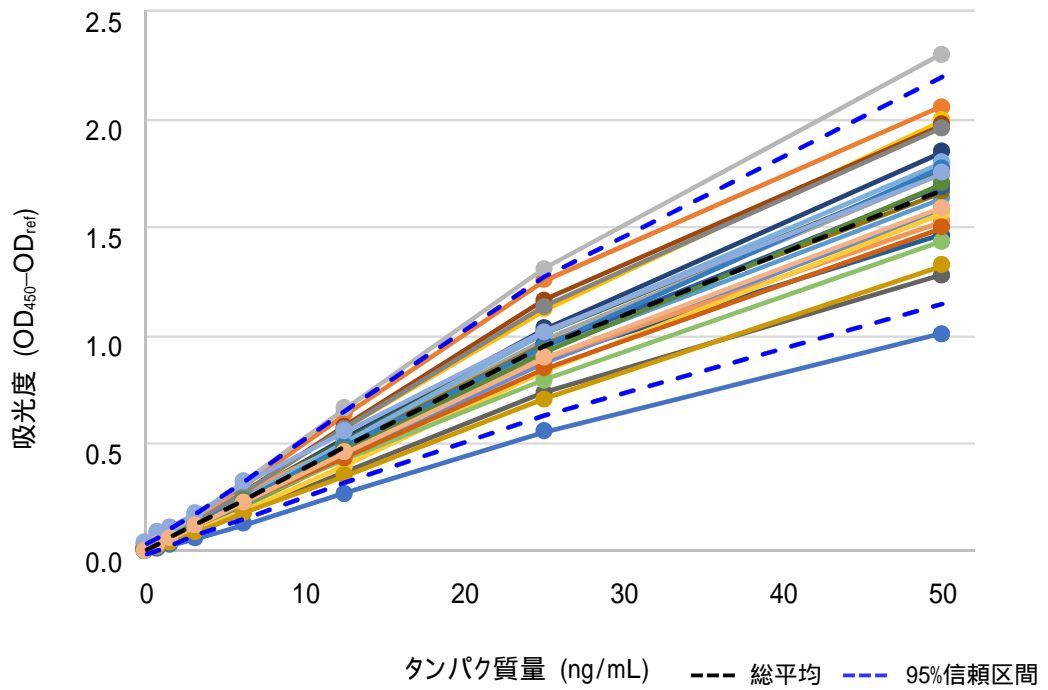


図 11 モリナガ(小麦)キットを用いた測定における検量線(26 機関)  
個別は図 19 を参照

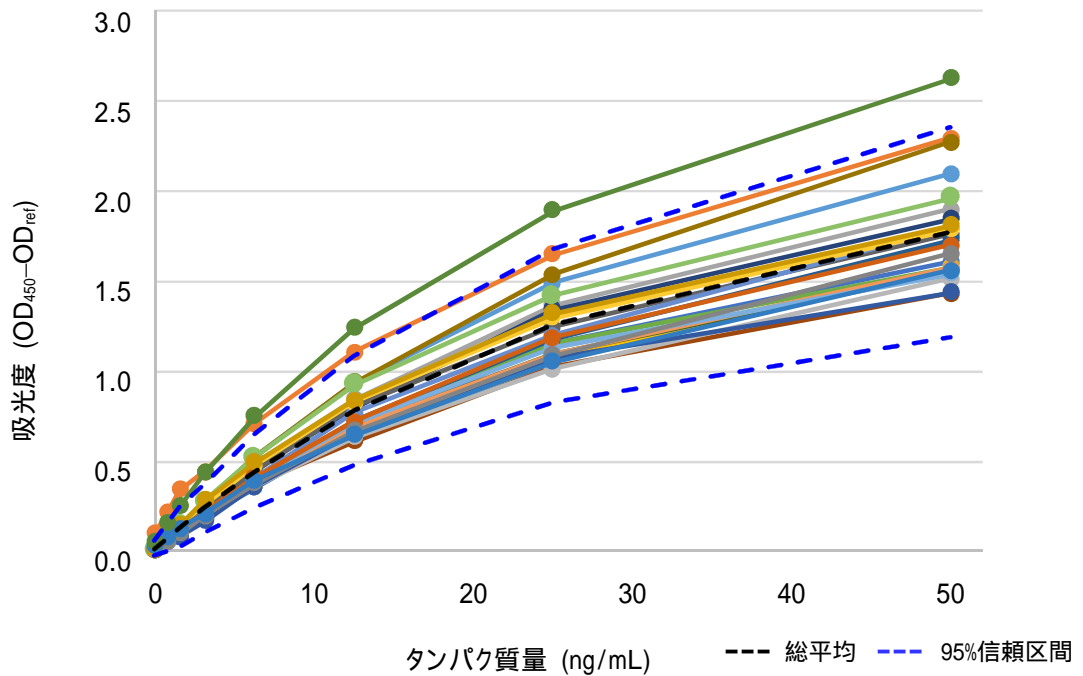


図 12 日本ハム(小麦)キットを用いた測定における検量線(55 機関)  
個別は図 20 を参照

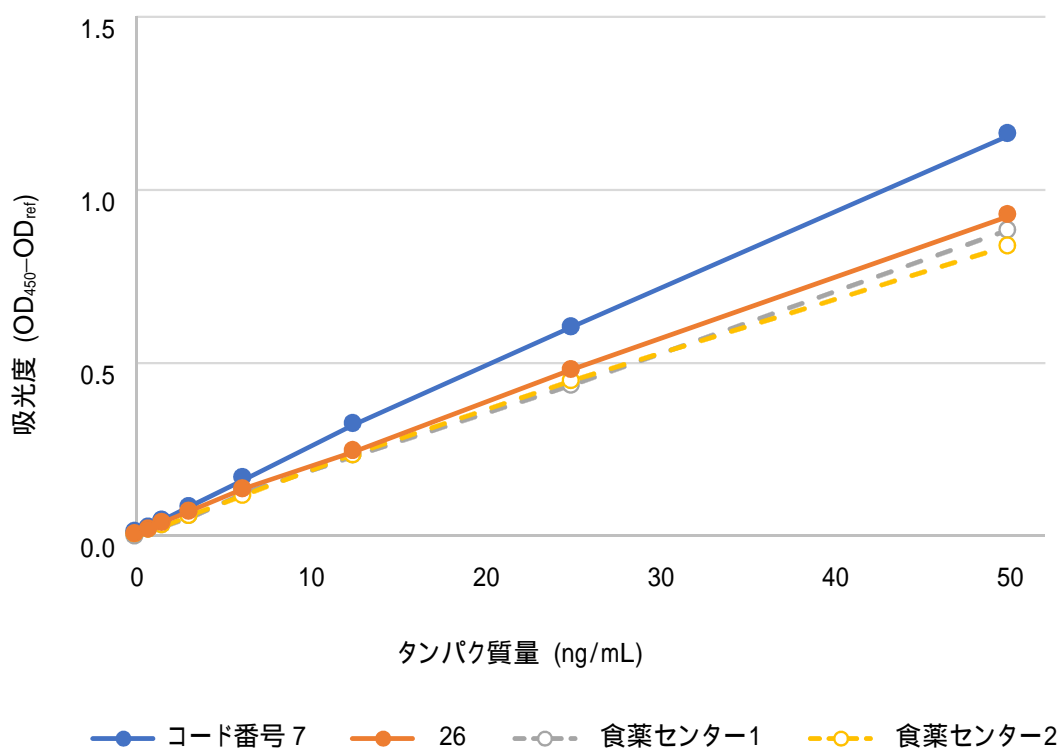


図 13 プリマハム(小麦)キットを用いた測定における検量線(4 機関)

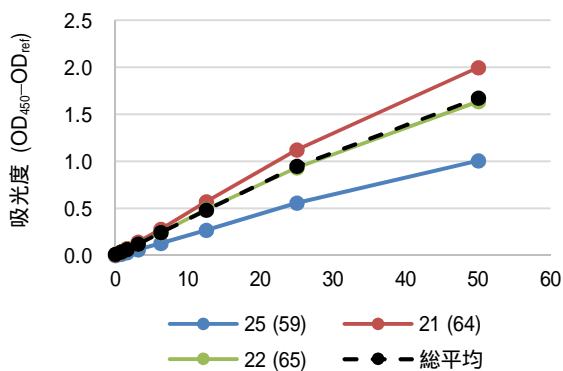
表 9 外部精度管理調査研究で使用されたプリマハム(小麦)キットのロットおよび使用機関数

ロット	使用期限	使用機関数
1901GLS	2020/1	2

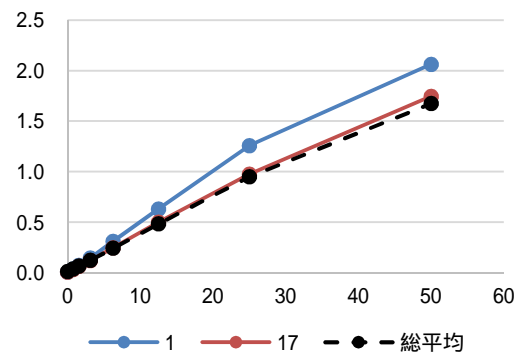
表 10 外部精度管理調査研究で使用されたモリナガ(小麦)キットのロットおよび使用機関数

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

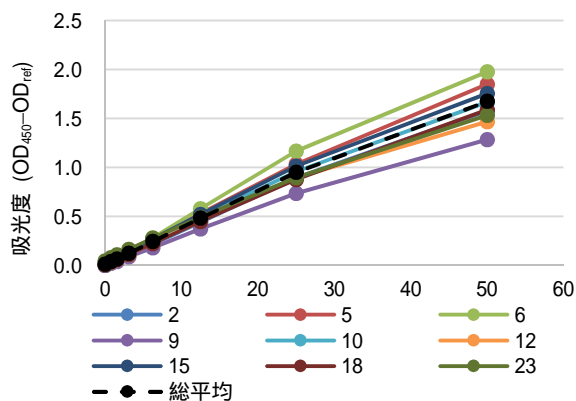
a) 18OCSFGD059,19MASFGD064,  
19MASFGD065



b) 19FESFGD063



c) 19APSGD066



タンパク質量 (ng/mL)

図 14-1 モリナガ(小麦)キットを用いた測定におけるロット別検量線

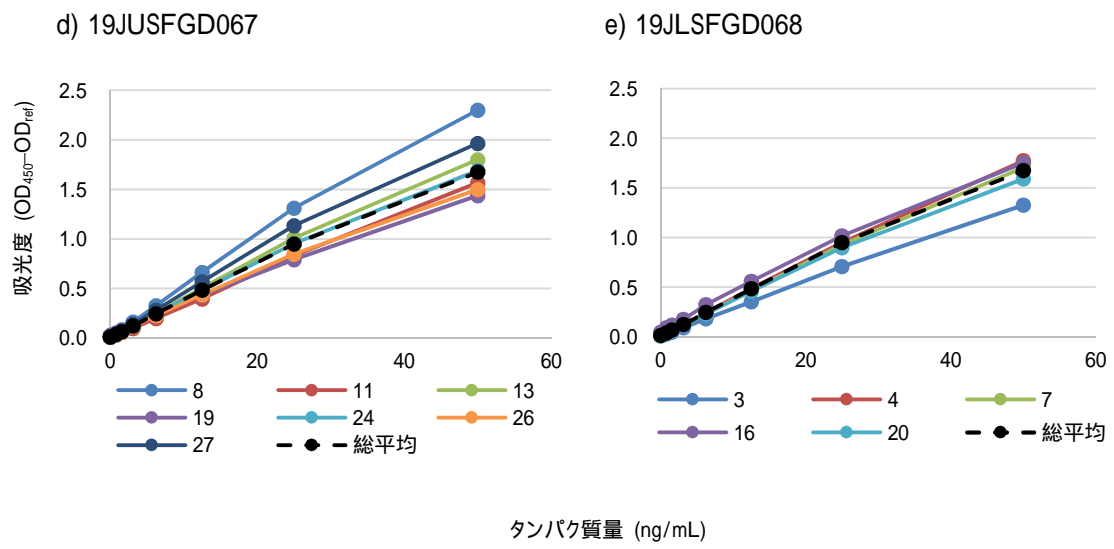


図 14-2 モリナガ(小麦)キットを用いた測定におけるロット別検量線

表 11 外部精度管理調査研究で使用された日本ハム(小麦)キットのロットおよび使用機関数

ロット	使用期限	使用機関数
FKEW1945	2019/11	3
FKEW1947	2020/2	8
FKEW1948	2020/3	10
FKEW1949	2020/5	3

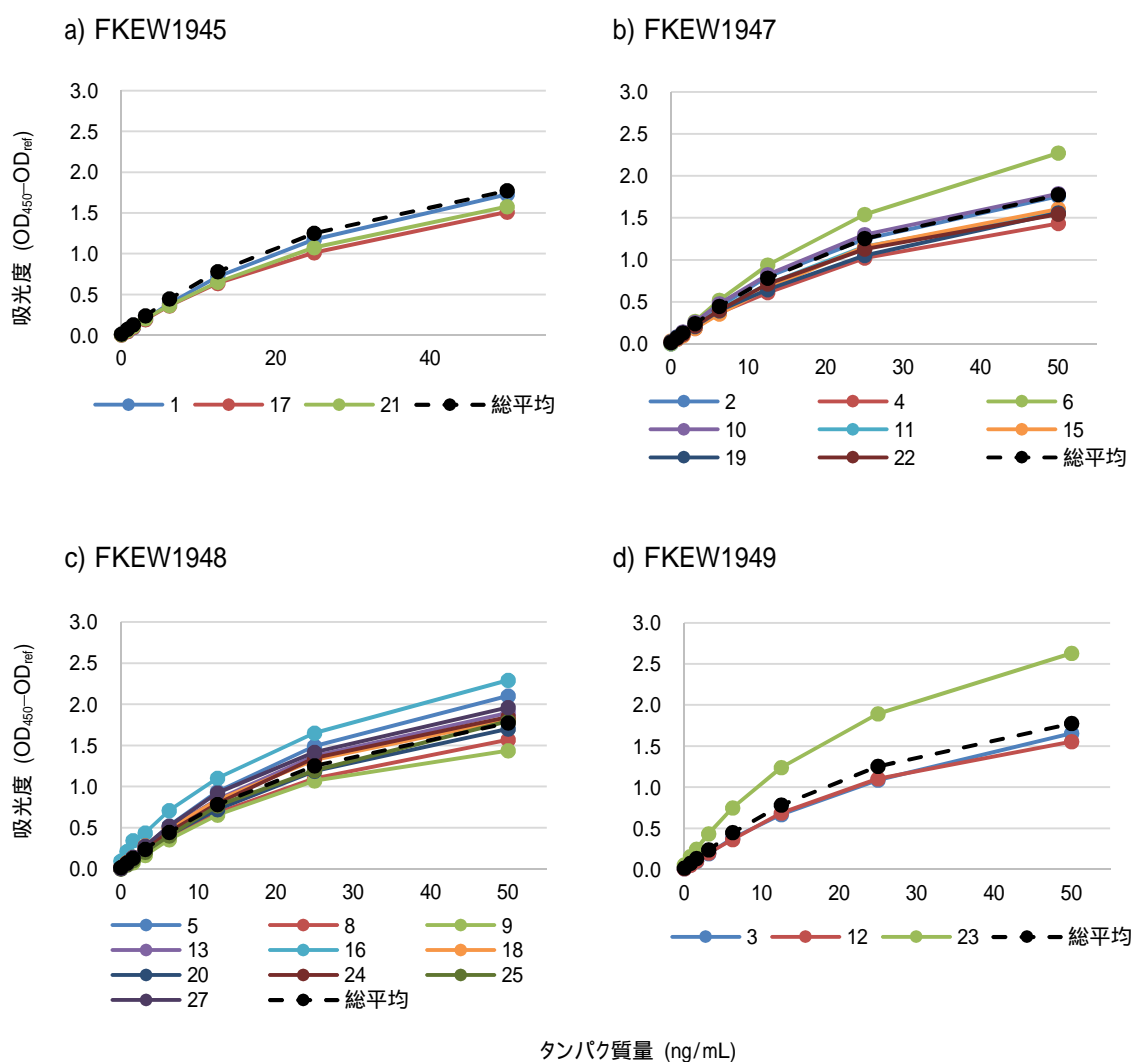
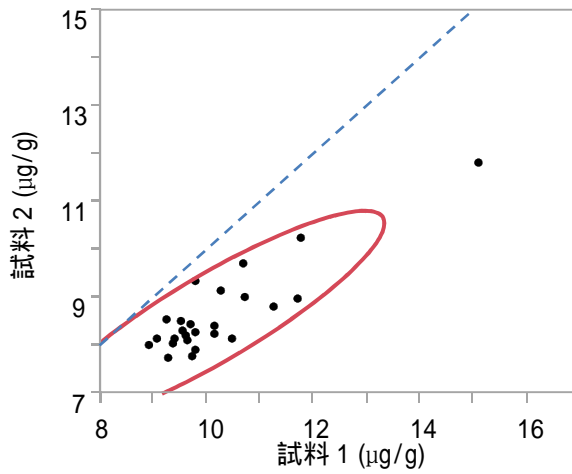


