

より正確なあるいは、より効率的なサンプリング計画の策定も可能になる。

本研究では、規定したサンプリング計画に従ってサンプルを採取し、それらから得た測定値の分散から母集団中の測定対象物質の濃度の分布を仮定した。さらに仮定された分布型の母集団からのサンプリングに付随する不確かさの推定を試み、その大きさに対するサンプルの数(サンプルサイズ)の効果についても検討した。これまでに、圃場から直接採取した生鮮野菜に含まれる残留農薬、硝酸塩などについて検討を重ね、それらの分布が多様であることを明らかにし、さらにはサンプリングに起因する不確かさの推定方法を確立してきた。本年度は、生鮮野菜とは全く異なる特性を持つ食品として、生産管理された食肉加工品(ハム、ソーセージ)に意図して添加される化学物質(亜硝酸ナトリウムとアセスルファムk)に着目した。母集団とした1製造ロットから生産される製品を工場のラインから抜き取り、上記亜硝酸ナトリウムとアセスルファムKの母集団の分布を推定するとともに、サンプリングの不確かさの推定を試みた。さらに、意図する対象化学物質が生菌によって産生されるため、食品成分や、食品に

人為的に処理あるいは添加される化学物質とは異なる特性をもった母集団となることが予測された、穀類(小麦および大麦)中のデオキシニバレノール濃度についても検討した。

B. 研究方法

B-1. 試料

B-1-1. 生産管理された加工食品

ソーセージならびにハムを食肉加工品として選択した。いずれも食肉加工工場において通常市販される製品として製造された。

B-1-2. 汚染小麦および大麦

(独)農研機構・九州沖縄農研の実験圃場にて収穫され、25kgを容量として袋詰めされた汚染小麦3袋および汚染大麦1袋を入手し、使用した。汚染圃場から採取した小麦あるいは大麦は、一切の混合操作をせずに袋詰めし、袋内に汚染圃場中でのデオキシニバレノール濃度の分布が再現されるよう意図した。各袋に詰められた小麦あるいは大麦は、それぞれ異なる汚染圃場から採取した。なお小麦に関しては、トワイズミ、ミナミノカオリ、農林61号の3つの品種を各汚染圃場で栽培し、それぞれを採取し袋詰めしたものを試料とした。

B-2. サンプルング計画および手順

B-2-1. 食肉加工食品のサンプルング計画および手順

規定量の原材料を使用し、製造手順に決められた 1 製造単位を母集団(ロット)とした。ロットの全体を通じ、ベルトコンベアーにより運ばれる動的状態を利用し一定の間隔をもって、製品となる 20 包装単位を抜き取った。1 包装単位ごとに混合・均質化し、試験室試料とした。試験室試料から分析に必要な重量をはかり取り、分析用試料(分析ポーション)とした。分析ポーションは、分析に供するまでの間 -20°C で保存した。1 つの試験室試料あたり 2 併行分析を実施した。従って、1 つの製品と対象化学物質ごとの分析点数は 40 点となる。

B-2-2. 汚染小麦ならびに大麦のサンプルング計画および手順

図 1 に示したとおり、入手した 25kg の汚染小麦あるいは大麦で満たされた袋をロットとした。螺旋状に 50 カ所の印を袋につけ、印づけられた各箇所から平型穀刺棒(米麦用 25 x 400 mm、不二金属工業(株))を用いて、100 g ずつインクリメントを採取し、これを 1 次試料とした。1 次試料を 70°C の温度条件下で一昼夜乾燥させ、真菌を死滅させた後、約 1 mm の粒径になるようにミ

キサーミルを用いて粉砕し、混合・均質化した試料を試験室試料とした。試験室試料は、分析に供するまでの間 -20°C で保存した。各試験室試料は 2 併行で分析した。本研究では、品種の異なる 3 種の小麦と 1 種の大麦で満たされた 4 つの袋をそれぞれ独立したロットとして取り扱い検討した。そのため、総分析点数は 400 点となる。

