

# 青森県環境保健センター一年報

Annual Report  
of  
Aomori Prefectural Public Health and Environment Center

No.32 2021

青森県環境保健センター

## はじめに

青森県環境保健センターは、公衆衛生、公害等に関する試験検査、指導及び研究並びに情報の提供を総合的に推進するために、平成2年に設置された地方衛生研究所と地方環境研究所の機能を併せ持った研究機関です。

環境分野の業務としましては、テレメーターシステムによる大気汚染常時監視、有害大気汚染物質・PM2.5等に関する調査研究、アスベスト等の環境調査、十和田湖の水質調査などを行っています。

また、保健衛生分野の業務としましては、病原微生物（細菌・ウイルス等）の試験検査及び研究、県内の感染症の発生及び流行状況の取りまとめと公表、食品中の化学物質等の試験検査及び研究、医薬品・毒劇物等の試験検査及び研究などを行っています。

さて、令和3年を振り返りますと、昨年度に引き続き世界的な大流行が続く新型コロナウイルス感染症への対応に追われた1年であったと言えます。3密を避けるなどの感染リスクを考慮した「新しい生活様式」の実践やワクチン接種の推進等により我が国の重症者の割合は一定程度抑えられている感はありますが、オミクロン株など感染力の強い変異株への置き換わりにより、各地でクラスターが発生し、一進一退の状況が続く中、その抑止に向け、多くの方々が様々な対策に取り組んできました。当所においても令和2年2月の検査開始以来、新型コロナウイルス感染症のPCR検査業務を継続しておりますが、これに加えて変異株スクリーニング検査や次世代シーケンサーによる全ゲノム解析など新たな検査も積極的に導入し、変異株のモニタリングを実施しております。残念ながら現時点では未だ終息の兆しが見えない状況にありますが、引き続き、感染拡大防止のため、緊張感を持って検査体制を維持し、関係機関と協力しながら地方衛生研究所として求められる責務を果たしてまいります。

また、当然のことではありますが、今後とも新型コロナウイルス感染症の検査以外のすべての試験検査においても、引き続き技術と信頼性を高い水準で維持し、日々の業務を遂行してまいります。

ここでは、当所の業務概要と、職員が通常業務として試験検査を行っている中で見つけた課題をテーマとして取り組んだ研究報告を「青森県環境保健センター年報（No.32 2021）」に取りまとめました。御高覧の上、皆様の率直な御意見をいただければ幸いに存じます。

令和4年3月

青森県環境保健センター  
所長 長谷川 寿夫

# 目 次

## I 環境保健センターの概要

1 沿 革	1
2 組織、所掌事務及び職員の状況	2

## II 業務の概要（令和2年度実績）

1 総務室	4
2 微生物部	5
3 理化学部	9
4 公害部	13
5 研修等業務（所内研修会）	16
6 年間動向	16
1) 講師等派遣	16
2) 委員会、協議会等の委員	16
3) 令和2年度青森県環境生活部出先機関等職員研究発表会「あすをひらく」	17
4) 会議・学会・研修会等出席状況	18

## III 研究報告

### 1 報 文

キャピラリー電気泳動シークエンサー及びマルチプレックス PCR による結核菌 VNTR 分析 高橋 洋平 橋本 恭奈 山上 剛志	20
麻痺性貝毒マウスバイオアッセイにおけるキャリブレーション用標準化毒としてのサキシトキシンとデカルバモイルサキシトキシンのマウス感受性比較 山本 明美 中谷 実 柴田めぐみ 増田 幸保 木村 淳子 高坂 典子	31
外部精度管理調査におけるデカルバモイルサキシトキシンを使用した基準CF値とAOAC OM 959.08によるサキシトキシンを使用した基準CF値の比較（2011年から2019年） 山本 明美	41
汎用マトリックス添加標準溶液を活用した GC-MS/MS を用いた農産物中の残留農薬一斉分析法の妥当性評価（野菜類及び果実類） 富士 貴史 花石 竜治 岩館 樹里 山本 明美	51
青森県における酸性雨のイオン組成解析 花石 竜治 工藤 幾代 田村 麻衣子 佐々木 守	62
ベイズ統計手法によりケミカルマスバランス法計算を行う表計算ソフトマクロの作成 花石 竜治	69
県内で生産された日本酒中に含まれる微量元素の実態調査研究 内海 宣俊 菅尾 聡也 田村 麻衣子	85

## 2 ノート

中南地域でヒトから分離された下痢原性大腸菌等の性状解析（2019年1月～12月） 高橋 洋平 山上 剛志 武差 愛美 .....	98
青森県内でヒトから分離されたサルモネラ属菌の血清型と薬剤感受性（2020年） 橋本 恭奈 山上 剛志 高橋 洋平 武差 愛美 .....	102
特定原材料の検出を目的としたPCRにおけるDNA抽出法の比較例 福田 理 五十嵐 飛鳥 田中 綾乃 山本 明美 .....	105
農産物中の残留農薬検査結果-平成24年度から令和2年度まで- 岩舘 樹里 福士 貴史 田中 綾乃 花石 竜治 柴田 めぐみ 工藤 志保 五日市健夫 工藤 翔 山本 明美 .....	109
ペルオキシ二硫酸塩を用いた地下水質中の1,4-ジオキサンの浄化実験 花石 竜治 菅尾 聡也 .....	116
ベイズ統計手法を用いたCMB法による微小粒子状物質（PM <sub>2.5</sub> ）成分の発生源解析 内海 宣俊 花石 竜治 .....	124
深層学習を用いた湖沼における水質変動の予測 内海 宣俊 .....	146
青森県内における稲わら焼却による大気汚染状況調査 ー常時監視測定データ及び有機化合物等調査による実態把握ー 菅尾 聡也 .....	151



## Table of Contents

### 1. Reports

VNTR analysis of <i>Mycobacterium tuberculosis</i> using a capillary electrophoresis sequencer and multiplex PCR Yohei Takahashi, Yukina Hashimoto, and Takeshi Yamagami · · · · ·	20
A comparison of mouse susceptibility to saxitoxin and decarbamoylsaxitoxin as reference materials for calibration in mouse bioassays for paralytic shellfish toxins Akemi Yamamoto, Minoru Nakaya, Megumi Shibata, Yukiyasu Masuda, Junko Kimura, and Noriko Takasaka · · · · ·	31
A comparison of reference CF values derived from decarbamoylsaxitoxin used in proficiency testing and those derived from saxitoxin in AOAC OM 959.08 (2011–2019) Akemi Yamamoto · · · · ·	41
A validation study on the multiresidue method for determination of pesticide residues in agricultural products using GC-MS/MS with general matrix standard solutions (vegetables and fruits) Takafumi Fukushi, Ryuji Hanaishi, Juri Iwadate, and Akemi Yamamoto · · · · ·	51
Ion composition analyses on acid rain in Aomori Prefecture Ryuji Hanaishi, Ikuyo Kudo, Maiko Tamura, and Mamoru Sasaki · · · · ·	62
Development of a spreadsheet application macro for chemical mass balance calculation using Bayesian statistical technique Ryuji Hanaishi · · · · ·	69
A survey on trace elements contained in Japanese sake produced in Aomori Prefecture Nobutoshi Utsumi, Soya Sugao, and Maiko Tamura · · · · ·	85

### 2. Notes

Characteristic analysis of diarrheagenic <i>Escherichia coli</i> , etc., isolated from human being in the South Central region of Aomori Prefecture (January–December 2019) Yohei Takahashi, Takeshi Yamagami, and Manami Musashi · · · · ·	98
Serotype and drug susceptibility of <i>Salmonella</i> isolated from human being in Aomori Prefecture (2020) Yukina Hashimoto, Takeshi Yamagami, Yohei Takahashi, and Manami Musashi · · · · ·	102
A comparison of DNA extract methods for PCR to detect specific ingredients Osamu Fukuda, Asuka Igarashi, Ayano Tanaka, and Akemi Yamamoto · · · · ·	105
Study results of pesticide residues in agricultural products: fiscal years 2012 to 2020 Juri Iwadate, Takafumi Fukushi, Ayano Tanaka, Ryuji Hanaishi, Megumi Shibata, Shiho Kudo, Takeo Itsukaichi, Sho Kudo, and Akemi Yamamoto · · · · ·	109
An experiment to remove 1,4-dioxane from groundwater using peroxodisulfate salt Ryuji Hanaishi and Soya Sugao · · · · ·	116
Source analysis of the components of fine particulate matter (PM <sub>2.5</sub> ) using a CMB method with Bayesian statistical technique Nobutoshi Utsumi and Ryuji Hanaishi · · · · ·	124
Prediction of water quality changes in lakes using deep learning Nobutoshi Utsumi · · · · ·	146
A survey on air pollution due to—rice straw incineration in Aomori Prefecture—fact finding based on continuous monitoring data and measured data and organic compound investigations Soya Sugao · · · · ·	151

# I 環境保健センターの概要

## 1 沿革

### (1) 設置の目的

青森県環境保健センターは、県民のニーズに的確に対応するため、平成 2 年に衛生研究所、公害センター及び公害調査事務所を統合し、公衆衛生、公害等に関する試験検査、指導及び研究並びに情報の提供を総合的に推進するために設置された。

### (2) 沿革

#### 【環境保健センター】

年 月 日	概 要
平成 2 年 4 月 1 日	青森県環境保健センター、青森県環境保健センター八戸公害事務所、青森県環境保健センター六ヶ所放射線監視局設置
平成12年 4 月 1 日	センター内に環境管理部新設、弘前市・八戸市・むつ市に環境管理事務所新設(八戸公害事務所廃止)
平成13年 4 月 1 日	センター内に青森県感染症情報センター設置
平成15年 4 月 1 日	組織改正により、環境管理部が青森環境管理事務所に、放射能部及び六ヶ所放射線監視局が青森県原子力センターに移行
平成19年 4 月 1 日	組織改正により、青森・弘前・八戸・むつ環境管理事務所が地域県民局に移行

#### 【旧衛生研究所】

年 月 日	概 要
昭和24年 6 月 1 日	庶務係、細菌検査係、化学試験係、病理臨床試験係、食品検査係の 5 係制で発足
昭和29年 7 月 1 日	血液銀行係を加え 6 係制となる
昭和31年 1 月 25 日	青森県衛生研究所弘前出張所を設置する
昭和32年 6 月 1 日	青森県血液銀行設置に伴い衛生研究所弘前出張所及び血液銀行係を廃止する
昭和33年 5 月 1 日	処務規程の全面改正により、庶務係、試験検査係となる
昭和34年 3 月 3 日	試験検査係を細菌病理臨床試験係、化学食品検査係に改め 3 係制となる
昭和39年 4 月 1 日	庶務室、微生物科、理化学科の 1 室 2 科となる
昭和43年 3 月 25 日	青森県保健衛生センター合同庁舎完成し移転
昭和44年 4 月 1 日	公害科が新設され 1 室 3 科となる
昭和48年 4 月 1 日	室及び科制を課制に改める
昭和49年 4 月 1 日	公害調査事務所設置に伴い公害課は廃止される

#### 【旧公害センター】

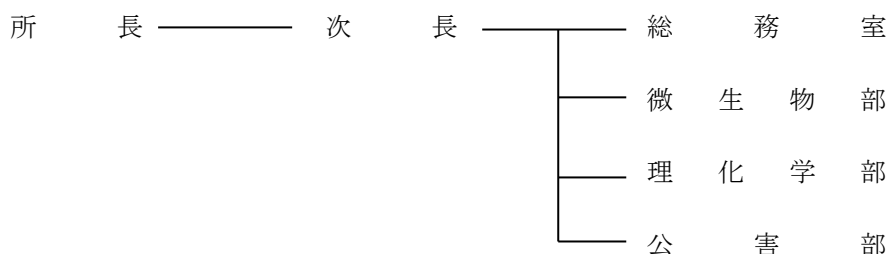
年 月 日	概 要
昭和46年 4 月 1 日	青森県公害センター開設

【旧公害調査事務所】

年 月 日	概 要
昭和49年 4月 1日	青森公害調査事務所開設 庶務課及び調査規制課の2課制が設けられ、調査規制課に大気係及び水質係が置かれる
昭和55年 4月 1日	組織改正により調査規制課が廃止され、大気課及び水質課が設けられ3課制となる
昭和56年 4月 1日	青森県公害調査事務所に名称変更となる
昭和57年10月 1日	旧血液センターの庁舎を全面改修し、公害調査事務所の検査及び管理部門を移設した

2 組織、所掌事務及び職員の状況

(1) 組織



(2) 所掌事務

- ① 公害の防止その他の環境の保全（放射性物質に係るものを除く。）上必要な調査及び試験研究に関すること。
- ② 保健衛生上必要な試験研究に関すること。
- ③ 保健衛生に係る技術指導に関すること。

(3) 分掌事務

**総務室**

- ① 所の予算及び決算に関すること。
- ② 庁舎、公有財産及び備品等の管理並びにその他の庶務に関すること。
- ③ 所内各部の所管に属しない事務に関すること。

**微生物部**

- ① 病原微生物等の試験検査及び調査研究に関すること。
- ② 微生物学的健康危機に関すること。
- ③ 微生物学的試験及び検査の技術指導に関すること。
- ④ 感染症等に係る情報の収集、解析及び提供に関すること。
- ⑤ その他必要な試験検査及び調査研究に関すること。

**理化学部**

- ① 食品中の残留農薬、動物用医薬品、その他の化学物質等の試験検査及び調査研究に関すること。
- ② 毒劇物、医薬品、家庭用品等の試験検査及び調査研究に関すること。
- ③ 温泉、飲料水等の試験検査及び調査研究に関すること。
- ④ 理化学的試験の技術指導に関すること。
- ⑤ 毒劇物及び医薬品等の化学物質による健康危機に関すること。

⑥ その他必要な試験検査及び調査研究に関すること。

**公害部**

- ① 大気汚染、水質汚濁、土壌汚染、騒音、振動及び悪臭の防止に係る試験検査並びに調査研究に関すること。
- ② 微小粒子状物質（PM<sub>2.5</sub>）及び有害化学物質等の試験検査並びに調査研究に関すること。
- ③ 廃棄物の処理に係る試験検査及び調査研究に関すること。
- ④ その他必要な試験検査及び調査研究に関すること。

**(4) 職員の状況**

(令和3年4月1日現在)

区 分	課 長 級	副 参 事 級	総 括 主 幹 級	主 幹 級	主 査 級	主 技 事 師	技 能 主 技 事 師	非 常 勤 事 務 員	非 常 勤 労 務 員	非 常 勤 技 術 員	計
所 長	1										1
次 長		1									1
総 務 室			1	1	1		1	1			5
微生物部			1	1	4	2			3		11
理化学部			1	1	3	1			3		9
公 害 部			1	1	2	2			1		7
計	1	1	4	4	10	5	1	1	7		34

## Ⅱ 業務の概要(令和2年度実績)

## 1 総務室

### 1.1 職場見学者の受入れ

平成24年度から、試験・検査、研究等に興味を抱き、将来の職業選択の一助となることを目的として中学生などの見学の受入れを行っている。

生徒等には、当センターの概要の説明並びに各試験室等の見学及び検査体験を実施している。

令和2年度は受入実績がなかった。

区 分	H28年度	H29年度	H30年度	R元年度	R2年度
見学者(人)	4	3	4	2	—

### 1.2 センター内ベンチャー制度

環境保全上及び保健衛生上の試験研究に対する職員の意欲及び研究能力の一層の向上を図るため、職員が自ら研究を企画し、実施することを支援するため、平成28年度からセンター内ベンチャー制度を実施している。

令和2年度は、次の研究を採択した。

研究名	研究期間
県内で生産された日本酒中に含まれる微量金属の実態調査研究	令和2年度から3年度

## 2 微生物部

### 2.1 調査研究

#### (1) 感染症流行予測調査事業

厚生労働省感染症流行予測調査事業の一環として、環境水からのウイルス分離によるポリオ感染源調査及びブタにおける HI 抗体調査による日本脳炎感染源調査を実施している。

##### ア ポリオ感染源調査

令和2年度は4月から12月にかけて、青森市内下水処理施設から採水した下水処理前水54検体を対象にウイルス分離を実施した結果、コクサッキーウイルス B5 型5株が分離された。

##### イ 日本脳炎感染源調査

令和2年度は、7月から9月にかけて、十和田食肉衛生検査所及び田舎館食肉衛生検査所で採血したブタの血液70検体を対象に HI 抗体調査を実施した結果、10倍以上の抗体価を保有している日本脳炎陽性ブタは認められなかった。

#### (2) 感染症発生動向調査事業（ウイルス等・細菌等）

平成11年度から感染症法に基づき、県内の細菌・ウイルス・リケッチア・クラミジア等の病原体を把握するために感染症発生動向調査の一環として病原体検査を実施しており、令和2年度においては次のとおり行った。

##### ア ウイルス・リケッチア・クラミジア

県内（青森市及び八戸市を除く。）の医療機関が採取した材料6,774検体（糞便（直腸ぬぐい液・腸内容物）7検体、喀痰・気管吸引液（吸引痰）137検体、咽頭ぬぐい液（鼻咽頭ぬぐい液・鼻腔ぬぐい液・鼻汁）5,695検体、唾液918検体、永久気管孔ぬぐい液1検体、髄液6検体、血液・血清7検体、尿3検体）からウイルス分離及び遺伝子検出を実施した結果は、次のとおりであった。

#### ウイルス等の検出状況

疾患等	検出されたウイルス等	検出株数
手足口病関連	ヒトライノウイルス A	1
感染性胃腸炎関連	ノロウイルス G II 型	1
脳炎	アデノウイルス 5 型	2
新型コロナウイルス感染症	新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）	497

##### イ 細菌等

県内（青森市及び八戸市を除く。）の医療機関等で、腸管出血性大腸菌感染症患者及び保菌者から採取された検体由来の菌株計11株の性状確認及び遺伝子検査を実施した結果、Og157:Hg7 VT1VT2が9株、Og91:Hg14 VT1VT2が1株、Og26:Hg11 VT1が1株であった。

薬剤耐性菌について、県内（青森市及び八戸市を除く。）の医療機関で、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症患者から採取された検体由来の菌株計17株の性状確認及び遺伝子検査を実施した結果、カルバペネマーゼを産生する菌株は認められなかった。また、バンコマイシン耐性腸球菌の感染症患者から採取された検体由来の菌株計1株の性状確認及び遺伝子検査を実施した結果、*vanCI* 遺伝子を保有する *E. gallinarum* であった。

#### (3) 結核菌の遺伝子解析

平成24年度から、県の結核対策の一つとして、VNTR法による結核菌の遺伝子型別解析を行っている。令和2年度は、40株（青森市及び八戸市を除く。）について遺伝子解析を行った。

#### (4) 青森県病原微生物検出情報

平成11年度から3病原体（サルモネラ属菌、腸炎ビブリオ、カンピロバクター属菌）の発生状況の把握を目的として県内の細菌検査を実施している医療機関及び臨床検査センター10施設から菌株及び検出情報を収集している。平成26年7月から医療機関1施設を加え計11施設とし、また、情報収集対象とする病原体を6菌種（サルモネラ属菌、カンピロバクター属菌、ビブリオ属菌、エルシニア属菌、メチシ



リン耐性黄色ブドウ球菌、基質拡張型β-ラクタマーゼ産生菌)とした。

ア 令和2年度は、提供を受けた検出情報及び気温等の環境情報を解析し、環境保健センターのホームページに週報として52回掲載した。

イ 収集した病原性菌株について生化学的試験及び血清学的試験、PCR及び薬剤感受性試験等を実施し、その結果を関係機関に提供している。令和2年度は205株について試験を実施した。

#### (5) 厚生労働科学研究事業等

令和2年度に研究事業として厚生労働科学研究班等に参加した事業は、以下のとおりである。

ア 厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)「食品由来感染症の病原体の解析手法及び共有化システムの構築のための研究」分担研究「北海道・東北・新潟ブロックにおける食品由来感染症の病原体の解析手法及び共有化システムの構築のための研究」

イ 厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)「食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究」分担研究「地研ネットワークを利用した食品およびヒトから分離されるサルモネラ、大腸菌、カンピロバクター等の薬剤耐性菌の動向調査」

ウ 日本医療研究開発機構(AMED)委託研究開発費(新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業)「東北地区における結核菌ゲノム分子疫学調査研究」

エ 厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)「環境中における薬剤耐性菌及び抗微生物剤の調査法等の確立のための研究」

オ 厚生労働行政推進調査事業費補助金(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)「環境水を用いた新型コロナウイルス監視体制を構築するための研究」

カ 厚生労働科学研究費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事業)「地方衛生研究所における感染症等による健康危機の対応体制強化に向けた研究」

#### (6) 菌株の収集事業

県内で発生した食中毒事例等及び感染症事例から分離された菌株について、生化学的試験、血清学的試験、PCR及び薬剤感受性試験等を行い、県、青森市、八戸市及び関係機関に対して情報提供を行っている。

#### (7) 感染症発生動向調査事業に係る青森県感染症発生情報

平成13年度から感染症患者の把握と予防啓発を目的に実施している。

令和2年度は、県内の感染症患者情報及び病原体検出情報を収集・分析し、その結果を週報として53回(インフルエンザ情報を適時掲載)、月報として12回、環境保健センターのホームページに掲載した。また、令和元年の感染症発生動向調査事業報告書を作成し、ホームページに掲載するとともに関係機関に配付した。

## 2.2 試験検査

### (1) ウイルス性食中毒等関連検査

ウイルス性食中毒及び感染症の拡大防止並びに衛生指導を行うことを目的として県保健所及び保健衛生課からの依頼により実施している。

令和2年度は、ウイルス性食中毒(疑いを含む。)及び感染症集団胃腸炎事例が9事例あり、糞便86検体、食品18検体、ふき取り22検体、計126検体についてRT-PCR法、リアルタイムRT-PCR法及びダイレクトシーケンシング法により原因ウイルスの検索及び遺伝子解析を行った。

その結果、糞便86検体中3検体からノロウイルス Genogroup I (G I型)が、53検体からノロウイルス Genogroup II (G II型)が、8検体からサボウイルス G I型が、それぞれ検出された。また、食品76検体中3検体からノロウイルス G II型が、それぞれ検出された。

### (2) 細菌等による食中毒等関連検査

細菌等による食中毒及び感染症の拡大防止並びに衛生指導を行うことを目的として県保健所及び保健衛生課からの依頼により実施している。

令和2年度は、事例がなかった。

## 2.3 青森市及び八戸市に対する技術協力

青森市及び八戸市に対し、病原体等の試験研究等業務に対する県の技術的協力に関する協定に基づき、技術協力を行った。

### (1) 食中毒等関連検査（ウイルス等・細菌等）

#### ア ウイルス等

令和2年度は、八戸市で発生したウイルス性食中毒（疑いを含む。）事例5例について、RT-PCR法及びリアルタイムRT-PCR法により、糞便26検体から原因ウイルスの検索を行った。

#### イ 細菌等

令和2年度は、事例がなかった。

### (2) 感染症発生動向調査事業（ウイルス等・細菌等）

#### ア ウイルス・リケッチア・クラミジア

青森市内の医療機関が採取した材料は、1,689検体（糞便（直腸ぬぐい液・腸内容物）4検体、喀痰・気管吸引液（吸引痰）9検体、咽頭ぬぐい液（鼻咽頭ぬぐい液、鼻腔ぬぐい液・鼻汁）1,665検体、唾液2検体、髄液6検体、血液・血清2検体、尿1検体）であった。

八戸市内の医療機関が採取した材料は、1,705検体（糞便（直腸ぬぐい液・腸内容物）1検体、咽頭ぬぐい液（鼻咽頭ぬぐい液・鼻腔ぬぐい液・鼻汁）1,694検体、唾液5検体、髄液1検体、血液3検体、尿1検体）であった。

#### イ 細菌等（3月末終了分）

青森市内の医療機関が採取した材料は、51検体（菌株51検体）であった。

八戸市内の医療機関が採取した材料は、10検体（菌株9検体、血清1検体）であった。

## 2.4 精度管理

### (1) ウイルス等

令和2年度は、厚生労働省健康局結核感染症課が感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律に基づき実施しているインフルエンザウイルス及び新型コロナウイルスに関する外部精度管理事業に参加し、検査技能は適正であると判定された。

### (2) 細菌等

令和2年度は、一般財団法人食品薬品安全センター秦野研究所が実施しているサルモネラ属菌及び大腸菌に関する食品衛生外部精度管理、厚生労働省健康局結核感染症課が感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律に基づき実施しているカルバペネム耐性腸内細菌科細菌に関する外部精度管理及び公益財団法人結核予防会結核研究所で実施している結核菌遺伝子型別外部精度評価に参加し、検査技能は適正であると判定された。

## 2.5 教育・指導

### (1) 病原体等の包装・運搬に係る研修

保健衛生課からの依頼により、包装・運搬責任者育成を目的に研修を実施しており、ゆうパックにより臨床検体等を送付する際の遵守事項について講義と実演を行っている。

### (2) 衛生検査所に対する外部精度管理

医療薬務課からの依頼により、衛生検査所における精度管理の質的向上を図ることを目的に立入検査を実施し、指導監督及び助言を行っている。

### (3) 新型コロナウイルス検査技術研修

県内の医療機関等からの依頼により、新型コロナウイルス検査の検査技術の向上を図ることを目的に研修を実施しており、全自動PCR検査装置の取扱いや結果判定等について説明と実演を行った。

令和2年度においては、1機関2名を受け入れた。

## 2.6 健康危機管理

新型コロナウイルス（変異株を含む。）や、高病原性鳥インフルエンザがヒトに感染することによる新

型インフルエンザの発生に備え、検査技術の導入及び検査体制の整備を行っている。

試験検査総括表（令和2年度）

分類	部門	件数	検査 項目数	検査 総数
(1) ウイルス (行政検査)	① 感染症発生動向調査（ウイルス等）			
	・インフルエンザウイルス	2	7	14
	・呼吸器関連ウイルス（インフルエンザウイルスを除く。）	8	11	88
	・手足口病関連ウイルス	2	7	14
	・突発性発しん関連ウイルス	2	6	12
	・感染性胃腸炎関連ウイルス	4	8	32
	・無菌性髄膜炎関連ウイルス	11	10	110
	・麻しん・風しん関連ウイルス	12	2	24
	・A型肝炎ウイルス	2	1	2
	・E型肝炎ウイルス	1	1	1
	・新型コロナウイルス	10, 107	1	10, 107
	・その他のウイルス等	17	1	17
	② ポリオ感染源調査	54	5	270
	③ 日本脳炎感染源調査	70	1	70
④ ウイルス性食中毒等関連検査	152	5	760	
小 計		10, 444		11, 521
(2) 細菌等 (行政検査)	① 感染症発生動向調査（細菌等）			
	・赤痢菌	3	3	9
	・腸管出血性大腸菌	23	3	69
	・レプトスピラ	1	1	1
	・Q熱コクシエラ	1	1	1
	・バンコマイシン耐性腸球菌	4	3	12
	・カルバペネム耐性腸内細菌科細菌	58	4	232
② 結核菌の遺伝子解析	40	1	40	
③ 病原微生物検出情報に基づく収集菌株	205	3	615	
小 計		335		979
合 計		10, 779		12, 500

### 3 理化学部

#### 3.1 試験検査

##### (1) 有害物質等検査

###### ア 県産農産物の残留農薬検査

平成18年5月から、食品中に残留する農薬等へのポジティブリスト制度（農薬等が残留する食品の販売等を規制する制度）が施行され、農薬残留基準が定められていないものには一律基準（0.01ppm）が適用されることとなったことから、精密分析機器であるGC/MS及びLC/MS/MSを用いて分析を実施している。

令和2年度は次の7種35検体、1検体当たり約250項目について検査を実施した。トマト7検体（91項目）、にんにく4検体（61項目）、大根5検体（74項目）、玄米6検体3検体（122検体）、ばれいしょ6検体（60項目）、キャベツ5検体（77項目）及びほうれんそう5検体（160項目）。

（ ）内の項目数は試験法の妥当性が確認された項目数

その結果、トマト、大根、玄米、キャベツ及びほうれんそうから下表に示す農薬が検出されたが、いずれも基準値未満であった。

にんにく及びばれいしょについては、全ての項目について定量下限未満であった。

##### 検出農薬

作物名	検出農薬名（検出検体数）
トマト	クロルフェナビル（2）、ペルメトリン（1）
大根	アセフェート（1）、オキサミル（1）
玄米	フサライド（1）
キャベツ	エトフェンプロックス（1）
ほうれんそう	イミダクロプリド（1）、イアゾファミド（3）、シペルメトリン（1）、クロチアニジン（2）、チアメトキサム（1）

###### イ 輸入農産物の残留農薬検査

令和2年度は、県内に流通している輸入農産物の残留農薬検査を、次の2種10検体、1検体当たり約250項目について実施した。バナナ5検体（145項目）及びオレンジ5検体（134項目）。

その結果、下表に示す農薬が検出されたが、いずれも基準値未満であった。

##### 検出農薬

作物名	検出農薬名（検出検体数）
バナナ	クロルピリホス（2）、ピフェトリン（3）
オレンジ	イマザリル（5）、チアベンダゾール（5）、ブプロフェジン（1）

###### ウ 流通貝の貝毒検査

下痢性及び麻痺性貝毒による食中毒を未然に防止するため、流通貝について貝毒検査を継続的に実施している。平成28年度より下痢性貝毒についてはLC/MS/MSを用いた機器分析による検査となった。

令和2年度は、新型コロナウイルス発生により中止となった。

###### エ りんごジュースのカビ毒検査

県産りんごジュースの安全性を確保するため、平成17年度から、カビ毒（パツリン）の検査を実施している。令和2年度は、10検体について実施した結果、1検体から検体されたが基準値未満であった。

#### オ アレルギー物質検査

令和2年度は、34検体（菓子類19検体、めん・パン類9検体、調理食品1検体、穀類加工品1検体、調味料及びスープ4検体）の特定原材料5品目（小麦・そば・落花生・卵・乳）について、それぞれ2種類の検査試キットで検査を実施した。

その結果、全て基準値未満であった。

#### カ 清涼飲料水検査

土産品として売られている清涼飲料水の安全性を確保するため、鉛等の規格基準検査を実施している。令和2年度は、新型コロナウイルス発生により中止となった。

#### (2) 畜水産食品の残留有害物質モニタリング検査

畜水産食品の安全性を図るため、合成抗菌剤、抗生物質及び寄生虫駆除剤についての動物用医薬品検査を実施している。令和2年度は、県内で収去された鶏卵8検体（21品目）、牛乳7検体（37品目）について検査を実施した結果、全て定量下限未満であった。

#### (3) 対EU輸出ホタテガイ生産海域のモニタリング検査

「対EU輸出水産食品の取扱いについて」（平成21年厚生労働省・農林水産省・水産庁通知）及び同通知の別紙「対EU輸出水産食品の取扱要領」に基づき生産海域の監視を目的に、貝毒及び環境汚染物質について、陸奥湾産ホタテガイのモニタリング検査を実施している。

貝毒については、EU向けホタテガイの採捕期間中に月1回実施しており、令和2年度は、1月～3月に野辺地1定点から採捕したホタテガイ3検体について、記憶喪失性貝毒の検査を実施した結果、全て定量下限値未満であった。

環境汚染物質については、1検体（1定点・年1回（11月））について、7項目（総水銀、カドミウム、鉛、ベンゾ[a]ピレン、ベンゾ[a]アントラセン、ベンゾ[b]フルオランテン及びクリセン）の検査を実施した結果、総水銀、カドミウム、ベンゾ[b]フルオランテン及びクリセンが検出されたが、いずれもEU向けホタテガイに係る基準値未満であった。その他の項目については定量下限未満であった。

#### (4) 家庭用品の試買検査

昭和55年度から、「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」に基づく家庭用品の試買検査を実施している。令和2年度は、家庭用洗剤10検体について容器試験、塩酸消費量等（合計4項目）の検査を、繊維製品10検体についてはホルムアルデヒドの検査を実施した結果、全て規格に適合していた。

#### (5) 医薬品の収去検査

不良医薬品の製造及び流通を防止するため、医薬品等一斉監視指導において収去した医薬品の検査を実施している。令和2年度は、4検体についてイプリフラボンの定量試験を実施した結果、全て規格に適合していた。

#### (6) その他の行政検査

##### 食中毒疑い（トリカブト誤食）に係る検査

令和2年7月に県南地方で探知した食中毒疑い事例について、中毒症状を呈した患者が摂取したと思われる植物が浸された青い液体1検体及び患者尿2検体の計3検体について、エチレングリコール及びトリカブトの毒成分の検査を実施した。その結果、植物が浸された青い液体の液体部分及び患者尿1検体からエチレングリコールが検出された。また、植物（茎様部分、根様部分）、青い液体及び患者尿2検体の全てからトリカブトの毒成分であるメサコニチン、ヒパコニチン、アコニチン、ジェサコニチンが検出された。

### 3.2 精度管理調査

#### (1) 食品薬品安全センター秦野研究所による外部精度管理調査

平成11年度から一般財団法人食品薬品安全センター秦野研究所による食品衛生外部精度管理調査に参加している。

令和2年度は、重金属（玄米のカドミウム）、残留農薬（ほうれんそうペーストのアトラジン、ダイアジノン、クロルピリホス、フルトラニル、フェントエート、マラチオンの6種のうち3種）、残留動物用医薬品（鶏肉（むね）ペーストのスルファジミジン）、麻痺性貝毒（ホタテガイペースト）、アレルギー物質（卵）（ベビーフード）及びアレルギー物質（牛乳）（ベビーフード、こしあん、各1検体）の6項目について実施した。いずれも結果は良好であった。

## (2) 水道水質検査の外部精度管理調査

水道水質検査における分析精度及びデータの正確さを確保し、分析結果の信頼性を高めることを目的として保健衛生課の依頼により平成11年度から実施している。

令和2年度は、水質検査に従事する県内4施設を対象に、フッ素及びその化合物並びに鉄及びその化合物について外部精度管理調査を実施した。各施設のデータをXbar-R管理図により解析した結果、全施設で全項目について管理限界内であった。Zスコアによる評価も全て良好であった。

## (3) 医薬品の外部精度管理調査

各都道府県において医薬品等の試験検査を受託する衛生検査所等の試験検査機関を対象として、医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性を確保することを目的に実施されている国立医薬品食品衛生研究所薬品部第三室による外部精度管理調査に平成27年度から参加している。

令和2年度は、シロスタゾール錠定量法（HPLC法）及び確認試験（薄層クロマトグラフィー）について実施した。

## (4) 対EU輸出ホタテガイ等二枚貝におけるマリンバイオトキシン検査機関検証

平成27年度から対EU輸出水産食品の取扱要領の規程に基づいた、対EU輸出水産食品におけるマリンバイオトキシン検査機関の検証が、国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部第二室により開始され、当所が実施する貝毒検査について実試料測定調査及び実地調査が行われている。

令和2年度は、記憶喪失性貝毒について、認証標準物質分析による実試料調査が行われた。

## (5) 地域保健総合推進事業（北海道・東北・新潟ブロック）精度管理事業

地方衛生研究所の連携事業として、健康危機事例への対応能力の向上のため、地域ブロックごとに模擬訓練又は精度管理事業を行っている。

令和2年度は、イヌサフランによる食中毒を想定した精度管理（模擬試料（カレー）及びイヌサフラン球根中のコルヒチンの定性試験）を実施した。結果は良好であり、地域ブロック内での情報共有が図られた。

## (6) 日本食品衛生協会食品衛生研究所による食品の技能比較試験

公益財団法人日本食品衛生協会食品衛生研究所内による技能試験に参加した。

サバしょう油煮缶中のヒスタミンについて分析したところ、結果は良好であった。

業務実績総括表（令和2年度）

分類	部 門	事 業	検体数	項目数 / 1 検体	総項 目数※2	
試験 検査	(1)有害物質検査	①県産農産物の残留農薬検査 ※1	35	60～160	3,162	
		②輸入農産物の残留農薬検査 ※1	10	134～145	1,395	
		③流通貝の貝毒検査	0	0	0	
		④りんごジュースのカビ毒検査	10	1	10	
		⑤アレルギー物質検査	34	2	68	
		⑥清涼飲料水検査	0	0	0	
		小 計	89		4,635	
	(2)畜水産食品の残留有害物質モニタリング検査	①動物用医薬品検査（鶏卵）	8	21	168	
		②動物用医薬品検査（牛乳）	7	37	259	
		小 計	15		427	
	(3)対EU輸出ホタテガイ生産海域のモニタリング検査	①貝毒検査	3	1	3	
		②環境汚染物質検査	1	7	7	
		小 計	4		10	
	(4)家庭用品の試買検査	①家庭用洗剤の検査	10	4	40	
		②繊維製品の検査	10	1	10	
		小 計	20		50	
	(5)医薬品の収去検査		4	1	4	
	(6)その他の行政検査		5	4～5	22	
	合 計			137		5,148
	精度 管理	(1)外部精度管理調査（食品薬品安全センター）		7	1～6	15
(2)水道水質検査の外部精度管理調査		4	2	8		
(3)医薬品の外部精度管理		1	1	1		
(4)対EU輸出ホタテガイ等二枚貝におけるマリンバイオトキシン検査機関 検証		2	1	2		
(5)地域保健総合推進事業（北海道・東北・新潟ブロック）精度管理事業		2	2	4		
(6)技能比較試験（日本食品衛生協会）		1	1	1		
合 計			17		31	
総 計			154		5,179	

※1 1検体当たり約250項目について検査を実施したが、各農産物について試験法の妥当性が確認された項目についてのみ項目数に計上した。

※2 検体数×項目数の総和

## 4 公害部

### 4.1 大気関係

#### (1) 環境大気監視

弘前市2地点、黒石市1地点、五所川原市1地点、十和田市1地点、三沢市1地点、むつ市1地点、六ヶ所村1地点及び鱒ヶ沢町1地点の計9地点で大気中の二酸化硫黄(SO<sub>2</sub>)、窒素酸化物(NO<sub>x</sub>)、一酸化炭素(CO)、光化学オキシダント(O<sub>x</sub>)、浮遊粒子状物質(SPM)、微小粒子状物質(PM<sub>2.5</sub>)、炭化水素(HC)について常時監視を実施した。これらのうち、環境基準が定められている6測定項目についての環境基準の達成状況は、下表のとおりであった。

測定項目	二酸化硫黄(SO <sub>2</sub> )				二酸化窒素(NO <sub>2</sub> )			一酸化炭素(CO)					
	有効測定	短期的評価		長期的評価		有効測定	適	否	有効測定	短期的評価		長期的評価	
		適	否	適	否					適	否	適	否
測定局数	1	1	0	1	0	8	8	0	1	1	0	1	0

測定項目	光化学オキシダント(O <sub>x</sub> )		浮遊粒子状物質(SPM)				微小粒子状物質(PM <sub>2.5</sub> )					
	適	否	有効測定	短期的評価		長期的評価		有効測定	短期基準に関する評価		長期基準に関する評価	
				適	否	適	否		適	否	適	否
測定局数	0	4	8	8	0	8	0	2	2	0	2	0

#### (2) 稲わら焼却による大気汚染状況調査

つがる市2地点において、稲わら焼却時のベンゾ[a]ピレン、アルデヒド類及び粉じんについて調査を実施した。

#### (3) 酸性雨実態調査

降水成分の地域特性を明らかにし、今後の酸性雨対策に資することを目的として、青森市・鱒ヶ沢町各1地点において降水量、水素イオン濃度(pH)、電気伝導度(EC)及びイオン成分8項目の測定を実施した。

#### (4) 有害大気汚染物質等モニタリング調査

有害大気汚染物質等による大気汚染の状況を把握するため、弘前市1地点において、ベンゼン等優先取組物質20物質並びに水銀及びその化合物について毎月1回の調査を実施した結果、環境基準が設定されているベンゼン等4物質及び指針値が設定されているアクリロニトリル等9物質については、いずれも基準値及び指針値を下回っていた。

#### (5) 微小粒子状物質(PM<sub>2.5</sub>)成分測定調査

県内における微小粒子状物質(PM<sub>2.5</sub>)の成分組成の割合や発生源の寄与割合などを把握するため、弘前市1地点において、質量濃度、イオン成分8項目、無機元素成分29項目、炭素成分3項目について4季節各季2週間の調査を実施した。

#### (6) アスベスト調査

平内町1地点において一般環境大気中のアスベスト濃度の測定を実施した。また、建築物解体現場等周辺地域36地点においてアスベスト濃度の測定を実施した。



## 4.2 水質関係

### (1) 公共用水域・地下水の水質測定及びクロスチェック

公共用水域及び地下水の水質測定については外部分析機関に委託していることから、分析に関する精度を確保するため、外部分析機関とクロスチェックを実施した。

### (2) 水浴場水質調査

県内 19 水浴場における水質調査（化学的酸素要求量(COD)、ふん便性大腸菌群数等）を外部分析機関に委託して実施していることから、分析に関する精度を確保するため試料分割法によるクロスチェックを実施した。

### (3) 十和田湖水質保全事業

十和田湖の水質保全に資するため、秋田県と共同で十和田湖の湖心における水質調査を実施した。また、十和田湖に流入する 2 河川の水質調査を実施した。

### (4) 排水基準監視クロスチェック

特定事業場排水の水質測定を外部分析機関に委託していることから、分析に関する精度を確保するため外部分析機関とクロスチェックを実施した。

## 4.3 騒音、振動関係

### (1) 航空機騒音調査

八戸飛行場及び三沢飛行場周辺地域の航空機騒音の環境基準達成状況を把握するため、三沢市、五戸町、野辺地町、東北町及び六ヶ所村の各 1 地点で騒音調査を実施した結果、全ての地点で環境基準値を達成した。

### (2) 新幹線騒音調査

新幹線騒音の環境基準達成状況を把握するため、おいらせ町及び七戸町の各 1 地点で調査を実施した結果、おいらせ町で環境基準値非達成だったが、七戸町では環境基準を達成した。

## 4.4 その他

### (1) 精度管理

環境省が実施する統一精度管理調査に参加し、模擬非水試料 1 検体（COD、BOD、全窒素、亜硝酸性窒素、硝酸性窒素、アンモニア性窒素）、模擬水質試料 1 検体（詳細項目：シマジン、イソプロチオラン）及び模擬大気試料 1 検体（詳細項目：ニッケル、亜鉛、鉄、鉛、アルミニウム、参照項目：マンガン、銅、カルシウム、ナトリウム、カリウム）について分析した。Zスコアによる評価は、いずれの項目も満足できる結果であった。

また、全国環境研協議会酸性雨広域大気汚染調査研究部会が実施する酸性雨分析精度管理調査に参加し、模擬水質試料 2 検体（対象項目：水素イオン濃度 (pH)、電気伝導度 (EC)、硫酸イオン ( $\text{SO}_4^{2-}$ )、硝酸イオン ( $\text{NO}_3^-$ )、塩化物イオン ( $\text{Cl}^-$ )、アンモニウムイオン ( $\text{NH}_4^+$ )、ナトリウムイオン ( $\text{Na}^+$ )、カリウムイオン ( $\text{K}^+$ )、カルシウムイオン ( $\text{Ca}^{2+}$ )、マグネシウムイオン ( $\text{Mg}^{2+}$ )）について分析した。

### (2) 行政依頼検査等

令和 2 年度は、水質事故・魚類へい死等の緊急時における検査依頼はなかった。

業務実績総括表（令和2年度）

分類	事業	業務	地点数	検体数	分析項目数
大気	環境監視・調査	環境大気常時監視	9	—	36
		稲わら焼却による大気汚染調査	2	2	8
		酸性雨実態調査	2	77	847
		有害大気汚染物質等モニタリング調査【検体採取】	1	12	(156)
		有害大気汚染物質等モニタリング調査	1	12	96
		微小粒子状物質（PM <sub>2.5</sub> ）成分測定調査【検体採取】	1	56	(168)
		微小粒子状物質（PM <sub>2.5</sub> ）成分測定調査	1	56	2,128
		アスベスト調査	37	78	78
水質	水質保全	公共用水域、地下水等クロスチェック分析	—	2	4
		水浴場水質調査クロスチェック分析	—	2	2
		十和田湖水質保全事業調査	4	19	284
		排水基準監視クロスチェック分析	—	2	2
騒音	騒音防止対策	航空機騒音調査	6	—	6
		新幹線騒音調査	2	—	4
その他	精度管理	統一精度管理調査	—	2	18
		酸性雨分析精度管理調査	—	2	60
	行政依頼検査等	魚類へい死・水質事故等	0	0	0

