

平成28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28年度においても細菌試験、水質試験に関する試験検査精度管理調査を実施し、その結果を平成28年12月14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28年度）

| 氏名 | 所属・職名 | 氏名 | 所属・職名 |
|-------|------------------------------|--------|----------------------|
| 切替 照雄 | 国立国際医療研究センター研究所 感染症制御研究部長 | 荒川 高志 | 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 | 清嶋 かすみ | 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 | 森川 博夫 | 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) | 木原 晴子 | 宇都宮市衛生環境試験所長 |
| 栗野 哲実 | 県北健康福祉センター所長 (県北保健所長) | 村田 忠男 | 計量検定所長 |
| 菅野 良一 | 環境森林部環境保全課長 | 今井 清人 | 栃木県計量協会 環境計量証明部会長 |
| 久保 昌幸 | 環境森林部廃棄物対策課長 | 高山 尚志 | 参事兼保健環境センター所長 |
| 武藤 仁志 | 環境森林部馬頭処分場整備室長 | | |

細菌試験（担当：微生物部）

平成27年12月4日に栃木県精度管理委員会が開催され、平成28年度試験検査精度管理調査の細菌試験精度管理に関して実施方法・検査項目等の協議決定がなされた。実施に関しての業務は事務局である保健環境センターが行うこととなった。

1 実施機関

試料の調製および配布は保健環境センターが行った。

2 参加機関

次の8機関が参加した。各機関に1～8の番号をつけて結果の記載を行った。

県西健康福祉センター、県東健康福祉センター、県南健康福祉センター、県北健康福祉センター、安足健康福祉センター、県北食肉衛生検査所、宇都宮市食肉衛生検査所、宇都宮市衛生環境試験所

表1 配布菌株

| 菌株 | 実施項目 | 配布機関 |
|----|--|---------------|
| A | Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> (EHEC) O111 VT1+ | 2, 3, 5 |
| B | Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> (EHEC) O121 VT2+ | 1, 6, 7 |
| C | <i>Salmonella</i> Choleraesuis H ₂ S(-) | 1, 4, 5, 6, 8 |
| D | <i>Listeria monocytogenes</i> | 3, 4 |
| E | Enterotoxigenic <i>Escherichia coli</i> (ETEC) O25 LT+ | 2, 7, 8 |

3 試験方法、実施項目及び配布機関

各機関において通常の検査を行っている方法（検査実施標準作業書。以下、「SOP」と略す。）に準拠して、菌を分離同定する。栃木県の6機関は、分離した菌株を適切な方法で保健環境センターに搬入する。配布菌株は表1のとおり。

4 実施期間

平成28年9月6日に検査試料を配布し、9月30日までに結果の報告をすることとした。

5 試料の調製及び配布

5.1 試料の調製

供試菌株には糞便由来の4株と標準菌株1株(D)を用いた。菌株は、前日にTryptic Soy Brothに接種し37℃・5時間振とう培養を行った。各培養液は遠心による菌体洗浄後PBSに懸濁し、吸光度を測定した。この吸光度と予め作成しておいた検量線から菌数を求め、供試菌数(≧ 1.0×10^5 CFU/mL)になるように試験母液を作成した。これを菌株ごとに滅菌試験管に分注したものを検査試料とし、配布まで4℃で保管した。

5.2 試料の配布

対象機関には、検査試料を2種類ずつ配布し、「漏出防止対策を講じた容器を用い、冷蔵状態を保持すること。受領後は冷蔵保存し、速やかに検査に供すること。」を指示した。配布時に「有症者の状況」として、検査試料に含まれるA~Eの菌がヒトに引き起こす主な臨床症状を以下のとおり添付した。

〔主な臨床症状〕

- A, B: 発症初期は水様性下痢便を呈し、後に鮮血便を排出する。
- C: 激しい下痢、腹痛、発熱を呈する。
- D: 発熱、頭痛、嘔吐を呈する。
- E: 主症状は下痢で、嘔吐を伴うことも多い。腹痛は軽度である。

6 調査結果および考察

6.1 使用培地

各機関で用いた分離培地は、表2-1、2-2のとおり。全ての機関で消化器症状を呈する場合に考慮すべき、赤痢・腸チフスを含むサルモネラ・下痢原性大腸菌、ウェルシュ菌、コレラ・腸炎ビブリオなどビブリオ属菌、黄色ブドウ球菌、セレウス菌、カンピロバクター、エルシニアに対応する培地を使用していた。リステリア用培地（パルカム等）は、消化器症状を呈さない株を配布した2機関のうち1機関とほか1機関で使用された。検出精度をあげるには、選択性の強弱や特異性の有無などの性質の異なる選択分離培地2種類以上の併用が望ましいが、赤痢・サルモネラ、下痢原性大腸菌では全ての機関で複数の培地を使っていた。サルモネラでは硫化水素産

生性に関係なく検出できる培地の追加が推奨されており、6機関ではクロモアガー（CH）サルモネラ培地等を併用していた。ビブリオ属菌では2種類併用は6機関に増えた。その他の菌では1種類のみ機関が多かったが、時間と経費の範囲内で複数を導入していくのが望ましい。

非選択培地は4機関で使用され、内訳は血液寒天培地（以下、「血寒」と略す。）3機関、TSA 2機関、普通寒天培地 1機関であった。選択分離培地のみでは菌が検出できない場合もあり、検体によっては非選択分離培地の使用が有効と考える。

6.2 同定結果

同定結果と合否は表3のとおり。菌株Dは機関4で「判定不能」と報告され、不合格だった。その他においては良好な結果が得られた。

(a) EHEC 0111 VT1+の結果

結果は表4-1、4-2に示す。検査に要した日数は4日であった。平成26年度の3~9日と比べ、期間が短縮した。

性状試験：結果にばらつきはみられなかった。クエン酸利用能（SC）は1日培養で陰性と判定した機関があった（*）が、陰性の場合は培養を延長して判定する必要がある。

毒素検出試験は全機関でVT1(+)という結果だった。全機関でEHEC 0111と同定され、同定菌種名は適切に記載されていた。

(b) EHEC 0121 : VT2+の結果

結果は表5-1、5-2に示す。検査に要した日数は、3~4日、平成26年度に比べ期間が短縮した。

性状試験：表5-1のとおり実施された。リジン以外では結果にばらつきはみられなかった。SCは1日培養で陰性と判定した機関があった（*）。

毒素検出試験は全ての機関で実施され、2機関でVT2(+), 1機関でVT(+)と判定された。全機関でEHEC 0121と同定され、適切に記載されていた。簡易同定キットを使用した機関は無かった。

