

200939025A

平成 21 年度厚生労働科学研究補助金
食品の安心・安全確保推進研究事業

検査におけるサンプリング計画並びに手順の
ハーモナイゼーションに関する研究

総括・分担報告書

研究代表者

国立医薬品食品衛生研究所食品部第三室長

渡邊敬浩

研究分担者

国立医薬品食品衛生研究所食品部部長

松田りえ子

(独)農業・食品産業技術総合研究機構

食品総合研究所研究員

塚越芳樹

平成 22 年(2010 年) 5 月

目 次

I. 総括研究報告書	
検査におけるサンプリング計画並びに手順のハーモナイゼーションに 関する研究.....	1
	渡邊 敬浩
II. 分担研究報告	
1. サンプリングと分析の不確かさを考慮した分析値の運用指標の検討	33
2. サンプリングに起因する不確かさの推定方法の検討	57
	渡邊 敬浩
3. 国内で実施されているサンプリング計画及び手順の現状把握と妥当性 の検証	83
	塚越 芳樹
4. 不均一分布からのサンプリングのシミュレーションによる最適化	111
	松田りえ子
III. 研究成果の刊行物	131

平成 21 年度厚生労働科学研究補助金
食品の安心・安全確保推進研究事業

検査におけるサンプリング計画並びに手順の
ハーモナイゼーションに関する研究

I. 総括研究報告書

渡邊敬浩

平成 21 年度厚生労働科学研究補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業
検査におけるサンプリング計画並びに手順のハーモナイゼーションに関する研究
総括研究報告書

研究代表者 渡邊敬浩 国立医薬品食品衛生研究所食品部第三室長

研究要旨

検査は所定の目的を達成するために実施される。食品衛生法に関連した検査においては、法により規定される様々な食品規格への適合を判定することが目的となる。判定の妥当性が担保されていないければ、それに伴う措置を指示(命令)された被検査者(事業者等)に疑義を生じかねない。また、ある場合には係争の原因となることも考えられる。

検査における判定は、規格に定められた値(基準値)と、検査対象となる一群の食品(ロットあるいはコンサインメント;統計上の母集団)に含まれる規格対象化学物質の濃度の平均値とを比較により行われる。従って、判定に用いられる分析値には、ロット中の化学物質濃度の平均の正しい推定値であることを科学的に証明することが求められる。この証明がなければ、判定の妥当性を担保することはできない。正しい推定値を得るためには、ロットを代表する試料(サンプル)を採取する(サンプリングすること、及びサンプルを正しく分析することが不可欠となる。分析に関しては、得られる測定値の確からしさを保証する事を目的に、分析法の妥当性を評価する事並びに分析法の運用を正しく管理することが要求されている。一方のサンプリングに関しては、その性能を具体的に評価した例は少なく、またそれを標準化せしめるガイドライン等が示されていないことから、策定が検査実施者の裁量に任されているのが現状である。また実際には、労力、場所による環境的な要因及び物流に関する要因から、サンプリングの実行には様々な制限が伴う場合も多い。この種々の制限によって分析値の確からしさも変わり、ひいては判定として妥当な内容また、そもそも判定すること自体が妥当かも自ずと決まってしまう。

先述の通り、代表するサンプルが検査の目的に応じて適切にサンプリングされることが、得られた分析値に基づき対象母集団の評価を行う上での前提条件であり、特に行政上の判定及びそれに伴い執られる措置の妥当性を担保するために重要である。本研究では、分析値に基づく判定とそれに伴い執られる措置の妥当性を担保するための科学的根拠となりうるサンプリング計画及び手順の確立と標準化を目的とし、本年は、1. サンプリングと分析の不確かさを考慮した分析値の運用指標の検討、2. サンプリングに起因する不確かさの推定方法の検討(渡邊分担分)、3. 国内で実施されているサンプリング計画及び手順の現状把握と妥当性の検証(塚越分担分)、4. 不均一分布からのサンプリングのシミュレーションによる最適化(松田分担分)の4研究課題を実施したのでその成果を報告する。

研究分担者名：渡邊敬浩(国立医薬品食品衛生研究所食品部第三室長)、松田りえ子(国立医薬品食品衛生研究所食品部長)、塚越芳樹(独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所研究員)

A. 研究目的

対象となる母集団(ロットやコンサイメント)の規格基準への適合を判定することが検査の目的である。判定の科学的根拠となりうる分析値を得ることを目的に分析が行われる。分析結果(分析値)には、判定の正当性を担保するために高い信頼性が求められるが、その保証には、検査対象である母集団の特性を正しく反映した試験試料がサンプリングされることが前提となる。適切な試験試料をサンプリングするためには、統計理論に基づいたサンプリング計画及び、計画を正確に実行するためのサンプリング手順が必要となる。サンプリング計画については、国際標準化機構(ISO)により定められた国際規格や、WHO/FAO 合同食品国際規格計画(CodexX 委員会)が発行するガイドライン(CAC/GL50)など、国際的にハーモナイズされた重要な複数の文書が存在する。しかし、サンプリング計画の性能は、検査の目的に応じて設定されるべきであり、一様に高い必要はない。この観点から、ある検査において採用されているサ

