

平成30(2018)年度外部精度管理調査結果

試験検査機関で行う試験検査の検査精度の信頼性の確保及び試験検査技術の確認と向上を目的として、体系的な精度の管理を行う必要がある。

平成29(2017)年12月21日に開催された栃木県精度管委員会において、平成30(2018)年度試験検査精度管理調査の協議がなされて、細菌試験と水質試験を実施することとなった。実施に関する業務は保健環境センターが行うこととなった。

その結果を平成30(2018)年12月18日に開催した試験検査精度管理委員会(委員は表1のとおり)において協議した。

表1 試験検査精度管理委員会委員(平成30(2018)年度)

氏名	所属・職名	氏名	所属・職名
切替 照雄	順天堂大学大学院医学研究科 教授 (同大学医学部微生物学講座 教授)	村上 幸男	保健福祉部健康増進課長
柳原 尚久	帝京大学理工学部 教授	高橋 正典	保健福祉部生活衛生課長
前田 勇	宇都宮大学農学部 准教授	金澤 秀行	保健福祉部薬務課長
大橋 俊子	参事兼県南健康福祉センター所長 (県南保健所長)	石岡 真緒	宇都宮市衛生環境試験所長
栗野 哲実	参事兼県北健康福祉センター所長 (県北保健所長)	斎藤 久	計量検定所長
津久井 哲夫	環境森林部環境保全課長	増田 崇	栃木県計量協会 環境計量証明部会長
新井 有明	環境森林部廃棄物対策課長	郡司 明夫	参事兼保健環境センター所長

細菌試験(担当:微生物部)

1 実施機関

試料の調製及び配布は保健環境センター微生物部が実施した。

2 参加機関

当該精度管理には、次の8機関が参加した。参加機関には次のとおり番号が付与され、以降記述は当該番号を用いる。

- 1: 県西健康福祉センター
- 2: 県東健康福祉センター
- 3: 県南健康福祉センター
- 4: 県北健康福祉センター
- 5: 安足健康福祉センター
- 6: 県北食肉衛生検査所
- 7: 宇都宮市衛生環境試験所
- 8: 宇都宮市食肉衛生検査所

3 試験方法、実施項目及び配布機関

供試菌株は、表1のとおり参加機関に配布された。菌

株の同定は、「栃木県における食品衛生検査施設に係る検査等の基本業務管理要領」に規定された検査実施標準作業書(SOP)、又はこれに準ずる術式で実施された。(供試菌株は、平成29年度に本県内で発症者から分離された菌株とした。)

4 実施期間

被検菌株は保健環境センター微生物部において平成30年9月4日10:00~12:00の間に配布した。

試験結果は入力表(報告用様式)に記載し、電子メールで9月28日までに保健環境センター微生物部に報告することとした。

5 試料の調製及び配布

5.1 試料の調製

供試菌株A,B,Cは、Mueller Hinton Agarに接種35±1℃・24時間好気培養した後、供試菌株Dは、サイクロセリン含有CW卵黄寒天培地に接種45±1℃・48時間嫌気培養した後、供試菌株Eは、Modified CCD-Preston Agar

に接種 42±1°C・48 時間微好気培養した後、配布前日まで冷蔵保存(4°C)した。

配布前日、平板上の集落は、10μL ループ・ニードルで収集され PBS 中に懸濁、2回 Cell-Wash された後、PBS 中に再懸濁した。これら菌液は波長 630nm で吸光度が測定され、予め作成しておいた検量線から菌数を求め、菌数が 1.0×10⁷ CFU/mL になるよう菌株母液を調整した。これら菌株母液は滅菌試験管に分注され配布試料として冷蔵保管(4°C)した。

5.2 試料の配布

参加機関には2種類の検査試料を配布した。搬送には漏出防止対策を講じた容器を用い、冷蔵状態で運搬すること、搬入後も冷蔵状態を維持し、速やかに供試することを指示した。また、配布時に各菌株がヒトに引き起こす主たる臨床症状を次のとおり添付した。

菌株 A : 悪心、嘔吐、発熱、腹痛、下痢。

菌株 B : 悪心、嘔吐、発熱、腹痛、下痢。

菌株 C : 腹痛、水様性下痢、血便。

菌株 D : 腹痛、下痢。

菌株 E : 発熱、腹痛、下痢、血便。

6 調査結果

6.1 使用された分離培地

各機関は、表 2-1, 2 に記載された選択分離培地を使用した。

検出精度の向上には、標的となる菌株に対し選択性の強弱、標的となる代謝産物の相違等、性質の異なる2種類以上の選択分離培地併用が望ましい。特に選択性、視認性、特異性が高度な合成酵素基質培地の使用を推奨する。今回、*Salmonella*、EHEC、*Clostridium perfringens* において選択分離培地の2種併用が全ての機関で実施された。

近年カナマイシン感受性 *Clostridium perfringens* の分離が増加していることから、カナマイシン含有 CW 卵黄寒天培地と、サイクロセリン含有 CW 卵黄寒天培地の併用、又は、カナマイシン不含 CW 卵黄寒天培地と、サイクロセリン含有 CW 卵黄寒天培地の併用を推奨する。

機関 5 で、選択分離培地に *Clostridium perfringens* が発育しないと報告されたが、原因についての考察は、各論で詳述する。

非選択性培地の使用は、糞便等夾雑菌が多い検体には不適であるが、検体が加工食品、血液、髄液等の場合、有効と思慮される。

6.2 同定結果

表 3 に各機関の回答と判定結果を示した。全ての機関で判定結果は適正であったが、表記方法に若干の瑕疵が認められた。

6.2.1 *Salmonella* Virchow [07:r:1,2] H₂S 産生(+) に係る検査

表 4-1, 2 に菌株の鑑別(染色、血清型別、性状等)結

果を示した。

全ての配布機関で、選択分離培地上に形成された集落の鑑別が実施され、グラム染色、LIM、VP、SC、血清型別試験において、同一の結果が得られた。

機関 7 では、Gas 産生が陰性を呈し、Oxidase 試験を実施しなかったが、H型別が実施され血清型が特定された。

6.2.2 *Salmonella* Choleraesuis [07:c:1,5] H₂S 産生(-) に係る検査

表 5-1, 2 に菌株の鑑別(染色、血清型別、性状等)結果を示した。

全ての配布機関で、選択分離培地上に形成された集落の鑑別が実施され、グラム染色、LIM、VP、SC、オキシダーゼ、血清型別試験において、同一の結果が得られた。全機関でH型別は実施されなかった。

機関 2 では、菌株由来培地の違いにより Gas 産生が(+)又は(-)を呈した。この結果不定に起因する誤同定回避の手段として、微量テスト-数値同定法により誤差を修正する簡易同定キットの使用が推奨されるが、当該機関では、簡易同定キットが使用された。