B-3. 分析法

B-3-1. 亜硝酸ナトリウムの分析

・抽出

試料約 10 g^{*}を正確に量り取り、 80°C にあらかじめ加温しておいた水 80 mL および 0.5 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 10 mL を加え、ホモジナイズした後、200 mL 容のフラスコに移した。ホモジナイズに使用した容器は温水 10 mL により 5 回洗浄し、洗液は先のフラスコに加えた。これに硫酸亜鉛溶液(3→25, 417 mM) 20 mL を加えてよく振り混ぜ、 80°C の水浴中で 20 分間加温した。この間、ときどき振り混ぜた。次いで、冷水中で室温まで冷却した後、0.5 mol/L 水酸化ナトリウム溶液により pH9.5 に調整し、水を加えて 200 mL に定容した。混和後、 4°C にて 30 分間静置した。静置後の溶液を乾燥ろ紙を用いてろ過した。ろ過直

後に得られるろ液 20 mL は捨て、以後得られた澄明なろ液を抽出液とした。

*ハムは 5g、ソーセージは 10g を試料とした。

・測定用溶液の調製と測定

測定用溶液の調製および測定の方法は以下の通り。

抽出液 20 mL を 25 mL 容メスフラスコに正確に量り取り、スルファニルアミド液 1 mL、塩酸(1→2, 6 mol/L) 2 mL およびナフチルエチレンジアミン溶液 1 mL を加えた後、水により定容した。

定容後よく振り混ぜ、室温下で 20 分間静置し、測定用溶液とした。抽出溶液の代わりに水を用いて同様の操作を行い、得られた溶液を空試験溶液とした。測定波長を 540 nm とし、測定溶液および空試験溶液の吸光度を測定した。測定溶液の吸光度から空試験溶液の吸光度を差し引いた後の値を、下記のとおり設計した検量線により検量し、濃度を求めた。

・検量線の作成

亜硝酸ナトリウムの定量範囲は、0 ~ 0.32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ とした。0、0.01、0.02、0.04、0.08、0.12、0.16、0.32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度になるよう亜硝酸ナトリウム溶液を調製し、測定溶液と同様に操作後、得られた測定値に基づき吸光度の濃度

に対する一次回帰式を求め、検量線とした。

B-3-2.アセスルファム K の分析

・透析

細切した試料 10 g を精密に量り、透析内液用溶液 20 mL を用いてセロハンチューブに移した後、セロハンチューブの上端を密封し、200 mL のメスシリンダーに入れた。次いでメスシリンダー内に透析外液用溶液を加えて全量を 200 mL とした。ときどき揺り動かしながら室温で 48 時間透析を行った。

・測定溶液の調製

透析後の容液 20 mL を 25 mL 容メスフラスコに移し、これに 0.1 mol/L 臭化テトラ-n-プロピルアンモニウム溶液 2 mL を加えた後、水により正確に 25 mL とした。この溶液の 5 mL をオクタデシルシリル化シリカゲルカートリッジカラムに負荷し、続いて水 10 mL を通して洗浄した。次いで、オクタデシルシリル化シリカゲルカートリッジカラムの溶出口に強陰イオン交換型カートリッジカラムを接続し、メタノール・水混液(4 : 6, v:v) 10 mL を負荷後、オクタデシルシリル化シリカゲルカートリッジカラムを取り外した。強陰イオン交換型カートリッジカラムに 0.3 w/v %リン酸溶液 5 mL を負荷し、続いて水 5 mL を通して洗浄した後、0.3

mol/L 塩酸で溶出した。溶出液の全量が正確に 5 mL となるまで溶出し、これを測定用溶液として HPLC による測定に供した。

・ HPLC による測定条件

HPLC による測定条件は以下の通り。なお、検出器には紫外外部吸収検出器を用いた。

カラム：YMC-Pack Polyamine II (内径 4.6mm、長さ 250 mm)

カラム温度：40℃

移動相：アセトニトリル・1%リン酸混液(6：4)

流速：1.0 mL/min

測定検出波長：230 nm

注入量：20 μL

・ 検量線の作成

アセスルファミン K の定量範囲は 0.0002～0.02 mg/mL とした。0、0.0002、0.0004、0.001、0.002、0.005、0.02 mg/mL の濃度になるようアセスルファミン K 溶液を調製し、得られた測定値に基づき吸光度の濃度に対する一次回帰式を求め、検量線とした。

B-3-3. デオキシニバレノールの分析

デオキシニバレノール濃度の分析には、DON 5/5 Quantitative Test Kit (Neogen 社製 ELISA kit)を用いた。乾燥した各試料 10 g を量り取り、キット製造者が作成したプロトコ