ンプリング計画が、その宣言される目的に鑑みて適切か、つまりは要求される性能を満たしているかを多角的に比較・評価した例は少ない。また、労力、場所及びそこでの食品の物流といった複数の要因によって、実行可能なサンプリングの内容が制限される場合がある。食品衛生法に準じた検査を目的とした「収去」はその一例かと思われる。実行したサンプリングと分析の内容によって決まる分析値の信頼性と対象物質等の健康危害上のリスクといった複数の指標を総合的に評価し、判定及びそれに伴い執るべき行政措置の範囲について決定する事が、食の安全を担保することと科学的根拠によりその正しさを保証された食品の流通には必要不可欠であると考ええる。

本研究班では、収去検査等に伴うサンプリングに関する現状把握を目的に、自治体担当者等を対象としたアンケート調査を実施し、その回答の解析を通じて、サンプリングに関する問題点及び、指針作成また分析値の運用指標策定にあたり考慮すべき点について明らかにする。また、国内で実際に採用されているサンプリング計画及び手順を調査し、国際規格との比較を通じてその性質や性能を明らかにした上で、標準的な計画、手順について検討する。また、国際的には運用も含

めた議論が活発化しているサンプリングに伴う不確かさの推定方法を、実際の分析値の解析及びシミュレーション手法の確立を通じて検討する。

以上の研究により、サンプリング計画の性能を評価することを可能とする。また、サンプリング手順と合わせ、統計的な根拠に基づく計画の標準化を図る。同時に、推定されるサンプリング及び分析に起因する不確かさを指標に、制限されたサンプリング条件下において保証しうる分析値の信頼性を考慮した分析値の運用指標について検討することを目的とする。

B. 研究方法

1. サンプリングと分析の不確かさを考慮した分析値の運用指標の検討(渡邊分担研究1)

国内の各自治体等で実施されている検査の一例として、食品衛生法に準じた収去検査が挙げられる。当検査において採用されているサンプリング計画、得られた分析値に基づく判定及びそれに伴う措置の現状を把握することを目的とし、「収去検査等に伴う食品採取(サンプリング)に関するアンケート」調査を厚生労働省を通じ、各自治体担当者を対象に実施した。調査用紙に記入された回答を、期日までに電子メールもしくは郵送にて国立医薬品食品衛生研究所に回収の上、集計した。調

査では、項目ごとに複数の選択肢を提示し、重複回答を認めた。主要な調査項目は以下の通り。「サンプリングの目的」、「サンプリングの実施場所」、「サンプリングの対象」、「採取するサンプルの個数と分析試料の調製」、「分析結果に基づく判定」、「判定に基づく措置方法」。

2. サンプリングに起因する不確かさの推定方法の検討(渡邊分担研究2)

市販を目的に栽培されたダイコン(葉及び根)、ホウレンソウ、キャベツ、ハクサイ、ナスを対象生鮮野菜として選択した。圃場全体を50の区画に区分し左端より1~50の数値を割り付け、発生させた1~50の一樣乱数と一致した圃場の1区分から1サンプル(一次サンプル)を採取した。アイテムは野菜1個を基本とし、分析に必要な重量を確保する目的から、ナス及びホウレンソウについては同一区画の隣接する2個あるいは4株を1つの一次サンプルとした。この計画に従い1回のサンプリングあたり8個の一次サンプルを採取しこれを1セットとした。また、サンプリングは2回繰り返し実施した。よって、1種の生鮮野菜あたり採取した一次サンプルの総数は、8つの一次サンプルの2セット分となる16である。採取した一次サ

ンプルから分析試料を試験室にて調製した後、HPLCにより分離後、210 nmの波長測定により分析した。定量限界は、これまでの生鮮野菜中に含まれる硝酸塩濃度に関する報告事例から、200 mg/kg及び1000 mg/kgに設定した。なお、一次サンプルごとに個別サンプル及びコンポジットサンプルを調製しそれぞれから分取した2つの分析ポーションを分析する実験計画としたため、1種の生鮮野菜あたりの分析ポーション数は36、本研究で対象とした全生鮮野菜種を通じての総計は216となる。

得られた分析値の統計解析及びそれらに基づく不確かさの推定は以下の通りおこなった。最初に、1回目と2回目のサンプリングごとに得られた $n=16$ の測定値(個別サンプル8x分析ポーション2)を一組のデータセットとして一元配置の分散分析を実施し、分析の併行精度、サンプル間のばらつき、測定値に含まれる全てのばらつきの大きさ(総標準偏差)を推定した。分散分析は全ての生鮮野菜について実施し、全データセットにおいて分析の併行精度が十分に小さく分析法の性能評価結果に一致していることを確認した。次いで、個別サンプルのそれぞれについて、

採取した2つの分析ポーションから得られた測定値の平均値を当該個別サンプルの代表値(個別サンプル代表値)とし、2回のサンプリング間で得られる測定値の平均値の差に有意な差が認められるかの検定を行った。その際にはまず、1回目と2回目のそれぞれのサンプリングにより得られた $n=8$ の個別サンプル代表値の分散に差があるかを検定(F検定)し、検定結果を危険率5%で判断した。その結果、全データセットについて等分散が確認されたため、Student's t検定により平均の差の検定を行った。