6.2.3 Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) O26, H11, VT1+ に係る検査

表 6-1, 2 に菌株の鑑別(染色、血清型別、性状等)結果を示した。

全ての配布機関で、選択分離培地上に形成された集落の鑑別が実施され、グラム染色、TSI、VP、SC、血清型別、毒素産生性試験において、同様の結果が得られた。

LIM で、リジン脱炭酸化が不定を呈したのは、接種量と培養時間の長短に起因する可能性が示唆された(詳細不明)。これら結果不定に起因する誤同定回避の手段として、微量テスト-数値同定法により誤差を修正する簡易同定キットの使用が推奨される。

機関 7, 8 では、毒素産生試験に Loop-mediated Isotherm Amplification (LAMP) 法による VT 遺伝子検出、VT 遺伝子型別の検出系が実施された。当該検査系は、簡便、時短、特異性で有用と思慮される。

CLIG は、3 機関で実施された。当該培地は、セロビオース分解能(陽性:斜面:赤)、白糖分解能(陽性:高層:黄)、MUG 試験(0157:-/0157以外:+)により、大腸菌確認に有用であることから、腸管出血性大腸菌の鑑別に、当該試験の積極実施を推奨する。

検査結果の表記において、機関 7 は、頭文字が小文字であった。些末な指摘ではあるが、大文字が適切である。また、機関 8 は、病原性の記載が為されなかった。検査結果を受ける側の誤解回避のため、腸管出血性大腸菌、Enterohemorrhagic、VT 陽性等、病原性の記載は必須である。

6.2.4 *Clostridium perfringens* エンテロトキシン産生カナマイシン感受性に係る検査

表 7 に菌株の鑑別(染色、血清型別、性状等)結果を示した。

全ての配布機関は、36℃・嫌気の培養条件を採用していた。機関5では、36℃・24時間・嫌気培養で選択分離培地に供試菌株が発育しなかったため、ブレインハートインフージョンブロス/高層培地で、増菌させ選択分離培地に接種し、供試菌株を分離している。選択分離培地に供試菌株が発育しなかったのは、低い培養温度と短い培養時間に起因している可能性が示唆された。保健環境センターの細菌検査 SOP では、45±1℃・24～48時間の培養条件を採用している。培養機器等の関係から 45±1℃(42±1℃)を採用出来ない場合、培養時間の延長(48時間)は必須と思慮される。

近年カナマイシン感受性 *Clostridium perfringens* の分離が増加していることから、サイクロセリン含有 CW 卵黄寒天培地の使用を推奨する。

6.2.5 *Campylobacter coli* に係る検査

表6に菌株の鑑別(染色、血清型別、性状等)結果を示した。

全ての配布機関で、選択分離培地上に形成された集落の鑑別が実施され、グラム染色、オキシダーゼ、カタラーゼ試験において、同一の結果が得られた。

機関2,4では、好気培養鑑別試験、カンピロバクターLA(ラテックス凝集反応)試験が実施され、機関8では、3温度帯微好気培養が実施された。mCCDA または血液寒天培地を用いた3温度帯微好気培養と好気培養は、カンピロバクター属の確認試験に必須と思慮される。

7 総括

(1) 今回の試験検査精度管理は、全機関で良好な結果を得ることができた。

(2) 検出精度の向上には、選択性の強弱、標的となる代謝産物の相違等、性質の異なる2種類以上の選択分離培地の併用が望ましい。特に選択・視認・特異性が高度な合成酵素基質培地の併用を推奨する。

(3) 細菌同定の端緒であるグラム染色は全ての機関で履行されていた。腸内細菌科の同定にあつてはオキシダーゼ、TSI、LIM、VP、SC試験は必須であると提唱してきたが、今回は、一部機関でオキシダーゼ試験が履行されていなかった。

(4) 一般論として細菌の同定は、①グラム染色(染色性と形態)、②オキシダーゼ・カタラーゼ試験による代謝系の確認、③推定試験・確認試験を原則とする。一連の同定過程で簡易同定キットは、性状確認試験結果の誤差修正に優れており、術者の経験を問わない点でも有用である。積極的活用を推奨する。また、LAMP 法等による遺伝子検出系は、簡便、時短、特異性で有用と思慮される。

(5) 検査結果を受ける側の誤解を避けるため、検査結果の表記は、sp. spp. 属、病原性等、過不足のない適正な記載に留意されたい。

表 1 供試菌株と配布機関

菌株記号	供試菌株	配布機関
A	<i>Salmonella</i> Virchow {07:r:1,2} H ₂ S 産生(+)	1, 4, 7
B	<i>Salmonella</i> Choleraesuis {07:c:1,5} H ₂ S 産生(-)	2, 5
C	Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> (EHEC) O26 H11 VT1(+) VT2(-)	3, 6, 7, 8
D	<i>Clostridium perfringens</i> エンテロトキシン産生(ET+) カナマイシン感受性(KM+)	1, 3, 5, 6
E	<i>Campylobacter coli</i>	2, 4, 8

表 2-1 各機関で用いた選択分離培地(菌株が選択の標的で、陰性確認を除く/酵素基質培地)

菌株 培地	<i>Salmonella</i> Virchow {07:r:1,2}		<i>Salmonella</i> Choleraesuis {07:c:1,5}		Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> (EHEC) O26 H11 VT1+ VT2-						
	CHROM agar <i>Salmonella</i>	X-SAL	DHL SSB	ESカルII forH ₂ S-	CT- SMAC	CT- RMAC	Vi- EHEC	CT-CHROM Agar STEC	CHROMagar O157 TAM	XM- EHEC	DHL
1	—	○	○								
2	—	○	○								
3					—	—	—	○	—	—	○
4	—	○	○								
5	○	○	○								
6					○	—	—	○	○	○	○
7	—	—	DHL	○	—	○	—	○	—	—	—
8					○		○	—	—	—	○

表 2-2 各機関で用いた選択分離培地（菌株が選択の標的で、陰性確認を除く）

菌株 培地	<i>Clostridium perfringens</i> (エンテロトキシン産生 カマイシン感受性)			<i>Campylobacter coli</i>	非選択 培地
	カマイシン不含 CW 卵黄寒天培地	カマイシン含有 CW 卵黄寒天培地	サイクロレリン含有 CW 卵黄寒天培地	mCCDA	血寒, TSA GAM, 等
1	—	—	○ (36°C; 24h)		—
2				○ (42°C; 42h)	○
3	—	○ (36°C; 24h)	○ (36°C; 24h)		○
4				○ (42°C; 46h)	○
5	—	○ (36°C; 24h) コロニー非形成	○ (36°C; 24h) コロニー非形成		○
	ブレインハートインフュージョン液体/高層培地 (36°C; 24h) に発育				
6	○ (36°C; 48h)	○ (36°C; 48h)	—		○
7					—
8				○ (25, 37, 42°C; 46h)	○

