

大きいことが明らかとなった。デオキシニバレノールは、フザリウム属のカビが産生するトリコテセン系のカビ毒であり、その試料中濃度は、菌の繁殖の程度やデオキシニバレノール産生能に依存するものと考えられる。そのため、4つのロット間で、デオキシニバレノール産生菌の繁殖の程度あるいはデオキシニバレノール産生能が異なっていた可能性が示唆される。しかし、当該菌の繁殖や当該菌によるデオキシニバレノール産生能は、天候等の気象条件や、作物の生育の程度にも依ると考察されることから、異なる大麦あるいは小麦品種、さらには異なる圃場で育成されたそれら作物についても、同様の結果が得られることを意味するものではない。一方で、4つのロットを通じて、試験室試料間のデオキシニバレノール濃度の変動は、ソーセージ中のアセスルフアム K 並びに亜硝酸ナトリウム及び、ハム中のアセスルフアム k 濃度の変動に比べ、明らかに大きい。このことから、管理生産される加工食品中に意図して添加される化学物質濃度のロット内変動に比べ、圃場等で生産される全ての穀物といったロット中でのデオキシニバレノール濃

度は、より大きく変動することが示唆される。

#### C.D.2-2. 測定結果の統計解析

##### ・アセスルフアム K 及び亜硝酸ナトリウム濃度の統計解析

本研究で得たアセスルフアム K あるいは亜硝酸ナトリウムの全測定結果を対象に統計解析を実施することにより、測定値に含まれている分析に起因するばらつきと、そもそも試料に含まれている化学物質濃度の変動を分離し、明らかにすることを試みた。

まず、分析により生じたばらつきの大きさ(併行精度)、個々の試験室試料に含まれるアセスルフアム K 並びに亜硝酸ナトリウム濃度の変動(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)を推定するため、一元配置の分散分析を行った。20の試験室試料を2併行分析することで得られた  $n=40$  の測定値を一組のデータセットとして分散分析を行った。分散分析により算出された分散に基づき推定した併行精度、サンプル間の変動、総標準偏差を SD 並びに RSD として推定した。その結果、ソーセージ中のアセスルフアム K の分

析精度(RSD)は 6.3%であり、サンプル間での濃度のばらつき(6.6%)とほぼ変わらない推定値であったが、この結果を除き、残る 3 つの食品と食品添加物との組み合わせを通じて、併行精度はサンプル間でのばらつきに比べて十分に小さかった。具体的には、残る 3 つの組み合わせを通じての併行精度は 2.7~4.6%の範囲にあるのに対し、サンプル間でのばらつきは 10.5~45.7%であると推定された。また、総標準偏差は、併行精度とサンプル間でのばらつきを分散として合成し推定しているため明らかであるが、サンプル間でのばらつきの寄与が大きい。特にハム試料間濃度の変動は極めて大きく、総標準偏差への寄与は極めて高い。測定値を散布図としてプロットし解析した結果についても考察したが、上記の分散分析の結果からも、本研究で得られたアセスルファム K と亜硝酸ナトリウム測定値のばらつきの主たる要因は、試料間での濃度の変動であることが明らかとなった。

#### ・デオキシニバレノール濃度の統計解析

本研究で得たデオキシニバレノールの全測定結果を対象に分散分

析を実施し併行精度、サンプル間のばらつき、及び総標準偏差の推定を試みた。分散分析では、50 の試験室試料を 2 併行分析することで得られた  $n=100$  の測定値を一組のデータセットとして取り扱った。4 つのロットを通じ、デオキシニバレノールの分析精度(RSD)は 5.3~10.5%と推定された。また、サンプル間のばらつきは 17.7~33.4%、総標準偏差は 18.7~33.8%と推定された。最も大きな併行精度は、小麦の一品種であるトワイズミから得られた測定値に基づき推定された。トワイズミ中のデオキシニバレノール濃度は、試験室試料代表値の平均値として 0.93  $\mu\text{g/g}$  と推定され、分析法として用いた ELISA 法の定量限界付近の濃度である可能性も考えられる。つまり、ELISA 法の基本的な性能として、精度良く分析可能な物質の最低濃度に近い濃度の分析を試みた事による併行精度への影響が考えられる。同じくトワイズミのロットを対象としたサンプル間のばらつきは 25.6%と推定され、27.7%と推定された総標準偏差に対して支配的であると考えられる。サンプル間のばらつきが総標準偏差に対して支配的であることは、

他のロットについても同様である。具体的には、大麦の総標準偏差が33.8%であるのに対しサンプル間のばらつきは33.4%、ミナミノカオリの総標準偏差が20.0%であるのに対しサンプルのばらつきは18.7%、農林61号ロットの総標準偏差が18.7%であるの対しのばらつきは17.7%である。つまり、ロットによらず、デオキシニバレノール濃度の測定値のばらつきの主たる要因は、試料間での濃度の変動であると言える。

