解 説

食品の分析データの信頼性確保システムの確立

安 井 明 美[§]

独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所 食品分析研究領域

For Quality Control and Quality Assurance in Food Analysis

Akemi Yasui[§]Analytical Science Division, National Food Research Institute, National Agriculture
and Food Research Organization, 2-1-12 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8642

は じ め に

分析値の「質」が問われている。製品の品質は、手元にモノがあるので、いくらでも試験ができるが、分析値は数字に過ぎず、そのものの試験は不可能である。数字が一人歩きして問題を起すのはそのためである。分析値の信頼性をどのようにして確保し、示さなければならないかは、食品分析を行う機関にとっての重要な課題である。

FAO/WHO 合同食品規格計画の下で活動している国際食品規格委員会 (Codex Alimentarius Commission: 以下 CAC) では、食品の輸出入に係わる試験所の条件として、① ISO/IEC Guide25 (1990) (試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項; 通称, 試験所認定) [現: ISO/IEC 17025 (2005)] に適合していること, ② 適切な Proficiency Testing に参加していること, ③ 妥当性が確認された方法を用いていること, ④ 内部品質管理 (内部精度管理) を行っていること, をガイドライン (CAC/GL27-1997) として挙げている。

また、食品規制に係わる試験所の管理: 推奨事項では、Proficiency Testing と試験室間共同試験 (以下、室間共同試験) のプロトコールと内部品質管理のガイドラインを、試験所の品質保証の参照資料としてそのガイドライン (CAC/GL28-1995, Rev. 1-1997) で挙げている。

農林水産省は 2005 年 6 月、農産物や食品に含まれる有害化学物質を対象にした「サーベイランス・モニタリングの計画・実施及び結果の評価・公表に関するガイドライン」のうち、「評価・公表」の部分の先行して策定・公表している。このガイドラインでは、分析によって得られた数値・情報を確認・評価する項目 (表 1) が報告様式に挙げられている。

また、厚生省 (現、厚生労働省) は「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」(H9.4.1, 衛食 117 号) を通知し、内部精度管理と外部精度管理を規定している。

これらの条件は、今後、一般の食品分析試験室においても、分析データを外部に発表する時には必要になってくる。

本稿では、食品の分析データの信頼性を確保するために必要な事項について、(独)農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所 (以下、食総研) の取組みを紹介しながら、解説する。

1. 使用する分析法

1.1 分析法の妥当性を確認する

「妥当性確認とは、意図する特定の用途に対して個々の要求事項が満たされていることを調査によって確認し、客観的な証拠を用意することである。(ISO/IEC 17025)」と述べられているように、「意図する特定の用途」によって、要求事項とその優先度が異なってくる。目的が、サーベイランス (問題の程度を知る、又は、実態を知るために調査すること) であるのか、モニタリング (矯正的措施をとる必要があるかどうかを決定するために、傾向を知ること) であるのか、あるいはコンプライアンス (経済上あるいは法律上の命令遵守を決めるため) であるのかによって、適用性、実用性あるいは信頼性 (表 2) のどれを優先させるかを考えなければならない。サーベイランスであれば、多数点の試料を分析する必要から、実用性の中の迅速性が最も要求されるだろうし、コンプライアンスの判定では、信頼性が最重要である。

分析法の妥当性を確認するには、いくつかの方法があるが、複数の分析試験室が参加して行う共同試験によるものが最も有効である。これは、規制や規格に係わる分析では、室間での再現性が最も重要な性能であることによる。均質

〒305-8642 茨城県つくば市観音台 2-1-12

[§] 連絡先 (Corresponding author), ayasui@affrc.go.jp

表 1 分析によって得られた数値・情報の確認・評価項目

1. 試料の保管期間と保管方法
2. 分析法の妥当性確認
3. 定量限界と検出限界の適切さ
4. 検量線及び使用標準試薬の適切さ
5. 標準添加回収率
6. 測定の不確かさ（繰返し分析又はその他の方法による）
7. 分析値
8. 有効数字
9. 内部精度管理
10. 外部精度管理
11. ISO/IEC 17025 認定
12. サンプルング法（実施した場合）

