

食品分析における 国際整合性の確保

2005.10.26

独立行政法人 食品総合研究所
安井明美

食品分析を取り巻く社会的情勢

分析値の信頼性確保

- Codex GL (国際食品規格委員会のガイドライン): 食品の輸出入の規制に係わる試験室の条件: ISO/IEC17025の要求事項への適合、内部品質管理、外部品質査定、妥当性の確認された方法
- CIPM、CCQM (国際度量衡委員会、物質質量諮問委員会): 食品分析における同等性とトレーサビリティに関するワークショップ(2003.11)、食品分析の参照分析システムに関するフォーカスグループ会議(2004.9)
- 日本分析化学会: 食品分析技能試験の実施
- 試験所認定: 食品成分分析関係で、10数カ所

食品成分表のフォローアップ

- 五訂増補日本食品標準成分表及び脂肪酸成分表編の公表



Codex Alimentarius Commission



⌘ FAO及びWHOによって1963年に設立

⌘ the Joint FAO/WHO Food Standards Programme
(FAO/WHO合同食品規格計画)の下、食品規格、ガイドライン、関連文書を作成

⌘ 目的

- 消費者の健康保護
- 公正な貿易の保証
- 国際的な政府・非政府組織による食品規格に関する全ての仕事の調整を促進

Codex Committee on Methods of Analysis and Sampling(CCMAS)の任務

- Codex規格への適合を検査するための分析・サンプリング法を選択するのに必要な基準を決定すること
- 個別食品部会や他の一般問題部会が選択した分析・サンプリング法を検討承認すること
- サンプリングプランを作成すること
- 分析所・検査所の精度管理システムや能力評価のための手法やガイドラインなどを決定すること

CCMAS の動向

- 1993年：品質管理システムや能力評価が付託事項に導入～重要議題に
- 食品の安全性や規格への適合性の検査、政策決定の基礎データ作成などのための分析には、分析所・検査所の認証・認定、分析の品質管理、分析法の妥当性確認など**分析値の信頼性を客観的に保証するシステムや手法の導入**が当然という状況で、これらについての議論が非常に多くなってきている。

食品の輸出入の規制に係わる 試験室の条件

- ISO/IEC17025 の要求事項を満たしていること
- 適切な Proficiency testing に参加していること
- 妥当性が確認された方法を用いていること
- 内部品質管理を行っていること

(CAC/GL27-1997)

農水省における「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」

- 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・評価する項目として、以下の11項目があげられている。
- 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(繰り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 17025:1999 認定

分析法の妥当性確認

- 分析法の妥当性確認(Method Validation)とは、試験に用いる分析法が**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。

分析法の妥当性確認の方法

- 試験室間共同試験の実施
- 標準物質の利用
- 標準添加回収試験の実施
- 公定法あるいは標準的方法を用いて得られた結果との比較
- 組立試料の利用

試験室間共同試験 (collaborative study)の実施

- 分析法の性能特性評価にあたっては、繰返し精度だけではなくて、**再現精度**を明らかにしておくことが重要である。
- 均質性が担保された試験試料群が複数の分析試験所に配布され、各分析試験所は決められた分析手順書に従って分析し、報告する。
- 有効な試験所数は、定量分析では、8(5)カ所以上、試料数は最低5(3)種類となっている。また、定性分析では有効試験所数は、10カ所以上である。

Protocol for the design, conduct and interpretation of method-performance studies: Revised 1994 (Technical Report)

Pure & Appl. Chem., 67(2)331 - 343(1995)

- 1.0 予備検討
- 2.0 分析法性能試験の設計
- 3.0 統計解析
- 4.0 最終報告書

GMO定量法の室間共同試験

C.4 Construct specific method for the relative quantitation of soybean line GTS 40-3-2 DNA based on real-time PCR using plasmid as a reference molecule

Table C.15 Summary of accuracy and precision statistics for real-time quantitative PCR