#### C.D.2-3. 不確かさの推定

##### ・食肉加工食品中のアセスルファムKあるいは亜硝酸ナトリウム濃度の不確かさの推定

分散分析により、測定値に含まれるばらつきの要因を分析の併行精度と試料間での化学物質濃度の変動に分離し、それぞれの大きさを推定した。推定された試料間での化学物質濃度の変動を、1製造ロット中の化学物質濃度分布の標準偏差(母標準偏差)として仮定した。また、食品と化学物質との組み合わせごとに得た $n=20$ の試験室代表値の平均値を、1製造ロット中の化学物質濃度の平均(母平均)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、食肉製品と食品添加物との組み合わせによらず、サンプルサイズの増加に伴いサンプリングの不確かさ(SDあるいはRSD)は小さくなった。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、ソーセージ中のアセスルファムK並びに亜硝酸ナトリウム、及びハム中のアセスルファムK濃度のサンプリングの不確かさ(RSD)は7.6%が最大であり、これは昨年度報告したサンプルサイズを3と仮定して推定される生鮮野菜の成分である亜硝酸塩濃度のサンプリングの不確かさに比べてもより小さな値である。また、上記食肉加工品中での各食品添加物の濃度は、生鮮野菜中に含まれる亜硝酸塩濃度の50~100分の1程度である。母平均と母分散は独立しているが、サンプリングの不確かさ推定値に一定の寄与を考慮している分析精度は、濃度の関数となることが経験的に示されている。このこ

とを考慮しても、製造管理された加工食品中に意図して添加される化学物質濃度の分散は小さいといえる。さらに、規格値等への適合判定を想定し、サンプリングの不確かさが判定の正しさにどの程度の影響を与えるかについて考察するため、サンプリングの不確かさを考慮した場合に母平均が存在すると推定される範囲を、最小と最大の濃度により示した。ソーセージ中のアセスルファム K 濃度の母平均が 8.62 ng/g であるのに対し、母平均が存在すると推定される範囲は 8.0~9.3 ng/g、同じくソーセージ中の亜硝酸ナトリウム濃度の母平均が 20.58 ng/g であるのに対し、母平均が存在すると推定される範囲は 19.0~22.1 ng/g である。また、ハム中のアセスルファム K 濃度の母平均が 17.27 ng/g であるのに対し、母平均が存在すると推定される範囲は 16.0~18.6 ng/g である。いずれも併行分析数を 3 とした場合の推定であるが、母平均と推定範囲の乖離は小さく、判定を誤る頻度は低いものと想像される。このように、適合判定される場合を想定しても、正しく製造管理されている加工食品については、極めて微量に残留

する農薬等、天然汚染物質また季節変動する食品成分などに比べ、より小さなサンプルサイズであっても、十分な確度で判定可能な分析結果が得られることが示唆される。一方で、ハム中の亜硝酸ナトリウムについては、他の食肉加工品中の食品添加物と同程度までサンプリングの不確かさを小さくするためには、サンプルサイズを 16 程度まで大きくする必要がある。また、サンプルサイズを 3 にした場合のサンプリングの不確かさは 26.6%、10.38 µg/g を母平均とするのに対し、母平均が存在すると推定される範囲は 14.5~20.0 ng/g である。しかし、必ずしもサンプルサイズを大きくし、サンプリングの不確かさを小さくしなければならないわけではない。仮に、ハム中の亜硝酸ナトリウムの成分規格が上限値として 50 ng/g として設定されていたとするならば、サンプルサイズを 3 としてサンプリングの不確かさを考慮した分析結果に基づき判定しても、規格に適合していることは誤りなく判定することができる。つまり、設定されている規格値等に対して、誤りのない判定をするために必要とされる分析値の信頼性は変わりうるものであり、それを満

たすサンプリング計画であれば、性能に問題は無いと考えられる。しかし、本研究でも明らかになったとおり、サンプリング計画の性能に問題がないことを証明するためにも、対象母集団の分布特性をあらかじめ把握しておくことは不可欠である。

#### ・大麦あるいは小麦中のデオキシニバレノール濃度の不確かさの推定

デオキシニバレノール濃度の測定値に含まれるばらつき要因を分離し、併行精度と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でのデオキシニバレノール濃度の変動を、1つの汚染圃場から採取され袋詰めされた大麦あるいは小麦(ロット)中のデオキシニバレノール濃度分布の母標準偏差として仮定した。また、ロットごとに得られた  $n=50$  の試験室代表値の平均値を、当該ロット中のデオキシニバレノール濃度の母平均と仮定した。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、中心極限定理により、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。

サンプルサイズが3の場合のサンプリングの不確かさは、大麦に対する20.0%が最大であった。その大きさは、昨年度報告したハウレンソウ中での亜硝酸塩濃度のサンプリング不確かさ(14.7%、サンプルサイズは3)に近い。さらに、母平均が比較的低濃度であるため、相対標準偏差とした場合には大きい値として算出されるが、標準偏差とした場合には、最大であった大麦においても、0.6 ng/gがサンプリングの不確かさとなる。同じくサンプルサイズを3とした場合に推定される、サンプリングの不確かさを考慮した母平均の存在範囲は、大麦中の母平均が2.97  $\mu\text{g/g}$  であるのに対し2.37~3.56  $\mu\text{g/g}$ 、トワイズミの母平均が0.93  $\mu\text{g/g}$  であるのに対し0.76~1.09  $\mu\text{g/g}$ 、ミナミノカオリの母平均が3.77  $\mu\text{g/g}$  であるのに対し3.28~4.26  $\mu\text{g/g}$ 、農林61号の母平均が1.63  $\mu\text{g/g}$  であるのに対し1.44~1.83  $\mu\text{g/g}$ と推定される。サンプルサイズを16と仮定した場合の母平均の存在範囲は、大麦について2.67~3.26  $\mu\text{g/g}$ 、トワイズミについて0.81~1.04  $\mu\text{g/g}$ 、ミナミノカオリについて3.45~4.09  $\mu\text{g/g}$ 、農林61号について1.51~1.75  $\mu\text{g/g}$  である。