サンプリングの不確かさ推定の際には、実験計画に従い得られた32の測定値をデータセットとして用いた。まず、一元配置の分散分析を行い、その結果から分析の併行精度、サンプル間のばらつきを推定した。推定されたサンプル間のばらつきを母集団中での対応する硝酸塩濃度の標準偏差と仮定した。サンプリングの不確かさの推定の際には分析精度は一定とし、サンプルサイズによる推定値への影響についても検討した。

3. 国内で実施されているサンプリング計画及び手順の現状把握と妥当性の検証(塚越分担研究)

農林水産省の農林物資の規格

化及び品質表示の適正化に関する法律(JAS法)について調査を行った。当法律では、食品を所定の検査の結果に基づき格付けし、これを記載することを許可している。この所定の検査においては、食品の表示のためのサンプリング法が定められている。このサンプリング計画は対象食品ごとに異なり、それぞれ別個の通知で定められている。本課題では、それらの計画を概観し、その妥当性を調査した。また、外国で用いられているサンプリング法との比較のため、米国農務省による7 CFR 51の検査方法を当該法規において、キーワード検索並びに関係の条文を探し出し、サンプリング法に関する情報を収集した。さらに、動物検疫所、植物検疫所においては、国境を越えて病虫害が侵入・蔓延することを防ぐため、サンプリング検査を行っている。これらは、サンプリングと書類審査、及び生産圃場での検査によって成り立っている。同じように、それらのサンプリング法についても整理した。

サンプリング法の性能はOC曲線によって表される。抽出個数と合格判定個数が示されている計数規準型サンプリング法について整理する際には、2項分布で合格確率を計算した。

さらに、JASではサンプリングがゆ

るい検査、なみ検査、きつい検査に分けられている。これらについては、ロットの不良率の変化によって当然使い分けられるものではあるが、その特徴の一端を明らかにするために、ある一定のロットの不良率を仮定した場合に、これらの検査がどのような確率で使い分けられるのかについて擬似乱数を用いてシミュレートすることによって算出した。

4. 不均一分布からのサンプリングのシミュレーションによる最適化(松田分担研究)

試行回数を20,000回としたモンテカルロシミュレーションを、Crystal Ball 7(Decisioneering Inc.)により行った。

生鮮野菜に残留する農薬及び硝酸塩濃度の分布についてサンプリングシミュレーションを実行するに当たっては、圃場から採取した生鮮野菜16試料から得られた分析結果にいくつかの分布を適合し、適合度の高い分布を仮定した。検討する分析対象は、ナス中のピリダリル及びクロルフェナピル、キャベツ中のインドキサカルブ及び硝酸塩、白菜中のエトフェンブロックス及び硝酸塩、大根の葉及び根中の硝酸塩、ホウレンソウ中の硝酸塩とした。分析法は、平成20年度及び21年度の分担課題「サンプリングに起因する不確かさの推定方法の検討」

報告書に示したとおりである。分布の適合は Crystal Ball 7 により行い、アンダーソン-ダーリング検定により評価した。

不均一な分布からのサンプリングシミュレーションでは、母集団分布として正規分布を仮定した。

C.D. 研究結果及び考察

1. 渡邊分担研究 1

調査の結果、92 の自治体担当者からの回答が得られた。以下、主要な調査項目ごとに集計結果と考察を述べる。

1.-1) 設問 1 「食品採取(サンプリング)の目的」

設問 1 では、サンプリングの目的について調査した。本調査が収去検査等に伴うサンプリングに関するアンケート調査として実施されているため、設問に伴う選択肢は、1)行政措置を伴う検査、2)実態調査(措置を伴わない分析)とした。本設問に対し、行政措置を伴う検査との回答が 88 件、実態調査との回答が 49 件、その他との回答が 11 件得られた。その他の回答の中には、「製造工程の確認」、「先行調査等」、「インターネット流通品の買い上げ調査」などが含まれていた。調査用紙を回収した 92 機関のうち、2 機関からは本設問に対する回答が得られず、有効回答数は 90 となった。本

設問に、行政措置を伴う検査と回答した場合には、さらに「単年度あたりの検査頻度」及び「1 件の検査あたり採取されるサンプルの数」について尋ねた。しかし数量としての回答を求めたことに加え、その解釈が回答者間での異なるためと考えられる多数の質問を受けた。最終的に回答された数量には個々の回答者による明らかな解釈の違いを含むと考えられるばらつきが見られ、正誤の判別が不能であることから集計はしなかった。

本設問を通じて行われたやりとりからは、「検査」及び「サンプル」への認識あるいは理解の程度、もしくは検査に伴い実施される行為の内容(特にサンプリングの方法及びサンプルの取り扱い)が必ずしも一律ではないことが伺われた。

1.-2) 設問 2 「サンプリングを行う場所」

設問 2 では、サンプリングを行う場所について調査した。本設問の選択肢とした実施場所の具体例は、1)総合食料品店(スーパーなど)の店頭、2)総合食料品店(スーパーなど)のバックヤード、3)専門店(鮮魚店、青果店といった)の店頭の 3 例であり、これに当たらない場合をその他とした。上記 1)~4)までの各回答数は、1)総合食料品店店頭が 90 件、バックヤードが 63

件、専門店店頭が 85 件、その他が 66 件であった。またその他の実施場所には、食品製造施設、食肉加工場、海産物養殖場、集荷場、卸売市場、集団給食施設、飲食店等が含まれており、各機関が対象とする母集団及び明らかにしようとする特性の多様性を伺わせる結果であった。