表 2 分析法の特性とその性能項目

適用性	試料の種類・範囲
実用性	経費効率、迅速性、訓練の制約、分析者の安全性/快適性
信頼性	選択性、検量線の直線性、真度、回収率、精度、範囲、検出限界、定量限界、感度、頑健性

性が担保された複数の試験試料が複数の分析試験室に配付され、各分析試験室は決められた分析手順書に従って分析し、報告する。化学分析における定量分析の IUPAC（国際純正応用化学連合）などのプロトコルでは、外れ値を報告した試験室を除いた有効なデータを出す試験室数は、8 以上で、試料数は最低 5 である¹⁾。繰返し精度推定のための試料当たりの反復数は 2 で、2 試料の濃度差が 5% 以内の分割水準や非明示反復が推奨されている。このプロトコルは、ゴールデンスタンダードと呼ばれ、これに基づいた室間共同試験は、full collaborative study と呼ばれている。食総研は、国立医薬品食品衛生研究所、(独)農林水産消費技術センター等と協力して遺伝子組換え農産物（以下 GMO）の定量法を開発し、室間共同試験によって、その妥当性を確認した。日本、韓国の標準分析法に採用され、ISO 21570（食品—遺伝子組み換え生物及び派生製品の検出のための分析方法—定量的核酸基準法）の付属書にも収載されている。また、定性分析は、AOAC International のガイドラインでは、有効試験所数は 10 カ所以上、試料は 1 マトリックス当たり 2 濃度、1 濃度当たり 6 試料、1 マトリックス当たり陰性コントロール 6 個とされている。また、(独)農林水産消費技術センターは、JAS 法の見直しにおいても、使用する分析法については、full collaborative study で妥当性の確認を行っている。分析法の確立のためには、室間共同試験の実施が重要であることが認識されることが必要であり、農水省の特別プロジェクト「安全で信頼性、機能性が高い食品・農産物供給のための評価・管理技術の開発」においても、品種識別等の分析法の確立に、室間共同試験による妥当性確認を積極的に取り入れている。

表 3 各濃度レベルにおける室間相対標準偏差，%

濃度	質量分率	一般的な単位	室間相対標準偏差，%	
			Horwitz の式による	修正式による
	1	100%	2	1
	0.01	1%	4	4
	0.0001	0.01%	8	8
	0.000001	1 ppm	16	16
	0.00000001	10 ppb	32	22
	0.000000001	1 ppb	45	22

室間再現性に関しては、AOAC International によって実施された多くの室間共同試験の結果から、室間再現精度（ $RSD_R(\%)$ ）は、分析対象試料の種類、分析対象成分や定量法にかかわらず、濃度の変数になり、次式（Horwitz 式と呼ばれる）で示されることが報告されている²⁾。

$$RSD_R(\%) = 2c^{-0.1505} \quad (1)$$

ここで、 c は質量分率で、濃度 100% では 1、1% では 0.01、1 ppm では 10^{-6} を用いれば良い。

ただし、この式(1)に従うと、極微量では室間再現精度は際限なく大きくなるが、近年、次の修正式(2)が提案され³⁾、こちらが使われるようになっている。

$$RSD_R(\%) = \begin{cases} 22 & c < 1.2 \times 10^{-7} \\ 2c^{-0.1505} & 1.2 \times 10^{-7} \leq c \leq 0.138 \\ c^{-0.5} & c > 0.138 \end{cases} \quad (2)$$

この式(2)では、濃度が 120 ppb 未満では、室間の相対標準偏差は 22% の一定となり、120 ppb 以上、13.8% 以下では、先の Horwitz 式と同じで、13.8% を超える濃度では質量分率の平方根の逆数となる（表 3）。

次式(3)で示される室間共同試験で得られた相対標準偏差の Horwitz 式による相対標準偏差との比である HorRat は、化学分析法の室間共同試験の評価に用いられ、CAC における分析法のチェックリストにも使用されていて、HorRat が、2 以内ならば、分析法は良好と判断される。

$$\text{HorRat} = RSD_R(\text{室間共同試験による観測値}) / \text{PRSD}_R(\text{Horwitz 式からの予測値}) \quad (3)$$