サンプルサイズの増加に伴い、母平均が存在すると推定される範囲はより狭くなるが、その幅は小さく、サンプルサイズの増加に伴い増加する分析労力に見合うだけの効果は得られないとも言える。また、この推定は母集団の分布型に正規分布を仮定して行われていることに注意が必要である。デオキシニバレノール等カビ毒のロット内の分布は、その生産菌の分布に依存して局在することが言われており、母集団の分布型は正規分布とならないことも予想される。正規分布を仮定しランダムサンプリングを実行するのであれば、当課題で推定したサンプリングの不確かさを指標に、設定される規格値や判定の確からしさを勘案して、より小さいサンプルサイズを決定することもできる。しかし、ロット内に複数の分布が混在する、あるいは母平均を中心とする母分散が左右対称とならないのであれば、その影響はサンプリングの不確かさに現れることになる。従って、母集団の分布型に応じたサンプリング計画を策定しなければ、同じ信頼性を担保し得ない。

### 3. 塚越分担研究

#### C.D.3-1. ロットサイズとサンプルサイズとの相関解析

ロットサイズによって、サンプルサイズは変化する。このときにどのような関係があるのかを調べた。最初に、米国連邦規則集 50 章にあるサンプリング計画について調査を行った。まず、図 1-1 に CFR50 に示されたロットサイズとサンプルサイズの関係を近似する関数型として、実際のロットサイズとサンプルサイズの関係を検討した結果、累乗近似がもっとも当てはまりがよかったので、累乗近似を用いて解析を行うこととした。以後、累乗近似  $y=ax^b$  のうち、べき項である  $b$  の値をさらに詳細にみてることとした。CFR50 では、ロットサイズによって、サンプリング計画が異なり、その段階は、以下の 5 つのカテゴリに分かれている。

- 1) No.300(15.22oz)以下
- 2) No.300 を超え No.3(23.9 oz)以下
- 3) No.3 を超え、No.12 以下
- 4) No.12 を超え、5 ガロン以下
- 5) 5 ガロンを超える

これら 5 つのランクそれぞれについて、そのロットサイズとサンプルサイズの関係のべきの値を調べてみると、いず

れでもほぼ 0.5 となっている。このことから、サンプルサイズは容器の大きさに拘わらずロットの 2 乗根に比例するように決められている様子が分かる。その上で、サンプルサイズに下限と上限が置かれている。また、昨年度調べた植物防疫についても同様にべき項を調べてみたところ、先ほどの 0.5 より小さく、約半分の 0.25 前後であった。すなわち、4 乗根に近い。さらに、食品衛生法におけるサンプリング法についても、サンプルサイズとロットサイズの関係と同様の手法を用いて調査したところ、やはりべき項は CFR50 と同様に約 0.5 となっていた。また、コーデックスのものも調べたところ、ほぼ 0.5 であることが分かった。また、EU によって定められているアフラトキシンサンプリングも、0.5 か、やや小さめになってほぼ同様となっている。以上のことから、既存のサンプリング計画では、サンプルサイズは、ロットサイズの平方根に一定の係数をかけたように定められていることが明らかになった。Codex の General Guidance on Sampling (CAC/GL 50-2004)においては、推定精度はロットサイズには影響されないが、サンプルサイズの 2 乗根に比例するよう

に採取することにも一理あるとされているが、多くのサンプリング計画においてそのような形で行われていることが明らかになった。

### C.D.3-2. 国内におけるサンプリング計画の検証

まずは、昨年度までに調査を行った国内のサンプリング計画についてその妥当性を探るため、その比較の基準として、EU のサンプリングについてその特性を検討した。

EU では、まず、Regulation (EC) No 333/2007 laying down methods of sampling and analysis for the official controls for the levels of lead, cadmium, mercury, inorganic tin, 3-MCPD and benzo(a)pyrene in foodstuffs [Official Journal L 88 du 29.3.2007] (食品中の鉛、カドミウム、水銀、無機スズ、3-MCPD、ベンゾピレンの水準を公的に管理するためのサンプリングと分析方法の制定)がある。ここでは、1)サンプリングが、権威づけられた人によって行われること、2)各ロットやサブロットは別々に採取されること、3)サンプリングでは、値が変動しないよう注意を払うこと、4)インクリメンタルサンプルは、出来る限り

ロット全体の様々な場所で採取されるべきこと、5)集合サンプルは、インクリメンタルサンプルを結合して作成すること、6)サンプルは均一化された集合サンプルから取り出すことなどが決められている。この場合にもサンプルサイズとロットサイズの間関係を見ると、ロットサイズが10倍で、サンプルサイズが約3倍なので、その関係はほぼ平方根の関係となっている。そのため、そのサンプルサイズとロットサイズの間関係のおおよその近似を求めると、ほぼべき値が0.5となる。ただし、実際のサンプリング計画では、ややべき乗曲線から逸脱しており、ロットの大きさが大きいときは1となり、ロットの大きさが小さいときは0に近くなる。サンプルの下処理に関しては、CENのものが紹介されているが、他のものでも良いかもしれないとしている。