(c) *Salmonella Choleraesuis* H₂S(-)の結果

結果は表6-1、6-2に示す。検査に要した日数は、4機関で3~6日、H型別を行った1機関では22日だった。

分離：クロモアガー（以下、「CH」と略す。）サルモネラ等の硫化水素非産生株でも検出できる選択分離培地を用いて、適切に分離していた。

性状試験：SCは全機関とも陰性と回答し、3機関では培養1日で陰性の判定をしていたが、配布菌株は7日間培養でようやくSC陽性となるため、培養を延長しないと正しい結果がでない。また、簡易同定キットは1機関で、ラテックス凝集試験は2機関で実施していた。

血清型別：4機関は07(+)より *Salmonella* spp. と同定した。1機関ではH血清型別試験を実施し、*Salmonella Choleraesuis* と同定した。

Salmonella 属菌の同定は、①選択分離培養でのコロニーの形態、②TSI（高層部黄変・黒変・ガス産生、斜面部

赤変)とLIM(紫変、Indol(-)、運動性(+))による確認培養を行い、①②で定型的な性状を示す場合は、③0抗原による血清型別で *Salmonella* 属菌と確定できる。今回はH₂S(-)株を用いたため、オキシダーゼ試験(-)、SC(+)、VP(-)、ONPG(-)等の追加試験を必要に応じて実施することになる。また、SC(-)と判定した場合は、これに留意した上で同定を行う必要がある。

なお、*Salmonella* 属菌の種は、*Salmonella enterica* と *Salmonella bongori* の2種であり、結果の表記は「*Salmonella* sp.」ではなく「*Salmonella* spp.」が正しく、適切に記載されていた。

(d) *Listeria monocytogenes* の結果

結果は表7-1、7-2に示す。1機関では適切な選択分離培地を用いて分離された。糖分解試験、βリジンディスク法により *Listeria monocytogenes* と同定した。

1機関では判定不能で、「リステリア検査のSOPが無く、分離培地を所有していない。」との理由だった。これまで検査せずに判定不能と報告された事例は無く、この機関は不合格となった。*Listeria monocytogenes* は栃木県食中毒処理要領において食中毒病因物質(その他の細菌)に分類され、非加熱食肉製品・ナチュラルチーズ等で規格基準も定められており、早急に対応する必要がある。なお、当該機関でもSOPを作成中である。

(e) Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) 025 LT+の結果

結果は表8-1、8-2に示す。検査に要した日数は、H型別試験を行った1機関では9日、他は4日だった。

性状試験:SCは全機関とも1日培養で陰性と判定していた。

易熱性毒素(LT)産生の確認を行い、Enterotoxigenic *Escherichia coli* 025:H- LT(+)と同定できたのは1機関のみであった。2機関では *Escherichia coli* 025 と同定し、LTの確認を実施していなかった。大腸菌検出時はその病原性を調べ、ベロ毒素やエンテロトキシン等の毒素産生性確認を行う必要がある。今回LTで用いたVET-RPLAはキット化されており、試験室での導入が可能である。

6.3 分離菌株の搬入

栃木県の6機関とも培養状態、培地、搬送方法など適正に搬入され、菌株はすべて生存していた。担当者は病原体取扱者として、病原体や臨床検体の運搬時における事故防止という社会的責任を意識し、適正に実践していくことが必要である。

6.4 検査実施標準作業書(SOP)

ここで言うSOPは、食品からの成分規格対象菌および糞便からの食中毒等起因菌の分離同定のために作成されたものを指す。食肉検査所ではSOP作成は必須では無いが、2機関のうち1機関でEHECのみ作成していた。健康福祉センターと宇都宮市衛生環境試験所では、機関4のリステリアを除き該当する細菌のSOPが作成されていた。クエン酸利用能(SC)の判定について、SOPに正しい判定方法を記載するなど対応が望まれる。

前回までは、該当する細菌のSOPの有無にかかわらず検査を行い、結果が報告されていた。今回はじめて、SOPが無いという理由で判定不能と報告され不合格となった。感染症検査においては「不明病原体の探索にあつては、検査方法は臨機応変に対応でき、SOPは不可欠では無い」とされている。食中毒関連調査におけるSOPについては、これを機に関係機関で協議を行う予定である。

7 まとめ

- (1) 選択分離培地については、全機関で食中毒等起因菌9菌種以上に対応する培地を使用していた。検出の精度を上げるには菌種毎に性質の異なる2種類以上の選択分離培地を併用すると良い。また、非選択分離培地は、想定外の菌を検出するために有効である。
- (2) 腸内細菌科の同定にあつてはオキシダーゼ、TSI、LIM、VP、SC試験は必須と提唱しており、今年度も全ての機関で履行された。しかし前回に引き続き、SCでは判定方法が不適切であった。細菌同定の必須項目であるグラム染色は全ての機関で履行されていた。
- (3) 一般論として細菌の同定手順は、①グラム染色(染色性と形態の確認)、②オキシダーゼ試験またはカタラーゼ試験による代謝系の確認、これらの結果を根拠にした③推定試験・確認培養を原則とする。簡易同定キットは、同定手順①~③の原則を順守しつつ性状確認を補うための補完的な使用、または属の推定を行うための手段として効果的であり、活用を勧めている。
- (4) 今回、1機関のリステリアを除き、その他は良好な同定がされていた。EHEC、*Salmonella* 属菌では前回に引き続き、検査の迅速化が図れていた。1機関でリステリア検査のSOPが無いという理由から「判定不能」と報告されたが、SOPは作成予定である。
- (5) ETEC 025では、毒素産生の確認は1機関でしか実施されていなかった。常在菌である大腸菌、セレウス菌、ウェルシュ菌などが検出され、これを食中毒の病因物質と考えるには、毒素産生の確認を実施すべきである。