しかし、室間共同試験によって妥当性が確認された方法が、必ずしも利用できるとは限らない。費用がかかる共同試験実施前の分析法の性能確認、共同試験のデータがないか共同試験の実施が現実的でない分析法の信頼性の提示、既存の妥当性が確認された分析法の適切な使用の確認には、単一試験室による分析法の妥当性確認が適当である⁴⁾。

1.2 不確かさを見積もる

化学分析では、種々の要因により分析結果がばらつくが、その信頼性は、真度や精度などで表現されてきたが、最

近, それらにかわって「不確かさ」(uncertainty)を付けて分析値を評価するようになってきた。不確かさは、分析値の確からしさを示すもので、幅で示される。その幅の中に真の値が存在すると考える。不確かさは、サンプリング、分析方法などに含まれる多くの要因からなっている。不確かさの求め方には、それぞれの要因の不確かさを見積もって、総合的な不確かさを求めることが行われているが、室間共同試験の再現精度を用いる方法なども提案されている。

標準偏差として表すとき、不確かさは、標準不確かさと呼ばれる。各要因の標準不確かさをまとめたもの(各要因の分散の和の平方根)が合成標準不確かさで、信頼水準約 95% (99%) では、包含係数 $k=2$ ($k=3$) を乗じた拡張不確かさが用いられる。

国内では、規制分野で規制値がある場合でも、測定値の不確かさをどのように扱うかについての論議はまだ盛んではない。しかし、世界は確実に不確かさを評価する方向に進んでおり、行政サイドでの早急な対応が必要である。

2. 内部品質管理

2.1 分析法の真度を確認する。

2.1.1 標準物質を利用する

分析法の妥当性確認や内部品質管理における分析法の真度の確認には、分析対象試料と似たマトリックス(主要成分組成)で測定対象成分の認証値が決められている認証標準物質(Certified Reference Material: 以下 CRM)がある場合は、これを利用する。また、化学分析における測定値も、国際単位系(SI)であるモルにトレーサビリティ(traceability)があることを要求されている。トレーサビリティとは、「もとをたどることができる」という意味であり、「測定結果または標準値が不確かさをつけて、切れ目のない比較の連鎖を通じて国家標準または国際標準に関連づけられ得ること」と定義されている。化学分析においては、CRM の測定を通して、トレーサビリティを確保する必要がある。

しかしながら、国内で作製された食品関係の CRM は、国立環境研究所が環境標準試料として作製したものの一部に限られていて、外国のものを使用することが多いのが現状であるが、外国製は、植物防疫、動物検疫等の関係で輸入できない場合がある。(独)産業技術総合研究所の計量標準総合センターは、知的基盤整備の一環として、精力的に CRM の開発を行っているが、食総研は、計量標準総合センターなどと連携して食品標準物質の作製を積極的に進める方針で、JIS Q 0034 (ISO ガイド 34: 標準物質生産者の能力に関する一般要求事項)による認定を取得して、現在、ダイズの GMO 標準物質作製を開始している。

2.1.2 標準物質のデータベース

目的とする CRM の検索には、次のデータベースが、いずれも、(独)製品評価技術基盤機構の web. site (<http://www.rminfo.nite.go.jp/index.html>) から利用できる。

//www.rminfo.nite.go.jp/index.html) から利用できる。

(1) 標準物質総合情報システム RMinfo

標準物質総合情報システム(RMinfo: reference materials total information services of Japan)は、日本国内及び海外で供給されている標準物質のデータベースで、(独)製品評価技術基盤機構の認定センターが運営している。標準物質に関する行政情報、海外動向なども入手できる。カテゴリーが、鉄鋼標準物質、非鉄標準物質、無機標準物質、有機標準物質、物理的特性用標準物質、生物学・臨床用標準物質、生活関係標準物質及び産業用標準物質に大分類されていて、食品は生活関係標準物質に含まれている。

(2) 国際標準物質データベース (COMAR)