次に、ダイオキシンに関しては別の規制で決められている。Commission Regulation (EC) No 1883/2006 of 19 December 2006 laying down methods of sampling and analysis for the official control of levels of dioxins and dioxin-type PCBs in certain foodstuffs [OJ L 364, 20.12.2006,

p. 32] (ある種の食品のダイオキシンや、ダイオキシン類のPCB水準の公的な管理のサンプリングと分析の規定)に示されている。及び、前に作成された、COMMISSION DIRECTIVE 2002/69/EC of 26 July 2002 laying down the sampling methods and the methods of analysis for the official control of dioxins and the determination of dioxin-like PCBs in foodstuffs を比べると、大きなロット(50トンを超える)場合には、いくつかのサブロットに分割するよう指示がある点が異なる。各サブロットについては、無機元素の場合と同様のものが使われているようである。ただし、液体の場合は、良くかき混ぜることが出来れば、3つのインクリメントを併せればよいものとされているようである。特に、魚はPCB調査において、そのPCB含有濃度の高さから重要な調査品目となり、精度の高い調査が必要になっている。そのため、魚についてはより詳細なサンプリングに関する指示がある。魚のサイズによってサンプリングが異なり、魚が小さい場合、(一匹1kg以下の場合)には、魚全体がサンプルとして採取さ



れる。集合サンプルの重さが 3 kg を超過する場合は、個別のサンプルは 100 g 以上の真ん中の部分を含んでも良い。最大値が当てはまる全ての部分が、サンプルの均一化において使用される。サンプルの中央とは、真ん中の部分を言う。また、魚の大きさが中くらいの場合(一匹 1 kg 以上)の場合には各個体から 100 g を取り出す。体長方向には中央で取り、腹から背骨にかけての切片を取る。魚が大きい場合(6 kg 以上)には、前から見て右側から、魚の中央部分から採取する。それが不可能な場合、350 g 以上の 3 つのインクリメントを採取すればいいとする。

硝酸については、COMMISSION REGULATION (EC) No 1882/2006 of 19 December 2006 laying down methods of sampling and analysis for the official control of the levels of nitrates in certain foodstuffs(食品中の硝酸の公的な管理のためのサンプリング及び分析の方法の制定)によって定められている。この中では、圃場の調査方法も示されており、3 ヘクタールを超える場合には、2 ヘクタールごとにサブロットに分割し、各サブロット

から 10 植物、集合サンプルとして 1 kg 以上を取ることにしている。また、圃場からの採取においては、その採取場所としてアルファベットの W あるいは X の様な形での採取が求められている。

マイコトキシンに関するサンプリングも重要である、特に、マイコトキシンではサンプリング誤差が大きいので、そのサンプリングは大変重要である。昨年度、穀物とイチジク以外の乾燥果実について調べた、Commission Regulation (EC) No 401/2006 of 23 February 2006 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in food [OJ L70 of 4.3.2006] (食品中のマイコトキシンの公的な管理のためのサンプリング及び分析の方法の制定)で定められているマイコトキシンのサンプリング計画ではこれまでの危害要因とはだいぶ異なる。この規制は、2010 年 3 月に、Codex による決定に沿うような形で以下の規制によって一部が置き換えられた COMMISSION REGULATION (EU) No 178/2010 of 2 March 2010 amending Regulation (EC)

No 401/2006 as regards groundnuts (peanuts), other oilseeds, tree nuts, apricot kernels, liquorice and vegetable oil(ピーナッツ、他の油種子、木の实、杏仁、甘草、植物油における修正)に示されている。ここでは、焙煎したコーヒー豆、焙煎コーヒー粉末、甘草抽出物については、変化はない。また、真空パックされた場合には、サンプルサイズは 25%に減少させている。また、小売り段階での調査では、なるべく代表性が高くなるような取り方をして、最低集合サンプルが 1 kg になるように採取することが示されている。ただし、サンプリング可能な部分が小さく、1 kg 集められない場合はそれ以下でも良いとしている。乾燥イチジクに対しては、15 トン以上のロットの場合には 300 g のインクリメントを 100 で、合計 30 kg のサンプルを収集するとしている。また、高価なサンプルで、一包装あたり 500 g や 1 kg の場合には、集合サンプルの重量が揃えば、インクリメントの数を減らして良いことになっている。

30 kg の集合サンプルは、すりつぶされて試験室サンプルになる前に 3 つに分けられ 10 kg にしてから試験

室サンプルが作成される。ただし、30 kg をそのまま混合できる場合には、そのまま 30 kg で試験室サンプルを作成しても良いことになっている。また、集合サンプルが 12 kg 未満の場合には、試験室サンプルへの分割を行わず、12 kg から 24 kg の場合には、2 つに分割し、24 kg 以上の場合は、3 つに分割するものとしている。次にこの規制で定められている対象食品は、粒子の大きさがとても小さい場合となっている。この場合には、乾燥イチジクよりも同一のロットサイズに対して多くのサンプルを集めている。この場合、括弧書きで分布が均一であると書かれており、サンプリング誤差が少ないためにこのような処置が執られていると考えられる。一方、粒子が大きい場合には、乾燥イチジクと同様にすると書かれている。また、真空パックの場合には、インクリメントの数を 50%に減らすと書かれており、粒子の小さい乾燥イチジクの場合には、インクリメントの数を 25%に減らすと書かれている。また、ロットの受け入れに対する判断も異なり、その後処理される乾燥イチジクに対しては、平均値でコントロールするが、そのまま食べられる場合には、全ての