2-1 各機関で用いた分離培地(1)

| 機関 | 赤痢・サルモネラ等 | | | DHL | 下痢原性大腸菌 | | | ウェルシュ CW |
|----|-----------|-------|------------------|-----|---------|------|--------------------------------------|-------------|
| | SSB | X-SAL | 他 | | STEC | SMAC | 他 | |
| 1 | ○ | ○ | | ○ | ○ | | | ○ |
| 2 | ○ | ○ | | ○ | ○ | | | ○ |
| 3 | ○ | | | ○ | ○ | | | ○ |
| 4 | ○ | | CHサルモネラ | ○ | ○ | ○ | | ○ |
| 5 | ○ | | | ○ | ○ | | CH 0157 | ○ |
| 6 | ○ | | CHサルモネラ | ○ | ○ | | CH 0157TAM | ○ |
| 7 | ○ | | CHサルモネラ | ○ | | ○ | RMAC, SBMAC, Vi-EHEC | ○ |
| 8 | ○ | | SS, ESサルモネラII | ○ | | ○ | RMAC, SBMAC, CH TAM, クロモカルトコリフォーム | ○ |

表 2-2 各機関で用いた分離培地(2)

| 機関 | ビブリオ属菌 | | フドウ球菌 | | セレウス | | カンピロ | エルシニア | 他 |
|----|--------|----------------|-------|------|------|------|------|-------|------------------|
| | TCBS | 他 | MN | 他 | NGKG | 他 | CCDA | CIN | |
| 1 | ○ | ヒブリア寒天 X-VP | ○ | X-SA | ○ | X-BC | ○ | ○ | |
| 2 | ○ | ヒブリア寒天 X-VP | ○ | X-SA | ○ | X-BC | ○ | ○ | TSA, 血寒 |
| 3 | ○ | | ○ | | ○ | | ○ | ○ | CH リステリア, ハルム |
| 4 | ○ | ヒブリア寒天 | ○ | | ○ | | ○ | ○ | TSA |
| 5 | ○ | | ○ | | ○ | | ○ | ○ | |
| 6 | ○ | CHヒブリア | ○ | | ○ | | ○ | ○ | 普通寒天, 羊血寒 ハルム |
| 7 | ○ | CHヒブリア | ○ | | ○ | | ○ | ○ | 馬血寒 |
| 8 | ○ | CHヒブリア | ○ | | ○ | | ○ | ○ | |

表 3 各機関の同定結果

| 機関 | 回 答 | | 配布 菌株 | 合否 判定 |
|----|-----|--|----------|----------|
| | No. | 同定菌種名 (報告書の記載を転記) | | |
| 1 | 1-1 | <i>Escherichia coli</i> (EHEC) O121 VT1(-) VT2(+) | B | 合格 |
| | 1-2 | <i>Salmonella</i> spp. 07 | C | 合格 |
| 2 | 2-1 | <i>Escherichia coli</i> (EHEC) O111 VT1(+) | A | 合格 |
| | 2-2 | <i>Escherichia coli</i> 025 | E | 合格 |
| 3 | 3-1 | Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> (EHEC) O111 VT1(+) | A | 合格 |
| | 3-2 | <i>Listeria monocytogenes</i> | D | 合格 |
| 4 | 4-1 | <i>Salmonella</i> 属 07 | C | 合格 |
| | 4-2 | 判定不能 | D | 不合格 |
| 5 | 5-1 | Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> (EHEC) O111 VT1(+) | A | 合格 |
| | 5-2 | <i>Salmonella</i> spp. | C | 合格 |
| 6 | 6-1 | Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> (EHEC) O121 VT1(-) VT2(+) | B | 合格 |
| | 6-2 | <i>Salmonella</i> spp. 07 | C | 合格 |
| 7 | 7-1 | Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> (EHEC) O121 | B | 合格 |
| | 7-2 | <i>Escherichia coli</i> 025 | E | 合格 |
| 8 | 8-1 | <i>Salmonella</i> Choleraesuis | C | 合格 |
| | 8-2 | Enterotoxigenic <i>Escherichia coli</i> O25:H- LT(+) | E | 合格 |

表 4-1 EHEC 0111 VT1+の結果

| 機関 | 日数 | TSI | | LIM | | VP | SC | CLIG | | G 染色 | オキタ ^セ | 血清型別 | |
|----|----|-----|----------------------|-----|---|----|----|------|-----|------|------------------|------|------|
| | | 糖分解 | Gas H ₂ S | L | I | | | M | 糖分解 | | | | MUG |
| 2 | 4日 | Y/Y | + - | - | + | + | - | - | R/Y | + | G- R | - | 0111 |
| 3 | 4日 | Y/Y | + - | - | + | + | - | -* | R/Y | + | G- R | - | 0111 |
| 5 | 4日 | Y/Y | + - | - | + | + | - | -* | R/Y | + | G- R | - | 0111 |

*: 1日培養で判定した結果

表 4-2 EHEC 0111 VT1+の結果

| 機関 | 毒素産生試験 | 簡易同定キット | 同定結果 (報告書の記載を転記) |
|----|--|-------------|--|
| 2 | VT1(+): テ ^ユ オ ^ハ ス [・] ベ ^ト キ ^シ ン | ID テスト EB20 | Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> (EHEC) 0111 VT1(+) |
| 3 | VT1(+): テ ^ユ オ ^ハ ス [・] ベ ^ト キ ^シ ン | | <i>Escherichia coli</i> (EHEC) 0111 VT1(+) |
| 5 | VT1(+): テ ^ユ オ ^ハ ス [・] ベ ^ト キ ^シ ン | | Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> (EHEC) 0111 VT1(+) |

表 5-1 EHEC 0121 : VT2+の結果

| 機関 | 日数 | TSI | | LIM | | VP | SC | CLIG | | G 染色 | オキタ ^セ | 血清型別 | |
|----|----|-----|----------------------|-----|---|----|----|------|-----|------|------------------|------|------|
| | | 糖分解 | Gas H ₂ S | L | I | | | M | 糖分解 | | | | MUG |
| 1 | 3日 | R/Y | + - | - | + | + | - | - | R/Y | + | G- R | - | 0121 |
| 6 | 4日 | R/Y | + - | - | + | + | - | -* | R/Y | + | G- R | - | 0121 |
| 7 | 4日 | R/Y | + - | + | + | + | - | -* | Y/R | + | G- R | - | 0121 |

*: 1日培養で判定した結果

表 5-2 EHEC 0121 : VT2+の結果

| 機関 | 毒素産生試験 | 同定結果 (報告書の記載を転記) |
|----|--|---|
| 1 | VT2(+): テ ^ユ オ ^ハ ス [・] ベ ^ト キ ^シ ン | Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> (EHEC) 0121 VT2(+) |
| 6 | VT2(+): VTEC-RPLA | Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> (EHEC) 0121 VT1(-) VT2(+) |
| 7 | VT(+): Loopamp 腸管出血性大腸菌検出試薬キット | Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> (EHEC) 0121 |