## 5 研修等業務（所内研修会）

研修名	研修内容	実施日	対象者	受講者数	開催部名
令和2年度信頼性確保部門研修会	食品衛生行政に係る検査員としてのレベルアップ、食品衛生関連の治験の習得	2021/9/4	ISO 信頼性確保部門担当者	1	微生物部
令和2年度青森県環境生活部出先機関等職員研究発表会「あすをひらく」（書面開催）	環境、公衆衛生、原子力関係の知見の習得	2021/1/29	環境生活部、健康福祉部、危機管理局、各地域県民局職員	—	—
「新型コロナウイルス検査」検体受付業務に係る所内研修	検体受付業務の習得	2021/2/19	環境保健センター職員（微生物部員除く）	14	微生物部
GMP 医薬品検査の基礎	日本薬局方についての知識習得	2021/7/22	GMP 新規試験検査担当者	6	理化学部

## 6 年間動向

### (1) 講師等派遣

研修等の名称	内容 (対象者)	実施日	講師派遣部 (職員氏名)
出前トーク (1)腸管出血性大腸菌ってなに？ (2)青森県感染症発生情報(週報)ができるまで	感染症対策と感染症情報センターの役割の習得 (日本医薬品卸勤務薬剤師会)	令和2年10月22日	微生物部 (高橋 洋平) (山上 剛志)

### (2) 委員会、協議会等の委員

委嘱団体等の名称	委員の名称	任期	委員派遣部 (職員氏名)
青森県 (保健衛生課)	青森県感染症発生動向調査委員会委員	平成31年2月1日 ～令和3年1月31日	所長 (工藤 隆治)
青森県 (医療薬務課)	青森県精度管理専門委員	令和2年8月31日 ～令和5年8月30日	微生物部 (山上 剛志)
青森市	青森市精度管理専門委員	令和2年4月1日 ～令和4年3月31日	理化学部 (山本 明美)
八戸市	八戸市衛生検査所精度管理専門委員	令和元年10月1日 ～令和3年9月30日	理化学部 (山本 明美)

(3) 令和2年度青森県環境生活部出先機関等職員研究発表会「あすをひらく」

開催日：令和3年1月29日（金）【要旨集による書面開催】

発表者		演題名
所属	氏名	
微生物部	高橋 洋平	県内で検出された結核菌のVNTR分析について (2019年10月～2020年9月)
理化学部	柴田めぐみ	イムノクロマトキットを用いた麻痺性貝毒簡易分析法の検討
理化学部	福士 貴史	健康危機管理に係る加工食品の試験法検討 ～ベビーフードを用いた予備検査～
理化学部	花石 竜治	健康危機管理に対応した食品中の不揮発性アミン類分析の検討
公害部	前田 寿哉	委託業務の精度管理について
公害部	田村麻衣子	青森県における酸性雨実態調査結果 (平成26年度から令和元年度まで)
公害部	佐々木 守	公害部の事業について
原子力センター	横山 昌平	表土中ヨウ素-129分析調査
原子力センター	楢山 宝孝	加工食品中の放射能濃度

※ 所属に微生物部、理化学部、公害部と記載されている発表者は、青森県環境保健センター職員

(4) 会議・学会・研修会等出席状況

ア 会議・検討会等出席

名 称	開催地	開催月日	出席者	出席者数
令和2年度地域保健総合推進事業発表会（WEB開催）	—	2021/3/2	微生物部員	1
令和2年度「地域保健総合事業」全国疫学情報ネットワーク構築会議（録画配信講演） （WEB開催）	—	2020/11/10	微生物部員	10
令和2年度漁場環境保全関係研究開発推進会議赤潮・貝毒部会 東日本貝毒分科会（WEB開催）	—	2020/11/24	理化学部員	1
令和2年度地衛研全国協議会北海道・東北・新潟支部衛生化学研究部会総会（書面開催）	—	2020/11/25	理化学部員	—
令和2年度地衛研全国協議会北海道・東北・新潟支部専門家会議（理化学部門）（書面開催）	—	2020/12/14	理化学部員	—

イ 学会・研究会等出席

名 称	開催地	開催月日	出席者	出席者数
第69回東北公衆衛生学会	青森市	2020/7/17	微生物部員	2
第34回公衆衛生情報研究協議会総会・研究会 （書面開催）	—	—	微生物部員	—
第57回全国衛生化学技術協議会年会（WEB開催）	—	2020/11/9～10	理化学部員	1
全国環境研究所交流シンポジウム（WEB開催）	—	2021/2/17	公害部員	2

ウ 研修会・講習会等出席

名 称	開催地	開催月日	出席者	出席者数
八戸港における検疫感染症措置訓練	八戸市	2020/11/17	微生物部員	1
「そのPCR、大丈夫？」Part2 PCR法の精度管理 （WEB開催）	—	2020/12/21	微生物部員	3
令和2年度希少感染症診断技術研修会（第1回） （WEB開催）	—	2020/12/22	微生物部員	2
第66回日本水環境学会セミナー「水環境における病原性ウイルスモニタリング技術の動向」（WEB開催）	—	2021/1/22	微生物部員	2
令和2年度北海道・東北・新潟ブロック腸管出血性大腸菌検査担当者研修会（WEB開催）	—	2021/1/28	微生物部員	3
令和2年度希少感染症診断技術研修会（第2回） （WEB開催）	—	2021/2/9～10	微生物部員	2
「東北地区における結核菌ゲノム分子疫学研究」研究成果報告会・技術研修会（WEB開催）	—	2021/3/19	微生物部員	3
令和2年度地方衛生研究所全国協議会北海道・東北・新潟支部公衆衛生情報研究部会総会・研修会 （書面開催）	—	—	微生物部員	—
令和2年度地方衛生研究所全国協議会北海道・東北・新潟支部微生物研究部会総会・研修会並びに地域保健	—	—	微生物部員	—

JFRL 講演会「食品衛生法概論～食品衛生六法を見直ししてみよう」(WEB 開催)	—	2020/11/20	理化学部員	6
JFRL 講演会「食品アレルギー表示制度と検査」(WEB 開催)	—	2021/1/21	理化学部員	6
RESTEK 講演会「逆相クロマトグラフィーにおける分離改善」(WEB 開催)	—	2021/2/4	理化学部員	5
RMA 講演会「食品試験のための ISO/IEC17025:2017 規格の解説と適用のポイント」(WEB 開催)	—	2021/2/25	理化学部員	3
第 36 回宮城県保健環境センター研究発表会 (WEB 開催)	—	2021/3/5	理化学部員 公害部員	5
JFRL 講演会「食品添加物の基礎知識」(WEB 開催)	—	2021/3/17	理化学部員	4
Waters 講演会「食品分析におけるサンプル前処理の基礎と分析例」(WEB 開催)	—	2021/3/30	理化学部員	3
光化学オキシダント自動計測器の校正に係る研修	山形県	2020/10/29～30	公害部員	1
騒音・振動技術講習会 (WEB 開催)	—	2020/11/19	公害部員	1
日本水環境学会セミナー (WEB 開催)	—	2021/1/22	公害部員	1
日本水環境学会 COVID-19 タスクフォース WEB セミナー (WEB 開催)	—	2021/3/9	公害部員	1
日本水環境学会併設研究集会(WEB 開催)	—	2021/3/12	公害部員	1

# III 研究報告

# 1 報 文



## キャピラリー電気泳動シークエンサー及びマルチプレックス PCR による結核菌 VNTR 分析

高橋洋平 橋本恭奈 山上剛志

これまでアガロースゲルを用いたシングル PCR で実施していた結核菌 VNTR 分析に対し、キャピラリー電気泳動シークエンサー (Capillary Electrophoresis Sequencer; CES) を用いたマルチプレックス PCR による分析法の導入を検討した。マルチプレックス PCR には、Platinum Multiplex PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific) に GC enhancer を 20% 添加することで、増幅困難な領域を含めた全 24 領域で増幅産物を得ることができ、さらに、プライマー濃度を調整することにより、全領域一律の希釈倍率で分析できる強度のピークとすることができた。本法により、結核菌 VNTR 分析を効率よく、高い精度で実施することができると考えられる。

Key words : *M. tuberculosis*, VNTR, CES, multiplex PCR

### 1. はじめに

結核は、感染症法で二類感染症に分類され、全国で毎年 1 万人以上の患者が報告されている我が国の主要な感染症である。青森県における 2020 年の新登録結核患者数は 120 人、罹患率 (人口 10 万人に対する新登録結核患者数) は 9.7 で、全国の罹患率 10.1 よりも低いものの、東北 6 県では最も高い状態が続いている<sup>1)</sup>。

結核菌の分子疫学解析手法として、日本では Variable Numbers of Tandem Repeats (VNTR) による型別分析が進められている。当センターでは、2012 年度より Japan Anti-Tuberculosis Association (JATA) -VNTR 法による 12 領域での分析を開始した。その後、段階的に分析領域数を増やし、2017 年度からは、より菌株識別能の高い 24 領域分析法 (24Beijing-VNTR) により株間比較を行っている。

結核菌 VNTR 分析において、当センターではこれまで、熱抽出により得られた結核菌の DNA 抽出液を、Ex Taq 及び GC buffer I (タカラバイオ) による 35 サイクルの PCR (アニーリング: 63 °C、30 秒) に付し、PCR 産物を TE 及びローディングダイで 6 倍に希釈した後、アガロースゲルで電気泳動し、得られたバンドから増幅産物の塩基対数 (bp) を算出、換算表を用いて反復数に換算していた。しかし、この従来法では、1 株につき 24 反応の PCR が必要で

あり、対象菌株数が増加するにつれ、作業そのものが大きな負担となっていた。さらに、超可変領域などでよくみられる 1,000 bp 前後のバンドについては、反復数の判別のために 1.5% アガロースゲルで 3 時間以上の再泳動が必要となるなど、判定までに長時間を要することも課題であった。また、高い作業負荷は判定ミスの増加等のエラーにつながりかねないことから、作業者の負担軽減のため、当センターではこれまで、既報の方法<sup>2)</sup>による作業の効率化等を検討してきたが、現状を大きく改善できるほどの結果は得られていなかった。

このような状況下、近年、腸管出血性大腸菌 MLVA と同じく、結核菌 VNTR 分析についてもキャピラリー電気泳動シークエンサー (Capillary Electrophoresis Sequencer; CES) による反復数の判定が多く用いられるようになってきており<sup>3)</sup>、これを応用したマルチプレックス PCR による分析の検討も行われている<sup>4)</sup>。そこで、当センターにおいても、作業効率の改善を目指し、CES 及びマルチプレックス PCR による結核菌 VNTR 分析を検討し、良好な結果を得ることができたので報告する。

### 2. 材料

病原性結核菌の標準菌株として用いられている *M. tuberculosis* H37Rv 株に加え、2015 年から 2020 年に

かけて参加した結核菌外部精度評価事業 (EQA) で配付された反復数既知の菌株 DNA を用い、DNA 濃度は 1 ng/μL とした。また、これまで県内各保健所より検査依頼があった結核菌の熱抽出 DNA 溶液 (95℃で 10 分間加熱後、13,000 rpm で 10 分間遠心分離した上清) を、改良法の検証に用いた。

### 3. 方法

#### 3.1 シングル PCR

既報の方法<sup>9)</sup>にしたがい、PCR 試薬は、Ex Taq 及び GC buffer I (タカラバイオ) を用いた。プライマーの終濃度は全領域で 0.2 μM とし、反応条件は、熱変性 94℃ 5 分の後、94℃で 30 秒、アニーリングを 60℃で 30 秒、72℃で 1 分の工程を 35 サイクル繰り返し、最終伸長反応を 72℃で 7 分とした。得られた PCR 産物は、TE で 10 倍から 80 倍に希釈し、CES で分析した。

#### 3.2 マルチプレックス PCR

PCR 試薬は、既報<sup>4)</sup>で良好と報告されていた KOD-Multi & Epi- (TOYOBO; Kit-A)、腸管出血性大腸菌 MLVA で用いられている Platinum Multiplex PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific; Kit-B) を用いた。Kit-B では、キットに添付されている GC enhancer の添加比率を変え、0%、10%、20%の 3 パターンを比較した。プライマー濃度は、全領域で 0.2 μM から検討し、分析結果を確認しながら段階的に比率を調整した。反応条件は、Kit-A では既報<sup>4)</sup>の条件、Kit-B では、初期熱変性 95℃ 5 分の後、95℃で 30 秒、アニーリングを 60℃で 90 秒、72℃で 60 秒の工程を 35 サイクル繰り返し、最終伸長反応を 60℃で 30 分とした。PCR 産物の TE による希釈は、操作の簡略化のため、一律の希釈倍率で検討することとした。20 倍希釈からはじめ、分析結果に応じて倍率を調整した。

#### 3.3 プライマー

CES 分析に用いる片側蛍光プライマーは、平成 28 年度結核菌 VNTR 技術研修会<sup>6)</sup>で紹介された配列(表 1) を用いた。マルチプレックス PCR においては、表 1 の Mix 1 から Mix 6 のとおりの組み合わせでプライマーを混合した。

#### 3.4 CES による反復数の判定

PCR 産物の TE 希釈液のうち 1 μL を、GeneScan 1200 LIZ dye Size Standard 0.25 μL 及び Hi-Di Formamide 10 μL (いずれも Thermo Fisher Scientific) と混合し、99℃で 3 分間熱変性処理した。処理後の

サンプルは、3500 Genetic analyzer (Thermo Fisher Scientific) を用い、Long Fragment Analysis モードで分析した。得られたデータは GeneMapper Software 5 (Thermo Fisher Scientific) にて解析した。GeneMapper の設定ファイル (Panel、bin セット) は、前述の研修会<sup>6)</sup>で配付されたものをインポートして用いた。bin の位置は、PCR 条件を調整した後、EQA 株の分析データを用いて修正した。最後に、県内搬入株の DNA 抽出液で検証を行った。

### 4. 結果

#### 4.1 シングル PCR

H37Rv で試行した結果、シングル PCR により、24 領域全てを CES で検出できることが確認された。この方法の場合、希釈倍率は 20 倍が適当であった。また、配付された bin セットは全体的に長鎖側にずれしており、当センターの装置に合わせ修正が必要であることが分かった。

#### 4.2 マルチプレックス PCR

当センターにおいて H37Rv に対しマルチプレックス PCR を試行したところ、Kit-A では、QUB3336 を除く 23 領域では良好な結果であったが、QUB3336 のみピークが観測できなかった。一方、Kit-B では、GC enhancer の添加比率が 0%、10% のときには QUB3336 のピークが観測されなかったが、20% 添加したときに QUB3336 を含む全 24 領域で判読可能なピークが検出された。エキストラバンドと思われるピークやノイズも少なかったことから、これ以降、Kit-C に GC enhancer を 20% 添加した条件で、PCR 産物の希釈倍率の調整とプライマー濃度の調整を行った。その結果、希釈倍率を一律 10 倍とし、プライマー濃度を表に示した濃度にしたときに、全領域で判読可能な強度のピークが得られた。

PCR 及び希釈倍率の条件を調整した後、前述の 3.4 のとおり bin の位置を修正し、搬入菌株の抽出 DNA を用いて分析方法の検証を実施した。70 株程度について検証を実施した結果、ほぼ全ての株でアガロースゲルによる分析結果と同じ結果が得られた。一部の株については、アガロースゲルでは判読できなかった 1,000 bp を超える PCR 産物の反復数が読み取れるなど、アガロースゲルよりも良好な結果が得られた。

図 1 には、分析方法調整後に H37Rv 株を再分析した際の Genotype plot を示した。

## 5. 考察

結核菌のゲノムは、GC 含量が高いことに加え、VNTR 分析の標的が繰り返し配列であることから PCR の難しい系と考えられるが、これまでの検討から、その中でも特に QUB3336 は最適な反応条件がより厳しい領域と考えていた。今回の検討においても、QUB3336 のみピークの判読できない反応系があったことから、同様のことがうかがえる。今回、Kit-B に GC enhancer を 20% 添加した条件で良好な結果が得られたが、本キットに含まれる GC enhancer は量が少なく、結核菌 VNTR 分析のみで使用すると、結果的に Master Mix が余ることとなるが、Master Mix は、腸管出血性大腸菌 MLVA やその他の PCR に有効利用できる。なお、詳細は省くが、QIAGEN Multiplex PCR plus kit (QIAGEN) では、キット添付の Q-solution の添加比率 0%、10%、20% のいずれにおいても、複数の領域でピークが検出されなかった。一方で、Platinum SuperFi II DNA polymerase (Thermo Fisher Scientific) を用いると、Kit-B 同様、24 領域全てでピークを検出できることが確認された。本酵素と Kit-B では、各領域における PCR の反応効率が異なっていたことから、本酵素に合わせてプライマー濃度等を調整することで、Kit-B と同様に結核菌 VNTR 分析に対して使用可能と推察される。なお、一部の EQA 株について、Ex Taq を用いてマルチプレックス PCR を実施したところ、VNTR2372 や QUB3336 でピークが検出されず、全体的にエキストラバンドと思われる小さいピークが目立つ結果となったため、本法で Ex Taq を用いるのは困難といえる。

アガロースゲルを用いた結核菌 VNTR 分析では、原則として、電気泳動から染色まではその日のうちに終了する必要があるが、終夜で分析することはできなかったが、CES を用いた分析では、CES の終夜運転が可能である。また、CES は分析の再現性が非常に高いため、bin を適切に設定することで、1,000 bp を超えるピークであっても、再分析せずに精度よく反復数を判定できる。このため、作業時間の有効利用及び効率化が可能である。さらに、CES では、プライマーに付加した蛍光物質でサンプルを検出することから、プライマーに異なる蛍光物質を付加することで、アガロースゲルでは不可能であった PCR のマルチプレックス化が可能となる。今回構築した分析方法では、全 24 領域の反復数を、1 株あたり 6 種類の PCR 反応系で分析することができ、作業者の負担や人為的ミスを大幅に減らすことができると考え

られる。

なお、これまでの分析から、結核菌 VNTR 分析で対象とする全 24 領域のうち、QUB11b、QUB11a は欠損している株もある一方で、アガロースゲルで分析すると 1,500 bp を超えるバンドが観測される場合もある。今回の分析方法では、CES の仕様上、概ね 1,500 bp を超えるピークは検出できない可能性がある。CES でピークが観測されない場合、欠損か高分子量かを判定するためには、アガロースゲルによる分析も必要になると考えられる。また、これまでの検討において、結核菌 VNTR 分析を CES で実施する場合、結核菌ゲノムの GC 含量が高いためか、ポリマー及びバッファーの劣化の影響を受けやすいことが示唆されている。このため、分析時には消耗品の使用期限等に注意する必要があると推察される。

## 5. まとめ

結核菌 VNTR 分析に CES を適用し、さらに、PCR をマルチプレックス化する方法を構築した。本法を適用することで、従来のアガロースゲルを用いた分析よりもはるかに効率よく、かつ良好な精度で VNTR 分析を実施できるようになると考えられる。今後、本法を用いて分析を進めて改良を重ね、データを蓄積・解析していくことで、青森県の結核対策に寄与していきたい。

## 文 献

- 1) 青森県結核の概要 2020.  
[https://www.pref.aomori.lg.jp/soshiki/kenko/hoken/files/2020\\_gaiyou.pdf](https://www.pref.aomori.lg.jp/soshiki/kenko/hoken/files/2020_gaiyou.pdf) 令和 3 年 1 月 4 日閲覧.
- 2) Seto, J. *et al.*: Convenient PCR method for variable-number tandem-repeat typing of *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates *J. Microbiol. Methods*, **139**, 12-14, 2017.
- 3) 御手洗聡他: 厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)「国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究」班分担研究報告書 結核菌 VNTR 解析の外部精度評価, 令和 2 年度.
- 4) 淀谷雄亮他: 結核 VNTR 法における multiplex PCR を用いた解析方法の検討. 平成 30 年度川崎市健康安全研究所年報, 第 6 号(通巻第 54 号), 106-107, 令和元年度.
- 5) 地研協議会保健情報疫学部会マニュアル作成ワーキンググループ編: 結核菌 VNTR ハンドブック.

第一版, 2012 年 10 月.

6) 地域保健総合推進事業「地域における健康危機管理体制確保のための地方衛生研究所の連携協力の推進並びに検査精度の向上及び疫学情報機能の強化」:  
平成 28 年度結核菌 VNTR 技術研修会資料, 平成 28 年度

表 1 プライマー配列とマルチプレックス PCR における終濃度

Mix	#	領域名	配列		濃度 ( $\mu$ M)
1	21	miru4	FAM-GTCAAACAGGTCACAACGAGAGGAA	CCTCCACAATCAACACACTGGTCAT	0.1
	2	miru10	VIC-ACCGTCTTATCGGACTGCACTATCAA	CACCTTGGTGATCAGCTACCTCGAT	0.05
	23	miru16	NED-CGGGTCCAGTCCAAGTACCTCAAT	GATCCTCCTGATTGCCCTGACCTA	0.05
	7	miru26	PET-GCGGATAGGTCTACCGTCGAAATC	TCCGGGTCATACAGCATGATCA	0.1
2	9	miru31	FAM-CGTGGAAGAGAGCCTCATCAATCAT	AACCTGCTGACCGATGGCAATATC	0.05
	20	miru40	VIC-GATTCCAACAAGACGCAGATCAAGA	TCAGGTCTTCTCTCACGCTCTCG	0.025
	15	ETR-A	NED-CGAAGCCTGGGGTGCCCGGATTT	AAATCGGTCCCATCACCTTCTTAT	0.1
	24	ETR-C	PET-GTGAGTCGCTGCAGAACCTGCAG	GGCGTCTTGACCTCCACGAGTG	0.2
3	1	Mtub04	FAM-GTCCAGGTTGCAAGAGATGG	GGCATCCTCAACAACGGTAG	0.05
	3	Mtub21	VIC-AGATCCCAGTTGTCTGTCGTC	CAACATCGCCTGGTTCTGTA	0.025
	22	Mtub30	NED-AGTCACCTTCTCTACCCTCGTAAC	ATTAGTAGGGCACTAGCACCTCAAG	0.025
	19	Mtub39	PET-AATCACGGTAACTTGGGTTGTTT	GATGCATGTTTCGACCCGTAG	0.1
4	5	QUB11b	FAM-CCGATCTAGCCCGTGAAGA	AGGGTCTGATTGGCTACTCA	0.2
	11	QUB26	VIC-GAGCCAAATCAGGTCCGG	GAGGTATCAACGGGCTTGT	0.2
	12	QUB4156	NED-TGGTCGCTACGCATCGTGTGGCCCGT	TACCACCCGGGCAGTTTAC	0.1
	4	Mtub24	PET-CACTAGCTGCGTCACTGG	GCTGATTCCCGACGAAAG	0.05
5	14	QUB11a	FAM-CGTGATGTTGATCGGGATGT	ACCCTGGAGTCTGGCATC	0.1
	8	QUB15	VIC-TACATTCGCGCCAAAGG	AGGGGTTCTCGGTCACCC	0.025
	13	QUB18	NED-ATCGTCAGCTGCGGAATAGT	AATACCGGGATATCGGTTT	0.2
	16	QUB3232	PET-CAGACCCGGCGTCATCAAC	CCAAGGGCGGCATTGTGTT	0.1
6	10	QUB3336	FAM-ATCCCCGCGGTACCCATC	GCCAGCGGTGTCGACTATCC	0.2
	17	VNTR3820	VIC-TGCGCGGTGAATGAGACG	ACCTTCATCCTTGGCGAC	0.05
	18	VNTR4120	NED-GTTCACCGGAGCCAACC	GAGGTGGTTTCGTGGTTCG	0.05
	6	VNTR2372	PET-ACCTCCGTTCCGATAATC	CAGCTTTCAGCCTCCACA	0.2

#: JATA No.



図 1-1 分析方法調整後の H37Rv 株の Genotype plot (#1-4)



図 1-2 分析方法調整後の H37Rv 株の Genotype plot (#5-8)

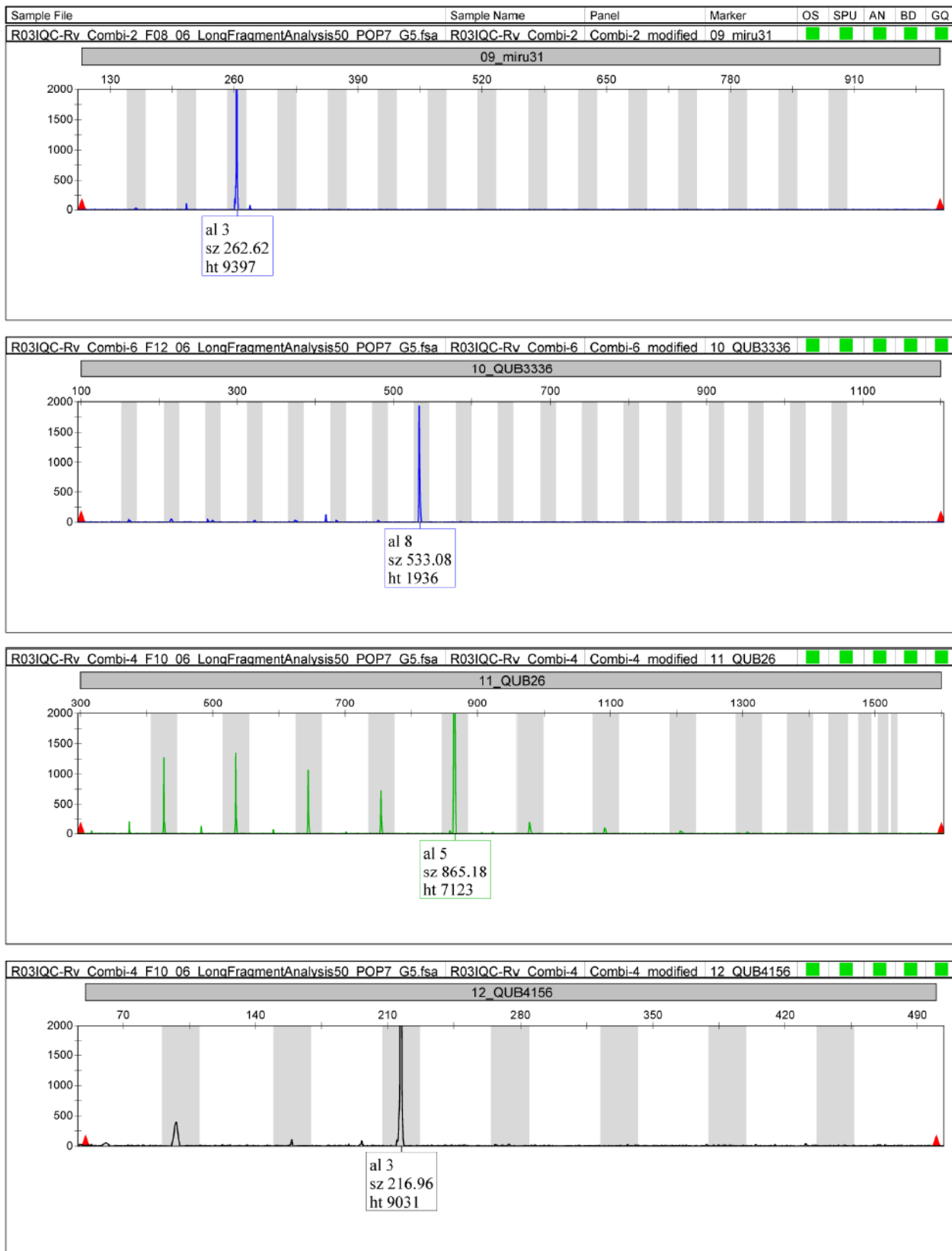


図 1-3 分析方法調整後の H37Rv 株の Genotype plot (#9-12)

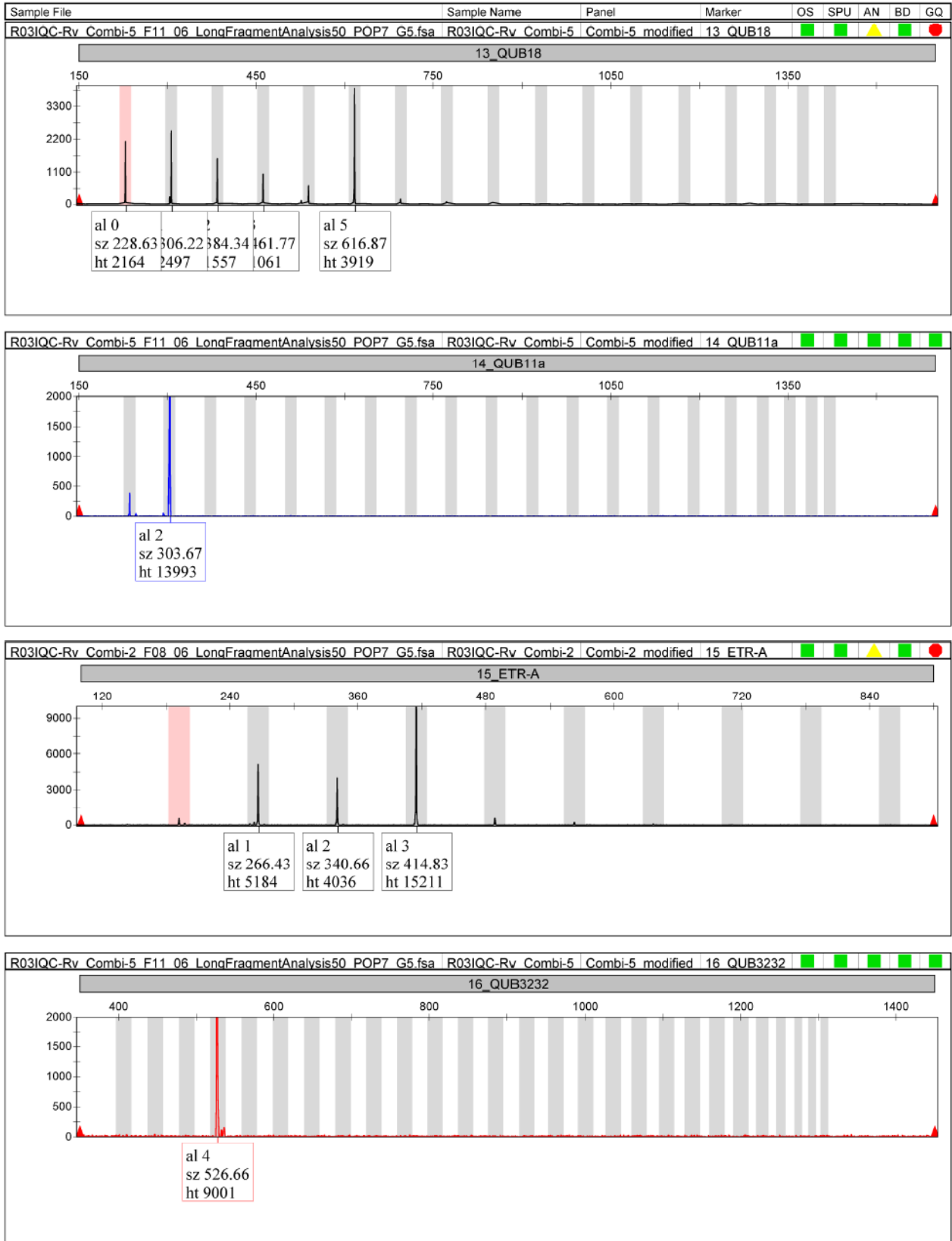


図 1-4 分析方法調整後の H37Rv 株の Genotype plot (#13-16)





図 1-5 分析方法調整後の H37Rv 株の Genotype plot (#17-20)

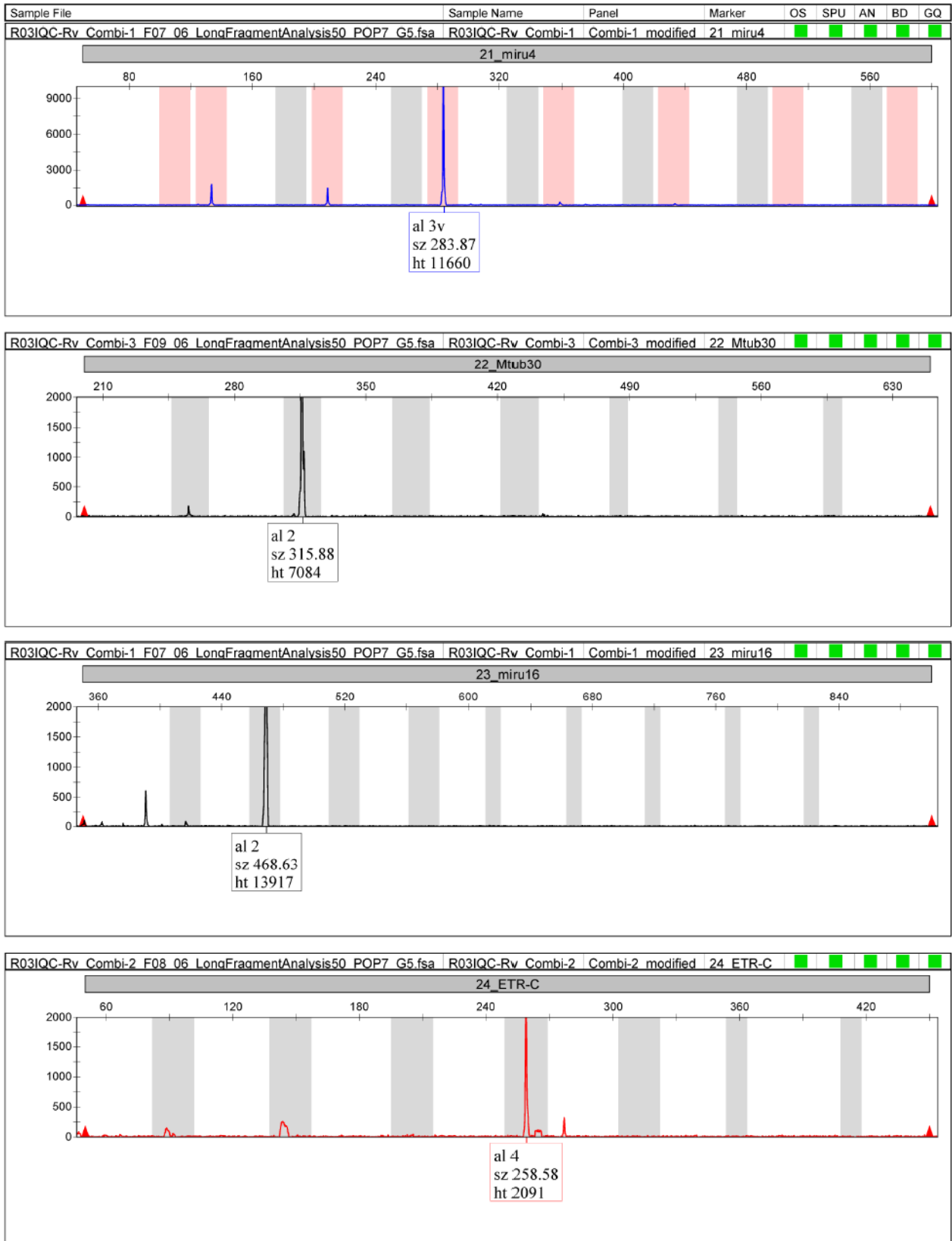


図 1-6 分析方法調整後の H37Rv 株の Genotype plot (#21-24)

(Summaries follow.)

## VNTR analysis of *Mycobacterium tuberculosis* using a capillary electrophoresis sequencer and multiplex PCR

Yohei Takahashi, Yukina Hashimoto, and Takeshi Yamagami

We examined the introduction of multiplex PCR assays using a capillary electrophoresis sequencer (CES) for VNTR analyses of *Mycobacterium tuberculosis*, which have previously been conducted by single PCR method using agarose gel. By conducting multiplex PCR using Platinum Multiplex PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific) with GC enhancer added for 20%, amplification products resulted at all 24 regions including those where amplification is difficult. Furthermore, after adjustment of primer concentrations, peaks were strong enough to allow analysis at a single dilution rate across all regions. This method appears to make it possible to efficiently conduct VNTR analyses of *M. tuberculosis* while preserving high accuracy.

Key words: *M. tuberculosis*, VNTR, CES, multiplex PCR

## 麻痺性貝毒マウスバイオアッセイにおけるキャリブレーション用標準化毒としての サキシトキシンとデカルバモイルサキシトキシンのマウス感受性比較

山本明美 中谷 実<sup>1</sup> 柴田めぐみ<sup>2</sup> 増田幸保 木村淳子 高坂典子<sup>3</sup>

麻痺性貝毒は死亡率の高い貝毒であり、日本のみならず EU などでも重要視されている貝毒である。AOAC OM 959.08 に準じたマウスバイオアッセイで標準化毒とされているサキシトキシン (STX) と日本で食品衛生外部精度管理調査にも使用されているデカルバモイルサキシトキシン (dcSTX) を同一条件でキャリブレーションに用い、マウス感受性を比較した。2 シーズン、同一条件下で併行使用することにより各物質の CF 値を算出し、得られる比毒性から相対毒性比を求めた。

各 60 尾のマウス群投与により得た基準 CF 値は各物質とも各シーズンでほぼ同じ値であった。また、マウス 5 尾に週 1 回、3 ヶ月間投与することで得た CF 値の変動幅はともに 10 %未満であった。

2 シーズンで得られた各 35 個の CF 値より算出した各物質の比毒性は、STX が 1969 MU/ $\mu$ mol、dcSTX が 1090 MU/ $\mu$ mol、dcSTX の STX に対する相対毒性比は 0.55 であり、Oshima の相対毒性比 0.51 と近い値であった。

Key words : paralytic shellfish toxins、 saxitoxin、 decarbamoylsaxitoxin、 mouse bioassay、  
conversion factor、 AOAC OM 959.08

### 1. はじめに

二枚貝中の麻痺性貝毒は日本のみならず世界的に食品衛生上、問題となっている貝毒である。その中毒症状はフグ (テトロドトキシン) 中毒と類似しており、口唇、舌、および顔面のしびれや四肢の麻痺が特徴的で、重症化した場合は横隔膜麻痺による呼吸不全により死に至る。麻痺性貝毒とはサキシトキシン (saxitoxin ; STX) とその同属体群の総称であり、主に *Alexandrium tamarense* (旧)、*Alexandrium catenella* (旧)、*Alexandrium tamiyavanichii* (旧)、*Gymnodinium catenatum* などの渦鞭毛藻によって生産される<sup>1,2,3</sup>。毒はプランクトン捕食性の二枚貝に移行、蓄積され、これを摂食したヒトに対し食中毒をもたらす。これら有毒渦鞭毛藻類は多数の STX 類縁体を生産するが、二枚貝などの捕食者の体内でも代謝により変換が行われ<sup>4</sup>、その異性体や類縁体が 50 種以上報告さ

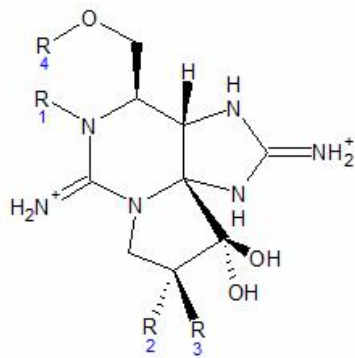
れており (Fig. 1)、類縁体によって毒性は大きく異なる。

麻痺性貝毒の検査法として、マウスバイオアッセイ (MBA)<sup>5</sup>をはじめ、レセプターバインディングアッセイ<sup>6,7</sup>、プレカラム HPLC 蛍光分析<sup>8,9</sup>、ポストカラム HPLC 蛍光分析<sup>10,11,12</sup>などの AOAC 公認法のほか LC-MS/MS 法など、さまざまな手法が報告されている。2021 年より EU では動物を使用した試験が禁止され、MBA は認められなくなったが、機器分析法では対象となるすべての類縁体の標準物質が必要となり、各類縁体の毒性を毒性等価係数 (Toxicity Equivalent Factor: TEF) により STX $\cdot$ 2HCl 当量に変換しその総和により毒量を求めることとなる。しかし、標準物質の供給は充分とは言えず、Codex 規格として FAO/WHO 専門家会議が採用した TEF<sup>13</sup>と欧州食品安全機関 (European Food Safety Authority: EFSA) が示した TEF<sup>14</sup>が異なるなど、課題は多い。

1 東青地域県民局環境管理部

2 環境生活部環境保全課

3 (一財) 食品薬品安全センター秦野研究所



R1	R2	R3	R4 : -CONH <sub>2</sub>	R4 : -CONHSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	R4 : -H
H	H	H	STX	GTX5	dcSTX
OH	H	H	neoSTX	GTX6	dcneoSTX
OH	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H	GTX1	C3	dcGTX1
H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H	GTX2	C1	dcGTX2
H	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	GTX3	C2	dcGTX3
OH	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	GTX4	C4	dcGTX4

Fig.1 Structures of major STX derivatives

STX: saxitoxin, neoSTX: neo saxitoxin, GTX: gonyautoxin, dc: decarbamoyl analogues

日本の麻痺性貝毒試験法（公定法）<sup>15)</sup>は二枚貝抽出物を腹腔内投与した際のマウス致死時間から毒量を求めるMBAである。二枚貝から希塩酸で加熱抽出して得た検液1 mLをマウス5尾にそれぞれ腹腔内投与し、秒単位で計測した致死時間の中央値からマウス単位換算表（Sommer's table）<sup>5)</sup>を基に試験溶液1 mLに相当するマウス単位(MU)を求めるものであり、使用するマウスはddY系、雄と指定されている。また、得られた試料の毒力が可食部として4 MU/gを超えるものを日本では規制しており、1 MUは、体重20 gのddY系雄マウスに腹腔内投与したとき15分で死亡させる毒量と定義されている。

この公定法はAOAC公認法であるAOAC OM 959.08<sup>9)</sup>に準拠しているが、マウスの感受性に差が出ないようにマウス種と性別を固定しているため、必ず指定されたマウスを使用する必要がある。これに対しAOAC OM 959.08では、特にマウス系統は指定せず、STX標準毒溶液をキャリブレーション溶液として投与することにより変換係数（Conversion Factor：CF値、μg/MU）を求め、試験を標準化する。このCF値は1 MUに相当するSTX量（μg）を意味しており、毒量はSTX・2HCl当量に変換した形で表すこととされている。

現在使用されている規制値はCodex委員会では0.8 mg STX・2HCl当量/kgとしているが、米国とEUでは0.8 mg/kg、カナダは0.8 mg STX等量/kg、と使用される単位は異なっている。日本ではSTXは「化学兵器の禁止及び特定物質の規制に関する法律」（平成7年4月5日法律第65号）に規定された特定物質であり、製造はもちろんのこと所持等にも厳しい制限があるため、これを用いて換算値を出すことは難しい現状にある。

日本の規制値である4 MU/gは、0.8 mg STX・2HCl当量/kgとほぼ同等であることをベースとしており<sup>16)</sup>、この場合、STXのCF値は0.2 μg/MUとなる。一般財団法人食品薬品安全センター秦野研究所（以下、食薬センター）が食品衛生外部精度管理調査として実施している動物を用いた麻痺性貝毒検査では、STX群の一つであるデカルバモイルSTX（decarbamoylSTX: dcSTX）をSTXの代替毒として使用している。これは、Oshimaが厚生科学特別研究事業により平成8年に実施した結果<sup>16)</sup>に基づき実施されているものであるが、実際にこれを用いて得たCF値とSTXを用いて得たCF値が同じであるかの比較は難しい。

AOAC OM 959.08のもととなっているSommer's tableに示されている致死時間とマウス単位をプロットするとFig.2に示す曲線となるが、5~7分の範囲では直線性が得られる<sup>14)</sup>。AOAC OM 959.08によるMBAでは、中央致死時間が5~7分となる濃度でSTX標準毒を投与し、基準となるCF値（基準CF値とする）を決定することとされている。

筆者らは、STX標準溶液とdcSTX標準溶液を中央致死時間が5~7分となる濃度に希釈しAOAC OM 959.08に準じて同一条件下でマウスに投与し、STXとdcSTXでそれぞれ基準CF値を求め、各物質の1 μmolあたりの毒性値を算出した。それにより当試験室におけるMBAによる各物質の比毒性（1 μmolあたりの毒がマウスを殺す毒力: Specific toxicity; MU/μmol）を求め、dcSTXのSTXに対する相対毒性比を算出して、提唱されているTEFと比較した。