COMAR (コマル) (Code d'indexation des Matériaux Reference) は、世界 16 カ国以上で製造された総計 1 万件を超える標準物質が登録されている国際的なデータベースで、(独)製品評価技術基盤機構が 1990 年以来コーディングセンターとして参画している。COMAR には、物質の形状、製造業者の連絡先、化学特性や物理特性に関する特性値等、標準物質に関する様々な情報が収録されている。2003 年からインターネット版が公開され、世界中から誰でも標準物質情報を入手することができるようになった。画面操作の多くが日本語表記となっていて、操作が容易である。

(3) 海外の標準物質データベース

ベルギーの IRMM, アメリカの NIST など 14 機関のデータベースとリンクされている。

2.1.3 添加回収試験を行う

回収率は、常に分析法の妥当性確認において検討されるべき項目で、実際の試料で添加回収試験を行い、十分な回収率が得られることを確かめる。ただし、添加は分析操作の初期の段階で行うことが重要である。一定の回収率が得られている場合には、その測定値を補正して値を報告する。それは、測定値そのものが規制値内の範囲であっても、補正することで規制値を超える場合が出てくることを意味する。EU では、この方向で進んでいる。

添加回収試験は、分析対象試料が含有していた分析対象成分と添加したものとの違いがあるため、十分な回収率が得られても、方法が妥当であることを示すことができない短所があるが、不十分な回収率は、方法が不適切であることを示すことが可能である。

厚生省は、「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」において、「食品衛生法施行規則に規定する精度管理および外部精度管理調査」を通知している。理化学的検査における精度管理では、添加量が明らかな試験品として、検査対象物質の濃度の異なる 2 つの試験品(①基準値と同濃度になるように添加したもの、②基準値と定量下限値の中間値の濃度となるように添加したもの)と陰性対照の試験品を用意する。精度管理に必要な目標値の設定では、回収率の確認は、基準値が設定されてい

るものでは、先の2レベルの濃度の試験品と不検出基準が設定されている場合は、定量下限値の2倍濃度に添加した試験品で、回収率が70%から120%を目安として確保すること、また、それぞれの濃度で少なくとも5回以上（可能であれば10回）の繰返し検査を行い、平均値および標準偏差を求める。精度管理の回数は、検査等の実施頻度によって異なり、①週1回以上の検査では、週に1回以上、添加量が明らかな2レベルの濃度の試験品のどちらか一方と陰性対照の試験品について、回収率が少なくとも70%から120%であることを確認する。また、1週当りの検査が20回を超えるときは、20検体ごとに行う。さらに月1回以上、5回以上の繰返し検査で平均値および標準偏差を求め、各検出値の z スコアが2以下であることを確認する。②週1回未満の場合は、検査4回当たり1回以上の割合で上記の検査を行う、としている。

ICH (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use) のガイドラインでは、回収率は、妥当性確認する濃度範囲をカバーする少なくとも3濃度から9個の回収率（例えば、3濃度について各3回の添加回収試験を行って）を求める⁵⁾。

CACの残留動物薬分析法では、濃度によって許容添加回収率が異なる（表4）。

2.2 分析法の精度を確認する。

併行精度（繰返し精度）は、上記のICHのガイドラインでは、妥当性確認する濃度範囲をカバーするように最低9

個の分析値（例えば、3濃度で各3回併行分析する）から求めるか、検討すべき濃度で最低6回併行分析して求める⁵⁾。目安は、Horwitz式による再現精度の1/2～2/3である（表5）。