サンプルが基準値を満たしていることが求められる。Codex に従うように変えられたピーナッツ、他の油種子、杏仁、及び木の実では、200 g のインクリメントを採取する。

植物油に関しては、ロットはサンプリング前に手動あるいは機械的によく混合することが求められている。その結果、均一になるので先ほどの穀物のサンプリングよりも少ないサンプリング(3 インクリメント、350 mL)で済むようになっている。3 つのインクリメントを混ぜるという点は、ダイオキシンの液体のサンプリングと同様となっている。

### C.D.3-3. サンプリング法の妥当性の検証

EU で実施されたサンプリング計画の明らかな分析結果について、保健・消費者保護総局(DG SANCO)による最近の分析結果を解析した。ヒスタミンの例では、ロット内でバラツキの大きい場合には10倍以上の開きがあることはざらとなっているが、バラツキが極めて少ない場合もある。ロットの特性によってこのバラツキの差が生じていることが考えられる。その分布は、おそらく正規分布をしていない。また大腸菌の分析結果もかな

り値がばらついている。一方の重金属に関しては、それほどサンプリングによる値のバラツキは大きくないことが多い。これは、魚類の場合では、海域によるえさや水質の汚染の影響が比較的大きな空間的広がりを持っているために、同一ロット内の変化が小さいことが多いことが考えられる。しかしながら、セネガルのクロカジキのように、一つだけ飛び抜けて濃度の高いものがあるが、そのほかは低い場合もある。このような場合も、おそらく正規分布ではなく、対数正規分布などが考えられる。しかし、アフラトキシンでは極めてバラツキが大きい。魚における水銀の調査結果としては、米国FDAが調査を纏めたものが存在する。  
(<http://www.fda.gov/food/foodsafety/product-specificinformation/seafeed/foodbornepathogenscontaminants/methylmercury/ucm115644.htm>～

これによれば、特に水銀が多い物として鮫があり、平均0.988 ppmのところ、351検体の標準偏差が0.631 ppmとなっている。さらにメカジキは平均0.976 ppmに対して、618検体の標準偏差が0.510 ppmとなっている。

これらは、同一のロットというよりも、異なるロットになっているが、一般的に異なるロットでの変動が大きいと、同一のロットでも変動が大きくなる。このほかに、ナマズでは、水銀の平均が0.049 ppm、標準偏差が0.084 ppm、鱈では平均0.095 ppm、標準偏差が0.080 ppm、カニでは平均0.060 ppm、標準偏差が0.112 ppmとなっており、相対標準偏差にして100%程の場合があることが分かる。

魚に関する成分調査法としては、水質の調査目的として、ISO23893-1(魚の生化学的及び生理学的測定—第一部:魚のサンプリング、サンプルの取り扱い及び保存)というものがあり、水質調査の目的ではあるが、サンプルサイズについても例が出ている。

#### 4. 松田分担研究

##### C.D.4-1. 穀類中のDON濃度分布

サンプルの2回分析の平均値をDON濃度とし、ヒストグラム解析を行った。大麦とミナミノカオリではし、ロット全体にDONが高濃度に存在しておりし、特に大麦ではサンプル間でのDON濃度が大きく変動していることが明らかとなった。また、大麦では

ロット全体のDON濃度がランダムに変動しているわけではなく、1-20サンプルではDON濃度が高く、20-40では低い傾向が見られた。トワイズミと農林一号のDON濃度は低く、変動も大麦ほどは大きくなかった。ヒストグラム解析の結果からも、大麦以外の3試料では、中心付近に最頻値があり、両端では頻度が少なくなる分布であったが、大麦では全体に頻度が同程度の分布を示した。

DON濃度の変動には、分析に伴う変動も含まれるため、50サンプル2回分析結果を、一元配置の分散分析で解析し、分析の併行精度とサンプル間の濃度の標準偏差に分解した。その結果、分析の併行精度は0.097~0.267 ppmの範囲にあり、RSDとしては5.3~10.5%の範囲であった。これに対して、サンプル間のDON濃度の標準偏差は、0.237~0.991 ppmの範囲にあった。測定値を俯瞰することからも予想されたとおり、大麦のサンプル間のDON濃度の変動は最も大きく、平均値に対する比として表すと33.4%であった。これに続いてトワイズミでのDON濃度のサンプル間変動が25.6%であった。