Concentration (%)	0.10	0.50	1.0	5.0	10.0
Number of participant laboratories	13	13	13	13	13
Number of invalid laboratories	1	1	1	1	1
Number of Cochran outliers	0	0	0	0	0
Number of Grubbs outliers	1	0	0	0	0
Number of retained laboratories	11	12	12	12	12
Mean of GMO amount (%)	0.108	0.571	1.16	5.76	11.7
Bias of true value (%)	+8.1	+14.3	+16.1	+15.1	+17.2
Repeatability standard deviation s_r^a	0.015	0.068	0.129	0.435	0.993
Repeatability limit r^a ($r = 2.8 \times s_r$)	0.041	0.191	0.362	1.219	2.779
Repeatability relative standard deviation $RSD_r(\%)^b$	13.4	12.0	11.2	7.6	8.5
Reproducibility standard deviation s_R^a	0.014	0.091	0.161	0.660	1.246
Reproducibility limit R^a ($R=2,8 \times s_R$)	0.040	0.255	0.451	1.849	3.489
Reproducibility relative standard deviation $RSD_R(\%)^b$	13.4	15.9	13.9	11.5	10.6
Below 20 copies ^c (Detection Limit)	4/22	0/24	0/24	0/24	0/24

^a s_r , s_R , r and R are expressed in units of % GMO.

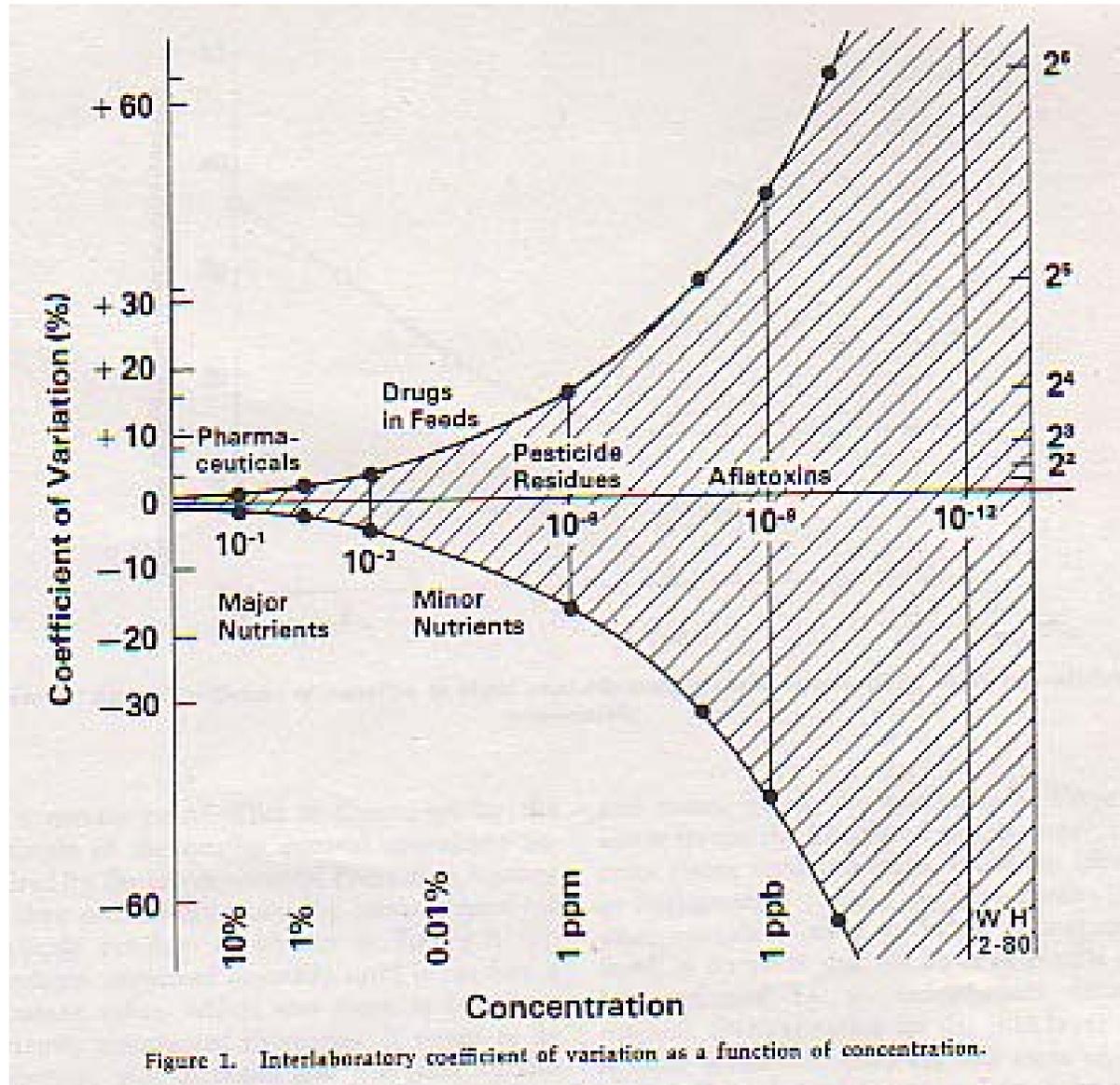
^b The RSD_r and a RSD_R are expressed as percentage of their mean value.