3. プロフィシエンシテスティング（技能試験）に参加する

第三者機関が行う外部品質査定に参加することで、試験所が出す分析値の信頼性を保証することができる。参加者は任意の方法で分析できるので、開発した分析法の性能の確認や使用している方法の点検をすることができる。これは、プロフィシエンシテスティング（Proficiency Testing：以下PT）と呼ばれているもので、JISでは「技能試験」と呼んでいる。ISO/IECガイド43-1（試験所間比較による技能試験、第1部：技能試験スキームの開発及び運営）には、PTの供給者についての規格の詳細が示され、PTスキームの種類、実施方法、評価方法などが記述されている。技能試験の多くは、試験所（分析所）間比較として行なわれ、国際的にハーモナイズされたプロトコールが作成されている⁶⁾。食品分野でのPTは、AOAC International (<http://www.aoac.org/proficiencytesting/proficiency.html>) や The American Association of Cereal Chemists (AACC) (<http://www.scisoc.org/aacc/checksample>) など実施しているが、規模としては英国のCentral Science Laboratory (CSL) (<http://ptg.csl.gov.uk>) のFAPAS（化学分析）とFEPAS（微生物検査）が、世界最大のものと考えられる。国内に取次店（GSIクレオス <http://sid.gsi.co.jp/product/fapas/fapas/fapas.htm>）があるので、容易に利用できる。年度毎に、新しいプログラムが示され、一般成分、動物用残留抗菌剤、マイコトキシン類、汚染金属類、栄養素、硝酸塩、アクリルアミド等の試験項目が各種の食品試料について用意されている。参加者には、均質性が担保された試料が配付され、参加者は任意の分析法で測定し、分析値を期限（4～5週間

表4 食品中の残留動物薬の分析法の条件（CAC/GL16-1993）

濃度 (μg/kg)	相対標準偏差 (繰返し) %	許容添加回収率 (%)
100～	15	80～110
10～100	20	70～110
1～10	30	60～120
～1	35	50～120

表5 濃度別の精度の目安と回収率の許容範囲

濃度		再現精度 RSD _R の目安	繰返し精度 RSD _r の目安	回収率の範囲
100	%	2 %	1 (1) %	98-101 %
10	%	3	1.5	95-102 %
1	%	4	2 (2)	92-105 %
0.1	%	6	3	90-108 %
0.01	%	8	4 (5)	85-110 %
10	μg/g (ppm)	11	6	80-115 %
1	μg/g	16	8 (10)	75-120 %
10	μg/kg (ppb)	32	16 (20)	70-125 %

AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals (2002)

RSD_r の () 内は、AOACIのMOA Appendix E: Laboratory Quality Assurance (2005) の値

後)内に事務局へ送付する。分析値は統計的に処理されて、参加機関による結果の一覧、 z スコアによる分布図等を示した報告書が送付される。参加機関には、識別番号が与えられているので、結果の評価ができる。他の参加機関が用いた方法、前処理法などの情報も報告書には収載されている。付与された値 (assigned value) からの偏りを表す z スコアの絶対値が、2 以内であればその分析結果は「満足」、2 より大きく 3 未満であれば「疑わしい」、3 以上であれば「不満足」と判断される。

$$z = (x - X) / s$$

ここで、 x は参加者の結果、 X は付与された値、 s はスキームの要求事項を満たすように選ばれた適切なばらつきの推定値または規準の一つである。CSL では、 s は先の Horwitz の修正式またはこれまでの室間共同試験の結果から求めている。

食総研では 2002 年度より、CSL の FAPAS と GeMMA (DNA 分析) に参加しているが、ここでも、植物防疫、動物検疫等の関係で利用できない PT がある。国内では、(財)食品薬品安全センターが、厚生省より適合性の確認を受けて、衛生研究所、保健所や検査登録機関の公的検査機関を対象に、Good Laboratory Practice (適正試験所規範: 以下 GLP) の「食品衛生外部精度管理調査」として毎年 6 件の理化学調査と 5 件の微生物学調査を実施している。なお、民間企業の検査機関を対象とした外部精度管理として、同一試料を用いた食品衛生精度管理比較調査を実施している。食総研は、先の農水省の特別プロジェクトの中で、(財)食品薬品安全センターに委託して、小麦中のカビ毒 (デオキシニバレノールとニバレノール) 分析の PT を実施し、さらに同じプロジェクトの中で 2006 年度からは精米中のカドミウムと必須元素の PT を開始した。また、(社)日本分析化学会は、2004 年度から食品分析の技能試験を開始し、全脂粉乳、魚肉ソーセージ、離乳食の一般成分とミネラルの技能試験が行われている。