平成 20 年度に報告した、同一圃場から収穫した生鮮野菜に残留する農薬濃度のサンプル間の変動は 50%を超える場合も多く見られた。一方、硝酸塩濃度のサンプル間の変動は 20%以下であったことから、同一圃場内で DON 産生菌が発生した場合の、DON 濃度のサンプル間変動の程度は、残留農薬よりは小さく、植物体が産生する硝酸塩濃度に近い。今回の実験ではサンプリング点はロットとした袋の上から下に向かって、らせん状に等間隔に配置されている。DON の濃度に局在があるならば、特定のサンプリング点付近に高濃度が集中する、あるいはサンプリング点に近いサンプルでは濃度が同程度であるという現象がみられると予想された。大麦において、DON 濃度の分布がロット内で一様ではなく、サンプリング点に高濃度のグループと低濃度のグループが存在することが認められたが、他の 3 ロットではこのような明らかな傾向は認められなかった。そこで、ロット内でのサンプル濃度の関係をより明らかに示すために、自己相関を求めた。自己相関は、1 つの系列とそれを  $n$  個ずらした系列の間の相関関数である。系

列を  $\{a_1, a_2, a_3, \dots, a_n\}$  としたとき、 $\{a_1, a_2, a_3, \dots, a_{n-1}\}$  と  $\{a_2, a_3, a_4, \dots, a_n\}$  の相関は 1 次の自己相関と呼ばれる。自己相関は  $-1 \sim 1$  の値をとり、0 次の自己相関は当然 1 である。系列内で隣り合う要素が同じような値になる傾向が強くと、離れた要素とは異なる値となる場合には、1 次の相関関数は正の大きな値となる。また、系列内に周期性がありその周期が  $n$  であれば、 $n$  次の自己相関は正の大きな値となる。

自己相関は 1 つの系列をずらして計算されるため、計算に使用される数値の数は、 $n$  の増加と共に減少し、 $n=30$  では要素を 20 個含む 2 系、 $n=40$  では要素数が 10 個の 2 系列の相関となる。従って、相関係数の信頼性は  $n$  の増加と共に低下する。4 種のロット中、ミナミノカオリと農林 1 号から採取したサンプルの自己相関は、1-25 の  $n$  の範囲で  $-0.2 \sim 0.2$  の範囲の値となった。 $n$  が大きくなると正負の大きな値が見られるが、一定した傾向は認められない。一方、大麦の自己相関は、 $n$  が 2-5 の範囲で 0.4 程度の相関が見られた後に徐々に低下し、20 付近で  $-0.6$  という強い負の相関となり、再び上昇す

る傾向を示した。自己相関を解析した全 50 サンプル中、1-20 サンプルでは DON 濃度が高く、20-40 では低い傾向が見られ、長い周期の変動傾向がある。この周期は 40 であるので、その半分の  $n=20$  で強い負の相関が現れたと考えられる。系列が 50 よりも長ければ、 $n=40$  で強い正の相関が現れたと期待される。また、これは、2-5 の範囲での 0.4 程度の相関は、隣り合う 5 個程度のサンプルは同じような値となる傾向があることを示している。トワイズミの自己相関は、 $n=15$  付近に正の相関が現れ、その半分の 8 付近には負の相関が見られる。また、15 の 2 倍の 30 付近にも相関係数のピークが認められる。これは、周期長が 15 の周期性があることを示しており、ロットからのサンプリングが 15 を周期とするらせん状に行われたことから、袋の向かい側にあるサンプル間の濃度差は大きく、同じ側に縦に連なったサンプルの濃度は近いことが推測される。

以上の結果から、特に均一化処理をしないで採取した穀物ロット中のデオキシニバレノール汚染濃度は、周期的に変動する、あるいは高濃度部分と低濃度部分が明らかに区

別されるような分布を持つことが実証された。

#### C.D.4-2. ランダムサンプリングと非ランダムサンプリングのシミュレーション

サンプリング計画では、採取するサンプルの個数、あるいはインクリメントの大きさと個数が定められる。サンプリング計画に従って採取されたサンプル中濃度の平均値、あるいは不良率の信頼性は、サンプリング計画によって決まる。これには、ランダムサンプリングが行われているという前提条件が必要である。しかし、ランダムサンプリングでなければ、サンプルから得られる平均値の信頼性が、どのように変化するのかわかりかではない。ロット中でのアイテムの大きさが十分に小さく、アナライトの分布がロット中で均一であれば、ランダムではないサンプリングでも、ランダムサンプリングでも、得られたサンプル平均値は同じような分布を持つと予想される。

昨年度の研究では、ロット中のアナライト濃度の分布が均一ではない場合に、ランダムサンプリングを行った時のサンプル平均値の分布について検討した。ランダムサンプリングを行っても、少数のサンプルからの

平均値は正規分布とは異なる特異な分布を示した。本年度は、不均一な分布からランダムではないサンプリングを行った場合の、サンプル平均値の分布をシミュレーションで検討し、ランダムサンプリングと非ランダムサンプリングから得られるサンプル平均値を比較した。

非ランダムサンプリングのシミュレーションのために、以下のモデルを仮定した。

#### ・非ランダムサンプリングシミュレーション方法

1. 10 のロットから構成されるコンサイメントからのサンプリングを行う。
2. それぞれのロット内でのアナライトの分布は 1 つの正規分布に従っている。
3. 1 個目のサンプルはランダムに採取される(サンプルが採られる確率は、どのロットも 10%である)。
4. 2 個目以降のサンプルが採られるロットの確率は、1 つ前のサンプルが採られたロットに依存して変わる。1 つ前のロットと同じロットから採られる確率  $P_d$  を用いて、依存の程度を表す。 $P_d=10\%$  の場合は、前のサンプルによらず、全てのロットから等確率でサンプリングされるため、ランダム