表 3 同定及び判定（表記方法に瑕疵がある場合：適正´）

機関	回 答		菌株 記号	判定
	No.	同定菌種名		
1	1-1	<i>Salmonella</i> 07 群	A	適正
	1-2	ウエルシュ菌 (<i>Clostridium perfringens</i>)	D	適正
2	2-1	<i>Salmonella</i> 属 07	B	適正
	2-2	<i>Campylobacter</i> 属	E	適正
3	3-1	Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> 026 VT1+	C	適正
	3-2	<i>Clostridium perfringens</i>	D	適正
4	4-1	<i>Salmonella</i> 属 07	A	適正
	4-2	<i>Campylobacter</i> 属	E	適正
5	5-1	<i>Salmonella</i> spp. 07	B	適正
	5-2	<i>Clostridium perfringens</i>	D	適正
6	6-1	Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> 026 VT1+ VT2-	C	適正
	6-2	<i>Clostridium perfringens</i> (カナマイシン感受性株)	D	適正
7	7-1	enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> 026 VT1(+)	C	適正´
	7-2	<i>Salmonella</i> Virchow	A	適正
8	8-1	<i>Escherichia coli</i> 026	C	適正´
	8-2	<i>Campylobacter</i> 属菌	E	適正

表 4-1 *Salmonella* Virchow {07:r:1,2} H₂S 産生(+)

機関	グラム染色	TSI			LIM			VP	SC (11~89%: +)	Oxidase
		斜面/高層	Gas	H ₂ S	Lys.	Ind.	Mot.			
1	陰性桿菌	赤/黄	+	+	+	-	+	-	+	-
4	陰性短桿菌	赤/黄	+	+	+	-	+	-	+	-
7	陰性桿菌	赤/黄	-	+	+	-	+	-	+	

表 4-2 *Salmonella* Virchow {07:r:1,2} H₂S 産生(+)

機関	血清型別	簡易同定キット	同定結果
1	07		<i>Salmonella</i> 07 群
4	07		<i>Salmonella</i> 属 07
7	07:r:1,2		<i>Salmonella</i> Virchow

※ 疫学成績に於ける血清型の記載方法：*Salmonella* Virchow または *S. Virchow*

※ 学術論文に於ける血清型の記載方法：*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serover Virchow

表 5-1 *Salmonella Choleraesuis* {07:c:1} H₂S(-)

機関	グラム染色	TSI			LIM			VP	SC (11~89%: +)	Oxidase
		斜面/高層	Gas	H ₂ S	Lys.	Ind.	Mot.			
2	GNR	赤/黄	※	-	+	-	+	-	- : 4日間培養	-
		※DHL, X-SAL 由来株 : + ※血寒, TSA 由来株 : -								
5	陰性桿菌	赤/黄	+	-	+	-	+	-	- : 3日間培養	-

表 5-2 *Salmonella Choleraesuis* {07:c:1} H₂S(-)

機関	血清型別	簡易同定キット	同定結果
2	07 (デノン生研)	IDテスト EB20	<i>Salmonella</i> 属 07
5	07 (デノン生研)		<i>Salmonella</i> spp. 07

※ 0型別のみでは、特定の血清型(1菌種)を決定出来ないのので、spp./属との表記となる。

表 6-1 Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) 026, H11, VT1+

機関	グラム染色	TSI			LIM			VP	SC	CLIG		Oxidase
		斜面/高層	Gas	H ₂ S	Lys.	Ind.	Mot.			斜面/高層	MUG	
3	陰性桿菌	黄/黄	+	-	+	+	+	-	-:4日	黄/黄	+	-
6	陰性桿菌	黄/黄	+	-	+	+	+	-	-:4日	赤/黄	+	-
7	陰性桿菌	黄/黄	+	-	-	+	+	-	-			-
8	陰性桿菌	黄/黄	+	-	+	+	+	-	-	赤/黄	+	-

表 6-2 Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) 026, H11, VT1+

機関	血清型別	毒素産生等試験	簡易同定キット	同定結果
3	026 生研	VT1(+) VT2(-)	IDテスト EB-20	Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> (EHEC) 026 VT1+
6	026 生研	VT1(+) VT2(-) VTEC-RPLA「生研」	IDテスト EB-20	Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> (EHEC) 026 VT1(+) VT2(-)
7	026 生研	VT1(+) Loopamp へ「毒素タ化」キット : VT1 遺伝子検出		enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> 026 VT1(+)
8	026 生研 Loopamp	VT(+) Loopamp 腸管出血性大腸菌 検出キット : VT 遺伝子検出		<i>Escherichia coli</i> 026

表 7 *Clostridium perfringens* カナマイシン感受性

機関	グラム染色	嫌気培養 温度/時間	サイロセリン含有 CW		カナマイシン含有 CW		カナマイシン不含 CW		簡易同定キット	同定結果
			集落	リンチナーゼ	集落	リンチナーゼ	集落	リンチナーゼ		
1	陽性大桿菌	+	+	記載無し						ウエルシュ菌
3	陽性桿菌	+	乳白色	+	乳白色	+				<i>Clostridium perfringens</i>
5	陽性桿菌	+	-	-	-	-				<i>Clostridium perfringens</i>
		36°C/24h BHB/BH 高層に発育	乳白色	+	乳白色	+				
6	陽性大桿菌	+			-	-	乳白色	+	Rapid ID32A 白水	<i>Clostridium perfringens</i> カナマイシン感受性

表8 *Campylobacter coli*

機関	グラム染色	mCCDA 微好気培養			好気培養 36°C	カタラーゼ ⁺	オキシダーゼ ⁺	カンピロバクター-LA ラテックス凝集反応	同定結果
		25°C	37°C	42°C					
2	GNR S字状			+	- mCCDA	+	+	+	<i>Campylobacter</i> 属
4	陰性 湾曲S字状 桿菌			+	発育不良 TSA	+	+	+	<i>Campylobacter</i> 属
8	陰性 らせん状 桿菌	-	+ γ 溶血	+ γ 溶血		+	+		<i>Campylobacter</i> 属菌

水質試験(担当:水環境部)

1 実施機関

試料の調製・配付及び結果の取りまとめは、保健環境センターが行った。

2 参加機関

参加機関は、別表に示す民間環境計量証明事業所 13 機関及び地方公共団体の試験検査機関 4 機関であった。本資料ではそれぞれの参加機関を機関 A～Q と表記している。