また、基準CF値を算出後の各CF値（確認用

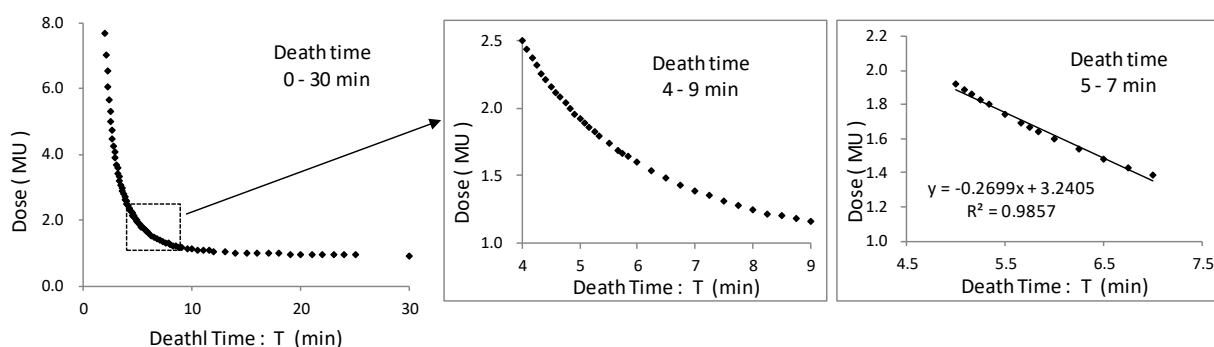


Fig.2 Dose-death time relationship of STX based on Sommer' s table

Table 1 Preparations and toxin concentrations of sample solutions used in AOAC OM 959.08

Stock solutions	Volume of the stock solution (mL)	Volume of 0.003 mol/L HCl (mL)	Final concentration		Converted concentration* (FDA-STX $\mu\text{g/mL}$ )
			( $\mu\text{g/mL}$ )	( $\mu\text{mol/L}$ )	
STX-2HCl	10	21	0.323	0.867	-
Working Standard Solutions (1 $\mu\text{g/mL}$ )	10	22	0.313	0.840	-
	10	23	0.303	0.814	-
dcSTX diacetate Standard Solutions (2.35 $\mu\text{mol/L}$ )	20	11	0.571	1.52	0.290
	20	12	0.553	1.47	0.281

※ The values derived from a factor of 0.45 FDA-STX  $\mu\text{g/mL}$  calculated based on specific toxicities of STX (2483  $\text{MU}/\mu\text{mol}$ ) and dcSTX (1274  $\text{MU}/\mu\text{mol}$ ) reported by Oshima.<sup>11)</sup>

CF 値とする) のばらつき等を確認し、dcSTX は STX と同等の安定した CF 値が得られるか検証した。また、CF 値は日本の公定法のベースとなっている値である 0.2  $\mu\text{g}/\text{MU}$  となり、4  $\text{MU}/\text{g}$  が 0.8  $\text{mg}$  STX 当量/kg とほぼ同等となるか検証した。

## 2. 実験方法

### 2.1 材料

STX 標準溶液は、FDA より供与された 100  $\mu\text{g/mL}$  STX-2HCl 塩酸溶液を使用した。STX 標準溶液 0.3 mL を 5 mmol/L 塩酸溶液で希釈し 30 mL とした STX-2HCl 実用標準溶液 (1  $\mu\text{g/mL}$ ) を調製し使用した。

dcSTX 標準溶液は、食薬センターより提供された 2.35  $\mu\text{mol/L}$  dcSTX-二酢酸塩酢酸溶液を使用した。この溶液は、食薬センターが実施している食品衛生外部精度管理調査に使用されたものであり、定量 NMR により値付されたものである。ま

た、この溶液には Oshima が提唱した比毒性、STX 2483  $\text{MU}/\mu\text{mol}$ 、dcSTX 1274  $\text{MU}/\mu\text{mol}$ <sup>11)</sup>に基づき、STX-2HCl 換算値として 0.45 FDA-STX  $\mu\text{g/mL}$  の値が付与されている。実際に STX を使用して求めた値と区別するため、この付与された換算値の単位を FDA-STX  $\mu\text{g/mL}$  とし、参考として示す。

マウスは日本 SLC 株式会社より購入した 4 週齢の ICR 系雄マウスを 2 日間順化して使用した。マウスの体重を計測し 19~21 g のものを使用した。やむをえず 19 g 未満のマウスを使用する場合には、その群すべてマウスの体重補正を行った。なお、21 g を超えるマウスは使用しなかった。

### 2.2 標準投与溶液の調製

標準投与溶液 1 mL を腹腔内投与した際の致死時間の中央値が 5~7 分となるように STX-2HCl 実用標準溶液および dcSTX 標準溶液をそれぞれ希釈し調製した。希釈液には 3 mmol/L 塩酸を使用し、希釈液量を 1 mL ずつ変えた 2 または 3 濃

度を調製した (Table 1)。STX-2HCl および dcSTX-二酢酸塩の分子量はそれぞれ 372.21、376.37 とした。各投与溶液は調製後、4 °C で保存した。

### 2.3 実施時期

ホタテガイの採捕時期に当たる 1 月から 3 月を 1 シーズンとした。各シーズン前の 11 月または 12 月に基準 CF 値を決定した。

シーズン 1 は 2017/1/12 から 2017/3/23、シーズン 2 は 2018/1/11 から 2018/3/22 で MBA を実施し、週 1 回 CF 値の変動確認をした。シーズン 2 では、検査員の技能確認試験 (2017/11/16) の際の CF 値もデータとした。

### 2.4 基準 CF 値の決定

基準 CF 値とは通常 MBA を行う際の標準点となるもので、この決定した値を用いて STX 換算値 (STX-2HCl 当量) を算出する。シーズン毎に AOAC OM 959.08 に準じ以下のように STX および dcSTX の基準 CF 値を求めた。

1 日目: 致死時間の中央値が 5~7 分になるよう調製された投与溶液 (2 濃度) をそれぞれ 10 尾のマウスに 1 mL ずつ腹腔内投与し致死時間を測定した。マウスの致死時間が短い順に並べ、5 番目と 6 番目の平均値を中央致死時間とし、Sommer's table から投与溶液 1 mL 中のマウス単位毒力 (MU/mL) を求めた。投与溶液濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ ) をマウス単位毒力 (MU/mL) で除した値を CF 値 ( $\mu\text{g/MU}$ ) とした。

2 日目: 前日に調製した投与溶液 (2 濃度) を、各 10 尾のマウス群に投与し、同様に CF 値を求めた。

また、前日に調製した濃度と同濃度の投与溶液 (2 濃度) を新たに調製し、各 10 尾のマウスに投与して同様に CF 値を求めた。

2 日間で合計 60 尾のマウスを使用し、得られた 6 個の CF 値の平均値を求め、これを基準 CF 値とした。

基準 CF 値の決定は、シーズン前に 1 回実施した。投与者によるばらつきを防ぐため、一連の作業は両シーズンとも同一者 (投与者 A) が実施した。

### 2.5 確認用 CF 値の変動確認

CF 値はマウスの感受性や投与者の手技等で変動するため、AOAC OM 959.08 では、定期的に CF 値を求めマウスの感受性を確認することとされている。また、変動の規定範囲は、基準 CF 値の  $\pm 20\%$  以内とされている。ここで得られた CF 値を確認用 CF 値とし、安定した CF 値となるかその変動を確認した。

STX および dcSTX 標準投与溶液について、それぞれ基準 CF 値決定時と同濃度の投与溶液を調製し、各 5 尾のマウスに投与した。

シーズン 1 では投与者 A (基準 CF 値決定での投与者) が 1 名で実施し、シーズン 2 では投与者 A~D の 4 名で実施し、投与者によるばらつきの程度も確認した。

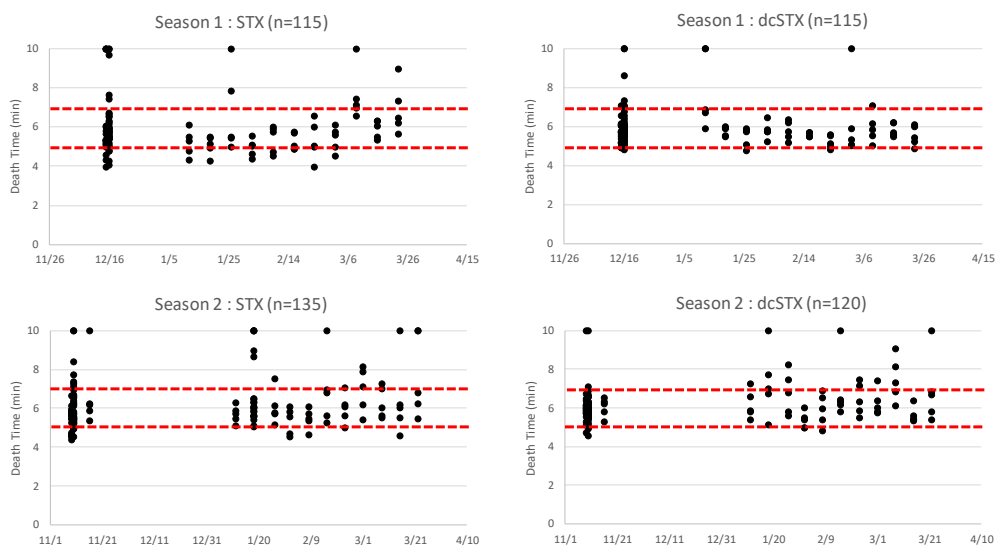


Fig.3 Death time of all mice in MBAs with STX and dcSTX standardized solutions. Mice that did not die and that died after 10 minutes were set to 10 minutes according to the data.

### 3. 結果と考察

#### 3.1 STX と dcSTX の致死時間のばらつき方の比較

全 MBA の致死時間を投与日ごとにプロットして Fig.3 に示した。死亡しなかったマウスおよび 10 分以上で死亡したマウスはデータ上 10 分とした。

基準 CF 値は両シーズンとも同一の 2 濃度を 2 日間で 1 日目 20 尾、2 日目 40 尾の計 60 尾に同一投与者が投与した結果である。11 月または 12 月に実施したが、STX 同様 dcSTX も概ね定量範囲とされる 5~7 分を中心にマウスは死亡し、両シーズンともばらつき幅は同等であった。

シーズン開始後の週 1 回の確認用 CF 値は、基準 CF 値決定時と同じ 1 濃度の投与溶液を 5 尾に

投与した結果である。両物質とも概ね致死時間は 4~8 分であったが、同一投与者が投与したシーズン 1 では、dcSTX のほうが致死時間のばらつき幅は小さかった。

STX 投与においては、シーズン 1 では CF 値決定時の濃度では致死時間が 5 分未満となるマウスが散見されたため、2/23 より決定時と異なる濃度 (0.303  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) の投与溶液を使用した。また、複数投与者としたシーズン 2 では 1/18 に 5 尾投与で規定範囲 (基準 CF 値 0.189  $\mu\text{g}/\text{MU}$  の  $\pm 20\%$  以内) を満たさなかったため、AOAC OM 959.08 に従い計 20 尾に投与して新たに基準 CF 値を設定した (Table 3 \*参照)。

Table 2 CF values and toxicity ratios determined by MBA using STX and dcSTX standardized solutions

1st Season											
Toxin	Group No. <sup>a)</sup>	Date Pre. <sup>b)</sup>	Date Inj. <sup>c)</sup>	Dose ( $\mu\text{g}/\text{mouse}$ )	Median death time (sec)	Median MU <sup>d)</sup> (MU/mL)	Individual CF <sup>e)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{MU}$ )	CF value <sup>f)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{MU}$ )	Toxicity (MU/ $\mu\text{mol}$ )	Average of toxicity (MU/ $\mu\text{mol}$ )	Toxicity ratio of dcSTX to STX (mole based)
STX $\cdot$ 2HCl	1	12/15	12/15	0.313	343	1.678	0.186	0.186	1999	2004	0.555
	2	12/15	12/15	0.323	318	1.812	0.178		2091		
	3	12/15	12/16	0.313	354	1.624	0.192		1934		
	4	12/15	12/16	0.323	332	1.730	0.186		1996		
	5	12/16	12/16	0.313	337	1.705	0.183		2031		
	6	12/16	12/16	0.323	336	1.710	0.188		1973		
dcSTX diacetate salt	1	12/15	12/15	0.553	353	1.628	0.339	0.339	1108	1113	0.555
	2	12/15	12/15	0.571	332	1.730	0.329		1141		
	3	12/15	12/16	0.553	320	1.800	0.307		1226		
	4	12/15	12/16	0.571	345	1.670	0.341		1101		
	5	12/16	12/16	0.553	380	1.520	0.363		1035		
	6	12/16	12/16	0.571	356	1.616	0.353		1066		
2nd Season											
Toxin	Group No. <sup>a)</sup>	Date Pre. <sup>b)</sup>	Date Inj. <sup>c)</sup>	Dose ( $\mu\text{g}/\text{mouse}$ )	Median death time (sec)	Median MU <sup>d)</sup> (MU/mL)	Individual CF <sup>e)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{MU}$ )	CF value <sup>f)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{MU}$ )	Toxicity (MU/ $\mu\text{mol}$ )	Average of toxicity (MU/ $\mu\text{mol}$ )	Toxicity ratio of dcSTX to STX (mole based)
STX $\cdot$ 2HCl	1	11/9	11/9	0.313	348	1.652	0.189	0.189	1968	1975	0.550
	2	11/9	11/9	0.323	325	1.770	0.182		2042		
	3	11/9	11/10	0.313	333	1.725	0.181		2055		
	4	11/9	11/10	0.323	359	1.604	0.201		1851		
	5	11/10	11/10	0.313	328	1.752	0.178		2087		
	6	11/10	11/10	0.323	360	1.600	0.201		1846		
dcSTX diacetate salt	1	11/9	11/9	0.553	351	1.636	0.337	0.346	1114	1086	0.550
	2	11/9	11/9	0.571	368	1.568	0.363		1034		
	3	11/9	11/10	0.553	350	1.640	0.337		1117		
	4	11/9	11/10	0.571	359	1.604	0.355		1058		
	5	11/10	11/10	0.553	353	1.628	0.339		1108		
	6	11/10	11/10	0.571	349	1.646	0.346		1086		

- a) Ten mice were used in each group, b) Date of preparation of injection solutions, c) Date of injection, d) Mouse unit by Sommer's table, e) Conversion factor, calculated as amount of toxin injected divided by the median MU, f) Average of 6 individual CF values, used as reference point to check routine assays.



Table 3 Confirmatory CF values in MBA performed using STX and dcSTX standardized solutions

1st Season

Exp. No. <sup>a)</sup>	Date Inj. <sup>b)</sup>	injec tor	Date Pre. <sup>c)</sup>	STX 2HCl				dcSTX diacetate salt				Toxicity ratio of dcSTX to STX (mole based)			
				dose (µg /mouse)	Median death time (sec)	Median MU <sup>d)</sup> (MU/mL)	CF <sup>e)</sup> (µg/MU)	Toxicity (MU/ µmol)	Date Pre. <sup>c)</sup>	dose (µg /mouse)	Median death time (sec)		Median MU <sup>d)</sup> (MU/mL)	CF <sup>e)</sup> (µg/MU)	Toxicity (MU/ µmol)
1	1/12	A	12/15	0.313	319	1.806	0.173	2151	12/15	0.553	411	1.414	0.390	963	0.448
2	1/19	A	12/15	0.313	308	1.872	0.166	2230	12/15	0.553	354	1.624	0.340	1106	0.496
3	1/26	A	12/15	0.313	330	1.740	0.179	2072	12/16	0.553	345	1.670	0.331	1137	0.549
4	2/2	A	12/16	0.313	304	1.896	0.164	2258	12/15	0.571	343	1.678	0.340	1107	0.490
5	2/9	A	12/16	0.313	346	1.664	0.187	1982	12/15	0.553	344	1.674	0.330	1140	0.575
6	2/16	A	12/16	0.313	304	1.896	0.164	2258	12/16	0.571	341	1.686	0.338	1112	0.492
7	2/23	A	2/21	0.303	302	1.908	0.158	2344	2/8	0.553	308	1.872	0.295	1275	0.544
8	3/2	A	2/21	0.303	337	1.705	0.177	2094	2/23	0.553	320	1.800	0.307	1226	0.585
9	3/9	A	2/21	0.303	429	1.366	0.221	1678	2/8	0.553	351	1.636	0.337	1114	0.664
10	3/16	A	2/21	0.303	363	1.588	0.190	1951	2/23	0.553	340	1.690	0.327	1151	0.590
11	3/23	A	2/21	0.303	390	1.480	0.204	1818	2/8	0.553	327	1.758	0.314	1197	0.658
<b>Average</b>							<b>0.180</b>	<b>2076</b>					<b>0.332</b>	<b>1139</b>	<b>0.554</b>
<b>SD</b>							<b>0.019</b>	<b>204</b>					<b>0.024</b>	<b>80</b>	<b>0.070</b>
<b>RSD(%)</b>							<b>10.6</b>	<b>9.8</b>					<b>7.3</b>	<b>7.0</b>	<b>12.6</b>
Minimum value							0.164	1678					0.295	963	0.448
Maximum value							0.221	2344					0.390	1275	0.664

2nd Season

Exp. No. <sup>a)</sup>	Date Inj. <sup>b)</sup>	injec tor	Date Pre. <sup>c)</sup>	STX 2HCl				dcSTX diacetate salt				Toxicity ratio of dcSTX to STX (mole based)			
				dose (µg /mouse)	Median death time (sec)	Median MU <sup>d)</sup> (MU/mL)	CF <sup>e)</sup> (µg/MU)	Toxicity (MU/ µmol)	Date Pre. <sup>c)</sup>	dose (µg /mouse)	Median death time (sec)		Median MU <sup>d)</sup> (MU/mL)	CF <sup>e)</sup> (µg/MU)	Toxicity (MU/ µmol)
1	11/16	B	11/9	0.323	369	1.564	0.206	1805	11/9	0.571	374	1.544	0.369	1018	0.564
2	1/11	C	11/9	0.313	343	1.678	0.186	1999	11/9	0.553	350	1.640	0.337	1117	0.559
3	1/18	D	11/10-1/18	0.323	*	*	0.201	1845	11/10	0.571	418	1.395	0.409	920	0.499
4	1/26	A	11/9	0.323	346	1.664	0.193	1920	11/10	0.553	406	1.427	0.387	972	0.506
5	2/1	C	1/18	0.323	332	1.730	0.186	1996	11/10	0.571	324	1.776	0.321	1171	0.587
6	2/8	A	11/9	0.313	328	1.752	0.178	2087	11/9	0.571	357	1.612	0.353	1063	0.510
7	2/15	D	11/10	0.313	407	1.425	0.219	1697	11/10	0.571	379	1.524	0.374	1005	0.592
8	2/22	C	11/10	0.313	363	1.588	0.196	1891	2/21	0.553	380	1.520	0.363	1035	0.547
9	3/1	A	11/10	0.313	426	1.374	0.227	1637	11/9	0.553	361	1.596	0.346	1087	0.664
10	3/8	D	1/18	0.323	360	1.600	0.201	1846	2/21	0.553	437	1.345	0.410	916	0.496
11	3/15	C	11/10	0.323	360	1.600	0.201	1846	2/21	0.553	327	1.758	0.314	1197	0.648
12	3/22	D	1/18	0.323	409	1.419	0.227	1637	2/21	0.553	411	1.389	0.397	946	0.578
<b>Average</b>							<b>0.202</b>	<b>1851</b>					<b>0.365</b>	<b>1037</b>	<b>0.562</b>
<b>SD</b>							<b>0.016</b>	<b>142</b>					<b>0.032</b>	<b>93</b>	<b>0.056</b>
<b>RSD(%)</b>							<b>7.9</b>	<b>7.7</b>					<b>8.8</b>	<b>9.0</b>	<b>9.9</b>
Minimum value							0.178	1637					0.314	920	0.496
Maximum value							0.227	2087					0.410	1197	0.664

a) Five mice were used in each experiment, b) Date of injection, c) Date of preparation of injection solutions, d) Mouse unit of median death time by Sommer's table, e) Conversion factor, calculated as amount of toxin injected divided by the median MU

\* Because the CF value did not fall within  $\pm 20\%$ , complete a group of 10 mice by adding more 5 mice to the mice already injected, and injected second group of 10 mice with same dilution of injection solution. Average CF value determined for second group with that of first group, took resulting value as new CF value.

これに対し、dcSTX では複数投与者としたシーズン 2 でも基準 CF 値決定時と同濃度投与で確認用 CF 値が規定範囲を外れることはなく、安定した CF 値が得られた。

### 3.2 基準 CF 値の比較

基準 CF 値は、MBA で求めたマウスの毒力中央値を STX-2HCl 換算する際に用いる値である。

基準 CF 値を求めた結果を Table 2 に示す。STX および dcSTX の 1  $\mu\text{mol}$  あたりの毒性値 (MU/ $\mu\text{mol}$ ) も併せて示す。

STX-2HCl を用いて決定した基準 CF 値は、シーズン 1 で 0.186  $\mu\text{g}/\text{MU}$ 、シーズン 2 で 0.189  $\mu\text{g}/\text{MU}$  で、当所において 2004 年から 2013 年に年 1 回、同じ操作で求めた基準 CF 値 0.194  $\pm$  0.014  $\mu\text{g}/\text{MU}$ <sup>17)</sup> の範囲内であった。

同様に実施して得られた dcSTX-二酢酸塩としての基準 CF 値は、シーズン 1 で 0.339  $\mu\text{g}/\text{MU}$ 、シーズン 2 で 0.346  $\mu\text{g}/\text{MU}$  であった。

同一投与者により実施した結果、得られた基準 CF 値は両シーズンでほぼ同じ値であった。

### 3.3 確認用 CF 値の比較

確認用 CF 値は、マウス感受性等の変動を見るためのもので、STX-2HCl 換算に使用されるものではない。

確認用 CF 値の結果を Table 3 に示す。

確認用 CF 値と基準 CF 値決定時の投与者を同一の 1 名としたシーズン 1 では、確認用 CF 値の平均値は STX で 0.180  $\mu\text{g}/\text{MU}$ 、dcSTX で 0.332  $\mu\text{g}/\text{MU}$  となり、基準 CF 値とほぼ同じ値であった。ばらつきは STX が 10.6%、dcSTX は 7.3%であった。

シーズン 2 では確認用 CF 値を複数投与者としたため手技によるばらつきで変動幅が大きくなることが想定され、STX では 5 尾投与で規定範囲外 (CF 値 0.271  $\mu\text{g}/\text{MU}$ ) となった回 (投与日 1/18) があった。この際には、AOAC OM 959.08 に従い、同一溶液を更に 5 尾に投与して 10 尾の中央致死時間から CF 値 (0.211  $\mu\text{g}/\text{MU}$ ) を求め、また、同一濃度の溶液を新たに調製し別の 10 尾のマウスに投与して CF 値 (0.192  $\mu\text{g}/\text{MU}$ ) を求め、2 つの CF 値の平均を新しい基準 CF 値 (0.201  $\mu\text{g}/\text{MU}$ ) とした。これに対し、dcSTX では全ての回で規定範囲内に収まった。確認用 CF 値の平均値は、STX が 0.202  $\mu\text{g}/\text{MU}$ 、dcSTX が 0.365  $\mu\text{g}/\text{MU}$ 、ばらつきは STX が 7.9%、dcSTX が 8.8%であった。平均値は基準 CF 値と比較して高めとなったが、ば

らつきは 1 名で実施した場合とほぼ変わらず、10%以内であった。

### 3.4 dcSTX の STX に対する相対毒性比

基準 CF 値決定時の STX および dcSTX 各々 6 個の CF 値から得られた 1  $\mu\text{mol}$  あたりの毒性値の平均より、dcSTX の STX に対する相対毒性比を算出したところ、シーズン 1 では 0.555、シーズン 2 では 0.550 となった (Table 2)。

また、Table 3 に示した確認用 CF 値の結果を基に算出した試験回毎の dcSTX の STX に対する相対毒性比は、シーズン 1 では 0.554  $\pm$  0.070、シーズン 2 では 0.562  $\pm$  0.056 であった。試験回毎に変動が見られるが、その平均値は、基準 CF 値決定時の相対毒性比とほぼ同じであった。確認用 CF 値における投与者ごとの相対毒性比 (平均  $\pm$  SD) の内訳は、A が 0.555  $\pm$  0.071 (14 回投与)、B が 0.564 (1 回投与)、C が 0.585  $\pm$  0.045 (4 回投与)、D が 0.541  $\pm$  0.051 (4 回投与) であった。

基準 CF 値および確認用 CF 値を求めた際に得られた各 35 個の個々の CF 値から本研究での当該試験室における CF 値を算出した。STX-2HCl による CF 値は 0.190  $\pm$  0.017  $\mu\text{g}/\text{MU}$ 、dcSTX-二酢酸塩による CF 値は 0.347  $\pm$  0.028  $\mu\text{g}/\text{MU}$  であった。また、1  $\mu\text{mol}$  あたりの毒性値 (比毒性) を算出したところ、STX が 1969  $\pm$  172 MU/ $\mu\text{mol}$ 、dcSTX が 1090  $\pm$  86 MU/ $\mu\text{mol}$  であった。これから求められる dcSTX の STX に対する相対毒性比は 0.55 であり、Oshima の相対毒性比 0.51 と近い値であった。

本研究で得られた dcSTX-二酢酸塩の CF 値に、dcSTX の相対毒性比あるいは TEF (本研究: 0.55、Oshima: 0.51、Codex 規格: 0.5<sup>13)</sup>、EFSA: 1.0<sup>14)</sup>) を乗じて、STX-2HCl に換算した CF 値を Table 4 に示した。また、この値と STX-2HCl を用いて得た CF 値により日本の規制値である 4 MU/g を STX-2HCl 換算した値も合わせて示した。

Table 4 Regulatory limits calculated using the CF values obtained in this study

Toxin	CF value		TEFs			Converted CF values *	Converted 4 MU/g
	Yamamoto <i>et al.</i>	Yamamoto <i>et al.</i>	Oshima <sup>11)</sup>	Codex <sup>13)</sup>	EFSA <sup>14)</sup>	( $\mu\text{g STX-2HCl eq./MU}$ )	( $\text{mg STX-2HCl eq./kg}$ )
STX-2HCl	0.190						0.760
		0.55				0.191	0.763
dcSTX			0.51			0.177	0.708
diacetate salt	0.347			0.5		0.174	0.694
					1.0	0.347	1.388

\* The values ( $\mu\text{g STX-2HCl eq./MU}$ ) that multiplied the CF value of dcSTX diacetate salt by TEFs.

#### 4. まとめ

AOAC OM959.08 に準じ、同一条件下で STX および dcSTX を標準物質として基準 CF 値を求め、更に確認用 CF 値によりその変動を確認した結果、dcSTX-二酢酸塩は STX-2HCl と同等に安定した CF 値が得られる物質であることを確認した。

2021 年より EU では麻痺性貝毒検査に動物を使用してはならないとされ、機器分析が規制値レベルの判断に用いられることとなった。STX の所持等が難しい日本では、機器分析への移行にはクリアすべき問題点が多数あると思われるが、二枚貝等を輸出する際には麻痺性貝毒の毒力値を STX 換算することが必須とされる。

本研究の結果、STX-2HCl を用いて求めた CF 値は  $0.190 \mu\text{g/MU}$  であり、日本の公定法のベースとなっている値 ( $0.2 \mu\text{g/MU}$ ) と比較すると若干低いながらも概ね同等であった。この CF 値を用いると  $4 \text{ MU/g}$  の場合、 $0.760 \text{ mg STX-2HCl 当量/kg}$  となった。食薬センターの食品衛生外部精度管理調査で STX の代替標準毒に使用されている dcSTX-二酢酸塩を用いた CF 値は、Oshima の相対毒性比や Codex 規格の TEF を用いて STX-2HCl 換算すると、実際に STX-2HCl を用いた値に比べやや低めに見積もられた。逆に、EFSA が提唱する TEF を用いた場合にはほぼ 2 倍の  $1.388 \text{ mg STX-2HCl 当量/kg}$  となった。この結果を踏まえると、dcSTX を標準毒として用いる場合、日本の規制値より低い  $2 \text{ MU/g}$  をモニタリングレベルに

設定すると規制値  $0.8 \text{ mg STX-2HCl 当量/kg}$  を超えない安全側で出荷できると考えられた。

#### 謝 辞

本研究は、平成 28 年及び 29 年の厚生労働科学研究費補助金食品の安全確保推進研究事業により実施した。ご指導くださいました国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部第二室の大城直雅室長に深謝いたします。また、本稿執筆にあたってご助言頂きました国立研究開発法人水産研究・教育機構水産技術研究所環境・応用部門の渡邊龍一博士に心から感謝申し上げます。

#### 引用文献

- 1) Oshima, Y. : Chemical and biochemical studies on paralytic shellfish toxins. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **74** (5), 767-771, 2008
- 2) Suzuki, T. : Regulatory levels, monitoring system of shellfish toxins and instrumental analyses. *Food Hyg. Saf. Sci.*, **57** (5), 117-132, 2016
- 3) Noguchi, T. : Marine Toxins, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **69** (6), 895-909, 2003
- 4) Oshima, Y. : Chemical and enzymatic transformation of paralytic shellfish toxins in marine organisms,

- Harmful Marine Algal Blooms、 P. Lassis、 G. Arzul、 E. Erard、 P. Gentien、 C. Marcaillou (eds.)、 Lavoisier Publ.、 1995、 p.475-480.
- 5) AOAC Official Method 959.08 : Paralytic shellfish poison、 Biological method. AOAC INTERNATIONAL、 Gaithersburg、 MD、 2005
- 6) AOAC Official Method 2011.27 : Paralytic shellfish toxins(PSTs) in shellfish 、 Receptor binding assay. AOAC INTERNATIONAL、 Gaithersburg、 MD、 2013
- 7) Van Dolah、 F.M.、 Fire、 S.E.、 Leighfield、 T.A.、 Mikulski、 C.M.、 Doucette、 G.J. : Determination of paralytic shellfish toxins in shellfish by receptor binding assay : Collaborative Study.、 *JAOAC Int.*、 **95** (3)、 795-812、 2012
- 8) AOAC Official Method 2005.06 : Paralytic shellfish poisoning toxins in shellfish 、 Prechromatographic oxidation and liquid chromatography with fluorescence detection.、 AOAC INTERNATIONAL、 Gaithersburg、 MD、 2005
- 9) Lawrence、 J.F.、 Niedzwiadek、 B.、 Menard、 C. : Quantitative determination of paralytic shellfish poisoning toxins in shellfish using prechromatographic oxidation and liquid chromatography with fluorescence detection : Collaborative study.、 *JAOAC Int.*、 **88** (6)、 1714-1732 、 2005
- 10) AOAC Official Method 2011.02 : Paralytic shellfish toxins in mussels、 clams、 oysters、 and scallops、 Post-column oxidation(PCOX) method. 、 AOAC INTERNATIONAL、 Gaithersburg、 MD、 2013
- 11) Oshima、 Y. : Postcolumn derivatization liquid chromatographic method for paralytic shellfish toxins. *JAOAC Int.*、 **78** (2)、 528-532、 1995
- 12) van de Riet、 J.M.、 Gibbs、 R.S.、 Chou、 F.W.、 Muggah、 P.M.、 Rourke、 W.A.、 Burns、 G.、 Thomas、 K.、 Quilliam、 M.A. : Liquid chromatographic post-column oxidation method for analysis of paralytic shellfish toxins in mussels、 clams、 scallops、 and oysters: Single-laboratory validation. *JAOAC Int.* 92 (6)、 1690-1704 、 2009
- 13) FAO/WHO. Technical paper on Toxicity equivalence factors for marine biotoxins associated with bivalve molluscs.、 Rome、 2016
- 14) EFSA. Marine biotoxins in shellfish — Saxitoxin group; Scientific Opinion of Panel on Contaminants in the Food Chain. *EFSA Journal*、 1019、 1-76、 2009
- 15) 食品衛生検査指針 (理化学編) 2015、 827-834
- 16) 大島泰克、麻痺性貝毒試験に用いる標準品の開発に係る研究.厚生科学特別研究事業研究報告書 (平成8年度) 4-2
- 17) 木村淳子、神毅統、玉熊義久、澤田譲、棟方美穂子、檜山宝孝、五日市健夫、増田幸保、佐藤裕久. マウス試験による麻痺性貝毒検査の信頼性. 青森県環境保健センター研究報告、 **25**、 33-39、 2014
- ※ 試験に使用した標準溶液はすべて「化学兵器の禁止及び特定物質の規制等に関する法律」の規定に従い、試験終了後にNaOHを用いて毒分解処理を行い、廃棄している。

## A comparison of mouse susceptibility to saxitoxin and decarbamoylsaxitoxin as reference materials for calibration in mouse bioassays for paralytic shellfish toxins

Akemi Yamamoto, Minoru Nakaya<sup>1</sup>, Megumi Shibata<sup>2</sup>, Yukiyasu Masuda, Junko Kimura, and Noriko Takasaka<sup>3</sup>

Paralytic shellfish toxin is a type of shellfish toxin with a high lethality rate and of great concern not only in Japan but also in the EU. We compared mouse susceptibility to saxitoxin (STX), which is the reference material in mouse bioassays conforming to the AOAC OM 959.08, and decarbamoylsaxitoxin (dcSTX), which is used in proficiency testing for food hygiene in Japan, by using them for calibration under the same conditions. Across two seasons, we conducted examinations using the two toxins under the same conditions to obtain CF values of each-toxin and determined relative toxicity ratios based on the observed molar toxicity.

The reference CF values obtained from 60 mice in each group were generally consistent for each substance throughout each season. In addition, the percent changes in CF values obtained from weekly administration to 5 mice over 3 months were less than 10% for both-toxins.

The-molar toxicity calculated from 35 CF values for each toxin during the two seasons were 1969 MU/ $\mu$ mol for STX and 1090 MU/ $\mu$ mol for dcSTX, with the relative toxicity ratio of dcSTX to STX being 0.55, which was close to the relative toxicity ratio of 0.51 reported by Oshima.

**Key words:** paralytic shellfish toxins, saxitoxin, decarbamoylsaxitoxin, mouse bioassay, conversion factor, AOAC OM 959.08

## 外部精度管理調査におけるデカルバモイルサキシトキシンを使用した基準 CF 値と

### AOAC OM 959.08 によるサキシトキシンを使用した基準 CF 値の比較

(2011 年から 2019 年)

山本明美

一般財団法人食品薬品安全センター秦野研究所が実施している食品衛生外部精度管理調査の実施手順書における CF 値は、標準化毒としてデカルバモイルサキシトキシン (dcSTX) を用い、同日に異なる 3 濃度の標準溶液を各 10 尾ずつ計 30 尾のマウスに投与することにより算出する。また、AOAC OM 959.08 における CF 値は、標準化毒サキシトキシン (STX) により異なる 2 濃度で調製日も変えた標準溶液を各 10 尾ずつ 2 日間で計 60 尾のマウスに投与することにより算出する。2011 年から 2019 年まで、当所ではこの 2 つの CF 値を同じ ICR 系雄マウスを使用し、毎年算出してきた。2 つの CF 値は標準化毒の種類も投与方法等も異なるものではあるが、Oshima の比毒性<sup>1)</sup>に基づき STX 換算された dcSTX による値と STX を実際に使用して求めた値が同じになるのかを検討するため、この 2 つの結果を比較した。

また、上記外部精度管理調査に参加している他の機関では、使用しているマウスは国内法で規定されている ddY 系雄マウスであるため、ICR 系雄マウスと感受性が異なるのかを統計値をもとに比較した。

その結果、dcSTX により Oshima の比毒性<sup>1)</sup>から算出した CF 値は STX を使用して求めた CF 値よりわずかに低い傾向を示したがほぼ同等の値となり、ddY と ICR のマウス系統で感受性に大きな差は無いことを確認した。

Key words : saxitoxin、 decarbamoylsaxitoxin、 conversion factor、 ICR mouse、 ddY mouse

#### 1. はじめに

日本における麻痺性貝毒試験法 (公定法)<sup>2)</sup>は腹腔内投与した毒量とマウスの死亡時間に一定の関係があることを利用したマウスバイオアッセイ法 (MBA) であり、貝から STX 群を希塩酸で加熱抽出して得た検液 1 mL をマウス腹腔内に投与し、その致死時間を秒単位で計測する。マウス 5 尾以上に投与して中央致死時間を求め、マウス単位換算表 (Sommer's table)<sup>3)</sup> から試験溶液 1 mL に相当するマウス単位を求めるものである。

一般財団法人食品薬品安全センター秦野研究所 (以下、食薬センター) では食品衛生外部精度管理調査として 2011 年度より動物を用いた麻痺性貝毒検査を実施しており、当所ではこれに 2011 年度から参加している。

この調査は AOAC 公認法である AOAC OM 959.08<sup>3)</sup> に準拠しており、日本の公定法では実施されない標準化毒値の算出も行うこととされてい

る。標準化毒としては、国際的に使用されているサキシトキシン (以下、STX) は日本では所持等に制限があるため用いられず、デカルバモイルサキシトキシン (以下、dcSTX) を用いている。この希釈溶液をキャリブレーション溶液として投与することによりマウスの感受性を確認して変換係数 (Conversion Factor ; CF 値  $\mu\text{g}/\text{MU}$ ) を算出する。CF 値とは通常 MBA を行う際の標準点となるもので、この決定した値を用いて STX 換算値 (STX-2HCl 当量) を算出する。CF 値は 1 MU に相当する STX-2HCl 量 ( $\mu\text{g}$ ) を意味するため、食薬センターでは dcSTX 溶液に Oshima の比毒性<sup>1)</sup>に基づいて求められた STX-2HCl 換算値 (FDA-STX  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) を付与し、それにより標準化毒力値 (FDA-STX  $\mu\text{g}/\text{g}$ ) を算出させている。

CF 値は、標準毒を 5 尾以上にマウス投与した際に算出されるものであるため、標準点として求め

る CF 値の平均値について、本文中では基準 CF 値とする。

食薬センターの食品衛生外部精度管理調査とは別に、当所では同一系統のマウスで AOAC OM 959.08 により STX を用いて毎年 CF 値を算出している。基準 CF 値の求め方は異なるが、STX を用いて実際に求めた基準 CF 値と外部精度管理調査で dcSTX を用いて Oshima の比毒性<sup>1)</sup>を基に算出した基準 CF 値が一致するものか否か、同じ ICR 系マウスを使用した 2011 年から 2019 年の両者の基準 CF 値の結果を比較した。

また、マウスの系統による感受性について検討した。食薬センターの動物を用いた麻痺性貝毒検査外部精度管理調査に参加している機関では、当所を除いたすべての機関で ddY 系雄マウスを使用している。これは、国内公定法は ddY 系雄マウスで実施するよう定められているためであり、この系統のマウスの感受性と当所で使用している ICR 系雄マウスの感受性に違いがあるかについて、食薬センターの総括報告書の統計量の一覧をもとに参加機関全体としての基準 CF 値を算出し、当所の値と比較した。

なお、本稿では投与濃度は小数第 4 位を四捨五入した値とし、各 CF 値は小数第 4 位を切り捨てた値とした。食薬センターの dcSTX 標準溶液の STX-2HCl としての濃度は、付与された値で換算した。dcSTX を用いて算出した CF 値の単位は、付与値として記載されている単位 (FDA-STX  $\mu\text{g}/\text{MU}$ ) で記載した。

## 2. 実験方法

### 2.1 材料

STX 標準溶液は、FDA より供与された 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  STX-2HCl 塩酸溶液を使用した。

STX 標準溶液の希釈は、当所の標準作業書に基づき行った。まず STX 標準溶液 0.3 mL を 5 mmol/L 塩酸溶液で希釈し 30 mL とした STX-2HCl 実用標準溶液 (1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) を調製し、投与溶液の調製に用いた。

dcSTX 標準溶液は、食薬センターより提供された dcSTX-二酢酸塩酢酸溶液を使用した。この溶液には Oshima の比毒性 STX 2483  $\text{MU}/\mu\text{mol}$ 、dcSTX 1274  $\text{MU}/\mu\text{mol}$ <sup>1)</sup>をもとに STX 換算された値が付与されている。2011 年から 2014 年までは 2.55  $\mu\text{mol}/\text{L}$  (STX-2HCl として 0.49 FDA-STX  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )、2015 年から 2019 年までは 2.35  $\mu\text{mol}/\text{L}$  (STX-2HCl として 0.45 FDA-STX  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) であった。

各標準溶液は、4 °C で保存した。

どちらの CF 値算出の際も、マウスは日本 SLC 株式会社より購入した 4 週齢の ICR 系雄マウスを 2 日間順化して使用した。マウスは投与前に体重を測定した。マウスの体重は 19~21 g のものを概ね使用し、群の中に 19 g 未満または 21 g を超えるマウスがいる場合のみ、その群すべて体重補正を行った。22 g 以上のマウスは使用しなかった。

### 2.2 AOAC OM 959.08 における STX-2HCl を用いた基準 CF 値の求め方

当所では、AOAC OM 959.08 に基づき標準作業書を作成している。AOAC OM 959.08 では標準溶液の希釈はすべて水で行うこととされているが、3~4 °C で安定とされる期間が数週間であることから、STX-2HCl の廃棄量を減らし安定期間をのばすため、当所では希釈液を塩酸溶液とした。他の部分に変更はない。

当所の標準作業書に基づき、1 mL の腹腔内投与による致死時間の中央値が 5~7 分に入る希釈濃度の標準投与溶液を 2 液調製した。希釈液には 3 mmol/L 塩酸溶液を使用し、一定量の STX-2HCl 実用標準溶液に希釈液量を 1 mL ずつ変えて 2 濃度を調製した。

STX の投与溶液濃度を表 1 に示す。投与は 2 日間実施した。

1 日目は、2 濃度の投与溶液を調製し、各濃度について 10 尾のマウス群に 1 mL ずつ腹腔内投与した。各 10 尾のマウス群の体重・致死時間を測定し、致死時間の短い順に並べ、5 番目と 6 番目の致死時間の平均 (中央致死時間) から Sommer's table を用いて投与溶液 1 mL 中のマウス単位毒力 (MU/mL) を求めた。各投与溶液の濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) を、求めたマウス単位毒力 (MU/mL) で割って CF 値 ( $\mu\text{g}/\text{MU}$ ) を求めた。

2 日目は、前日調製した投与溶液を各濃度について 10 尾のマウス群に 1 mL ずつ腹腔内投与し中央致死時間より CF 値を求めた。

また、新たに前日と同じ濃度の投与溶液を調製し、各濃度について 10 尾のマウス群に 1 mL ずつ腹腔内投与し中央致死時間より CF 値を求めた。

AOAC OM 959.08 における基準 CF 値の求め方を図式化したものを図 1 に示す。

2 日間で合計 60 尾のマウスを使用し、得られた 6 個の CF 値の平均値を基準 CF 値とした。

表1 AOAC OM 959.08におけるSTX-2HCl マウス投与溶液の濃度

STX-2HCl 実用標準溶液 1 µg/mL (mL)	希釈液 (3 mmol/L 塩酸溶液) (mL)	投与溶液濃度 (STX-2HCl) (µg/mL)
10	20	0.333
10	21	0.323
10	22	0.313
10	23	0.303

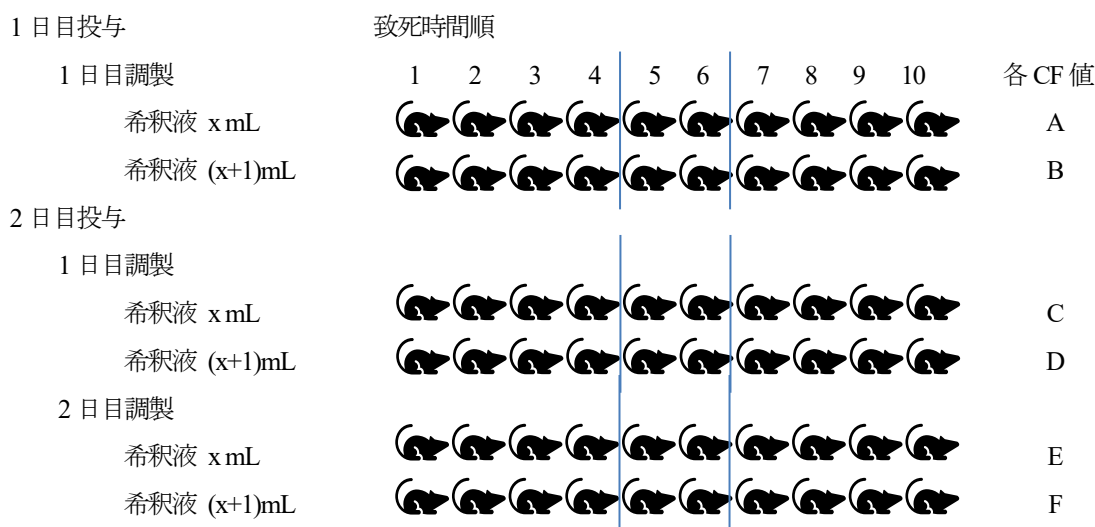


図1 AOAC OM 959.08における基準CF値の求め方（当所の標準作業書による）  
基準CF値は6つのCF値（A～F）の平均値

### 2.3 食薬センター実施手順書におけるdcSTXを用いた基準CF値の求め方

食薬センターの実施手順書に基づき、1 mLの腹腔内投与による致死時間の中央値が5～7分に入る希釈濃度のdcSTX標準投与溶液を3液調製した。希釈液には水を使用し、一定量のdcSTX標準溶液に希釈液量を0.5 mLずつ変えて3濃度を調製した。

dcSTXの投与溶液をSTX-2HClに換算した濃度を表2に示す。

3濃度の投与溶液を、各濃度について10尾のマウス群に1 mLずつ腹腔内投与し、中央致死時間からSommer's tableを用いて投与溶液1 mL中のマウス単位毒力(MU/mL)を求めた。各投与溶液のSTX-2HClとしての濃度(µg/mL)を、求めたマウス単位毒力(MU/mL)で割ってCF値(µg/MU)を求めた。この投与は同一日に実施した。