表 6-1 *Salmonella* Choleraesuis H₂S(-) の結果

| 機関 | 日数 | 分離培地 | TSI | | LIM | | VP | SC | G 染色 | オキタ ^セ |
|----|-----|---------------|-----|----------------------|-----|---|----|----|------|------------------|
| | | | 糖分解 | Gas H ₂ S | L | I | | | | |
| 1 | 5日 | X-SAL | R/Y | + - | + | - | + | - | G- R | - |
| 4 | 6日 | CH サルモネラ, DHL | R/Y | + - | + | - | + | - | G- R | - |
| 5 | 3日 | DHL, SSB | R/Y | + - | + | - | + | - | G- R | - |
| 6 | 5日 | CH サルモネラ | R/Y | - - | + | - | + | -* | G- R | - |
| 8 | 22日 | ES サルモネラ II | R/Y | + - | + | - | + | -* | G- R | - |

*: 1日培養で判定した結果

表 6-2 *Salmonella* Choleraesuis H₂S(-) の結果

| 機関 | その他 | 血清型別 | 同定結果 (報告書の記載を転記) |
|----|--|---------|--------------------------------|
| 1 | ID テスト EB-20: <i>Salmonella choleraesuis</i> | 07 | <i>Salmonella</i> spp. 07 |
| 4 | | 07 | サルモネラ属 07 |
| 5 | | 07 | <i>Salmonella</i> spp. |
| 6 | F-サルモネラ「生研」: + | 07 | <i>Salmonella</i> spp. 07 |
| 8 | サルモネララテックスキット: + | 07:H1:c | <i>Salmonella Choleraesuis</i> |

表 7-1 *Listeria monocytogenes* の結果

| 機関 | 日数 | 分離培地 | | VP | 運動性 | G 染色 | カタラーゼ ⁺ |
|----|-----|----------|--------------------|----|-----|------|--------------------|
| | | CH リステリア | パ ⁺ ルカム | | | | |
| 3 | 5 日 | 青緑・ハロー | 黒 | + | 傘状 | G+ R | + |
| 4 | 4 日 | | | + | 傘状 | G+ R | + |

表 7-2 *Listeria monocytogenes* の結果

| 機関 | ラムノース キシロース | 確認試験 | 同定結果 (報告書の記載を転記) |
|----|-------------|------|---|
| 3 | + | - | β リゾニテ ⁺ イスク法:+ Henry の斜光法:+ <i>Listeria monocytogenes</i> |
| 4 | | | 判定不能 |

表 8-1 ETEC 025 の結果

| 機関 | 日数 | TSI | | LIM | | VP | SC | G 染色 | オキシダ ⁺ ーゼ ⁺ | 血清型別 |
|----|-----|-----|----------------------|-----|-----|----|----|------|--------------------------------------|----------|
| | | 糖分解 | Gas H ₂ S | L | I | | | | | |
| 2 | 4 日 | Y/Y | + - | - | + ± | - | -* | G- R | - | 025 |
| 7 | 4 日 | Y/Y | + - | - | + - | - | -* | G- R | - | 025 |
| 8 | 9 日 | Y/Y | - - | - | + - | - | -* | G- R | - | 025 : H- |

* : 1 日培養で判定した結果

表 8-2 ETEC 025 の結果

| 機関 | 追加試験 | 同定結果 (報告書の記載を転記) |
|----|---|--|
| 2 | VT(-): テ ⁺ ュオパ ⁺ ス・ヘ ⁺ トキシ ⁺ ン ID テスト EB-20 | <i>Escherichia coli</i> 025 |
| 7 | Api 20E | <i>Escherichia coli</i> 025 |
| 8 | 下痢原性大腸菌病原遺伝子検出 Multiplex PCR : LT+ VET-RPLA 「生研」 : LT+ | enterotoxigenic <i>Escherichia coli</i> 025:H- LT(+) |

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

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 機関の合計 17 機関が参加した。

以下の報告では、それぞれの参加機関をA~Qと表記した。

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亜鉛含有量、鉛及びその化合物を選択した。

4 実施期間

平成28年9月6日に試料原液を配付し、試験結果報告期限を9月30日とした。

5 試料の調製

妨害物質としてカルシウムを含む2種類の試料原液(A及びB)を以下のとおり調製し、各々約120mLを配付した。配付した試料原液を各参加機関にて20倍に希釈したものを分析用試料とした。

【試料A】亜鉛標準液(関東化学(株)1,002 mg/L) 6 mL、塩化カルシウム二水和物 221.0 g 及び硝酸(61%) 50 mLを3 L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。

なお、分析用試料における亜鉛の含有量(以下、設定値と呼ぶ。)は0.100 mg/Lであり、カルシウム1,004 mg/Lを含んでいる。

【試料B】鉛標準液(関東化学(株)1,000 mg/L) 6 mL、塩化カルシウム二水和物 221.0 g 及び硝酸(61%) 50 mLを3 L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。

なお、分析用試料における鉛の含有量(以下、設定値と呼ぶ。)は0.100 mg/Lであり、カルシウム1,004 mg/Lを含んでいる。

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。) 53. 亜鉛(Zn)」及び「規格 54. 鉛(Pb)」とした。

各参加機関は、分析用試料について5回の併行試験と添加回収試験(濃度任意)を行い、その結果及び分析条件等を報告することとした。

7 結果

7.1 亜鉛含有量

7.1.1 概要

参加した全機関(17機関)から回答を得た。

各機関が採用した分析方法を表1に示す。フレーム原子吸光法(規格53.1)を採用したのは7機関、ICP発光分光分析法(規格53.3)は6機関、ICP質量分析法(規格53.4)は4機関であった。

表2に示すとおり、報告された機関毎の濃度の平均値及び室内変動を示す変動係数は、それぞれ0.0927~0.118 mg/L及び0.569~5.07%であった。

7.1.2 度数分布図

平均値の度数分布図を図1に示す。設定値は、最大度数の階級にあったが、3機関(E, I及びL)がやや高く外れた値(0.115~0.119 mg/L)の階級にあった。