サンプリングとなる。 $P_d=50\%$ であれば、前のサンプルと同じロットから採取される確率が 50%に上昇し、他のロットから採取される確率は  $50/90 = 5.55\cdots\%$ となる。 $P_d$  が大きいほど非ランダム性は高くなる。

5. ロット中の分布のモデルとして、平均 1.5 ppm、標準偏差 0.3 ppm の正規分布 A と平均 4.0 ppm 標準偏差 0.6 ppm の正規分布 B を仮定した。これらの分布は、大麦中の DON 濃度の分布を想定し仮定した。

6. 10 ロット中に占める分布 B の割合を 0-100%の範囲、 $P_d$  を 10-95%の範囲で変化させた。

7. サンプルは、1, 3, 5, 8, 10, 16 個を採取することを想定し、それぞれの個数の平均値の分布と統計量を出力とした。

8. シミュレーションの回数は 10000 とした。

#### ・シミュレーション結果

まず、正規分布 B のみが存在している、つまり均一な分布をしているコンサイメントから、ランダムサンプリングをした場合と、非ランダムサンプリングをした場合の、サンプル平均値の分布を比較した。ランダムサンプリングした場合の、サンプル平均の平

均値は、全てのサンプル数においてコンサインメントの平均値である 4.0 ppm と一致した。また、サンプル平均値の標準偏差はランダムサンプリングの理論に従い、16 サンプルを採取した場合は元のコンサインメントの標準偏差の 1/4 である 0.15 ppm となった。

Pd=50% 及び 90% の非ランダムサンプリングを設定して、同様のシミュレーションを行ったところ、サンプル平均の平均値は、全てのサンプル数においてコンサインメントの平均値である 4.0 ppm と一致した。また、サンプル平均値の標準偏差はランダムサンプリングの理論に従い、16 サンプルを採取した場合は元のコンサインメントの標準偏差の 1/4 である 0.15 ppm となった。

以上の結果から、ロット内のアナライトの分布が均一で正規分布に従っているならば、ランダムでないサンプリングをしても、サンプリングによるサンプル平均値の変動は、ランダムサンプリングした場合と変わらないことが、明らかとなった。

次に、分布 B の割合が 50% のコンサインメントを想定し、同様のシミュレーションを行った。その結果、サン

ル数が 3 では、3 つのピークが見られる複雑な形の分布を示すが、サンプル数が 8 個では単峰型の分布となった。Pd=50% としたシミュレーションの結果からは、サンプル 8 個を採取する場合、ランダムサンプリングでは、A と B から 4 個ずつのサンプルが採られる確率が高く、A からだけ 8 個採られる確率は非常に低くなるが、非ランダムサンプリングではこのようなサンプリングの確率が高くなるため、ランダムサンプリングのように、サンプル平均値の分布は狭くならないことが明らかとなった。Pd=90% としたシミュレーションの結果からは、A の分布から 8 サンプルが採取される確率は 47.8% あるため、8 サンプルの平均値も元の分布の形を保持することが示された。

このような非ランダムサンプリングを実施しても、サンプル平均値の分布の平均は、元のコンサインメント中の平均値を保持していた。一方、サンプル平均値の分布の SD はサンプリングの Pd により、異なる挙動を示した。Pd は 10% (ランダム) から 95% まで変化させた場合の、サンプル数とサンプル平均値の分布の SD の関係について解析した結果、元のコン



サインメントの SD は 1.33 ppm であるのに対し、ランダムサンプリングで 16 個採取したサンプル平均値の SD は 0.335 となった。これは、元の分布の SD の 1/4 であり、このような不均一な分布からのサンプリングでも、ランダムであればサンプル平均値の SD は、均一なロットと同様な変化を示した。しかし、サンプル数が小さい場合には、サンプル平均値の分布は正規分布とはならない。

PD=95%のランダム性がほとんどないサンプリングを行った場合、サンプル平均値の分布の標準偏差は、サンプル数の増加と共にわずかに小さくなり、16 サンプル平均値の SD が 1.1 ppm となった。これは、ランダムサンプリングの場合の平均値の標準偏差の 3 倍以上であり、多くのサンプルを採取したにも関わらず、サンプル平均値の分布はわずかしこ減少しない。

検査におけるサンプリング計画で、サンプル数が指定されるのは、サンプル平均値の分布を小さくすることにより、ロット平均値に基づいたロットの適合判定を誤る確率を低くする、つまり検査の信頼性を向上させるためである。分析値に伴う不確かさと

同じように、サンプル平均値の 95% が含まれる区間の幅を、サンプリングの信頼性の指標とすることを試みた。正規分布であれば、標準偏差に拡張係数 2 をかければこの 95% 区間の半値が求められるが、デオキシニバレノール濃度が正規分布するとは認められなかったため、シミュレーション結果からサンプル平均値の 95% が含まれる幅を求めた。その結果、得られた 95% 区間の半値は、SD の 2 倍よりはやや小さい値となった。16 個のサンプルを採取しても、サンプル平均値の 95% 区間は 1.39-4.22 ppm であり、元のコンサインメントの 95% 区間 1-5 ppm からわずかに狭くたっただけであった。