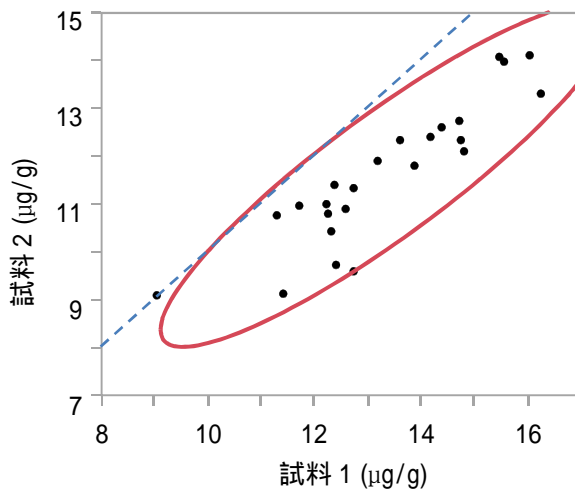
図 15 日本ハム(小麦)キットを用いた測定におけるロット別検量線

a) モリナガ(小麦)キット(26 機関)



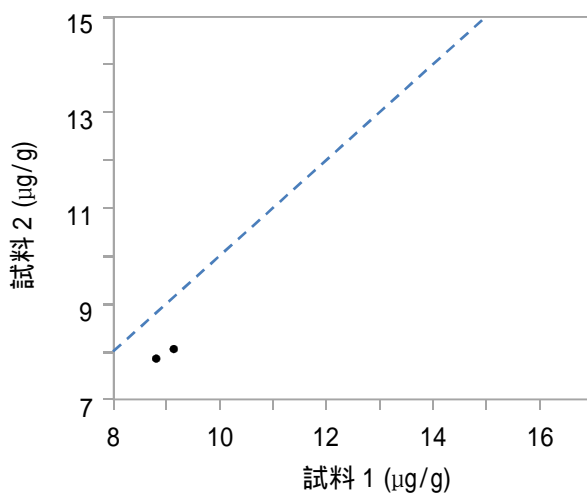
試料 1:  $10.12 \pm 1.31 \mu\text{g/g}$   
 試料 2:  $8.58 \pm 0.91 \mu\text{g/g}$   
 $R = 0.885$  ( $p < 0.0001$ )

b) 日本ハム(小麦)キット(55 機関)



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

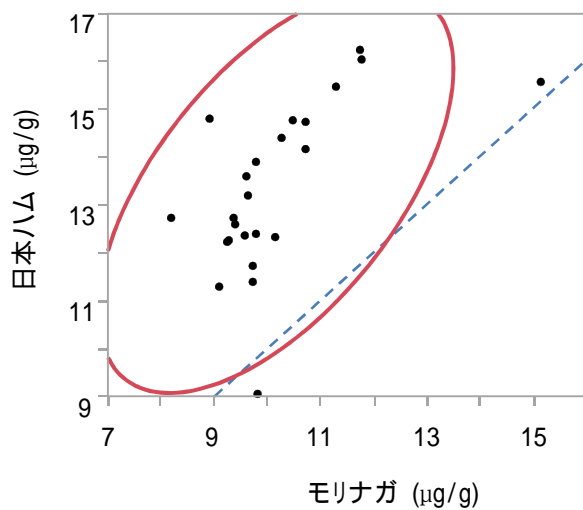
c) プリマハム(小麦)キット(4 機関)



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

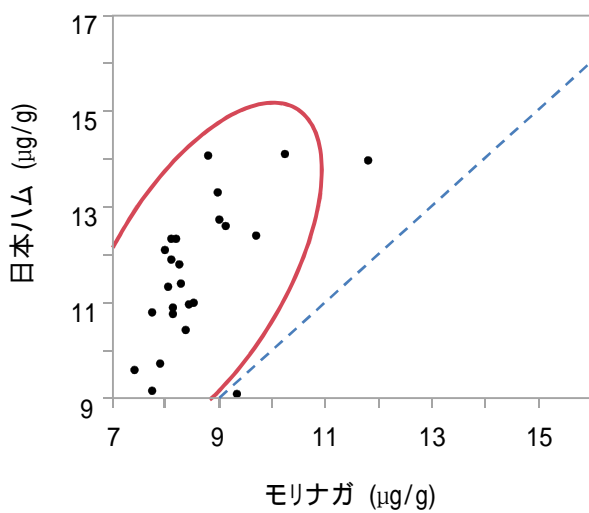
図 16 同一キット内における測定値の試料間の相関性  
 図中の楕円は 95%の確率楕円を示す。点線は  $y = x$

a) 試料1 (55 機関)



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

b) 試料2 (55 機関)



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

図 17 同一試料内での測定値のキット間の相関性  
 楕円は 95%の確率楕円を示す。点線は  $y = x$



表 12 2019 年度外部精度管理調査研究における各機関の採用手法(全般)

項目	1	2	3	4	5
抽出方法	振盪 26	ホモジェナイズ 0			
振盪時間(12h <) (h)	< 14 1	14 - 16 18	16 < 7		
振盪速度 (rpm)	< 90 0	90 - 110 24	110 < 1	不明 1	
ろ過	実施 20	実施せず 6			
遠心分離	実施 26	実施せず 0			
抽出溶液等 の希釈操作	手動 26	自動 0			
試薬の添加時の ピペットタイプ	手動				電動
	連続分注		マルチch	シングルch	
	マルチch 3	シングルch 1	21	1	0
洗浄方法	手動 10	自動 16			
検量線の 回帰法	4PL* 25	5PL** 1***			

(26 機関)

\* 4PL:4 パラメーターロジスティック

\*\* 5PL:5 パラメーターロジスティック

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

表 13 2019 年度外部精度管理調査における各機関の操作手法(キット別)

a) モリナガ(小麦)キット(26 機関)、使用ロット数 7 ロット

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

b) 日本ハム(小麦)キット(24 機関)、使用ロット数 4 ロット

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

c) プリマハム(小麦)キット(2 機関)、使用ロット数 1 ロット

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

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

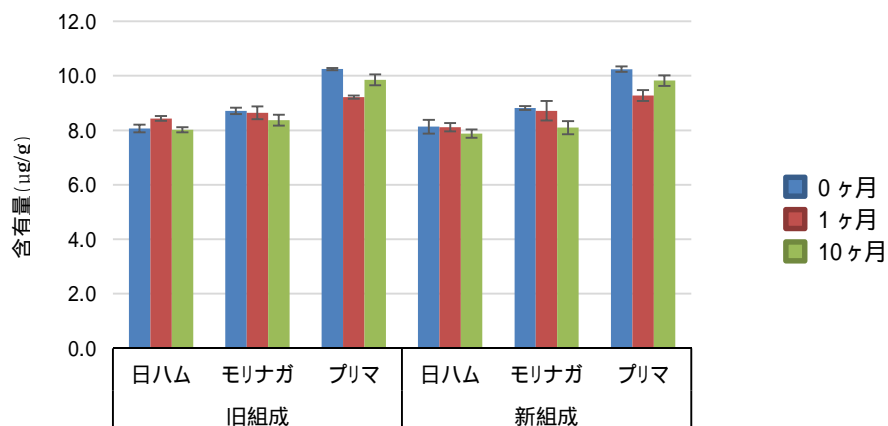
	特定原材料 6 種中の実施種類数						
	0	1	2	3	4	5	6
実施機関数	0	3	4	2	4	4	8

(回答 25 機関)

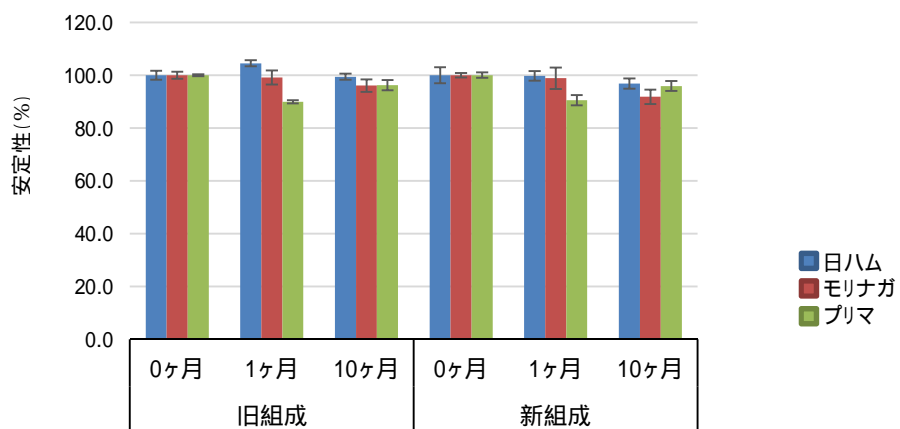
表 15 2018 年度の参加機関の検査実績および使用キット

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

a) 含有量

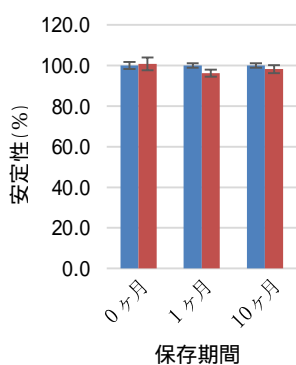


b) 安定性

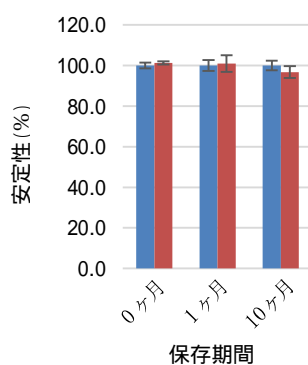


c) 旧基材に対する新基材の安定性

i) 日ハム



ii) モリナガ



iii) プリマ

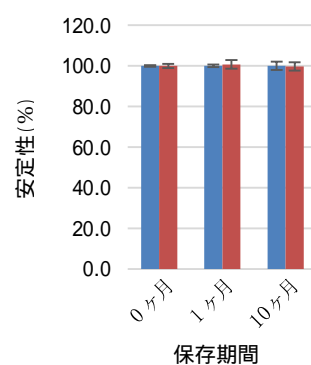


図 18 新旧ベビーフードによる試料の安定性結果

■ 旧組成  
■ 新組成

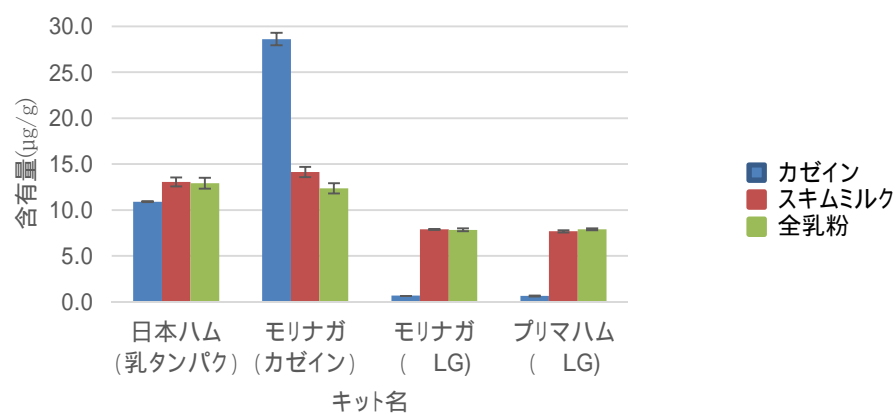


図 19 各種キットを用いた ELISA 法による試料中の乳タンパク含有量

表 16 各種乳タンパク質における ELISA 法による回収率

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

LG: -ラクトグロブリン

表 17 各添加タンパク質の測定日と保存期間

a) 卵タンパク質

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

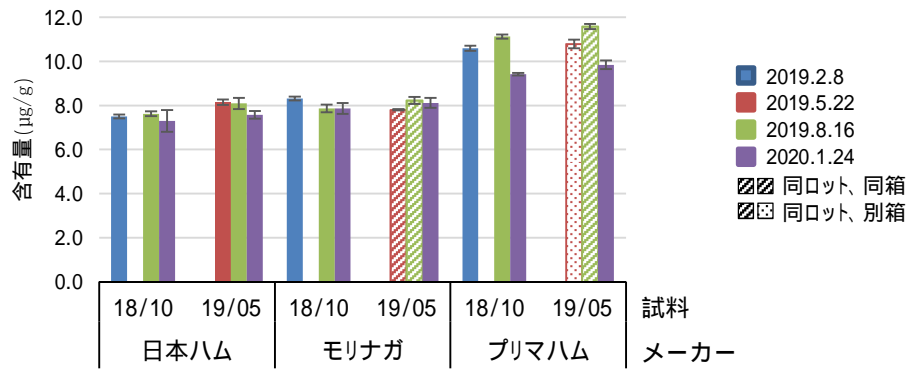
b) 小麦タンパク質

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

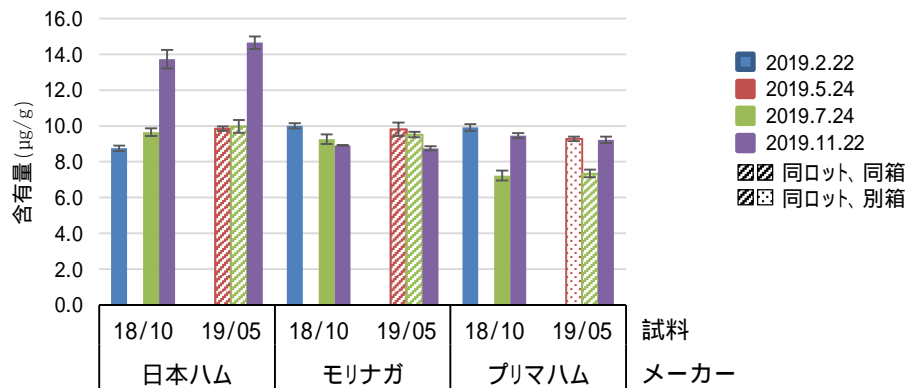
c) そばタンパク質

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

a) 卵タンパク質



b) 小麦タンパク質



c) そばタンパク質

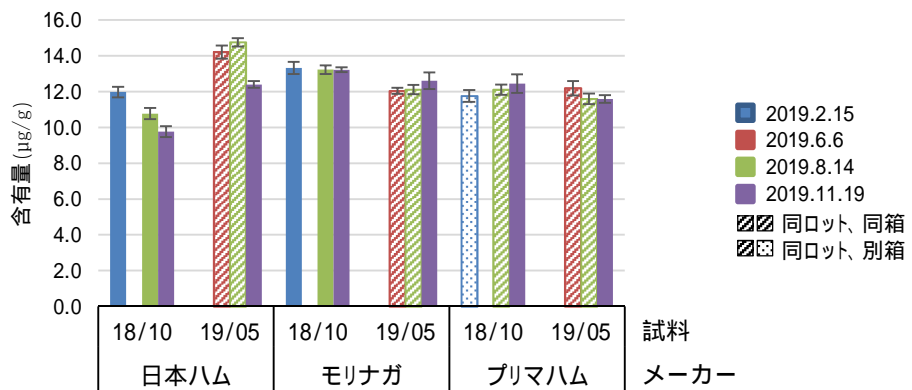
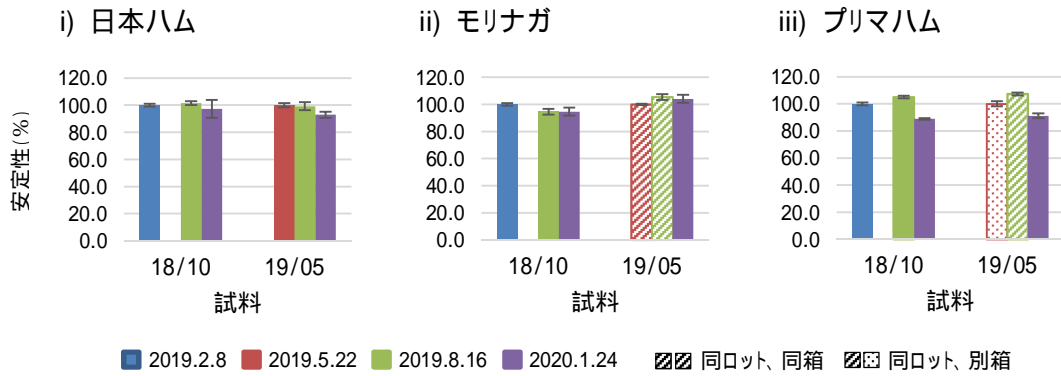
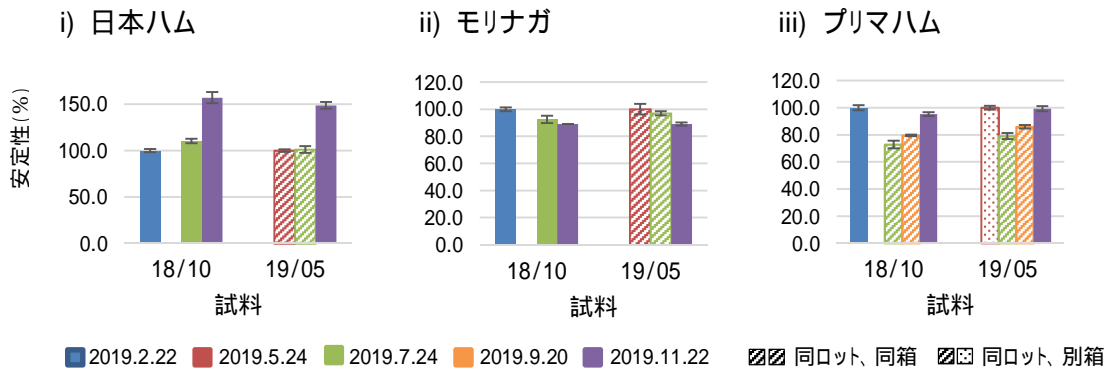