7.1.3 異常値の棄却

平均値についてグラブスの検定を実施したが、棄却される値はなかった。

表1 各機関が採用した分析方法(Zn)

| 分析法 | 機関数 |
|-----------------|-----|
| 53.1 フレーム原子吸光法 | 7 |
| 53.3 ICP発光分光分析法 | 6 |
| 53.4 ICP質量分析法 | 4 |

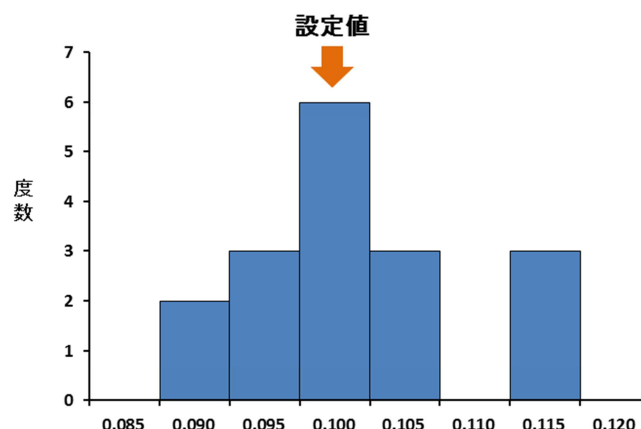


図1 度数分布図(Zn)

表2 結果一覧 (亜鉛含有量)

| 機関コード | A | B | C | D | E | F | G | H | I |
|------------------|-----------|-------------|-------------|-------------|-----------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 前処理日 | 9月14日 | 9月7日 | 9月23日 | 9月16日 | 9月27日 | 9月15日 | 9月22日 | 9月23日 | 9月9日 |
| 分析日 | 9月15日 | 9月16日 | 9月23日 | 9月26日 | 9月28日 | 9月15日 | 9月28日 | 9月23日 | 9月9日 |
| 分析結果 (mg/L) | | | | | | | | | |
| 1回目 | 0.102 | 0.102 | 0.103 | 0.0986 | 0.114 | 0.0944 | 0.104 | 0.0952 | 0.118 |
| 2回目 | 0.101 | 0.102 | 0.105 | 0.105 | 0.118 | 0.0947 | 0.107 | 0.0953 | 0.119 |
| 3回目 | 0.101 | 0.103 | 0.100 | 0.100 | 0.114 | 0.0953 | 0.107 | 0.0960 | 0.117 |
| 4回目 | 0.101 | 0.103 | 0.101 | 0.0997 | 0.117 | 0.0951 | 0.105 | 0.0937 | 0.118 |
| 5回目 | 0.103 | 0.101 | 0.107 | 0.106 | 0.113 | 0.0958 | 0.105 | 0.0933 | 0.118 |
| 平均 | 0.102 | 0.102 | 0.103 | 0.102 | 0.115 | 0.0951 | 0.106 | 0.0947 | 0.118 |
| 標準偏差 | 0.000894 | 0.000837 | 0.00286 | 0.00338 | 0.00217 | 0.000541 | 0.00134 | 0.00115 | 0.000707 |
| 変動係数 (%) | 0.880 | 0.819 | 2.77 | 3.32 | 1.88 | 0.569 | 1.27 | 1.21 | 0.599 |
| 分析に用いた水 | 超純水 | 超純水 | 超純水 | 蒸留水 | 蒸留水 | 超純水 | 蒸留水 | 超純水 | 超純水 |
| 前処理 JIS K0102 | 52.備考4 | 5.2 | 5.1 | 5.1 | 52.備考4 | 5.1 | 5.1 | 5.1 | 5.1 |
| | DDTC抽出 | 塩酸又は硝酸による分解 | 塩酸又は硝酸酸性で煮沸 | 塩酸又は硝酸酸性で煮沸 | DDTC抽出 | 塩酸又は硝酸酸性で煮沸 | 塩酸又は硝酸酸性で煮沸 | 塩酸又は硝酸酸性で煮沸 | 塩酸又は硝酸酸性で煮沸 |
| | | | | 5.2 | | | | | |
| | | | | 塩酸又は硝酸による分解 | | | | | |
| 分析法 JIS K0102 | 53.1 | 53.4 | 53.3 | 53.3 | 53.1 | 53.4 | 53.3 | 53.4 | 53.1 |
| | フレーム原子吸光法 | ICP質量分析法 | ICP発光分光分析法 | ICP発光分光分析法 | フレーム原子吸光法 | ICP質量分析法 | ICP発光分光分析法 | ICP質量分析法 | フレーム原子吸光法 |
| 定量法 | 検量線の決定係数 | 検量線法 | 内標準法 | 発光強度法 | 発光強度法 | 検量線法 | 内標準法 | 発光強度法 | 内標準法 |
| | 検量線の点数 | 0.999 | 1.000 | 1.000 | 0.999 | 0.998 | 0.999 | 1.000 | 1.000 |
| 試料の希釈又は濃縮 | 4倍濃縮 | 10倍希釈 | 等倍 | 等倍 | 10倍濃縮 | 等倍 | 等倍 | 等倍 | 等倍 |
| 添加回収試験回収率 (%) | 105 | 99 | 99 | 101 | 115 | 100 | 100 | 100 | 101 |

| 機関コード | J | K | L | M | N | O | P | Q |
|------------------|-------------|-------------|-------------|----------------|-----------|-------------|-------------|-------------|
| 前処理日 | 9月13日 | 9月15日 | 9月26日 | 10月2日 | 9月8日 | 9月15日 | 9月6日 | 9月15日 |
| 分析日 | 9月13日 | 9月22日 | 9月26日 | 10月3日 | 9月9日 | 9月15日 | 9月9日 | 9月15日 |
| 分析結果 (mg/L) | | | | | | | | |
| 1回目 | 0.106 | 0.0949 | 0.119 | 0.110 | 0.0963 | 0.105 | 0.0965 | 0.101 |
| 2回目 | 0.105 | 0.0949 | 0.117 | 0.103 | 0.0978 | 0.101 | 0.107 | 0.101 |
| 3回目 | 0.104 | 0.0935 | 0.118 | 0.105 | 0.0980 | 0.0992 | 0.0947 | 0.103 |
| 4回目 | 0.105 | 0.0903 | 0.117 | 0.111 | 0.0977 | 0.102 | 0.100 | 0.101 |
| 5回目 | 0.107 | 0.090 | 0.118 | 0.109 | 0.0979 | 0.103 | 0.0957 | 0.102 |
| 平均 | 0.105 | 0.0927 | 0.118 | 0.108 | 0.0975 | 0.102 | 0.0988 | 0.102 |
| 標準偏差 | 0.00114 | 0.00242 | 0.000837 | 0.00344 | 0.000702 | 0.00217 | 0.00501 | 0.000894 |
| 変動係数 (%) | 1.08 | 2.61 | 0.710 | 3.19 | 0.720 | 2.13 | 5.07 | 0.880 |
| 分析に用いた水 | 超純水 | 超純水 | 超純水 | 蒸留水 | 蒸留水 | 超純水 | 蒸留水 | 蒸留水 |
| 前処理 JIS K0102 | 5.1 | 5.2 | 5.2 | 52.備考6 | 52.備考4 | 5.2 | 5.2 | 5.2 |
| | 塩酸又は硝酸酸性で煮沸 | 塩酸又は硝酸による分解 | 塩酸又は硝酸による分解 | キレート樹脂による分離濃縮法 | DDTC抽出 | 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 |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| 分析法 JIS K0102 | 53.3 | 53.1 | 53.3 | 53.3 | 53.1 | 53.4 | 53.1 | 53.1 |
| | ICP発光分光分析法 | フレーム原子吸光法 | ICP発光分光分析法 | ICP発光分光分析法 | フレーム原子吸光法 | ICP質量分析法 | フレーム原子吸光法 | フレーム原子吸光法 |
| 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 | 検量線法 | 検量線法 |
| | 検量線の決定係数 | 1.000 | 1.000 | 0.998 | 0.999 | 1.000 | 1.000 | 0.996 |
| 検量線の点数 | 5 | 5 | 6 | 5 | 4 | 5 | 5 | 6 |
| 試料の希釈又は濃縮 | 等倍 | 等倍 | 5倍希釈 | 4倍濃縮 | 5倍濃縮 | 10倍希釈 | 6倍濃縮 | 4倍濃縮 |
| 添加回収試験回収率 (%) | 101 | 100 | 101 | 102 | 106 | 115 | 98 | 99 |

7.1.4 基本統計

平均値から算出された基本統計データを表3に示す。室間変動は0.0729%と良好であった。

7.1.5 設定値に対する分析値の評価

各機関の平均値の設定値に対する百分率を算出し、誤

差範囲(最大値及び最小値)と共に図2に示す。なお、図2の横軸は分析法でグループ分けされた機関コードが記されている。フレーム原子吸光法、ICP発光分光分析法及びICP質量分析法の設定値に対する百分率は、それぞれ92.7~118%、102~118%及び94.7~102%であ

表3 基本統計データ (Zn)

| | |
|--------------|---------|
| データ数 | 17 |
| 平均値 (mg/L) | 0.104 |
| 最大値 (mg/L) | 0.118 |
| 最小値 (mg/L) | 0.0927 |
| 範囲 (最大値-最小値) | 0.0253 |
| 標準偏差 (mg/L) | 0.00755 |
| 変動係数 (%) | 0.0729 |
| 中央値 (mg/L) | 0.102 |
| 設定値 (mg/L) | 0.100 |

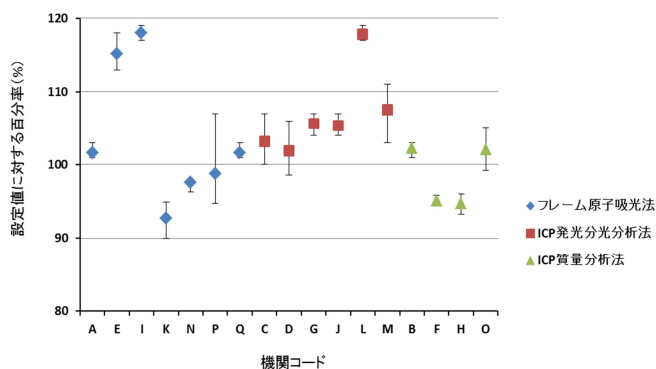


図2 平均値の設定値に対する百分率 (Zn)

り、分析全体では 92.7~118 %であった。

妨害物質のカルシウムは、フレーム原子吸光法ではバックグラウンド吸収やイオン化干渉、ICP 発光分光分析法ではイオン化干渉、ICP 質量分析法では、非スペクトル干渉を誘発することが報告されている。また、亜鉛は前処理時に汚染を受けやすいことが知られているが、今回の調査結果ではこれらの影響はほとんどみられなかった。

7.2 鉛及びその化合物

7.2.1 概要

参加した全機関 (15 機関) から回答を得た。

各機関が採用した分析方法を表4に示す。フレーム原子吸光法 (規格 54.1) を採用したのは3機関、電気加熱原子吸光法 (規格 54.2) は3機関、ICP 発光分光分析法 (規格 54.3) は5機関、ICP 質量分析法 (規格 54.4) は4機関であった。

表5に示すとおり、報告された機関毎の濃度の平均値及び室内変動を示す変動係数は、それぞれ 0.0886~0.160 mg/L 及び0.439~6.85 %であった。

7.2.2 度数分布図

平均値の度数分布図を図3に示す。設定値は、中央値がある最大度数の階級にあったが、機関Gが高く外れる

結果となった。

7.2.3 異常値の棄却

平均値についてグラブスの検定を実施したところ、機関Gの値 (0.160 mg/L) が棄却された。この値を異常値とし、以下に記す解析の対象から外した。

機関Gの試験結果を確認したところ、空試験の指示値を濃度 0 mg/L とした検量線を作成していたため、当センターで修正した検量線から求めた値について、再度グラブスの検定を実施したが、やはり棄却値となった。

機関Gは、告示で定める前処理 (キレート抽出剤にヘキサメチレンアンモニウム-ヘキサメチレンカルバモジチオ酸 (HMA-HMDC) を用いた溶媒抽出、または、キレート樹脂を充填した固相で測定対象元素を分離濃縮する方法) を実施していなかったこと、あるいは、ICP 発光分光分析では鉛の低濃度域 (数 10 μg/L 以下) での定量が難しいこと、などが測定誤差の要因となったと推測される。

表4 各機関が採用した分析方法 (Pb)

| 分析法 | 機関数 |
|------------------|-----|
| 54.1 フレーム原子吸光法 | 3 |
| 54.2 電気加熱原子吸光法 | 3 |
| 54.3 ICP 発光分光分析法 | 5 |
| 54.4 ICP 質量分析法 | 4 |