^c Below 20 copies are expressed as the ratio of the number of retained data below 20 copies/the total number of retained data.

ISO 分析法としての承認

- ISO FDIS 21570 - Foodstuffs . Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products - Quantitative nucleic acid based methodsが ISO/TC34/WG7で検討され最終投票にかけられ、05/10/3付けで賛成多数で承認された。
- 日本で、開発・検証した組換えダイズ1系統、組換えトウモロコシ5系統の各定量法は、ANNEXに掲載されており、他国からも出されていた他の定量法7つとともに一括して承認されている。

Horwitz のトランペット (室間再現性)



Horwitz の式

- $$\text{RSDR}(\%) = 2 c^{-0.1505}$$
- RSDR(%)は、室間の相対標準偏差を表し、 c は質量分率を表す。
質量分率 1 は通常用いている単位で100%、0.01ならば1%である。濃度が1/100になると、RSDR%が2倍になる。

Horwitz 式の修正式

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

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、Horwitz の式と同じで、13.8%を超える濃度では質量分率の平方根の逆数となる。

HORRAT による評価

- HORRAT =
$$RSD_R(\text{observed}) / RSD_R(\text{predicted})$$
- 試験室間共同試験の評価に用いられる。
- Horwitz の式による相対標準偏差との比率が、2以内ならば、良好と判断される。

General Criteria for the Selection of Single-Laboratory Validated Methods of Analysis

(Procedural Manual, 14th edition, CAC)

- 試験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。単一試験室によって妥当性確認された方法は次の規準を満たさなければならない。
 - ・方法は、国際的に認知されたプロトコルに従って妥当性が確認される。
 - ・方法の使用は、ISO/IEC17025あるいはGLPの原則に適合した品質システムにはめ込まれる。

- 方法は精確さに関する情報を補足するべきである。
 - ・可能なら、定期的なproficiency schemes への参加
 - ・可能なら、認証標準物質を使用する校正
 - ・分析種の想定濃度における回収率試験
 - ・可能なら、他の妥当性が確認された方法による結果の検証

Harmonized Guidelines for Single-Laboratory Validation of Methods of Analysis

Pure & Appl. Chem., 74(5), 835 - 855 (2002)

単一試験室による分析法の妥当性確認が適切な場合:

- 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
-

分析法性能特性実験の要求事項

- 適用性
- 選択性
- 検量線と直線性
- 真度
- 精度
- 回収率
- 濃度範囲
- 検出限界
- 定量限界
- 感度
- 堅牢性
- 目的適合性
- マトリックス範囲
- 測定の不確かさ

Pure & Appl. Chem.,74(5),
835-855(2002)

AOACI の e-CAMSM

- 既存の方法をそのバリデーションのレベルに応じて5つに分類し、必要に応じて分析法を取り出そうとするものである。バリデーションのレベルは、 Official Methods of Analysis of AOAC International 相当のもの、 複数のラボでバリデーションされているもの、 シングルラボバリデーションされているもの、 文献等に記載されていて、バリデーションの状態は不明あるいはされていないものであるが、代わるものがない等で、有用性があると判断されたもの、である。 国家等が規制のために使用している方法は、バリデーションのレベルにかかわらず別のグループとされている。

内部品質管理の実施

- 標準物質の利用
- 標準添加回収試験の実施
- 繰返し測定の実施

- 一定分析回数(期間)毎の上記によった測定結果による真度と精度の管理

標準物質の利用

- 分析試料と似た主要成分組成(マトリックス)を持ち、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; CRM)がある場合には、これを利用する。

認証値は、基準法、原理の異なる複数の信頼できる方法などで決められている。

ex.NIES/NIRS Typical Japanese Diet

Cd mg/kg 0.069 ± 0.009

AAS, ICPMS, IDICPMS, INAA

Uncertainty is represented by the 95% confidence interval of the mean.