サンプリングの前提は、「対象とする母集団を代表するようにランダムにサンプルを採取する事」である。本設問は、実施場所を知る事で上記の前提に沿ったサンプリングの実行可能性の程度を推測する目的から行った。回答として得られた実施場所から、サンプリングの前提が十分満たせるであろうと推測されるのは、その他に挙げられた食品製造施設、集団給食施設、飲食店等と思われる。これら施設をサンプリングの実施場所とした回答は全体のごく一部に過ぎず、多くの場合は総合食料品店の店頭及びバックヤード、また専門店店頭においてサンプリングが実施されている。そのような場合に想定される母集団の一つには、工業製品であれば、同じ製造ロットの全製品が挙げられる。ただし、店頭にはその一部が陳列されていることになり、そこから十分な数のサンプルを抜き取っても、その抜き取りがランダムに実行された保証はない。この保証がないこと自体により、得られる分析

値に母平均からの偏りが生じている可能性を否定できない。また、分析対象が、店頭または食品の保管場所等で変質するような場合には、同じ製造ロットを母集団と想定すること自体が誤りであろう。さらに、製造履歴等の確認が難しく、外見上の判別もできない生鮮食品については、一度店頭に並んでしまえば、真の母集団を特定することは極めて困難となる。複数の生産者が生産した生鮮食品が集められ、複数の母集団が混在する集荷場や卸売市場でも状況は同じである。母集団が想定できなければ、適切なサンプリングは実行できず、判定の正しさは保証できない。また、措置が必要と考えられても、その対象は曖昧である。

1.-3) 設問 3 「サンプリングの対象」

設問 3 は、サンプリングの対象としている母集団についての認識及び、実際の想定について知る事を目的に回答を求めた。その結果、「事前にサンプリングの対象を定めているか」の設問に対し、「定めている」とした回答が 68 件、「定めていない」とした回答が 22 件、「その両方」とした回答が 2 件であった。サンプリングの対象が事前に定められていなければ、サンプルをランダムに抜き取ることも、目的の精度で母平均を推定するためのサンプル数を決めることもできない。「定めていない」と回答した機関の意図が

明確ではないが、収去の現状として「事前に」対象を定めることが困難なのかも知れない。また、サンプリング計画の策定が「〇〇食品について年あたり〇〇件」というようにされていた場合には、対象が「〇〇食品(具体的な食品名称；例えば「とうふ」や「牛肉」といったように)」と理解され、サンプリングにおいて不可欠な、母集団の想定自体がされない場合があるのかも知れない。「その両方」と回答した機関の注釈には、具体例が付記されていたが、規格基準適合判定を目的とする「検査」を行う場合と、汚染濃度の実態調査を目的とする分析(判定や措置を伴わない分析)を行う場合とで正しく区別していることも考えられる。さらに本設問では、「定めている」と回答した機関に対し、「どのような対象として定めているか」について追加質問をした。選択項目として、1)ロット、2)コンサインメント、3)個別食品(アイテム)を挙げた。また、それぞれの選択肢には 1)製造ロット等、2)サンプリング可能であった複数の製造ロットを区別せず、3)ロットやコンサインメントといった想定をせず、の注釈を付記した。「ロット」と回答した件数は 30 件、「コンサインメント」と回答した件数は 2 件、「個別食品」と回答した件数は 43 件であった。コンサインメントと回答した 2 機関

については、抜き取るサンプルの総数が先に決められており、その数を満たすためにやむを得ず複数のロットから抜き取りを実行し、その実行内容から「コンサインメント」と回答したのかも知れない。

ロットやコンサインメントといった母集団を想定せずに抜き取られたサンプルは、自動的に個別食品として扱う以外にない。抜き取られた個別食品について規格基準への不適合が疑われた場合でも、明らかに判定できるのはその個別食品のみである。しかし、個別食品に付随する情報から追って母集団を特定し、その母集団に対して何らかの措置が検討される場合があるかも知れない。その場合、母平均の推定はされていないため、判定の正しさを保証する科学的根拠はない。特定された母集団から新たに複数のサンプルを抜き出し得られた分析結果と併せて判定をするといった、分析を伴う追加調査により、判定の正当性を担保する方策が必要である。しかし実際には、個別食品の分析結果に従ってなんらかの判定及びそれに伴う行政措置が執られる場合があることも推測された。

1.-4)設問 4-1「採取するサンプルの個数が決められているか。またどのように決められているか」

設問 4-1 では、サンプル数の規定

の有無及び規定がある場合には、その決定要因について調査した。その結果、サンプル数が「決められている」とした回答数が72件、「決められていない」とした回答数が21件であった。サンプル数が規定されなければ、母平均の推定精度を評価し得ず、仮に得られた分析値に基づき判定がされても、その正しさには保証がない。決められていないとした回答数は設問3においてサンプリング対象を定めていないとした回答数とほぼ同数であった。しかし、サンプリング対象が定められていないと回答した22機関のうち、サンプル数も決められていないと回答した機関は8機関のみであった。また、設問3でサンプリング対象が個別食品のみに定められていると回答した39機関のうち6機関がサンプル数も決められていないと回答している。設問3と4-1への回答が上記2通りの組み合わせの機関では、「検査を目的としないため、サンプリング対象を定める必要も、サンプル数を決めることで推定の精度を保証する必要もない」と理解できる。逆の視点から見ると、サンプリング対象が定められていないのに抜き取るサンプル数は決められている、あるいは、個別食品がサンプリング対象であるのにサンプル数を決めていないと回答した機関がある。