図 20 こしあん試料中の 3 種タンパク質の ELISA 法による含有量測定結果

a) 卵タンパク質



b) 小麦タンパク質



c) そばタンパク質

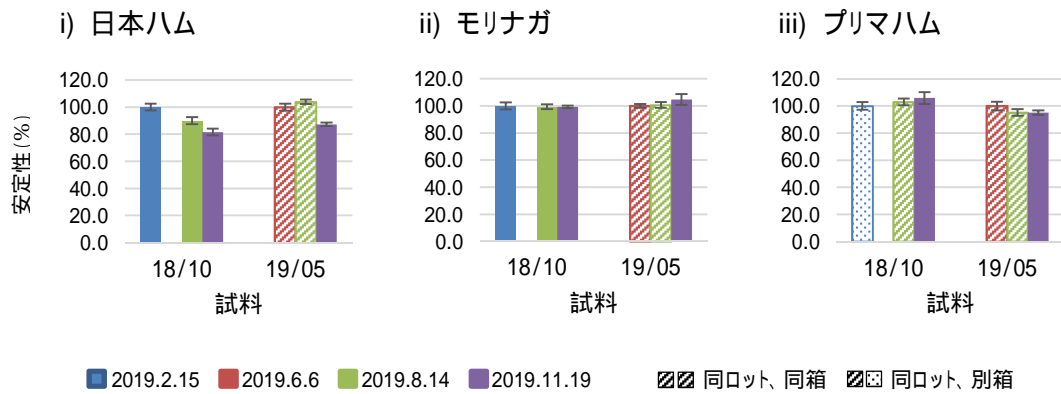


図 21 こしあん試料中の 3 種タンパク質の安定性結果



## 補足資料

### 2019 年度特定原材料検査外部精度管理調査研究参加機関

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

令和元年度 厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

食品衛生検査を実施する試験所における品質保証システムに関する研究

### 研究分担報告書

既存技能試験試料の改善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。これまで市販品の玄米粉を中心に検討してきたが、自家製玄米粉を用い、市販品と同様に作製できることが確認された。本法を技能試験プログラム用試料作製法として用いるために市販品と自家製の玄米粉の粒子径分布を比較した。その結果、自家製はやや粒子径が大きいものの玄米粉作製には再現性があり、いつでも同様の品質で作製することができた。自家製玄米粉10 kgから実際に作製するスケールの30 kgで検討を行った。カドミウムを含む20 %スラリー溶液を作製するために100 Lポットで2回作製し、200 Lポットに合わせた。作製した玄米粉スラリーは一晩羽攪拌し、翌日スプレードライヤに供した。玄米粉中のカドミウムの仕込み濃度を0.5 mg/kgとし、玄米粉中の水分量（14.79 %）及びブランク濃度0.106 mg/kg（水分換算）より水分換算後の理論値は0.692 mg/kgとなった。玄米粉の水分量は5.71 %となり、実測値は0.655 mg/kgとなった。均質性確認試験（一元配置分散分析）を行ったところ作製した玄米粉試料が均質であることが確認された。また、再現性を確認するために同様の玄米粉試料30 kgを用い同様の条件で試料を作製した。その結果、実測値は0.638 mg/kgとなり、水分換算後の理論値は0.677 mg/kgであり、前回の回収率と同様に約95 %となり均質性も確認された。以上より、スプレードライヤで作製した試料を技能試験用として使用できることが示唆された。

## 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、実際の作製スケールにあわせた量の作製の検討を行うと共に、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。今

年度は、昨年度スケールアップを検討した玄米粉中カドミウムの試料作製の再現性を、現在実施している食品衛生外部精度管理調査に適用するために確認した。

## 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）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）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。玄米粉の分解には、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。

### 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

波長：Cd；228.8 nm

点灯モード：BGC-D<sub>2</sub>法

スリット幅：2.0 nm

### 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、電気加熱方式は5~40 ng/mLで調製した。

#### 4. 試料溶液の調製

カドミウム0.5 mg/kg 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。

#### 5. 試料の作製

試料基材には自家製玄米粉（宮城ひとめぼれを粉砕した）を用い、20%懸濁溶液を作製した。すなわち、玄米粉30 kgを0.125 mg/Lカドミウム120 Lに懸濁させた（玄米粉の理論作製濃度：0.5 mg/kg）。これをスプレードライヤに供した。

#### 6. スプレードライヤによる玄米粉試料作製条件

スケールアップに用いたスプレードライヤは大川原化工機株式会社製ODA-30を用いた。玄米粉懸濁溶液は100 Lポット（内径47 cm、高さ60 cm）に精製水54 kg（18 kg×3）を入れ、カドミウム標準溶液500 mLを攪拌しながら加えた。その後、玄米粉を15 kg加え、10分間羽攪拌を実施した。その後、作製した玄米粉懸濁液を30分間ホモミキサーで分散させた（回転数：約5000 rpm）。分散後、200 Lポットに移した。この操作をもう一度実施し、作製した液を200 Lポットに入

れ、一つの液とした。洗いこみ用精製水を12 kg測り、それを米粉の分散に使用した100 Lポットに入れ、洗いこみを行った後、200 Lポットに加えた。作製した玄米粉懸濁液を一晩羽攪拌した。この懸濁溶液を攪拌しながらペリスタポンプでアトマイザに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-125型を使用した。回転数は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。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、その玄米粉中のカドミウムの均質性を確認した。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

##### スプレードライヤによる玄米粉試料のスケールアップ

昨年度までに、玄米粉を用い20%懸濁液で試料作製できることが分かった。今年度は玄米粉で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10 kgの作製検討を行い、良好な結果が示された。これまでの検討には、市販の玄米粉を用いていたが、安定供給品でないことから、今後、販売されない可能性もあり、自家製の玄米粉を用い検討することとした。市販の玄米粉（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。図1に市販玄米粉と自家製玄米粉の粒子径分布と顕微鏡写真の比較を示す。自家製玄米粉のほうが市販玄米粉に比べ全体的にやや粒子径が大きいものの作製には影響ないと考えられた。そこで、自家製玄米粉を用い実際の作製量である30 kgで検討を行った。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30 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 mg/kg)150 Lを試料とした。試料懸濁液は、図3に示す手順で作製した。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ホモミキサーで十分に攪拌した。今回の検討に用いた玄米粉は、市販の玄米を自家粉碎したものであり、原液処理量は装置の性能から35 kg/h(実測32.2 kg/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96 とした(図4)。スプレードライヤで作製した自家製玄米粉は図5に示すように平均粒子径86 μmと市販の玄米粉に比べ平均粒子径は小さくなった。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

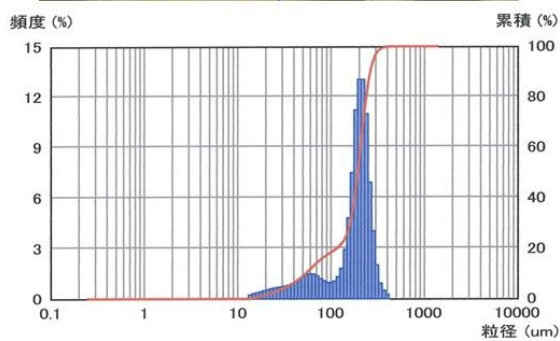
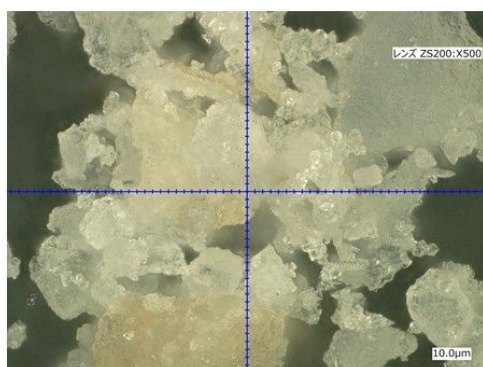
に導入する前にプレ攪拌と同様羽根攪拌を1時間行った。これにより、原液は細かい粒子へと分散していることが確認された。よって、スプレードライヤへ導入する前の攪拌により、粒子径は小さくなることから、攪拌条件をコントロールする必要があると考えられた。また、表2に示すように一元配置分散分析を行ったところ均質性が確認された。仕込み濃度を0.5 mg/kgに設定し、ブランク濃度が0.106 mg/kg(水分換算)であり、水分換算後の仕上がり濃度は0.692 mg/kgとなった。実測値が0.655 mg/kgであり、回収率を計算すると約95%であった。次に、さらに同様の自家製玄米粉を用い、再現性の検討を行った。均質性確認の結果を表3に示す。カドミウムの仕込み濃度は同様の0.5 mg/kgとして水分換算後の仕上がり濃度は理論値の0.677 mg/kgとなった。実測値は表3に示すように0.638 mg/kgとなり、回収率は約94%となり、先に作製した結果とほぼ同等であり、表4に示すように均質性も確認された。図6、7に経時的にサンプリングされた試料の顕微鏡写真と粒子径分布を示す。Lot1 ~ の順でサンプリングした。サンプリング初期(Lot1)では粒子径の小さいものが認められ、徐々に大きな粒子径のものができることがわかり、最終的には10~20 μmおよび100~200 μmの粒子径の玄米粉となった。以上の結果より、自家製玄米粉を用い、技能試験用試料の作製にスプレードライヤを用いることが可能であることが確認された。本法を用いることでこれまで、玄米粉を用いた重金属検査用試料作

製にはおおよそ3ヶ月を要していたが、  
本法では1週間程で作製することが可能  
となった。また、技能試験用としての品  
質には問題なく、簡便に目的濃度のもの  
を作製することができることも大きな利  
点となり、従来の作製法に替わるもので  
あることが示された。ただし、水分量が  
通常の1/3程の約5%となるため、取り  
扱いには注意する必要がある。

## E. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

市販玄米粉



自家製玄米粉

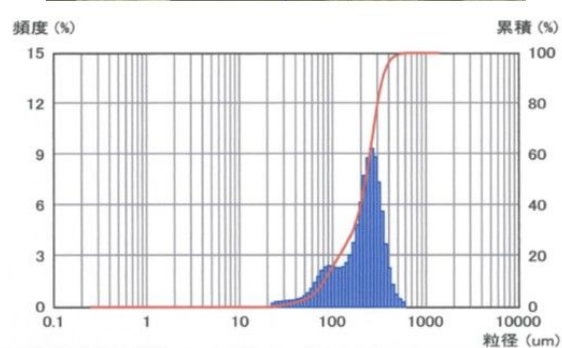
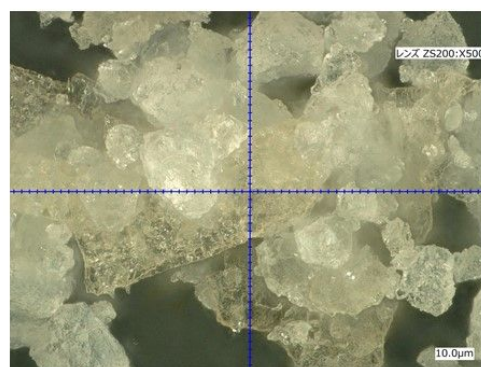


図 1 市販玄米粉と自家製玄米粉の粒子径分布と顕微鏡写真



図 2 スプレードライヤ本体 (ODA-30)



精製水注入



玄米粉を加える



大容器に移す



ホモミキサーで攪拌



図 3 玄米粉懸濁試料の作製手順

## 試料注入



試料回収



サイクロン

図4 スプレードライヤによる試料の作製

表1 スプレードライヤで作製した玄米粉中カドミウムの均質性確認試験結果

容器No.		a	b	c	f=(a*b)/(c)		水分換算後濃度 <sup>*2</sup> (mg/kg)	平均濃度 <sup>*3</sup> (mg/kg)
		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 <sup>*1</sup> (mg/kg)			
15	1	0.1238	20.0	4.003	0.6185	0.618	0.621	0.658
	2	0.1250	20.0	4.003	0.6245	0.624	0.662	
30	1	0.1227	20.0	4.003	0.6130	0.613	0.617	0.654
	2	0.1245	20.0	4.002	0.6221	0.622	0.659	
45	1	0.1250	20.0	4.003	0.6245	0.624	0.619	0.656
	2	0.1230	20.0	4.002	0.6146	0.614	0.651	
60	1	0.1240	20.0	4.001	0.6198	0.619	0.621	0.659
	2	0.1247	20.0	4.001	0.6233	0.623	0.661	
75	1	0.1228	20.0	4.002	0.6136	0.613	0.615	0.653
	2	0.1238	20.0	4.002	0.6186	0.618	0.656	
90	1	0.1224	20.0	4.001	0.6118	0.611	0.612	0.649
	2	0.1227	20.0	4.001	0.6133	0.613	0.650	
105	1	0.1225	20.0	4.004	0.6118	0.611	0.614	0.651
	2	0.1235	20.0	4.001	0.6173	0.617	0.654	
120	1	0.1249	20.0	4.000	0.6245	0.624	0.622	0.660
	2	0.1242	20.0	4.003	0.6205	0.620	0.658	
135	1	0.1238	20.0	4.002	0.6186	0.618	0.619	0.657
	2	0.1243	20.0	4.001	0.6213	0.621	0.658	
150	1	0.1231	20.0	4.004	0.6148	0.614	0.614	0.651
	2	0.1229	20.0	4.002	0.6141	0.614	0.651	
平均値					0.618	0.617	0.655	0.655
SD					0.00448	0.00350	0.00480	0.00377
RSD					0.725	0.567	0.733	0.576

空試験溶液濃度：-0.0019  $\mu\text{g}/\text{mL}$ であったため、0.000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ とした。

\*1：小数第4位を切り捨て、小数第3位まで表示。左欄に切り捨て前の値を表記。

平均値、SD、RSDはn=20より算出し、有効数字4桁目を四捨五入した。

\*2：小数第4位を切り捨て、小数第3位まで表示。

平均値、SD、RSDはn=20より算出し、有効数字4桁目を四捨五入した。

\*3：小数第4位を切り捨て、小数第3位まで表示。

平均値、SD、RSDはn=10より算出し、有効数字4桁目を四捨五入した。

表 2 一元配置分散分析

概要						
グループ	データの個数	合計	平均	分散		
行 1	2	1.317	0.6585	0.0000245		
行 2	2	1.309	0.6545	4.05E-05		
行 3	2	1.313	0.6565	6.05E-05		
行 4	2	1.318	0.659	8E-06		
行 5	2	1.306	0.653	0.000018		
行 6	2	1.298	0.649	0.000002		
行 7	2	1.302	0.651	0.000018		
行 8	2	1.32	0.66	8E-06		
行 9	2	1.314	0.657	0.000002		
行 10	2	1.303	0.6515	5E-07		
分散分析表						
変動要因	変動	自由度	分散	観測された分散比	P-値	F 境界値
グループ間	0.000256	9	2.84444E-05	1.562881563	0.247996	3.020383
グループ内	0.000182	10	0.0000182			
合計	0.000438	19				

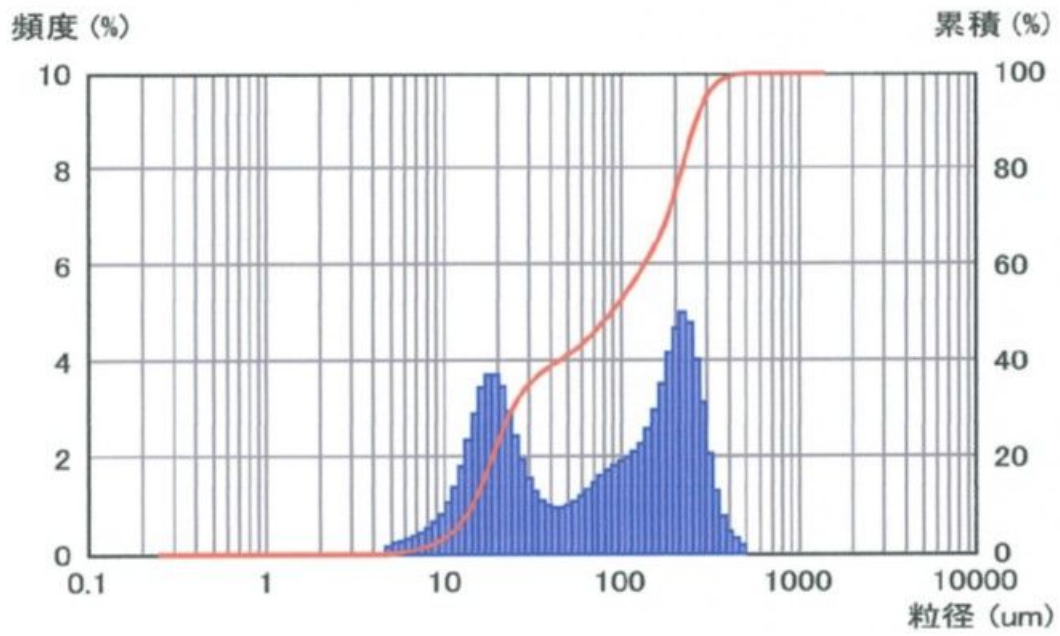
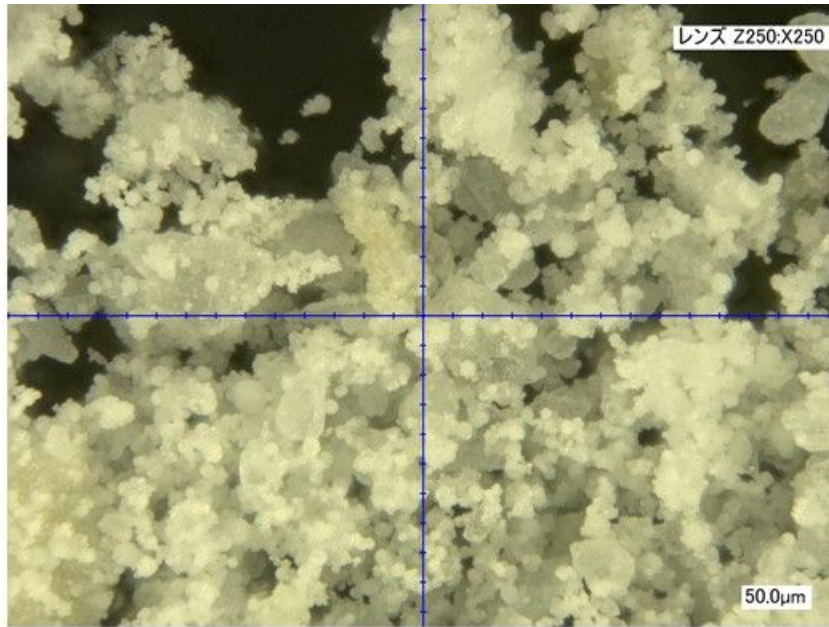


図5 スプレードライヤで作製した自家製玄米粉の粒子径と顕微鏡写真

表3 スプレードライヤで作製した玄米粉中カドミウムの均質性確認試験結果

(再現性確認)

容器No.		a	b	c	f=(a*b)/(c)		水分換算後濃度 <sup>2</sup> (mg/kg)	平均濃度 <sup>3</sup> (mg/kg)
		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 <sup>1</sup> (mg/kg)			
1	1	0.1189	50.0	10.003	0.5943	0.594	0.626	0.631
	2	0.1195	50.0	10.003	0.5973	0.597	0.636	
2	1	0.1198	50.0	10.001	0.5989	0.598	0.637	0.638
	2	0.1202	50.0	10.001	0.6009	0.600	0.640	
3	1	0.1191	50.0	10.002	0.5953	0.595	0.634	0.637
	2	0.1204	50.0	10.003	0.6018	0.601	0.640	
4	1	0.1202	50.0	10.000	0.6010	0.601	0.640	0.636
	2	0.1189	50.0	10.001	0.5944	0.594	0.633	
5	1	0.1207	50.0	10.003	0.6033	0.603	0.642	0.641
	2	0.1203	50.0	10.002	0.6013	0.601	0.640	
6	1	0.1199	50.0	10.002	0.5993	0.599	0.638	0.638
	2	0.1201	50.0	10.001	0.6004	0.600	0.639	
7	1	0.1202	50.0	10.002	0.6008	0.600	0.639	0.640
	2	0.1206	50.0	10.000	0.6030	0.603	0.642	
8	1	0.1207	50.0	10.002	0.6033	0.603	0.642	0.638
	2	0.1191	50.0	10.001	0.5954	0.595	0.634	
9	1	0.1196	50.0	10.003	0.5978	0.597	0.636	0.637
	2	0.1199	50.0	10.003	0.5993	0.599	0.638	
10	1	0.1201	50.0	10.001	0.6004	0.600	0.639	0.641
	2	0.1208	50.0	10.002	0.6038	0.603	0.643	
平均値						0.599	0.638	0.638
SD						0.00300	0.00399	0.00291
RSD						0.501	0.625	0.456
空試験溶液濃度：-0.0005 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であったため、0.000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ とした。								
*1：小数第4位を切り捨て、小数第3位まで表示。左欄に切り捨て前の値を表記。 平均値、SD、RSDはn=20より算出し、有効数字4桁目を四捨五入した。								
*2：小数第4位を切り捨て、小数第3位まで表示。 平均値、SD、RSDはn=20より算出し、有効数字4桁目を四捨五入した。								
*3：小数第4位を切り捨て、小数第3位まで表示。平均値、SD及びRSDはn=10より算出し、有効数字4桁目を四捨五入								
*4：均質性確認試験結果(平均濃度)に対する割合(%)を表示。 小数第2位を切り捨て、小数第1位まで表示。平均値及びSDは有効数字4桁目を四捨五入、RSDは小数第2位を四捨五入								

表 4 一元配置分散分析 (再現性確認)

概要						
グループ	データの個数	合計	平均	分散		
行 1	2	1.262	0.631	5E-05		
行 2	2	1.277	0.6385	4.5E-06		
行 3	2	1.274	0.637	0.000018		
行 4	2	1.273	0.6365	0.0000245		
行 5	2	1.282	0.641	0.000002		
行 6	2	1.277	0.6385	5E-07		
行 7	2	1.281	0.6405	4.5E-06		
行 8	2	1.276	0.638	3.2E-05		
行 9	2	1.274	0.637	0.000002		
行 10	2	1.282	0.641	8E-06		
分散分析表						
変動要因	変動	自由度	分散	観測された分散比	P-値	F 境界値
グループ間	0.0001558	9	1.73111E-05	1.185692542	0.394694	3.020383
グループ内	0.000146	10	0.0000146			
合計	0.0003018	19				



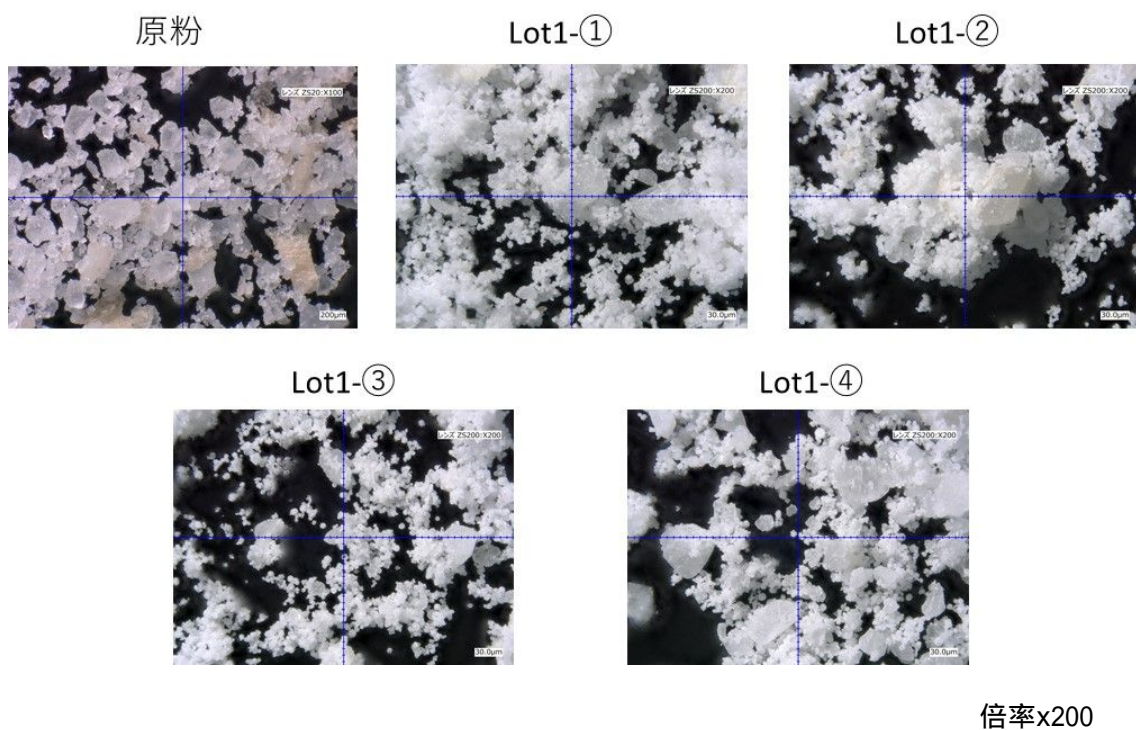


図6 スプレードライヤで作製した自家製玄米粉の顕微鏡写真



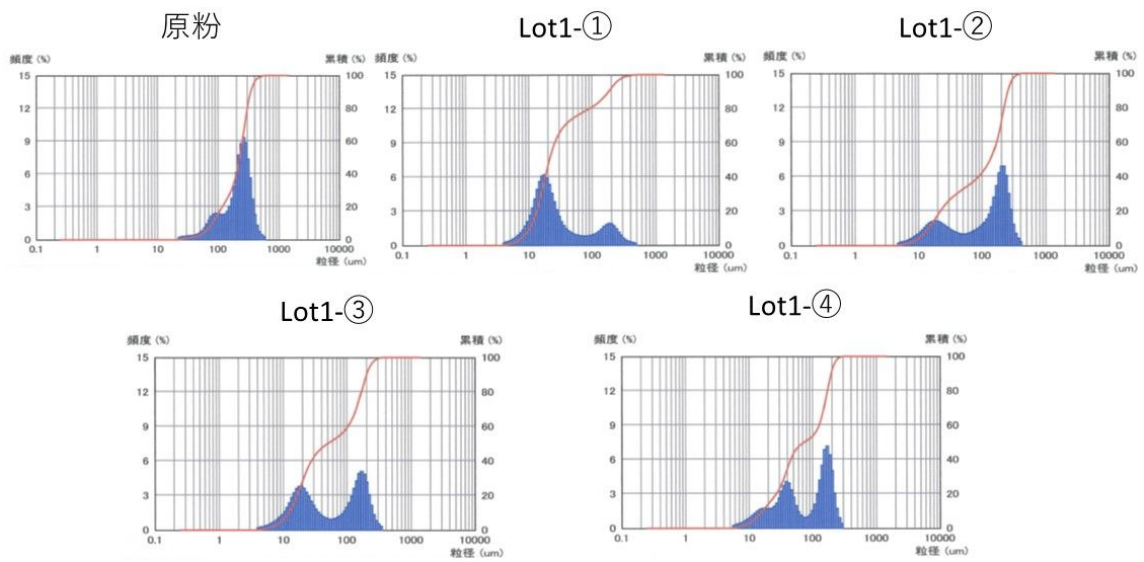


図7 スプレードライヤで作製した自家製玄米粉の粒子径分布

令和元年度 厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

食品衛生検査を実施する試験所における品質保証システムに関する研究

### 研究分担報告書

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

研究分担者 松田 りえ子 国立医薬品食品衛生研究所

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。そこで、本分担課題では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、試料開発の課題と協力して、魚加工品を基材とした試料を用いたヒスタミン及び一般生菌数分析技能試験のパイロットスタディを実施した。

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

渡邊 敬浩 国立医薬品食品衛生研究所

井部 明広 実践女子大学

#### 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に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。最終年度である本年は、魚加工品中のヒスタミン技能試験パイロットスタディと魚すり身中の一般生菌数技能試験のパイロットスタディを実施した。

## 魚加工品中のヒスタミン技能試験パイロットスタディ

### B. 研究方法

#### 試料の作製

2種類の試料を作製した。試料 1 は市販さば味噌煮缶、試料 2 は市販さば水煮缶を基材とした。それぞれを粗く粉碎し、10 mL の純水に溶解したヒスタミン二塩酸塩 (Code:087-03553, 富士フィルム和光株式会社製) 2.25 g を添加し、さらに混合・均質化し、小分けして製缶した。

## 均質性確認に使用する分析法の性能確認

**試料** ヒスタミンを含まないサバ水煮試料5 gに、ヒスタミン100 µg/g相当添加し、30分放置した。

### 分析方法

#### 試薬

ヒスタミン二塩酸塩は和光純薬工業(株)製特級を使用した。

#### 装置

LC-MSは(株)アジレント・テクノロジー製6460 Triple Quad LC/MSを使用した。

#### 前処理方法

試料5 gに20 %トリクロロ酢酸5 mL及び蒸留水50 mLを加えて3分間ホモジナイズし、蒸留水を加えて100 mLに定容した。30分間静置した後 0.45 µmのフィルターに通液し、この流出液をアセトニトリル・水(9:1)を用いて適宜希釈し試験溶液とした。

#### 測定条件及び測定方法

カラム：TSKgel Amide 80 , 2.0×150 mm , 3 µm (東ソー(株))

カラム温度：50

移動相：移動相A ; 30 mmol/Lギ酸アンモニウム及び0.1 %ギ酸含有水溶液

移動相B：アセトニトリル

グラジエント条件：

時間(分) 移動相A (%) 移動相B (%)

0	10	90
12	60	40
14	60	40
16	10	90
20	10	90

注入量：2 µL

質量分析計条件

測定モード 多重反応モニタリング法(MRM)

イオン化モード：エレクトロスプレーイオン化法(ESI)

ヒーター温度( )：350

ネブライザガス(psi)：50

シースガス温度( i )：350

シースガス(psi)：11

キャピラリー電圧(V)：3500

モニターイオン：m/z ; 112 95

極性 ; Positive

**性能確認方法** 試料を1日に2併行分析し、5日間実施した。

### 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、性能確認した分析法によりヒスタミン濃度を測定した。

### パイロットスタディ

国内の試験所から参加者を募集し、魚加工品中ヒスタミン分析技能試験のパイロットスタディを実施した。参加試験所には試料1と2を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。

### 分析法によるヒスタミン定量結果の比較

均質とみなされる試料を、LC-MS法、LC-蛍光法、キット法の3分析法で分析し、結果を比較した。

**試料** サバの水煮にヒスタミン 100 $\mu$ g/g 相当添加した。

#### 分析法

LC-MS 法 均質性確認に使用した方法と同じ。

LC-蛍光法 試料 10 g を採取し、20 % トリクロロ酢酸 10 mL 及び蒸留水 150 mL を加えて 3 分間ホモジナイズし、蒸留水を加えて 200 mL に定容した。この溶液の一部を 3000 rpm 5 分間遠心分離した後、上清を 5A のろ紙でろ過し、ろ液を 5 mL を正確に採取し、0.1 mol/L オクタンスルホン酸ナトリウム溶液 5 mL を加えて混和した。この溶液をあらかじめメタノール 10 mL、蒸留水 5 mL および 0.05 mol/L オクタンスルホン酸ナトリウム溶液 5 mL でコンディショニングしたオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムに負荷し後、流出液を捨て、次いで蒸留水 20 mL を負荷した後、流出液を捨てた。次いでメタノール・蒸留水 (6:4) を 10 mL 負荷し、溶出液を採取し、40 以下で 1 mL 程度になるまで減圧濃縮した。濃縮液を褐色試験管に移し、内部標準溶液を正確に 0.5 mL、無水炭酸ナトリウム 0.2 g および 2 % ダンシルクロライド・アセトン溶液 2 mL を加えて混和した後、室温で一晩反応させた。反応終了後、これに 10 % プロリン溶液 0.5 mL を加えて振とうし、10 分間静置した。さらにトルエンを 5 mL 正確に加えて 1 分間振とうし、上層 5 mL を採り、45 以下で減圧濃縮し溶媒を留去した。この残留物にアセトニトリル 1 mL を正確に加えて溶解し、試料溶液とし、HPLC-FL にて測定した。

カラム : Inertsil ODS-3 , 4.6  $\times$  250 mm , 5  $\mu$ m (GL サイエンス株)

カラム温度 : 35

移動相 : アセトニトリル・水 (65:35)

流速 : 1.0 mL/min (アイソクラティック)

測定時間 : 60 分

注入量 : 10  $\mu$ L

検出波長 : 励起波長 325 nm , 蛍光波長 525 nm

キット法

チェックカラーヒスタミン (キッコーマンバイオケミファ株)) を使用した。

試料 1 g を採取し、抽出用溶液を 24 mL 加えて 10 秒間ボルテックスし、沸騰水浴中で 20 分間加熱した。その後氷中で 20 以下になるまで冷却した後、沈殿物をかき混ぜ、さらに氷中で 5 分間静置した。これを 5C のろ紙でろ過し、ろ液を試験溶液とした。なお、器具およびバイアルは PP 製を用いた。

標準溶液及び試験溶液に発色液等の試薬を加えて混合し、37  $\pm$  15 分間遮光条件下で反応し、それぞれ測定溶液を調製した。測定溶液の 470 nm の波長における吸光度をそれぞれ測定した。

#### C.D. 結果と考察

##### ヒスタミン分析法性能確認結果

試料を 2 併行で 5 日分析した結果を Table 1 に示す。性能確認結 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 2 に示す。真度は 94.3%、併行精度は RSD 2.1%、室内精度は RSD 2.9% であった。Codex

Procedural Manual<sup>1)</sup>に示された真度の規準は、ヒスタミン添加量の0.1 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<sup>2,3)</sup>(以下Horwitz式)により予想される室間精度は、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、ヒスタミンを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 Laboratories<sup>4)</sup>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 3に示す。いずれの試料のヒスタミン濃度も、

Recommendation 7と8の条件を満足したため、両試料は技能試験に適切な均質性を有すると評価した。

### 技能試験パイロットスタディ

99か所の試験所から参加の申し込みがあり、95試験所から結果が報告された。分析方法は、各試験所が日常的に行っている方法とした。

参加試験所から報告された結果のヒストグラムをFig.1に示す。報告された試料1及び試料2のヒスタミン濃度の報告数、平均値、ロバスト平均値、標準偏差、ロバスト標準偏差、推定標準偏差を求めた。ロバスト平均値およびロバスト標準偏差はAlgorithm Aにより計算した。さらにロバスト平均値からThompsonによるHorwitz式の修正式を用いて求めた室間標準偏差を、推定標準偏差とした。以上の結果をTable 4に示す。

ロバスト平均値とロバスト標準偏差から計算した、それぞれの試料の報告値のz-スコアを昇順に並べたバーチャートをFig.2に示す。 $|z| \leq 2$ で満足と評価された試験所数は試料1では81、試料2では82、 $2 < |z| < 3$ で疑わしいと評価された試験所数は試料1では4、試料2では5、 $|z| > 3$ で不満足と評価された試験所数は、試料1では10、試料2では8であり、試料間に大きな違いは見られなかった。

Fig.3に2つの試料のz-スコアのプロットを示す。左は全ての試験所、右はz-スコアが-5~5の範囲を示した。多数の点が

原点付近に集中しているが、大きく離れたスコアとなった試験所が7か所認められた。これらの試験所では、両方の試料のz-スコアが5以上あるいは-5以下となった。一方、-5～5の範囲では2試料のスコア間には相関性が認められなかった。

## 分析方法の影響

参加試験所が採用したヒスタミン分析法をTable 5に示す。LC-蛍光法を使用した試験所が最も多かった。蛍光誘導体化試薬としてオルトフタルアルデヒドを使用した試験所が12か所、ダンシルクロライドを使用した試験所が16か所、フルオレスカミンを使用した18か所、AccQ-Tagを使用した試験所が1か所であった。

キット法を使用した試験所数は2番目に多く、25試験所中22試験所が、キッコーマンバイオケミファ社製チェックカラーヒスタミンを使用した。その他に、2試験所がMBL社製ヒスタミンEIAキットを、1試験所がR-Biopharm社製RIDAスクリーンヒスタミンを使用した。

LC-MS法を採用した試験所数は16で、10試験所が誘導体化せず測定、ダンシル誘導体化した試験所が2か所、Py-Tag (2,4,6-トリエチル-3,5-ジメチルピリリウムトリフルオロメタンスルホン酸塩)誘導体化を行った試験所が1か所あった。また、条件の記載が不足しているため誘導体化の有無が不明な試験所が2か所あった。

上記の他に、UV検出器によるLC法を採用した試験所が5か所あり、その内の1試

験所はLC-TOF-MSによる確認を実施していた。オルトフタルアルデヒドで誘導体化する蛍光法を採用した試験所は2か所あった。

使用した試験所数の多かったLC-蛍光法、LC-MS法、キット法で得られたヒスタミン濃度報告値の統計量をTable 6に示す。大きく外れた値を含む、LC-蛍光法とLC-MS法では標準偏差がキット法よりも大きかったが、ロバスト標準偏差には大きな違いは認められなかった。ロバスト平均を比較すると、LC-蛍光法が他の2つの方法よりもやや大きいのが、有意の差とは認められなかった。

一か所の試験所で、LC-蛍光法、LC-MS法、キット法によって得られた結果をTable 7に示す。LC-蛍光法は蛍光化試薬としてダンシルを使用している。技能試験報告結果と同様に、LC-蛍光法の結果の平均値は96.97 µg/g、キット法は89.41 µg/gで、LC-蛍光法の結果が10%程度大きかった。しかし、試行数が少なく、LC-蛍光法の結果の標準偏差が大きかったため、その差は有意ではなかった。

## 魚肉すり身中の一般生菌数技能試験パイロットスタディ

### B. 研究方法

#### 試料の作製

市販の魚肉すり身(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)、リン酸ナトリウム)約15 kgをサイレントカッタ

ーで均質化した。均質化した試料をポリプロピレン製の遮光瓶(ASONE;1-6137-03)に約70 gずつ小分けし、ナイロン製の袋(旭化成製、コーパック、品番 ST1525)に入れ、真空包装し送付まで-20 で冷凍保管した。

### 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、一般生菌数を測定した。

一般生菌数測定方法

使用培地：標準寒天培地

培養条件：35 ± 1.0 、48 ± 3時間

希釈液：生理食塩水

接種量：1 mL/plate

### パイロットスタディ

国内の試験所から参加者を募集し、一般生菌数分析技能試験のパイロットスタディを実施した。鍵のかかる容器に試料とドライアイスを入れ、参加試験所には宅配便(冷凍)により送付した。試料温度の変化を記録するためのロガーも同梱した。分析回数は1回とし、使用した分析法の概略も報告することとした。

## C.D. 結果と考察

### 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、一般生菌数を2回分析した結果(cfu/g)の常用対数を分散分析し、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。

ヒスタミン技能試験パイロットスタディ試料と同じく、The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories<sup>4)</sup>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。一般生菌数分析結果にはHorwitz式が適用できないため、微生物試験の一般的な室間精度とされている0.25を $\sigma_p$ として使用した。均質性試験結果をTable 8に示す。試料の一般生菌数の常用対数は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。

### 技能試験パイロットスタディ

130か所の試験所から参加の申し込みがあり、全ての試験所から結果が報告された。分析方法は、各試験所が日常的に行っている方法とした。

報告された試料の一般生菌数(cfu/g)を常用対数に変換した値を報告値とした。Fig.4に報告値の常用対数のヒストグラムを示す。1試験所から低値側に離れた値が報告された以外は、やや低値側に広がった単一と見られる分布を示した。

報告値の平均値、ロバスト平均値、標準偏差、ロバスト標準偏差を求めた。ロバスト平均値およびロバスト標準偏差はAlgorithm Aにより計算した。Table 9に報告数、平均値、ロバスト平均値、標準偏差、ロバスト標準偏差を示す。報告値の



平均値は3.77、ロバスト平均値は3.79であり、ロバスト平均値と平均値はほぼ一致した。報告値の常用対数の標準偏差は0.39、ロバスト標準偏差は0.36であり、ロバスト標準偏差は標準偏差よりやや小さくなった。標準偏差ロバスト標準偏差とともに、微生物試験結果を常用対数化した際の一般的な室間標準偏差と言われている0.25を大きく上回った。

報告値、ロバスト平均値、ロバスト標準偏差から計算した報告値のz-スコアを昇順に並べたバーチャートをFig.5に示す。 $|z| \leq 2$ で満足と評価された試験所数は123、 $2 < |z| < 3$ で疑わしいと評価された試験所数は6、 $|z| \geq 3$ で不満足と評価された試験所数は1であった。

参加試験所が採用した試験条件をTable 10に示す。

Fig.6に、到着時の状況別の報告値を示す。到着時に試料が半解凍であった結果は少数(6)であるが、凍結していたと報告された結果との平均値の違いは見られなかった一方、分布の幅が大きかった。同梱したロガーで測定した温度は、全ての試料で試料到着まで0℃以下であった。

Fig.7に、試料採取量別の報告値を示す。試料採取量の平均値への大きな影響は見られなかった。

Fig.8に希釈水別の報告値を示す。ペプトンを加えた希釈水による平均値(3.82)は、生理食塩水を希釈水としたときの平均値(3.65)よりやや高く、有意の差があった。一方、希釈水を生理食塩水とした場

合と、リン酸緩衝液とした場合の平均値(3.80)には有意の差はみられなかった。

Fig.9に、使用した培地別の報告値を示す。標準寒天培地を使用した結果とフィルム等の培地調整を行わない方法で得られた結果に、平均値の違いは認められなかったが、培地調整を行わなかった結果の方が分布の幅が小さかった。

## E. 研究発表

### 1. 論文発表

特になし

### 2. 学会発表

1) 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、松田りえ子、荒川史博、納谷隆行、大城直雅、AOAC Japan section シンポジウム(2019年、7月)

2) 豚肉中エンロフロキサシン分析技能試験プログラムの開発、松田りえ子、荒川史博、畝山智香子、日本食品衛生学会第115回学術講演会(2019年10月)

## 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

Table 1 ヒスタミン分析法性能確認分析結果

1	90.12	92.53
2	96.07	100.05
3	94.97	100.88
4	91.71	92.89
5	91.28	92.43

Table 2 ヒスタミン分析法(LC-MS 法)性能

真度(%)	94.3
併行精度 RSD%	2.1
室内精度 RSD%	2.9

Table 3 ヒスタミン技能試験パイロットスタディ試料の均質性確認結果

	試料1 (g/g)	試料2(g/g)
$c$	9.4.E-05	1.0.E-04
$S_{an}$	1.1.E-06	1.4.E-06
$S_{sam}$	6.8.E-07	1.0.E-06
$\sigma_p$	7.6.E-06	8.0.E-06
$\sigma_p \times 0.5$	3.8.E-06	4.0.E-06
$S_{sam}^2$	4.6.E-13	1.0.E-12
$1.88 \times \sigma_{all}^2 + 1.01 \times S_{an}^2$	1.1.E-11	1.3.E-11

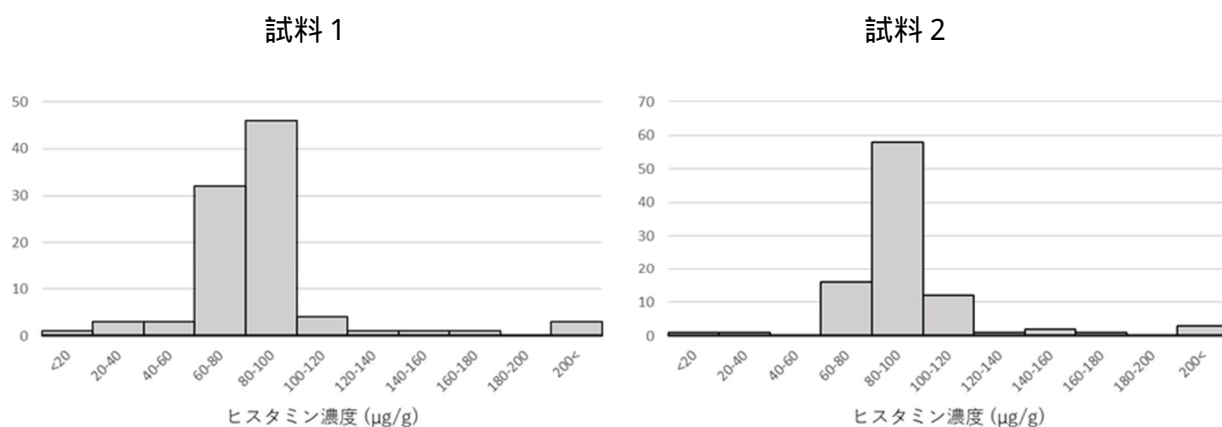


Fig.1 技能比較試験参加試験所からのヒスタミン報告結果のヒストグラム

Table 4 技能比較試験参加試験所からのヒスタミン報告結果の統計パラメータ

	試料 1	試料 2
報告数	95	95
最小値 (µg/g)	8.81	9.25
最大値 (µg/g)	624	440
平均値 (µg/g)	92.2	98.6
標準偏差 (µg/g)	67.3	52.3
RSD (%)	73.0	53.0
ロバスト平均値(µg/g)	82.9	90.4
ロバスト標準偏差(µg/g)	13.5	12.1
ロバストRSD (%)	16.3	13.3
推定標準偏差(µg/g)	6.8	7.3

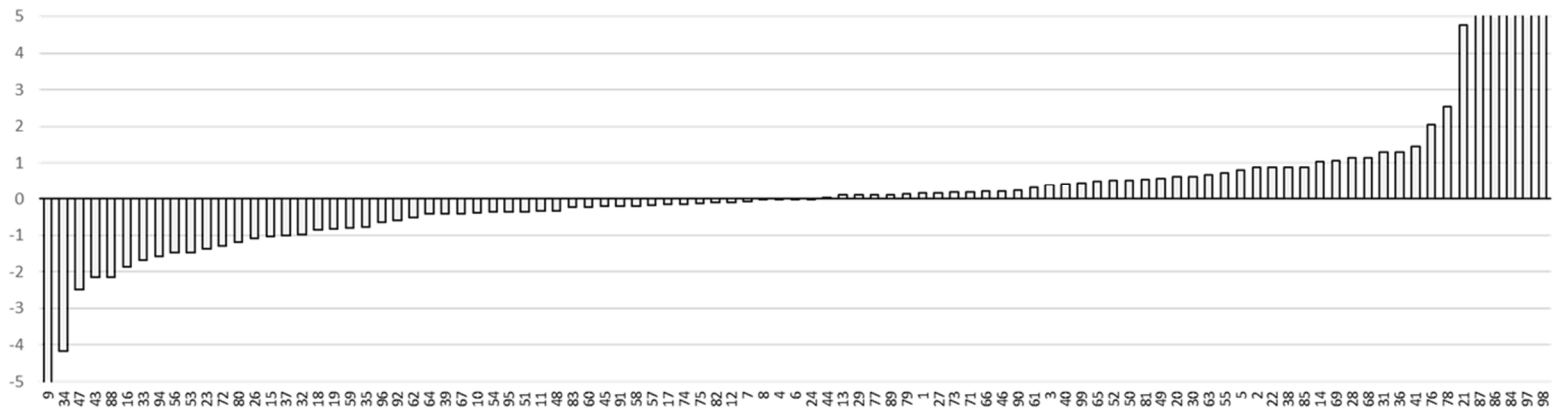
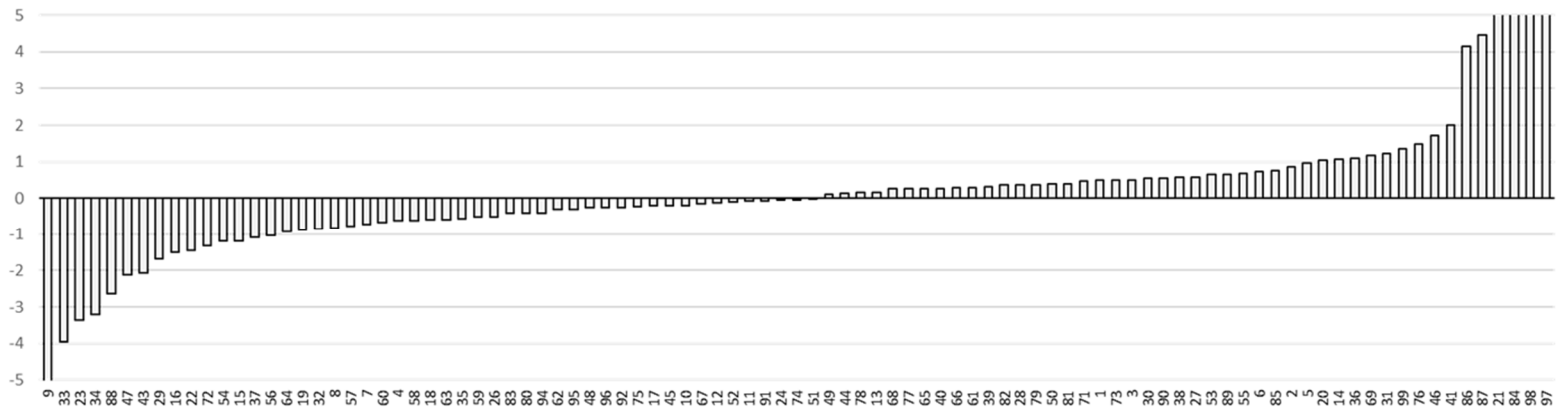


Fig.2 ヒスタミン技能試験パイロットスタディ参加試験所の z-スコア

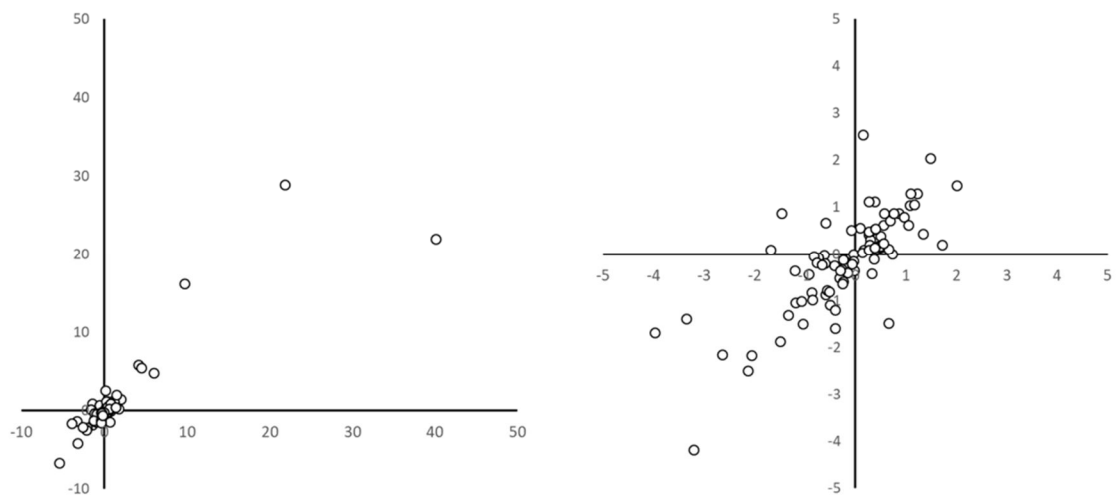


Fig.3 ヒスタミン技能試験パイロットスタディ 2 試料の z-スコア

Table 5 技能試験パイロットスタディ 参加試験所が使用したヒスタミン分析方法

ヒスタミン分析方法	使用した試験所数
LC-蛍光法	47
LC-MS法	16
LC-UV法	5
キット法	25
蛍光法	2

Table 6 LC-蛍光法、LC-MS 法、キット法で得られたヒスタミン技能試験報告値の統計量

	LC-蛍光法		LC-MS法		キット法	
	試料1	試料2	試料1	試料2	試料1	試料2
報告数	47	47	16	16	25	25
最小値 (μg/g)	8.81	9.25	54.2	60.3	29.3	40
最大値 (μg/g)	378	440	624	356	106	115
平均値 (μg/g)	93.9	103.8	111.5	103.0	77.1	87.0
標準偏差 (μg/g)	51.8	61.9	137.0	68.2	19.0	15.0
RSD (%)	55.2	59.6	122.9	66.2	24.6	17.3
ロバスト平均値(μg/g)	84.7	91.9	79.0	88.0	79.5	87.9
ロバスト標準偏差(μg/g)	14.7	13.2	11.9	10.7	14.9	13.1
ロバストRSD (%)	17.3	14.3	15.1	12.1	18.8	14.9

Table 7 一試験所内で LC-蛍光法、LC-MS 法、キット法で得られたヒスタミン濃度の統計量

試行	試料中残留濃度 (μg/g)		
	LC-蛍光法	LC-MS法	キット法
1	81.50	92.15	89.42
2	103.56	91.88	88.35
3	93.59	90.33	89.64
4	105.83	95.95	88.82
5	100.37	98.45	90.80
平均値	96.97	93.75	89.41
標準偏差	9.80	3.34	0.93
RSD%	10.1	3.6	1.0

Table 8 一般生菌数技能試験パイロットスタディ試料の均質性確認結果

$S_{an}$	0.059
$S_{sam}$	0.050
$\sigma_p$	0.25
$\sigma_p \times 0.5$	0.13
$S_{sam}^2$	2.5.E-03
$1.88 \times \sigma_{all}^2 + 1.01 \times S_{an}^2$	1.4.E-02

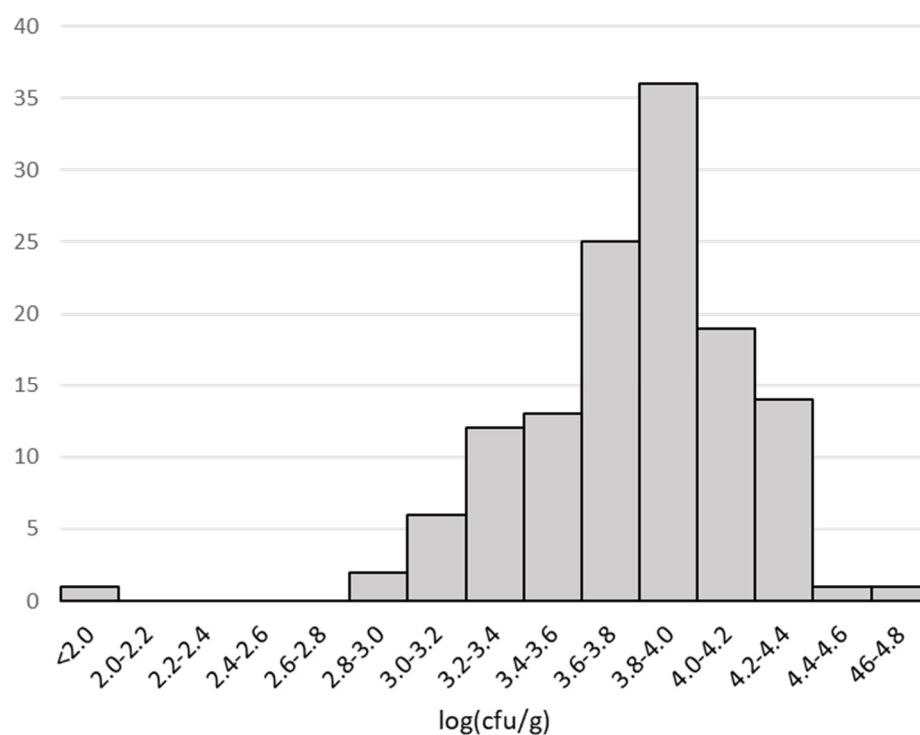


Fig.4 技能比較試験参加試験所からの一般生菌数報告結果のヒストグラム



Table 9 技能比較試験参加試験所からの一般生菌数報告結果の統計パラメータ

報告数	130
最小値	1.7
最大値	4.7
平均値	3.8
ロバスト平均値	3.8
標準偏差	0.39
ロバスト標準偏差	0.36

Table 10 一般生菌数技能試験パイロットスタディ参加試験所が採用した試験条件

条件等		試験所数	条件等		試験所数	
試料到着時の状態	凍結	120	試料採取量(g)	1	2	
	半解凍	6		5	5	
	確認せず	4		7	1	
試験実施日	1月21日	1		8	1	
	1月22日	3		10	40	
	1月23日	13		15-18	2	
	1月24日	8		20	1	
	1月25日	4		25	74	
	1月26日	2		30	2	
	1月27日	47		60	1	
	1月28日	31		不明	1	
	1月29日	17		希釈水	生理食塩水	28
	1月30日	2			リン酸緩衝液	73
	1月31日	1			ペプトン添加	26
	2月1日	1	その他		3	
				培地	標準寒天培地	117
			その他(フィルム等)		13	

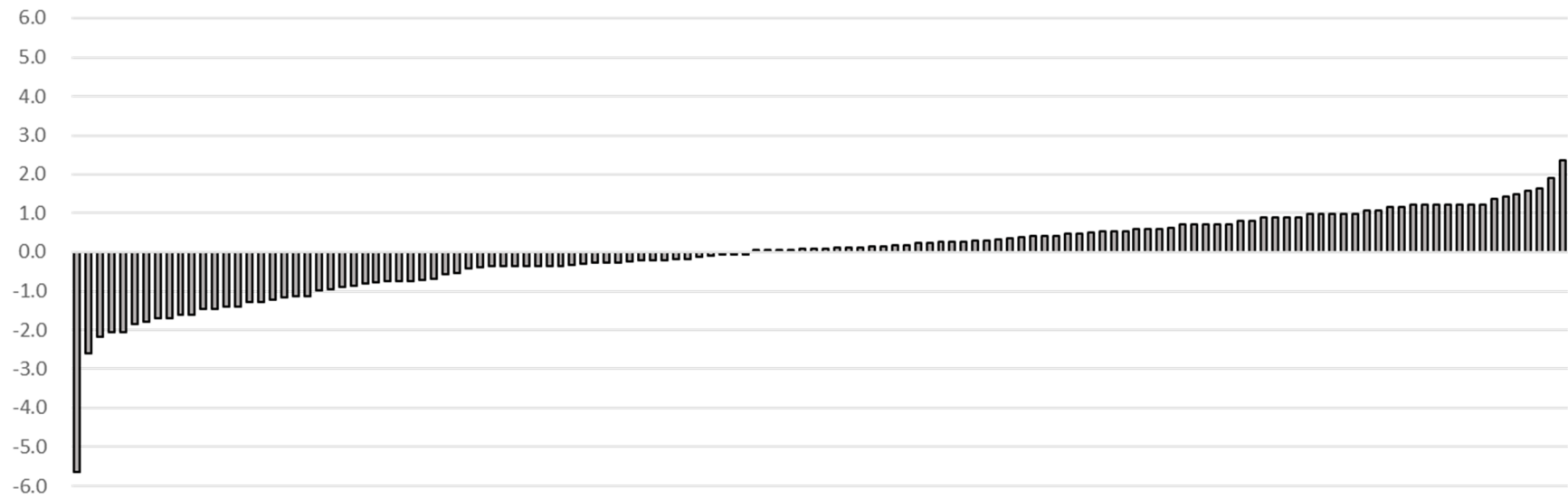


Fig. 5 一般生菌数技能試験パイロットスタディ参加試験所の z-スコア

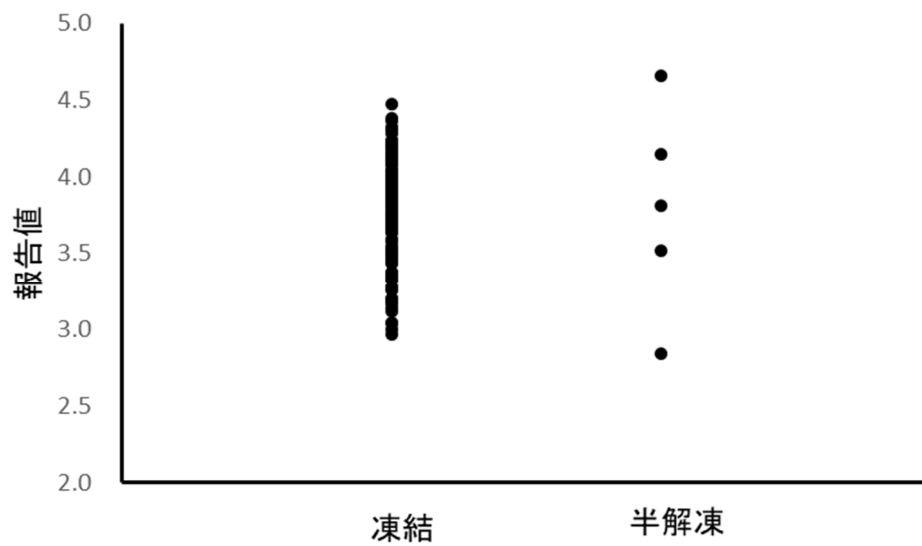


Fig.6 試料到着時状況別の報告値

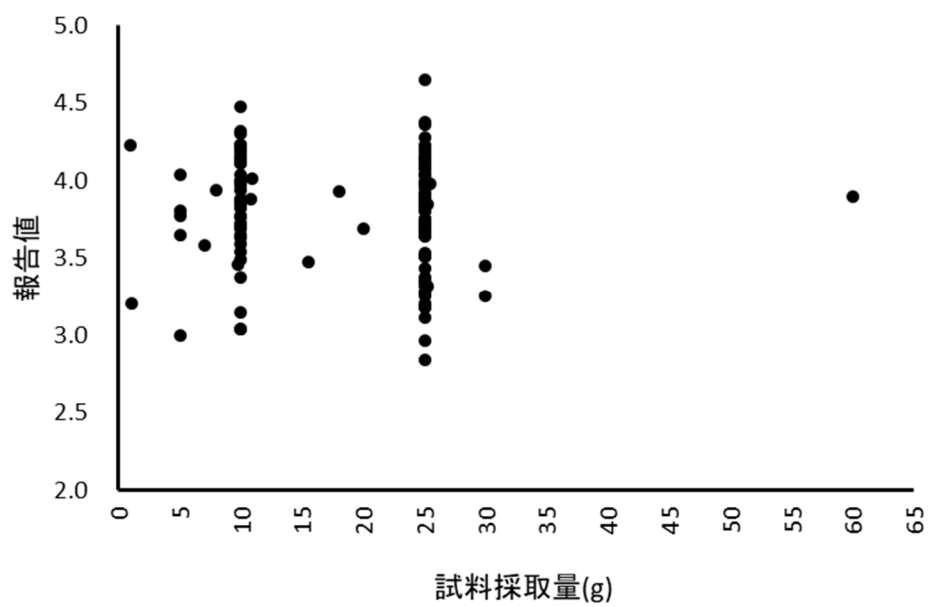


Fig.7 試料採取量別の報告値

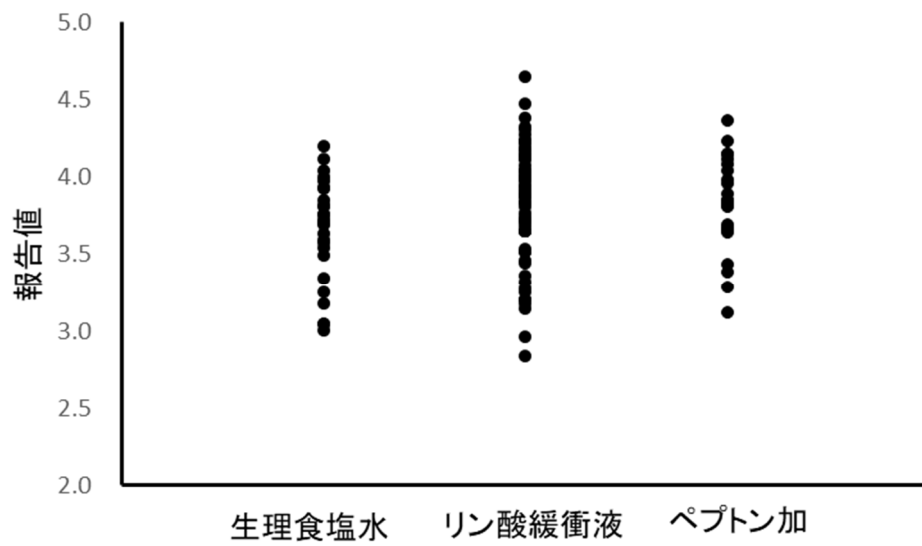


Fig.8 希釈水別の報告値

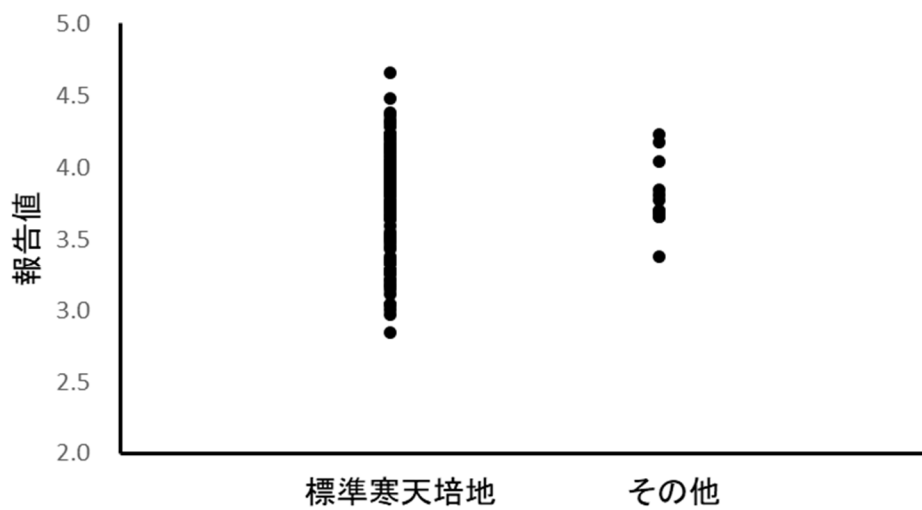


Fig.9 培地別の報告値

令和元年度 厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)

食品衛生検査を実施する試験所における品質保証システムに関する研究

研究分担報告書

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起因す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。

本分担課題では、上記の課題を解決し、新規技能試験プログラムの開発を進めるにあたり、魚加工品を基材としたヒスタミン試験用ならびに一般生菌数の技能試験用試料の開発を行った。また、一般生菌数の技能試験においては輸送方法の検討についても行った。

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

松田 りえ子 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、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。それぞれの試験所が通常実施している試験のアナライズ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。平成 30 年には、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および下痢性貝毒、動物薬の検討試料について1年後の安定性試験を行った。また、最終年度にあたる本年度は、魚加工品中のヒスタミン技能試験用試料と魚すり身中の一般生菌数技能試験用試料の開発を行った。以下、これら2つの内容を分けて報告する。

## I. さばを基材としたヒスタミン技能試験のための試料開発

ヒスタミンを多く含む食品を摂食した場合、食後数分で頭痛、顔面の紅潮、発熱等のアレルギー様症状を引き起こすことから、海外では魚類やその加工品中のヒスタミン濃度の基準値が設定されている。一方国内では、食品中のヒスタミン濃度の基準値は設定されていないものの、製造、流通段階における温度管理、製造時の工程管理検査などその適切な管理が求められている<sup>1)</sup>。しかし、国内には検査の信頼性を担保する手段の

一つとなる技能試験が実施されていない。

そこで本分担研究ではヒスタミン技能試験パイロットスタディに供する試料の開発を行った。

## B.研究方法

加熱殺菌後に目的の濃度となる試料を調整するために、予備検討としてヒスタミンの熱安定性を確認した。次に実際に市場に流通しているさばの缶詰には調味されているものがあり、この調味成分が測定値に影響を及ぼさないかを確認するために、技能試験の試料としてみそ煮と水煮の2種類の缶詰を調整した。

### ヒスタミンの熱安定性

ヒスタミンの加熱安定性を確認するために50, 100, 150 µg/g の試料を作製し、121、15 分間の条件で殺菌した際にそれぞれの濃度における残存率を確認した。50 µg/g の試料は 9.94 kg のさば水煮に対して 0.8363 g のヒスタミン二塩酸塩(富士フィルム和光株式会社製; Code:087-03553)を添加した。100 µg/g の試料は 9.98 kg のさば水煮に対して 1.6557 g のヒスタミン二塩酸塩、150 µg/g の試料は 10.08 kg のさば水煮に対して 2.5090 g のヒスタミン二塩酸塩を添加してよく混合した。混合後の試料を平3号缶に約 50 g ずつ小分けし、ミニシーマ MS4S(木村エンジニアリング株式会社製)を用いて製缶した。得られた試料数は、50 µg/g は 149 缶、100 µg/g は 150 缶、150 µg/g は 165 缶であ

った。

### 技能試験試料の作製

添加するヒスタミンの濃度は Codex 委員会で設定されているマグロ、イワシ等の腐敗基準である 100 µg/g とした。

試料 1 として市販のさばみそ煮缶詰 13.70 kg をサイレントカッター(KILIA 社製)の攪拌モードで約 1 分間運転することで粗く粉碎した。その後、10 mL の純水に溶解したヒスタミン二塩酸塩 2.25 g を低速で回転させながら添加し、さらに約 3 分間高速モードで混合・均質化した(Fig.1)。試料 2 は市販水煮缶詰 13.94 kg を試料1と同様の手順で混合・均質化した。添加するヒスタミンはヒスタミン二塩酸塩 2.27 g を純水 10 mL に溶かし、試料 1 と同様の手順で添加した。

混合後の試料を平3号缶に約 90 g ずつ小分けし、ミニシーマ MS4S(木村エンジニアリング株式会社製)を用いて製缶した。製缶した缶詰を 121、15 分の条件でレトルト殺菌を行った。レトルト殺菌には熱水循環式レトルト殺菌装置(UHR-W70, (株)神垣鉄工所製)を用いた。

得られた試料は、試料 1 は 139 缶、試料 2 は 150 缶であった。

試料の作製は日本ハム株式会社中央研究所で行った。

### 均質性評価の概略

均質性試験は公益社団法人日本食品衛生協会 食品衛生研究所で実施した。

作製した試料の均質性を確認するために、試料1の139缶、試料2の150缶から、それぞれランダムに10缶を抜き取り、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。

#### 安定性評価

均質性評価と技能試験に用いた残りの試料からそれぞれランダムに10缶を抜き取り、安定性の評価を行った。安定性評価の実施時期は試料調整から2ヶ月後の技能試験パイロットスタディ終了時に行った。

#### **C. D. 結果と考察**

##### ヒスタミンの熱安定性

ヒスタミンの加熱による安定性は50, 100, 150 µg/gの3つの濃度帯で確認した。添加したヒスタミン二塩酸塩の量から計算される理論値はそれぞれ、50.79, 100.16, 150.29 µg/gであった。Table 1に示す通り、均質化、製缶、加熱と一連の処理を行った試料を測定した結果は、それぞれ48.09, 93.62, 141.20 µg/gであった。以上より、均質化処理と121 で15分間の加熱操作を行った試料のヒスタミン残存率は94.7, 93.5, 94.0 %であり、濃度による差は確認されなかった。

##### 技能試験試料の作製

試料1は市販のさばみそ煮缶詰 13.70 kgを基材とし139缶、試料2は市販のさば水煮缶詰 13.94 kgを基材とし150缶の試料を得た。ヒスタミン二塩酸塩の添加量から計算される試料1のヒスタミン理論値 99.01 µg/g、試料2のヒスタミン理論値 98.50 µg/gに対して、実際の測定値はそれぞれ 93.66, 99.74 µg/gであった(Table 2)。

##### 試料の安定性評価

安定性の評価は技能試験に用いた残試料(試料1は30缶、試料2は41缶)からランダムに10缶抜き取りそれぞれ2回の繰り返し試験を行い均質性試験と同様に The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories に示されている Recommendation 7, 8 に従って行った。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  $s^2_{sam}$ 、 $s_{all}=0.3 \times s_p$  とするとき、 $s^2_{sam} < 1.88 \times s^2_{all} + 1.01 \times s_{an}^2$  を満たせば試料は均質と判断される。Table 3に示すように試料1, 2ともに上記評価基準を満たしており、試料の均質性は維持されていた。一方、Table 4に示す通り試料1のヒスタミン濃度は安定性試験時には均質性試験時から平均値が3 µg/g程度減少し、有意な差が見られたが Horwitz 式から予測される試験所間の標準偏差が7 µg/g程度、技能試験の室間標準偏差は10 µg/g程度であることから、技能試験の結果の評価には影響が小さいと考えられた。試料1については基材にみそ煮を使用しているため、調味料の影響によりヒスタミンが減少したことも考えられるが、残試料数が少なかつたため、さらに長期の安定性試験が実施できず十分な原



因追及には至らなかった。

## II. 魚肉すり身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

微生物定量試験の実施を困難にしている主な理由に輸送方法の困難さとアナライトが生き物であるため安定性が担保できない点が挙げられる。そこで本分担研究では、昨年度の予備検討において一般生菌の安定性が確認された魚すり身を用いて試料の作製を行い。さらに、「感染症発生動向調査事業等においてゆうパックで検体を送付する際の留意事項」(平成 24 年 3 月 15 日付 健感発第 0315 第 1 号)に従って試料の輸送方法を検討した。

#### 試料作製

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る。そこで昨年度の予備検討において良好な結果を得た添加物入りの魚すり身(柳都入船製)を用いて 130 機関を対象とした技能試験パイロットスタディ試料の作製を行った。用いたすり身の原材料は、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。

魚すり身 15 kg をサイレントカッター(KILIA 社製)の低速運転で約 1 分間かけて粗く粉碎した。その後、高速運転で 5 分間粉碎し、均質化試料とした。この均質化した試料を一次容器としてポリプロピレン製の遮光瓶(ASONE; 1-6137-03)に約 70 g ずつ充填して(Fig.2)、二次容器であるポリエチレン製の袋(旭化成製、コーパック; 品番 ST1525)に入れ真空包装し、使用時まで-20 で冷凍保管した。

試料の作製は日本ハム株式会社中央研究所で行った。

#### 均質性評価

均質性試験は公益社団法人日本食品衛生協会 食品衛生研究所で実施した。

作製した試料からランダムに 10 個を抜き取り、容器内でよく混合し各容器から 25 g を 2 回採取し、一般生菌数の測定を行った。試料 25 g に対して 225 mL の生理食塩水を加えストマッカーで 1 分間混合し、1 mL をシャーレに播種し、標準寒天培地を注ぎよく攪拌したのち、倒置して 35 で 48 時間の培養を行った。均質性の試験は 12 月 21 日に行った。

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。

#### 安定性評価

作製した試料からランダムに 3 個を抜き取り、容器内でよく混合し各容器から 25 g を 2 回採取し、一般生菌数の測定を行った。試

験の実施方法は均質性評価と同様に行った。安定性試験は技能試験開始時の 1 月 22 日と試験終了時の 2 月 3 日に行った。

#### 試料の梱包と輸送

「感染症発生動向調査事業等においてゆうパックで検体を送付する際の留意事項」(平成 24 年 3 月 15 日付 健感発第 0315 第 1 号)に従って試料の梱包を行った。梱包方法は以下に示す 4 重構造で行った。一次容器に試料を充填し、試料漏洩防止のためにポリエチレン製の二次容器で一次容器を真空包装し、発泡スチロール製の三次容器に真空包装済の試料、ドライアイスおよび温度ロガーを入れた基本 3 重包装を行ったうえで鍵付きの 4 次容器に入れた。

試料はすべての技能試験参加者に 1 月 23 日に届くよう、航空便を使用する地域にある 15 の試験所には 1 月 21 日に、その他の地域にある 114 の試験所には 1 月 22 日に発送した。1 機関のみ参加試験所の都合により、22 日に届くように手配した。

輸送時の温度上昇により技能試験試料に問題が生じないかモニタリングするために、発送時から 10 分間隔で温度をモニタリングし全ての機関が試料を受領するまでの期間の温度をモニタリングした。

### **C. D. 結果と考察**

#### 試料作製

食品衛生法に従い 25 g のサンプリングを 2 回行えるよう、1 容器あたりに 70 g 以上試

料を充填した 186 個の一般生菌数技能試験試料を得た。技能試験用の試料は作製時の 12 月 12 日から試験所に送付する 1 月 21 日まで二次容器の状態で -20 で保存した。

#### 均質性評価

均質性の評価は作製した試料 186 個からランダムに 10 個抜き取りそれぞれ 2 回の繰り返し試験を行い The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories に示されている Recommendation 7, 8 に従って行った。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  $s^2_{sam}, s_{all}=0.3 \times s_p$  とするとき、 $s^2_{sam} < 1.88 \times s^2_{all} + 1.01 \times s_{an}^2$  を満たせば試料は均質と判断される。Table 7 に示すように上記評価基準を満たしており、試料は均質であると評価した。

#### 安定性評価

安定性試験は技能試験開始時の 1 月 22 日と試験終了時の 2 月 3 日に、それぞれランダムに 3 個の試料を抜き取り、2 回の繰り返し試験を行い、微生物試験の一般的な標準偏差と言われている 0.25 を判断基準として採用した。Table 6, 8, 9 に示す通り、試料調整時から試験開始時、試験終了時の常用対数値はそれぞれ 4.635, 4.438, 4.115 と試

験開始時から試験終了時の2週間においても常用対数値で0.323減少しており、試料は安定ではないと評価された。昨年度実施した予備検討においては約1ヵ月間安定であったことから考えると、使用したすり身の自然汚染菌の種類、性質による影響ではないかと考えられる。大規模な技能試験を実施するにあたり安定性が担保された試料を供給するには、意図的に特定の食中毒菌を添加するなどの改善を行う必要がある。

#### 試料の梱包と輸送

今後食中毒菌の定量試験を実施する事も視野に入れ、「感染症発生動向調査事業等においてゆうパックで検体を送付する際の留意事項」(平成24年3月15日付 健感発第0315第1号)に従って試料の発送作業を行った。

4重包装までの梱包段階は問題なく行うことができた。しかし、試料の輸送に関しては日本郵便株式会社と打合せを重ね発送の準備までは整えたが、最終的にはドライアイスを満たした郵送物は受け入れてもらうことができず、ヤマト運輸株式会社の冷凍便により試料を輸送することとなった。微生物の大規模な技能試験を行うに当たっては、試料調整に加えて、輸送方法等のインフラについても十分に検討しなければならないことが確認された。

試料は1月23日に参加者の手元に届くように、航空便を利用し翌々日に配達予定の地域にある試験所には1月21日発送、

翌日に届く試験所には1月22日に発送した。Table 10に示す通り、すべての試験所に1月23日に試料は到着した(参加者の都合により1月22日に受け取り希望であった試験所番号119は除く)。1月21日発送の16の試験所で最も遅く試料が届いたのは試験所番号42、1月22日発送の114の試験所で最も遅く試料が届いたのは試験所番号14であった。試験所番号42は1月23日の11時24分に試料の配達完了し、試験所番号14は1月23日の16時50分に試料の配達完了した。1月21日発送の16試験所の温度モニタリング結果をFig. 4に1月22日に発送の114試験所の温度モニタリング結果をFig. 6に示した。また、それぞれの発送日において最も配達が遅かった試験所番号42、14の試料輸送時の温度モニタリング結果をFig. 5, 7に示した。全ての試験所ともTable 10に示す試料配達完了時間までは温度の上昇がなく、トラックの積み替え時も含めて試料の輸送は問題なく実施されていることが確認できた。

#### **E. 研究発表**

##### 1. 論文発表

特になし

##### 2. 学会発表

AOAC International Japan section 第22回  
年次大会

2019年7月12日

一般生菌数の技能試験を行うにあたっての  
予備検討

荒川 史博, 松田 りえ子, 井部 明広

## 参考文献

1) 食品安全委員会:ファクトシート(ヒスタミン)(平成 26 年 3 月 26 日更新)

[https://www.fsc.go.jp/sonota/factsheets/140326\\_histamine.pdf](https://www.fsc.go.jp/sonota/factsheets/140326_histamine.pdf)



Fig.1 ヒスタミン試料作製(左上:攪拌時、右:低速モードでの粉碎時、左下:高速モードでの粉碎後)

Table 1 試料作製時のヒスタミンの残存率

缶番号	50 µg/g		缶番号	100 µg/g		缶番号	150 µg/g	
	測定1	測定2		測定1	測定2		測定1	測定2
11	47.54	48.21	28	90.47	95.32	6	134.81	138.10
81	49.64	48.17	122	93.21	95.11	29	140.49	137.90
91	49.18	49.94	158	98.07	95.91	113	144.75	143.30
117	47.54	47.26	212	95.90	96.68	146	140.17	139.81
201	47.96	46.43	268	90.97	98.20	176	138.53	143.19
257	48.95	46.86	325	91.15	95.14	266	145.06	140.70
317	47.97	47.84	382	89.79	89.81	329	145.77	139.11
387	48.26	47.71	425	92.85	88.23	359	144.11	137.70
397	46.32	49.30	482	93.03	91.83	483	146.26	145.55
487	48.94	47.83	498	97.38	93.33	543	136.80	141.85
総平均(µg/g)		48.09			93.62			141.20
添加量(µg/g)		50.79			100.16			150.29
残存率(%)		94.7			93.5			94.0

Table 2 ヒスタミン試料調整時の均質性試験結果

	試料1(みそ煮)		試料2(水煮)	
	測定1	測定2	測定1	測定2
1	93.57	94.27	96.02	100.34
2	93.84	94.61	97.41	98.28
3	91.68	93.98	101.43	100.09
4	92.92	92.79	97.52	97.11
5	94.71	92.64	99.63	101.88
6	94.72	96.87	100.90	99.49
7	92.58	93.91	99.37	100.68
8	92.99	95.21	99.41	101.20
9	94.49	93.43	101.66	100.79
10	91.53	92.44	99.68	101.83
総平均( $\mu\text{g/g}$ )		93.66		99.74

Table 3 ヒスタミン試料調整時の均質性試験結果の評価

	試料1(みそ煮) ( $\mu\text{g/g}$ )	試料2(水煮) ( $\mu\text{g/g}$ )
$s_{an}$	1.1E-06	1.4E-06
$s_{sam}$	6.8E-07	1.0E-06
$\sigma_p$	7.6E-06	8.0E-06
$\sigma_{all}(0.5\sigma_p)$	3.8E-06	4.0E-06
$s_{sam}^2$	4.6E-13	1.0E-12
$1.88 \times \sigma_{all}^2 + 1.01 \times s_{an}^2$	1.1E-11	1.3E-11

Table 4 ヒスタミン技能試験終了時の均質性試験結果

	試料1(みそ煮)		試料2(水煮)	
	測定1	測定2	測定1	測定2
1	86.20	86.97	97.22	96.44
2	91.32	93.45	98.11	100.20
3	90.85	94.31	98.12	100.47
4	91.57	94.77	100.86	99.42
5	87.79	90.07	97.14	96.58
6	88.90	88.90	100.42	100.21
7	89.99	91.62	99.18	98.74
8	88.97	89.19	99.70	101.25
9	92.30	93.63	99.88	97.26
10	86.26	88.71	96.24	99.00
総平均(μg/g)		90.29		98.82

Table 5 ヒスタミン技能試験終了時の均質性試験結果の評価

	試料1(みそ煮) (μg/g)	試料2(水煮) (μg/g)
$s_{an}$	1.5E-06	1.2E-06
$s_{sam}$	2.2E-06	1.0E-06
$\sigma_p$	7.3E-06	7.9E-06
$\sigma_{all}(0.5\sigma_p)$	3.7E-06	4.0E-06
$s_{sam}^2$	4.7E-12	1.1E-12
$1.88 \times \sigma_{all}^2 + 1.01 \times s_{an}^2$	1.1E-11	1.2E-11



Fig. 2 一般生菌数試料作製(左:高速運転での粉碎後、右:ポリプロピレン容器に重点後)



Fig. 3 試料を輸送する際の基本的3重包装と4次容器

(左上:1次容器 ポリプロピレン製遮光瓶、左下:2次容器 ポリエチレン製フィルム、  
右上:3次容器 発泡スチロール製、右下:4次容器 鍵付きケース)



Table 6 一般生菌数技能試験試料調整時の均質性試験結果

試料番号	測定1	測定2
40	4.708	4.658
45	4.525	4.544
67	4.505	4.703
69	4.732	4.605
72	4.618	4.585
87	4.602	4.618
105	4.748	4.712
109	4.748	4.712
141	4.623	4.550
147	4.618	4.580
総平均(常用対数値)		4.635

Table 7 一般生菌数技能試験試料調整時の均質性試験結果の評価

$S_{an}$	0.059
$S_{sam}$	0.050
$\sigma_p$	0.25
$\sigma_{all} (0.5\sigma_p)$	0.13
$S_{sam}^2$	2.5E-03
$1.88 \times \sigma_{all}^2 + 1.01 \times S_{an}^2$	1.4E-02

Table 8 一般生菌数技能試験開始時の安定性試験結果

試料番号	測定1	測定2
155	4.498	4.450
166	4.365	4.368
171	4.498	4.450
総平均(常用対数値)		4.438

Table 9 一般生菌数技能試験終了時の安定性試験結果

試料番号	測定1	測定2
157	4.104	4.176
164	4.099	4.188
185	4.039	4.086
総平均(常用対数値)		4.115

Table 10 一般生菌数試験試料の配送状況(グレーの網掛けは21日発送の16試験所)

試験所番号	出荷日	到着日	到着時刻	試験所番号	出荷日	到着日	到着時刻	試験所番号	出荷日	到着日	到着時刻	試験所番号	出荷日	到着日	到着時刻
1	2020/1/21	123	1117	36	2020/1/22	123	945	71	2020/1/22	123	947	106	2020/1/22	123	914
2	2020/1/22	123	907	37	2020/1/22	123	940	72	2020/1/22	123	1507	107	2020/1/22	123	914
3	2020/1/22	123	1455	38	2020/1/22	123	940	73	2020/1/22	123	1532	108	2020/1/22	123	927
4	2020/1/22	123	947	39	2020/1/22	123	1036	74	2020/1/22	123	1406	109	2020/1/22	123	953
5	2020/1/22	123	855	40	2020/1/22	123	1451	75	2020/1/22	123	905	110	2020/1/22	123	1156
6	2020/1/22	123	951	41	2020/1/22	123	936	76	2020/1/22	123	1031	111	2020/1/22	123	1017
7	2020/1/22	123	859	42	2020/1/21	123	1124	77	2020/1/22	123	954	112	2020/1/22	123	1100
8	2020/1/22	123	1004	43	2020/1/22	123	1125	78	2020/1/22	123	914	113	2020/1/22	123	1043
9	2020/1/22	123	814	44	2020/1/22	123	1051	79	2020/1/22	123	936	114	2020/1/22	123	852
10	2020/1/22	123	934	45	2020/1/22	123	920	80	2020/1/22	123	845	115	2020/1/22	123	852
11	2020/1/22	123	1500	46	2020/1/22	123	1056	81	2020/1/22	123	1027	116	2020/1/22	123	910
12	2020/1/22	123	934	47	2020/1/22	123	1024	82	2020/1/22	123	1046	117	2020/1/22	123	933
13	2020/1/22	123	934	48	2020/1/22	123	1554	83	2020/1/22	123	843	118	2020/1/22	123	904
14	2020/1/22	123	1650	49	2020/1/22	123	1016	84	2020/1/22	123	933	119	2020/1/21	122	959
15	2020/1/22	123	1508	50	2020/1/21	123	1011	85	2020/1/22	123	1152	120	2020/1/22	123	1001
16	2020/1/22	123	1348	51	2020/1/22	123	1016	86	2020/1/22	123	1034	121	2020/1/22	123	847
17	2020/1/21	123	904	52	2020/1/22	123	950	87	2020/1/22	123	949	122	2020/1/22	123	904
18	2020/1/21	123	1022	53	2020/1/21	123	827	88	2020/1/22	123	949	123	2020/1/22	123	1039
19	2020/1/21	123	1056	54	2020/1/22	123	943	89	2020/1/22	123	1007	124	2020/1/22	123	944
20	2020/1/21	123	1056	55	2020/1/22	123	946	90	2020/1/22	123	1039	125	2020/1/22	123	945
21	2020/1/22	123	939	56	2020/1/22	123	954	91	2020/1/22	123	947	126	2020/1/22	123	858
22	2020/1/22	123	1431	57	2020/1/22	123	1003	92	2020/1/22	123	947	127	2020/1/22	123	910
23	2020/1/22	123	942	58	2020/1/22	123	1003	93	2020/1/22	123	944	128	2020/1/22	123	935
24	2020/1/22	123	1453	59	2020/1/22	123	937	94	2020/1/22	123	1017	129	2020/1/21	123	1014
25	2020/1/21	123	956	60	2020/1/22	123	943	95	2020/1/22	123	908	130	2020/1/21	123	939
26	2020/1/22	123	1055	61	2020/1/22	123	933	96	2020/1/21	123	1038				
27	2020/1/22	123	1402	62	2020/1/22	123	1402	97	2020/1/21	123	853				
28	2020/1/22	123	855	63	2020/1/22	123	1402	98	2020/1/21	123	853				
29	2020/1/22	123	916	64	2020/1/22	123	905	99	2020/1/22	123	1111				
30	2020/1/22	123	1027	65	2020/1/22	123	1147	100	2020/1/22	123	1025				
31	2020/1/22	123	1108	66	2020/1/22	123	855	101	2020/1/22	123	908				
32	2020/1/22	123	920	67	2020/1/22	123	1005	102	2020/1/22	123	930				
33	2020/1/22	123	916	68	2020/1/22	123	1005	103	2020/1/22	123	908				
34	2020/1/22	123	1449	69	2020/1/22	123	954	104	2020/1/21	123	1026				
35	2020/1/22	123	1006	70	2020/1/22	123	947	105	2020/1/22	123	1117				

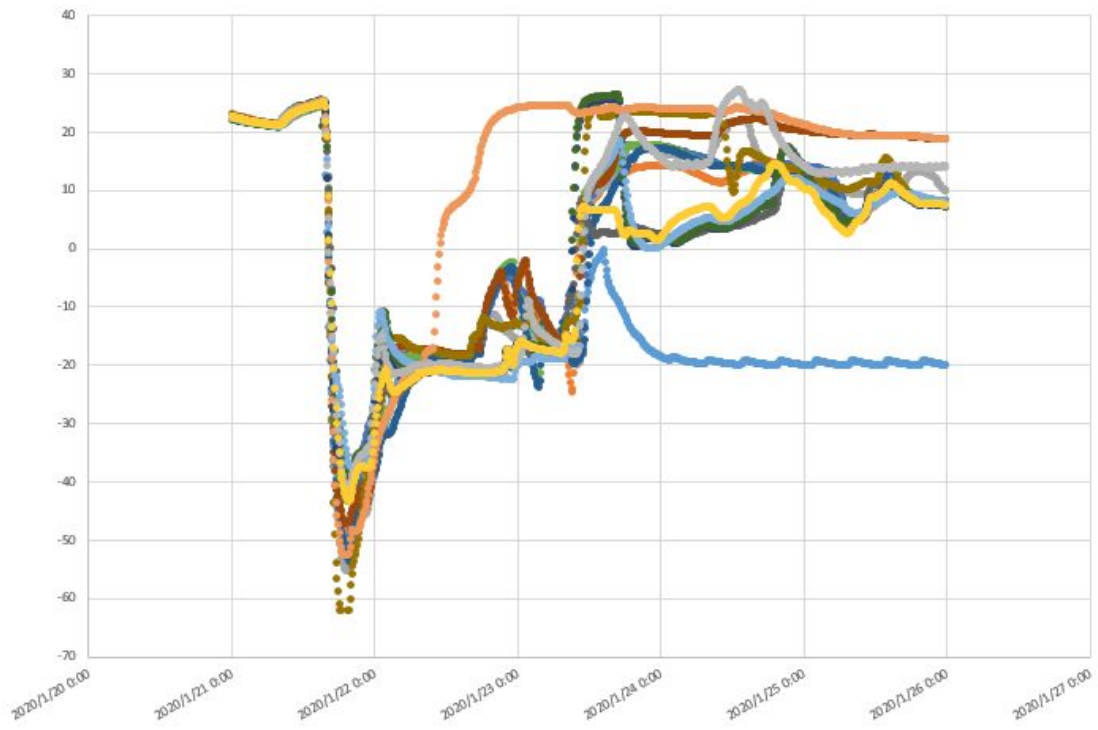


Fig. 4 1月21日発送試料の温度モニタリング

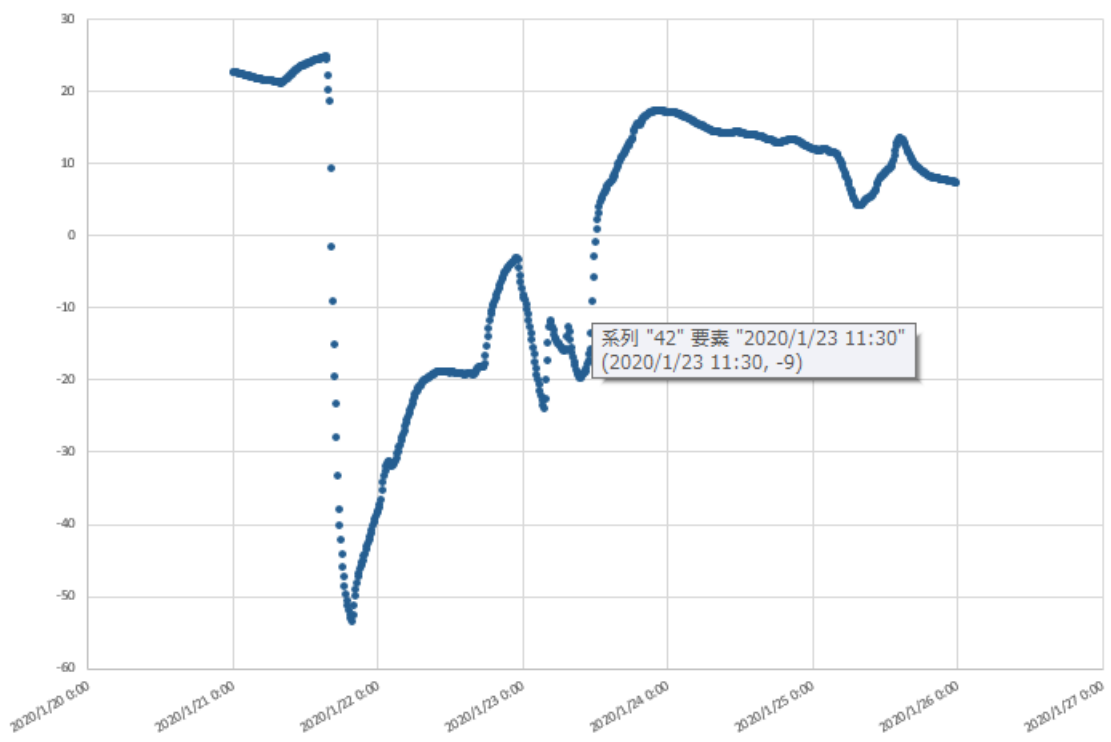


Fig. 5 試験所番号 42 の温度モニタリング

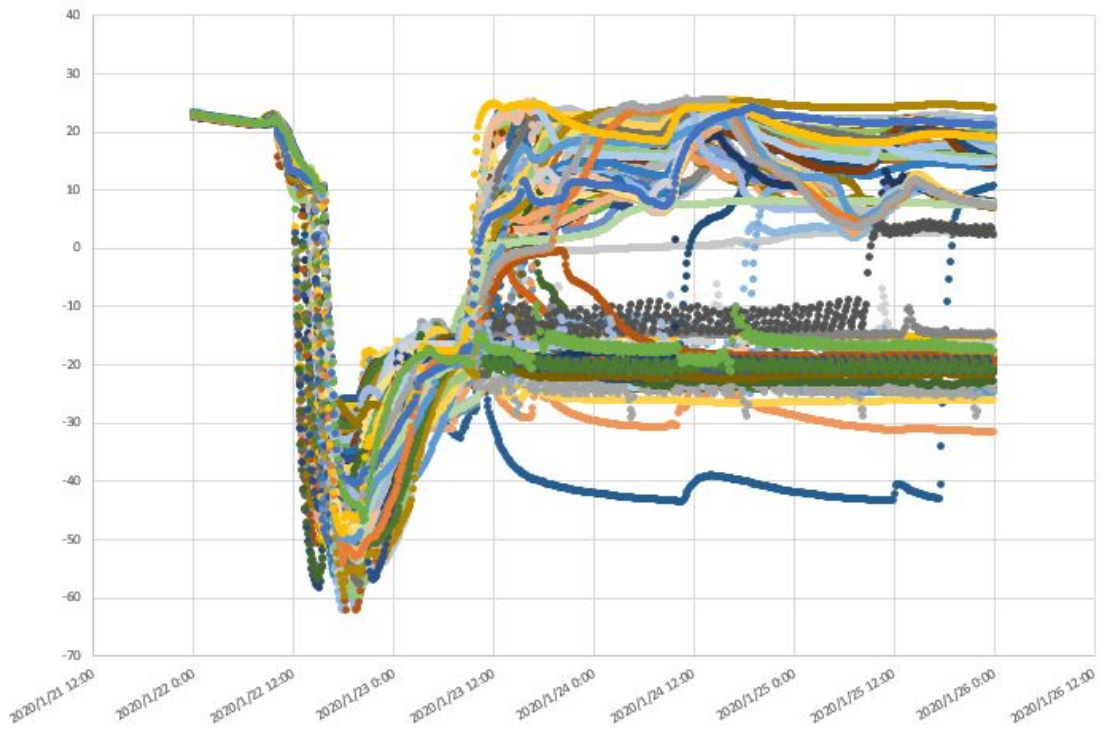


Fig. 6 1月22日発送試料の温度モニタリング

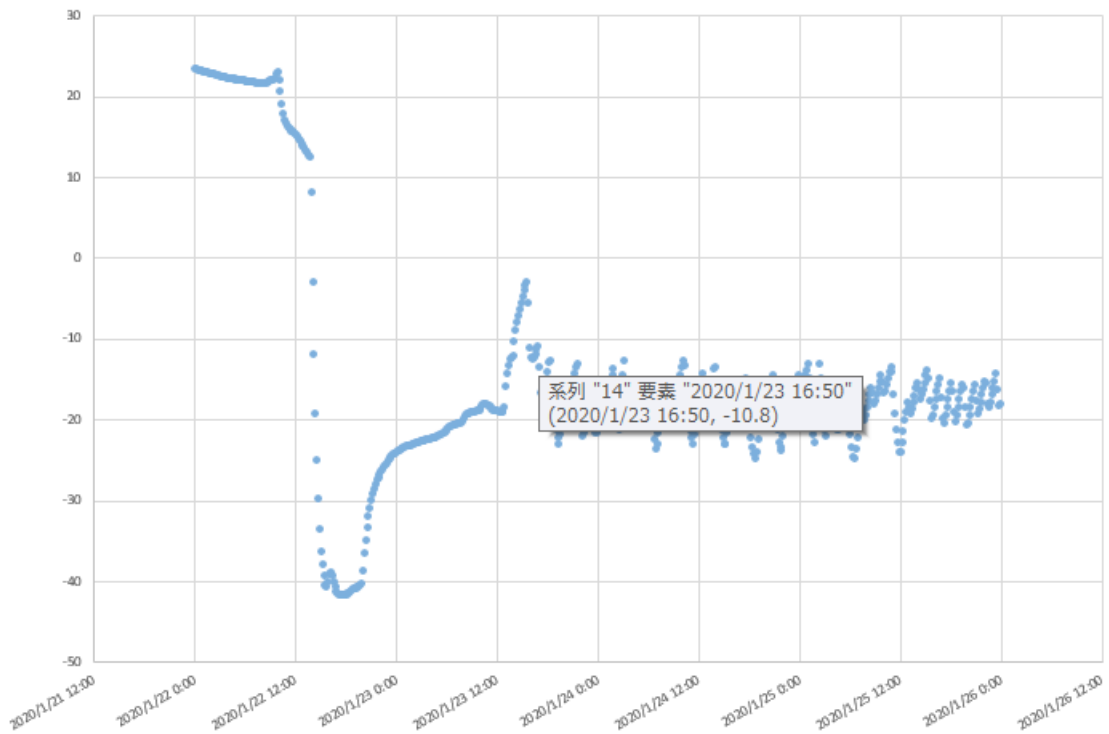


Fig. 7 試験所番号 14 の温度モニタリング

## 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
なし					

### 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, 佐藤夏岐, 八木真美, 平林尚之, 高坂典子, 渡辺卓穂	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	第 115 回日本食品衛生学会学術講演会 (東京)	2019
若栗忍, 佐藤夏岐, 渡辺卓穂	アレルギー物質 (小麦タンパク質) を含む特定原材料検査のための技能試験プログラムのパイロットスタディ	第 115 回日本食品衛生学会学術講演会 (東京)	2019
松田りえ子, 荒川史博, 畝山智香子	豚肉中エンロフロキサシン分析技能試験プログラムの開発	第 115 回日本食品衛生学会学術講演会 (東京)	2019
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	AOAC Japan section シンポジウム (東京)	2019
吉田栄充, 山元梨津子, 大坂郁恵, 井上裕子, 大門拓実, 高橋京子, 近藤貴英, 笹本剛生, 石井里枝	ボトムアップ方式を用いた放射性セシウム検査における不確かさの推定	令和元年度全国衛生化学技術協議会研究会 (広島)	2019
石井里枝, 山元梨津子, 大坂郁恵, 吉田栄充, 井上裕子, 大門拓実, 高橋京子, 近藤貴英, 笹本剛生	電子天びんの内部校正及び不確かさ算出の検討	令和元年度全国衛生化学技術協議会研究会 (広島)	2019
大坂郁恵, 山元梨津子, 吉田栄充, 井上裕子, 大門拓実, 高橋京子, 近藤貴英, 笹本剛生, 石井里枝	トップダウン方式による不確かさ算出方法の検討	令和元年度全国衛生化学技術協議会研究会 (広島)	2019
荒川史博, 松田りえ子, 井部明広	一般生菌数の技能試験を行うにあたっての予備検討	AOAC International Japan section 第 22 回年次大会 (東京)	2019

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



次の職員の令和元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

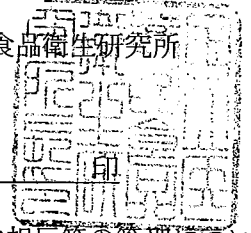
当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
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。

令和2年3月27日

厚生労働大臣 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



次の職員の令和元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・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□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。



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 本多 麻夫



次の職員の令和元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"/>
-------------	---

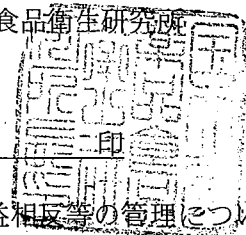
6. 利益相反の管理

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□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。

厚生労働大臣 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



次の職員の令和元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。