3 実施項目

実施項目は、水質汚濁防止法(昭和45年12月25日法律第138号)第3条第1項で定められた排水基準項目から、クロム含有量並びにりん含有量を選択した。

4 実施期間

平成30(2018)年9月4日に試料原液を配付し、試験結果報告期限を9月28日とした。

5 試料の調製

試料A、Bの2種類の試料原液を以下のとおり調製し、各約120mLを配付した。配付した試料原液を各参加機関にて20倍に希釈して分析用試料とし、試験を実施した。

【試料A】クロム標準液(関東化学(株)1,001mg/L)18mL、ケイ酸カリウム溶液(二酸化ケイ素として18.0～21.0%)30mL及び硝酸(61%)50mLを3Lメスフラスコにとり、全量を超純水でメスアップしたものを試料原液とした。これを20倍希釈した分析用試料のクロム含有量(以下「設定値」と呼ぶ。)は0.300mg/Lであり、二酸化ケイ素90～105mg/Lを含む。

【試料B】りん標準液(関東化学(株)1,000mg/L)12mLを3Lメスフラスコにとり、全量を超純水でメスアップしたものを試料原液とした。これを20倍希釈した分析用試料のりん含有量(以下「設定値」と呼ぶ。)は0.200mg/Lである。

6 試験方法

試験方法は、「排水基準を定める省令の規定に基づく環境大臣が定める排水基準に係る検定方法(昭和49年9月30日環境庁告示第64号、以下「告示」という)」に定める方法「JIS K0102(以下「規格」という。)65.1全クロム」及び「規格46.3全りん」とした。

参加機関は、分析用試料について5回の並行試験を行い、その結果及び分析条件等を指定の様式に記入し電子メール等で報告することとした。なお、分析結果は濃度(mg/L)として有効数字3桁で回答することとした。

7 結果

7.1 クロム含有量

7.1.1 概要

参加17機関中、15機関から回答を得た。

結果一覧を表1に、採用した分析方法を表2に示す。フレーム原子吸光法(規格65.1.2)を採用したのは5機関、電気加熱原子吸光法(規格65.1.3)は2機関、ICP発光分光分析法(規格65.1.4)は5機関、ICP質量分析法(規格65.1.5)は3機関であった。

報告された機関毎の5回測定平均濃度(mg/L)及び室内変動を示す変動係数(%)は、表1に示すとおりそれぞれ0.255～0.416mg/L、0.269～2.78%であった。

7.1.2 分析方法による分析値の差異

試料Aには、フレーム原子吸光法において化学干渉を起こすケイ酸カリウムが添加されている。得られた分析値が干渉物質の影響を受けているか否かを検証するため、フレーム原子吸光法(以下「グループ①」とする。)と、それ以外の電気加熱原子吸光法、ICP発光分光分析法及びICP質量分析法(以下「グループ②」とする。)の2グループに分け、一元配置分散分析を行った。それぞれの標本数と平均値は表3のとおりである。その結果、グループ①の分析値は、グループ②よりも有意($p=0.0017$)に低値を示した。

そのため、全分析値を前述した2グループに分けて、その後の解析を行った。

7.1.3 度数分布図

グループ①の平均値の度数分布図を図1に示す。平均値は0.24～0.26mg/Lの階級から設定値の階級までばらついており、機関Aの分析値のみが設定値の階級にあった。

グループ②の平均値の度数分布図を図2に示す。設定値は、最大度数の階級にあったが、機関Hが高く外れる結果となった。グループ①の度数分布と比較すると、設定値に近い階級で分布しており、ばらつきも少なかった。

7.1.4 異常値の棄却

グループ①における平均値についてスミノフ・グラブスの検定($\alpha=0.05$)を実施したところ、棄却される値はなかった。標準偏差が大きく、その結果相対的なばらつきが大きくなったため、どの値も棄却されなかったものと考えられる。

またグループ②における平均値についてスミノフ・グラブスの検定($\alpha=0.05$)を実施したところ、機関Hの値(0.416mg/L)及び機関Oの値(0.255mg/L)が外れ値として棄却され、以下に記す解析の対象から外した。

機関Oの分析方法を確認したところ、前処理後にろ過を行っており、その際の洗い込みが不十分であったことが、低値となった要因として推測される。

一方、機関Hにおいても同様にろ過を行ったが、分析値は高値となった。この原因として、分析工程における試料への汚染があった可能性がある。

7.1.5 基本統計

平均値から算出された基本統計データを表5に示す。室間変動係数について、異常値棄却後のグループ②は2.22%であるのに対して、グループ①は7.19%と、ばらつきがより大きくなった。これは、妨害物質の影響によるものと考えられる。

7.1.6 平均値に対する分析値の評価

グループ①と②のそれぞれにおいて、設定値に対する平均値の百分率を算出し、誤差範囲(最大値及び最小値)と共に示した結果を図3及び図4に示す。

図3より、グループ①における、平均値の設定値に対する百分率は84.9~102%であった。この分析法においては、アセチレン-空気フレームの場合、共存物による妨害を抑制するため、硫酸ナトリウム等の干渉抑制剤を1%程度共存させることと規格に記されている。なお、干渉抑制剤の添加状況は、表5のとおりであった。

しかし、棄却された機関Kでは、干渉抑制剤を添加していなかったため妨害を特に大きく受けていた。また、干渉抑制剤を添加した機関Bにおいても、硫酸ナトリウム溶液(1000 mg/L)を1 mg 添加と、添加量が少なかったため影響が見られたと考えられる。

一方、グループ②における百分率は、図4より97.1~104%であった。これらの分析法においても妨害物質による物理干渉の影響が考えられるが、今回の調査では影響はほとんどみられず、おおむね良好な結果であった。

平成27(2015)年度精度管理調査においてクロム含有量を実施した際も、機関B及び機関Kは分析法にフレーム原子吸光法を用いていたが干渉抑制剤を添加しておらず、今回も添加しないか、若しくは添加量が少なかった。規格に定められたとおりの分析方法で測定すべきである。

7.1.7 数値の取扱い

数値の丸め方について、機関H及び機関Mに誤りがあった。機関Hは、4回目の定量結果について、0.4247という結果を得たが、最も近い丸めの幅0.001の整数倍として0.425を用いるべきところ、0.424としたため、報告値にずれが生じた。また機関Mは、3回目の定量結果について0.2954という結果を得たが、0.295と丸めるべきところ、0.296としたため、報告値にずれが生じた。

7.2 りん含有量

7.2.1 概要

参加した全17機関から回答を得た。

結果一覧を表6に、採用した分析方法を表7に示す。ペルオキシ二硫酸カリウム分解法(規格46.3.1)を採用したのは13機関、硝酸一過塩素酸分解法(規格46.3.2)は1機関、流れ分析法(規格46.3.4)は3機関であった。

表6より報告された機関毎の5回測定平均濃度は0.192~0.236 mg/L、室内変動を示す変動係数は0~

2.68%であった。

7.2.2 度数分布図

平均値の度数分布図を図6に示す。最大度数となった階級は設定値より低値にあった。

7.2.3 異常値の棄却

平均値についてスミノフ・グラブスの検定($\alpha=0.05$)を実施したところ、機関Kの値(0.236 mg/L)が外れ値として棄却され、以下に記す解析の対象から外した。