食薬センター実施手順書による基準CF値の求め方を図式化したものを図2に示す。

合計30尾のマウスを使用し、得られた3個のCF値の平均値を基準CF値とした。



表 2 食薬センター食品衛生外部精度管理調査における dcSTX マウス投与溶液の濃度

dcSTX 標準溶液 (mL)	希釈液 (水) (mL)	STX-2HCl としての 投与溶液濃度* (FDA-STX $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	dcSTX-二酢酸塩としての 投与溶液濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
8	4.5	0.314	0.614
2.55 $\mu\text{mol}/\text{L}$ (0.49 FDA-STX $\mu\text{g}/\text{mL}$ *)	8	5.0	0.302
8	5.5	0.290	0.569
8	6.0	0.280	0.548
8	6.5	0.270	0.530
2.35 $\mu\text{mol}/\text{L}$ (0.45 FDA-STX $\mu\text{g}/\text{mL}$ *)	8	4.5	0.288
8	5.0	0.277	0.544
8	5.5	0.267	0.524

\* Oshima が提唱した比毒性 STX 2483 MU/ $\mu\text{mol}$ , dcSTX 1274 MU/ $\mu\text{mol}$ <sup>1)</sup> に基づき STX-2HCl 換算された値

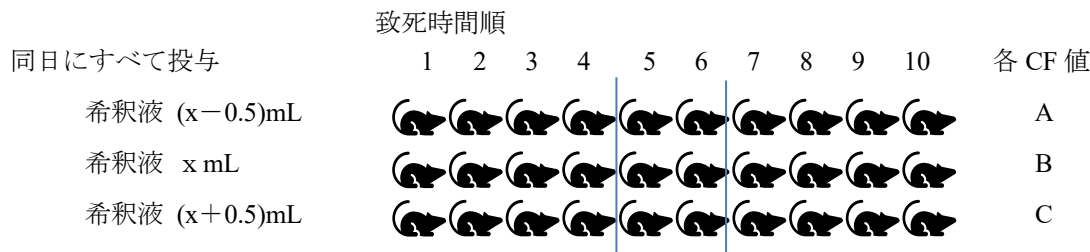


図 2 食薬センター実施手順書における基準 CF 値の求め方  
基準 CF 値は 3 つの CF 値 (A~C) の平均値

#### 2.4 食薬センター外部精度管理調査統計値から算出した dcSTX による参加機関全体の基準 CF 値

食薬センター外部精度管理調査では、標準毒 dcSTX により基準 CF 値を算出するほか、陽性検体の分析を行い、その結果を毒力値 (MU/g) 及び標準化毒力値 (FDA-STX  $\mu\text{g}/\text{g}$ ) として報告する。

当所の ICR 系マウスによる基準 CF 値が他の ddY 系マウスを使用した機関の結果と乖離しているかを見るため、食薬センター外部精度管理調査結果報告書ホタテガイペースト中の麻痺性貝毒検査の毒力値と標準化毒力値の統計値から参加機関全体の基準 CF 値を算出した。統計値は従来方式として示されている解析 (一般的な積率型の基本統計量等) による平均値を使用した。平均値から大きく離れた結果がある場合には 2 シグマ処理している値が示されているため、2 シグマ処理後の平均値を採用した。

標準化毒力値 (FDA-STX  $\mu\text{g}/\text{g}$ ) は毒力値に基準 CF 値を乗じて報告していることから、次式により参加機関全体の基準 CF 値を求めた。

参加機関全体の CF 値

$$= \text{標準化毒力値の平均値} / \text{毒力値の平均値}$$

なお、2011 年から 2019 年の当所の当該外部精度管理調査における陽性検体の毒力値 (MU/g) の結果は、z-スコアによる評価ですべて 2 未満であった。

### 3. 結果

#### 3.1 AOAC OM 959.08 による STX を用いた基準 CF 値

2.2 で実施した STX を用いて求めた基準 CF 値の 2011 年から 2019 年までの結果を表 3 に示す。各群 10 尾投与により CF 値を算出し、6 群の CF 値の平均値を基準 CF 値として記載した。2019 年は 5 番目および 6 番目の中央致死時間が 7 分以上となった 2 群についてデータから除いた。

群の中に 19 g 未満または 21 g を超えるマウスがいた場合には、その群すべて体重補正を行った (表中\*)。

その結果、STX による 9 年間の基準 CF 値は、0.182~0.220  $\mu\text{g}/\text{MU}$  であった。

表3 AOAC OM 959.08によりSTX-2HClを用いて求めた基準CF値(2011年~2019年)

年	投与濃度 STX-2HCl ( $\mu\text{g/mL}$ )	マウス単位毒力 (毒値の中央値) (MU/mL)			CF値 ( $\mu\text{g/MU}$ )			基準CF値 ( $\mu\text{g/MU}$ )
2011	0.313	1.608	1.516	1.393	0.194	0.206	0.224	0.206
	0.323	1.596	1.568	1.580	0.202	0.205	0.204	
2012	0.313	1.427	1.460	1.406	0.219	0.214	0.222	0.217
	0.323	1.496	1.492	1.480	0.215	0.216	0.218	
2013	0.313	1.770	1.878	1.740	0.176	0.166	0.179	0.182
	0.323	1.604	1.715	1.782	0.201	0.188	0.181	
2014	0.313	1.686	1.556	1.414	0.185	0.201	0.221	0.205
	0.323	1.764	1.568	1.390	0.183	0.205	0.232	
2015	0.313	1.646	1.592	1.560	0.190	0.196	0.200	0.186
	0.323	1.753*	1.830	1.914	0.184	0.176	0.168	
2016	0.313	1.678	1.624	1.705	0.186	0.192	0.183	0.186
	0.323	1.812	1.730	1.710	0.178	0.186	0.188	
2017	0.313	1.652	1.725	1.752	0.189	0.181	0.178	0.189
	0.323	1.770	1.604	1.600	0.182	0.201	0.201	
2018	0.303	1.632	1.504	1.488	0.185	0.201	0.203	0.185
	0.313	1.878	1.725	1.830	0.166	0.181	0.171	
2019	0.323	1.480*	1.401*	1.481*	0.218	0.230	0.218	0.220
	0.333	1.569*			0.212			

※2日間実施、各群10尾投与、中央致死時間は10尾投与時の5番目と6番目の平均値、基準CF値は6群のCF値の平均、\*は体重補正あり

### 3.2 食薬センター実施手順書によるdcSTXを用いた基準CF値

2.3で実施したdcSTXを用いて求めた基準CF値の2011年から2019年までの結果を表4に示す。各群10尾投与によりCF値を算出し、3群のCF値の平均値を基準CF値として記載した。基準CF値の単位は、Oshimaの比毒性<sup>1)</sup>に基づきSTX-2HClに換算した付与値の単位FDA-STX  $\mu\text{g/MU}$ で示した。2019年に中央致死時間が7分を超えたものがある

が、これは5番目の中央致死時間が5~7分に入っていたため、本検討ではデータとして採用した。

群の中に19g未満のマウスがいた場合には、その群すべて体重補正を行った(表中\*)。21gを超えるマウスは使用していない。

その結果、dcSTXによる9年間の基準CF値は、Oshimaの比毒性<sup>1)</sup>に基づきSTX-2HClに換算すると0.173~0.209FDA-STX  $\mu\text{g/MU}$ であった。dcSTX-二酢酸塩としては0.341~0.408  $\mu\text{g/MU}$ であった。

表4 食薬センター実施手順書により dcSTX を用いて求めた基準 CF 値 (2011 年～2019 年)

年	投与濃度 STX・2HCl として <sup>a</sup> (FDA-STX µg/mL)	マウス単位毒力 (毒値の中央値) (MU/mL)	CF 値 (FDA-STX µg/MU)	STX・2HCl とし ての基準 CF 値 <sup>a</sup> (FDA-STX µg/MU)	dcSTX-二酢酸塩と しての基準 CF 値 (µg/MU)
2011	0.270	1.432	0.188	0.194	0.380
	0.280	1.399	0.200		
	0.290	1.496	0.193		
2012	0.290	1.366*	0.212	0.209	0.408
	0.302	1.517	0.199		
	0.314	1.459*	0.215		
2013	0.290	1.410	0.205	0.198	0.388
	0.302	1.546	0.195		
	0.314	1.614	0.194		
2014	0.290	1.608	0.180	0.185	0.363
	0.302	1.584	0.190		
	0.314	1.686	0.186		
2015	0.267	1.505	0.177	0.175	0.345
	0.277	1.596	0.173		
	0.288	1.631	0.176		
2016	0.267	1.600*	0.166	0.178	0.350
	0.277	1.448	0.191		
	0.288	1.628	0.176		
2017	0.267	1.542*	0.173	0.173	0.341
	0.277	1.532*	0.180		
	0.288	1.722*	0.167		
2018	0.267	1.434	0.186	0.185	0.363
	0.277	1.486	0.186		
	0.288	1.576	0.182		
2019	0.267	1.508	0.177	0.185	0.363
	0.277	1.628	0.170		
	0.288	1.382	0.208		

※ 同日実施、各群 10 尾投与、中央致死時間は 10 尾投与時の 5 番目と 6 番目の平均値、基準 CF 値は 3 群の CF 値の平均、\*は体重補正あり

a Oshima の比毒性 STX 2483 MU/µmol, dcSTX 1274 MU/µmol<sup>1)</sup>に基づいて求められた FDA-STX 換算値

前報<sup>4)</sup>記載の同じ dcSTX 標準溶液およびマウス群を用いて AOAC OM 959.08 により実施した 2016 年と 2017 年の基準 CF 値は、dcSTX-二酢酸塩としてそれぞれ 0.339、0.346 µg/MU であった。この値は

表 4 に示した同年の結果 (0.350、0.341 µg/MU) と大きな差はなかった。

よって、2つの方法では同じような結果が得られると考えられた。

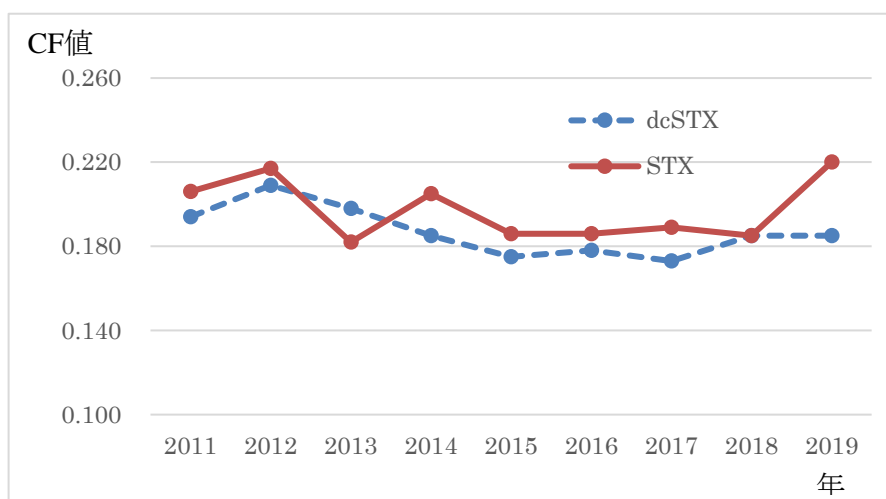


図3 STX-2HCl による基準 CF 値とdcSTX-二酢酸塩による基準 CF 値の比較(2011 年～2019 年)  
CF 値の単位 : STX(μg/MU), dcSTX(FDA-STX μg/MU)

### 3.3 異なる方法による STX-2HCl と dcSTX-二酢酸塩を用いた基準 CF 値の比較

2011 年から 2019 年までの AOAC OM 959.08 により STX-2HCl を用いて求めた基準 CF 値と食薬センター実施標準作業書により dcSTX-二酢酸塩を用いて求めた基準 CF 値 (Oshima の比毒性に基づき STX-2HCl 換算した結果) をグラフ化したものを図 3 に示す。基準 CF 値は 2013 年を除き STX-2HCl を用いた場合のほうが若干高い傾向となったが、大きな乖離はなく、概ね同じ値となった。

得られた 9 つの各基準 CF 値の平均は、STX-2HCl を用いた場合が  $0.197 \pm 0.015 \mu\text{g/MU}$ 、dcSTX-二酢酸塩を用いた場合が  $0.187 \pm 0.011 \text{ FDA-STX } \mu\text{g/MU}$  であった。

また、dcSTX-二酢酸塩としての dcSTX の基準 CF 値は、 $0.367 \pm 0.022 \mu\text{g/MU}$  であった。

### 3.4 マウス系統による感度の比較

食薬センター外部精度管理調査の陽性検体の分析結果は、毒力中央値 (MU/g) による報告と毒力中央値に各施設で求めた基準 CF 値を乗じた標準化毒力値 (FDA-STX μg/g) の 2 つを報告することとされている。この統計値から 2.4 のとおり算出した参加機関全体の基準 CF 値を、表 5 に示した。

当該調査の参加機関 27～33 のうち、当所のみが ICR 系雄マウスを使用しており、他はすべて ddY 系雄マウスを使用していたことから、参加機関全体の基準 CF 値は概ね ddY 系雄マウスによる基準 CF 値と考えられる。当所の基準 CF 値は ICR

系雄マウスによるものであるため、当所の結果と参加機関全体の基準 CF 値を比較したものを図 4 に示した。当所 CF 値のばらつきの程度が分かるように当所の個々の CF 値も示した。

表 5 食薬センター統計値から算出した参加機関全体の基準 CF 値

年	毒力中央値 (MU/g)	標準化毒力値 (FDA-STX μg/g)	基準 CF 値 (FDA-STX μg/MU)
2011	2.958172	0.603467	0.204
2012	9.010935	1.827581	0.203
2013	3.028879	0.607606	0.201
2014	3.393061	0.676290	0.199
2015	3.778037	0.664769	0.176
2016	3.357172	0.601069	0.179
2017	3.265207	0.588207	0.180
2018	3.419379	0.620679	0.182
2019	3.371074	0.620926	0.184

※基準 CF 値は、標準化毒力値 / 毒力中央値

その結果、参加機関全体の基準 CF 値の 9 年間の平均値は  $0.190 \pm 0.012 \text{ FDA-STX } \mu\text{g/MU}$  であり、当所の結果とほぼ同じであった。図 4 から分かるとおり、当所の基準 CF 値は統計値から算出した参加機関全体としての基準 CF 値に大きな差は見られず、「参加機関全体の基準 CF 値—当所の基準 CF 値」の平均  $\pm$  SD は  $0.003 \pm 0.0064$  であった。

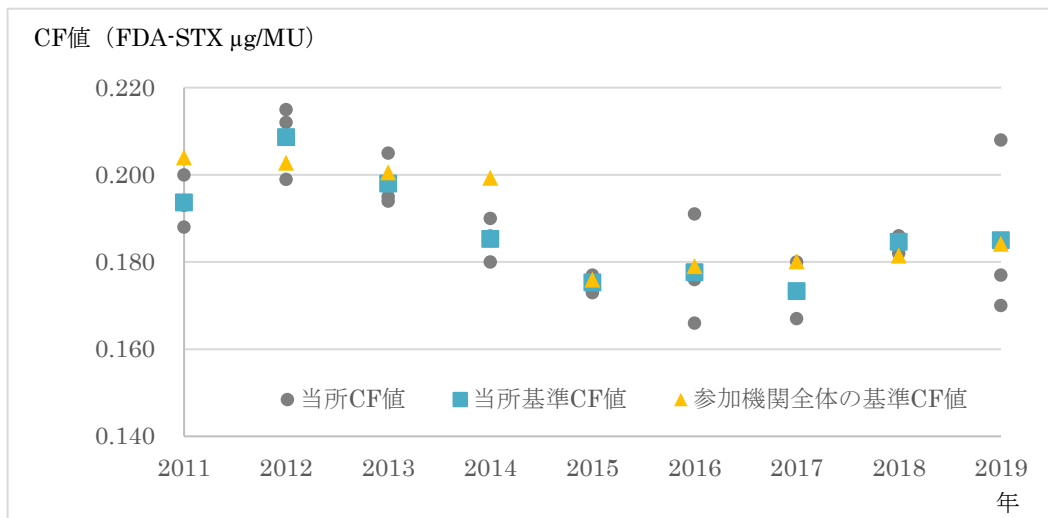


図4 dcSTX を用いた当所の基準 CF 値と参加機関全体の基準 CF 値の比較(2011 年～2019 年)  
 使用マウス：当所は ICR 系雄、当所以外の参加機関はすべて ddY 系雄

#### 4. まとめ

AOAC OM 959.08 は、国際的に実施されている方法であり、STX-2HCl を用いて得られた基準 CF 値で換算した標準化毒力値は国際的に認められた報告値となる。日本では規制により STX-2HCl の使用が難しいため、規制対象とならない dcSTX による外部精度管理調査が実施されているが、dcSTX を使用して STX-2HCl 換算した基準 CF 値と実際に STX-2HCl を用いて求めた基準 CF 値が同じになるか否かを検討することは難しい。そのため、前報<sup>4)</sup>では同一条件下で実施した短期間における両標準毒の比較結果を述べたが、この結果が外部精度管理調査による方法でも同じ傾向となるのかを本検討では確認した。

その結果、3.2 のとおり、dcSTX を用いて外部精度管理調査による方法で求めた基準 CF 値は、当所 SOP に従い dcSTX を用いて AOAC OM 959.08 による方法で求めた基準 CF 値とほぼ一致した。

また、当所において、異なる方法で STX-2HCl を実際に用いて求めた CF 値と Oshima の毒性値で換算した dcSTX を用いて求めた CF 値では、dcSTX を用いたほうが若干低い傾向を示した。これは同一条件・同一方法で実施した前報<sup>4)</sup>と同様の傾向であった。

日本の規制値である 4 MU/g は、0.8 mg STX-2HCl 当量/kg とほぼ同等であることをベースにしているが、これは STX-2HCl の CF 値をおよそ 0.2 μg/MU としているものである。当所での検討においては、STX-2HCl を用いた 9 年間の CF 値の平均値は 0.197 ± 0.011 μg/MU であり、ほぼ 0.2 μg/MU であったこ

とから、STX-2HCl を用いた場合、日本の規制値 4 MU/g は 0.8 mgSTX-2HCl 当量/kg と概ね一致することを確認した。また、当所においては、dcSTX-二酢酸塩を標準化毒として使用した外部精度管理調査の CF 値を前報<sup>4)</sup>の同一条件・同一方法下で得た毒性値 STX 1973 MU/μmol、dcSTX 1087 MU/μmol (相対毒性比 0.55) で換算した場合、9 年間の平均値は 0.200 ± 0.012 μg/MU となり、STX-2HCl を用いて求めた CF 値と同程度となることを確認した。

更に、当所で使用しているマウスの系統は国で使用が定められている ddY 系雄マウスでは無いため、マウス系統により標準毒の感受性に違いがあるかを統計値をもとに検討した。その結果、ICR 系雄マウスと ddY 系雄マウスは、ほぼ同じ CF 値を示し、感受性は ICR 系と ddY 系で差は無いと考えられた。

#### 謝 辞

本研究に当たり、ご助言いただきました国立研究開発法人水産研究・教育機構水産技術研究所環境・応用部門の渡邊龍一博士、一般財団法人食品薬品安全センター秦野研究所の高坂典子氏に心から感謝申し上げます。

#### 引用文献

1) Oshima, Y. : Postcolumn derivatization liquid chromatographic method for paralytic shellfish toxins. *JAOAC Int.*, **78** (2), 528-532, 1995

- 2) 食品衛生検査指針（理化学編）2015、 827-834
- 3) AOAC Official Method 959.08 : Paralytic shellfish poison、 Biological method. AOAC INTERNATIONAL、 Gaithersburg、 MD、 2005
- 4) 山本明美他：麻痺性貝毒マウスバイオアッセイにおけるキャリブレーション用標準化毒としてのサキシトキシンとデカルバモイルサキシトキシンのマウス感受性比較. 青森県環境保健センター年報, **32**, 33-39, 2021

## A comparison of reference CF values derived from decarbamoylsaxitoxin used in proficiency testing and those derived from saxitoxin per AOAC OM 959.08 (2011–2019)

Akemi Yamamoto

In the standard operating procedure for proficiency testing for food hygiene conducted by the Food and Drug Safety Center Hatano Research Institute, CF values are calculated by administering decarbamoylsaxitoxin (dcSTX) as the reference material at three different levels to a total of 30 mice with 10 mice per group on the same day. In the AOAC OM 959.08, CF values are calculated by administering standard solution at two different levels prepared from the reference material saxitoxin (STX) on different days to a total of 60 mice with 10 mice per group on 2 days. Using ICR male mice, our center calculated these two types of CF values every year from 2011 to 2019. We compared these two types of CF values derived from reference materials (dcSTX and STX) by different administration methods to-verify if the values were the same by converting the values for dcSTX in STX equivalent based on Oshima's molar toxicity<sup>1)</sup>.

In addition, considering that other laboratories participating in the abovementioned-proficiency testing use ddY male mice, the mouse strain regulated by the domestic laws, we investigated whether their susceptibility was different from that of ICR male mice using statistical data.

The results demonstrated that CF values derived from dcSTX (converted based on Oshima's-molar toxicity<sup>1)</sup>) were slightly lower than but comparable to CF values derived from STX, with no considerable difference in susceptibility between ddY and ICR mice.

Key words: saxitoxin, decarbamoylsaxitoxin, conversion factor, ICR mouse, ddY mouse

## 汎用マトリックス添加標準溶液を活用した GC-MS/MS を用いた 農産物中の残留農薬一斉分析法の妥当性評価 (野菜類及び果実類)

福士貴史 花石竜治 岩館樹里 山本明美

令和元年度に残留農薬一斉分析法に用いる測定機器を GC/MS から GC-MS/MS に変更したことに伴い、厚生労働省の妥当性評価ガイドラインに従い、代表的作物 5 品目の妥当性評価を行った。従来の GC/MS では絶対検量線法を用いて評価を行ったが、選択性に問題があった農薬や、試料中のマトリックス効果による妨害成分により真度が目標値を満たさない農薬が多数あった。そのため、新たに GC-MS/MS ではマトリックス効果抑制のため、内標準法とマトリックスマッチング法の併用法を用い、検量線に使用するマトリックス溶液には汎用性のある市販の野菜ジュースを用いた。GC/MS に比べ GC-MS/MS では、代表的作物 5 品目すべてで回収率が大幅に改善したことから、幅広い農産物の分析に利用できる野菜ジュースを使用したマトリックス溶液の有用性が示唆された。

Key words : method validation study, pesticide residue, multiresidue method, GC-MS/MS, matrix effect

### 1. はじめに

食品衛生法に定められている規格基準への適合について判断を行う残留農薬等の試験については、「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」(厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知. 平成 22 年 12 月 24 日. 食安発 1224 第 1 号<sup>1)</sup>) (以下「ガイドライン」という。)により、試験法の妥当性評価を実施するよう求められている。

当所では、残留農薬一斉分析法に用いる測定機器として、ガスクロマトグラフ質量分析計(以下、GC/MS という)を用いていたが、令和元年度に三連四重極型ガスクロマトグラフ質量分析計(以下、GC-MS/MS という)に変更した。

従来の GC/MS では絶対検量線法を用いて評価を行った(以下、「従来法」という。)が、ブランク試料中のマトリックス効果による定量を妨害する夾雑成分により、ガイドラインの選択性を満たさない農薬や、真度が目標値を満たさない農薬が多数あった。そのため新たに GC-MS/MS では、試料の前処理方法は従来の GC/MS で分析した時と同じ「GC/MS による農薬等の一斉試験法<sup>2)</sup>(農産物)」を一部変更した方法(図 1)で実施したが、マトリックス効果を制御するため、大阪府立公衆衛生研究所の報告<sup>3)</sup>を参考に、内標準法とマトリックスマッチング法の併用法により定量を実施

することとした。検量線に使用するマトリックス溶液には汎用性のある市販の野菜ジュースを用い、内標準には仙台市衛生研究所の報告<sup>4)</sup>を参考に、リン酸トリフェニル及びリン酸トリブチルの混合溶液を用いた。GC-MS/MS を用いた内標準を使用した野菜ジュースによるマトリックスマッチング法を、以下「新法」とする。

本報では、当所の GC-MS/MS で測定可能な農薬 235 品目 248 成分における、農産物中の残留農薬試験法の妥当性について、ガイドラインに基づき代表的作物の評価を行った結果を報告する。

### 2. 実験方法

#### 2.1 試料

代表的作物は、ガイドラインの例示を参考に、玄米、大豆、キャベツ、ばれいしょ、ほうれんそう、りんご及びレモンの計 7 品目を選定した。なお、玄米及び大豆は検査方法が異なるため、今回はこれらを除く 5 品目を妥当性評価試験の対象とした。

マトリックスマッチング法の検量線に使用する野菜ジュースは、トマト、にんじん等の野菜 30 種類を含む汎用性のある市販飲料を用いた。

#### 2.2 標準溶液及び試薬

標準品は、関東化学株式会社製農薬混合標準溶



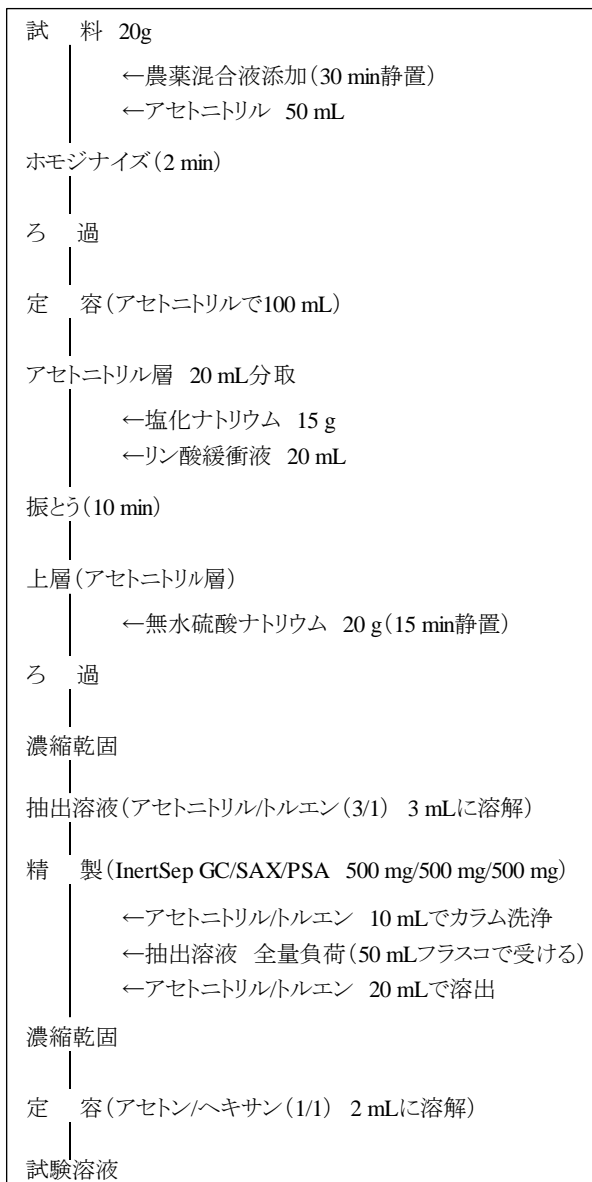


図1 一斉分析法のフロー図

液 48、63、70、79 及び林純薬工業株式会社製 PL 農薬混合標準溶液Iを使用し、①農薬混合標準溶液 63+79+PL 農薬混合標準溶液I (各成分 4 ppm (アセフェート、アセタミプリド及びメタミドホスは各 20 ppm) アセトン/ヘキサン溶液 (1/1))、②農薬混合標準溶液 48+70 (各成分 4 ppm アセトン/ヘキサン溶液 (1/1)) を調製した。

ブロモブチド脱臭素体及び硫酸エンドスルファンの標準品は、富士フィルム和光純薬株式会社製を使用し、100 µg/mL になるようにアセトンで溶解し標準原液とした。この2つの標準原液はアセトン/ヘキサン溶液 (1/1) で希釈して、2 µg/mL に調製した。

検量線用混合標準溶液は、上記①+ブロモブチド脱臭素体 (アセトン/ヘキサン溶液 (1/1))、②+硫

酸エンドスルファン(アセトン/ヘキサン溶液 (1/1)) を適宜希釈して、0.02 µg/mL~0.80 µg/mL を調製した (ただし、アセフェート、アセタミプリド及びメタミドホスは5倍量)。

内標準には、東京化成工業(株)製のリン酸トリフェニル及びリン酸トリブチル (共に純度 > 99.0%) を用いた。2つの標準品を混合し、アセトン/ヘキサン溶液 (1/1) で 0.2 µg/mL になるよう希釈し、内標準溶液を調製した。

精製カラムは InertSep GC/SAX/PSA 500 mg/500 mg (GL Sciences 製) を用いた。

精製水の作成には、Milli-Q システム (Millipore, Synergy UV) を用いた。

## 2.3 機器

ホモジナイザー：T 25 ULTRA-TURRAX® (IKA -Werke 製)

濃縮装置：ロータリーエバポレーター R-200 (BUCHI 製)

## 2.4 測定装置および測定条件

GC-MS/MS 装置：7890B・7000D GC/TQ (Agilent Technologies 製)

GC-MS/MS 測定条件を表 1 に示す。

表 1 GC-MS/MS 測定条件

カラム	VF-5ms : 30 m, φ250 µm, 0.25 µm
カラム昇温条件	70 °C(2 min) - 25 °C/min - 150 °C (0 min) - 3 °C/min - 200 °C(0 min) - 8 °C/min - 310 °C(5 min)
注入口温度	250 °C
クエンチガス	He 2.25 mL/min
コリジョンガス	N <sub>2</sub> 1.5 mL/min
イオン化モード (電圧)	EI+ (70 eV)
注入モード	パルスドスプリットレス
トランスファライン温度	280 °C
イオン源温度	320 °C
流量	リテンションタイムロッキング 使用、クロルピリホスメチルの 保持時間 = 17.5 min で調整

## 2.5 試験溶液等の調製方法

### 2.5.1 試験溶液の調製

図1のとおり実施した。精製後の溶出液を濃縮乾固後、アセトン/ヘキサン混合溶液により正確に 2 mL とした (試験溶液：1 mL 当たり試料 2 g 相

当量)。

#### 2. 5. 2 GC-MS/MS 測定用試験溶液の調製

試験溶液 50  $\mu$ L 及び内標準溶液 50  $\mu$ L を正確に混合し、GC-MS/MS 測定溶液とした (GC-MS/MS 測定溶液 : 1 mL 当たり試料 1 g 相当量)。

#### 2. 5. 3 汎用マトリックス溶液の調製

マトリックスマッチング法の検量線に使用する汎用マトリックス溶液は、野菜ジュースを用いて 2.5.1 項と同様に調製し、精製後の溶出液を濃縮乾固後、アセトン/ヘキサン混合溶液により正確に 1 mL とした (試験溶液 : 1 mL 当たり試料 4 g 相当量)。

#### 2. 5. 4 汎用マトリックス添加標準溶液の調製

検量線用混合標準溶液 25  $\mu$ L、汎用マトリックス溶液 25  $\mu$ L 及び内標準溶液 50  $\mu$ L を正確に混合し、汎用マトリックス添加標準溶液とした (汎用マトリックス添加標準溶液 : 1 mL 当たり試料 1 g 相当量)。調製後の各農薬の濃度は 0.005、0.010、0.020、0.050、0.10、0.20  $\mu$ g/mL とした。

### 3. 妥当性評価

妥当性評価試験は、0.01  $\mu$ g/g 及び 0.1  $\mu$ g/g の 2 濃度添加を、代表的作物については分析者 1 名が併行数 2 で 5 日間分析する枝分かれ試験を実施した。

0.4  $\mu$ g/mL 又は 4  $\mu$ g/mL の農薬混合標準溶液 (アセトン/ヘキサン混合溶液 (1/1)) 0.5 mL を正確に試料に添加し、30 分間静置後、2.5.1 項と同様に試験溶液を調製した。

### 4. 妥当性評価試験結果及び考察

#### 4. 1 検量線の直線性

汎用マトリックス添加標準溶液の 0.005~0.20  $\mu$ g/mL の 6 点の濃度で検量線を作成したところ、すべての農薬成分で  $r^2=0.99$  以上の良好な直線が得られ、検量線不良の農薬成分は見られなかった。

#### 4. 2 選択性

各農産物のブランク試料溶液において、定量を妨害するピーク面積が、定量限界濃度 (一律基準の 0.01 mg/kg) に相当するピーク面積の 1/3 未満かどうかを確認したところ、不適合となるような妨害ピークは見られず、いずれも選択性の要件を満たしていた。

従来法では、特にレモンにおいて選択性を満たさなかった農薬が多く、アセタミプリド、アセフェート、イソプロカルブ、シプロコナゾール、デルタメトリン、ベンダイオカルブ、ペンディメタリンでマトリックス由来の妨害成分が見られた。GC-MS/MS は、3つの四重極を用いて目的成分だけを選択的に検出器に運び目的成分のみを検出するため、GC/MS より選択性に優れており、従来法では選択性を満たさなかった農薬も、新法では選択性に問題はなかった。

#### 4. 3 定量限界

定量限界濃度 (一律基準の 0.01 mg/kg) に相当する、0.01  $\mu$ g/g 添加試料溶液から得られるピークが、 $S/N \geq 10$  であるかどうかを確認したところ、キャベツではキャプタン及びジクロフルアニド、ばれいしょ及びほうれんそうではキャプタン、レモンではアセタミプリド、そして代表的作物 5 品目すべてではカプタホール及びキノメチオナートが  $S/N 10$  未満で目標値を満たさなかった。

#### 4. 4 真度及び精度

真度 (回収率) 及び精度の目標値をとともに満たしている農薬成分を適合 (表 3 中に“○”で示す、以下同様)、精度の目標値を満たしているものの真度が 65%~125% の農薬成分をやや適合 (“▲”)、精度の目標値を満たさない又は真度が 65%~125% を外れた農薬成分を不適合 (“×”) と評価した。

評価した農薬 235 品目 248 成分のうち、0.01  $\mu$ g/g 及び 0.1  $\mu$ g/g の両添加濃度で目標値に適合していたものは、キャベツで 230 (うち片方が▲は 3 成分、以下同様)、ばれいしょで 231 (▲は 3)、ほうれんそうで 204 (▲なし)、りんごで 221 (▲は 14)、レモンで 217 (▲は 17) だった。真度の目標値に適合した農薬成分数を新旧で比較したところ、表 2 に示すとおり両添加濃度において代表的作物 5 品目すべてで増加が見られた。

一方、キャベツで 13、ばれいしょで 11、ほうれんそうで 16、りんごで 15、レモンで 19 の農薬成分が、両添加濃度で目標値に不適合であった。特に、アセフェート、カプタホール、キノメチオナート、キャプタン、ジコホール、ヘキサクロベンゼン、メタミドホスの 7 成分については、代表的作物 5 品目すべてにおいて不適合であった。当該成分については、すべて個別試験法 (通知試験法) が別途定められた農薬成分<sup>2)</sup>であるが、従

表 2 真度の目標値に適合した農薬成分数の比較

農産物名	従来(GC/MS)		新(GC-MS/MS)	
	【絶対検量線法】		【併用法】	
	0.01 µg/g	0.1 µg/g	0.01 µg/g	0.1 µg/g
キャベツ	51	213	232	229
ばれいしょ	123	223	232	230
ほうれんそう	202	225	205	230
りんご	131	220	208	231
レモン	144	225	200	227

来法では測定が困難な農薬であり、新法においても改善が見られなかったことから、一斉分析法では測定不可能な農薬と判断した。

この他にも、特にほうれんそうにおいて従来法で 50 %前後と低い回収率を示したエチオフェンカルブは、新法でも 50 %未満の低い回収率を示した。同様にほうれんそうでのみ回収率が低かったベンダイオカルブ及びメチオカルブは、エチオフェンカルブと同じく分子内に窒素を有するカーバメイト系農薬であり、色素成分による妨害を受けるため、ODS ミニカラム精製により妨害成分を除去する必要があるとされている<sup>5)</sup>。ほうれんそうは他の代表的作物に比べ色素成分を多く含むため、一斉分析法に用いた精製カラムでは妨害成分を除去しきれず、回収率が低かったものと考えられる。

また、N-トリハロメチルチオ系殺菌剤であるジクロフルアニドは、植物中の SH 基を含む成分によって分解することが知られており、分解を抑制するために細切均一化時に塩酸を加えるのが個別分析を行うときの常法となっている<sup>6)</sup>。りんごにおいては細切均一化時に自身の酸により塩酸条件下と同条件になっているためか、新法では 70 %以上の回収率が得られたが、キャベツ及びほうれんそうでは 30 %未満となりほとんど回収されなかった。しかし、同じ酸性条件であるにもかかわらず、レモンでは回収率が 60 %程度しか得られなかった。りんごは pH が 3.0 程度だが、レモンは pH が 2.5 より強い酸性を呈するため、この pH の違いにより回収率に差があったものと考えられる。

一方、注入口やカラムへの吸着の影響が顕著に見られるジフェニルエーテル系除草剤であるピフェノックスは、従来法においては、試料中ではマトリックス効果の影響を受けカラムへの吸着が少ないためピーク面積が小さくなるのに対し、標準溶液ではマトリックス効果の影響を受けな

めにカラムへの吸着が大きかったことにより回収率が 120 %を超える<sup>7)</sup>ことがあったが、新法ではマトリックス効果を抑制することによって代表的作物 5 品目すべてにおいて回収率の改善を図ることができた。この他にも、従来法ではいずれの農産物においても回収率が 120 %を超えていた、シプロコナゾール、シペルメトリン、ターバシル、ペンディメタリン、メチダチオン、メプロニルについても新法では回収率が改善した。

## 5. 結論

従来の絶対検量線法による GC/MS の分析では、試料中のマトリックス効果が定量を妨害し、ガイドラインの選択性を満たさない農薬や、マトリックス効果により真度が目標値を満たさない農薬が多かった。しかし、内標準法とマトリックスマッチング法の併用法による GC-MS/MS の分析では、農産物のマトリックスに近い野菜ジュースの抽出液を用いた検量線で定量することによって、それらを改善することができた。GC-MS/MS は GC/MS に比べ、より選択性に優れた機器であることに加え、マトリックスマッチングした検量線を用いて定量することでマトリックス効果を低減したことが、結果の改善に大きく影響したと考えられる。

農薬の特性によっては、従来法で適合していたが新法で不適合となった農薬が一部見られたものの、真度の目標値を満たした農薬成分数全体で比較すると、代表的作物 5 品目すべてで改善が見られたことから、野菜ジュースを使用したマトリックス溶液は幅広い農産物の分析に利用できることが示唆された。

## 文 献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知:食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について、平成22年12月24日付け食安発第1224001号
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知:食品中に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について、平成17年1月24日付け食安発第0124001号。
- 3) 福井直樹他:汎用マトリックス添加標準溶液を活用した野菜類および果実類中の残留農薬一斉分析法の妥当性評価, 食品衛生学雑誌, 56(4), 178-184, 2015

- 4) 梶直貴他:農産物中の残留農薬一斉分析法の妥当性評価, 仙台市衛生研究所報, **48**, 83-92, 2018
- 5) 厚生労働省監修: 食品衛生検査指針“残留農薬編”, 163-173, 2003, 社団法人日本食品衛生協会
- 6) 厚生労働省監修: 食品衛生検査指針“残留農薬編”, 436-441, 2003, 社団法人日本食品衛生協会
- 7) 江頭勝他:アクリナトリン、ビフェントリン、ピフェノックス及びホルペットの迅速分析法への適応性の検討, 福岡市保健環境研究所報, **25**, 138-141, 2000

表 3-1 妥当性評価結果一覧

農薬品目名	分析対象化合物	野菜類										果菜類									
		キャベツ		ばれいしよ		ほうれんそう		りんご		レモン		キャベツ		ばれいしよ		ほうれんそう		りんご		レモン	
		0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1
1 BHC (α, β, γ, δ)	α-BHC	117	76	109	94	107	92	105	99	131	103	164	103	161	134	169	128	148	139	167	118
		70	74	74	76	74	76	74	76	74	74	83	77	86	81	74	84	76	83	76	76
		117	79	115	101	119	102	115	99	130	102	138	80	146	112	105	89	143	116	140	154
		81	81	88	84	73	86	81	79	80	77	83	80	86	81	71	70	81	80	85	78
		132	187	120	104	110	99	129	105	131	107	122	74	119	97	118	95	113	102	94	85
2 DDT (DDD, DDE を含む)	β-BHC	127	75	110	99	119	98	103	99	126	102	121	103	124	105	108	94	104	88	106	101
		83	81	85	83	74	85	78	78	88	87	97	81	82	86	91	90	130	100	127	88
		133	-	116	-	101	-	127	-	116	-	148	81	155	122	105	83	133	118	139	105
		136	-	147	-	122	-	130	-	111	-	101	80	99	74	84	73	96	80	86	70
		84	75	98	77	107	77	94	82	91	79	137	100	123	108	99	90	123	104	114	105
3 EPN	γ-BHC	132	76	142	106	108	91	128	107	118	105	124	95	141	104	126	91	115	99	96	89
		100	81	101	79	82	85	94	83	92	80	95	74	84	79	70	82	107	93	124	100
		118	76	124	105	114	99	115	107	112	104	113	78	128	100	111	95	123	107	124	100
		84	78	97	78	78	81	96	83	84	80	110	80	106	76	108	100	99	81	108	88
		148	97	109	84	131	95	107	89	123	105	153	111	0	0	183	110	82	45	110	105
4 EPTC	γ-BHC	104	76	111	79	93	87	98	80	98	79	89	77	95	80	95	84	93	78	99	82
		44	48	53	55	55	70	48	53	58	59	129	101	120	104	104	94	122	105	116	108
		140	112	115	102	93	78	122	108	99	102	105	79	107	82	88	91	111	98	115	95
		74	91	76	85	82	86	97	88	84	84	117	70	123	101	114	98	105	99	115	101
		122	107	120	104	110	99	129	105	131	107	150	107	111	88	100	87	111	85	112	89
5 XMC	γ-BHC	76	81	81	86	74	88	78	77	76	75	88	73	82	76	78	66	86	89	98	91
		143	82	131	101	94	85	115	88	135	111	123	82	124	104	95	47	106	102	143	122
		108	72	79	72	73	71	87	77	84	74	89	89	85	70	42	43	85	72	97	81
		78	75	78	74	76	82	98	81	104	82	147	109	129	108	112	94	123	109	109	99
		167	117	106	91	168	130	119	98	142	122	99	79	104	82	83	85	115	95	115	93
6 γ-BHC	γ-BHC	107	74	103	76	120	100	107	90	97	79	161	92	177	131	122	105	160	123	147	108
		107	77	127	108	104	100	128	111	164	87	105	79	100	72	92	80	86	77	103	80
		118	74	109	71	119	88	112	111	138	107	192	110	116	103	104	90	116	101	116	85
		106	88	114	103	98	89	111	101	107	102	130	109	110	104	94	85	112	102	177	104
		87	82	97	84	86	88	97	80	85	87	94	78	85	79	87	89	121	86	170	138
7 γ-BHC	γ-BHC	82	25	46	12	32	18	40	14	883	0	114	102	113	103	100	91	114	104	107	102
		53	17	50	15	31	16	40	16	40	18	123	88	117	104	102	88	106	93	103	86
		123	98	117	104	102	90	117	103	108	100	131	76	132	108	128	98	118	104	137	103
		82	83	83	89	89	89	104	92	101	81	121	81	86	80	77	86	77	77	76	75
		137	104	141	111	119	102	170	131	115	102	121	94	130	111	427	114	137	101	135	99
8 γ-BHC	γ-BHC	103	78	105	80	104	93	119	95	120	83	98	79	97	78	87	84	96	81	94	81
		119	101	116	101	97	89	116	101	105	103	148	107	112	104	97	89	253	120	94	96
		90	87	87	86	84	88	99	91	101	81	80	76	84	80	83	83	85	85	86	81
		125	95	119	104	185	100	115	103	110	103	120	-	112	-	133	-	107	-	132	-
		96	84	98	86	89	80	103	94	100	82	151	112	113	104	106	92	116	106	106	101
9 γ-BHC	γ-BHC	108	-	108	-	122	-	103	-	76	-	151	112	113	104	108	92	123	97	123	88
		111	-	95	-	107	-	99	-	106	-	189	110	116	107	98	110	107	118	104	104
		108	79	104	77	84	84	92	88	78	82	97	81	95	83	90	90	119	96	118	86
		284	127	140	121	101	95	135	117	187	120	167	101	129	105	118	94	135	112	118	102
		114	82	114	91	87	88	119	85	116	88	112	76	108	88	84	78	97	89	85	111
10 γ-BHC	γ-BHC	127	88	117	102	104	91	118	101	117	102	131	90	83	84	109	92	222	112	92	90
		98	85	100	83	87	80	98	89	91	82	132	90	135	88	176	109	85	58	74	74
		167	108	129	103	113	93	134	109	116	103	111	85	127	106	120	97	109	104	131	83
		83	80	98	81	68	83	104	83	115	82	82	81	87	81	78	86	81	79	82	79
		109	80	108	81	118	81	118	118	115	108	92	81	87	81	78	79	77	77	76	75

表 3-2 妥当性評価結果一覧

農薬品目名	分析対象化合物	野菜類										果菜類									
		キャベツ		ばれいしよ		ほうれんそう		りんご		レモン		キャベツ		ばれいしよ		ほうれんそう		りんご		レモン	
		0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1
21 イソフェンチン	イソフェンチン	164	103	161	134	169	128	148	139	167	118	104	103	161	134	169	128	148	139	167	118
		83	77	86	81	74	84	76	83	76	76	83	77	86	81	74	84	76	83	76	76
		138	80	146	112	105	89	143	116	140	154	138	80	146	112	105	89	143	116	140	154
		83	80	86	81	71	70	81	80	85	78	83	80	86	81	71	70	81	80	85	78
		122	74	119	97	118	95	113	102	94	85	122	74	119	97	118	95	113	102	94	85
22 イソフェンチン	イソフェンチン	121	103	124	105	108	94	104	88	106	101	121	103	124	105	108	94	104	88	106	101
		97	81	82	86	91	90	130	100	127	88	97	81	82	86	91	90	130	100	127	88
		148	81	155	122	105	83	133	118	139	105	148	81	155	122	105	83	133	118	139	105
		101	80	99	74	84	73	96	80	86	70	101	80	99	74	84	73	96	80	86	70
		137	100	123	108	99	90	123	104	114	105	137	100	123	108	99	90	123	104	114	105
23 イソフェンチン	イソフェンチン	103	79	106	81	87	86	101	90	97	83	103	79	106	81	87	86	101	90	97	83
		124	95	141	104	126	91	115	99	96	89	124	95	141	104	126	91	115	99	96	89
		95	74	84	79	70	82	107	93	124	100	95	74	84	79	70	82	107	93	124	100
		113	78	128	100	111	95	123	107	124	100	113	78	128	100	111	95	123	107	124	100
		110	80	106	76	108	100	99	81	108	88	110	80	106	76	108	100	99	81	108	88
24 イソフェンチン	イソフェンチン	153	111	0	0	183	110	82	45	110	105	153	111	0	0	183	110	82	45	110	105
		89	77	95	80	95	84	93	78	99	82	89	77	95	80	95	84	93	78	99	82
		129	101	120	104	104	94	122	105	116	108	129	101	120	104	104	94	122	105	116	108
		105	79	107	82	88	91	111	98	115	95	105	79	107	82	88	91	111	98	115	95
		117	70	123	101	114	98	105	99	115	101	117	70	123	101	114	98	105	99	115	

表 3-3 妥当性評価結果一覧

農薬品目名	分析対象化合物	野菜類										果菜類														
		キャベツ		ばれいしよ		ほうれんそう		りんご		レモン		キャベツ		ばれいしよ		ほうれんそう		りんご		レモン						
		0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1					
45 カフェストール	カフェストール	108	102	78	97	46	97	123	104	84	94	89	97	85	97	85	97	123	104	84	94	89	97	85		
46 カブノキ	カブノキ	78	19	89	51	139	23	139	75	71	23	70	20	116	70	20	116	139	75	71	23	70	20	116		
47 菜の花	菜の花	118	83	123	75	123	71	123	75	71	71	77	21	22	77	21	22	123	75	71	71	77	21	22		
48 カブノキ	カブノキ	169	91	135	112	109	95	109	95	71	71	116	137	118	116	137	118	135	112	109	95	71	71	116		
49 カブノキ	カブノキ	108	89	89	82	102	74	108	82	74	74	80	81	78	80	81	78	108	89	89	82	74	74	80		
50 カブノキ	カブノキ	138	102	78	102	122	107	108	81	82	82	108	107	102	108	107	102	138	102	78	102	122	107	108		
51 カブノキ	カブノキ	89	47	106	82	106	61	82	42	61	61	91	106	84	91	106	84	89	47	106	82	106	61	82		
52 カブノキ	カブノキ	142	103	131	101	79	63	131	101	63	63	113	117	116	113	117	116	142	103	131	101	79	63	131		
53 カブノキ	カブノキ	88	88	82	84	82	84	88	88	84	84	89	105	88	89	105	88	88	88	88	82	84	82	84	88	
54 カブノキ	カブノキ	132	85	135	104	138	104	138	81	78	78	105	131	0	105	131	0	132	85	135	104	138	104	138		
55 カブノキ	カブノキ	88	88	79	90	81	81	88	81	81	81	77	80	74	77	80	74	88	88	79	90	81	81	77		
56 カブノキ	カブノキ	120	99	113	108	111	108	111	96	96	96	119	105	107	105	108	107	120	99	113	108	111	108	111		
57 カブノキ	カブノキ	88	88	88	84	88	84	88	84	84	84	116	116	84	116	116	84	88	88	88	84	84	84	116		
58 カブノキ	カブノキ	138	102	119	111	111	111	138	102	102	102	107	138	103	107	138	103	138	102	119	111	111	111	138		
59 カブノキ	カブノキ	82	77	85	81	84	81	82	77	77	77	81	85	86	81	85	86	82	77	77	77	77	77	77	82	
60 カブノキ	カブノキ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
61 カブノキ	カブノキ	1178	156	114	93	3376	340	93	3376	340	340	85	99	114	85	99	114	1178	156	114	93	3376	340	93	3376	
62 カブノキ	カブノキ	26	22	76	67	24	2	22	76	24	2	81	68	77	81	68	77	26	22	76	67	24	2	22	76	
63 カブノキ	カブノキ	149	98	109	91	109	84	109	91	84	84	117	98	99	117	98	99	149	98	109	91	109	84	109	91	109
64 カブノキ	カブノキ	80	76	96	96	76	87	80	76	87	87	95	86	81	82	86	81	80	76	96	96	76	87	87	95	
65 カブノキ	カブノキ	114	86	115	104	104	108	114	86	83	83	119	105	98	105	98	105	114	86	115	104	104	108	114	86	
66 カブノキ	カブノキ	88	76	92	79	92	79	88	76	76	76	97	80	79	80	79	80	88	76	92	79	92	79	88	76	
67 カブノキ	カブノキ	120	98	114	101	107	92	120	98	92	92	116	101	121	107	121	107	120	98	114	101	107	92	120	98	
68 カブノキ	カブノキ	86	83	88	88	88	88	86	83	88	88	104	102	107	104	102	107	86	83	88	88	88	104	102	107	
69 カブノキ	カブノキ	108	92	90	85	94	88	108	92	88	88	105	99	107	99	107	99	108	92	90	85	94	88	108	92	
70 カブノキ	カブノキ	75	82	83	83	82	82	75	82	82	82	103	81	105	86	86	105	75	82	83	83	82	82	103	81	
71 カブノキ	カブノキ	117	79	129	76	111	76	117	79	76	76	115	76	128	76	128	76	117	79	129	76	111	76	117	79	
72 カブノキ	カブノキ	117	79	102	78	102	78	117	79	78	78	102	82	84	80	84	80	117	79	102	78	102	78	117	79	
73 カブノキ	カブノキ	117	79	113	76	112	76	117	79	76	76	115	76	128	76	128	76	117	79	113	76	112	76	117	79	
74 カブノキ	カブノキ	117	79	113	76	112	76	117	79	76	76	115	76	128	76	128	76	117	79	113	76	112	76	117	79	
75 カブノキ	カブノキ	117	79	113	76	112	76	117	79	76	76	115	76	128	76	128	76	117	79	113	76	112	76	117	79	
76 カブノキ	カブノキ	117	79	113	76	112	76	117	79	76	76	115	76	128	76	128	76	117	79	113	76	112	76	117	79	
77 カブノキ	カブノキ	117	79	113	76	112	76	117	79	76	76	115	76	128	76	128	76	117	79	113	76	112	76	117	79	
78 カブノキ	カブノキ	117	79	113	76	112	76	117	79	76	76	115	76	128	76	128	76	117	79	113	76	112	76	117	79	
79 カブノキ	カブノキ	117	79	113	76	112	76	117	79	76	76	115	76	128	76	128	76	117	79	113	76	112	76	117	79	
80 カブノキ	カブノキ	117	79	113	76	112	76	117	79	76	76	115	76	128	76	128	76	117	79	113	76	112	76	117	79	
81 カブノキ	カブノキ	117	79	113	76	112	76	117	79	76	76	115	76	128	76	128	76	117	79	113	76	112	76	117	79	
82 カブノキ	カブノキ	117	79	113	76	112	76	117	79	76	76	115	76	128	76	128	76	117	79	113	76	112	76	117	79	
83 カブノキ	カブノキ	117	79	113	76	112	76	117	79	76	76	115	76	128	76	128	76	117	79	113	76	112	76	117	79	
84 カブノキ	カブノキ	117	79	113	76	112	76	117	79	76	76	115	76	128	76	128	76	117	79	113	76	112	76	117	79	
85 カブノキ	カブノキ	117	79	113	76	112	76	117	79	76	76	115	76	128	76	128	76	117	79	113	76	112	76	117	79	
86 カブノキ	カブノキ	117	79	113	76	112	76	117	79	76	76	115	76	128	76	128	76	117	79	113	76	112	76	117	79	
87 カブノキ	カブノキ	117	79	113	76	112	76	117	79	76	76	115	76	128	76	128	76	117	79	113	76	112	76	117	79	
88 カブノキ	カブノキ	117	79	113	76	112	76	117	79	76	76	115	76	128	76	128	76	117	79	113	76	112	76	117	79	
89 カブノキ	カブノキ	117	79	113	76	112	76	117	79	76	76	115	76	128	76	128	76	117	79	113	76	112	76	117	79	
90 カブノキ	カブノキ	117	79	113	76	112	76	117	79	76	76	115	76	128	76	128	76	117	79	113	76	112	76	117	79	
91 カブノキ	カブノキ	117	79	113	76	112	76	117	79	76	76	115	76	128	76	128	76	117	79	113	76	112	76	117	79	
92 カブノキ	カブノキ	117	79	113	76	112	76	117	79	76	76	115	76	128	76	128	76	117	79	113	76	112	76	117	79	
93 カブノキ	カブノキ	117	79	113	76	112	76	117	79	76	76	115	76	128	76	128	76	117	79	113	76	112	76	117	79	
94 カブノキ	カブノキ	117	79	113	76	112	76	117	79	76	76	115	76	128	76	128	76	117	79	113	76	112	76	117	79	
95 カブノキ	カブノキ	117	79	113	76	112	76	117	79	76	76	115	76	128	76	128	76	117	79	113	76	112	76	117	79	
96 カブノキ	カブノキ	117	79	113	76	112	76	117	79	76	76	115	76	128	76	128	76	117	79	113	76	112	76	117	79	
97 カブノキ	カブノキ	117																								



表 3-7 妥当性評価結果一覧

農薬品目名	分析対象化合物	野菜類										果実類											
		キャベツ		ばれいしょ		ほうれんそう		りんご		レモン		キャベツ		ばれいしょ		ほうれんそう		りんご		レモン			
		0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1		
150	ヒンカゲリン	120	○	86	○	118	○	103	○	104	○	87	○	119	○	101	○	114	○	114	○	100	○
151	フィアロニド	164	○	110	○	128	○	111	○	105	○	93	○	124	○	108	○	115	○	103	○	103	○
152	フェネキサス	144	○	103	○	126	○	107	○	79	×	71	○	135	○	112	○	119	○	106	○	106	○
153	フェナチン	165	○	79	○	147	○	111	○	117	○	98	○	119	○	106	○	126	○	107	○	107	○
154	フェニロキサシ	167	○	84	○	140	○	109	○	120	○	99	○	129	○	110	○	136	○	112	○	112	○
155	フェンキニド	123	○	106	○	183	○	119	○	111	○	100	○	182	○	138	○	4200	○	240	○	240	○
156	フェンチン	135	○	108	○	140	○	107	○	121	○	103	○	135	○	106	○	131	○	108	○	108	○
157	フェナチン	149	○	104	○	108	○	92	○	102	○	98	○	114	○	108	○	95	○	91	○	95	○
158	フェンチン	115	○	70	○	117	○	99	○	108	○	95	○	108	○	105	○	132	○	106	○	106	○
159	フェンチン	135	○	106	○	114	○	95	○	107	○	94	○	119	○	103	○	108	○	101	○	101	○
160	フェンチン	151	○	75	○	96	○	80	○	102	○	91	○	90	○	91	○	84	○	84	○	84	○
161	フェンチン	128	○	72	○	116	○	99	○	109	○	94	○	108	○	102	○	124	○	107	○	107	○
162	フェンチン	129	○	73	○	125	○	107	○	115	○	100	○	116	○	109	○	120	○	110	○	110	○
163	フェンチン	137	○	76	○	140	○	105	○	102	○	98	○	121	○	107	○	127	○	113	○	113	○
164	フェンチン	122	○	113	○	108	○	96	○	94	○	110	○	101	○	93	○	96	○	96	○	96	○
165	フェンチン	260	○	141	○	116	○	102	○	102	○	94	○	124	○	105	○	105	○	101	○	101	○
166	フェンチン	138	○	108	○	89	○	91	○	89	○	92	○	105	○	94	○	113	○	93	○	93	○
167	フェンチン	109	○	83	○	93	○	95	○	103	○	89	○	99	○	88	○	110	○	83	○	83	○
168	フェンチン	164	○	110	○	120	○	106	○	106	○	94	○	122	○	106	○	110	○	102	○	102	○
169	フェンチン	169	○	113	○	119	○	114	○	121	○	104	○	139	○	113	○	125	○	109	○	109	○
170	フェンチン	90	×	48	×	72	×	60	○	72	○	63	○	61	×	65	○	94	○	84	○	84	○
171	フェンチン	86	○	79	○	113	○	105	○	104	○	91	○	115	○	103	○	96	○	89	○	89	○
172	フェンチン	134	○	106	○	102	○	102	○	100	○	92	○	103	○	104	○	101	○	100	○	100	○
173	フェンチン	128	○	103	○	109	○	104	○	108	○	93	○	108	○	107	○	109	○	101	○	101	○
174	フェンチン	134	○	106	○	115	○	111	○	108	○	95	○	123	○	108	○	103	○	101	○	101	○
175	フェンチン	142	○	114	○	118	○	106	○	96	○	89	○	116	○	106	○	99	○	101	○	101	○
176	フェンチン	123	○	81	○	91	○	0	○	124	○	91	○	47	○	30	○	1695	○	214	○	214	○

表 3-8 妥当性評価結果一覧

農薬品目名	分析対象化合物	野菜類										果実類											
		キャベツ		ばれいしょ		ほうれんそう		りんご		レモン		キャベツ		ばれいしょ		ほうれんそう		りんご		レモン			
		0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1		
177	フェンチン	141	○	79	○	142	○	108	○	109	○	96	○	125	○	108	○	128	○	108	○	108	○
178	フェンチン	120	○	73	○	143	○	108	○	116	○	97	○	128	○	107	○	126	○	107	○	107	○
179	フェンチン	135	○	90	○	115	○	92	○	90	○	73	○	146	○	103	○	84	○	84	○	84	○
180	フェンチン	136	○	80	○	162	○	116	○	115	○	87	○	133	○	110	○	110	○	125	○	108	○
181	フェンチン	116	○	104	○	124	○	106	○	103	○	100	○	239	○	114	○	119	○	119	○	119	○
182	フェンチン	140	○	79	○	126	○	104	○	109	○	96	○	108	○	84	○	137	○	114	○	114	○
183	フェンチン	143	○	105	○	116	○	102	○	111	○	85	○	123	○	104	○	108	○	88	○	88	○
184	フェンチン	138	○	102	○	113	○	98	○	93	○	91	○	115	○	101	○	101	○	96	○	96	○
185	フェンチン	135	○	108	○	113	○	104	○	101	○	89	○	109	○	102	○	101	○	101	○	101	○
186	フェンチン	138	○	92	○	128	○	109	○	121	○	103	○	108	○	84	○	134	○	118	○	118	○
187	フェンチン	140	○	111	○	108	○	102	○	104	○	90	○	106	○	100	○	106	○	99	○	99	○
188	フェンチン	140	○	85	○	80	○	85	○	86	○	89	○	109	○	121	○	107	○	111	○	111	○
189	フェンチン	146	○	106	○	111	○	103	○	105	○	93	○	115	○	100	○	149	○	103	○	103	○
190	フェンチン	184	○	104	○	113	○	102	○	107	○	89	○	114	○	99	○	99	○	100	○	100	○
191	フェンチン	146	○	111	○	120	○	113	○	108	○	94	○	106	○	107	○	118	○	102	○	102	○
192	フェンチン	126	○	104	○	123	○	110	○	115	○	95	○	227	○	124	○	97	○	102	○	102	○
193	フェンチン	136	○	79	○	146	○	112	○	119	○	103	○	123	○	108	○	133	○	112	○	112	○
194	フェンチン	254	○	120	○	125	○	105	○	105	○	91	○	121	○	101	○	133	○	95	○	95	○
195	フェンチン	144	○	99	○	85	○	88	○	83	○	87	○	90	○	92	○	98	○	98	○	98	○
196	フェンチン	131	○	103	○	138	○	107	○	200	○	109	○	83	○	81	○	122	○	100	○	100	○
197	フェンチン	153	○	106	○	120	○	100	○	73	○	87	○	130	○	111	○	100	○	100	○	100	○
198	フェンチン	6028	○	819	○	1008	○	179	○	705	○	134	○	787	○	182	○	307	○	90	○	90	○
199	フェンチン	124	○	103	○	113	○	100	○	86	○	91	○	110	○	100	○	106	○	102	○	102	○
200	フェンチン	133	○	98	○	116	○	104	○	103	○	89	○	122	○	104	○	104	○	101	○	101	○
201	フェンチン	108	○	102	○	123	○	106	○	118	○	94	○	126	○	108	○	116	○	103	○	103	○
202	フェンチン	136	○	98	○	99	○	82	○	80	○	80	○	82	○	80	○	110	○	96	○	96	○
203	フェンチン	97	○	81	○	90	○	87	○	80	○	80	○	83	○	81	○	103	○	86	○	86	○



表 3-9 妥当性評価結果一覧

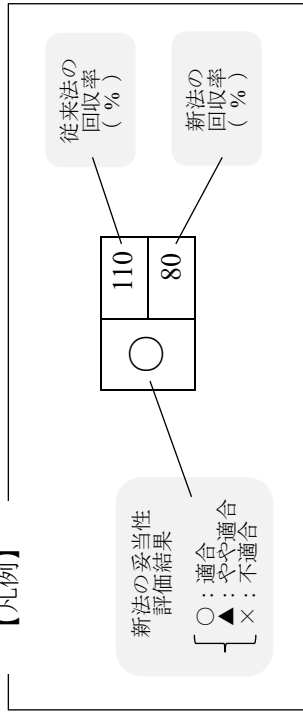
農薬品目名	野菜類												果菜類		
	キャベツ			ばれいしよ			ほうれんそう			りんご			レモン		
	0.01	0.1	0.1	0.01	0.1	0.1	0.01	0.1	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1
204	154	79	123	105	112	98	132	105	108	100	100	108	100	100	100
	○	○	○	○	○	○	▲	○	○	○	○	○	○	○	○
205	116	101	115	105	114	92	123	104	114	101	101	118	108	108	82
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
206	132	102	115	108	115	97	111	108	123	101	101	111	111	111	84
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
207	187	101	118	105	106	88	133	105	180	108	108	108	108	108	78
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
208	120	83	119	108	116	81	114	108	111	108	75	111	111	111	78
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
209	145	85	164	111	108	96	127	104	130	108	108	108	108	108	108
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
210	142	110	117	107	102	92	116	105	105	105	84	105	105	105	84
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
211	128	70	132	104	119	95	116	105	104	104	104	104	104	104	81
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
212	192	91	180	115	138	104	173	111	104	120	120	104	104	104	81
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
213	138	85	112	108	100	86	112	108	104	108	88	104	104	104	88
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
214	118	70	116	100	116	97	105	101	101	102	102	101	101	101	87
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
215	160	86	151	115	115	96	121	105	131	109	109	109	109	109	80
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
216	192	81	197	105	130	103	113	107	141	120	120	141	141	141	83
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
217	144	109	144	108	115	96	175	127	123	109	109	123	123	123	83
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
218	139	101	139	111	119	95	168	135	126	101	101	126	126	126	83
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
219	138	97	138	102	101	86	115	108	103	83	83	103	103	103	83
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
220	147	75	123	108	119	98	109	108	127	110	110	127	127	127	85
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
221	120	73	138	108	115	97	122	108	126	105	105	126	126	126	81
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
222	85	37	84	87	41	37	48	48	47	47	47	48	48	48	38
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
223	128	105	114	105	128	94	120	102	112	100	100	112	112	112	82
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
224	140	78	138	112	107	93	123	113	133	113	113	133	133	133	81
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
225	150	107	162	110	117	96	142	115	135	105	105	142	142	142	81
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
226	214	116	119	105	110	87	130	109	108	103	103	108	108	108	75
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
227	157	106	131	112	130	86	117	105	120	108	108	120	120	120	82
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
228	135	107	122	108	148	172	125	108	117	105	105	125	125	125	82
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
229	115	73	115	103	116	97	102	103	115	103	103	115	115	115	75
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
230	144	120	144	120	110	84	123	108	157	115	115	123	123	123	82
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

表 3-10 妥当性評価結果一覧

農薬品目名	野菜類												果菜類		
	キャベツ			ばれいしよ			ほうれんそう			りんご			レモン		
	0.01	0.1	0.1	0.01	0.1	0.1	0.01	0.1	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1
231	147	80	155	113	113	94	128	108	149	108	108	149	149	149	82
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
232	139	102	120	105	108	92	120	107	121	107	107	121	121	121	87
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
233	164	80	165	116	116	101	131	109	138	112	112	138	138	138	75
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
234	180	105	111	105	105	88	114	101	307	73	73	307	307	307	78
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
235	143	80	159	117	117	98	137	111	134	110	110	134	134	134	78
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

※本条件では、o,p'-DDD と p,p'-DDD のピークが重なるため、検出された場合は別条件で確認する。

【凡例】



A validation study on the multiresidue method for determination of pesticide residues in agricultural products using GC-MS/MS with general matrix standard solutions (vegetables and fruits)

Takafumi Fukushi, Ryuji Hanaishi, Juri Iwadate, and Akemi Yamamoto

As the measurement apparatus for multiresidue determination of pesticide residues was changed from GC/MS to GC-MS/MS in 2019, a validation study was conducted on five representative crops according to the validation guidelines of the Ministry of Health, Labour and Welfare. With conventional GC/MS, assessments were conducted using an absolute calibration curve method. However, there were many pesticides that had a problem with selectivity or did not meet the target accuracy because of interferences in the sample due to matrix effects. Therefore, to avoid matrix effects, an internal standard method with matrix matching was employed for GC-MS/MS analyses, and versatile, commercially available vegetable juice was used for calibration matrix solutions. Compared with GC/MS, GC-MS/MS had substantially higher recovery rates for all five representative crops. This suggested the usefulness of matrix solutions prepared from vegetable juice that can be used for analyses of a wide range of agricultural products.

Key words: method validation study, pesticide residue, multiresidue method, GC-MS/MS, matrix effect

## 青森県における酸性雨のイオン組成解析

花石竜治 工藤幾代 田村麻衣子 佐々木守

2007 年度から 2018 年度に、青森県内の酸性雨調査地点である鱒ヶ沢町および青森市で採取した降水の非海塩性(nss-)イオン沈着量について、トリリニアダイアグラムを作成した。この方法により、非海塩性の陽イオン組成比が季節変動することが示された。一方、陰イオン組成比の季節変動は小さかった。また、 $\text{NO}_3^-$ と  $\text{nss-SO}_4^{2-}$ の比である N/S 比が、既報の集計期間後の 2008 年度以降も、漸増していることが分かった。さらに、非海塩性成分の単相関解析により、アンモニウム塩の存在形態の割合が、鱒ヶ沢町と青森市でほぼ同じであることが示唆された。最後に、水素イオン沈着量を従属変数とし、それ以外のイオンの沈着量を独立変数として変数増減法の重回帰分析を行ったところ、鱒ヶ沢町および青森市における降水中の酸性物質の中和成分との関係性が示唆された。多変量解析法を用いた本研究により、青森県内の降水のイオン組成の特性を考察できた。

Key words: Acid rain, Tri-linear diagram, Non-sea salt, Ammonium salt, Multivariate analysis

### 1. はじめに

酸性雨が自然環境にもたらす影響は、ドイツの黒い森(Schwarzwald)の例<sup>1)</sup>に代表されるように、世界の各地で観測されてきた。我が国では、近年の例では、北海道の摩周湖付近の樹木の立ち枯れ現象などが、酸性の降水の影響と考えられている<sup>2)</sup>。

青森県における酸性雨調査研究は、1983 年に青森県公害センター（当時）が県南の八戸市および三沢市で行ったもの<sup>3)</sup>が最初であった。以下に、青森県による酸性雨研究の報告のうち、本研究が手段として用いた多変量解析法および気象解析を用いたものを概説する。

今ら<sup>4)</sup>は、青森市の降水の水素イオン指数 pH、電気伝導度 EC の経時変化を考察し、庄司ら<sup>5)</sup>は、降水の pH、EC をはじめ、イオン成分濃度と風向頻度との相関を考察した。また、野田<sup>6)</sup>らは、八戸市における降水毎のサンプリングを行い、イオン成分濃度も含めて、多変量解析で考察した。

早狩らは、多変量解析により県内の降水の特性を論じ<sup>7)</sup>、中和成分のカルシウムイオン沈着量とスパイクタイヤ粉じん現象との関係性を示唆した。また、非海塩性成分に着目した独自のトリリニアダイアグラムを提唱し、国内における観測結果をプロットして、その有用性を示した<sup>8)</sup>。さらに、大

陸からの影響だけを受けると推定される国設竜飛岬酸性雨測定所における調査結果を報告した<sup>9)</sup>。

対馬ら<sup>10-12)</sup>は、1991 年度から 2007 年度までのイオン成分濃度を含むデータまでの集計結果を報告した。その結果、県南地方における、中和成分として作用して生成したアンモニウムイオン沈着量の季節変化など、新規な知見を得ている。

現在の青森県内の調査地点は、西津軽郡鱒ヶ沢町および青森市の 2 地点であり、これまで、酸性の度合いを示す水素イオン指数 pH の経年変化が田村<sup>13)</sup>により報告された。

さて、降水の化学的性質を表すものはイオン濃度である。青森県内の酸性雨研究で、イオン組成に着目した解析には、風向頻度との相関を調査した研究<sup>5), 9)</sup> および多変量解析法による研究<sup>6), 7), 11)</sup>があるが、2008 年度以降には、その解析は行われていない。

酸性雨調査結果をその対策に資するためには、酸性化の成因を精査し、自然起源と人為起源とに分離して考察することが必要と考えられる。これまで、自然由来である海塩由来成分のうち、ナトリウムイオンがすべて海塩由来と考えて、海水中の濃度比から、そのほかの成分の非海塩性(non-sea salt, nss-)成分濃度を求め、それについて議論された<sup>14)</sup>。

イオン組成を直截的に図示するには、トリリニアダイアグラムが適している。これは元来、水質調査結果の図示で用いられてきた。一方、前述のように、早狩は、非海塩性成分に着目した描画法を提唱した。非海塩性成分は人為由来と考えられることから、早狩の方法は、人為由来の成分濃度あるいは沈着量を評価するのに適していると考えられる。

本研究では、青森県内の 2007 年度から 2018 年度までの降水のイオン組成の解析を行った。ここでは、専ら非海塩性成分濃度について、当量沈着量のイオン組成比を描画する早狩のトリリニアダイアグラムによるデータ表示、単相関解析および重回帰分析により解析したので、報告する。

## 2. 調査方法および地点

図 1 に、調査地点である鱒ヶ沢町にある現在の鱒ヶ沢道路河川事業所（屋上）および青森市の青森県環境保健センター（屋上）の位置図を示す。

降水採取は、ANEOS 社（旧 小笠原計器株式会社）の自動雨水採水器 US-300HD を用いた。鱒ヶ沢町では 2 週間に一度の検体回収、青森市は毎週の検体採取を行った。

検体の分析は、降水分析マニュアル<sup>15)</sup>によった。

トリリニアダイアグラム描画、単相関解析および重回帰分析には、早狩が作成した Microsoft 社表計算ソフト Excel のアドイン<sup>16)</sup>を使用した。

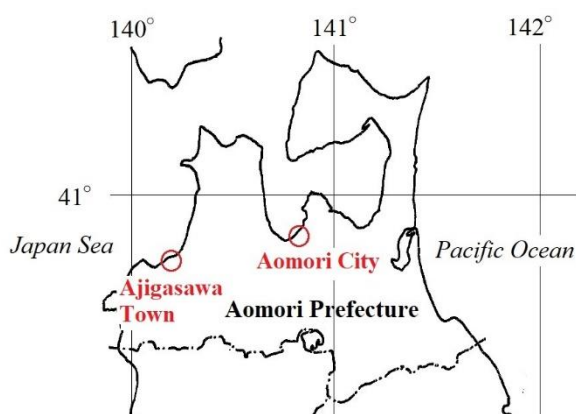


図 1 調査地点位置図

## 3. 結果の考察

### 3.1 降水濃度中のイオン濃度から非海塩性成分の当量沈着量への変換

イオンクロマトグラフィーにより得られた降水

のイオン濃度をモル当量に変換し、降水量と採取器面積から、モル沈着量に変換した。

海水中のイオン濃度を物質質量で表すことにより、これらのナトリウムイオンに対する物質質量の比の係数を、ナトリウムイオンのモル沈着量に乗じて、海塩成分としてのイオンのモル沈着量を求め、もとのイオンのモル沈着量から減じて、非海塩性のモル沈着量を計算した。モル沈着量は、最終的に当量沈着量に変換し、解析に供した。

### 3.2 早狩の方法を用いた非海塩成分のトリリニアダイアグラムによる考察

トリリニアダイアグラムの 3 成分の組成比のプロットは、その中の 2 成分の絶対組成が線形独立なため、組成比として二次元上で可能となる。

一般的に、水質調査結果のイオン組成を表すトリリニアダイアグラムには炭酸水素イオン ( $\text{HCO}_3^-$ ) の濃度表示が含まれる。

炭酸水素イオン濃度は、陸水分野ではアルカリ度と関係し、水質の酸塩基緩衝能 (acid-base buffer action) の指標とされるが、炭酸・炭酸水素塩を陰イオン分析の溶離液に加えてサプレッサを使用するイオンクロマトグラフィーでは測定されない。

早狩の独自のトリリニアダイアグラムでは、表示する陽イオンを、 $\text{nss-Ca}^{2+}$ 、 $\text{NH}_4^+$ 、およびそれ以外とし、陰イオンは、 $\text{nss-Cl}^-$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{nss-SO}_4^{2-}$ としている。

本研究においては 2007 年から 2018 年までの各月のイオンの当量沈着量についてトリリニアダイアグラムをプロットした。その結果、以下の知見が得られた。

陽イオンは、トリリニアダイアグラム上で、季節ごとに一定の範囲にプロットされた。トリリニアダイアグラムで軸に取ったのは、 $[\text{H}^+] + [\text{nss-K}^+] + [\text{nss-Mg}^{2+}]$ 、 $[\text{NH}_4^+]$  および  $[\text{nss-Ca}^{2+}]$  (以下、 $[\ ]$  は当量沈着量を示す) であり、これらの組成比は季節変動した。すなわち、人為起源の陽イオン組成比が季節変動することがわかった。

また、陰イオンはトリリニアダイアグラム上でおおむね同じ位置にプロットされた。このことは、 $[\text{nss-SO}_4^{2-}]$ 、 $[\text{NO}_3^-]$  および  $[\text{nss-Cl}^-]$  の比が、年間を通じてほぼ同一であることを示す。すなわち、人為起源の陰イオン組成比は、年間を通じてほぼ一定であった。ただし、この「同一」の陰イオン組成比は第一近似的であり、10 月および 11 月で、鱒ヶ沢町および青森市で、プロットがわずかながら

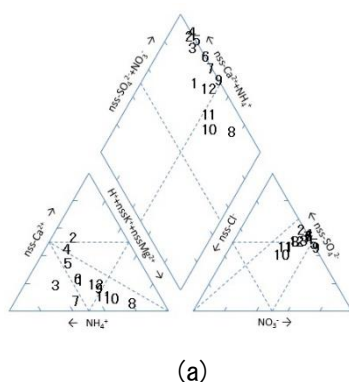
も、そのほかの集団から外れている。

図2に、2018年の (a) 鱒ヶ沢町および (b) 青森市の降水のトリリニアダイアグラムを示す。

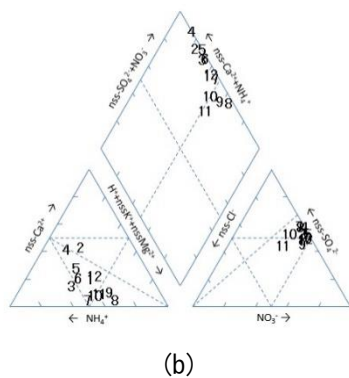
図2からおおよその季節傾向が読み取れるが、2018年3月から5月、6月から8月、9月から11月、12月から2019年2月までの四つの季節に分けて、トリリニアダイアグラム上のプロット位置をグルーピングすると、図3を得る。

図3から、鱒ヶ沢町および青森市で、陽イオンのイオン組成比が季節によってグループ分けされることが分かった。これらの季節ごとに卓越する風向に違いがあることが原因と考えられる。

また、両者の地点で組成比は同一の挙動を示すことから、これらの人為起源の陽イオンが、両地点において、季節ごとに概ね同じ機構で、降水に取り込まれていることが示唆された。



(a)



(b)

図2 (a) 鱒ヶ沢町および (b) 青森市の2018年度における降水のトリリニアダイアグラム。図中の数字は月を示す。

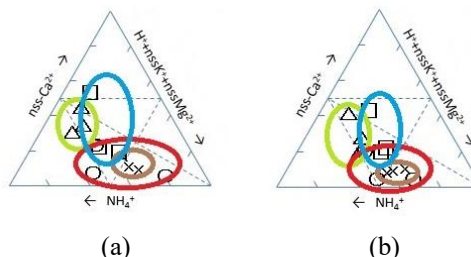


図3 (a) 鱒ヶ沢町および (b) 青森市における2018年3月から2019年2月までの季節別のトリリニアダイアグラム。プロットは、非海塩性陽イオンの当量沈着量について、△:3月から5月(春)、○:6月から8月(夏)、×:9月から11月(秋)、□:12月から2019年2月(冬)。グルーピングは、黄緑:春、赤:夏、茶:秋、青:冬。

### 3.3 N/S比の経時変化

早狩の方法によるトリリニアダイアグラム<sup>8)</sup>では、非海塩性陰イオンのプロットに、N/S比  $([\text{NO}_3^-]/[\text{nss-SO}_4^{2-}])=0.5$  の補助線を設けている。

これは、全国的な集計で、 $0.2 < \text{N/S} < 0.8$  の範囲にプロットが集中するとの指摘を考慮したからである。

さて、2007年から2018年までのトリリニアダイアグラムを概観すると、陰イオンのプロットが、 $\text{N/S} > 0.5$  側へ偏在化することが示唆された。

そこで、この期間中の、鱒ヶ沢町および青森市の当量沈着量について、N/S比をプロットしたのが図4である。

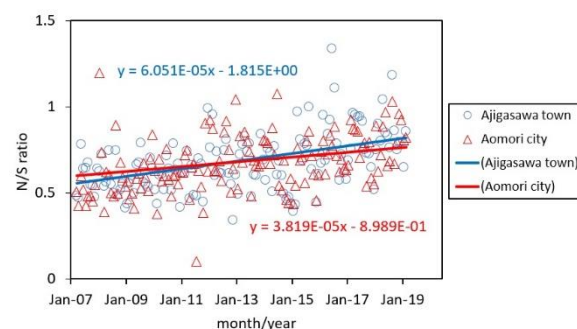


図4 N/S比のプロット

図4から、N/S比は、鱒ヶ沢町、青森市の両方で漸増していることが分かった。その程度は、2018年度末には、2007年年度初めから、比にして約0.2の増加であった。

対馬らは、1997年度から2008年度の湿性沈着調査結果を取りまとめ、この期間中でN/S比は、

概ね 0.3~0.7 の範囲であるが、漸増傾向があることを指摘した<sup>12)</sup>。

本研究における集計は、対馬らの報告のデータ範囲（2008 年度まで）以降のものである。本研究の集計範囲でも N/S 比が上昇したことは、酸性物質の発生源として、 $\text{NO}_3^-$  を形成する窒素酸化物の相対的寄与が、 $\text{SO}_4^{2-}$  を形成する硫黄酸化物に比べて増加しており、この傾向が少なくとも 1997 年度以降から続いていることを示す。よって、近年は酸性雨の人為起源の発生源としての窒素酸化物をより注視する必要があることを示唆している。

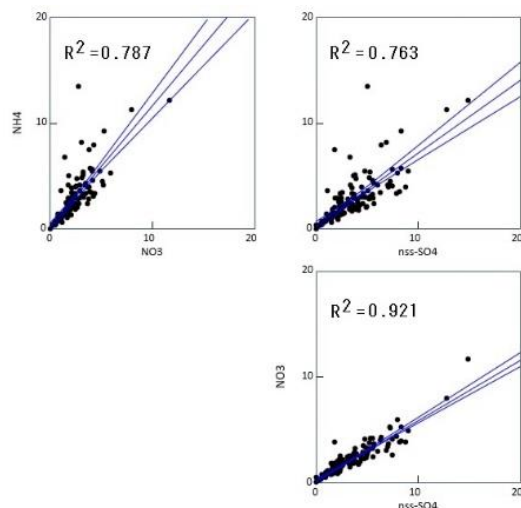
### 3.4 アンモニウム塩の挙動

松本ら<sup>17)</sup> は、夏冬に分けてエアロゾル成分の濃度の相関を考察した結果、硫酸イオンおよびアンモニウムイオンで構成されるエアロゾルの化学形態として、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 、 $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 $\text{NH}_4\text{HSO}_4$  が推定されるとした。また、エアロゾル成分の粒径分布を、アンダーセンエアサンプラーを用いて測定し、硫酸イオンとアンモニウムイオンが微小粒子側に偏在することを示し、これらが燃焼過程を経た大気化学反応により生成したと推定した。これらが同一の粒径分布を持つということは、対になって大気中に存在することの傍証である。

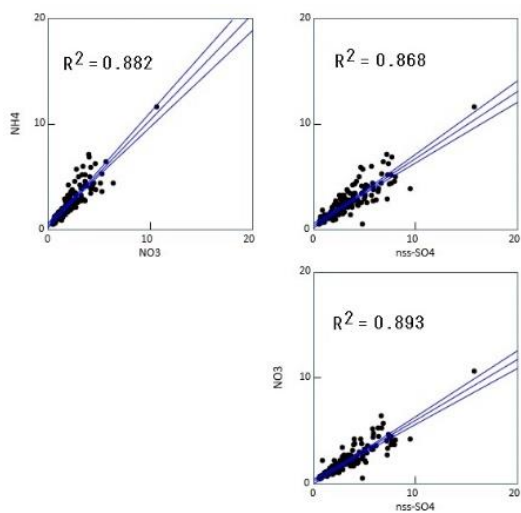
また、Warneck<sup>18)</sup> は、硫酸イオンとアンモニウムイオンから生成するエアロゾルには、化学形態として、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 $\text{NH}_4\text{HSO}_4$  が含まれるとした。

一方、野口ら<sup>19)</sup> は、北海道の日本海側、内陸部および都市部でのアンモニウム塩の動向を精査し、日本海側は大陸起源の傾向を直接的に反映し、内陸部では陸地領域を通過する過程でアンモニウム塩の組成が変化している可能性を指摘した。

ここで、本研究で解析を試みている降水中の非海塩性成分の当量沈着量の単相関を取ると、 $[\text{NH}_4^+]$ 、 $[\text{NO}_3^-]$ 、 $[\text{nss-SO}_4^{2-}]$ の間には極めて良好な相関があった。これを図 5 に示す。



(a)



(b)

図 5 (a) 鱒ヶ沢町および (b) 青森市における 2007 年度から 2018 年度の  $[\text{NH}_4^+]$ 、 $[\text{NO}_3^-]$ 、 $[\text{nss-SO}_4^{2-}]$  の当量沈着量の単相関。

図 5 の  $[\text{nss-SO}_4^{2-}]$  対  $[\text{NH}_4^+]$  の当量沈着量プロットにおける回帰直線の傾き ( $[\text{NH}_4^+]/[\text{nss-SO}_4^{2-}]$ ) は、鱒ヶ沢町で 0.689、青森市で 0.635 であり、ほとんど差がなかった。

野口ら<sup>19)</sup> は、アンモニウムイオンと硫酸イオン、硫酸水素イオンなどの塩の当量組成比 (eq: eq) が、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  では  $[\text{NH}_4^+]:[\text{SO}_4^{2-}] = 1:1$ 、 $\text{NH}_4\text{HSO}_4$  では  $[\text{NH}_4^+]:[\text{SO}_4^{2-}] = 1:2$  などであり、北海道の日本海側で比が低く、内陸部で比が高いことを報告している。

本研究の結果、青森県の鱒ヶ沢町と青森市では、ともに気流が陸地を通過する過程で起きるアンモニウム塩の組成変化を受けずに、ほぼ等しい



$[\text{NH}_4^+]/[\text{nss-SO}_4^{2-}]$ として観測されたと考えられた。観測された比は、 $\text{NH}_4\text{HSO}_4$ の形態の比 0.5 と  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ の形態での比 1 の中間であり、これは、野口ら<sup>19)</sup>が、陸地上の気流の影響がない北海道利尻で観測した比にほぼ等しかった。

### 3.5 重回帰分析による鱒ヶ沢町と青森市の降水組成の違い

酸性雨調査は、pH、EC およびイオン組成について測定を行うが、その最終的な目的は、酸性物質沈着の把握である。

そこで、イオン組成を独立変数にとり、酸性を示す指標の水素イオン沈着量を従属変数として表すことができれば、その式の係数の符号や大小で、各イオン沈着量が水素イオン沈着量に寄与する程度を議論できるのではないかと考えられた。

これに着眼した解析は、すでに早狩ら<sup>7)</sup>により行われているため、ここでは、その報告以後のデータとして今回取り上げている測定結果のうち、2018年度のデータを用いて、重回帰分析を行った。

これまでのトリリニアダイアグラムによる解析結果から、水素イオン沈着量以外の非海塩性成分の沈着量として独立変数たりうるイオンは、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{nss-Ca}^{2+}$ 、 $\text{nss-SO}_4^{2-}$ であり、これ以外の非海塩性成分は、濃度が比較的小さかった。この四つの当量イオン沈着量を独立変数として、導入水準  $F = 2$  の変数増減法で、独立変数を取捨選択した。

この結果、鱒ヶ沢町について(A)式、青森市について(B)式が得られた。なお、両辺の単位は  $\text{meq/m}^2$  である。

$$[\text{H}^+] = 0.836 + 0.698[\text{nss} - \text{SO}_4^{2-}] - 1.144[\text{nss} - \text{Ca}^{2+}] \quad (\text{A})$$

$$[\text{H}^+] = 0.188 + 1.288[\text{nss} - \text{SO}_4^{2-}] - 0.291[\text{NH}_4^+] - 1.097[\text{nss} - \text{Ca}^{2+}] \quad (\text{B})$$

(A)(B)式で、 $\text{nss-SO}_4^{2-}$ の係数が正で、また、 $\text{NH}_4^+$  および  $\text{nss-Ca}^{2+}$  について負となっている。また、(A)式では  $\text{NH}_4^+$  が含まれず、(B)式で含まれている。

これらのことから、以下の2点が結論された。

1) 水素イオン沈着量が増加している時に増加しているのは硫酸イオンであり、減少している時に増加しているのは、カルシウムイオンやアンモニ

ウムイオンである。すなわち、硫酸イオンの沈着量の増加とともに水素イオン沈着量が増加し、カルシウムイオンやアンモニウムイオンは、降水中の酸性物質の中和の結果生じたものであることを示唆した。

2) 鱒ヶ沢町と青森市を比べると、鱒ヶ沢町ではアンモニウムイオンが式に取り込まれず、青森市で取り込まれていた。このことは、鱒ヶ沢町では、水素イオン沈着量に対してアンモニウムイオンは無関係であり、一方、青森市ではこれが中和成分から生じたと解釈できた。

以上から、重回帰分析により、水素イオン沈着量に関係するイオンを特定でき、またその影響の違いを明らかにできた。

## 4. 結論

非海塩性成分に着目して、青森県内の酸性雨観測データを、トリリニアダイアグラムをはじめとする方法で解析したところ、以下の結果が得られた。

1) トリリニアダイアグラムのプロットから、非海塩性のうち、陰イオン沈着量の組成比は、鱒ヶ沢町、青森市ともに、年間を通じてほぼ同じであった。これに対して、非海塩性の陽イオン沈着量は、両方の地点で似た傾向を示すが、季節ごとに異なった組成比を持つことが明瞭に示唆された。

2)  $\text{NO}_3^-$ と  $\text{nss-SO}_4^{2-}$ の比である N/S 比の経月変化を取ると、鱒ヶ沢町、青森市の両方で、近年、漸増傾向が認められた。このことは、現在では、酸性雨の発生源として、窒素酸化物を注視する必要があることを示唆した。

3)  $\text{NH}_4^+$ と  $\text{nss-SO}_4^{2-}$ のプロットの傾き(これらの比)を精査した結果、鱒ヶ沢町と青森市でほぼ等しいことが分かった。この一致は、両方の観測地点が海からの影響を強く受け、陸地を通過して組成比を変える効果がない、あるいは弱いからと考えられた。

4) 水素イオン沈着量を従属変数とし、それ以外のイオンの沈着量を独立変数として重回帰分析を行った結果、鱒ヶ沢町と青森市で違いが認められた。変数増減法を行った結果、青森市において  $\text{NH}_4^+$ が、鱒ヶ沢町と青森市の両方で、 $\text{nss-Ca}^{2+}$ が、降水中の酸性物質を中和してできた成分と解釈された。

本研究では、多変量解析法を用いて、青森県内の降水の化学組成を議論し、降水の性質を明らかにすることを試みた。

現在の調査地点である鱒ヶ沢町と青森市の二地点については、同様の結果が得られる場合もあり、また差異も認められた。さらに、N/S 比のように現在も変動（漸増）している項目も認められ、今後、注目すべき発生源にまで言及できた。

酸性雨調査は長い歴史を持つが、本研究における解析手法や視点から新たな結論が得られたように、現在もなお、課題多い分野であろう。

今後も降水の試料を採取し、pH、EC はもちろんであるが、イオン組成を把握し解析を行い、酸性雨の監視・対策に資する必要性がある。

## 文 献

- 1) 環境用語集：「黒い森」EIC ネット  
<https://www.eic.or.jp/ecoterm/?act=view&serial=700>  
(2021年10月11日アクセス可能)
- 2) 山口高志ほか：摩周湖周辺の樹木衰退とその要因としての酸性霧の検討. 北方森林研究, **60**, 45-46, 2012.
- 3) 早狩敏男ほか：青森県南部における雨水（酸性雨）の実態調査. 青森県公害センター所報, **6**, 90-94, 1983.
- 4) 今 武純ほか：青森市における降水の pH の変動について. 青森県公害調査事務所所報, **7**, 57-62, 1985.
- 5) 庄司博光ほか：青森市における降水の溶解性成分について. 青森県公害調査事務所所報, **9**, 53-60, 1988.
- 6) 野田正志ほか：八戸地区の酸性雨の実態—梅雨期の一降水の化学特性—. 青森県公害センター所報, **9**, 42-47, 1989.
- 7) 早狩 進ほか：青森県における酸性降下物の特徴. 青森県環境保健センター研究報告, **6**, 51-58, 1995.
- 8) 早狩 進：酸性雨解析におけるイオン組成の

表現方法の検討—トリリニア・ダイアグラムの応用—. 青森県環境保健センター研究報告, **6**, 59-64, 1995.

- 9) 早狩 進ほか：Wet/Dry 型捕集装置による青森県竜飛の降水特性. 全国公害研会誌, **23**, 42-48, 1998.
- 10) 対馬典子ほか：青森県内における酸性沈着による汚染実態—湿性沈着物およびガス状沈着物の調査結果から—. 青森県環境保健センター研究報告, **16**, 66-73, 2005.
- 11) 対馬典子ほか：青森県における酸性沈着による汚染実態(II)—平成 15～17 年度の調査結果より—. 青森県環境保健センター研究報告, **18**, 26-33, 2007.
- 12) 対馬典子ほか：青森県内の酸性沈着調査結果～平成 3～19 年度のとりまとめ～. 青森県環境保健センター研究報告, **19**, 31-39, 2008.
- 13) 田村麻衣子：青森県における酸性雨実態調査結果～平成 26 年度から令和元年度まで～. 青森県環境保健センター研究報告, **31**, 63-64, 2020.
- 14) 岡元満美ほか：酸性雨中の海塩起源イオンに関する研究. 日本海水学会誌, **53**, 364-372, 1999.
- 15) 環境省「湿性沈着モニタリング手引き書」（第 2 版）（平成 13 年 3 月）.
- 16) Excel アドイン工房「早狩」  
<http://www7b.biglobe.ne.jp/~hayakari/index.html>  
(2021年10月11日アクセス可能)
- 17) 松本光弘ほか：大気中エアロゾル成分のイオンクロマトグラフィーによる測定と挙動. 全国公害研会誌, **6**, 15-21, 1981.
- 18) Warneck, P.: Chemistry of the Natural Atmosphere, 2nd ed., International Geophysics, Academic Press, New York, USA, 2000.
- 19) 野口 泉ほか：北海道におけるアンモニウム塩の挙動. 第 25 回大気環境学会 北海道東北支部学術集会講演要旨集, 2020.10.12, 札幌市.



## Analyses of Ionic Compositions Contained in Precipitation in Aomori Prefecture

Ryuji Hanaishi, Ikuyo Kudo, Maiko Tamura, Mamoru Sasaki

From FY2007 to FY2018, tri-linear diagram plots were made for the amount of non-sea salt (nss-) ion deposition in precipitation sampled at Ajigasawa Town and Aomori City, which are acid rain survey sites in Aomori Prefecture. These plots revealed seasonal variations of non-sea salt cation composition ratios. On the contrary, the anion composition ratios scarcely varied seasonally at the both sites. It was also shown that the N/S ratio, which is the ratio of  $\text{NO}_3^-$  to  $\text{nss-SO}_4^{2-}$ , gradually increased even after FY2008 when the previously reported ended the investigations. Furthermore, by a single correlation analysis of non-sea salt components, it was estimated that the chemical forms of ammonium salts were almost same in Ajigasawa Town and Aomori City. Finally, a multiple regression analysis, using the variable selection method, was applied to the amount of hydrogen ion deposition as a dependent variable and to the amounts of other ions deposited as independent variables. The analysis results suggested that the relationship between the hydrogen ion concentration and the components formed after neutralizing acidic substances in precipitation differed in Ajigasawa Town and Aomori City. Through this study, the present authors could consider the characteristics of the ionic compositions of precipitation in Aomori Prefecture by means of the multivariate analysis methods.

Key words: Acid rain, Tri-linear diagram, Non-sea salt, Ammonium salt, Multivariate analysis

## ベイズ統計手法によりケミカルマスバランス法計算を行う表計算ソフトマクロの作成

花石竜治

ケミカルマスバランス(CMB)法は、レセプターモデルに基づく環境汚染解析の一手法である。柏木(2004)が確立した CMB 法のアルゴリズムはベイズ統計手法 (以下、「ベイズ法」と言う。)を採用している。本研究では、この数値計算法を改良して、表計算ソフトのマクロとして記述した。ベイズ法の特徴は、モデル式に未知発生源の寄与と組成を組み入れて評価できることである。また、ベイズ法は非負の発生源寄与のみを与え、さらに、組成モデルを用いているため、従来法よりも、物理的に解釈が容易な発生源寄与を与える。発生源寄与および未知発生源の寄与と組成を仮定してシミュレーションを行ったところ、これらが概ね良好に再現できた。また、実測データへの応用では、他の CMB 法よりも、環境汚染の観測点の実測値を正確に再現できた。以上から、このベイズ法が発生源解析に有用であることが分かった。

Key words: Chemical mass balance, Bayesian statistics, Markov chain Monte Carlo method, Unknown source

### 1. はじめに

環境汚染の削減のためには、寄与の大きい発生源を特定し、そこからの排出量を削減することが、もっとも効果の高い手法である。このため、採取した環境試料の化学分析の結果を解析し、発生源を推定することが、環境行政にとって重要な業務となる。

現代の発生源解析には、大きく分けて、Chemical Mass Balance(ケミカルマスバランス、CMB)法と、Positive Matrix Factorization(PMF)法<sup>1)</sup>の二つの流れがある。

その両方が仮定している前提は、レセプターモデルであり、発生源からの汚染物質が、環境汚染の観測点まで、化学種として組成を変えずにその線形和をなして到達するという、重ね合わせの原理(Superposition principle)が成り立つことである。よって、レセプターモデルの適用に適した化学種は、金属元素や難分解性有機化合物のように、移送過程で変質せず、かつ指標となるものである。

CMB 法では、発生源からの汚染を、既知の発生源プロファイルとし、環境汚染の観測点の化学種濃度から、発生源の寄与を推定する。PMF 法では、環境汚染の観測点の化学種濃度の複数のデータセットから、因子分析の考えにより、発生源のプロファイルおよび寄与の推定を行う。

本報告で取り上げる CMB 法は、1970 年代に提唱され<sup>2)</sup>、以来、半世紀にわたって、計算方法やア

ルゴリズムに改良が加えられている<sup>3),4)</sup>。この中でもっとも多く流布しているアプリケーションは、米国環境保護庁(USEPA)の CMB8<sup>5),6)</sup>である。CMB8 は、環境汚染の観測点の化学種濃度の誤差と、発生源プロファイルの化学種濃度の誤差の両方を考慮する「有効分散最小二乗法」(EVLSQ)を用いている。

さて、最小二乗法(LSQ)計算の欠点は、発生源プロファイルに組成の類似した、すなわち多重共線性の強い組み合わせを設定した場合、負の発生源寄与を与える可能性があることである。この負の寄与は物理的に意味がないため、これまでの CMB 法の開発研究においては、負の寄与を回避することに力が置かれてきた。

USEPA の CMB8<sup>5),6)</sup>には、「負の寄与を与える発生源除去」機能があるが、発生源の取捨選択には恣意が入る可能性があるため、本質的に非負の寄与を与える方法が望まれてきた。

このような中で、著者ほか<sup>7)</sup>は、非負寄与を与える CMB 法として、従来の EVLSQ 法を、非負条件で解く非負拘束最小二乗法(NN-EVLSQ)を提案した。さらに著者<sup>8)</sup>は、発生源寄与についての最尤法を、非線形最適化法の一法である主双対内点法で解く方法(MLM)を提案した。

非負の発生源寄与を与える CMB 法のもう一つの流れは、ベイズ法の応用である。ベイズ法は、例えば CMB 法においては、寄与などのパラメー

タを確率変数と見なし、この確率分布をベイズ更新と呼ばれる方法で求め、パラメータの期待値などを算出する。Billheimer<sup>9)</sup> は、比率モデルを採用してこの方法を CMB 法に応用し、続いて、本邦の柏木<sup>4)</sup> および柏木ほか<sup>10)</sup> が計算手法を確立した。ベイズ法の応用は、その後、Park ほか<sup>11)</sup>、Keats ほか<sup>12)</sup>、および Massoudieh ほか<sup>13)</sup> により、それぞれ研究がなされた。

柏木らのベイズ法 CMB の特徴は、未知発生源の存在を仮定して、その寄与と組成を求められることである。柏木らは、この計算法を用いてスタンドアロンで動作する実行可能アプリケーション<sup>14)</sup> を開発した。

一方、早狩および著者は、USEPA の CMB8 を、データの取り扱いで多用されている表計算ソフトのマイクロソフト社 Excel の VBA マクロに移植して公開してきた経緯<sup>15)</sup> がある。利用者は、このマクロ機能を用い、独自の入出力設定を行わず、データを含んだ Excel ワークシートから直接 CMB 計算を行うことができる。

そこで著者は、今回、柏木らの CMB 法について、まず、数値計算を高速化するための計算方法を検討した。その上で、計算に時間がかかるマルコフ連鎖モンテカルロ(MCMC)計算を行う C 言語で記述した DLL を作成し、これを Excel VBA でコードした主プログラムから呼び出すマクロとした。著者らの CMB マクロは、これまで最小二乗法などの従来の計算法での解析が可能であったが、今回、ベイズ法も使用可能にした。本報告では、その計算手法の検討<sup>16)</sup> および試用結果を述べる。

## 2. 理論

### 2.1 CMB モデル式

柏木ら<sup>4)</sup> により、CMB モデル式を比率モデル<sup>9),17)</sup> で記述すると次式のとおりとなる。

$$\zeta_i = \sum_{j=1}^{n_j} \xi_{ij} \theta_j + \omega_i \left( 1 - \sum_{j=1}^{n_j} \theta_j \right) \quad (1)$$

条件として、

$$\omega_i \geq 0$$

$$\sum_{i=1}^{n_i-1} \omega_i \leq 1$$

$$\theta_j \geq 0$$

$$\sum_{j=1}^{n_j} \theta_j < 1$$

ここで、

$\zeta_i$  : 環境汚染の観測点の化学種濃度 (単位:g/g)

$\xi_{ij}$  : 発生源プロファイルの行列 (単位:g/g)

$\theta_j$  : 寄与 (無次元)

$\omega_i$  : 未知発生源の組成 (単位:g/g)

$n_i$  : 化学種の数に 1 を加えた数

$n_j$  : 発生源の数

$i$  : 化学種を示す添え字

$j$  : 発生源を示す添え字

である。ここで、柏木<sup>4)</sup> は、比率モデルにおいて、 $n_i$  個の化学種の濃度の和が 1 g/g となることを想定している。よって、独立な化学種濃度は、 $n_i - 1$  個となり、モデル式には  $n_i - 1$  個の化学種を既述すればよい。

しかし、本研究では、独立な  $n'_i$  個の化学種に着目し、もう 1 個の化学種の存在を考えて、濃度の総和が 1 g/g となるように考える。すなわち、 $n'_i$  個の化学種の濃度測定による完全な組成把握を前提とせず、 $n'_i + 1$  個の化学種濃度の和が 1 g/g になることを想定する。数式で表すと、

$$n_i = n'_i + 1$$

である。そのため、柏木らの取り扱いの  $n_i$  を化学種の数+1 と読み替える。

以下で、環境汚染の観測点の化学種濃度  $\zeta_i$  と発生源プロファイル濃度測定値  $\xi_{ij}$  の実現値を、それぞれ  $Z_i$ 、 $x_{ij}$  とし、これらのベクトルおよび行列表現を  $\mathbf{Z}$ 、 $\mathbf{x}$  とする。また、寄与  $\theta_j$  および未知発生源の組成  $\omega_i$  のベクトル表現をそれぞれ  $\boldsymbol{\theta}$ 、 $\boldsymbol{\omega}$  とする。

これらのベクトルおよび行列を要素で記述すると以下のとおりである。

$$\mathbf{Z} = \begin{pmatrix} Z_1 \\ \vdots \\ Z_{n_i-1} \end{pmatrix}$$

$$\mathbf{x} = \begin{pmatrix} x_{11} & \cdots & x_{1,n_j} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ x_{n_i-1,1} & \cdots & x_{n_i-1,n_j} \end{pmatrix}$$

$$\boldsymbol{\theta} = \begin{pmatrix} \theta_1 \\ \vdots \\ \theta_{n_j} \end{pmatrix}$$

$$\boldsymbol{\omega} = \begin{pmatrix} \omega_1 \\ \vdots \\ \omega_{n_i-1} \end{pmatrix}$$

本研究の取り扱いでは、発生源プロファイル行列の誤差を考慮せず、 $\xi_{ij} = x_{ij}$  とし、環境汚染の観測点の化学種濃度測定誤差だけを考慮する。

## 2.2 分散共分散行列

柏木らの扱い<sup>4)</sup>では、分散共分散行列を設定するために、多項分布を用いる方法や、環境汚染の観測点の化学種濃度測定値が切断正規分布、対数正規分布、ガンマ分布の3種の確率分布のいずれかに従うと仮定し、それらの確率分布のモーメント方程式から平均と分散を求め、確率分布に従う乱数を生成させ、これにより標本共分散を求める方法を採用している。

本研究では、単純に、分散共分散行列  $\boldsymbol{\sigma}$  が対角的と仮定する。すなわち、環境汚染の観測点における化学種  $i$  の濃度の測定値  $Z_i$  (単位:g/g) の不確かさとして与えられる分散を  $\sigma_i^2$  として、

$$\boldsymbol{\sigma} = \text{diag}(\sigma_i^2) = \begin{pmatrix} \sigma_1^2 & 0 & 0 \\ 0 & \ddots & 0 \\ 0 & 0 & \sigma_{n_i-1}^2 \end{pmatrix} \quad (2)$$

とする。

## 2.3 尤度

(1)式のモデル式が与える尤度は、柏木ら<sup>4)</sup>により記述されており、分散共分散行列を(2)式に取った場合、記述し直すと、次式(3)のとおりとなる。

$$l(\boldsymbol{\omega}, \boldsymbol{\theta}) = (2\pi)^{-(n_i-1)/2} |\boldsymbol{\sigma}|^{-1/2} \cdot \exp \left[ -\frac{1}{2} \left\{ \mathbf{Z} - \mathbf{x}\boldsymbol{\theta} - \boldsymbol{\omega} (1 - \mathbf{1}_{n_j}\boldsymbol{\theta}) \right\}^t \boldsymbol{\sigma}^{-1} \left\{ \mathbf{Z} - \mathbf{x}\boldsymbol{\theta} - \boldsymbol{\omega} (1 - \mathbf{1}_{n_j}\boldsymbol{\theta}) \right\} \right] \quad (3)$$

ここで、

$$\mathbf{1}_n = \overbrace{(1, \dots, 1)}^n$$

である。また、 $t$  は転置を表す。

## 2.4 MCMC 法の適用

### (1) 確率変数としてのパラメータの期待値と分散の計算<sup>4)</sup>

計算上のパラメータセット  $\boldsymbol{\lambda}$  (ここでは、 $\theta_j$  および  $\omega_i$ ) をなすパラメータ  $\lambda_m$  に対応する確率変数を  $\Lambda_m$  と表記する。

いま、MCMC 法により、乱数を初期値として、事前分布から事後分布への更新がベイズの定理により  $n_r$  回行われたとすると、確率変数  $\Lambda_m$  の期待値  $E(\Lambda_m)$  および分散  $\text{var}(\Lambda_m)$  は、モンテカルロ積分により次式(4)で与えられる。

$$\left. \begin{aligned} E(\Lambda_m) &\cong \frac{1}{n_r} \sum_{r=1}^{n_r} \lambda_m(r) \\ \text{var}(\Lambda_m) &\cong \frac{1}{n_r} \sum_{r=1}^{n_r} \lambda_m^2(r) - E^2(\Lambda_m) \end{aligned} \right\} \quad (4)$$

ここで、 $\lambda_m(r)$  は、 $r$  回目の更新で得られた、計算上のパラメータ  $\lambda_m$  を示す。

### (2) 柏木の方法による MCMC 法

ベイズ法の計算の原理は、パラメータの初期値として乱数を与えて出発し、(3)式で与えられる尤度により、事前分布を事後分布に更新するベイズの定理を利用して、MCMC 法によりパラメータを更新していくことである。この更新では、ギブズサンプラーを用いる場合、マルコフ連鎖における遷移核<sup>18)</sup>としての完全条件付き密度を使用する。

柏木は、その切断正規分布、すなわちパラメータが確率変数として従う完全条件付き密度のパラメータの表式を導出した<sup>4), 10)</sup>。彼は、single-component Metropolis-Hasting (SCMH) アルゴリズムで採択率 1 としたが、これはギブズサンプラーを用いたためである<sup>18)</sup>。

本研究では、パラメータの初期値として区間 [0,1] の一様乱数を用い、柏木ら<sup>4), 10)</sup>が記述した確率変数  $\Lambda_m$  が従う切断正規分布の平均値および分散の式から、その切断正規分布に従う乱数を生成させ、この数を更新していく。これを単一連鎖法と呼ぶ。

表 1 に、柏木らの、発生源寄与  $\theta_m$  および未知発生源の組成  $\omega_m$  が従う切断正規分布のパラメ

ータを示した。ここで、期待値  $\mu_t$ 、分散  $\sigma_t^2$  であり、 $a$ 、 $b$  はそれぞれその分布の下限および上限である。

単一連鎖法における更新回で、それぞれのパラメータを1個ずつ更新していくが、更新されるパラメータの添え字が表1における  $m$  である。1回の更新回ですべてのパラメータを1個ずつ更新して、パラメータセットのすべて完了した後に次の更新回に進む。これにより、乱数から出発したパラメータセットについて、マルコフ連鎖させ、定常分布を得る。

表1 発生源寄与  $\theta_m$  および未知発生源の組成  $\omega_m$  についての確率密度を与える切断正規分布のパラメータの表式

$\omega_m$	$\mu_t$	$\frac{1}{\tau_{mm}} \left\{ \frac{(Z - x\theta)^t \tau_m}{(1 - \mathbf{1}_{n_j} \theta)} - \omega_{-m}^t \tau_{-m} \right\}$
$\sigma_t^2$		$\frac{1}{\tau_{mm} (1 - \mathbf{1}_{n_j} \theta)^2}$
$a$		0
$b$		$1 - \mathbf{1}_{n_{i-2}} \omega_{-m}$
$\theta_m$	$\mu_t$	$\frac{\{Z - x_m \theta_{-m} - \omega (1 - \mathbf{1}_{n_{j-1}} \theta_{-m})\}^t \sigma^{-1}(x_m - \omega)}{\{x_m - \omega\}^t \sigma^{-1}(x_m - \omega)}$
$\sigma_t^2$		$\frac{1}{\{x_m - \omega\}^t \sigma^{-1}(x_m - \omega)}$
$a$		0
$b$		$1 - \mathbf{1}_{n_{j-1}} \theta_{-m}$

ここで、

$$\omega_{-i} = \begin{pmatrix} \omega_1 \\ \vdots \\ \omega_{i-1} \\ \omega_{i+1} \\ \vdots \\ \omega_{n_{i-1}} \end{pmatrix}$$

$$\theta_{-j} = \begin{pmatrix} \theta_1 \\ \vdots \\ \theta_{j-1} \\ \theta_{j+1} \\ \vdots \\ \theta_{n_j} \end{pmatrix}$$

$$\tau_{ij} = (\sigma^{-1})_{ij}$$

$$\tau_i = \begin{pmatrix} \tau_{1i} \\ \vdots \\ \tau_{n_{i-1},i} \end{pmatrix}$$

$$\tau_{-i} = \begin{pmatrix} \tau_{1i} \\ \vdots \\ \tau_{i-1,i} \\ \tau_{i+1,i} \\ \vdots \\ \tau_{n_{i-1},i} \end{pmatrix}$$

$$x_j = \begin{pmatrix} x_{1j} \\ \vdots \\ x_{n_{i-1},j} \end{pmatrix}$$

$$x_{-j} = \begin{pmatrix} x_{11} & \cdots & x_{1,j-1} & x_{1,j+1} & \cdots & x_{1,n_j} \\ \vdots & \ddots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ x_{n_{i-1},1} & \cdots & x_{n_{i-1},j-1} & x_{n_{i-1},j+1} & \cdots & x_{n_{i-1},n_j} \end{pmatrix}$$

である。

表1に示したように、発生源寄与  $\theta_m$  の統計分布の上限を設定することで、これまでのCMB法とは異なり、発生源寄与を過剰評価しないようにしている。

### (3) 乱数の処理

切断正規分布に従う乱数  $x_t$  を求める方法は、表1のパラメータの切断正規分布によって、 $u$  を入力するパラメータ（単一連鎖法計算の初期値の場合は一様乱数、それ以降の場合は、連鎖の前段階で得られたパラメータ）、 $\phi$  を標準正規分布の累積分布関数として、次式(5)による。

$$x_t = \phi^{-1}[\phi(\alpha) + u\{\phi(\beta) - \phi(\alpha)\}]\sigma_t + \mu_t \quad (5)$$

$$\alpha = \frac{a - \mu_t}{\sigma_t}$$

$$\beta = \frac{b - \mu_t}{\sigma_t}$$

累積分布関数  $\phi(\alpha)$  の算出は、区間  $[-5\sigma_t + \mu_t, \alpha]$  を100等分して、一次元正規分布確率密度関数を、台形公式を用いて数値的に積分して行う。

また、その逆関数  $\phi^{-1}$  は次で定義される相補的累積分布関数の逆関数の有理近似公式<sup>19)</sup>を用いて計算する。

まず、累積分布関数を  $\phi(x)$ 、相補的累積分布関数を  $\phi_c(x)$  とすると、累積分布関数の値  $p$  について、

$$p = \phi(x)$$

$$\phi(x) + \phi_c(x) = 1$$

$$x = \phi^{-1}(p) = \phi_c^{-1}(1 - p)$$

$$p = \phi(x) = \phi_c(-x)$$

$$x = \phi^{-1}(p) = -\phi_c^{-1}(p)$$

が成り立つ。

相補的累積分布関数  $p_c = \phi_c(x_p)$  について、 $0 < p_c \leq 0.5$  のとき、その逆関数  $\phi_c^{-1}$  は、近似的に

$$x_p = t - \frac{c_0 + c_1 t + c_2 t^2}{1 + d_1 t + d_2 t^2 + d_3 t^3} + \epsilon(p_c)$$

$$t = \sqrt{\log\left(\frac{1}{p_c^2}\right)}$$

$$c_0 = 2.515517$$

$$c_1 = 0.802853$$

$$c_2 = 0.010328$$

$$d_1 = 1.432788$$

$$d_2 = 0.189269$$

$$d_3 = 0.001308$$

$$|\epsilon(p_c)| < 4.5 \times 10^{-4}$$

と表せる<sup>19)</sup>。 $p_c > 0.5$  の場合、 $p'_c = 1 - p_c$  により計算できる。

以上から、累積分布関数の逆関数は、相補的累積分布関数の逆関数を用いて次式で表される。

$$x_p = \phi^{-1}(p) = \begin{cases} -\phi_c^{-1}(p) & 0 < p \leq 0.5 \\ \phi_c^{-1}(1 - p) & 0.5 < p < 1 \end{cases}$$

#### (4) MCMC 計算における数値処理

本研究では、前項の累積分布関数の逆関数の近似計算の安定性を確保するため、切断正規分布の範囲  $[a, b]$  に入らない出力パラメータ  $x_t < a$  あるいは  $x_t > b$  は、それぞれ、その下限  $a$  あるいは上限  $b$  の値に置き換えて、MCMC 計算を進める。

#### (5) モンテカルロ積分の数値計算

以上の方法で、初期値の一樣乱数としてのパラメータセットから開始し、切断正規分布により新たなパラメータセットを生成させ、次の更新回で、このパラメータセットから切断正規分布に従うパラメータセットを新たに得る。単一連鎖法により、マルコフ連鎖が定常分布に達するまで更新を行う。

また、異なった初期乱数のセット ( $n_M$  回) について単一連鎖法を行い、パラメータの確率分布を

求め、期待値および分散を得る。これを多重連鎖法と呼び、これにより、初期値に依存しない確率変数としてのパラメータセットの期待値および分散が得られる。

なお、単一連鎖法において、初期の更新回数では、乱数初期値の影響が大きいため、モンテカルロ積分を求める際に、最初の一定回数 ( $n_0$  回) の結果を無視する。このことを burn-in と呼ぶ<sup>4),10),18)</sup>。

以上から、(4)式で表したモンテカルロ積分は、 $r_M$  回目の多重連鎖法における過程を示して、乱数値を  $\lambda_m(r_M, r)$  と表記し、次の(6)式で書き換えられる。

$$\left. \begin{aligned} E(\Lambda_m) &\cong \frac{1}{n_M(n_r - n_0)} \sum_{r_M=1}^{n_M} \sum_{r=n_0+1}^{n_r} \lambda_m(r_M, r), \\ \text{var}(\Lambda_m) &\cong \frac{1}{n_M(n_r - n_0)} \sum_{r_M=1}^{n_M} \sum_{r=n_0+1}^{n_r} \lambda_m^2(r_M, r) - E^2(\Lambda_m) \end{aligned} \right\} \quad (6)$$

以下に、MCMC 計算のアルゴリズムを記述する。

1) 確率変数のパラメータ  $\omega_{m'} (m' = 1, \dots, n_i - 1)$ 、 $\theta_{m''} (m'' = 1, \dots, n_j)$  の初期値を、区間  $[0, 1]$  の一樣乱数に取る。いま、

$$m = \begin{cases} m' & (m' = 1, \dots, n_i - 1) \\ m'' + n_i - 1 & (m'' = 1, \dots, n_j) \end{cases}$$

とすると、 $m = 1, \dots, n_i + n_j - 1$  について、 $\lambda_m(1)$  は、範囲  $[0, 1]$  の一樣乱数である。

2) MCMC 計算のループ

①  $r = 1$  とする。

②  $m = 1, \dots, n_i + n_j - 1$  について、以下の③、④の計算を行う。

③  $\lambda_m(r)$  から、切断正規分布の上限  $b$ 、期待値  $\mu_t$ 、分散  $\sigma_t^2$  を求める。

④ パラメータの初期値を入力値  $u = \lambda_m(r)$  として、③で規定される切断正規分布 (表 1) に従う乱数の出力値  $x_t$  を(5)式を用いて求める。これにより、 $\lambda_m(r + 1) = x_t$  とする。

⑤  $r \leftarrow r + 1$  ( $r \leq n_r$ ) として、②から計算を続ける。

### 2.5 寄与、未知発生源の組成および再現される環境汚染の観測点の化学種濃度の誤差

寄与  $\theta_j$  および未知発生源の組成  $\omega_i$  の誤差分散は(6)式に含まれる。

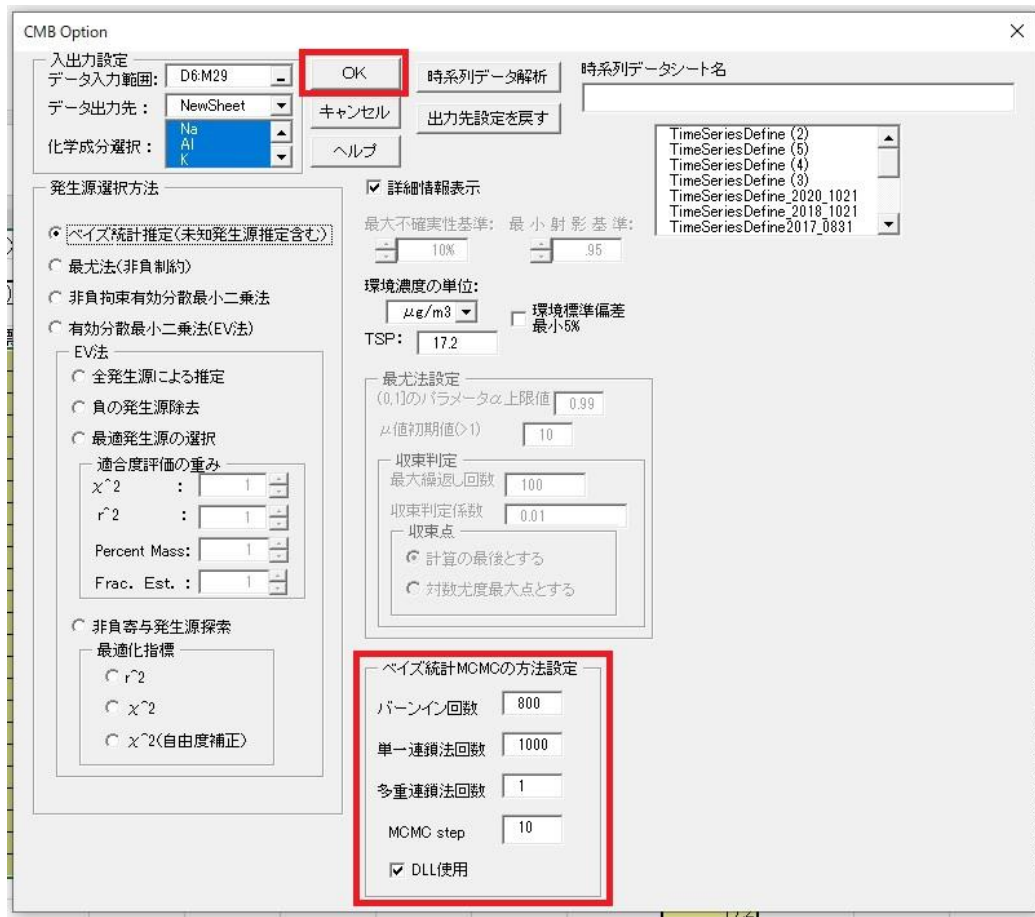


図 1 CMB マクロで「ベイズ統計推定（未知発生源推定含む）」を選択したときのダイアログ。

再現される環境汚染の観測点の化学種濃度の誤差は、発生源プロファイルが確率変数ではなく、寄与が確率変数であるから、単純に発生源プロファイルの重みを、その 2 乗として乗じ、絶対誤差の伝播により計算する。さらに、未知発生源の組成が確率変数で、その寄与は既知の発生源寄与としての確率変数の和を 1 から減じた数であり、これらの積が環境汚染の観測点の化学種濃度に加わる。確率変数の和の誤差は絶対誤差の伝播で、確率変数と確率変数の積の誤差は相対誤差の伝播によることから、この項の誤差分散が求まる。

以上から、環境汚染の観測点の化学種濃度の誤差分散は次式で表せる。

$$\text{var}(\zeta_i) = \sum_{j=1}^{n_j} \xi_{ij}^2 \text{var}(\theta_j) + \left\{ \frac{\text{var}(\omega_i)}{\omega_i^2} + \frac{\sum_{j=1}^{n_j} \text{var}(\theta_j)}{(1 - \sum_{j=1}^{n_j} \theta_j)^2} \right\} \left\{ \omega_i \left( 1 - \sum_{j=1}^{n_j} \theta_j \right) \right\}^2 \quad (7)$$

環境汚染の観測点の化学種濃度の再現率(C/M)は、その実測値に対する、計算された濃度の比である。その誤差分散は、誤差分散  $\sigma_i^2$  および CMB により再現された濃度についての(7)式の誤差分散から、相対誤差の伝播により計算できる。すなわち、

$$\text{var}\{(C/M)_i\} = \left\{ \frac{\text{var}(\zeta_i)}{\zeta_i^2} + \frac{\sigma_i^2}{Z_i^2} \right\} (C/M)_i^2$$

である。

### 3. CMB マクロについて

図 1 に、CMB マクロを起動し、「ベイズ統計推定（未知発生源推定含む）」を選択したときに現れる、利用者へ入力を促すダイアログを示す。

図 1 の時系列データ解析については、本報文中では扱わないこととし、稿を新たに記述したい。

使用者は MCMC 計算条件を、中央下の「ベイズ統計 MCMC の方法設定」で設定できる。既定値で DLL (C 言語で記述し、VBA から呼び出して使用)

を使用する設定になっている。図1に示した既定値の設定では、新しいシートに計算結果を記述するようになっており、OKを押すとCMB計算が開始する。

#### 4. 計算法によるシミュレーション

##### 4.1 シミュレーションの目的

ここでは、発生源プロファイルと寄与を仮定して、本研究のCMB法が、未知発生源が存在する場合としない場合とで、発生源寄与などを正しく再現できるかどうか、吟味する。

##### 4.2 用いた発生源プロファイル

環境省が公表したPM2.5の発生源解析に用いる発生源プロファイル<sup>20)</sup>から、相互の相関係数の2乗が0.6を超えないものを、概ね線形独立性があると考え、これらを基礎となる発生源プロファイルとした。なお、この線形独立性は、環境汚染の観測点の化学種濃度には依存せず、発生源プロファイルだけに存在するものである。表2に発生源プロファイルを示す。

表2 発生源プロファイル (単位: mg/kg)

元素	A	B	C	D
Na	12500	13600	10000	120000
Al	61100	9990	2100	4200
K	12700	13200	850	200000
Ca	55200	45100	850	11000
Sc	13.3	1.32	0.09	0.46
Ti	5050	1000	740	900
V	108	125	6380	27
Cr	279	3160	210	850
Mn	1060	22000	120	330
Fe	53100	157000	4600	6100
Co	21.7	44	31	21
Ni	80.3	2900	3970	0
Cu	268	3700	1	3600
As	11.3	103.6	23	150
Se	1.43	51.1	48	0
Rb	55.6	76.8	2	260
Mo	8.55	0	0	0
Sb	13	90	6.9	952
Cs	3.59	3	0.1	12
Ba	499	500	1000	390
La	31.3	9.75	40	7.7
Ce	59.9	68.7	70	170
Sm	5.93	0.212	7.6	0.46
W	11.6	47.4	20	100

選択した発生源は、A (道路粉じん)、B (鉄鋼工業)、C (石油燃焼)、D (廃棄物焼却) であった。

計算では、Na、Al、K、Ca、Sc、Ti、V、Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、As、Se、Rb、Mo、Sb、Cs、Ba、La、Ce、Sm、W の24元素を項目とした。

##### 4.3 シミュレーションの方法

(1)式の比率モデルにおける無次元の発生源寄与を、表3のとおり、(a)未知発生源の寄与がない場合、および、(b)未知発生源が存在する場合に設定した。この表から、(1)式のパラメータは、 $n_i - 1 = 24$ 、 $n_j = 4$  となる。

表2に示した発生源プロファイルから、行に元素、列に発生源を配した、単位系 g/g の要素を持つ行列を  $\mathbf{x}$  とする。また、表3の寄与設定値のベクトルを  $\boldsymbol{\theta}$  とする。

シミュレーションでは、未知発生源の  $m$  番目の化学種の組成  $\omega_m$  を、表2の発生源プロファイルから、

$$\omega_m = 0.5 \times \min(x_{m,1}, x_{m,2}, x_{m,3}, x_{m,4})$$

と設定した。これを単位系 g/g で要素を持つベクトルが、未知発生源組成ベクトル  $\boldsymbol{\omega}$  である。

ここで、未知発生源組成の設定には任意性があるが、本研究のように、発生源プロファイルの列方向で最小値を取るとは、このプロファイル行列に含まれる列ベクトルのすべてに直交するベクトルを選ぶ可能性につながる。よって、未知発生源の組成ベクトルを、発生源プロファイルとの多重共線性が弱いものとして選択したと解釈できる。

さて、環境汚染の観測点の化学種濃度  $\mathbf{Z}$  に誤差が含まれない場合、(1)式のCMBの方程式は次式で表される。

$$\mathbf{Z} = \mathbf{x}\boldsymbol{\theta} + \boldsymbol{\omega}(1 - \mathbf{1}_4\boldsymbol{\theta}) \quad (8)$$

本来ならば正規乱数を使用すべきであるが、ここでは簡便に、範囲  $[-0.5, 0.5]$  の一様乱数を要素を持つベクトルを  $\mathbf{R}$  とする。(8)式のCMB方程式にこれを取り入れる際の精度を表す無次元の因子を  $f$  とし、環境汚染の観測点の化学種濃度のバラツキを考慮し、(8)式のベクトルの  $m$  行の要素を次の(9)式で表す。

$$Z_m = \{(\mathbf{x}\boldsymbol{\theta})_m + \omega_m(1 - \mathbf{1}_4\boldsymbol{\theta})\}(1 + fR_m) \quad (9)$$



ここで、添え字  $m$  は  $m$  行の要素を示す。

また、環境汚染の観測点の化学種濃度のバラツキの標準偏差  $\sigma_m$  を

$$\sigma_m = f \cdot \{(\mathbf{x}\boldsymbol{\theta})_m + \omega_m(1 - \mathbf{1}_4\boldsymbol{\theta})\}$$

と設定して、分散共分散行列の(2)式を構成する。

MCMC 計算は、burn-in 回数を  $n_0 = 800$  回、単一連鎖法回数を  $n_r = 1000$  回、多重連鎖法回数を  $n_M = 10$  回とした。

また、マルコフ連鎖においては、注目する計算回数の計算結果が直前の計算結果に大きく影響される。これを回避するため、単一連鎖法のマルコフ連鎖で一定の間隔 ( $n_{step}$  回) を空けて計算結果を採取して、モンテカルロ積分に供した<sup>21)</sup>。今回は、 $n_{step} = 10$  回とした。

#### 4.4 シミュレーションの結果と考察

表 3 に、 $f = 0.01$  の場合の、(a) 未知発生源の寄与がない場合、および (b) 未知発生源が存在する場合の発生源寄与の再現値、およびその比を示した。また、表 4 に、(b) の場合の組成の再現値を示した。

表 3 仮定した発生源寄与とシミュレーションによる再現値、およびその割合

##### (a) 未知発生源寄与がない場合

発生源	発生源寄与 (無次元)		
	設定値 ( $\alpha$ )	再現値 ( $\beta$ )	再現率 ( $\beta/\alpha \times 100\%$ )
A	0.82	0.825	103
B	0.1	0.0987	98.7
C	0.075	0.0713	95.1
D	0.005	0.00422	84.4

##### (b) 未知発生源の寄与がある場合

発生源	発生源寄与 (無次元)		
	設定値 ( $\alpha$ )	再現値 ( $\beta$ )	再現率 ( $\beta/\alpha \times 100\%$ )
A	0.42	0.406	96.7
B	0.1	0.101	101
C	0.075	0.0778	111
D	0.005	0.0172	344
未知	0.4	0.398	99.5

表 3 から、未知発生源の寄与がない場合 (a) には、寄与の再現率が 100% に近かった。ただし、未知発生源の寄与がある場合 (b) では、ない場合と比べると寄与推定の真度が下がり、特に寄与の小

さい発生源でその傾向が顕著であった。このことは、寄与が小さい発生源の推定において、CMB 計算で与えられる最大の寄与の、最小の寄与に対する比として測られる寄与のダイナミックレンジ (動的範囲) が大きい場合に、数値計算の真度が良好に保持されるかどうかの吟味が必要なことを示唆している。

表 4 未知発生源の存在を仮定した場合のその組成の再現値、および再現率

元素	設定値 ( $\alpha$ mg/kg)	再現値 ( $\beta$ mg/kg)	再現率 ( $\beta/\alpha \times 100\%$ )
Na	50000	45700	91.3
Al	10500	10900	103
K	4250	0	0
Ca	4250	4180	98.4
Sc	0.45	0	0
Ti	3700	3000	81.1
V	135	0	0
Cr	1050	806	76.7
Mn	600	0	0
Fe	23000	21900	95.1
Co	105	90.2	85.9
Ni	0	0	-
Cu	5	0	0
As	56.5	41.8	73.9
Se	0	0	-
Rb	10	0	0
Mo	0	0	-
Sb	34.5	0	0
Cs	0.5	0	0
Ba	1950	1660	85.3
La	38.5	31.3	81.3
Ce	299.5	259	86.4
Sm	1.06	0.285	26.8
W	58	46.7	80.5

表 4 から、未知発生源の寄与が存在する場合、その組成 (濃度) の設定値が 10 mg/kg 以上の元素は、ほとんどについて高い再現率が得られた。

以上のシミュレーションから、本研究で取り上げた CMB 法が、未知発生源の有無にかかわらず、その寄与および組成を概ね良好な再現率で推定できることが示された。

## 5. 実測データへの応用

### 5.1 環境汚染の観測点でのデータ

本研究では、青森県弘前市の文京小学校でサンプリングされた PM2.5 の成分分析結果を用いた。調査は、2019 年 5 月 8 日に 24 時間行った。表 5 に元素状および有機炭素を除いた、イオン成分と金属元素についての分析結果を、環境汚染の観測

点の濃度として示す。二次生成粒子に由来すると考えられる  $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{Cl}^-$  および  $\text{SO}_4^{2-}$  を含むイオン成分の濃度は、CMB 解析には用いなかったが、発生源寄与を表示する表 6 には取り入れている。

CMB 計算に使用する測定値の標準偏差は、定量下限の 10 分の 1 として設定した。

## 5.2 CMB 法の適用と発生源プロフィール

CMB 発生源解析は、比較のため、本論文で記述したベイズ法(BAYES)に加え、早狩および著者が開発してきたマクロに含まれる次の四つの CMB 法で行った。すなわち、EVLSQ 法（有効分散最小二乗法）で負の寄与を与える発生源の除去を行った方法(EVLSQ-EN)、および行わなかった方法(EVLSQ-ALL)<sup>5), 15)</sup>、非負拘束最小二乗法(NN-EVLSQ)<sup>7)</sup>、非線形最適化法を用いた最尤法(MLM)<sup>8)</sup>で行った。

CMB 解析用の発生源プロフィールは、すでに報告されているもの<sup>16)</sup>を用いた。これらは、環境省<sup>20)</sup>、および東京都<sup>22)</sup>によるものである。表 5 にこれらのプロフィールを示した。

ベイズ法における MCMC 計算は、burn-in 回数を  $n_0 = 800$  回、単一連鎖法回数を  $n_r = 1000$  回、多重連鎖法回数を  $n_M = 10$  回、採用する間隔を  $n_{step} = 10$  回とした。

## 5.3 結果および考察

表 6 に、適用した各方法での発生源寄与としての CMB 計算結果を示す。また、図 2 の円グラフは、表 6 のうち、負の寄与を与えた EVLSQ-ALL を除き、結果から計算した寄与の比を示している。ここで、未知発生源寄与は、1 から各発生源寄与およびイオン成分の寄与の和を減算して推定した。各寄与の和が 1 を超えた場合、その未知発生源は寄与を持たないと判断した。

EVLSQ-ALL の方法を用いると、表 6 に示すように、負の発生源寄与が得られた。それゆえに、この PM<sub>2.5</sub> のデータ解析では、非負の寄与を与えるほかの CMB 法の利用が期待された。

表 6 および図 2 から、適用した CMB 法により異なった発生源寄与が得られており、このことは、解析対象とした PM<sub>2.5</sub> のデータセットの発生源プロフィール間の線形独立性が必ずしも完全でない（多重共線性が存在する）ために、数値計算が比

較的困難なことを示唆した。このような場合、多重共線性の影響を緩和できるベイズ法が本領を発揮すると考えられる。

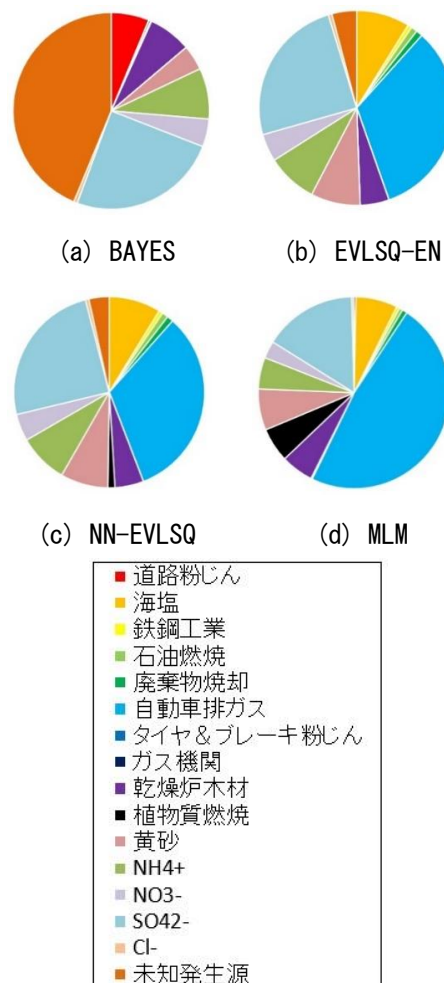


図 2 4 種類の CMB 計算で得られた発生源寄与。

表 6 に示した CMB 計算結果のうち、ベイズ法を用いた場合は、解析結果に比較的大きな未知発生源の正の寄与を与えるという、他と違った特徴を持っていた。

柏木のベイズ法以外の、LSQ などの従来法では、環境汚染の観測点での化学種濃度を質量濃度で除した濃度（単位：g/g）に換算し（以下、「換算濃度」と言う。）、また、未知発生源の存在を仮定せずに CMB 計算を行う。この換算濃度の考えは比率モデルの考えと同じである。このとき、未知発生源の寄与は、仮定した発生源に割り振られた寄与の合計を 1 から減算した値を用いる。

一方、柏木によるベイズ法について (1)式から、CMB モデルを(10)式のとおり表す。すなわち、発生源の寄与を  $\theta_j$  ( $1 \leq j \leq n_j$ )、未知発生源の組成

を  $\omega_i$  ( $1 \leq i \leq n_i - 1$ ) とすると、環境汚染の観測点における化学種濃度  $Z_i$  は、その誤差  $\epsilon_i$  が 0 を期待値とする正規分布をなすとして、

$$Z_i = \sum_{j=1}^{n_j} x_{ij}\theta_j + \omega_i \left( 1 - \sum_{j=1}^{n_j} \theta_j \right) + \epsilon_i \quad (10)$$

となる。ここで、 $x_{ij}$  は発生源プロファイルの行列要素である。

他方、従来法の CMB モデル式は、得られた寄与を  $\theta'_j$  ( $1 \leq j \leq n_j$ ) とすると、次の(11)式で表される。

$$Z_i = \sum_{j=1}^{n_j} x_{ij}\theta'_j + \epsilon'_i \quad (11)$$

ここで、 $\epsilon'_i$  は誤差項である。いま(10)(11)式を比較すると、

$$\sum_{j=1}^{n_j} x_{ij}\theta_j + \omega_i \left( 1 - \sum_{j=1}^{n_j} \theta_j \right) + \epsilon_i = \sum_{j=1}^{n_j} x_{ij}\theta'_j + \epsilon'_i$$

すなわち、

$$\sum_{j=1}^{n_j} x_{ij}(\theta'_j - \theta_j) = \omega_i \left( 1 - \sum_{j=1}^{n_j} \theta_j \right) + \epsilon_i - \epsilon'_i$$

発生源プロファイルおよび寄与、未知発生源組成を行列およびベクトルで表記すると、

$$\mathbf{x}(\boldsymbol{\theta}' - \boldsymbol{\theta}) = \boldsymbol{\omega} \left( 1 - \mathbf{1}_{n_j} \boldsymbol{\theta} \right) + \mathbf{E}$$

ここで、誤差のベクトルを  $\mathbf{E}$  とし、その要素を  $\epsilon_i - \epsilon'_i$  とした。

行列  $\mathbf{x}$  の逆行列は一般的には存在しない。しかし、特異値分解を使用すると、近似的な一般逆行列を求められる。すなわち、直交行列  $\mathbf{U}$ 、 $\mathbf{V}$  を用いると、特異値分解は、

$$\mathbf{x} = \mathbf{U}\boldsymbol{\Sigma}\mathbf{V}^t$$

と表せる。ここで、特異値を  $\{s_1, \dots, s_{n_j}\}$  とし、

$$\boldsymbol{\Sigma} = \begin{pmatrix} s_1 & 0 & 0 \\ 0 & \ddots & 0 \\ 0 & 0 & s_{n_j} \\ & & & 0 \end{pmatrix}$$

である。次に、

$$\boldsymbol{\Sigma}' = \begin{pmatrix} s_1^{-1} & 0 & 0 \\ 0 & \ddots & 0 & 0 \\ 0 & 0 & s_{n_j}^{-1} \end{pmatrix}$$

とし、直交行列の性質  $\mathbf{U}^{-1} = \mathbf{U}^t$ 、 $\mathbf{V}^{-1} = \mathbf{V}^t$  を用いると、一般逆行列  $\mathbf{x}'$  は、

$$\mathbf{x}' = \mathbf{V}\boldsymbol{\Sigma}'\mathbf{U}^t$$

となり、近似的に(12)式が成り立つ。

$$\boldsymbol{\theta}' \cong \boldsymbol{\theta} + \mathbf{x}'\boldsymbol{\omega} \left( 1 - \mathbf{1}_{n_j} \boldsymbol{\theta} \right) + \mathbf{x}'\mathbf{E} \quad (12)$$

(12)式から、従来法で得られる既知発生源の寄与  $\boldsymbol{\theta}'$  は、未知発生源寄与を仮定するベイズ法で得られる既知発生源寄与  $\boldsymbol{\theta}$  に、未知発生源由来の濃度の関数となる項  $\mathbf{x}'\boldsymbol{\omega} \left( 1 - \mathbf{1}_{n_j} \boldsymbol{\theta} \right)$  および誤差に關与する項を加えたものとなる事が分かる。すなわち、従来法は、既知発生源に対して、未知発生源の影響を含んだ寄与を与える。

以上から、現状では、未知発生源の寄与とその組成の推定は、柏木のベイズ法によるのみ可能であると言える。この方法は、範囲  $[0,1]$  に入る発生源寄与を与える。発生源寄与がこの範囲であることは、環境汚染の観測点における換算濃度が、発生源における濃度の 0 倍以上 1 倍以下であることを意味し、発生源から放出された化学種が希釈こそされ、濃縮されずに、環境汚染の観測点に到達するという物理的に合理的な図式である。それゆえ、柏木の方法は、物理的に容易に解釈できる発生源解析結果を与える。なお、従来法では、発生源寄与に上限を設けておらず、対象データによっては、非負であっても 1 を超える発生源寄与が

得られることがある。本研究でも表 6 に示した EVLSQ-ALL の方法で、発生源「自動車排ガス」に

対して、1 を超える寄与が得られている。このような場合、換算濃度が発生源濃度を上回るため、

表 5 環境汚染の観測点の化学種濃度と発生源プロファイル。環境汚染の観測点の化学種濃度における”Sd”は、測定値の誤差の標準偏差を意味する。

発生源プロファイル(mg/kg)												環境汚染の観測点の濃度	
元素	道路 粉じん	海塩	鉄鋼 工業	石油 燃焼	廃棄物 焼却	自動車 排ガス	タイヤ& ブレーキ	ガス機 関	乾燥炉 木材	植物質 燃焼	黄砂	測定値( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	Sd( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )
Na	12500	304000	13600	10000	120000	76.4	9200	7200	100000	6500	72000	0.457	0.0014
Al	61100	0.29	9990	2100	4200	1570	49000	6100	300	63000	75300	0.0974	0.00098
K	12700	11000	13200	850	200000	197	8060	3300	72000	370	22100	0.0963	0.0002
Ca	55200	11700	45100	850	11000	1460	12000	79000	7600	420	30400	0.073	0.0013
Sc	13.3	0.0012	1.32	0.09	0.46	0.119	2.3	0	0	0	15.7	0.00002	2.2E-06
Ti	5050	0.029	1000	740	900	146	3000	0	0	0	4150	0.0059	0.000067
V	108	0.058	125	6380	27	7.25	110	0	3.8	0	111	0.00107	5.4E-06
Cr	279	0.0015	3160	210	850	11.6	340	720	75	0	97.5	0.00031	0.000048
Mn	1060	0.058	22000	120	330	19.3	1410	540	84	10	826	0.00308	6.6E-06
Fe	53100	0.29	157000	4600	6100	989	76600	32000	1200	100	45100	0.077	0.0014
Co	21.7	0.015	44	31	21	1.47	20	1000	1.2	0	20.1	3.03E-05	1.4E-07
Ni	80.3	0.015	2900	3970	0	9.89	260	0	29	0	54.9	0.0004	0.00013
Cu	268	0.017	3700	1	3600	113	8700	0	110	0	113	0.000742	8.1E-06
As	11.3	0.029	103.6	23	150	3.69	100	0	25	0	22.4	0.00195	2.5E-06
Se	1.43	0.12	51.1	48	0	1.67	20	0	0.20	0	3.15	0.000673	2.2E-06
Rb	55.6	3.5	76.8	2	260	0.49	34	0	130	0	112	0.000321	7.1E-07
Mo	8.55	0	0	0	0	5.91	512	0	0	0	11.9	0.000177	1.2E-06
Sb	13	0.014	90	6.9	952	19.6	4200	0	0	0	14.8	0.000304	1.2E-06
Cs	3.59	0.029	3	0.1	12	0.0745	3.7	0	0	0	10.5	3.62E-05	2.8E-07
Ba	499	0.86	500	1000	390	98.9	18800	0	94	0	609	0.00116	4.8E-06
La	31.3	0.009	9.75	40	7.7	0.341	7.5	0	0.11	0	62.1	5.64E-05	5.2E-07
Ce	59.9	0.012	68.7	70	170	1.08	24	0	0.25	0	108	0.000107	1.2E-06
Sm	5.93	0.001	0.212	7.6	0.46	0.0304	0.43	0	0	0	8.05	7.6E-06	5.2E-07
W	11.6	0.003	47.4	20	100	0.686	9.6	140	0	0	3.38	0.000044	1.8E-06
											NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	1.08	
											NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0.59	
											SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	3.19	
											Cl <sup>-</sup>	0.078	
											質量濃度	12.9	

表 6 5種類のCMB発生源解析により得られた発生源寄与（無次元）。

	道路 粉じん	海塩	鉄鋼 工業	石油 燃焼	廃棄物 焼却	自動車排 ガス	タイヤ& ブレーキ	ガス機関	乾燥炉 木材	植物質 燃焼	黄砂	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Cl <sup>-</sup>	未知 発 生 源
BAYES	0.0627	0.0000	0.0000	0.0000	0.0034	0.0000	0.0013	0.0000	0.0709	0.0000	0.0414	0.0837	0.0457	0.2473	0.0060	0.4376
EVLSQ-ALL	-0.1783	0.0968	0.0107	0.0107	0.0073	1.3032	-0.0041	-0.0006	0.0450	0.0257	0.1963	0.0837	0.0457	0.2473	0.0060	0.0000
EVLSQ-EN	0.0000	0.0882	0.0070	0.0102	0.0108	0.3303	0.0000	0.0000	0.0481	0.0000	0.0817	0.0837	0.0457	0.2473	0.0060	0.0410
NN-EVLSQ	0.0000	0.0877	0.0070	0.0103	0.0107	0.3260	0.0001	0.0000	0.0487	0.0118	0.0807	0.0837	0.0457	0.2473	0.0060	0.0342
MLM	0.0048	0.1105	0.0085	0.0087	0.0133	0.7529	0.0020	0.0014	0.0860	0.0906	0.1091	0.0837	0.0457	0.2473	0.0060	0.0000

表 7 環境汚染の観測点の濃度、ベイズ法で得られた濃度、およびその比の比較、並びに未知発生源の推定組成。環境汚染の観測点の濃度における”Sd”は、測定誤差の標準偏差を示す。

元素	環境汚染の観測点の濃度 ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )						未知発生源(mg/kg)
	実測値(M)		推定値(C)		C/M(%)		推定値
	実測値	Sd	推定値	Sd	計算値	Sd	推定値
Na	0.457	0.0014	0.451	<1E-14	98.6	0.3	31900
Al	0.0974	0.00098	0.0909	<1E-14	93.4	0.9	0
K	0.0963	0.0002	0.0963	<1E-14	100.0	0.2	0
Ca	0.073	0.0013	0.0685	<1E-14	93.9	1.7	0
Sc	0.00002	2.2E-06	1.92E-05	<1E-14	96.0	10.6	0
Ti	0.0059	0.000067	0.00639	<1E-14	108.3	1.2	0
V	0.00107	5.4E-06	0.00102	<1E-14	95.0	0.5	82
Cr	0.00031	0.000048	0.000389	<1E-14	125.6	19.4	0
Mn	0.00308	6.6E-06	0.00302	<1E-14	97.9	0.2	151
Fe	0.077	0.0014	0.0697	<1E-14	90.5	1.6	0
Co	3.03E-05	1.4E-07	3.06E-05	<1E-14	101.0	0.5	0
Ni	0.0004	0.00013	0.000126	<1E-14	31.4	10.2	0
Cu	0.000742	8.1E-06	0.000680	<1E-14	91.7	1.0	0
As	0.00195	2.5E-06	0.00193	<1E-14	98.8	0.1	177
Se	0.000673	2.2E-06	0.000651	<1E-14	96.8	0.3	61
Rb	0.000321	7.1E-07	0.000314	<1E-14	97.8	0.2	8
Mo	0.000177	1.2E-06	0.000165	<1E-14	93.3	0.6	14
Sb	0.000304	1.2E-06	0.000292	<1E-14	96.1	0.4	15
Cs	3.62E-05	2.8E-07	3.34E-05	<1E-14	92.3	0.7	2
Ba	0.00116	4.8E-06	0.00115	<1E-14	99.5	0.4	0
La	5.64E-05	5.2E-07	5.90E-05	<1E-14	104.7	1.0	0
Ce	0.000107	1.2E-06	0.000114	<1E-14	106.7	1.2	0
Sm	7.6E-06	5.2E-07	9.12E-06	<1E-14	120.0	8.2	0
W	0.000044	1.8E-06	2.56E-05	<1E-14	58.2	2.4	1

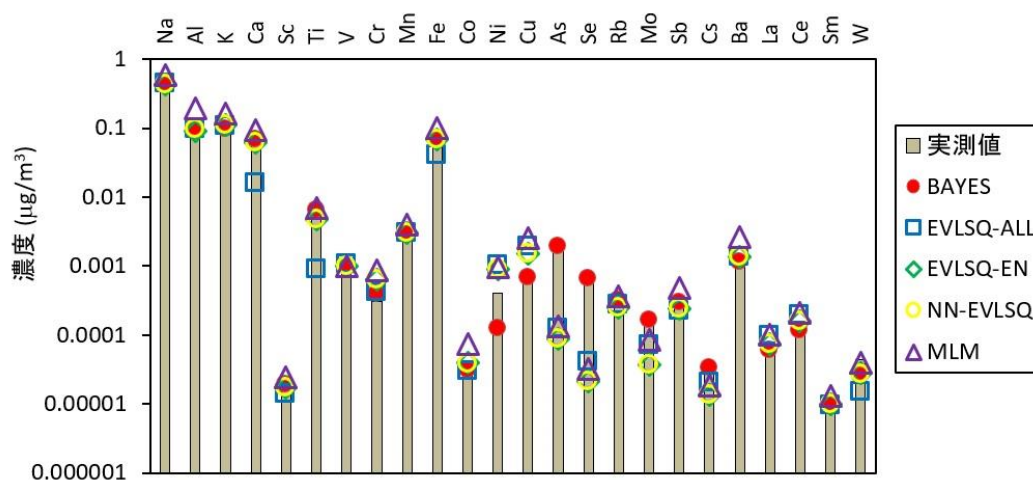


図 3 5 種類の CMB 法で計算された濃度と、実測の環境汚染の観測点の濃度の比較。

物理的解釈が困難となる。

図 3 では、5 種類の CMB 法により得られた、環境汚染の観測点の濃度推定結果を比較した。表 7 は、ベイズ CMB 法で計算された環境汚染の観測点の濃度実測値と推定値、それらの実測値に対する比、およびこの方法で得られた未知発生源の組

成を示す。

ベイズ法は、CMB 計算における環境汚染の観測点の濃度推定がほかの LSQ (最小二乗法) や MLM 法よりも極めて正確であるという利点を持つことが分かる。すなわち、表 7 と図 3 に示したように、Cu から Mo の元素の環境汚染の観測点での低濃度

が、ベイズ法では非常に良く再現された。また、この方法により、未知発生源の組成も与えられ、表7に示したように、この例では、Naに富んだ組成を推定した。

## 6. 結論

柏木のベイズ法を表計算ソフトであるマイクロソフト社 Excel のマクロに移植し、計算法を変更した。この方法は、組成モデルにより、また未知発生源の存在を明確に仮定し、その寄与と組成を推定できるという長所がある。

本研究で作成したマクロにより試みた CMB 計算で以下の3点が明らかになった。

- 1) シミュレーションにより、発生源の寄与のみならず、未知発生源の組成までを再現できた。
- 2) 本研究で取り上げたデータの限りでは、ベイズ法は、環境汚染の観測点の試料に含まれるいくつかの元素の低濃度測定値を、計算で非常に正確に再現した。
- 3) 作成したマクロにおいて MCMC 計算が少ない繰り返し回数で収束した。例えば、本研究の例では、1000回の繰り返し計算で十分な収束を与えた。収束が速い理由は、切断正規分布としての完全条件付き密度の計算過程において数値計算安定性を保持しているためと考えられる。

以上のとおり、本研究において、発生源解析に有効な CMB マクロを作成できた。このマクロにより、より正確な発生源解析が可能となったと考える。当センターの内海ほか<sup>23)</sup>は、このマクロを利用して、PM<sub>2.5</sub>成分分析結果解析を行った。

## 文 献

- 1) 橋本俊次, 他: ケミカルマスバランス法による環境汚染物質に対する発生源寄与率の推定. ぶんせき, 144-151, 2014.
- 2) Friedlander, S. K.: Chemical element balances and identification of air pollution sources. *Environmental Science and Technology*, **7**, 235-240, 1973.
- 3) Hopke, P. K.: Recent developments in receptor modeling. *Journal of Chemometrics*, **17**, 255-265, 2003.
- 4) Kashiwagi, N.: Chemical mass balance when an unknown source exists. *Environmetrics*, **15**, 777-796, 2004.
- 5) Watson, J. G. et al.: The effective variance weighting for least squares calculations applied to the mass balance receptor model. *Atmospheric Environment*, **18**,

1347-1355, 1984.

- 6) [https://www3.epa.gov/scram001/receptor\\_cmb.htm](https://www3.epa.gov/scram001/receptor_cmb.htm) (2021.12.24 アクセス可能)
- 7) 花石竜治, 他: 非負寄与を与える発生源探索によるケミカルマスバランス法. 青森県環境保健センター研究報告, **27**, 70-73, 2016.
- 8) 花石竜治: 最尤法による非負寄与を与えるケミカルマスバランス法. 青森県環境保健センター年報, **29**, 53-58, 2018.
- 9) Billheimer, D.: Compositional receptor modeling. *Environmetrics*, **12**, 451-467, 2001.
- 10) 柏木宣久, 他: 環境汚染に対する未確認発生源の寄与率の推定. 統計数理, **54**, 123-146, 2006.
- 11) Park, E. S. et al.: Multivariate receptor models and model uncertainty. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, **60**, 49-67, 2002.
- 12) Keats, A. et al.: Bayesian treatment of a chemical mass balance receptor model with multiplicative error structure. *Atmospheric Environment*, **43**, 510-519, 2009.
- 13) Massoudieh, A. et al.: Bayesian Chemical Mass Balance Method for Surface Water Contaminant Source Apportionment, *Journal of Environmental Engineering*, **139**, 250-260, 2013.
- 14) [https://ismrepo.ism.ac.jp/?action=repository\\_uri&item\\_id=32744](https://ismrepo.ism.ac.jp/?action=repository_uri&item_id=32744) (2021.12.24 アクセス可能)
- 15) 早狩 進, 他: 環境データ解析用表計算マクロの紹介と解析例 (II) —CMB 法解析マクロ—. 大気環境学会誌, **36**, 39-45, 2001.
- 16) 花石竜治: ベイズ統計手法によりケミカルマスバランス法計算を行う表計算ソフトマクロの作成. 全国環境研会誌, **46**, 132-137, 2021.
- 17) 柏木宣久, 他: 関数関係解析による Chemical Mass Balance. 応用統計学, **31**, 59-74, 2002.
- 18) 中妻照雄: 入門 ベイズ統計学, 朝倉書店, 東京, 2007.
- 19) Zelen, M. et al.: Handbook of Mathematical Functions: with Formulas, Graphs, and Mathematical Tables. Abramowitz, M. et al. eds., Dover, New York, 1965.
- 20) 平成 20 年度環境省請負業務結果報告書 平成 20 年度微小粒子状物質等実測調査 データ解析 (発生源寄与濃度の推計) 報告書. ムラタ計測機サービス株式会社, 2009.
- 21) 板野泰之, 他: ベイズ統計手法による都市大気オゾンの日内変動と季節変動の分離評価. 大気

環境学会誌, **46**, 179-186, 2011.

22) [https://www.kankyo.metro.tokyo.lg.jp/air/air\\_pollution/torikumi/pm2\\_5/pm2\\_5.html](https://www.kankyo.metro.tokyo.lg.jp/air/air_pollution/torikumi/pm2_5/pm2_5.html)  
(2021.12.24 アクセス可能)

23) 内海宣俊, 他: ベイズ統計手法を用いた CMB 法による微小粒子状物質(PM2.5)成分の発生源解析. 青森県環境保健センター年報, **32**,123-144,2021.



## Development of a spreadsheet application macro for chemical mass balance calculation using Bayesian statistical technique

Ryuji Hanaishi

Chemical mass balance (CMB) method is one approach for analyzing environmental pollution based on receptor models. The algorithm for CMB method established by Kashiwagi (2004) adopted Bayesian statistical technique (hereinafter referred to as Bayesian method). In this study, the author improved the numerical calculation method and created a spreadsheet application macro. A feature of the Bayesian method is that contribution and composition of unknown sources can be included in the model formula for assessment. In addition, the Bayesian method gives nonnegative source contribution only and allows physically easier interpretation of source contribution than conventional approaches because it uses composition models. Simulations assuming source contribution and contribution and composition of unknown sources resulted in a generally successful reproduction of these values. In addition, the improved method could more correctly reproduce the observed values at the environmental pollution observation spots than other CMB methods. Thus, usefulness of the improved Bayesian method for source analyses was demonstrated.

Key words: Chemical mass balance, Bayesian statistics, Markov chain Monte Carlo method, Unknown source

## 県内で生産された日本酒中に含まれる微量元素の実態調査研究

内海宣俊 菅尾聡也 田村麻衣子

青森県産の日本酒 13 銘柄および原料である酒米 12 品種中の無機質成分 9 元素(K、Ca など)を ICP-MS などで測定したところ、日本酒では津軽地方の酒蔵である A 社の銘柄において、Cu および Mo の値が高い傾向がみられ、酒米では弘前地域で栽培された品種において Cu および Mo の値がやや高い傾向がみられた。また、測定した元素含有量のデータを使用し、日本酒および酒米のクラスター分析を行ったところ、日本酒は、味わい(例えば淡麗辛口など)の種類や仕込みに使用された酒米の種類によって集団を形成し、酒米では産地や品種ごとに集団を形成した。このことから、特に酒米については、Cu や Mo などの微量元素を測定して解析することで産地判別が可能であることが示唆された。

Key Words : Sake, Inorganic component analysis, Principal component analysis, Correlation

### 1. はじめに

日本酒は、日本人の主食である米を原料とし、独自の飲酒文化を形成してきたもので、最近では海外での「和食」の普及も相まって海外でも販売されるようになった。

国の行政施策においても、現在、海外への日本産酒類の更なる輸出拡大に向け、販路開拓支援や国際的プロモーションの強化を図っており<sup>1)</sup>、今後もより一層の普及が期待される。

日本酒は、青森県内の各地域の酒蔵でも盛んに醸造されており、その地域ごとに特色のある味わい豊かな日本酒が多い。その味わいには、原料、麹菌、酵母など様々な要因が関係しているが、その要因の 1 つに、K や Ca などの微量元素が挙げられる。これらは、酵母の養分であり、発酵の良しあしに関わるため、酸度などに影響を与える。その結果、日本酒の味わいが変わるとされている。<sup>2)</sup> また、Fe や Mn は日本酒の着色に影響を与える。<sup>3)</sup>

そこで、今回、県内で生産された日本酒および酒米の K や Ca などの元素を ICP-MS などで分析し、これらの含有量を把握した。また、得られたデータを解析したところ、若干の知見を得たので報告する。

### 2. 日本酒の基礎<sup>4)</sup>

#### 2.1 日本酒の醸造工程

日本酒は米のでんぷん質を麴で糖化させ、できた糖分に酵母を加えアルコール発酵させる「並行複発酵方式」によって醸造される。

ちなみに、ワインや果実酒は原料に十分な糖分があるため、原料に酵母を加えアルコール発酵させる「単発酵方式」となっている。

日本酒造りは「一麴二配(もと)三造り」と言われており、重要な手順は、①麴造り、②酒母(配)造り、③醪(もろみ)を仕込む造りの 3 つを指している。これらを含む基本的な工程は、精米から始まる 9 つの手順からなっており、その概略を図 1 に示す。

#### 2.2 酒税法

日本では、日本酒の品質に関して、他の食品類のように農林水産省や厚生労働省ではなく、国税庁が定める酒税法が包括的な法律となっている。

酒税法では、「日本酒」という表記はなく「清酒」で統一されており、清酒の各特定名称である吟醸酒や大吟醸酒などの各々の作り方や原料を「清酒の製造品質表示基準」で定めている<sup>5)</sup>。

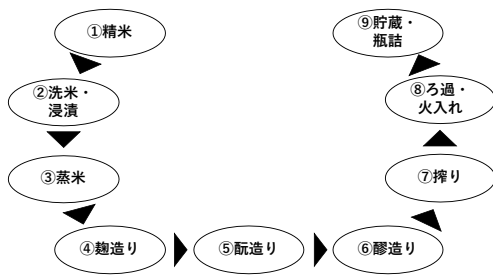


図1 日本酒醸造の基本的な工程

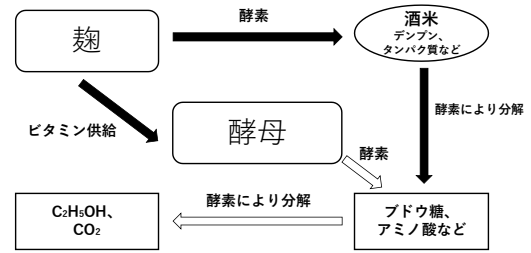


図2 麴と酵母の働き

清酒は、米、米麴、水を原料として発酵させ、それを漉(こ)したもので、アルコールが22度未満のものをいう。

### 2.3 原料

#### (1) 酒米

酒米は一般の食用米に比べ、粒が大きく、でんぷん量が多い。また、中心部の「心白」という白い部分が大きく、玄米を削り精米しても割れにくい品種が良好とされる。なお、酒米は食用米に比べ、たんぱく質や脂肪分が少なく、アミロース含量が多いため、食べるとパサパサして硬いと言われている。

#### (2) 水

日本酒の主成分は水であり、水の確保は重要である。地下水や湧水などを用いる場合には、多少の砂泥や細菌類のほか、酒造りにおいて着色を引き起こしてしまう要因であるFeやMnが含まれているため、活性炭やろ過フィルター装置を利用して除去している。

### 2.4 麴、酵母

日本酒の原料である米には糖分が含まれていないため、デンプンを分解し糖分に変える「糖化」が必要となるが、その糖化を行うのが麴である。麴は、米の溶解・糖化を行う酵素を供給するほか、酛での酵母の増殖・発酵促進に必要なビタミンなどの栄養素の供給も行い、酒の味に特徴を与える。

酵母は、麴の作用でデンプンから分解生成されたブドウ糖をC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OHとCO<sub>2</sub>へ分解する役割を担う。酵母は、真菌類に属し、直径5~10μm程度の単細胞微生物であり、酸素の乏しい環境下でも糖を分解することができる。麴と酵母の働きの概念図を図2に、糖化からアルコール発酵までの化学変化について図3に示す。

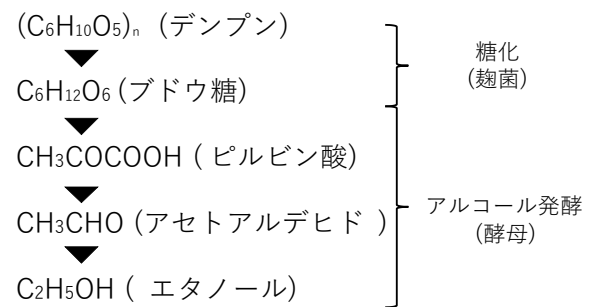


図3 糖化からアルコール発酵までの概略

### 3. 試料および分析方法

#### 3.1 試薬

微量元素分析で使用するHNO<sub>3</sub>およびH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>は、関東化学社製Ultrapurグレードを用いた。また、ICP-MS測定用の標準溶液調製には、西進商事販売のXSTC-1668を用い、原子吸光分光光度計測定用の標準溶液調製には、富士フィルム和光純薬社製イオンクロマトグラフ用ナトリウムイオン標準液(1000ppm)を用いた

その他の試薬については、試薬特級以上のグレードを用いた。

#### 3.2 日本酒

##### (1) 対象とした日本酒

調査研究の対象とした日本酒を表1に示す。

表1 日本酒試料リスト

地域	メーカー	特定名称	地域	メーカー	特定名称
1	津軽	A社 純米吟醸	8	南部	C社 純米大吟醸
2	津軽	A社 特別純米	9	南部	C社 純米大吟醸
3	津軽	A社 純米大吟醸	10	南部	C社 特別純米
4	南部	B社 純米吟醸	11	下北・上北	D社 純米吟醸
5	南部	B社 純米大吟醸	12	下北・上北	E社 純米大吟醸
6	南部	B社 純米吟醸	13	奥外	F社 純米吟醸
7	南部	B社 純米大吟醸			

対象とした日本酒は、県産の米を使用して醸造された純米吟醸、特別純米、純米大吟醸酒とし、津軽地域 A 社の 3 銘柄、南部地域 B 社 4 銘柄、C 社 3 銘柄、下北・上北地域 D 社 1 銘柄、E 社 1 銘柄、県外地域 F 社 1 銘柄の計 13 銘柄を選定した。

## (2) 日本酒度

日本酒度(糖度)の測定は、国税庁所定分析法(訓令)<sup>6)</sup>に示された浮ひょう法によりおこなった。15℃の酒に校正済みの安藤計器製工所社製日本酒度計 KNS-3025 を浮かべ、静止した状態で日本酒度計の日本酒と空気の境目の目盛りを読み取り測定した。

日本酒度は、日本酒の比重を表したもので、甘口や辛口の目安となる。水温 4℃ の水の比重と等しい酒を日本酒度 ±0 とし、これより比重が大きいとマイナスへ、小さいとプラスの値となる。

つまり、マイナスの値が大きいほど、濃醇で甘い傾向になり、逆にプラスの値が大きいほど淡麗で辛い傾向であると言われる<sup>7),8)</sup>。

## (3) 酸度

酸度の測定は、国税庁所定分析法(訓令)<sup>9)</sup>に示された指示薬滴定法によりおこなった。日本酒 10 mL に混合指示薬(プロモチモールブルーとニュートラルレッド)を数滴加え、それに 0.1 mol/L の NaOH 溶液で中和滴定した。赤色から淡緑色に変化したところを終点とし、滴定に要した NaOH 溶液の体積が酸度の値となる。

酸度は、日本酒に含まれるコハク酸や乳酸などの酸の総量を表したもので、酸度が高いほど、より芳醇な味わいに近づき、低ければ淡麗な味わいになる<sup>9),7)</sup>。日本酒度が同じ場合は、酸度が高いと辛くて濃く感じ、低ければ甘く淡麗に感じる。

参考までに日本酒度と酸度の味わいに関する関係性の一例を図 4<sup>9)</sup>に示す。

## (4) アミノ酸度

アミノ酸度の測定は、国税庁所定分析法(訓令)<sup>6)</sup>に示されたエタノール添加法によりおこなった。指示薬にフェノールフタレインを使用し、日本酒 10 mL を 0.1 mol/L NaOH 溶液で中和した後(無色→桃色を終点) C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH を 5 mL 加え、再度 0.1 mol/L NaOH 溶液で中和し(無色→桃色を終点)、滴定に要した体積(mL)がアミノ酸度の値となる。

アミノ酸度は、日本酒中に含まれる約 20 種類のアミノ酸含有量の指標であり、一般的にアミノ酸の量が多いと旨味とコクがある酒となる。逆に、アミノ酸が少ないとあっさりとした淡泊な味になる。

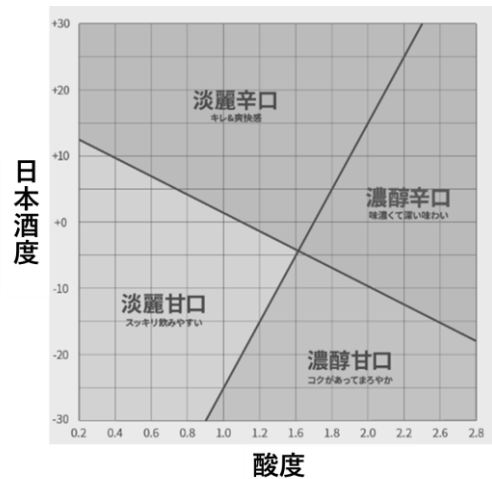


図 4 日本酒の味わいの傾向

なお、アミノ酸の種類によっては、旨味だけでなく、甘味や苦みに関与しているものもある。

一般に市販清酒では、1.0~2.0 程度である<sup>7),10)</sup>。

## (5) 着色度

着色度の測定は、国税庁所定分析法(訓令)<sup>6)</sup>に示された方法によりおこなった。日本酒の 430 nm における吸光度を測定し、その吸光度を吸収セルの光路長(mm)で除したものを 10 倍したものが着色度の値となる。

着色度は、純水の吸光度を 0 とすると、着色の濃いものほど値が大きくなる。一般に市販清酒では、0.010~0.035 程度である。<sup>11)</sup>

## (6) 微量元素

前処理として、まず日本酒約 10 g をポリプロピレン製分解容器 Digitubes 50 mL に量りとり、GL サイエンス社製酸分解システム DigiPREPJr を使用して、およそ 50 min 程度 110℃ で加熱しアルコール分を発散させる。次にこの溶液をテフロン製分解容器に移し、HNO<sub>3</sub> を 3 mL、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を 1 mL 加え、Milestone-general 社製マイクロウェーブ分解装置 ETHOS EASY により全分解した。分解後の試料溶液はポリプロピレン製分解容器 Digitubes 50 mL に移し、HNO<sub>3</sub>(5→100)を添加し、全量 25 mL とした。

測定には、Agilent 社製 ICP-MS 7890C を使用し、測定溶液には、上記で調製した試料溶液を HNO<sub>3</sub>(5→100)で 400 倍希釈したものを用いた。

なお、Na については、400 倍希釈した検液では ICP-MS で精度よく測定できる濃度ではなかったため、20 倍希釈の検液を調製し、島津製作所社製原子吸光分光光度計 AA-7000 により測定した。

測定元素は、日本食品標準成分表 2020 年版(八

訂) <sup>12)</sup> (以下「食品成分表」という。)の「清酒」の項目で測定されている無機質成分のうち、Na、K、Ca、Cr、Mn、Fe、Cu、Zn、Moの9元素とした。

食品成分表によると、これらの元素は、全てヒトにおいて必須性が認められた人体に有用な成分であり、成人の一日の摂取量が概ね100mg以上となるのは、Na、K、Caで、100mgに満たないものはFe、Zn、Cu、Mn、CrおよびMoである。

### 3.3 酒米

#### (1) 対象とした米

調査研究の対象とした酒米を表2に示す。

表2 酒米試料リスト

種類	産地	種類	産地
1 まっしぐら	弘前	7 華吹雪	三戸
2 華吹雪	弘前	8 華想い	三戸
3 華想い	弘前	9 吟烏帽子	三戸
4 華さやか	弘前	10 吟烏帽子	十和田
5 青天の霹靂	弘前	11 吟烏帽子	おいらせ
6 まっしぐら	三戸	12 吟烏帽子	東通

対象は、(地独)青森県産業技術センター弘前工業研究所発酵食品開発部から提供された、津軽地域産5種、南部地域産5種、下北・上北地域2種、計12種の酒米や食用米を試料とした。なお、リストのうち、食用米であるまっしぐらおよび青天の霹靂は県産の日本酒の醸造に使用される品種である。

#### (2) 青森県産酒米の特徴 <sup>13), 14)</sup>

表2のリストのうち、本県で育成された4つの酒米の特徴について簡単に触れておく。

##### 1) 華吹雪

耐病性、耐冷性が強い品種を目標に1985年に育成された。粒が極めて大きく、収穫量が安定している(全国第9位の収穫量)。心白が大きいため高精白(心白部分を残しつつ、高い割合で玄米から削り取りを行うこと)が難しい(心白が大きすぎると精米時に砕けやすいため)品種であり、純米酒に向いている。

##### 2) 華想い

全国作付け第1位の山田錦と華吹雪を掛け合わせた品種で2002年に育成された。比較的小粒であるが、高精白が可能であり、大吟醸酒に向いている。

##### 3) 華さやか

華想いの選抜過程で偶然発見された品種で2013年に育成された。いもち病に強く、心白は小さい。プログルテンという分解されにくいたんぱく質が

多く、アミノ酸度が低いすっきりした酒質を生む。

#### 4) 吟烏帽子

ヤマセの影響が大きい下北・県南地域で栽培可能な酒米を目指して開発され、2017年に育成された。心白が小さく、高精白が可能のため純米酒から大吟醸酒まで幅広く用いられている。

#### (3) 精米

精米には、MK精工社製小型精米機SM-200Bを使用した。酒蔵で使用される精米機に比べ性能が劣るため、性能を考慮し、精米歩合は約60%とした。精米後の各試料の精米歩合の結果を表3に示す。米ごとに精米のしやすさが異なるため、60%まで精米するのに要する時間は品種ごとに差がみられた。また、精米の粉碎には山本電気社製NEWよめっこさんY-308Bを使用した。

表3 各試料の精米歩合

種類	産地	精米歩合(%)
1 まっしぐら	弘前	60.1
2 華吹雪	弘前	60.2
3 華想い	弘前	60.4
4 華さやか	弘前	59.8
5 青天の霹靂	弘前	59.8
6 まっしぐら	三戸	60.0
7 華吹雪	三戸	59.8
8 華想い	三戸	60.1
9 吟烏帽子	三戸	60.3
10 吟烏帽子	十和田	60.5
11 吟烏帽子	おいらせ	60.3
12 吟烏帽子	東通	60.5

#### (4) 微量元素

前処理として、精米・粉碎した試料約0.5gをテフロン製分解容器に移し、HNO<sub>3</sub>を8mL、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>を2mL加え、Milestone-general社製マイクロウェーブ分解装置ETHOS EASYにより試料を全分解した。分解後はポリプロピレン製分解容器Digitubes 50mLに移し、HNO<sub>3</sub>(5→100)を添加して、全量50mLとした。

測定には、Agilent社製ICP-MS 7890Cを使用し、測定溶液には、測定は上記で作成した試料溶液をHNO<sub>3</sub>(5→100)で10倍希釈したものを用いた。