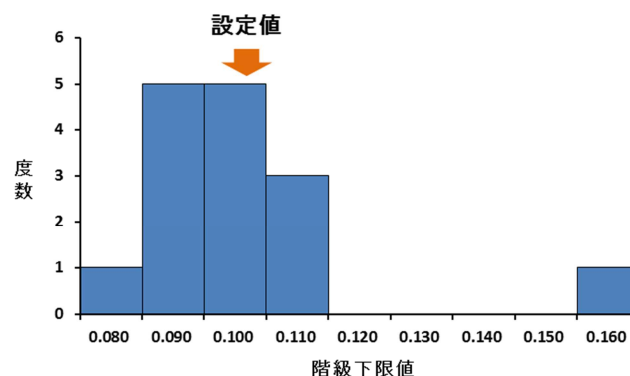


図3 度数分布図 (Pb)

表5 結果一覧 (鉛及びその化合物)

| 機関コード | A | B | C | D | E | F | G | H | I |
|---------------------------|------------|-------------|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 前処理日 | 9月9日 | 9月7日 | 9月27日 | 9月16日 | 9月26日 | 9月14日 | 9月22日 | 9月23日 | 9月15日 |
| 分析日 | 9月12日 | 9月16日 | 9月27日 | 9月26日 | 9月27日 | 9月14日 | 9月28日 | 9月23日 | 9月15日 |
| 分析結果 (mg/L) | | | | | | | | | |
| 1回目 | 0.102 | 0.102 | 0.0980 | 0.108 | 0.0880 | 0.111 | 0.158 | 0.0960 | 0.106 |
| 2回目 | 0.104 | 0.102 | 0.101 | 0.108 | 0.0896 | 0.110 | 0.152 | 0.0967 | 0.0999 |
| 3回目 | 0.102 | 0.101 | 0.100 | 0.110 | 0.0892 | 0.112 | 0.161 | 0.0988 | 0.104 |
| 4回目 | 0.103 | 0.102 | 0.102 | 0.109 | 0.0888 | 0.110 | 0.160 | 0.0963 | 0.107 |
| 5回目 | 0.103 | 0.102 | 0.0986 | 0.110 | 0.0874 | 0.110 | 0.170 | 0.0960 | 0.102 |
| 平均 | 0.103 | 0.102 | 0.100 | 0.109 | 0.0886 | 0.111 | 0.160 | 0.0968 | 0.104 |
| 標準偏差 | 0.000837 | 0.000447 | 0.00165 | 0.00100 | 0.000894 | 0.000894 | 0.00650 | 0.00118 | 0.00290 |
| 変動係数 (%) | 0.814 | 0.439 | 1.65 | 0.917 | 1.01 | 0.809 | 4.06 | 1.22 | 2.79 |
| 分析に用いた水 | 超純水 | 超純水 | 超純水 | 蒸留水 | 蒸留水 | 超純水 | 蒸留水 | 超純水 | 超純水 |
| 前処理 JIS K0102 | 52.備考4 | 5.2 | 5.1 | 5.1 | 52.備考4 | 5.1 | 5.1 | 5.1 | 5.1 |
| | DDTC抽出 | 塩酸又は硝酸による分解 | 塩酸又は硝酸酸性で煮沸 | 塩酸又は硝酸酸性で煮沸 | DDTC抽出 | 塩酸又は硝酸酸性で煮沸 | 塩酸又は硝酸酸性で煮沸 | 塩酸又は硝酸酸性で煮沸 | 塩酸又は硝酸酸性で煮沸 |
| | | | | 5.2 | | | | | |
| 分析法 JIS K0102 | 54.1 | 54.4 | 54.3 | 54.3 | 54.1 | 54.4 | 54.3 | 54.4 | 54.2 |
| | フレイム原子吸光法 | ICP質量分析法 | ICP発光分光分析法 | 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 | ICP質量分析法 | 電気加熱原子吸光法 |
| 定量法 検量線の決定係数 検量線の点数 | 検量線法 | 内標準法 | 発光強度法 | 発光強度法 | 検量線法 | 内標準法 | 内標準法 | 内標準法 | 標準添加法 |
| | 1.000 5 | 1.000 4 | 1.000 5 | 0.997 5 | 0.999 5 | 1.000 5 | 1.000 6 | 1.000 6 | 0.994 5 |
| 干渉抑制剤 | — | — | — | — | — | — | — | — | 無 |
| 試料の希釈又は濃縮 | 20倍濃縮 | 10倍希釈 | 2倍希釈 | 等倍 | 15倍濃縮 | 2倍希釈 | 等倍 | 等倍 | 10倍希釈 |
| 添加回収試験回収率 (%) | 101 | 101 | 97 | 106 | 100 | 101 | 98 | 100 | 97 |

| 機関コード | J | K | L | M | N | O |
|---------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------------|-------------|
| 前処理日 | 9月27日 | 9月17日 | 9月26日 | 10月4日 | 9月11日 | 9月15日 |
| 分析日 | 9月27日 | 9月28日 | 9月26日 | 10月4日 | 9月12日 | 9月15日 |
| 分析結果 (mg/L) | | | | | | |
| 1回目 | 0.0960 | 0.126 | 0.0980 | 0.110 | 0.0905 | 0.100 |
| 2回目 | 0.0974 | 0.110 | 0.0957 | 0.114 | 0.0905 | 0.0990 |
| 3回目 | 0.0955 | 0.105 | 0.0985 | 0.114 | 0.0905 | 0.101 |
| 4回目 | 0.0962 | 0.115 | 0.101 | 0.102 | 0.0915 | 0.101 |
| 5回目 | 0.0976 | 0.113 | 0.0984 | 0.111 | 0.0922 | 0.103 |
| 平均 | 0.0965 | 0.114 | 0.0983 | 0.110 | 0.0910 | 0.101 |
| 標準偏差 | 0.000915 | 0.00779 | 0.00188 | 0.00492 | 0.000780 | 0.00148 |
| 変動係数 (%) | 0.948 | 6.85 | 1.92 | 4.46 | 0.856 | 1.47 |
| 分析に用いた水 | 超純水 | 超純水 | 超純水 | 蒸留水 | 蒸留水 | 超純水 |
| 前処理 JIS K0102 | 5.1 | 5.2 | 5.2 | 5.2 | 52の備考4 | 5.2 |
| | 塩酸又は硝酸酸性で煮沸 | 塩酸又は硝酸による分解 | 塩酸又は硝酸による分解 | 塩酸又は硝酸による分解 | DDTC抽出 | 塩酸又は硝酸による分解 |
| | | | | | | |
| 分析法 JIS K0102 | 54.3 | 54.2 | 54.3 | 54.2 | 54.1 | 54.4 |
| | ICP発光分光分析法 | 電気加熱原子吸光法 | ICP発光分光分析法 | 電気加熱原子吸光法 | フレイム原子吸光法 | ICP質量分析法 |
| 定量法 検量線の決定係数 検量線の点数 | 内標準法 | 標準添加法 | 内標準法 | 標準添加法 | 検量線法 | 内標準法 |
| | 1.000 5 | 0.991 6 | 1.000 6 | 0.994 5 | 1.000 4 | 1.000 6 |
| 干渉抑制剤 | — | 硝酸パラジウム(Ⅱ) | — | 硝酸パラジウム(Ⅱ) | — | — |
| 試料の希釈又は濃縮 | 等倍 | 10倍希釈 | 5倍希釈 | 20倍希釈 | 20倍濃縮 | 100倍希釈 |
| 添加回収試験回収率 (%) | 101 | 97 | 97 | 101 | 104 | 100 |

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6に示す。室間変動は0.0735%と良好であった。

7.2.5 設定値に対する分析値の評価

各機関の平均値の設定値に対する百分率を算出し、誤差範囲(最大値及び最小値)と共に図4に示す。

表6 基本統計データ(Pb)

| | 外れ値棄却前 | 棄却後 |
|--------------|--------|---------|
| データ数 | 15 | 14 |
| 平均値 (mg/L) | 0.106 | 0.102 |
| 最大値 (mg/L) | 0.160 | 0.114 |
| 最小値 (mg/L) | 0.0886 | 0.0886 |
| 範囲 (最大値-最小値) | 0.0714 | 0.0254 |
| 標準偏差 (mg/L) | 0.0167 | 0.00748 |
| 変動係数 (%) | 0.158 | 0.0735 |
| 中央値 (mg/L) | 0.102 | 0.102 |
| 設定値 (mg/L) | 0.100 | |

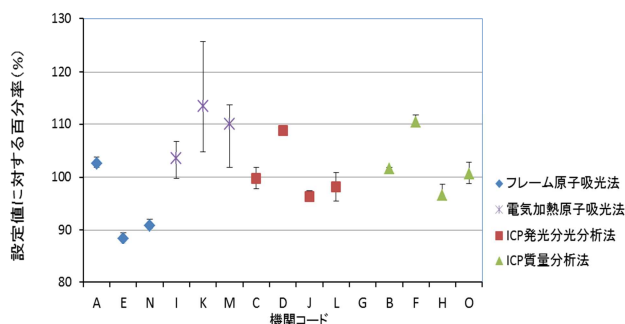


図4 平均値の設定値に対する百分率(Pb)

フレイム原子吸光法、電気加熱原子吸光法、ICP 発光分光分析法及び ICP 質量分析法における設定値に対する百分率は、それぞれ 88.4~103%、104~114%、96.3~109%及び 96.6~110%であり、また、分析全体では 88.4~114%であった。

一方、電気加熱原子吸光法における誤差範囲は-8.8~+12.2%であり、他の試験方法における誤差範囲(-2.6~+2.7%)と比べやや大きかった。

妨害物質の塩化カルシウムは、前述の亜鉛と同様、フレイム原子吸光法ではバックグラウンド吸収やイオン化干渉、ICP 発光分光分析法ではイオン化干渉、ICP 質量分析法では、非スペクトル干渉を誘発することが報告されている。さらに、フレイム原子吸光法及び ICP 発光分光分析法の定量範囲は、規格でそれぞれ鉛 1~20 mg/L 及び鉛 0.1~2 mg/L と示されており、低濃度の鉛の分析は難しいことが知られている。このため、妨害物質による干渉除去や鉛の濃度を上昇させるために、告示により規格 52 の備考 9 に定める操作を実施することと定められているが、今回の調査では、この前処理操作の有無による違いはみられなかった。

8 調査結果から推定された問題点

(1) 試料の前処理について

ICP 発光分光分析法による鉛及びその化合物の分析は、告示により、規格 52 の備考 9 に定める方法で前処理を行わなければならないとされているが、ICP 発光分光分析

法を採用した 5 機関すべて (C, D, G, J 及び L) が、当該前処理を実施していなかった。

今回の調査では、機関 G を除き、良好な分析結果が得られたものの、実検体の測定では結果に影響を及ぼす物質が含まれるおそれもあることから、告示等に基づく分析方法で測定することが必要である。

(2) 干渉抑制剤について

電気加熱原子吸光法を用いた鉛及びその化合物の分析では、マトリックスモディファイヤーとして硝酸パラジウム(II)を添加することとされているが(規格 54.2)、機関 I は添加していなかった。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。

(3) 検量線について

機関 G は、亜鉛含有量、鉛及びその化合物のいずれにおいても、空試験の指示値を濃度 0 mg/L とした検量線を作成していた。また、機関 N は、空試験を差し引かず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。

また、機関 G 及び機関 I は、検量線の決定係数(R^2)ではなく、相関係数(R)を報告していた。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欲しい。

(4) 定量について

機関 C が、未知試料の測定結果に、添加回収試験から求めた回収率を乗じて報告値としていた。

また、昨年度の 3 機関からは減っているものの、今年度も 1 機関 (機関 K) が標準液の値付け値を考慮せずに定量していた。

どちらの機関も、報告値にずれが生じており、十分な注意が必要である。

9 総括評価及び今後の課題

設定値に対する分析値は、亜鉛含有量では 92.7~118%、鉛及びその化合物では 88.4~114%であった。また、室間変動もそれぞれ 0.0729%及び 0.0735%であり、調査結果は概ね良好であった。

今回の調査では、妨害物質の影響は確認できなかったが、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散見された。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空試験の指示値の差し引き等々、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べきであると強く要望する。

また、毎年散見される、報告書への入力漏れや入力誤りは、今回も見受けられた。分析者のみならず、チェックにあたる者も、細心の注意をはら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、機関内におけるクロスチェック体制の見直しあるいは再確立を要望したい。