日本における食品関連の 認証標準物質

➤ NIES (国立環境研究所)

茶葉(No.7): 品切れ

クロレラ (No.3): 認証値 9元素, 参考値 4元素

ホンダワラ (No.9): 認証値16元素, 参考値14元素

玄米粉末 (No.10): 認証値13元素, 参考値9元素

魚肉粉末(スズキ) (No.11): 認証値Total Tin, TBT, 参考値
TPT

➤ NIES/NIRS (放射線医学総合研究所)

Japanese typical diet: 認証値14元素, 参考値12元素

ISOガイド34による標準物質の生産

- (独)食品総合研究所では、遺伝子組換え農産物(GMO)の標準物質の生産のために、ISOガイド34に基づく品質システムを構築し、認定の取得をめざしている。

Proficiency Testingへの参加

- 第三者機関によるproficiency testing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。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、技能試験のプロバイダーについての規格の詳細が示され、技能試験スキームの種類、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る。

CSLのProficiency Testing

- 年度毎に、新しいプログラムが示され、2005度のFAPAS用プログラムでは、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マトリックスについて、159ラウンドが用意されている。参加者には、均質性が担保された試料が配布され、参加者は任意の分析法で測定し、分析値を期限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、図の中での自分の位置等を示した報告書が送付される。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。

食総研がこれまでに参加した CSLのProficiency Testing

➤ FAPAS(化学分析)

- ・栄養成分(小麦粉、粉乳:水分、灰分、窒素、食物繊維、総脂肪量)
- ・マイコトキシン類(トウモロコシ、シリアル、小麦粉、ヘーゼルナッツ:アフラトキシンB, Gまたは総量、オクラトキシンA、DON、ゼアラレノン)
- ・アクリルアミド(コーヒー、クリスピーブレッド、朝食用シリアル、ナッツ粉末/ペースト)
- ・汚染金属(粉乳、ワイン、魚肉缶詰、野菜ピューレ:鉛、総水銀、カドミウム、総ヒ素、アルミニウム、スズ)
- ・カフェイン(粉末コーヒー)
- ・栄養性元素(パン粉:鉄、亜鉛)

➤ GeMMA(遺伝子組換え体分析)

国内のProficiency Testing事業

- 国内では、(財)食品薬品安全センター (<http://www.fdsc.or.jp/>)が保健所、衛生試験所の公的機関及び厚生労働省の登録検査機関に対して、GLPの外部精度管理のための技能試験「食品衛生外部精度管理調査」を実施している。
- 一般の分析試験所は、同じ調査項目で参加できるが、まとめ方が精度管理比較調査という形で異なっている。

食総研と食品薬品安全センター によるProficiency Testing

- 農林水産省の「食品総合」プロジェクトの中で、赤カビ病の病原菌が産生するマイコトキシンのデオキシニバレノールとニバレノールのProficiency Testingを小麦について平成15年度より実施している。
参加機関は60～70であった。

日本分析化学会による ISO / IECガイド43 - 1に基づく技能試験

- 全脂粉乳(2004年度)
 - 一般成分(水分、タンパク質、脂質、灰分)
 - ミネラル(Ca,P,Na,Fe)
- 魚肉ソーセージ(2005年度)
 - 一般成分(水分、タンパク質、脂質、灰分)
 - ミネラル(Ca,P,Na,Fe)

試験所認定制度

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に、権威ある認定機関が、その試験所について**一定基準を満たし特定の分野の試験を行う能力のあることを認定する制度**である。

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。

この場合、購入者にとっても、供給者にとっても、取引の合理化・効率化のためには、試験所から出される試験報告書がより信頼できるものであることが重要となる。

ISO/IEC17025:1999 [JIS Q17025:2000]の概要

- 品質システム(ISO/IEC9001)に関する要求事項(14項目)
 - 品質方針の表明
 - 内部監査
 - 経営者による見直し
- **技術的能力**に関する要求事項(10項目)
 - 不確かさの推定
 - 測定器の校正とSI単位へのトレーサビリティの現示
 - 試験方法とバリデーション
 - 技能試験への参加
 - 適切な要員
 - 試験報告書

国際的に通用する 食品分析のために

- SI(国際単位系)へのトレーサビリティ、
内部品質管理のために、
 認証標準物質の作製・供給
- 外部品質査定のために、
 proficiency testing の供給
- 分析法の室間再現性評価のために、
 共同試験スキームの一般化
- ISO/IEC17025 の要求事項への適合