このコンサインメント中のアナライト濃度の平均は 2.75 ppm である。このアナライトの基準値が 4 ppm と仮定すれば、このコンサインメントは全体として規格に適合している。このコンサインメントから 1 サンプルを抜き取って検査したとき、合格となる確率は 75% である。ランダムサンプリングを行えば、3 サンプルの抜き取りでのロットの合格率は 94% に、8 サンプルの抜き取りでは 99% となる。一方、Pd=90% の非ランダムサンプリングを

行くと、3 サンプルの抜き取りでのロットの合格率は 77%、8 サンプルを抜き取っても 83%であり、誤判定する確率の減少はわずかであった。

## E. 結論

### 1. 渡邊分担研究 1

本研究では、法もしくは法に準じて規定される検査について整理し、その上で、関連するサンプリング計画と手順について考察した。いくつかの具体例も挙げたが、検査の実行においては、規定されるサンプリング計画と手順の適正な実行が不可欠であるというのが端的な結論である。またその一方で、法に関連する検査として、その実行が想定されるものの全てについて、サンプリング計画と手順が明確に示されているわけではない現実がある。そのことが、サンプリングの実行の妨げ、あるいは実行者間での齟齬を生じる原因の一つになりうる。また母集団の想定が困難あるいは想定した母集団から抜き取ることが可能なサンプル数が制限されるといった、特に国内流通段階における検査の実行上の問題点についても言及した。これらの問題を解決するためには、何を母集団として想定するかに関する一定の規則

や、実行可能なサンプリング計画を柔軟に策定もしくは選択するための方法、あるいは実行したサンプリングの内容から担保しうる判定の正当性を表現するための手法等を、サンプリングの対象によらず横断的に適用可能な内容として構築することが必要と考えられる。また、その一方で、規定のサンプリング計画が実行できない場合には、そもそも検査として成立しないということを明確に認識し、相応の行為のみ実行することも、上記の問題を解決するための一つの手段と考える。つまり、分析の結果が規格基準等への不適合を示唆している場合においても、規定のサンプリング計画の適切な実行によって採取・調製された試料由来の結果でなければ、検査に定められた措置をとるのではなく、法の理念に照らして国民の健康危害の抑止力として機能し、かつ結果に基づき合理的に説明可能な行為を措置として実行することについても検討する必要があると考える。

### 2. 渡邊分担研究 2

食肉加工品中の食品添加物濃度のサンプリングの不確かさは、製法の影響を受ける一部の結果を除き、サン

ルサイズが 3 の場合でも 7.4～7.6%(RSD)と推定され、正しく製造管理されている加工食品については、極めて微量に残留する農薬等や天然汚染物質また季節変動する食品成分などに比べ、より小さなサンプルサイズであっても、十分な確度で判定可能な分析結果が得られることが示唆された。穀類中のデオキシニバレノール濃度については、サンプルサイズが 3 の場合のサンプリングの不確かさが 11.8～20.0%と推定された。ただしこれは十分に多数のサンプルを系統的にロットから採取し得られた測定値に基づき、正規分布を仮定して推定された結果であり、実際の分布型の推定や、それを考慮したサンプリングの不確かさの推定方法についてさらに検討することが不可欠である。

### 3. 塚越分担研究

サンプルサイズとロットサイズの関係では、サンプルサイズがロットサイズによって変化する範囲の場合には、一部の例外はあるものの、ロットサイズの平方根によってサンプルサイズあるいはインクリメントの数を変更されている場合が多い。しかしながら一部に例があり、個別のケースによっ

て異なることが明らかになった。

### 4. 松田分担研究

2 つの分布を含むコンサインメントからのサンプリングのシミュレーションを行った。分布は実際のロット中の DON 濃度を参考にした。これまではランダムサンプリングを前提としたシミュレーションを行っていたが、今年度は非ランダムサンプリングをシミュレートした。その結果、ロットあるいはコンサインメント内で濃度分布が均一であれば、ランダムではないサンプリングであっても、ランダムサンプリングと同じ結果が得られた。

複数の分布があり、それぞれが局在しているようなコンサインメントから、非ランダムサンプリングをした場合、サンプル数を増加させても、サンプル平均値の標準偏差及び 95% 区間の減少は、ランダムサンプリングと比較して小さかった。この結果、判定を誤る確率も減少せず、多数のサンプルを採取しても検査の信頼性は向上しない結果となった。

以上の結果より、不均一な分布からのサンプリングではランダム性が重要であり、ランダムさが保証され

なければ、サンプルを多数採取する効果は得られないことが明らかとなった。

アフラトキシンのサンプリングでは、試料の採取量が重量で規定されている。これは、採取される粒数から決められているが、本シミュレーションの結果からは、サンプル数を大きくしても、ランダムサンプリングが行われなければ、検査の信頼性は向上しないと考えられる。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

渡邊敬浩、松田りえ子

「収去検査に伴うサンプリングの現状調査」

食品衛生研究,61(2), 19-30 (2011)

### 2. 学会発表

Yoshiki Tsukakoshi, Takahiro Watanabe ; Joint Statistical Meeting 2010, (2010年8月2日、カナダ、バンクーバー)

Yoshiki Tsukakoshi, Takahiro Watanabe ; The 73rd Annual Meeting

of the Institute for Mathematical (2010年8月9-13日、ヨーテボリ、スエーデン)

## H. 知的所有権の取得状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし