

表4. マッシュポテト存在下・非存在下における EC 培地中での *E. coli* HIC2211 の経時的生菌数変化とガス産生

菌数レベル	初発菌数	マッシュポテト	測定	培 養 時 間					
				接種直後	3 時間後	6 時間後	24 時間後	30 時間後	48 時間後
10 ¹	1.8×10 ¹	存在下	生菌数	<10	<10	1.6×10 ³	6.2×10 ⁷	1.2×10 ⁸	3.1×10 ⁷
			ガス産生	—	—	—	15%	25%	60%
10 ²	1.8×10 ²	非存在下	生菌数	<10	1.0×10 ¹	1.7×10 ³	5.8×10 ⁷	5.0×10 ⁷	4.9×10 ⁷
			ガス産生	—	—	—	15%	15%	60%
10 ³	1.8×10 ³	存在下	生菌数	1.0×10 ¹	1.1×10 ²	5.0×10 ⁴	8.0×10 ⁷	5.4×10 ⁷	4.3×10 ⁷
			ガス産生	—	—	—	20%	30%	60%
10 ³	1.8×10 ³	非存在下	生菌数	4.0×10 ¹	9.0×10 ¹	5.8×10 ³	3.8×10 ⁷	7.5×10 ⁷	7.2×10 ⁷
			ガス産生	—	—	—	10%	15%	60%
10 ³	1.8×10 ³	存在下	生菌数	2.0×10 ²	8.7×10 ²	7.6×10 ⁴	5.1×10 ⁷	6.0×10 ⁷	5.7×10 ⁷
			ガス産生	—	—	—	20%	30%	60%
10 ³	1.8×10 ³	非存在下	生菌数	3.0×10 ²	6.4×10 ²	6.9×10 ⁴	5.7×10 ⁷	4.0×10 ⁷	3.6×10 ⁷
			ガス産生	—	—	—	15%	15%	50%

表中の数値は、培地 1mL あたりの生菌数を示す。

ガス産生量 (%)、ダーラム管全体を 100% としたときの、ダーラム管中に占めるガスの割合を示す。

表5. マッシュポテト存在下・非存在下におけるEC培地中での *E. coli*HIC2211 及び *E. coli*ATCC8739 のガス産生

接種菌数 レベル	測定/ 判定	培養時間								
		24時間後			48時間後					
		マッシュポテト存在下	<i>E. coli</i> HIC2211	<i>E. coli</i> ATCC8739	マッシュポテト非存在下	<i>E. coli</i> HIC2211	<i>E. coli</i> ATCC8739	マッシュポテト存在下	<i>E. coli</i> HIC2211	<i>E. coli</i> ATCC8739
10 ⁰	濁度	1	<0.5	0.5	0.5	<0.5	3	0.5	3	0.5
	ガス産生	—	—	—	—	—	50%	—	20%	—
10 ¹	濁度	1	<0.5	2	1	<0.5	4	3	4	3
	ガス産生	—	—	—	—	—	30%	—	70%	50%
10 ²	濁度	2	2	3	2	4	4	4	4	4
	ガス産生	—	—	—	<5%	—	50%	—	70%	50%
10 ³	濁度	3	3	3	3	4	4	4	4	4
	ガス産生	50%	—	5%	10%	50%	60%	—	70%	60%
10 ⁴	濁度	3	3	4	4	4	4	4	4	4
	ガス産生	10%	—	10%	15%	50%	60%	—	70%	60%

ガス産生量 (%), ダーラム管全体を100%としたときの、ダーラム管中に占めるガスの割合を示す。

表 6. 大腸菌の発育及びガス産生に対する培養温度の影響

試 験 菌 株	発育及びガス産生			
	44.5℃、24 時間培養		32.5℃、24 時間培養 ¹⁾	
	発育・増殖	ガス産生	発育・増殖	ガス産生
<i>E. coli</i> HIC12014 ²⁾	陽 性	陽 性	— ⁵⁾	—
<i>E. coli</i> HIC2211 ³⁾	陰 性	陰 性	陽 性	陽 性
<i>E. coli</i> ATCCC8739 ⁴⁾	陰 性	陰 性	陰 性 ⁶⁾	陰 性

1) EC 培地で 44.5±0.2℃、24±2 時間培養後、32.5±2.5℃で 24±2 時間培養した結果

2) ガス高度産生能を有する菌株

3) ガス中度産生能を有する菌株

4) ガス弱産生能を有する菌株

5) — : 実施せず

6) 32.5℃、24 時間培養後に生菌確認をした結果、生菌を認めない。

表7. 素材の異なるハンバーグに対する *Escherichia coli* の付着菌数と経日変化 (4℃保存)

ハンバーグ (調製菌液 cfu/mL)	n 数	付着菌数の経日変化 (cfu/g)					
		接種当日	7 日間	14 日間	21 日間	28 日間	35 日間
T 社 (8.5×10^7)	n=1	2.8×10^5	3.5×10^5	2.6×10^5	1.3×10^6	1.8×10^6	—
	n=2	3.7×10^5	3.0×10^5	3.6×10^5	2.8×10^6	2.2×10^6	2.3×10^6
	n=3	3.4×10^5	2.0×10^5	8.0×10^5	2.4×10^6	1.0×10^6	1.1×10^6
	平均	3.3×10^5	2.8×10^5	4.7×10^5	2.2×10^6	1.7×10^6	1.7×10^6
I 社 (8.5×10^7)	n=1	3.7×10^5	4.2×10^5	3.9×10^5	3.9×10^5	5.0×10^5	3.5×10^5
	n=2	3.1×10^5	3.1×10^5	4.5×10^5	3.6×10^5	5.0×10^5	2.0×10^5
	n=3	4.4×10^5	3.1×10^5	2.9×10^5	5.0×10^5	2.6×10^5	1.7×10^5
	平均	3.7×10^5	3.5×10^5	3.8×10^5	4.2×10^5	4.2×10^5	2.4×10^5
M 社 (9.0×10^7)	n=1	9.6×10^5	3.5×10^5	5.7×10^5	1.2×10^6	1.5×10^6	6.6×10^5
	n=2	4.2×10^5	2.8×10^5	4.9×10^5	7.0×10^5	7.4×10^5	3.6×10^5
	n=3	8.1×10^5	2.8×10^5	1.2×10^6	4.6×10^5	8.4×10^5	5.5×10^5
	平均	7.3×10^5	3.0×10^5	7.5×10^5	7.9×10^5	1.0×10^6	5.2×10^5

表8. *Escherichia coli* 接種ハンバーグの均一性確認と付着菌数の経日変化 (4℃保存)

画 分	保存期間中の生菌数 (cfu/g)			
	接種当日	7 日間	14 日間	28 日間
No.1	1.1×10^4	5.3×10^3	1.1×10^4	3.9×10^3
No.2	6.8×10^3	5.3×10^3	9.2×10^3	6.4×10^3
No.3	5.6×10^3	4.5×10^3	6.1×10^3	4.6×10^3
No.4	1.2×10^4	4.6×10^3	5.5×10^3	6.6×10^3
No.5	7.8×10^3	6.3×10^3	1.0×10^4	7.5×10^3
No.6	7.5×10^3	9.6×10^3	1.2×10^4	7.0×10^3
No.7	5.7×10^3	1.1×10^4	7.1×10^3	5.8×10^3
No.8	6.9×10^3	6.9×10^3	8.2×10^3	8.1×10^3
平均	7.9×10^3	6.7×10^3	8.6×10^3	6.2×10^3

調製試験菌液 4.7×10^6 cfu/mL

表9. *Klebsiella oxytoca* 接種ハンバーグの均一性確認と付着菌数の経日変化 (4℃保存)

画分	保存期間中の生菌数 (cfu/g)			
	接種当日	7日間	14日間	28日間
No.1	1.1×10 ⁴	8.1×10 ³	2.1×10 ⁴	3.3×10 ⁴
No.2	1.7×10 ⁴	2.3×10 ⁴	2.4×10 ⁴	1.8×10 ⁴
No.3	1.7×10 ⁴	1.1×10 ⁴	1.8×10 ⁴	1.3×10 ⁴
No.4	1.5×10 ⁴	8.7×10 ³	1.2×10 ⁴	2.0×10 ⁴
No.5	1.3×10 ⁴	1.1×10 ⁴	1.2×10 ⁴	2.0×10 ³
No.6	1.6×10 ⁴	9.2×10 ³	1.5×10 ⁴	1.2×10 ⁴
No.7	1.9×10 ⁴	1.4×10 ⁴	5.3×10 ³	1.0×10 ⁴
No.8	1.3×10 ⁴	2.2×10 ⁴	8.9×10 ³	1.8×10 ⁴
平均	1.5×10 ⁴	1.3×10 ⁴	1.5×10 ⁴	1.8×10 ⁴

調製試験菌液 7.2×10⁵ cfu/mL

表10. ハンバーグ接種菌の EC 培地でのガス産生ならびに EMB 寒天培地上での発育確認

画分	発育確認とガス産生							
	<i>Escherichia coli</i>				<i>Klebsiella oxytoca</i>			
	14日間保存		28日間保存		14日間保存		28日間保存	
	EC培地	EMB培地	EC培地	EMB培地	EC培地	EMB培地	EC培地	EMB培地
No.1	ガス+	発育+	ガス+	発育+	ガス-	発育-	ガス-	発育-
No.2	ガス+	発育+	ガス+	発育+	ガス-	発育-	ガス-	発育-
No.3	ガス+	発育+	ガス+	発育+	ガス-	発育-	ガス-	発育-
No.4	ガス+	発育+	ガス+	発育+	ガス-	発育-	ガス-	発育-
No.5	ガス+	発育+	ガス+	発育+	ガス-	発育-	ガス-	発育-
No.6	ガス+	発育+	ガス+	発育+	ガス-	発育-	ガス-	発育-
No.7	ガス+	発育+	ガス+	発育+	ガス-	発育-	ガス-	発育-
No.8	ガス+	発育+	ガス+	発育+	ガス-	発育-	ガス-	発育-

注: *Escherichia coli* を接種したハンバーグについて EC 培地により 44.5±0.2℃、24 時間培養後のガス産生は弱いですが、同条件で 48 時間まで培養すると全ての画分で判定に十分なガス産生を認める。*Klebsiella oxytoca* については、EC 培地で培養後、EMB 寒天培地に培養液を塗抹しても接種菌の発育を認めない。

表 11. 保存条件の違いによる *Escherichia coli* 接種ハンバーグの付着菌数と経日変化

保存条件	n 数	保存期間中の生菌数 (cfu/g)				
		接種当日	7 日間	14 日間	28 日間	35 日間
4°C	n=1	2.4×10^4	—	1.4×10^4	7.6×10^3	7.7×10^3
	n=2	9.8×10^3	—	8.9×10^3	6.2×10^3	8.2×10^3
	n=3	1.0×10^4	—	7.8×10^3	1.1×10^4	6.3×10^3
	平均	1.5×10^4	—	1.0×10^4	8.3×10^3	7.4×10^3
-20°C	n=1	2.4×10^4	7.8×10^3	8.2×10^3	3.5×10^3	—
	n=2	9.8×10^3	6.4×10^3	5.8×10^3	4.1×10^3	—
	n=3	1.0×10^4	4.4×10^3	3.5×10^3	3.3×10^3	—
	平均	1.5×10^4	6.2×10^3	5.8×10^3	3.6×10^3	—

-20°C保存ハンバーグの解凍は、25°Cで3時間行った。

表 12. 保存温度条件の違いによる *Escherichia coli* 接種ハンバーグの EC 培地ならびに BGLB 培地でのガス産生の確認

		ガス産生量 (%) の確認																				
		4℃保存						-20℃保存														
n 数		28 日間保存後						28 日間保存後														
		24 時間培養			48 時間培養			24 時間培養			48 時間培養											
		EC (x10)	EC (x100)	BGLB	EC (x10)	EC (x100)	BGLB	EC (x10)	EC (x100)	BGLB	EC (x10)	EC (x100)										
n=1		20	5	<5	<5	70	60	60	60	40	5	10	5	30	30	70	70	60	60			
n=2		20	15	5	5	30	30	70	60	50	50	60	5	10	<5	5	30	30	70	70	60	60
n=3		25	10	5	5	30	20	70	60	60	30	20	10	5	30	25	70	70	50	60	60	60

注： 表中の数値は、ダーラム管全体を 100% としたときの、ダーラム管中に占めるガス産生量 (%) を示す

試験管中に添加された菌数は、4℃保存の場合 EC (x10) および BGLB で約 8.3×10^2 個、EC (x100) で約 83 個、-20℃保存の場合 EC (x10) および BGLB で約 3.6×10^2 個、EC (x100) で約 36 個

表 13. *Escherichia coli* 調製菌数の違いによるハンバーグ付着菌数と経日変化 (4°C保存)

調製菌液の菌数 (cfu/mL)	n 数	付着菌数の経日変化 (cfu/g)					
		接種当日	7 日間	14 日間	21 日間	29 日間	36 日間
9.8×10^5	n=1	1.2×10^4	1.3×10^4	1.5×10^4	1.1×10^4	5.4×10^3	1.5×10^4
	n=2	1.2×10^4	7.1×10^3	8.2×10^3	1.4×10^4	4.0×10^3	5.5×10^3
	n=3	8.4×10^3	7.9×10^3	6.5×10^3	1.3×10^4	6.1×10^3	5.5×10^3
	平均	1.1×10^4	9.3×10^3	9.9×10^3	1.2×10^4	5.2×10^3	8.7×10^3
8.7×10^6	n=1	7.9×10^4	7.7×10^4	7.7×10^4	1.1×10^5	1.2×10^5	1.3×10^5
	n=2	5.6×10^4	3.1×10^4	5.4×10^4	9.0×10^4	1.0×10^5	6.9×10^4
	n=3	5.8×10^4	7.2×10^4	4.3×10^4	9.4×10^4	6.3×10^4	7.9×10^4
	平均	6.4×10^4	6.0×10^4	5.8×10^4	9.8×10^4	9.4×10^4	9.3×10^4
9.0×10^7	n=1	9.6×10^5	3.5×10^5	5.7×10^5	1.2×10^6	1.5×10^6	6.6×10^5
	n=2	4.2×10^5	2.8×10^5	4.9×10^5	7.0×10^5	7.4×10^5	3.6×10^5
	n=3	8.1×10^5	2.8×10^5	1.2×10^5	4.6×10^5	8.4×10^5	5.5×10^5
	平均	7.3×10^5	3.0×10^5	7.5×10^5	7.9×10^5	1.0×10^6	5.2×10^5

表 14. 試験菌種の違いによるハンバーグ付着菌数と経日変化 (4°C保存)

試験菌 (cfu/mL)	n 数	付着菌数の経日変化 (cfu/g)				
		接種当日	7 日間	14 日間	21 日間	28 日間
<i>E. coli</i> 9.0×10^7	n=1	9.6×10^5	3.5×10^5	5.7×10^5	1.2×10^6	1.5×10^6
	n=2	4.2×10^5	2.8×10^5	4.9×10^5	7.0×10^5	7.4×10^5
	n=3	8.1×10^5	2.8×10^5	1.2×10^5	4.6×10^5	8.4×10^5
	平均	7.3×10^5	3.0×10^5	7.5×10^5	7.9×10^5	1.0×10^6
<i>K. oxytoca</i> 1.1×10^8	n=1	1.2×10^6	8.6×10^6	3.3×10^7	3.2×10^6	4.4×10^5
	n=2	1.3×10^6	5.3×10^6	1.1×10^7	2.1×10^6	2.4×10^5
	n=3	1.0×10^6	5.9×10^6	6.9×10^6	—	2.6×10^5
	平均	1.2×10^6	6.3×10^6	1.6×10^7	2.6×10^6	2.9×10^5
<i>A. calcoaceticus</i> 1.8×10^7	n=1	2.9×10^5	3.3×10^5	3.1×10^5	5.2×10^5	6.5×10^5
	n=2	2.4×10^5	3.6×10^5	2.3×10^5	1.2×10^6	7.6×10^5
	n=3	5.6×10^5	2.2×10^5	1.9×10^6	—	3.8×10^4
	平均	3.3×10^5	3.2×10^5	6.6×10^5	8.4×10^5	5.5×10^5

E. coli: *Escherichia coli*

K. oxytoca: *Klebsiella oxytoca*

A. calcoaceticus: *Acinetobacter calcoaceticus*

表 15. 精度管理調査用試料の試験菌数推移と試験菌の経日的発育確認 (4℃保存)

試験菌 (調製菌数 cfu/mL)	保存期間と生菌数 (cfu/g)				
	接種当日	7 日間	14 日間	21 日間	35 日間
<i>E. coli</i> (8.0×10 ⁷)	9.5×10 ⁴	9.7×10 ⁶	8.0×10 ⁶	5.0×10 ⁶	4.3×10 ⁶
EC 培地中の発育確認*1	発育・ガス産生	発育・ガス産生	発育・ガス産生	発育・ガス産生	発育・ガス産生
BGLB 培地中の発育確認*2	発育・ガス産生	発育・ガス産生	発育・ガス産生	発育・ガス産生	発育・ガス産生
<i>K. oxytoca</i> (1.2×10 ⁸)	1.4×10 ⁵	8.1×10 ⁶	5.4×10 ⁶	3.6×10 ⁶	3.0×10 ⁶
EC 培地中の発育確認*1	発育せず	発育せず	発育せず	発育せず	発育せず
BGLB 培地中の発育確認*2	発育・ガス産生	発育・ガス産生	発育・ガス産生	発育・ガス産生	発育・ガス産生

*1: 44.5±0.2℃で24時間培養した後、発育ならびにガス産生を判定した。

*2: 35±2℃で48時間培養した後、発育ならびにガス産生を判定した。

表 16. 4℃保存下での液卵中の生菌数変化に対する安定化剤の影響

試験菌 (初発菌数)	安定化剤の種類	保存期間中の生菌数 (cfu/g)		
		7日間	14日間	28日間
<i>S. Enteritidis</i> (1.4×10^7 cfu/g)	無添加 (Log)	1.6×10^7 (7.20)	6.6×10^6 (6.82)	2.9×10^5 (5.46)
	SPG 10 (Log)	4.3×10^7 (7.63)	2.9×10^7 (7.46)	1.8×10^7 (7.26)
	SPG 20 (Log)	1.9×10^7 (7.28)	1.7×10^6 (6.23)	2.4×10^5 (5.38)
<i>P. mirabilis</i> (1.9×10^7 cfu/g)	無添加 (Log)	1.6×10^7 (7.20)	3.1×10^7 (7.49)	5.3×10^7 (7.72)
	SPG 10 (Log)	5.6×10^7 (7.75)	1.9×10^7 (7.28)	2.0×10^8 (8.30)
	SPG 20 (Log)	1.7×10^7 (7.23)	2.9×10^7 (7.46)	1.9×10^7 (7.28)

表 17. 22.5℃保存下での液卵中の生菌数変化に対する安定化剤の影響

試験菌 (初発菌数)	安定化剤の種類	保存期間中の生菌数 (cfu/g)		
		1日間	2日間	3日間
<i>S. Enteritidis</i> (1.2×10^7 cfu/g)	無添加	2.0×10^8	2.9×10^8	5.4×10^8
	SPG 10	2.2×10^8	3.1×10^8	5.9×10^8
	SPG 20	1.0×10^8	2.1×10^8	3.0×10^8
<i>P. mirabilis</i> (1.4×10^7 cfu/g)	無添加	4.2×10^8	6.0×10^8	7.1×10^8
	SPG 10	3.3×10^8	3.6×10^8	5.2×10^8
	SPG 20	7.0×10^8	4.5×10^8	5.2×10^8

1日目より臭気発生、経日的に臭気の増強あり

表 18. *Salmonella* Enteritidis の接種菌数と液卵中の生菌数変化に対する安定化剤の影響

<i>S. Enteritidis</i>	安定化剤の種類 (接種菌数 cfu/g)	保存期間中の生菌数 (cfu/g)		
		7 日間	14 日間	28 日間
高濃度接種菌群	SPG 10-B (9.6×10^5)	7.8×10^6	1.6×10^7	3.9×10^7
	SPG 10-R (9.8×10^5)	5.3×10^6	9.6×10^6	2.6×10^7
	SPG 20-B (9.6×10^5)	4.1×10^6	7.3×10^5	2.5×10^5
	SPG 20-R (9.8×10^5)	3.1×10^6	7.8×10^5	4.2×10^5
低濃度接種菌群	SPG 10-B (9.5×10^3)	5.7×10^5	4.5×10^6	5.6×10^6
	SPG 10-R (8.5×10^3)	7.1×10^4	1.5×10^5	4.7×10^5
	SPG 20-B (9.5×10^3)	9.9×10^4	3.9×10^5	8.0×10^4
	SPG 20-R (8.5×10^3)	3.3×10^4	1.6×10^4	1.3×10^3

表 19. *Proteus mirabilis* の接種菌数と液卵中の生菌数変化に対する安定化剤の影響

<i>P. mirabilis</i>	安定化剤の種類 (接種菌数 cfu/g)	保存期間中の生菌数 (cfu/g)		
		7 日間	14 日間	28 日間
高濃度接種菌群	SPG 10-B (8.3×10^5)	8.6×10^6	8.3×10^7	1.4×10^8
	SPG 10-R (1.2×10^6)	3.5×10^6	4.4×10^7	1.2×10^8
	SPG 20-B (8.3×10^5)	4.7×10^6	4.7×10^7	6.9×10^7
	SPG 20-R (1.2×10^6)	1.4×10^6	7.1×10^6	6.1×10^7
低濃度接種菌群	SPG 10-B (7.3×10^3)	6.8×10^5	1.9×10^7	1.1×10^8
	SPG 10-R (9.7×10^3)	2.1×10^5	1.8×10^6	7.9×10^7
	SPG 20-B (7.3×10^3)	1.7×10^5	1.5×10^6	3.3×10^7
	SPG 20-R (9.7×10^3)	1.0×10^5	5.5×10^5	3.0×10^7

表 20. 液卵中の生菌数変化

試験菌	初発菌数 (cfu/g)	保存期間中の生菌数 (cfu/g)		
		7 日間	14 日間	28 日間
<i>S. Enteritidis</i>	1.0×10^4	6.1×10^4	2.3×10^5	2.9×10^6
<i>P. mirabilis</i>	8.6×10^3	4.4×10^4	6.0×10^5	1.4×10^7

保存温度：4℃、安定化剤：SPG 10-R

資料4-3

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全性高度化推進研究事業）
ダイオキシン類等の化学物質の食品及び生体試料検査における信頼性確保と
生体曝露モニタリング法の確立に関する研究

分担総合研究報告書（平成14～16年度）

生体試料中ダイオキシンの簡易モニタリング法の実用性評価および
臭素化ダイオキシン ELISA 確立に関する研究/食品衛生検査精度管理調査
における適正調査試料作製と質的向上に関する研究（その3）
—理化学的検査調査試料の作製に関する研究—

主任研究者 柳澤 健一郎 （財）食品薬品安全センター 特別参事
分担研究者 松木 容彦 （財）食品薬品安全センター 特別参事
分担研究者 大島 赴夫* （財）食品薬品安全センター秦野研究所 部長
協力研究者 福原 克治 （財）食品薬品安全センター秦野研究所 室長
鈴木 達也 （財）食品薬品安全センター秦野研究所 室長補佐
（*平成16年度の分担研究者）

研究要旨

食の安全及び安心を確保するために「食品安全基本法」が制定された。食品安全基本法に基づき設置された食品安全委員会は、食品の健康への影響評価（リスク評価）、リスクコミュニケーションの促進及び緊急事態への対応等が主な役割としている。その施策には、信頼できる試験・検査結果に基づいたデータが必須である。試験・検査結果の信頼性を確保する規格には、国際的にはISO1702、（試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項）が認知されている。わが国では、食品衛生法に基づく「登録検査機関における製品検査のための業務管理要綱」及び「食品衛生検査施設における検査等の業務管理要綱」が通知され、それぞれの検査機関は、業務管理について具体的事項を定め、検査等の信頼性の確保が求められている。そのなかで検査の確からしさを確認する手段として、精度管理調査の実施が必須になっている。その精度管理調査に使用する検査試料は、検査対象物質の濃度が均一で、検査期間において濃度が安定であることが必須条件である。このような目的で、検査試料において検査対象物質の濃度が均一で安定な試料の開発を検討、研究した報告は極めて少なく、適切な検査試料の開発が遅れている。

外部精度管理調査の項目には、重金属、食品添加物、残留農薬および残留動物用医薬品があり、それぞれ重金属検査にはカドミウム、残留農薬検査には有機リン系農薬および残留動物用医薬品検査にはフルベンダゾールを検査対象物質とした。重金属検査試料として粉碎した白米、残留農薬検査試料としてにんじんととうもろこしおよび残留動物用医薬品検査試料として液卵を使用し、それぞれの濃度の均一性および安定性について検討した。

その結果、いずれの検討試料についても適切な結果が得られ、重金属、残留農薬および残留動物用医薬品の検査に使用できる調査試料を開発することができた。

A. 研究目的

食品衛生検査を実施している検査機関の
外部精度管理調査に使用する「調査試料」
の作製方法を確立することを目的として、

以下の検討を実施した。

B. 研究方法

1. 重金属（カドミウム）検査調査試料

重金属（カドミウム）検査に使用する調査試料として、玄米、無洗米および白米について、それぞれカドミウムを添加して、カドミウム濃度の均一性について検討した。また、カドミウム添加玄米については、ぬか部位と白米部位へのカドミウムの濃度分布についても調べた。

1) 試料基材および試薬

白米：ひとめぼれ、硝酸、硫酸：有害金属測定用、関東化学株式会社、カドミウム標準液（1000 ppm）：原子吸光分析用、関東化学株式会社、ジエチルジチオカルバミン銀酸（DDTC）、メチルイソブチルケトン（MIBK）：原子吸光分析用。和光純薬工業株式会社、水：日局 注射用水、光製薬株式会社

2) 試料作製

①カドミウム添加玄米（添加玄米）、カドミウム添加無洗米（添加無洗米）およびカドミウム添加白米（添加白米）

硝酸酸性溶液にカドミウム標準液（1000 ppm）を加えた後、水で定容し、カドミウム溶液を調製した。この溶液に玄米、無洗米あるいは白米を添加した後、24 時間静置した。この間5回、良く攪拌した。ザルで玄米、無洗米あるいは白米を採り、ろ紙上に3日間放置して、水分を蒸散した（添加玄米、添加無洗米、添加白米）。

②カドミウム添加粉碎白米

①で作製したカドミウム添加白米に適量のカドミウム無添加白米を加え、遠心粉碎機で粉碎してカドミウム添加粉碎白米を作製した。

③カドミウム添加白米と汚染玄米の精米（ぬか部位と白米部位に分離）

家庭用のとうせい機（精米機）を使用して、カドミウム添加白米と汚染玄米を精米（ぬか部位と白米部位に分離）し、精米前

の玄米および精米後の白米のカドミウムを測定した。

3) 測定法

試料 10 g をケルダール分解フラスコに量り、硝酸 40 mL を添加して、加熱、分解した。硝酸による激しい反応が終了後、硫酸 20 mL を加え、溶液が暗色になったら硝酸を 2~3 mL 追加して溶液が透明になるまで加熱を繰り返した。分解液を水で希釈しながらメスフラスコに移し、100 mL に定容した。この試料液 50 mL を採り、DDTC-MIBK 法により抽出を行い、原子吸光光度法により以下の条件でカドミウムを測定した。

原子吸光光度計の条件

原子吸光光度計 AA-660 株式会社 島津製作所

使用ガス	可燃性ガス；アセチレン 支燃性ガス；空気
ランプ	中空陰極ランプ
波長	カドミウム；228.8 nm

2. 残留農薬（有機リン系農薬）検査調査試料

にんじんおよびとうもろこしを材料に使用して、残留農薬（有機リン系農薬：とうもろこし；クロルピリホス、マラチオン、にんじん；EPN、クロルピリホス、ダイアジノン、フェニトロチオン、マラチオン）検査の調査に使用する調査試料の作製法について検討した。

1) 試料基材および試薬

にんじんおよびとうもろこし（マイクロペースト状食材、収穫後、水蒸気処理してペーストに加工した製品）：株式会社 新進、クロルピリホス、ダイアジノン、フェニトロチオン、マラチオン：残留農薬分析用、関東化学株式会社、アセトン、アセトニト

リルおよびヘキサン：残留農薬分析用、和光純薬工業株式会社、無水硫酸ナトリウム：残留農薬分析用、和光純薬工業株式会社

2) 試料作製

にんじんあるいはとうもろこしの冷凍品を一昼夜、冷蔵庫中で解凍して、その5 kgを速やかにテフロンコーティングステンレス容器(20 L容)に採り、これに有機リン系農薬のアセトン溶液を添加した。ハンドミキサーで5分間ずつ3回攪拌した後、ポリプロピレン製容器に小分けにした。小分けした容器から無作為に10個ずつ採取して、それぞれ繰り返し2回、有機リン系農薬を測定した。小分けした残りの容器は、冷蔵庫および冷凍庫に保管してそれぞれ濃度の安定性を調べた。

3) 測定法

試料20 gを秤量して分液ロートに採り、アセトン100 mLを加えて5分間振とう・抽出した。ろ過を行い、残渣に新たなアセトン100 mLを加えて5分間振とう・抽出を行い先のろ液と合わせて、約25 mLまで減圧濃縮した。濃縮液に10%塩化ナトリウム溶液100 mLを加えた後、20%酢酸エチル含有ヘキサン100 mLずつで、2回、振とう・抽出(10分間)した。有機溶媒層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水後、減圧下(40℃以下)で濃縮し、窒素気流下で溶媒を留去した。残渣をアセトン5 mLで溶解してガスクロマトグラフに供した。

ガスクロマトグラフ条件

ガスクロマトグラフ：島津製作所 GC-17A (炎光光度型検出器付)

カラム：DB-210 (内径 0.25 mm、長さ 30 mm、膜厚 0.25 μm)

注入口温度：260℃、検出器温度：260℃

カラムオープン温度：60℃ (2 min)、昇温 20℃/min、240℃ (15 min) キャリヤーガス：ヘリウム、流量：0.8 mL/min 線速度：19 cm/sec、水素：60 kpa 空気：70 kpa、試料導入：スプリットレス

3. 残留動物用医薬品 (フルベンダゾール) 検査調査試料

液卵について残留動物用医薬品 (フルベンダゾール) 検査に使用する調査試料の作製法の再現性について検討した。

1) 試料基材および試薬

液卵：市販の鶏液卵、フルベンダゾール：残留動物用医薬品検査用、関東化学株式会社、アセトニトリル、酢酸エチル、メタノール、無水硫酸ナトリウム：試薬特級、和光純薬工業株式会社、アセトニトリル、メタノール：高速液体クロマトグラフ用、和光純薬工業株式会社

2) 試料作製

水約1 kgにフルベンダゾールを含むメタノール溶液約100 mLおよび液卵4 kgを加え良く攪拌した。全量を水で8 kgに調整し良く攪拌した後、ポリエチレン製容器に約25 gずつ分注した。

3) 測定法

液卵2.5 gを採取して酢酸エチル50 mLずつで2回抽出し、抽出液を硫酸ナトリウムで脱水した後、濃縮乾固した。残渣をアセトニトリル50 mLで溶解した後、アセトニトリル飽和ヘキサン50 mLずつ2回抽出して、油脂分を除去した。アセトニトリル層を濃縮乾固し、高速液体クロマトグラフの移動相1 mLに溶解して、高速液体クロマトグラフで測定した。

高速液体クロマトグラフ条件

高速液体クロマトグラフ：島津製作所

LC-10A、検出器：島津製作所 SPD-10A、検出波長：290 nm、カラム：mightysil RP-18(H)(150×6.0 mm)、移動相：アセトニトリル：メタノール 7：13、流量：1.0 mL/min、カラムオープン：40℃

4. カビ毒検査調査試料

カビ毒（デオキシニバレノールおよびニバレノール）で汚染された小麦を使用してカビ毒検査に使用する調査試料の作製法について検討した。

1) 試料基材および試薬

カビ毒汚染小麦：農業試験所において、カビ毒（デオキシニバレノールおよびニバレノール）産生菌を接種した小麦を入手した（作製の異なる2種類：カビ毒汚染小麦A、カビ毒汚染小麦B）。デオキシニバレノールおよびニバレノール標準品：Sigma。アセトニトリル、メタノール、酢酸アンモニウム：試薬特級、和光純薬工業㈱、カラム：ウオーターズODS（内径 2.1 mm×長さ 250 mm）、遠心粉碎機：Retsch

高速液体クロマトグラム/質量分析計：Waters ZQ

2) 試料作製

①遠心粉碎機（1.5 mm フィルター）を使用してカビ毒汚染小麦A、約7 kgを約300 gずつ粉碎・混合した後、袋に採り、ふり混ぜた。この袋より無作為に分析試料を n=5、採取して、それぞれのカビ毒（デオキシニバレノールおよびニバレノール）を測定した。

②上記で作製したカビ毒汚染小麦に無汚染小麦を加えてビニール袋中で混合した後、再度、遠心粉碎機（1.5 mm フィルター）を使用して粉碎・混合した。これを袋に採り、ふり混ぜた後、約150 gずつ、ポリエチレン容器に分取した。無作為に10個の容器を選出して、それぞれの容器について2回の繰り返し測定

を行った。

③上記で作製した小麦のカビ毒調査試料を、室温に放置（3ヶ月）した後、カビ毒成分の濃度を測定してカビ毒成分の安定性を確認した。

3) 測定法

厚生労働省から提示されている方法（食安発第0717002号）に従って測定した。

（倫理面への配慮）

食の安全・安心に係わる研究であり、特に倫理面への配慮を必要としなかった。実験者および環境への配慮としては、有害な溶媒（ベンゼン等）を使用しなかった。

C. 研究結果

1. 重金属（カドミウム）検査調査試料

1) カドミウム添加玄米（添加玄米）、無洗米（添加無洗米）および白米

無作為に9容器を採り、外部の3検査機関にそれぞれ3容器を送付して各容器についてn=3（合計9測定値）でカドミウム含量の測定を委託した。その結果、添加玄米の濃度は1.54～1.65 ppm、標準偏差は0.023～0.096、無洗米の濃度は1.72～1.90 ppm、標準偏差は0.010～0.036 および白米の濃度は2.10～2.18 ppm、標準偏差は0.045～0.068 と、カドミウム濃度の標準偏差は容器間および容器内のいずれにおいても小さかった。また、全測定値（3検査機関×3容器=9）、平均値は、玄米で 1.58 ± 0.060 ppm、無洗米では 1.80 ± 0.090 ppm、および白米では 2.20 ± 0.060 ppm、であった（表1）。

2) カドミウム添加玄米と汚染玄米の精米（ぬかと白米に分離）前後のカドミウム濃度
カドミウムを添加した玄米（添加玄米）と自然汚染の玄米（汚染玄米）を精米して、カドミウムのぬか部位と白米部位への分布を、

それぞれ $n=3$ で調べた。その結果、添加玄米 1.57 ± 0.02 ppm、添加精米 0.68 ± 0.01 ppm、汚染玄米 1.07 ± 0.02 ppm および汚染精米 1.00 ± 0.03 ppm であった。精米することにより、添加玄米では 1.57 ppm \rightarrow 0.68 ppm (残存率 43.3%) および汚染玄米では 1.07 ppm \rightarrow 1.00 ppm (残存率 91.7%) と減少した (表 2)。

3) カドミウム添加粉碎白米 (添加粉碎白米)

添加粉碎白米については、小分けにした容器から無作為に容器10個採取し、それぞれの容器について $n=2$ でカドミウム濃度を測定し、濃度の均一性を調べた。その結果、測定値 \pm 標準偏差 ppm (予定作製濃度 ppm) は、 0.473 ± 0.008 ppm (予定作製濃度 0.470 ppm)、 0.375 ± 0.010 ppm (予定作製濃度 0.370 ppm) および 0.267 ± 0.0087 ppm (予定作製濃度 0.257 ppm) と予定作製濃度に対して、近時した濃度の調査試料を作製することができた。また、この時の F 値は、それぞれ 0.64、1.00 および 0.87 と 5% 水準 (F 値 3.02) より小さく、精度管理調査に使用する試料として均一な濃度を確保することができた (表 3)。

2. 残留農薬 (有機リン系農薬) 検査調査試料

1) にんじん試料

にんじん基材に有機リン系農薬を添加して作製した試料から無作為に抽出した 3 個の容器について測定した。その結果、それぞれの測定値 \pm 標準偏差 ppm (予定作製濃度 ppm) は、EPN 0.93 ± 0.03 ppm (1.0 ppm)、クロルピリホス 0.09 ± 0.00 ppm (0.1 ppm)、ダイアジノン 0.05 ± 0.00 ppm (0.05 ppm)、フェニトロチオン 0.10 ± 0.01 ppm およびマラチオン 0.10 ± 0.00

ppm (0.1 ppm) があった。予定作製濃度に対して 90~100% の範囲であった。別に、にんじんを基材にクロルピリホスおよびフェニトロチオンを添加して作製した試料から無作為に抽出した 10 個の容器について $n=2$ で測定した結果、測定値 \pm 標準偏差 ppm (予定作製濃度 ppm) は、クロルピリホス 0.235 ± 0.005 ppm (0.24 ppm) およびフェニトロチオン 0.137 ± 0.008 ppm (0.14 ppm)。また、F 比はそれぞれ 1.39 および 0.93 と 5% 水準 (F 値 3.02) と比較して、小さく容器間の濃度は均一であると判断された (表 4)。

2) とうもろこし試料

一方、とうもろこし基材での測定値 \pm 標準偏差 ppm (予定作製濃度 ppm) は、クロルピリホスが 0.070 ± 0.002 ppm (0.080 ppm) およびマラチオン 0.310 ± 0.013 ppm (0.320 ppm) であった。それぞれの作製予定濃度に対して、87.5% および 96.9% と近似した濃度の試料を作製することができた。また、F 比はそれぞれ 1.39 および 4.13 と 5% 水準 (F 値 3.02) と比較して、小さく容器間の濃度は均一であると判断された (表 5)。安定性については、作製当日の濃度と比較して冷凍 1 ヶ月後でクロルピリホス $95.8 \pm 1.66\%$ 、マラチオン $93.9 \pm 3.11\%$ 、冷蔵 7 日後でクロルピリホス $98.6 \pm 2.91\%$ 、マラチオン $99.4 \pm 1.70\%$ の残存率であった。

3. 残留動物用医薬品 (フルベンダゾール) 検査調査試料

鶏の液卵に、水を加えた後、フルベンダゾールのメタノール溶液を加えて、攪拌・混合し、残留動物用医薬品添加液卵材料を作製した ($n=3$)。容器に分注後、容器 10 個を無作為に採取し、それぞれの容器につ

いて $n=2$ でフルフベンダゾール濃度を調べた。それぞれ 3 回の繰り返し検討の結果、測定値±標準偏差 ppm (予定作製濃度 ppm) は、 0.496 ± 0.01 ppm(0.50 ppm)、 0.356 ± 0.01 ppm(0.380 ppm)および 0.253 ± 0.02 ppm(0.280 ppm)であった。いずれも F 比は、5%水準 (F 値 3.02) より小さく、容器間の試料の濃度は、調査試料として適切であった(表 6)。また、冷凍保存 ($-20 \pm 5^\circ\text{C}$) した試料について濃度の安定性を調べた結果、作製後 40 日間冷凍保存において作製当日濃度に対して、ほぼ 100% の濃度の安定性が確保できた。

4. カビ毒検査調査試料の作製

カビ毒汚染小麦を遠心粉砕機で粉砕・混合してカビ毒 (デオキシニバレノールおよびニバレノール) 濃度が均一な試料を作製した。その結果 ($n=3$)、デオキシニバレノールが 4.73 ppm、標準偏差 0.061 および変動係数 1.3%、ニバレノールが 0.07 ppm、標準偏差 0.0058 および変動係数 8.3% であった。1 回の粉砕・混合において、変動係数がそれぞれ 1.3% および 8.3% と小さく、ほぼ均一な濃度の試料を作製することができた。さらに、この試料を無汚染小麦と 8:17 (8/25 希釈) に混合希釈 (希釈混合試料) した。無作為に抽出した試料 10 個について繰り返し 2 回の測定を行い濃度の均一性を確認した結果、デオキシニバレノールが 1.55 ppm、標準偏差 0.091 および変動係数 5.92%、ニバレノールは検出限界以下であった。作製予定濃度 1.47 ppm に対して作製した試料の濃度は、1.55 ppm と、ほぼ予定濃度の試料を作製することができた。また、F 比は 1.53 と、5%水準 (F 値 3.02) と比較して小さく、作製した試料間に濃度の差がないことが確認できた。試料作製法の再現性を調べるため、繰り返

し作製して検討した。カビ毒汚染小麦 B を 500 g ずつ遠心粉砕機で粉砕・混合した (2 回目混合試料)。その結果 ($n=3$)、デオキシニバレノールが 1.41 ppm、標準偏差 0.040 および変動係数 2.8%、ニバレノールが 0.72 ppm、標準偏差 0.025 および変動係数 3.5% であった。また、無作為に抽出した 10 個の試料について 2 回の繰り返し測定の結果、F 比はデオキシニバレノール 1.20 およびニバレノール 1.72 と、F 値 3.02 と比較して小さく、作製した試料間に濃度の差がないことが確認できた。いずれも、1 回目の作製結果と、ほぼ同様の標準偏差および変動係数であった(表 7、表 8)。

D. 考察

1. 重金属 (カドミウム) 検査調査試料

1) カドミウム添加玄米 (添加玄米)、無洗米 (添加無洗米) および白米

玄米には、カドミウム濃度の規格基準 (1 ppm) が定められている。そこでカドミウム検査の精度管理に使用できる調査試料の作製法について玄米、無洗米および白米を用いて検討した。その結果、いずれの試料についても、予定作製濃度に近似した濃度の調査試料を作製することができた。この時の濃度±標準偏差は、 $1.54 \sim 2.18 \pm 0.010 \sim 0.096$ ppm と小さい標準偏差であった。

2) カドミウム添加玄米と汚染玄米の精米 (ぬかと白米に分離) 前後のカドミウム濃度

天然の汚染玄米では、精米することでカドミウム濃度が約 10% 減少したが、カドミウム添加玄米の精米では、約 60% の減少を示し、添加したカドミウムはふすまの部位にとりこまれていることを示唆した。

3) カドミウム添加粉碎白米（添加粉碎白米）

あらかじめ作製したカドミウム添加白米の濃度を測定した後、カドミウム無添加白米を加えて予定作製濃度のカドミウム添加粉碎白米を作製する方法では、ほぼ作製予定濃度の調査試料を作製することができること、および小分けした試料容器間のカドミウム濃度のF比（10個の試料容器からn=2で採取して濃度を測定）が5%水準（F値3.02）より小さく、濃度の均一性も確保でき、当作製方法が調査試料の作製方法として適切であると判断した。

2. 農作物の残留農薬（有機リン系農薬）

検査調査試料の作製

1) にんじん試料

にんじん（マイクロペースト状食材、収穫後、水蒸気処理して加工したペースト状の製品）に有機リン系農薬（EPN、クロルピリホス、ダイアジノン、フェニトロチオン、およびマラチオン）を添加して、濃度の均一性および安定性（冷蔵、冷凍保存）を調べた。

その結果、作製した有機リン系農薬検査調査試料の濃度は、予定作製濃度に対して、90～100%の範囲に、濃度の標準偏差（n=3）は0.00～0.05%であった。予定作製濃度に近似した調査試料を作製ことができ、目的とする濃度の調査試料を適切に作製できることが分かった。また、クロルピリホスおよびフェニトロチオンについては、10個の試料容器についてn=2で測定して、濃度の均一性を調べた。F比がそれぞれ1.39および0.93と5%水準（F値3.02）より小さく、試料容器間の濃度には差異がなく、適切な調査試料を作製できることが分かった。

2) とうもろこし試料

とうもろこし（マイクロペースト状食材、収穫後、水蒸気処理して加工したペースト状の製品）に有機リン系農薬（クロルピリホスおよびマラチオン）を添加して、濃度の均一性および安定性（冷蔵、冷凍保存）を調べた。

その結果、作製した有機リン系農薬検査調査試料の濃度は、予定作製濃度に対して、クロルピリホスでは87.5%およびマラチオンでは96.9%と作製予定濃度に近似した調査試料を作製することができ、調査試料として作製予定濃度の試料を適切に作製できることが分かった。また、安定性は、作製当日と比較して冷凍1ヶ月後でクロルピリホス95.8%、マラチオン93.9%および冷蔵7日後でクロルピリホス98.6%、マラチオン99.4%と、いずれも調査試料の保存条件として採用できる可能性を確認できた。

3. 残留動物用医薬品（フルベンダゾール）検査調査試料の作製

残留動物用医薬品の精度管理試料には食肉を採用する要望が多い。しかし、食肉に直接残留動物用医薬品を添加することは、濃度の均一性を確保する観点から難しく、精度管理調査の結果の評価を困難にしていた。そこで、液状の食材として残留動物用医薬品の規格基準がある液卵を使用して、これに残留動物用医薬品（フルベンダゾール）を添加する作製方法を検討した。市販の液卵は、クロマトグラムにフルベンダゾールの測定を妨害する成分の出現はなく、また、濃度の均一性も確保できた。

4. カビ毒検査調査試料の作製

カビ毒による麦の汚染は、安全な食品を確保する観点から重要な問題である。その

ためには、カビ毒による麦の汚染実態を調べることになり、その検査方法の信頼性が求められる。当研究においては、その検査の信頼性を担保するために実施される精度管理調査に使用されるカビ毒検査の調査試料の作製法について検討した。その結果、汚染小麦を使用して遠心粉砕機で粉碎・混合する方法により、外部精度管理調査に使用できる調査試料を作製できることを確認した。また、同様な方法により高濃度の試料を希釈して、予定濃度の調査試料を作製できることも確認した。

E. 結論

精度管理調査においては、調査対象項目の濃度の均一性および調査期間中の濃度の安定性の確保が必須であり、外部調査および内部調査を問わず、いかに適正な調査試料が提供できるかが重要な課題である。適正な調査試料を使用した調査であれば、最適な調査結果を得ることができる。このような観点から以下の結論を得た。

1. 硝酸酸性にした溶液に玄米、無洗米あるいは白米を浸漬する方法で調製したものに、カドミウム無添加米を加えて、遠心粉砕機で粉碎・混合する方法が、目的とする濃度の調査試料が作製できること、および濃度の均一性が確保できる適切な方法であることが分かった。

2. 収穫後に水蒸気処理を行ったにんじんクロルピリホス、フェニトロチオン)あるいはとうもろこし(クロルピリホス、マラチオン)のペースト(スープ用食材の市販品)に有機リン系農薬を添加してハンドミ

キサーで攪拌して作製する方法により、均一な濃度の調査試料を作製できることが分かった。また、今回検討した水蒸気処理したとうもろこしでは、冷蔵、冷凍保存してもクロルピリホスおよびマラチオン濃度が、ほぼ安定であるが分かった。

3. 液卵に残留動物用医薬品(フルベンダゾール)を添加する方法で、濃度の均一性および安定性において適切な調査試料を作製できることが分かった。

4. カビ毒(デオキシニバレノールおよびニバレノール)で汚染された小麦を用い、遠心粉砕機で粉碎・混合する方法により、カビ毒検査調査試料の作製が可能となった。また、高濃度の試料の希釈による調査試料作製においても、遠心粉砕機で粉碎・混合する方法が採用できることが分かった。

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

なし

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

表1 カドミウム添加玄米、無洗米および白米のカドミウム濃度

	単位 (ppm)			
	A 容器	B 容器	C 容器	平均値±標準偏差
玄 米	1.55±0.047	1.54±0.023	1.65±0.096	1.58±0.060
無洗米	1.79±0.010	1.72±0.010	1.90±0.036	1.80±0.090
白 米	2.18±0.068	2.10±0.045	2.31±0.047	2.20±0.106

表2 カドミウム添加玄米と汚染玄米の精米前後のカドミウム濃度

	単位 (ppm)			
	測定①	測定②	測定③	平均値±標準偏差
カドミウム添加玄米	1.55	1.58	1.57	1.57±0.02
カドミウム添加精米	0.67	0.68	0.68	0.68±0.01
カドミウム汚染米	1.09	1.11	1.08	1.07±0.02
カドミウム汚染精米	0.97	1.01	1.03	1.00±0.03

表3 白米のカドミウム濃度の均一性

試験①			試験②		
試料番号	単位 (ppm)		試料番号	単位 (ppm)	
	測定①	測定②		測定①	測定②
1	0.465	0.479	1	0.377	0.361
2	0.478	0.471	2	0.385	0.376
3	0.480	0.460	3	0.377	0.387
4	0.481	0.481	4	0.387	0.384
5	0.495	0.466	5	0.386	0.381
6	0.469	0.469	6	0.381	0.365
7	0.468	0.470	7	0.384	0.369
8	0.471	0.474	8	0.363	0.355
9	0.465	0.465	9	0.356	0.373
10	0.460	0.484	10	0.363	0.380
平均値	0.473		平均値	0.375	
標準偏差	0.008		標準偏差	0.010	
変動係数	1.69		変動係数	2.7	
F 比	0.64		F 比	2.06	
有意水準 5 %	3.02		有意水準 5 %	3.02	