設問4-1の設問文は、「1回のサンプリングあたりの採取する検体の個数は決められているか」とした。この「1回のサンプリング」が先のサンプリングの定義ではなく、「一施設への立ち入り」のように誤って解釈されている可能性は考えられる。また、ロットやコンサインメント以外に何らかの集団が想定されているのかも知れない。いずれにしても、これら回答の食い違いの背景に、サンプリングに対する理解の不十分さがあると考えられる。

抜き取るサンプル数が決められていると回答した72機関のうち、49機関が分析対象とサンプリング対象の組み合わせに応じて決定していると回答した。1回のサンプリングで採取するサンプルの数は、分析結果に基づく判定の誤りによって生産者と消費者が被るリスク(生産者危険と消費者危険)の兼ね合いを基本として決まり、どのような兼ね合いとするかに分析対象の母集団中で分布と毒性等のリスクが考慮される。これに対し、サンプル数ではなく、サンプル量を規定しているという回答が6件得られた。分析に必要な最小量をサンプル量として規定しているということであったが、母平均の推定精度はあくまでサンプル数で決まる。インクリメントとして抜き取る場合にも、規定し

た重量のインクリメントを、対象とする母集団から目的とした精度が得られる数を抜き取る。

1.-5) 設問 5 「分析結果に基づく判定について」

設問 5 では、分析結果に基づきどのような判定をしているのかについて質問した。検査でなければ判定をしないことになるが、全ての機関からは何らかを判定をしている旨、回答された。設問 1 に対し、実態調査のみをサンプリングの目的としていると回答した機関が 1 機関あったが、この機関においても実際には検査するためにサンプリングされていることが分かる。

「A. 一つのサンプルに由来する一つの分析値に基づき判定している」とした回答が 69 件、「B. 一つのサンプルを併行分析して得られた分析値の平均値に基づき判定している」とした回答が 31 件、「C. 複数のサンプルに由来する分析値の平均値に基づき判定している」とした回答が 7 件、「D. 複数のサンプルをそれぞれ併行分析し、得られた分析値を総合的に解析した後に判定している」とした回答が 5 件、「E. その他によって判定している」とした回答が 9 件であった。上記の通り、最も多かった回答は A であった。ここで言う「一つのサンプル(検体)」が、「複数のサンプルを混合・均一化した単一の分析試料」だと回答者

に理解されたとすれば、このような試料を調製することにより母集団中の分布に関する情報は得られなくなる。しかし、先述の通り通知等を含む多くの規格に示されたサンプリング手順の代表例でもある。特に甚大な健康危害を生じる事が知られる化合物等が分析対象でない限り、労力やコストの低減のためには採用せざるを得ない手法であると言える。また、一回しか分析を行わない場合には、分析による測定値のばらつきを考慮できないため、そのような手順を前提とするのであれば、あらかじめ分析法の精度が明らかにされていることが望ましい。また、A と回答した機関のうち 28 機関は、A の分析値をまず確認し、規格基準への不適合が疑われる場合には、B～D あるいはそれに準じた手順を経て得られた分析値に基づき最終判定すると回答している。数多くの食品を監視し、その一方で不適合判定の正当性を担保するための取り組みと理解され、行政上求められている検査の手順としては実際的なものと考えられる。一方、A のみの判定とした場合、その正しさは保証できない。

1.-6) 設問 5 「分析結果に基づく判定について」

設問 6 では、判定結果に基づき講じられる措置について質問した。

その結果、「A. 製造業者への注意」

とした回答が 76 件、「B. 製造業者への自主回収勧告」とした回答が 54 件、「C. 当該製品の回収指示(命令)」とした回答が 57 件、「D. 該製品を含むロットもしくはコンサインメントの回収指示(命令)」とした回答が 71 件、「E. 当該ロットもしくはコンサインメントを含む違反が疑われる全ロットもしくは全コンサインメントの回収指示(命令)」とした回答が 30 件、「F. その他」とした回答が 15 件であった。

回答数からは、命じられた事業者等に大きな経済的損失を強いる措置がとられる場合が少なくない事が分かる。多くの回答者は複数回答をしており、分析対象による健康危害への影響等を考慮し、A～E の措置を段階的に命じていることも推測される。D 及び E の措置が疑義なく実行されるためには、母集団の特性が規格に適合していないという判定が十分に正当でなければならない。その正当性の科学的根拠として、適切なサンプリング計画・手順に従って採取されたサンプルから適切に調製した分析試料を、分析精度を考慮した繰り返し回数で分析して得られる、母平均のよりよい推定値となり得る分析値を得ることが不可欠である。

2. 渡邊分担研究 2

2.-1) 分析法の性能評価結果

実際の試料を分析する前提として、

分析法の性能が評価されていることが重要である。そこで本研究では、分析法の性能を評価することを目的とした試験を、別途計画し、事前に実施した。

本研究で実施した性能評価試験では、硝酸塩の濃度が低いことを明らかにしたうえで、トマトとアスパラガスをコントロール試料として選定し、そこに規定量の硝酸塩を添加し、性能評価用試料として用いることとした。添加濃度としては、試料重量あたりの濃度として 200 及び 1000 ppm を設定し、本濃度域での精度と真度の妥当性を判断した。