ルに基づいて分析した。

B-4. 試薬

臭化テトラ-n-プロピルアンモニウム (98% Aldrich 社製)、アセトニトリル (高速液体クロマトグラフ用、ナカライテスク社製)、その他は特級試薬を用いた。

B-5. 機器

吸光光度計：日立 U-2000A

高速液体クロマトグラフ (HPLC)：Waters 社製 2695 Alliance に 2487 Dual Wavelength Absorbance 検出器を付属させ使用した。

C.D. 研究結果および考察

C.D.-1 測定結果

C.D.-1-1. 食肉加工食品中のアセスルファミン K および亜硝酸ナトリウム濃度

ソーセージおよびハム中のアセスルファミン K ならびに亜硝酸ナトリウム濃度の測定結果を表 1 に示す。表には、アセスルファミン K と亜硝酸ナトリウムの分析対象ごとに、1 つの試験室試料から分取し併行分析することで得られた 2 つの分析ポーションの測定結果を区別して示した。併行分析した 2 つの分析ポーションは、分析ポーション A と B として識別している。また、20 試料分の分析ポーション A と B から得ら

れた測定値の平均値と変動(標準偏差; SD および相対標準偏差; RSD)を併せて示した。

データを俯瞰すると、ハム、ソーセージの種類を問わず、同一の試験室試料から分取した2つの分析ポーション(表中 A と B)から得られた測定値は、試験室試料間での測定値に比べよく一致している。つまり、同一試料に由来する2つの分析ポーション間での測定値の変動は、試験室試料(1包装単位の製品)間での測定値の変動に比べ小さい。そこで、1つの試験室試料に由来する2つの分析ポーションの測定値の平均値(試験室試料代表値)を算出し、試験室試料代表値の平均値で除することによって標準化した後、散布図にプロットした(図 2)。2つの化学物質濃度の試験室試料間での変動はともに、ソーセージに比べハムにおいてより大きい。また、アセスルフアム K に比べ、亜硝酸ナトリウムでより大きい。これらの結果は、食品とそれに含まれる化学物質の組み合わせによって、それら食品により構成される集団(母集団)における意図する化学物質の濃度の変動が大きく異なることを強く示唆している。

ソーセージは原材料にアセスルフアム K と亜硝酸ナトリウムをともに添加

し、その後十分に攪拌・混合した後に成形することを製法とする。これに対し、ハムの製造工程中、2種の化学物質は、原材料となる生肉に注入器を用いて添加される。このような化学物質の添加の方法の異なりが、2種の食品における試験室試料間での食品添加物濃度の変動に影響しているものと推測される。また、原材料に含まれる脂肪といった食品成分が、ソーセージではより均質であるのに対し、ハムでは原材料である生肉と同様に局在していることも、食品添加物の化学物質としての極性を介して、それら濃度の変動に寄与するものと考えられる。

C.D.-1-2. 大麦あるいは小麦中のデオキシニバレノール濃度

大麦および3品種の小麦中のデオキシニバレノール濃度の測定結果を表 2 に示す。表には、ロットとした「袋詰め」の異なる大麦および3種の小麦ごとに、1つの試験室試料から分取し併行分析した2つの分析ポーションの結果を区別して示した。併行分析した2つの分析ポーションは、分析ポーション A と B として表中では識別している。また、1つのロットから採取された50の試験室試料中のデオキシニバレノール濃度の平均値と変動(SD ならびに RSD)を、対応する50の分析ポーション

ン A と B 中の濃度の平均値と変動として示した。

データを俯瞰すると、ロットの別によらず、同一の試験室試料から分取した 2 つの分析ポーションから得られた測定値は、同一ロットから採取された試験室試料間での測定値に比べよく一致している。2 つの分析ポーション間での測定値は、試験室試料の均質性と分析法の精度の影響を受け変動する。しかし、その変動が試験室試料間での測定値の変動に比べ小さかった。そこで、試験室試料間での変動の大きさを知るために、2 つの分析ポーションの測定値の平均値(試験室試料代表値)を算出し、試験室試料代表値の平均値で除することによって標準化した後、散布図にプロットした(図 3)。図 3 に示した結果から、本研究で検討した 4 つのロット中では、大麦のロットから採取した試験室試料間でのデオキシニバレノール濃度の変動が最も大きいことが分かる。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 ならびに亜硝酸ナトリウムおよび、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(図 3)。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くらべ、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. 測定結果の統計解析