4. 試験所認定の要求事項に適合する

WTO (世界貿易機関) の貿易の技術的障害に関する一般協定 (TBT 協定) においては、一つの分析試験所で得られた分析値が世界中で受け入れられるようなワンストップテスト (One-Stop-Testing) の構築が指向されており、分析値の同等性が求められている。そのため、分析試験所に対して、分析値の信頼性を確保するためのシステムと一定の能力が求められることになる。そして、各国の認定制度を同じ基準で運用することが不可欠になる。試験所認定は、試験所において測定・試験されたデータの信頼性を確保するため、試験所が一定の基準を満たし、特定の分野の試験を行う能力があることを第三者の認定機関が認定する制度であり、認定を行う機関がそれぞれ相互承認協定を

結ぶことで、「ワンストップテスト」を実現しようとしている。そのための規格として、ISO/IEC 17025 : 2005 (JIS Q 17025 : 2005) がある。

欧米等においては、購入者 (ユーザー) が供給者 (メーカー) に対して製品に関する試験データを添付することを要求することが多く、その際に供給者は、当事者とは無関係な第三者である試験所で得られた試験データを活用している。試験所認定というと、試験所全体の能力が認定されるように思えるが、GLP とは異なり、原則として、分析対象試料、分析対象成分及び分析方法の組み合わせで認定を受ける仕組みになっている。

ISO/IEC 17025 : 2005 の要求事項には、管理上の要求事項 (15 項目: 組織/マネジメントシステム/文書管理/依頼、見積仕様書及び契約の内容の確認/試験・校正の下請負契約/サービス及び供給品の購買/顧客へのサービス/苦情/不適合の試験・校正業務の管理/改善/是正処置/予防処置/記録の管理/内部監査/マネジメントレビュー) に加えて、技術的要求事項 (10 項目: 一般/要員/施設及び環境条件/試験・校正の方法及び方法の妥当性確認/設備/測定 of theトレーサビリティ/サンプリング/試験・校正品目の取り扱い/試験・校正結果の品質の保証/結果の報告) がある。試験所認定は、日本の食品分野では、現在約 30 カ所が、残留農薬、微生物試験、貝毒などの分析法で取得している。認定の取得いかににかかわらず、その要求事項への適合が重要である。

おわりに

使用する分析法は妥当性が確認されていなければならない。特に、規制や規格に係わる分析法は、分析値の同等性を確保する必要がある。室間共同試験による妥当性確認が必要である。国際的問題では、試験所認定の要求事項に適合していない機関の出した分析値では通用しなくなる状況である。世界に通用する分析値を出せる体制を整備していく必要がある。欧州の食品規制に係わる試験所は、官民を問わず、ISO/IEC 17025 の試験所認定を取得している。政府機関あるいは大学などがその権威によって信頼されるということではなく、試験所認定を取得して、品質保証が行われていることで、その分析値が信頼されているのであり、我々の意識改革をしていく必要がある。

また、食品は食習慣、食材など、その国特有のものがあるので、CRM や PT で、外国に供給を期待できないものがあり、外国にあっても法律によって国内で利用できない場合もある。それらの我が国特有の食品や成分については、我が国自体で CRM の作製や PT の供給を図る必要がある。行政サイドの対応も必要である。

参考文献

- 1) Horwitz, W : Protocol for the design, conduct and interpretation of method-performance studies, *Pure & Appl.*

-
- Chem.*, **67** (2), 331-343 (1995).
- 2) Horwitz, W. *et al* : Quality assurance in the analysis of foods for trace constituents, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **63** (6), 1344-1354 (1980).
 - 3) Thompson, M. : Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing, *Analyst*, **125**, 385-386 (2000).
 - 4) Thompson, M., Ellison, S.L.R. and Wood, R. : Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis, *Pure & Appl.Chem.*, **74** (5), 835-855 (2002).
 - 5) ICH : Validation of analytical procedures : Text and Methodology Q2 (R1) (2005).
 - 6) Thompson, M., Ellison, S.L.R. and Wood, R. : The international harmonized protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories, *Pure & Appl. Chem.*, **78** (1), 145-196 (2006).
- (平成 19 年 4 月 11 日受理)
-