1 日あたり、コントロール試料並びに各濃度の添加試料を 2 検体ずつ、計 6 検体を併行して分析し、この分析を 5 日間実施した。得られた測定値を解析し、回収率並びに精度を推定した。各濃度のトマト及びアスパラガス試料を通じて、回収率は 97.6-102.4%、併行精度及び室内精度はそれぞれ相対標準偏差として 0.4-1.3% 及び 0.8-1.5% であった。使用した生鮮野菜の種類によることなく、回収率、併行精度並びに室内精度ともに、一般的な理化学分析に要求される性能評価基準を満たしており、信頼性の高い測定値を得るための分析が可能であると判断した。

2.-2) 各生鮮野菜中の硝酸塩濃

度の測定結果(概要)

生鮮野菜の種類を問わず、同一の個別サンプルから採取した2つの分析ポーションから得られた測定値はよく一致した。これら2つのポーション間での測定値の差から推定される分析の併行精度が個別サンプル間での測定値の変動に比べ明らかに小さいことを確認したうえで、2つのポーションでの測定値の平均値(個別サンプル代表値)及びばらつきを算出した。

2.-3) ダイコン葉中の硝酸塩濃度の測定結果

ダイコン葉中の硝酸塩濃度の測定結果は、個別サンプル代表値の平均値が、1回目のサンプリングで4214 ppm、2回目のサンプリングで5011 ppmであり、分析に供した全生鮮野菜を通じ最も高いことが明らかとなった。また、サンプリング回ごとの個別サンプル代表値の変動(相対標準偏差;RSD)は17.4及び15.5%であった。一方、2つの分析ポーションの測定値はよく一致しており、分析手順による測定値への影響は分析法の性能評価結果から予測される大きさと同程度であると予測された。また、ダイコン葉中の硝酸塩濃度は、EUにおいてハウレンソウに定められている基準値(3000 mg/kg; 10月~3月期)と仮に比較すると、その値を超過していた。

1回目のサンプリングで採取した一次サンプル(n=8)から調製したコンポジットサンプルでの測定値は、分析ポーションAについて4449 ppm、分析ポーションBについて4414 ppmであった。また、2回目のサンプリングにより得られたコンポジットサンプルでの測定値は、分析ポーションAについて5093 ppm、分析ポーションBについて4924 ppmであった。2回のサンプリングを通じ、個別サンプル代表値の平均値と、対応する一次サンプルの一部を採取して調製したコンポジットサンプルの2つの分析ポーションから得られた測定値がよく一致している。これらの結果は、分析に供したダイコン葉中での硝酸塩濃度の均一性が高い事を示唆しており、二つの分析ポーションの測定値に比べ個別サンプル代表値の変動が大きい結果によっても支持される。つまり、少なくともダイコン葉中の硝酸塩濃度を測定する場合には、同一試料からの分析を繰り返すよりはむしろ、多数の個別サンプルの分析を行った方が、より対象母集団中での硝酸塩濃度の平均を正確に推定できるものと考えられる。

2.-4) ダイコン根中の硝酸塩濃度の測定結果

ダイコン根中の硝酸塩濃度の測定結果は、個別サンプル代表値の平均値

が、1回目のサンプリングで2228 ppm、2回目のサンプリングで2755 ppmであり、それぞれのRSDは15.3及び11.1%であった。1回目のサンプリングで調製したコンポジットサンプルでの測定値は、分析ポーションAについて2096 ppm、分析ポーションBについて2128 ppmであった。また、2回目のサンプリングにより得られたコンポジットサンプルでの測定値は、分析ポーションAについて2724 ppm、分析ポーションBについて2614 ppmであった。個別サンプル間での硝酸塩濃度の測定値はダイコン葉中と同程度の変動を示した。また、2回のサンプリングを通じ、個別サンプル代表値の平均値と、対応する一次サンプルの一部を採取して調製したコンポジットサンプルの2つの分析ポーションから得られた測定値もよく一致した。

いずれも食することが可能な部位として、ダイコンの葉と根を区別し、部位ごとの硝酸塩濃度を測定した。その結果からは、根に比べ葉中での硝酸塩濃度が2倍程度高い事が明らかとなった。これは同重量の葉と根を摂食すると仮定すれば摂取される硝酸塩の量は、2倍異なることを意味している。サンプリング手順の観点から言えば、ダイコンの全体のうちに明らかに硝酸塩濃度の異なる部位が存在することから、これらを十分に混合均一化

しない限り、分析試料中での濃度が不均一となり、硝酸塩濃度の正確な推定値を得ることが難しくなると予測される。いずれにせよ、部位別に分析する限り、サンプリングの不確かさを推定するために必要となる個別サンプル間での濃度の分布並びに分析の併行精度に対する分析試料の均一性の寄与は低い。