C.D.-2-1. アセスルフアム K および亜硝酸ナトリウム濃度の統計解析

表 1 に示した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 なら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)の大きさおよび、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 ならびに RSD として表 3 に示す。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結果であるが、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い。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

さい。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た結果を図 2 に示し考察したが、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アム 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分かる。

C.D.-2-2. デオキシニバレノール濃度の統計解析

表 2 に示した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、およ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。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 ならびに RSD として表 4 に示す。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.-3. 不確かさの推定

C.D.-3-1. 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。推定されたサンプリングの不確かさ(標準不確かさ)を SD および RSD として表 5 に示す。また、サンプリングの不確かさを考慮した場合の、母平均が存在しうる範囲の最小濃度と最大濃度を併せて示した。

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)が小さくなることわかる。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、

ソーセージ中のアセスルファミン K ならびに亜硝酸ナトリウム、およびハム中のアセスルファミン 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。このことをあわせて考えても、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ミン 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ミン 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。

C.D.-3-2. 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。推定されたサンプリングの不確かさ(標準不確かさ)を SD および RSD として表 6 に示す。またサンプリングの不確かさを考慮した場合の、母平均が存在しうる範囲の最小濃度と最大濃度を併せて示した。

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のがわかる。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異なることも予想される。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。

大麦ならびに小麦ロット中でのデオキシニバレノール濃度の分布については、本研究班松田らによる分担課題において詳細に検討した。

E. 結論

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、サンプルサイズが 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。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

渡邊敬浩、塚越芳樹、松田りえ子；第101回 日本食品衛生学会学術講演会(2010年9月16～17日；熊本県)

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

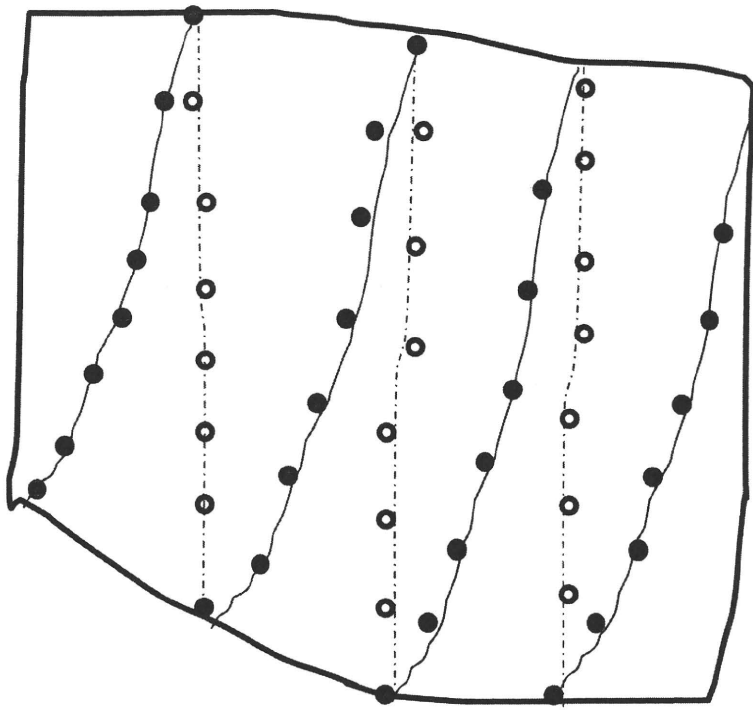
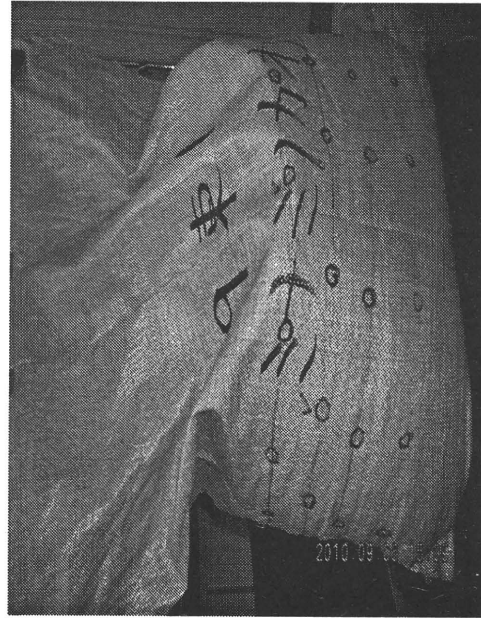
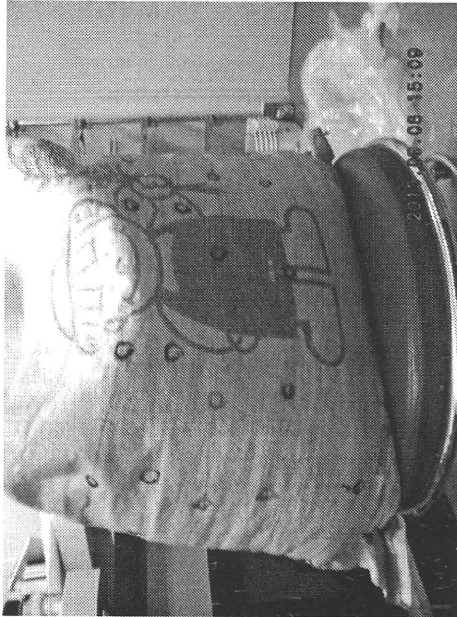
なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし



● 1次試料採取点(表)

○ 1次試料採取点(裏)

図1 汚染小麦(あるいは大麦)を詰めた袋からのサンプリング模式図

		Sausage			
		Ace K		Nitrite	
Test portion		A	B	A	B
Sample No.	1	8.804	10.606	25.37	23.28
	2	8.815	9.840	22.03	21.19
	3	8.972	9.951	21.61	20.98
	4	8.955	10.297	23.70	22.23
	5	9.124	9.827	23.70	23.49
	6	9.149	10.112	22.65	21.19
	7	7.878	8.374	20.35	20.35
	8	8.089	7.881	21.61	20.15
	9	7.328	7.389	20.56	20.56
	10	8.220	8.316	19.94	20.56
	11	8.178	8.692	19.73	20.14
	12	7.811	8.777	18.71	18.91
	13	8.425	9.096	21.37	21.98
	14	8.462	9.168	21.78	22.60
	15	8.384	8.436	21.57	21.78
	16	7.622	8.500	19.53	20.14
	17	8.226	7.877	21.98	21.98
	18	8.196	8.289	16.87	18.09
	19	7.962	8.104	13.38	12.98
	20	8.388	8.359	17.07	17.27
Average		8.35	8.89	20.7	20.5
SD		0.50	0.92	2.71	2.37
RSD		6.0	10.3	13.1	11.6

表 1-1 ソーセージ中のアセスルファミン K および亜硝酸ナトリウム濃度の分析結果

		Ham			
		Ace K		Nitrite	
Test portion		A	B	A	B
Sample No.	1	20.319	20.316	9.51	9.51
	2	22.674	20.124	11.75	11.30
	3	17.734	16.202	5.71	5.48
	4	16.121	15.260	11.08	10.63
	5	17.352	16.451	16.44	16.22
	6	16.364	14.995	10.85	10.18
	7	16.509	16.055	9.06	8.84
	8	21.695	19.027	8.39	8.39
	9	18.828	17.457	3.70	3.92
	10	14.744	13.907	12.87	13.31
	11	17.087	16.340	11.14	11.36
	12	16.006	15.619	13.92	13.49
	13	17.860	17.984	2.68	2.58
	14	17.004	17.334	2.79	3.11
	15	16.670	16.389	14.35	14.99
	16	14.052	15.375	15.63	14.99
	17	19.375	18.973	17.13	16.91
	18	17.942	17.891	2.47	2.47
	19	15.927	15.638	13.71	13.92
	20	17.661	17.473	15.63	14.78
Average		17.60	16.94	10.4	10.3
SD		2.14	1.73	4.80	4.70
RSD		12.2	10.2	46.0	45.6