機関Kの報告内容を確認したところ、特に問題があるとは考えられないため原因は不明である。変動係数は1.22%と小さいので、標準液の濃度の違いや希釈率の違い等が可能性として考えられる。

7.2.4 基本統計

平均値から算出された基本統計データを表8に示す。外れ値棄却後の室間変動係数は3.26%と良好であった。

7.2.5 設定値に対する分析値の評価

棄却後の平均値について設定値に対する百分率をそれぞれ算出し、誤差範囲(最大値及び最小値)とともに示した結果を図7に示す。設定値に対する百分率は95.8~106%であった。

7.2.6 数値の取扱い

丸めた検量線の傾きと切片の値を用いて定量した機関が2機関(L及びQ)あった。数値の丸めは計算の最終段階でのみ行うべきであり、当機関で再計算したところ、いずれの機関も報告値にずれが生じた。

数値の丸め方について、3機関(H、M及びQ)に誤りがあった。機関Hは、1、2、4回目の定量結果について、それぞれ0.2015、0.1986、0.1986という結果を得たが、0.202、0.199、0.199と丸めるべきところ、0.201、0.198、0.198とした。また機関Mは、5回目の定量結果について0.1914という結果を得たが、0.191と丸めるべきところ、0.192とした。さらに機関Qは2回目の定量結果について、0.19451という結果を得たが、0.195と丸めるべきところ、0.194とした。このようにいずれの機関も丸め方の誤りで報告値にずれが生じた。

8 調査結果から推定されたその他の問題点

8.1 前処理について

クロム含有量の前処理における酸添加量について、規格5.1及び5.2では、試料100 mLにつき塩酸又は硝酸を5 mL 添加することと記されているが、機関Nの酸添加量は3.77 mLであった。フォローアップ調査で、JIS K 0102 5.1より「試料100 mLにつき硝酸5 mLを加える」に基づき操作を行うべきところを、JIS K 0102 5.5より試料酸濃度を「0.1~0.5 mol/Lとする」に基づき操作したことが原因であることが判明した。今回の報告値においては、酸添加量が少なかったことによる影響は認められなかったが、今後はJIS K 0102 5.1に基づき、試料100 mLにつき硝酸5 mLを加えることにすると回答を得ている。

8.2 検量線について

機関Bは、クロム含有量において、空試験の指示値で標準液の指示値を補正せず、濃度0 mg/Lとして含む検量線を作成していた。規格と異なる検量線を使用すれば報告値にずれが生じることになるので、規格に定められた検量線で定量すべきである。

機関Dは、りん含有量において低濃度3点(0.025、0.050、0.250mg/L)の後に4倍高濃度(1.000mg/L)の点を取り、続いてその5倍高濃度(5.000mg/L)の点を取って検量線を作成しており、濃度設定が不適切であった。

りん含有量において、4機関(G、J、M及びN)が規格で定める定量範囲から外れた点を含む検量線を作成していた。

機関Jのりん含有量、機関Oのクロム含有量及びりん含有量における検量線の回帰式について、当該機関は濃度軸と吸光度軸を逆にした逆関数の傾き及び切片を報告していた。

検量線の決定係数(R^2)について、機関Bはクロム含有量において、機関Hはクロム含有量及びりん含有量において、相関係数(R)を R^2 としてそれぞれ報告していた。求められた内容をよく確認の上、報告書の作成に当たってほしい。

8.3 定量について

機関Hは、クロム含有量、りん含有量のいずれにおいても、標準液の値付け値を考慮せずに定量しており、報告値にずれが生じた。

8.4 その他

機関Dは、クロム含有量の検量線指示値について、生データから検量線及び報告書への転記に誤りがあった。報告値にずれはなかったが、十分な注意が必要である。

9 総括評価及び今後の課題

クロム含有量について、フレーム原子吸光法における妨害物質の影響が確認できた。干渉抑制剤を加えて分析した場合は明らかに妨害物質の影響を抑えられており、規格に従って分析を行うことの重要性が確認できた。また、外れ値棄却後の電気加熱原子吸光法、ICP発光分光分析法及びICP質量分析法の結果はおおむね良好であったが、外れ値となった機関については、規格を遵守した上で原因を究明する必要がある。

りん含有量についての結果はおおむね良好であった。しかし外れ値となった機関については、原因に結びつく理由が考えられなかったため、分析法の再確認が望まれる。

今回の調査では、試験操作や定量計算において、規格の精読が必要と思われる機関が数多く見られた。前処理方法、検量線の作成方法、干渉抑制剤の添加、値付け値の反映及び数値の丸め方等々、各機関において再確認を行い、必要に応じて手順書の見直しを行うことを強く要望する。

また、数値の丸めの誤り及び報告書への記入の誤りが今回も散見された。このようなケアレスミスは、分析担当者以外によって結果の確認がされているにもかかわらず、毎年多く見られる。分析者のみならず、報告データの確認にあたる者も、細心の注意をもって生データと解析ファイル、報告書等の確認を行う必要があり、機関内におけるデータ管理体制の見直しあるいは再確立を強く要望したい。

10 参考文献

- 1) 栃木県保健環境センター年報, 第23号, 2018
- 2) 環境省 水・大気環境局総務課環境管理技術室, 平成30年度環境測定分析統一精度管理調査結果 平成31年2月
- 3) 環境省 水・大気環境局総務課環境管理技術室, 「環境測定分析を外部に委託する場合における精度管理に関するマニュアル 平成22年7月」
- 4) 日本産業規格 工場排水試験法 JIS K0102 : 2016 平成28年3月22日改正, 日本規格協会

表1 結果一覧(Cr)

機関コード	A	B	C	D	E	F	G	H	
前処理日	9月4日	9月11日	9月4日	9月7日	9月7日	9月12日	9月14日	9月19日	
分析日	9月6日	9月12日	9月7日	9月7日	9月7日	9月13日	9月14日	9月20日	
分析結果 (mg/L)	1回目	0.307	0.266	0.284	0.303	0.306	0.292	0.302	0.411
	2回目	0.304	0.271	0.294	0.299	0.307	0.292	0.313	0.422
	3回目	0.304	0.269	0.286	0.296	0.306	0.292	0.302	0.418
	4回目	0.307	0.269	0.286	0.303	0.308	0.289	0.303	0.424
	5回目	0.311	0.270	0.288	0.300	0.303	0.292	0.314	0.407
平均	0.307	0.269	0.288	0.300	0.306	0.291	0.307	0.416	
標準偏差	2.88E-03	1.87E-03	3.85E-03	2.95E-03	1.87E-03	1.34E-03	6.14E-03	7.23E-03	
変動係数(%)	0.940	0.695	1.34	0.983	0.611	0.460	2.00	1.74	
分析に用いた水	超純水	超純水	蒸留水	超純水	超純水	蒸留水	蒸留水	超純水	
前処理法 JIS K0102	5.2	5.2	5.2	5.1	5.1	5.2	5.2	5.1	
	塩酸又は硝酸による分解	塩酸又は硝酸による分解	塩酸又は硝酸による分解	塩酸または硝酸酸性で煮沸	塩酸または硝酸酸性で煮沸	塩酸又は硝酸による分解	塩酸又は硝酸による分解	塩酸または硝酸酸性で煮沸	
分析法 JIS K0102	65.1.2	65.1.2	65.1.2	65.1.5	65.1.4	65.1.2	65.1.3	65.1.4	
	フレイム原子吸光法	フレイム原子吸光法	フレイム原子吸光法	ICP質量分析法	ICP発光分光分析法	フレイム原子吸光法	電気加熱原子吸光法	ICP発光分光分析法	
フレイムの種類	アセチレン-空気	アセチレン-空気	アセチレン-空気	-	-	アセチレン-空気	-	-	
定量法	検量線法	検量線法	検量線法	内標準法	内標準法	検量線法	検量線法	発光強度法	
内標準元素名	-	-	-	インジウム	イットリウム	-	-	-	
決定係数	0.9993	0.9990	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.9995	0.9994	
検量線の点数	5	5	5	6	5	5	4	6	
ろ過の有無	無	無	無	無	無	無	無	有 (前処理後実施)	
干渉抑制剤	硫酸ナトリウム	硫酸ナトリウム	硫酸ナトリウム	無	無	硫酸ナトリウム	無	無	
測定試料に対する添加濃度(%)	1	0.001	1	-	-	1	-	-	
標準液に対する添加濃度(%)	1	0.001	1	-	-	1	-	-	
添加回収試験の回収率(%)	102	101	97	99	101	96	96	110	
分析担当者以外による分析結果の確認	有	有	有	有	有	有	有	有	

機関コード	J	K	M	N	O	P	Q	
前処理日	9月14日	9月20日	9月21日	9月10日	9月14日	9月11日	9月10日	
分析日	9月14日	9月20日	9月21日	9月10日	9月28日	9月11日	9月10日	
分析結果 (mg/L)	1回目	0.311	0.254	0.289	0.293	0.253	0.299	0.308
	2回目	0.310	0.254	0.294	0.298	0.261	0.297	0.309
	3回目	0.312	0.254	0.296	0.299	0.260	0.297	0.308
	4回目	0.311	0.257	0.289	0.298	0.259	0.298	0.308
	5回目	0.312	0.254	0.289	0.301	0.244	0.294	0.306
平均	0.311	0.255	0.291	0.298	0.255	0.297	0.308	
標準偏差	8.37E-04	1.34E-03	3.36E-03	2.95E-03	7.09E-03	1.87E-03	1.10E-03	
変動係数(%)	0.269	0.527	1.15	0.990	2.78	0.630	0.356	
分析に用いた水	超純水	超純水	超純水	蒸留水	超純水	超純水	超純水	
前処理法 JIS K0102	5.2	5.1	5.1	5.1	5.2	5.2	5.1	
	塩酸又は硝酸による分解	塩酸または硝酸酸性で煮沸	塩酸または硝酸酸性で煮沸	塩酸または硝酸酸性で煮沸	塩酸又は硝酸による分解	塩酸又は硝酸による分解	塩酸または硝酸酸性で煮沸	
分析法 JIS K0102	65.1.4	65.1.2	65.1.5	65.1.4	65.1.3	65.1.5	65.1.4	
	ICP発光分光分析法	フレイム原子吸光法	ICP質量分析法	ICP発光分光分析法	電気加熱原子吸光法	ICP質量分析法	ICP発光分光分析法	
フレイムの種類	-	アセチレン-空気	-	-	-	-	-	
定量法	内標準法	検量線法	内標準法	発光強度法	検量線法	内標準法	内標準法	
内標準元素名	イットリウム	-	ガリウム	-	-	イットリウム	イットリウム	
決定係数	0.9998	1.0000	0.9999	0.9985	0.9996	0.9999	0.9998	
検量線の点数	6	5	6	5	5	6	6	
ろ過の有無	無	無	無	無	有 (前処理後実施)	無	無	
干渉抑制剤	無	無	無	無	無	無	無	
測定試料に対する添加濃度	-	-	-	-	-	-	-	
標準液に対する添加濃度	-	-	-	-	-	-	-	
添加回収試験の回収率(%)	99	102	99	99	99	102	100	
分析担当者以外による分析結果の確認	有	有	有	有	有	有	有	

表2 採用した分析方法(Cr)

分析法	機関数
65.1.2 フレーム原子吸光法	5
65.1.3 電気加熱原子吸光法	2
65.1.4 ICP発光分光分析法	5
65.1.5 ICP質量分析法	3

表3 分析法ごとの平均値(Cr)

分析法	標本数	平均値(mg/L)
グループ①;フレーム原子吸光法	25	0.282
グループ②;電気加熱原子吸光法/ ICP発光分光分析法/ICP質量分析法	50	0.309

表4 一元配置の分散分析結果(Cr)

	平方和	自由度	分散	分散比 (F値)	F境界値 (5%)	F境界値 (1%)
グループ間	1.23E-02	1	1.23E-02	10.6	3.97	7.00
グループ内	8.45E-02	73	1.16E-03			
合計	9.68E-02	74	—	—	—	—

図1 度数分布図
(Cr、グループ①;原子吸光法)

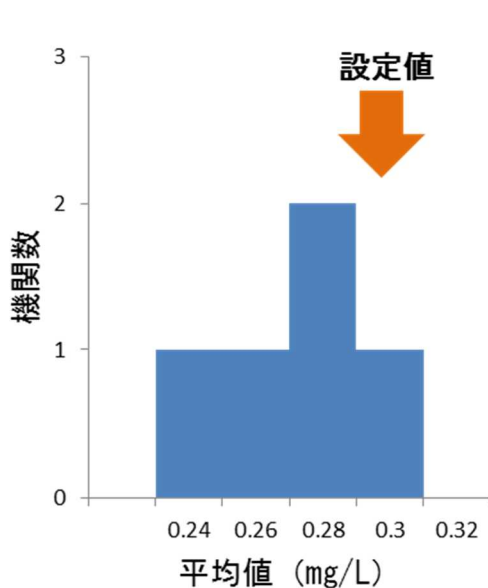


図2 度数分布図
(Cr、グループ②;電気加熱原子吸光法/
ICP発光分光分析法/ICP質量分析法)

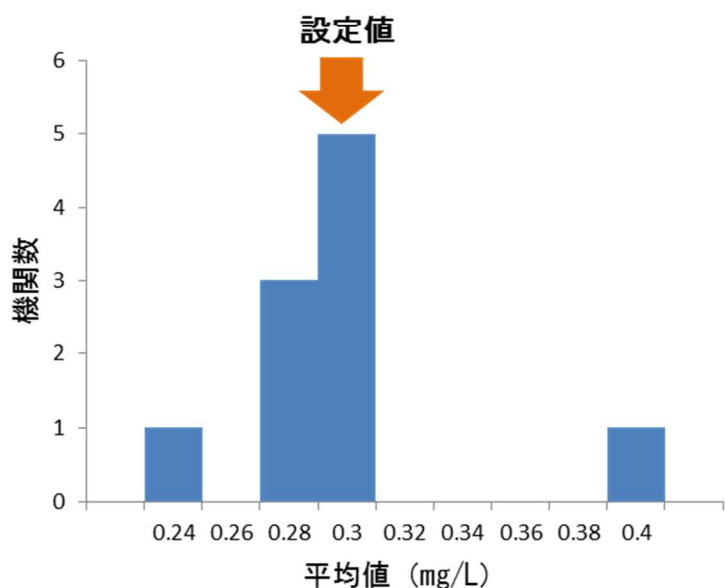


表5 基本統計データ (Cr)

機関コード*	グループ①; フレイム原子吸光法	グループ②; 電気加熱吸光法/ ICP発光分光分析法/ ICP質量分析法 (外れ値棄却後)	グループ②; 電気加熱吸光法/ ICP発光分光分析法/ ICP質量分析法 (外れ値棄却前)
データ数	5	8	10
平均値 (mg/L)	0.282	0.302	0.301
最大値 (mg/L)	0.307	0.311	0.416
最小値 (mg/L)	0.255	0.291	0.255
範囲 (最大値 - 最小値)	0.0520	0.0200	0.161
標準偏差 (mg/L)	0.0203	0.00671	0.0409
室間変動係数 (%)	7.19	2.22	13.2
中央値 (mg/L)	0.288	0.303	0.303
設定値 (mg/L)		0.300	

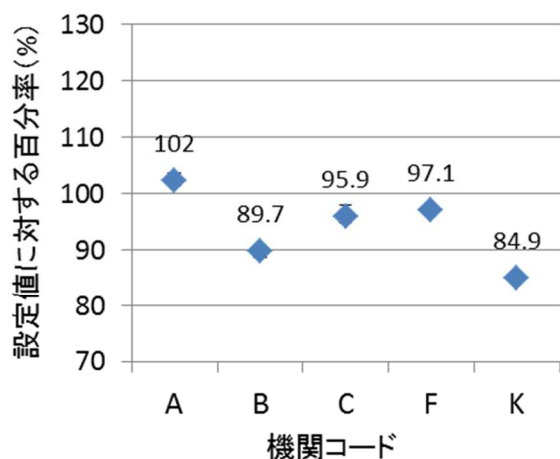


図3 平均値の設定値に対する百分率 (Cr、グループ①; 原子吸光法)

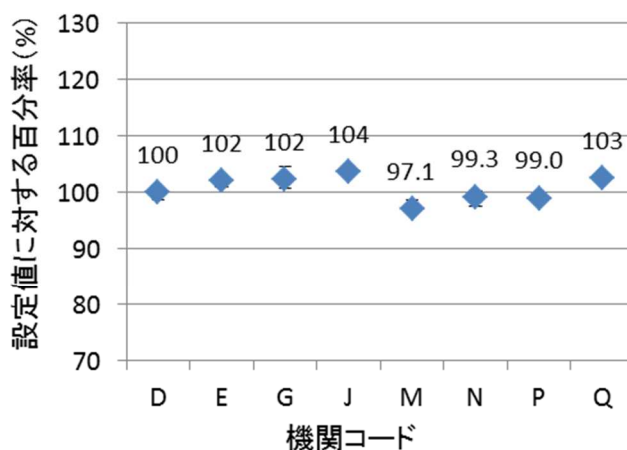


図4 平均値の設定値に対する百分率 (Cr、グループ②; 電気加熱原子吸光法 / ICP発光分光分析法 / ICP質量分析法)

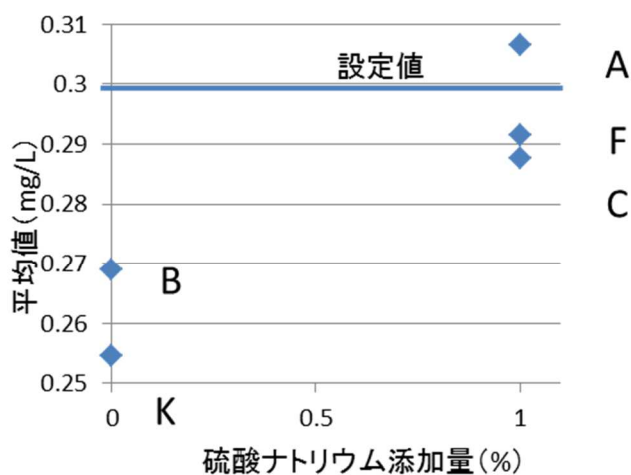


図5 硫酸ナトリウムと平均値 (Cr)

表6 結果一覧(T-P)

機関コード	A	B	C	D	E	F	G	H	I
前処理日	9月5日	9月13日	9月12日	9月11日	9月11日	9月13日	9月5日	9月13日	9月12日
分析日	9月6日	9月13日	9月12日	9月11日	9月11日	9月13日	9月5日	9月14日	9月15日
分析結果 (mg/L)									
1回目	0.200	0.201	0.186	0.194	0.197	0.206	0.207	0.201	0.202
2回目	0.202	0.201	0.193	0.191	0.202	0.210	0.209	0.198	0.202
3回目	0.208	0.201	0.192	0.190	0.200	0.211	0.210	0.194	0.202
4回目	0.204	0.203	0.194	0.193	0.199	0.212	0.210	0.198	0.202
5回目	0.206	0.203	0.193	0.190	0.200	0.212	0.208	0.197	0.202
平均	0.204	0.202	0.192	0.192	0.200	0.210	0.209	0.198	0.202
標準偏差	3.16E-03	1.10E-03	3.21E-03	1.82E-03	1.82E-03	2.49E-03	1.30E-03	2.51E-03	0.00E+00
変動係数(%)	1.55	0.543	1.68	0.948	0.910	1.18	0.624	1.27	0.000
分析に用いた水	超純水	超純水	蒸留水	超純水	超純水	蒸留水	蒸留水	超純水	イオン交換水
分析法 JIS K0102	46.3.1 ペルオキシ 二硫酸カリウム 分解法	46.3.1 ペルオキシ 二硫酸カリウム 分解法	46.3.1 ペルオキシ 二硫酸カリウム 分解法	46.3.4 流れ分析法	46.3.1 ペルオキシ 二硫酸カリウム 分解法	46.3.1 ペルオキシ 二硫酸カリウム 分解法	46.3.1 ペルオキシ 二硫酸カリウム 分解法	46.3.2 硝酸-過塩素酸 分解法	46.3.1 ペルオキシ 二硫酸カリウム 分解法
決定係数	1.000	0.9999	0.9998	1.0000	0.9999	1.0000	0.9997	1.0000	1.0000
検量線の点数	5	4	4	5	4	4	5	6	5
添加回収試験の 回収率(%)	98	99	99	102	99	105	100	110	103
分析担当者以外による 分析結果の確認	有	有	有	有	有	有	有	有	無

機関コード	J	K	L	M	N	O	P	Q
前処理日	9月13日	9月21日	9月12日	9月28日	9月19日	9月26日	9月26日	9月22日
分析日	9月14日	9月21日	9月18日	9月28日	9月19日	9月28日	9月27日	9月22日
分析結果 (mg/L)								
1回目	0.206	0.240	0.192	0.200	0.197	0.213	0.204	0.197
2回目	0.206	0.234	0.192	0.198	0.197	0.205	0.204	0.194
3回目	0.210	0.238	0.192	0.206	0.198	0.214	0.199	0.195
4回目	0.206	0.237	0.192	0.195	0.198	0.213	0.206	0.195
5回目	0.204	0.233	0.192	0.192	0.198	0.216	0.206	0.194
平均	0.206	0.236	0.192	0.198	0.198	0.212	0.204	0.195
標準偏差	2.19E-03	2.88E-03	1.79E-04	5.31E-03	5.48E-04	4.21E-03	2.86E-03	1.22E-03
変動係数(%)	1.06	1.22	0.0931	2.68	0.277	1.98	1.41	0.628
分析に用いた水	蒸留水	イオン交換水	蒸留水	超純水	蒸留水	超純水	超純水	蒸留水
分析法 JIS K0102	46.3.1 ペルオキシ 二硫酸カリウム 分解法	46.3.1 ペルオキシ 二硫酸カリウム 分解法	46.3.1 ペルオキシ 二硫酸カリウム 分解法	46.3.1 ペルオキシ 二硫酸カリウム 分解法	46.3.4 流れ分析法	46.3.1 ペルオキシ 二硫酸カリウム 分解法	46.3.1 ペルオキシ 二硫酸カリウム 分解法	46.3.4 流れ分析法
決定係数	1.0000	0.9980	1.0000	1.0000	1.0000	0.9998	1.0000	0.9999
検量線の点数	5	5	5	5	5	5	4	5
添加回収試験の 回収率(%)	99	104	115	99	100	106	102	97
分析担当者以外による 分析結果の確認	有	有	有	有	有	有	有	有

表7 採用した分析方法(T-P)

採用した分析法	機関数
46.3.1 ペルオキシ硫酸カリウム分解法	13
46.3.2 硝酸-過塩素酸分解法	1
46.3.4 流れ分析法	3

表8 基本統計データ(T-P)

	外れ値棄却前	外れ値棄却後
データ数	17	16
平均値(mg/L)	0.203	0.201
最大値(mg/L)	0.236	0.212
最小値(mg/L)	0.192	0.192
範囲(最大値-最小値)	0.0440	0.0200
標準偏差(mg/L)	0.0107	0.00655
室間変動係数(%)	5.28	3.26
中央値(mg/L)	0.202	0.201
設定値(mg/L)	0.200	

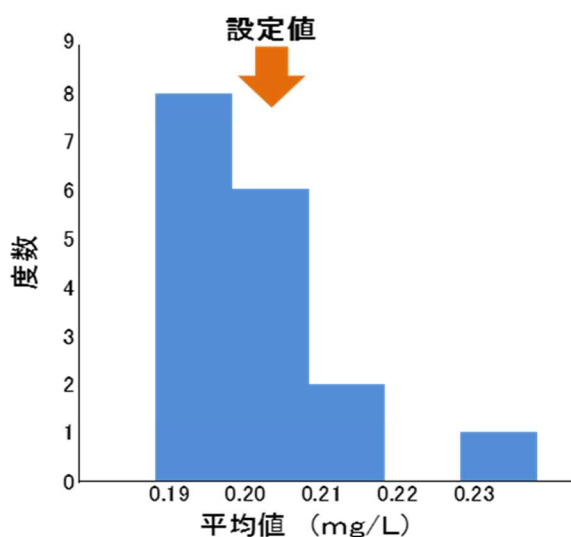


図6 度数分布図(T-P)

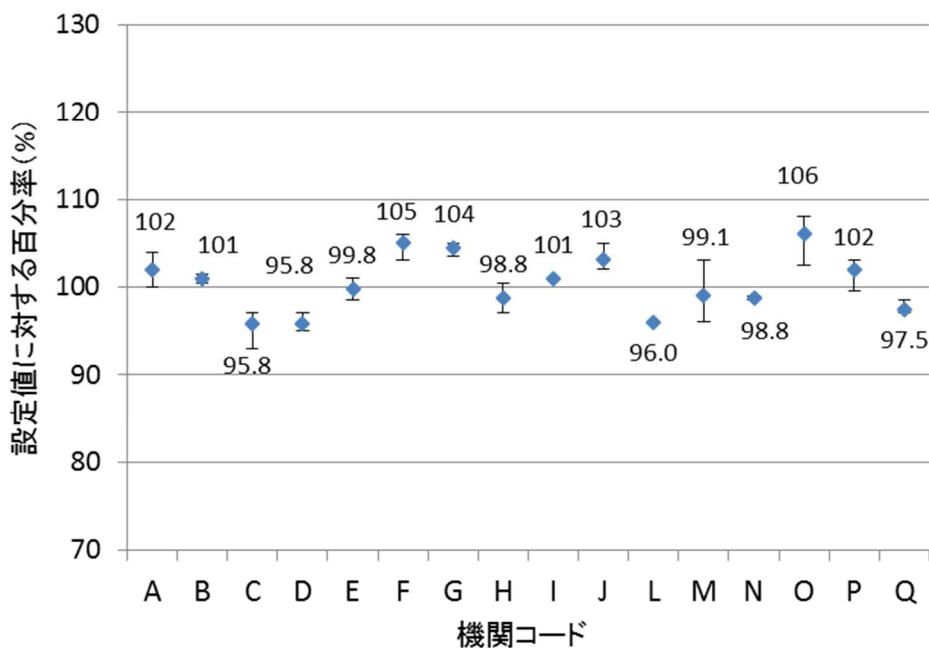


図7 平均値の設定値に対する百分率(T-P)