2.-5) ホウレンソウ中の硝酸塩濃度の測定結果

ホウレンソウ中の硝酸塩濃度の測定結果は、個別サンプル代表値の平均値が、1回目のサンプリングで1271 ppm、2回目のサンプリングで1172 ppmであり、それぞれのRSDは27.4及び24.0%であった。一方で、1回目のサンプリングで調製したコンポジットサンプルでの測定値は、分析ポーションAについて1339 ppm、分析ポーションBについて1337 ppmであった。また、2回目のサンプリングにおいて調製したコンポジットサンプルでの測定値は、分析ポーションAについて1186 ppm、分析ポーションBについて1198 ppmであった。上記のとおり、個別サンプル間での硝酸塩濃度の測定値は、ダイコンの場合に比べ大きな変動を示した。また、個別サンプル代表値の平均値と対応するコンポジットサンプルでの測定値とは、2回のサンプリングを通じてよく一致

した。

2.-6) キャベツ中の硝酸塩濃度の測定結果

キャベツ中の硝酸塩濃度の測定結果は、個別サンプル代表値の平均値が、1回目のサンプリングで1264 ppm、2回目のサンプリングで1263 ppmであり、それぞれのRSDは23.7及び16.3%であった。一方で、1回目のサンプリングで調製したコンポジットサンプルでの測定値は、分析ポーション A について1271 ppm、分析ポーション B について1267 ppmであった。また、2回目のサンプリングにおいて調製したコンポジットサンプルでの測定値は、分析ポーション A について1374 ppm、分析ポーション B について1382 ppmであった。上記のとおり、個別サンプル代表値の平均値及び個別サンプル間での測定値のばらつきの程度は、ホウレンソウの場合と非常によく似ていた。個別サンプル代表値の平均値と対応するコンポジットサンプルでの測定値とは、2回のサンプリングを通じてよく一致した。

2.-7) ハクサイ中の硝酸塩濃度の測定結果

ハクサイ中の硝酸塩濃度の測定結果は、個別サンプル代表値の平均値が、1回目のサンプリングで1678 ppm、2回目のサンプリングで1829 ppmであり、それぞれのRSDは

17.1 及び 10.9%であった。一方で、1回目のサンプリングで調製したコンポジットサンプルでの測定値は、分析ポーション A について1534 ppm、分析ポーション B について1513 ppmであった。また、2回目のサンプリングにおいて調製したコンポジットサンプルでの測定値は、分析ポーション A について1598 ppm、分析ポーション B について1589 ppmであった。上記のとおり、個別サンプル代表値の平均値は、ダイコン程ではないが、ホウレンソウやキャベツに比べると若干高めである一方で、個別サンプル間の測定値のばらつきは小さかった。個別サンプル代表値の平均値と対応するコンポジットサンプルでの測定値とは、2回のサンプリングを通じてよく一致した。

2.-8) ナス中の硝酸塩濃度の測定結果

ナス中の硝酸塩濃度の測定結果は、個別サンプル代表値の平均値が、1回目のサンプリングで371 ppm、2回目のサンプリングで404 ppmであり、本研究で対象とした生鮮野菜中最低であった。またそれぞれのRSDは11.6及び11.1%でありハクサイで得られた結果に近かった。一方で、1回目のサンプリングで調製したコンポジットサンプルでの測定値は、分析ポーション A について369 ppm、

分析ポーション B について 368 ppm であつた。また、2 回目のサンプリングにおいて調製したコンポジットサンプルでの測定値は、分析ポーション A について 410 ppm、分析ポーション B について 407 ppm であり、それぞれ対応する個別サンプル測定値の平均値と非常に近い結果となつた。

2.-9) 測定結果の統計解析

全ての生鮮野菜を通じて分析手順による測定値のばらつきへの影響は小さくまた、それに比較すると個別サンプル間で硝酸塩濃度は広い範囲に分布しているが、同一のサンプリング手順を繰り返し実行する事で得られる測定結果の一致の程度は高いと考えられた。これらの結果についてより詳細を明らかにすることを目的に、統計解析を実施した。まず、分析により生じたばらつきの大きさ(併行精度)、個々の個別サンプルに含まれる硝酸塩濃度の変動(サンプル間のばらつき)の大きさ及び、測定値に含まれる全ての変動の大きさ(総標準偏差)について推定するため、一元配置の分散分析を行った。1 回目と 2 回目のサンプリングごとに得られた $n=16$ の測定値(個別サンプル 8x 分析ポーション 2)を一組のデータセットとし分散分析を行い、得られた分散に基づき算出された併行精度(RSD)は約 0.8~2.3%の範囲にあるのに対し、サンプル間の変

動(RSD)は 10.9~27.4%のより大きな値となつた。また総標準偏差に占めるサンプル間の変動の寄与が非常に大きいことも明らかとなつた。併行精度の大きさについては、トマト及びアスパラガスに規定量の硝酸塩を添加した試料を用いて実施した、性能評価試験の結果から推定される併行及び室内精度によく一致している。性能評価試験の際に添加した硝酸塩濃度と個別サンプルに含まれていた硝酸塩濃度との差や、同一試料を複数繰り返し分析した結果から推定された精度であるか、複数の個別試料を分析した結果から推定された精度であるかの違いを考慮すると、本研究で採用した分析法は生鮮野菜の種を問わず広く適用可能な、ばらつきの小さい方法であると言える。

以上の結果に基づき、サンプル間の変動に比べ併行精度が十分に小さいと判断し、個別サンプルのそれぞれについて採取した、2つの分析ポーションから得られた測定値の平均値を当該個別サンプルの代表値(個別サンプル代表値)とし、2回のサンプリング間で得られる測定値の平均に有意差が認められるかについて検定を行った。まず、1回目と2回目のサンプリングごとに得られた $n=8$ の個別サンプル代表値の分散に差があるかを検定(F検定)し、全ての代表値について等分

散が確認された。この結果から、2回のサンプリング間で得られた個別サンプル代表値の分散は等しいと仮定し、Student's t 検定により平均値の差を検定した。その結果、ダイコンの葉から得られた個別サンプル代表値の検定結果についてのみ P 値が 0.05 を下回り(0.006)、2回のサンプリングで得られた平均値の差に有意の差があると考えられた。この結果は、サンプリングを繰り返し実行することにより得られる測定値が有意に異なる可能性が高いことを示唆するものであるが、ダイコンの葉についてのみ、そのような結果となった原因は特定できない。サンプリングの観点から考察すれば、ダイコンから得られた結果は、葉に関する2回の繰り返しサンプリング並びに葉と根という異なる部位のサンプリングの両方が、特定の母集団中での濃度の分布が均一ではなく、異なる平均値を持つ分布が混在した状態を想像させる。そのような場合にはランダムサンプリングを実行したにせよ、抜き取られるサンプル数が十分に大きくなければサンプリングごとに推定される平均値の差が均一な分布からのサンプリングに比べ大きくなり、サンプリング計画の策定上、留意しなければならないケースだと考えられる。

ダイコンを除くその他の生鮮野菜

については、繰り返しサンプリング間で得られた測定値の平均に有意な差は認められなかった。つまり、本研究で採用したサンプリング計画に従って同一の集団(圃場)から複数回サンプリングを行って得られる測定値の平均に差が生じる可能性が非常に低いことが確認された。言い換えれば、今回の計画は圃場での硝酸塩の分布を反映した代表性のあるサンプルを偏ることなく繰り返し採取することの可能な適切な計画であったといえる。

2.-10) 不確かさの推定

生鮮野菜ごとに硝酸塩濃度の測定におけるサンプリングの不確かさを推定した。推定の前段階として、まず、16の一次サンプルに対応する個別サンプルから分析ポーションを2つつ採取し得られた測定値(n=32)をデータセットとして一元配置の分散分析を行った。次いで、分散分析の結果から、分析の併行精度並びにサンプル間での硝酸塩濃度の変動を推定した。推定されたサンプル間での硝酸塩濃度の変動を、母集団(圃場)中の硝酸塩濃度分布の標準偏差と仮定した。サンプリングの不確かさ推定の際には、分析精度は一定として不確かさに含めるものとし、サンプルサイズを3、5、10、16と変更した場合の影響についても検討した。

まず、全ての生鮮野菜を通じて、サンプルサイズの増加に伴いサンプリングの不確かさが小さくなることがわかる。これは中心極限定理に従い、母平均推定値の分散がサンプルサイズの増加に伴って小さくなるためである。また、サンプルサイズが3の場合でも、サンプリングの不確かさ(RSD)はハウレンソウについて推定された14.7%が最大であり、これは昨年度報告したサンプルサイズを16と仮定して推定される残留レベルの農薬測定におけるサンプリングの不確かさの最も小さな幅(16.5%)とほぼ同等の結果である。この結果は、分析対象とする物質の濃度とその存在様式の違いを反映したものと考える。昨年度報告した個別サンプル測定値の平均とコンジットサンプル測定値が乖離するという結果からは、農薬類は個別の生鮮野菜の個体中に一様の濃度で残留しているわけではなく、散布されたときに付着しやすい箇所あるいは、雨風等の環境による影響を受けにくい箇所等に高い濃度で存在することが強く示唆される。これに対し、硝酸塩は植物性食品に幅広く含まれ、植物種あるいは葉と根といった生理学上区別される器官によって濃度の平均が異なる可能性は否定できないものの、分布の幅は狭く、個体差も生じにくいものと考えられる。このよう

に分析対象とする物質の濃度やアイテム中での局在、また母集団中での分布に関する情報を得て、分析の目的と合わせて総合的に評価する事が適切なサンプリング計画の策定には必要となる。

また測定値には、サンプリングの不確かさと同時に、対象物質の抽出、分離、計測といった分析行為に起因する不確かさ(測定の不確かさ)が含まれている。この測定の不確かさに比べ、サンプリングの不確かさを小さくすること(サンプリングサイズを大きくすること)は、労力やコストの点から現実的ではない。そのため、測定の不確かさを推定し、これを指標にサンプリングの不確かさを評価する事でサンプリング計画の適正を諮る事が有効な手段になりうると考える。測定の不確かさを推定するために一般的に用いられる Thompson 修正式により、本研究で得られた測定値に対応する濃度レベルである 1000 ppm での拡張不確かさ(包含係数 2)を推定すると 8%となる。この測定値の拡張不確かさと同等の不確かさを与えるサンプルサイズは約 5~10 であり、ナスのように生鮮野菜の種類によっては 3 でも十分な場合もある。さらに言えば、本研究で推定しているサンプリングの不確かさには寄与は小さいものの一定の分析精度を含めているため、よ