表 1-2 ハム中のアセスルファム K および亜硝酸ナトリウム濃度の分析結果

Sample No.	Barley			Wheat					
	cultiver	Test portion		Towaizumi		Minaminokaori		Norin 61	
		A	B	A	B	A	B	A	B
1	2.295	2.166	0.882	0.801	3.653	3.304	1.355	1.618	
2	4.178	4.298	0.970	0.999	5.522	4.482	1.773	1.920	
3	3.142	3.142	1.381	1.308	4.420	4.903	1.333	1.468	
4	2.458	2.374	0.770	0.765	2.901	2.824	2.038	2.014	
5	3.295	3.132	0.858	0.927	4.322	4.262	1.368	1.453	
6	3.561	3.250	1.082	1.156	3.605	4.091	1.636	1.641	
7	2.924	2.991	1.091	1.032	4.362	4.991	1.753	1.665	
8	3.412	3.001	0.712	0.704	4.845	5.066	1.595	1.636	
9	4.351	4.556	0.869	0.873	2.846	3.278	1.433	1.483	
10	3.080	3.295	0.943	0.909	3.373	3.652	1.974	2.022	
11	4.556	4.263	0.886	0.890	3.305	3.332	1.270	1.419	
12	2.746	2.671	0.537	0.624	3.429	3.812	2.392	2.707	
13	2.639	2.842	0.313	0.692	3.387	3.457	2.140	2.413	
14	3.436	3.613	0.673	0.685	3.699	4.185	1.855	1.848	
15	3.174	3.284	0.945	1.063	4.382	4.966	1.282	1.316	
16	3.001	3.111	1.074	1.151	3.731	4.507	1.793	1.820	
17	3.954	4.280	1.313	1.308	4.821	5.387	2.006	2.014	
18	4.178	4.442	0.962	0.945	5.118	4.751	1.458	1.503	
19	4.654	4.995	0.781	0.786	3.862	3.845	1.376	1.464	
20	2.472	2.356	1.126	1.380	2.879	2.992	1.921	1.726	
21	2.128	2.879	1.040	1.074	3.225	4.001	1.751	1.620	
22	2.783	2.634	0.696	0.842	4.243	4.683	1.696	1.464	
23	1.701	1.756	1.007	1.131	3.099	3.545	1.609	1.560	
24	3.477	3.448	0.694	0.694	3.063	3.265	1.493	1.445	
25	1.613	1.658	0.836	0.814	5.387	5.588	1.626	1.714	
26	1.835	1.803	1.025	0.922	4.174	3.639	1.354	1.544	
27	1.547	1.937	0.713	0.662	3.639	3.492	1.464	1.417	
28	4.050	4.208	0.745	0.678	3.639	3.248	2.012	1.989	
29	1.668	1.767	0.794	0.703	4.058	3.751	1.417	1.555	
30	1.658	1.518	1.370	1.391	4.124	3.962	1.900	2.004	
31	2.388	2.446	1.029	1.086	3.403	3.259	1.440	1.488	
32	3.462	3.663	0.979	1.055	3.558	3.680	1.784	1.830	
33	2.957	2.825	1.333	1.236	3.780	3.870	1.966	2.028	
34	1.397	1.450	1.070	0.848	3.213	2.477	1.211	1.341	
35	1.446	1.485	0.909	0.906	4.107	4.090	1.745	1.823	
36	2.155	2.455	0.595	0.636	3.124	3.102	1.403	1.469	
37	1.581	1.663	0.518	0.570	3.518	3.870	1.312	1.308	
38	1.863	1.949	0.278	0.365	3.416	3.531	1.534	1.474	
39	1.556	1.751	0.708	0.860	2.956	2.986	0.882	0.882	
40	1.701	1.814	0.839	1.126	4.124	4.331	1.225	1.381	
41	2.845	3.068	0.912	1.160	3.283	3.271	1.737	1.599	
42	2.666	2.866	0.584	0.834	3.102	3.666	1.556	1.574	
43	2.538	2.628	1.199	1.632	3.825	3.795	1.580	1.689	
44	2.804	3.080	0.574	0.747	3.236	2.946	1.911	1.766	
45	3.818	3.886	1.208	1.481	3.766	3.666	2.084	2.074	
46	4.029	4.261	0.982	1.055	5.458	5.207	1.386	1.650	
47	4.630	5.138	1.222	1.269	3.710	3.640	1.556	1.152	
48	3.445	3.687	0.975	0.951	1.855	1.958	1.323	1.438	
49	4.162	4.302	1.173	1.143	3.124	3.135	1.347	1.291	
50	4.677	4.630	0.727	0.817	2.801	2.986	1.863	1.605	
Average	2.92	3.01	0.90	0.95	3.73	3.81	1.62	1.65	
SD	0.99	1.02	0.25	0.26	0.74	0.77	0.30	0.31	
RSD	33.8	33.7	28.0	27.1	19.9	20.1	18.4	19.0	

表 2 穀類(大麦および小麦)中のデオキシニバレノール濃度の分析結果

	Sausage						Ham					
	Ace K			Nitrite			Ace K			Nitrite		
	SD (ng/g)	RSD (%)	RSD (%)	SD (ng/g)	RSD (%)	RSD (%)	SD (ng/g)	RSD (%)	RSD (%)	SD (ng/g)	RSD (%)	RSD (%)
Between repeated analysis	0.54	6.3	6.3	0.63	3.0	3.0	0.79	4.6	4.6	0.28	2.7	2.7
Among samples	0.57	6.6	6.6	2.47	12.0	12.0	1.80	10.5	10.5	4.75	45.7	45.7
Total	0.79	9.1	9.1	2.55	12.4	12.4	1.97	11.4	11.4	4.75	45.8	45.8

表3 ソーセージならびにハム中のアセスルフアム K あるいは亜硝酸ナトリウム濃度測定値の分散分析結果

	Wheat													
	Barely				Towaizumi				Minaminokaori				Norin 61	
	SD (μ/g)	RSD (%)	SD (μ/g)	RSD (%)	SD (μ/g)	RSD (%)	SD (μ/g)	RSD (%)	SD (μ/g)	RSD (%)	SD (μ/g)	RSD (%)		
Between repeated analysis	0.16	5.3	0.10	10.5	0.27	7.1	0.10	6.0						
Among samples	0.99	33.4	0.24	25.6	0.71	18.7	0.29	17.7						
Total	1.00	33.8	0.26	27.7	0.76	20.0	0.30	18.7						

表4 大麦ならびに小麦中のデオキシニバレノール濃度測定値の分散分析結果

	μ	σ	S_{analysis}	S_{mean} (size)	Uncertainty		The range found μ	
					SD	RSD (%)	min	max
Sausage	Ace K	0.6	0.5	(3) 0.3	0.64	7.4	7.99	9.26
				(5) 0.3	0.60	7.0	8.02	9.22
				(10) 0.2	0.57	6.6	8.05	9.20
				(16) 0.1	0.56	6.5	8.06	9.18
				(3) 1.4	1.6	7.5	19.03	22.14
	Nitrite	2.5	0.6	(5) 1.1	1.3	6.2	19.32	21.85
				(10) 0.8	1.0	4.9	19.58	21.58
				(16) 0.6	0.9	4.3	19.71	21.46
				(3) 1.0	1.3	7.6	15.96	18.58
				(5) 0.8	1.1	6.6	16.14	18.40
Ham	Ace K	1.8	0.8	(10) 0.6	1.0	5.7	16.29	18.25
				(16) 0.5	0.9	5.3	16.36	18.18
				(3) 2.7	2.8	26.6	14.51	20.03
				(5) 2.1	2.1	20.7	15.12	19.42
				(10) 1.5	1.5	14.8	15.74	18.80
			(16) 1.2	1.2	11.8	16.04	18.49	

ng/g

表 5 ソーセージならびにハム中のアセスルフアム K あるいは亜硝酸ナトリウム濃度に付随するサンプルリングの不確かさの

推定

	μ	σ	S _{analysis}	S _{mean} (size)	Uncertainty		The range found μ	
					SD	RSD (%)	min	max
Barely				(3)	0.6	20.0	2.37	3.56
				(5)	0.4	15.9	2.50	3.44
		1.0	0.2	(10)	0.3	11.8	2.62	3.32
				(16)	0.2	9.9	2.67	3.26
Towaizumi				(3)	0.1	18.1	0.76	1.09
				(5)	0.1	15.5	0.78	1.07
		0.2	0.1	(10)	0.1	13.3	0.80	1.05
				(16)	0.1	12.3	0.81	1.04
Minamino kaori				(3)	0.4	12.9	3.28	4.26
				(5)	0.3	11.0	3.36	4.19
		0.7	0.3	(10)	0.2	9.2	3.42	4.12
				(16)	0.2	8.5	3.45	4.09
Wheat				(3)	0.2	11.8	1.44	1.83
				(5)	0.1	9.9	1.47	1.79
		0.3	0.1	(10)	0.1	8.2	1.50	1.77
				(16)	0.1	7.5	1.51	1.75

μg/g

表 6 大麦あるいは小麦中のデオキシニバレンロール濃度に付随するサンプリングの不確かさの推定