測定元素は、日本酒の分析項目と同様の、Na、K、Ca、Cr、Mn、Fe、Cu、Zn、Moの9元素とした。

## 4. 結果と考察

### 4.1 測定結果

#### (1) 日本酒

日本酒度、酸度、アミノ酸度、着色度、微量金属

表 4-1 日本酒度、酸度、アミノ酸度、着色度、微量金属の測定結果

	地域	メーカー	特定名称	使用米	味わい	日本酒度	酸度	アミノ酸度	着色度
1	津軽	A社	純米吟醸	華想い	濃醇辛口	-12.3	2.2	1.2	0.019
2	津軽	A社	特別純米	華吹雪	淡麗甘口	-2	1.7	1.6	0.032
3	津軽	A社	純米大吟醸	華想い	淡麗甘口	-5.5	1.4	1.2	0.026
4	南部	B社	純米吟醸	吟烏帽子	濃醇甘口	≦-30	4.4	2.3	0.087
5	南部	B社	純米大吟醸	吟烏帽子	淡麗辛口	-1.0	1.3	1.4	0.033
6	南部	B社	純米吟醸	まっしぐら	淡麗辛口	+2.0	1.3	1.6	0.025
7	南部	B社	純米大吟醸	青天の霹靂	淡麗辛口	-1.5	1.4	1.1	0.023
8	南部	C社	純米大吟醸	吟烏帽子	濃醇辛口	-2.2	1.7	1.3	0.028
9	南部	C社	純米大吟醸	華想い	濃醇甘口	-3.0	2.2	1.3	0.051
10	南部	C社	特別純米	華吹雪	淡麗辛口	+2.5	1.9	1.1	0.045
11	下北・上北	D社	純米吟醸	吟烏帽子	濃醇辛口	+3.5	1.3	1.7	0.029
12	下北・上北	E社	純米大吟醸	吟烏帽子	濃醇辛口	-3.0	1.3	1.8	0.036
13	その他	F社	純米吟醸	まっしぐら	濃醇辛口	+2.5	1.8	1.6	0.028

表 4-2 日本酒に含まれる微量金属の測定結果

報告値 (mg/100g)

地域	メーカー	特定名称	使用米	味わい	Na	K	Ca	Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	Mo	
1	津軽	A社	純米吟醸	華想い	濃醇辛口	1.9	4.1	1.8	ND	0.34	ND	0.17	0.05	0.0025
2	津軽	A社	特別純米	華吹雪	淡麗甘口	1.0	3.0	2.4	ND	0.37	0.02	0.13	0.09	0.003
3	津軽	A社	純米大吟醸	華想い	淡麗甘口	1.6	4.6	2.1	ND	0.39	ND	0.02	0.12	0.0011
4	南部	B社	純米吟醸	吟烏帽子	濃醇甘口	1.6	6.1	2.6	ND	0.33	ND	0.02	0.14	0.0003
5	南部	B社	純米大吟醸	吟烏帽子	淡麗辛口	1.0	25.4	2.4	ND	0.19	ND	0.08	0.06	0.0003
6	南部	B社	純米吟醸	まっしぐら	淡麗辛口	1.1	13.3	2.8	ND	0.28	ND	0.03	0.08	0.001
7	南部	B社	純米大吟醸	青天の霹靂	淡麗辛口	1.5	10.7	3.1	ND	0.34	ND	0.01	0.03	0.001
8	南部	C社	純米大吟醸	吟烏帽子	濃醇辛口	0.6	4.6	2.2	ND	0.33	ND	ND	0.07	ND
9	南部	C社	純米大吟醸	華想い	濃醇甘口	1.6	3.7	4.3	ND	0.38	0.02	ND	0.04	ND
10	南部	C社	特別純米	華吹雪	淡麗辛口	1.9	1.7	2.3	ND	0.27	ND	ND	0.02	0.00005
11	下北・上北	D社	純米吟醸	吟烏帽子	濃醇辛口	1.8	49.8	2.2	ND	0.33	0.02	0.03	0.04	0.0002
12	下北・上北	E社	純米大吟醸	吟烏帽子	濃醇辛口	1.8	5.3	1.9	ND	0.33	ND	0.00	0.13	ND
13	その他	F社	純米吟醸	まっしぐら	濃醇辛口	0.8	5.8	2.3	ND	0.36	ND	ND	0.08	0.001
			参考日本食品標準成分表【普通酒】	(mg/100g)	2	5	3	0	0.16	Tr	Tr	0.1	0.001	
			日本食品標準成分表【吟醸酒】	(mg/100g)	2	7	2	-	0.16	Tr	0.01	0.1	-	
			日本食品標準成分表【純米酒】	(mg/100g)	4	5	3	-	0.18	0.1	Tr	0.1	-	
			日本食品標準成分表【本醸造酒】	(mg/100g)	2	5	3	-	0.19	Tr	Tr	0.1	-	

※  
 ND：検出下限値未満  
 Tr：  
 食品成分表では、最小記載量の1/10以上～5/10未満の微量含まれているということを意味している。

の測定結果を表 4 に示す。なお、日本酒度および酸度から、各銘柄の味わいについても記載した。

特徴的であった銘柄として、試料 4 の B 社の酒は、日本酒度が-30 以下で、測定試料中では最も低く、酸度、アミノ酸度および着色度の項目では最も高い値であった。日本酒度が最も高かったのは試料 11 の D 社の酒であった。

微量元素の測定結果をみると、辛口といわれる銘柄は、K の含有量が高い傾向がみられた。

津軽地方のメーカーである A 社の銘柄では、Cu および Mo が高い傾向がみられた。

Na、Ca、Cr、Fe は、各銘柄とも概ね同程度の含有量であり、地域差はみられなかった。

Mn、Zn は銘柄ごとに差はあるものの、地域差はみられなかった。

## (2) 酒米

微量元素の測定結果を表 5 に示す。

食品成分表の「穀類/こめ/[水稻穀粒]/精白米/うるち米」のデータと比較してみると、Ca、Cr、Mn、Cu、Zn、Mo は概ね同程度の傾向がみられた。

Na、K、Fe についてみると、食品成分表のデータの値に比べ、低い傾向がみられた。田上らの既報<sup>15)</sup>によると、Na、K、Fe の元素は、精米の表層に近いほど多く分布している。食品成分表の試料は精米歩合が約 90%程度であり、今回測定した試料の精米歩合が 60%程度であることを考慮すると、Na、K、Fe の元素が低い傾向であったことは妥当であると考えられる。

また、地域別にみると、Cu および Mo は弘前地域でやや高い傾向がみられた。

産業技術総合研究所地質調査総合センターのホームページに掲載されている「陸の地球化学図<sup>16)</sup>」により、県内の地質的な側面を地域ごとに確認してみると、Cu や Mo は、三戸地域にくらべ弘前地域の濃度分布が高い傾向であった。(図 5)

このことから、栽培された土壤に含まれる元素の影響が反映されていることが示唆された。

なお、酒米と食用米では特に違いはみられなかった。

## 4.2 相関

日本酒と酒米に含まれる微量元素成分の測定結果から求めた相関結果を表 6 に示す。

### (1) 酒-酒

A 社、B 社、C 社については、自社の銘柄間での相関が高い傾向がみられた。

C 社の 2 銘柄(南部 2,3)は、他社の銘柄との相関が低い傾向がみられた。

県外メーカーである F 社の銘柄は、県産銘柄と概ね相関が高い傾向がみられた。

### (2) 酒-米

A 社の 1 銘柄(津軽 2)および C 社の 2 銘柄(南部 2,3) は、米との相関が低い傾向がみられた。

その他の銘柄は、米との相関が高い傾向がみられた。

### (3) 米-米

すべての品種で相関が高い傾向がみられ、地域の差異はみられなかった。

## 4.3 主成分分析

主成分分析とは、多くの量的な変数(次元)を、より少ない変数に要約する(例えば、2 次元を 1 次元に表現し直すこと)手法で、要約した変数(指標)のことを「主成分」という。簡単な例として、「数学の点数」と「化学の点数」から新しく「理系学力」という指標とするなどがあげられる。主成分分析における固有値は、その固有ベクトルの方向に沿ったデータの分散の大きさに対応し、固有値が大きい主成分に対する固有ベクトルほど、データの分散をよく説明していることになる。寄与率は、得られた主成分が元のデータの何割を説明しているかを表している。

今回、日本酒中の微量元素の測定結果のうち、Na、K、Ca、Mn、Fe、Cu、Zn、Mo の 8 元素を用いて主成分分析を行った。解析および図の描画には、早狩<sup>17)</sup>が作成した表計算ソフトのアドインを使用した。

主成分分析結果のうち、固有値・寄与率を表 7 に、固有ベクトルを表 8 に、主成分 1 と主成分 2 のスコア散布図を図 6 に示す。

表 7 固有値・寄与率表

成分	主成分 1	主成分 2	主成分 3	主成分 4	主成分 5
固有値	1.995	1.821	1.588	1.159	0.756
寄与率(%)	24.93	22.76	19.85	14.49	9.45
累積寄与率	24.93	47.69	67.54	82.03	91.48

表 8 固有ベクトル

変数名	主成分 1	主成分 2	主成分 3	主成分 4	主成分 5
Na	0.003	0.312	-0.185	0.721	0.417
K	-0.199	0.128	-0.529	-0.36	0.598
Ca	-0.233	0.566	0.217	0.101	-0.342
Mn	0.256	0.285	0.546	0.001	0.426
Fe	0.137	0.565	0.073	-0.534	0.03
Cu	<b>0.604</b>	<b>-0.001</b>	-0.326	-0.111	-0.168
Zn	0.095	-0.401	0.472	-0.138	0.376
Mo	<b>0.669</b>	<b>0.067</b>	-0.078	0.154	-0.013



表5 酒米に含まれる微量金属の測定結果

報告値mg/100g											
種類	産地	Na	K	Ca	Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	Mo	
1	まっしぐら	弘前	0.4	38	4	0	0.6	0.1	0.19	1.4	0.084
2	華吹雪	弘前	0.4	44	3	0	0.6	0.1	0.21	1.5	0.078
3	華想い	弘前	0.3	36	3	0	0.6	0.1	0.20	1.2	0.082
4	華さやか	弘前	0.3	53	3	0	0.5	0.0	0.17	1.4	0.058
5	青天の霹靂	弘前	0.3	34	3	0	0.5	0.1	0.16	1.3	0.063
6	まっしぐら	三戸	1.2	40	4	0	0.4	0.1	0.11	1.3	0.062
7	華吹雪	三戸	0.3	49	3	0	0.6	0.1	0.17	1.7	0.046
8	華想い	三戸	0.2	54	3	0	0.7	0.0	0.18	1.2	0.048
9	吟烏帽子	三戸	0.2	54	3	0	0.6	0.1	0.15	1.7	0.055
10	吟烏帽子	十和田	0.9	29	4	0	0.5	0.1	0.10	1.6	0.042
11	吟烏帽子	おいらせ	2.0	36	3	0	0.4	0.1	0.12	1.8	0.028
12	吟烏帽子	東通	1.6	33	4	0	0.5	0.1	0.03	1.9	0.062
参考(食品成分表2020米)			1	89	5	0	0.8	0.8	0.22	1.4	0.069

表6 日本酒と酒米に含まれる微量元素成分のから求めた相関結果

A社(津軽1)	A社(津軽2)	A社(津軽3)	B社(南部1)	B社(南部2)	B社(南部3)	B社(南部4)	C社(南部1)	C社(南部2)	C社(南部3)	D社(下・上)	E社(下・上)	F社(県外)	弘前-まっしぐら	弘前-華吹雪	弘前-華想い	弘前-華さやか	弘前-青天の霹靂	三戸-まっしぐら	三戸-華吹雪	三戸-華想い	三戸-吟烏帽子	十和田-吟烏帽子	おいらせ-吟烏帽子	東通-吟烏帽子	
A社(津軽1)	1																								
A社(津軽2)	0.931	1																							
A社(津軽3)	0.993	0.948	1																						
B社(南部1)	0.981	0.946	0.996	1																					
B社(南部2)	0.883	0.779	0.91	0.933	1																				
B社(南部3)	0.924	0.849	0.95	0.969	0.993	1																			
B社(南部4)	0.95	0.89	0.973	0.987	0.978	0.996	1																		
C社(南部1)	0.945	0.95	0.975	0.99	0.932	0.969	0.983	1																	
C社(南部2)	0.851	0.975	0.864	0.855	0.623	0.713	0.769	0.859	1																
C社(南部3)	0.807	0.863	0.777	0.735	0.449	0.546	0.617	0.689	0.92	1															
D社(下・上)	0.868	0.748	0.894	0.917	0.999	0.986	0.968	0.913	0.585	0.415	1														
E社(下・上)	0.992	0.919	0.997	0.994	0.933	0.964	0.981	0.969	0.82	0.736	0.921	1													
F社(県外)	0.951	0.928	0.978	0.992	0.956	0.984	0.994	0.997	0.823	0.66	0.941	0.978	1												
弘前-まっしぐら	0.867	0.769	0.899	0.924	0.999	0.99	0.974	0.928	0.611	0.425	0.998	0.922	0.952	1											
弘前-華吹雪	0.862	0.758	0.893	0.919	0.999	0.987	0.97	0.922	0.597	0.412	0.998	0.918	0.946	1	1										
弘前-華想い	0.867	0.769	0.898	0.924	0.999	0.99	0.973	0.928	0.61	0.424	0.998	0.922	0.952	1	1	1									
弘前-華さやか	0.857	0.747	0.887	0.913	0.998	0.985	0.966	0.915	0.583	0.4	0.999	0.913	0.941	0.999	1	0.999	1								
弘前-青天の霹靂	0.868	0.772	0.9	0.926	0.999	0.99	0.974	0.93	0.614	0.427	0.997	0.923	0.953	1	1	1	0.999	1							
三戸-まっしぐら	0.875	0.772	0.904	0.928	0.999	0.991	0.975	0.929	0.615	0.436	0.998	0.928	0.953	1	1	1	1	1							
三戸-華吹雪	0.856	0.749	0.887	0.913	0.998	0.985	0.966	0.916	0.585	0.401	0.999	0.913	0.942	0.999	1	0.999	1	0.999	0.999	1					
三戸-華想い	0.855	0.745	0.886	0.911	0.998	0.984	0.965	0.913	0.581	0.397	0.999	0.912	0.94	0.999	1	0.999	1	0.999	0.999	1	1				
三戸-吟烏帽子	0.856	0.749	0.887	0.913	0.998	0.985	0.967	0.916	0.586	0.401	0.999	0.913	0.942	0.999	1	0.999	1	0.999	0.999	1	1	1			
十和田-吟烏帽子	0.881	0.789	0.912	0.936	0.998	0.993	0.98	0.939	0.637	0.453	0.996	0.933	0.961	0.999	0.998	0.999	0.997	0.999	0.999	0.998	0.997	0.998	1		
おいらせ-吟烏帽子	0.881	0.772	0.908	0.93	0.999	0.99	0.976	0.927	0.615	0.445	0.998	0.932	0.952	0.999	0.999	0.999	0.998	0.999	1	0.998	0.998	0.998	0.999	1	
東通-吟烏帽子	0.881	0.779	0.91	0.933	0.999	0.992	0.977	0.932	0.624	0.449	0.997	0.933	0.956	0.999	0.999	0.999	0.998	0.999	1	0.998	0.998	0.998	0.999	1	1

※ 相関が<0.8であるところを色付けしている。

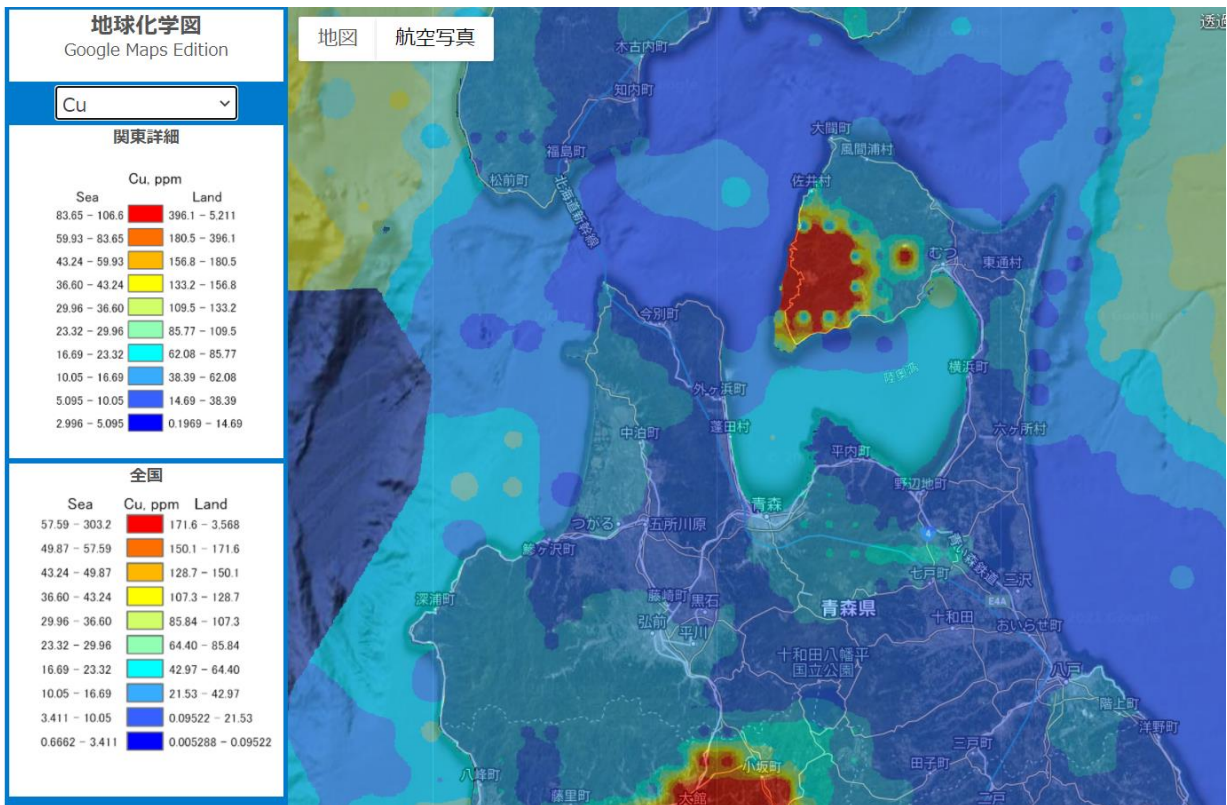


図 5-1 県内の地殻表層における Cu の濃度分布図

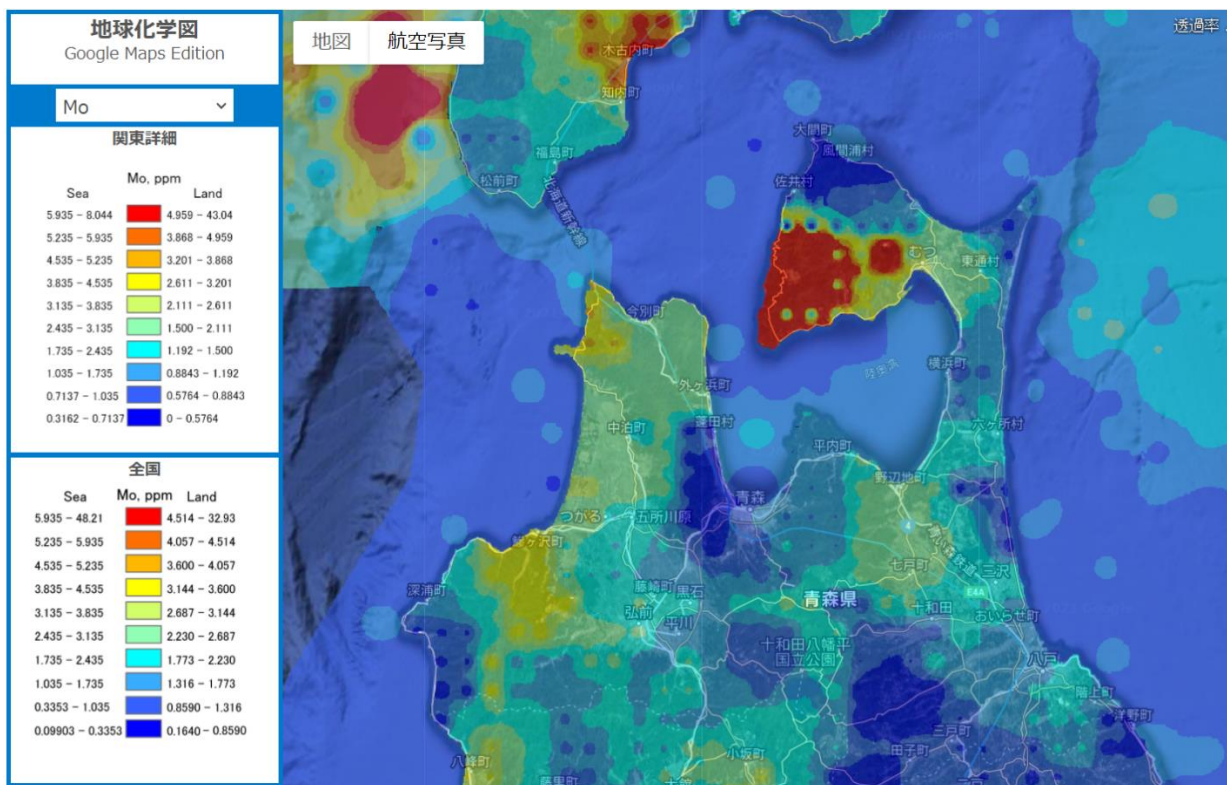


図 5-2 県内の地殻表層における Mo の濃度分布図

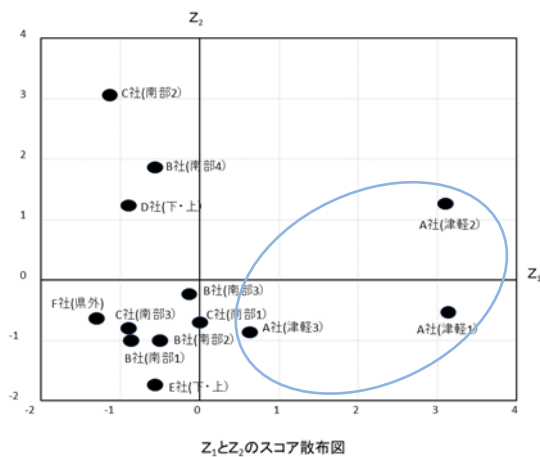


図 6 主成分分析散布図（日本酒）

図 6 をみると、右側で津軽地方の酒蔵メーカーである A 社の銘柄が集団を形成している。表 8 をみると、主成分 1 の固有ベクトルに正の寄与が大きい元素は Cu および Mo であった。4.1(2)で考察したとおり、弘前地域の酒米は、Cu、Mo が高い傾向にある。

よって、これらのことを踏まえると、主成分 1 は原料である酒米の「産地」を示すものと考えられる。

次に主成分 2 について考える。主成分 1 の固有ベクトルで寄与が大きかった Cu および Mo は、主成分 2 の固有ベクトルでの寄与は両方とも 0 程度であった。

つまり、主成分 2 は Cu および Mo に関係なく、すなわち、酒米に関係のない性質のものである可能性が高いことがわかる。今回の調査研究では、酒米しか測定していないため、現状では主成分 2 が何を反映したものか特定できないが、想定されるのは、仕込みに使用される水、酵母などの性質であることから、今後の調査課題としたい。

#### 4.4 クラスタ分析

クラスタ分析とは、異なる性質をもつデータを含むデータ群から類似した性質のものを集め、クラスタ（集団）を作り、対象を分類する手法である。この方法では、分類過程が視覚的に把握できる。

今回は、日本酒および酒米中の微量元素の測定結果のうち、Na、K、Ca、Mn、Fe、Cu、Zn、Mo の 8 元素を用いてクラスタ分析を行った。解析および図の描画には、早狩<sup>17)</sup>が作成した表計算ソフトのアドインを使用した。非類似度計算法は相関係

数を採用し、結合手法は群平均法、グルーピング数は 5 でおこなった。それぞれのクラスタ分析結果を図 7 に、分析分類表を表 9 に示す。

##### (1) 日本酒

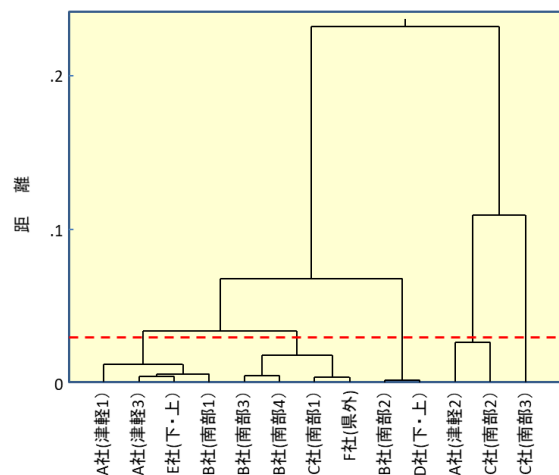
第 1 クラスタは、味わいが濃醇でかつ甘口～辛口に分類される日本酒のうち、主に酒米が原料である銘柄が集団を形成した。

第 2 クラスタは、味わいが淡麗～濃醇でかつ辛口に分類される日本酒のうち、主に食用米が原料である銘柄が集団を形成した。

第 3 クラスタは、味わいが淡麗～濃醇でかつ辛口に分類される日本酒のうち、吟烏帽子が原料である銘柄が集団を形成した。

第 4 クラスタは、味わいが淡麗～濃醇でかつ甘口に分類される日本酒のうち、酒米が原料である銘柄が集団を形成した。

第 5 クラスタは、味わいが淡麗辛口に分類される日本酒で、華吹雪が原料である銘柄が分類された。



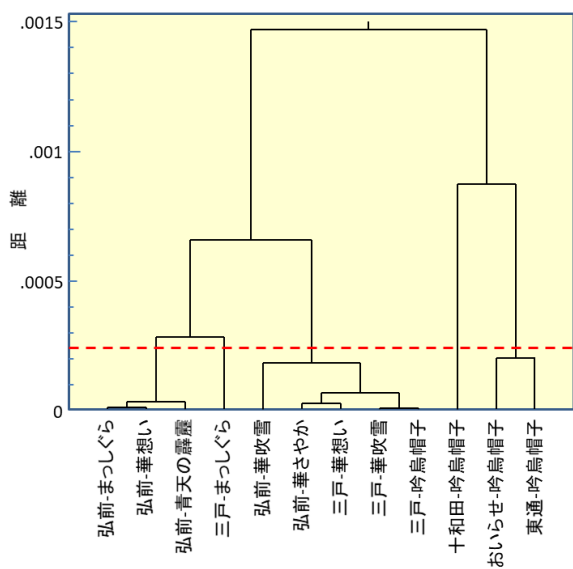
樹形図

図 7-1 クラスタ分析樹形図（日本酒）

表 9-1 クラスタ分析分類表（日本酒）

第1クラスタ	第2クラスタ	第3クラスタ
1 A社(津軽1)	6 B社(南部3)	5 B社(南部2)
3 A社(津軽3)	7 B社(南部4)	11 D社(下・上)
4 B社(南部1)	8 C社(南部1)	
12 E社(下・上)	13 F社(県外)	
第4クラスタ	第5クラスタ	
2 A社(津軽2)	10 C社(南部3)	
9 C社(南部2)		





樹形図

図 7-2 クラスタ分析樹形図(酒米)

表 9-2 クラスタ分析分類表(酒米)

第1クラスター	第2クラスター	第3クラスター
1 弘前-まっしぐら	6 三戸-まっしぐら	2 弘前-華吹雪
3 弘前-華想い		4 弘前-華さやか
5 弘前-青天の霹靂		7 三戸-華吹雪
		8 三戸-華想い
		9 三戸-吟烏帽子
第4クラスター	第5クラスター	
10 十和田-吟烏帽子	11 おいらせ-吟烏帽子	
	12 東通-吟烏帽子	

## (2) 酒米

第1クラスターは、主に弘前地域の食用米、第2クラスターは三戸地域の食用米、第3クラスターは弘前地域および三戸地域の酒米、第4クラスターが十和田地域の吟烏帽子、第5クラスターはおいらせ地域、東通地域の吟烏帽子に分類された。

安井らの既報<sup>18)</sup>によると、Mn、Zn、Cu、Moなどの特定の微量元素組成を用いたクラスタ分析や主成分分析による産地判別が可能であることが示唆されている。本研究における今回の解析でも、産地や品種ごとに概ね分類されたことを踏まえると、酒米中の微量元素を測定・解析することで産地判別が可能であることが示唆されたと考える。

## 5. 本研究の成果

県産の日本酒や酒米に含まれる微量元素の含有量について把握することができ、解析により、県内

の日本酒や酒米の地域的特徴や関係性について知見を得ることができた。

さらに、酒米については、主成分分析やクラスタ分析により、産地判別が可能であると示唆された。産地判別法の確立は、農産物のトレーサビリティの一端を担うと考えられており、本県産の酒米をはじめとする農産物ブランドの保護・育成に役立つと考えられる。

## 6. まとめ

### (1) 日本酒

- 1)辛口といわれる銘柄は、Kの含有量が高い傾向がみられた。
- 2)津軽地方の酒蔵であるA社の銘柄では、CuおよびMoの含有量が高い傾向がみられた。
- 3)日本酒中の微量元素に係るクラスタ分析により、味わいの似た銘柄と醸造に用いた酒米の品種が同じ銘柄ごとに概ね分類できた。

### (2) 酒米

- 1)CuおよびMoは弘前地域でやや高い傾向がみられた。
- 2)米中の微量元素に係るクラスタ分析では、産地や品種ごとに概ね分類できた。このことから、酒米中の微量元素を測定し解析することで産地判別が可能であることが示唆された。

## 謝辞

本研究は、当センター内のベンチャー制度を活用し、分析経験が少ない職員の分析技術および統計解析などの研究能力の向上を図るべく、通常業務で実施しない食品などの分析を行った。ご協力、ご助言いただいた関係者に謝意を表す。

また、酒米の提供や施設見学でお世話になった(地独)青森県産業技術センター弘前工業研究所発酵食品開発部の方々には謝意を表す。

## 文献

- 1) 国税庁：日本酒のグローバルなブランド戦略に関する検討会  
<https://www.nta.go.jp/about/council/kenkyu.htm#a11>  
(2021.12.16 アクセス)
- 2) 佐藤 信：清酒の着色の判別と予測. 日本醸造協会誌, **67**,6,484-490,1972
- 3)若井芳則, 他：清酒醸造における原料米の酒造適性. 生物工学会誌, **74**,4,245-254,1996
- 4) 和田美代子, 他：日本酒の科学 水・米・麴の伝

統の技. 株式会社講談社,2015

5) 国税庁：「清酒の製造品質表示基準」

<https://www.nta.go.jp/taxes/sake/hyoji/seishu/kokuji891122/03.htm>

(2021.12.16 アクセス)

6) 国税庁：国税庁所定分析法

<http://www.nta.go.jp/shiraberu/zeiho-kaishaku/tsu-tatsu/kobetsu/sonota/070622/pdf/03.pdf>

(2021.12.16 アクセス)

7) 月桂冠 HP

<https://www.gekkeikan.co.jp/enjoy/qa/sake/sake05.html>

(2021.12.16 アクセス)

8) 沖塚翔太 清酒の分析について. 愛知食品工業技術センターニュース,2015

[http://www.aichiinst.jp/shokuhin/other/up\\_docs/news1506-2.pdf](http://www.aichiinst.jp/shokuhin/other/up_docs/news1506-2.pdf)

(2021.12.16 アクセス)

9) こゝよいの、グルメマガジン

<https://nihamagazine.com>

(2021.12.16 アクセス)

10) 灘酒研究会 HP

[http://www.nada-ken.com/main/jp/index\\_na/64.html](http://www.nada-ken.com/main/jp/index_na/64.html)

(2021.12.16 アクセス)

11) weblilo 辞書 HP 日本酒用語集

<https://www.weblilo.jp/content/着色度>

(2021.12.16 アクセス)

12) 文部科学省：日本食品標準成分表 2020 年版(八訂)

[https://www.mext.go.jp/a\\_menu/syokuhinseibun/mext\\_01110.html](https://www.mext.go.jp/a_menu/syokuhinseibun/mext_01110.html)

(2021.12.16 アクセス)

13) 副島顕子：酒米ハンドブック(改訂版),2017

14) 山内一司,他：青森のお酒,2020

15) 田上恵子,他：ICP-OES と ICP-MS を用いた玄米中の無機元素分布と洗米による濃度変化の解析. 分析化学,65,9,511-517,2016

16) 陸の地球化学図, 産業技術総合研究所地質調査総合センター

<https://gbank.gsj.jp/geochemmap/gmaps/map.htm>

(2021.12.28 アクセス)

17) Excel アドイン工房「早狩」

<http://www7b.biglobe.ne.jp/~hayakari/index.html>

(2021.12.28 アクセス)

18) 安井明美,他：玄米中の無機元素組成による産地判別,分析化学, 49,6,405-410,2000

## A survey on trace elements contained in Japanese sake produced in Aomori Prefecture

Nobutoshi Utsumi, Soya Sugao, and Maiko Tamura

We measured 9 inorganic components (K, Ca, etc.) in 13 Japanese sake brands produced in Aomori Prefecture and their ingredients, 12 types of sake brewing rice, using ICP-MS and other apparatus. Higher contents of Cu and Mo were observed in sake brands of brewery A located in the Tsugaru region. As for sake brewing rice, the contents of Cu and Mo were somewhat higher in rice cultivated in the Hirosaki region. In addition, we performed a cluster analysis of Japanese sake and sake brewing rice using data on the contents of the elements measured. The analysis revealed that Japanese sake formed clusters depending on the type of taste (e.g., *tanrei-karakuchi* or crispy and dry taste) and the type of rice for brewing sake, and that sake brewing rice formed clusters according to cultivation areas and rice types. This suggests that cultivation/production areas of sake and sake brewing rice, especially for the rice, can be identified by measuring and analyzing trace elements such as Cu and Mo.

Key words: sake, inorganic component analysis, principal component analysis, correlation

2 ノ ー ト

## 中南地域でヒトから分離された下痢原性大腸菌等の性状解析 (2019 年 1 月~12 月)

高橋洋平 山上剛志 武差愛美<sup>1</sup>

2019 年 1 月から 12 月の間に、腸管出血性大腸菌以外の下痢原性大腸菌として青森県環境保健センターに搬入された計 56 株を対象として、病原遺伝子及び *E. albertii* の検索、抗原遺伝子型、薬剤感受性を調べた。その結果、搬入株の内訳は、腸管毒素原性大腸菌 (EPEC) が 4 株、腸管病原性大腸菌 (EPEC) が 33 株、腸管凝集付着性大腸菌 (EAggEC) が 19 株であった。このうち、EPEC 1 株からは *stx2e* が、56 株中 14 株からは *astA* が併せて検出された。抗原遺伝子型では、Og111:Hg21 が 4 株、Og126:Hg27 が 3 株検出され、分類はいずれも EAggEC であった。また、56 株のうち 31 株が 1 剤以上の薬剤に耐性で、このうち、EPEC 1 株からは CTX-M-1 グループの ESBL 遺伝子が、EPEC 1 株及び EAggEC 1 株からは CIT 型、DHA 型の AmpC β-ラクタマーゼ遺伝子がそれぞれ検出された。

Key words : diarrheagenic *E. coli*, *E. albertii*, virulence gene, genotype, antimicrobial resistance

### 1. はじめに

大腸菌 (*Escherichia coli*) は腸内細菌科に属するグラム陰性通性嫌気性桿菌である。通常の大腸菌は正常細菌叢の 1 つであり、本来はヒトに対し無害な菌であるが、病原遺伝子の獲得により下痢を主症状とする腸管感染症を引き起こすものを下痢原性大腸菌と呼ぶ<sup>1,2)</sup>。

下痢原性大腸菌は、保有する病原遺伝子により、腸管出血性大腸菌 (enterohaemorrhagic *E. coli*; EHEC)、腸管毒素原性大腸菌 (enterotoxigenic *E. coli*; ETEC)、腸管組織侵入性大腸菌 (enteroinvasive *E. coli*; EIEC)、腸管病原性大腸菌 (enteropathogenic *E. coli*; EPEC)、腸管凝集付着性大腸菌 (enteroaggregative *E. coli*; EAggEC) の 5 つに大別される<sup>1,2)</sup>。

当センターでは、2018 年 4 月から、検査機関の協力のもと、ヒトから分離された下痢原性大腸菌の菌株を収集している<sup>14)</sup>。今回、2019 年 1 月から 12 月までに当センターに搬入された、EHEC を除く下痢原性大腸菌について、病原遺伝子の検索、新興感染症原因菌として知られるようになった<sup>3)</sup> *E. albertii* の検索、抗原遺伝子型の決定及び薬剤感受性試験を実施したので報告する。

<sup>1</sup> 環境生活部環境保全課

### 2. 材料と方法

#### 2.1 材料

検査機関で PCR により下痢原性大腸菌と判定された中南地域由来の菌株のうち、2019 年 1 月~12 月に当センターに搬入された 56 株を用いた。

#### 2.2 方法

##### (1) PCR

PCR は、アルカリ熱抽出法により抽出した DNA を鋳型とし、既報のプライマー<sup>4-10)</sup> を用いて実施した。PCR 試薬には、QIAGEN Multiplex PCR plus kit (QIAGEN) のほか、TaKaRa EXTaq、EmeraldAmp MAX PCR Master Mix、TaKaRa Z-Taq、MightyAmp DNA Polymerase Ver.2、PrimeSTAR GXL DNA Polymerase (いずれもタカラバイオ) 又は AmpliTaq GoldDNA Polymerase (Thermo Fisher Scientific) を用いた。EPEC と分類された菌株又は *stx1/2* が検出された菌株については、既報の方法<sup>11-12)</sup>により毒素遺伝子の型別を行った。得られた増幅産物は、いずれも 3 %アガロースゲル又は自動キャピラリー電気泳動装置 QIAxcel DNA Screening Kit (QIAGEN 社) で電気泳動した。

##### (2) 薬剤感受性試験

KB ディスク (栄研化学) を用い、1 濃度ディスク拡散法により行った。McFarland 濃度 0.5 に調製し



た菌液をミューラーヒントンⅡ寒天培地 (BD) に塗布し、ディスク配置後、35℃、好氣的条件下で 16~18 時間培養後判定した。使用薬剤は、β-ラクタム系薬剤 13 剤 (ABPC, PIPC, CEZ, CTM, CTX, CAZ, CFPM, CMZ, IPM, MEPM, AZT) 及びそれ以外の薬剤 13 剤 (FOM, GM, KM, AMK, TC, DOXY, MINO, NA, CPF, LVFX, ST, CP, CL) の計 24 薬剤とした。

また、薬剤感受性試験で第 3 世代セフェム系薬剤に耐性を示した一部の株については、国立感染症研究所で示している方法<sup>13)</sup>にしたがい、阻害剤を用いたディスク拡散法によるスクリーニング及び PCR による薬剤耐性遺伝子の検出を行った。

### 3. 結果 (表 1)

下痢原性大腸菌の分類の内訳は、ETEC 4 株、EPEC 33 株、EAggEC 19 株で、EIEC 及び *E. albertii* と同定された株はなかった。ETEC のうち、保有するエンテロトキシン遺伝子の種類の内訳は、LT 1 株、STp 3 株であり、さらに、STp を保有する 3 株のうち 1 株は *stx2e* を保有していた。このほか、ETEC 3 株、EPEC 3 株、EAggEC 8 株からは *astA* が検出された一方、*afaD* を保有する株はなかった。

抗原遺伝子型では、ETEC が全て別の型に分類され、EPEC の型も比較的多様であったのに対し、EAggEC では Og111:Hg21 が 4 株、Og126:Hg27 が 3 株と、ある程度のまとまりが認められた。

薬剤感受性試験においては、1 剤以上に耐性 (R) を示した株は 56 株中 31 株であった。このうち、第 3 世代セフェム系薬剤に耐性を示した株は、ETEC で 1 株、EPEC で 1 株、EAggEC で 2 株であった。また、EPEC では 33 株中 20 株が 24 剤全てに感性又は中間を示したのに対し、ETEC では 4 株中 3 株、EAggEC では 19 株中 15 株が 1 剤以上に耐性であった。

第 3 世代セフェム系薬剤に耐性であった前述の 4 株について、薬剤耐性因子を検索した結果、ETEC 1 株からは CTX-M-1 グループの ESBL 遺伝子が、EPEC 1 株、EAggEC 1 株からは CIT 型、DHA 型のプラスミド性 AmpC β-ラクタマーゼ遺伝子がそれぞれ検出された。一方、EAggEC 1 株では、クロキサシリン (MCIPC) の結果から AmpC β-ラクタマーゼの産生が推定されたものの、PCR でプラスミド性 AmpC β-ラクタマーゼ遺伝子は検出されなかった。

なお、CL には判定基準が設定されていないものの、阻止円径が目立って小さい株はなかった。

### 4. 考察

ETEC は、エンテロトキシン遺伝子と併せて ESBL 遺伝子やベロ毒素 (VT) 遺伝子を保有する株が認められたことから、薬剤耐性や病原性に対しても注視していく必要がある。また、今回 ETEC 1 株から検出された *stx2e* は、既存の VT 直接検出法による検出が困難とされている<sup>6)</sup>ことから、VT の直接検出に加え、PCR によるモニタリングも重要と考えられる。

EPEC は、搬入菌株のおよそ 6 割を占めていた。薬剤感受性試験では 24 剤全てに感性又は中間の株が多い一方で、プラスミド性薬剤耐性遺伝子を保有し多剤耐性を示す株も認められ、前回の報告<sup>14)</sup>同様、抗原遺伝子型を含め多様な菌株が分離される傾向がみられた。

EAggEC では、19 株中 4 株が Og111:Hg21、3 株が Og126:Hg27 であり、前回の報告<sup>14)</sup>と同じく特定の抗原遺伝子型が複数回検出される傾向があった。また、これら 7 株はいずれも薬剤感受性試験で CMZ の阻止円が比較的小さかったことから、AmpC β-ラクタマーゼを産生している可能性が推察される。なお、Og126:Hg27 は前回の報告でも 8 株検出されており、これらの菌株の特徴や関連性は興味深い。

今回対象とした期間内には *E. albertii* は検出されなかったが、検出状況や病原体サーベイランスの観点から、引き続きモニタリングを継続する必要がある。

### 5. まとめ

2019 年に青森県環境保健センターに搬入された EHEC を除く下痢原性大腸菌 56 株を対象に、病原遺伝子及び *E. albertii* の検索を実施した結果、ETEC が 4 株、EPEC が 33 株、EAggEC が 19 株であった。抗原遺伝子型では、Og111:Hg21 が 4 株、Og126:Hg27 が 3 株と多く検出され、分類はいずれも EAggEC であった。薬剤感受性試験の結果、56 株のうち 31 株が 1 剤以上の薬剤に耐性で、ETEC 及び EAggEC で特に薬剤耐性株の割合が高かった。第 3 世代セフェム系薬剤に耐性を示した 4 株のうち、ETEC 1 株からは CTX-M-1 グループの ESBL 遺伝子が、EPEC 1 株及び EAggEC 1 株からは CIT 型、DHA 型の AmpC β-ラクタマーゼ遺伝子がそれぞれ検出された。また、EAggEC の Og126:Hg21 は、2018 年の 8 株に引き続き、2019 年には 3 株が検出され、同一抗原遺伝子型の菌株の集積が認められた。

2019 年の搬入株を用いた結果、2018 年と同様、薬

剤耐性菌の存在や、特定の抗原遺伝子型の集積等の特徴が認められ、さらに、ベロ毒素遺伝子を併せて保有する菌株の存在が明らかとなった。今後も、検出状況等の把握のため、サーベイランスを継続していく必要がある。

### 謝 辞

菌株収集に御協力いただいた、弘前市医師会健診センターの検査担当の方々に厚くお礼申し上げます。

### 文 献

- 1) 中込治、神谷茂編：標準微生物学第12版. 医学書院, 東京, 2015
- 2) 山崎伸二：下痢原性大腸菌. 食品・食品添加物研究誌：FFI ジャーナル, **225**, 275-288, 2020
- 3) 村上光一他：Vero 毒素産生株が散見される新興感染症原因菌 *Escherichia albertii* について. IASR, **37**, 98-100, 2016
- 4) Hyma, K. E. et al. : Evolutionary genetics of a new pathogenic *Escherichia* species: *Escherichia albertii* and *Shigella boydii* strains. *J. Bacteriol.*, **187**, 619-628, 2005
- 5) Oaks, J. L. et al. : *Escherichia albertii* in wild and domestic birds. *Emerg. Infect. Dis.*, **16**, 638-646, 2010
- 6) 国立感染症研究所：腸管出血性大腸菌（EHEC）検査・診断マニュアル, 2021年9月

- 7) Iguchi, K. et al. : *Escherichia coli* O-genotyping PCR; a comprehensive and practical platform for molecular O-serogrouping. *J. Clin. Microbiol.*, **53**, 2427-2432, 2015
- 8) 井口純他：腸管出血性大腸菌の主要な O 血清群と病原性遺伝子を判定する One-shot マルチプレックス PCR 法の開発と評価, 日本食品微生物学会雑誌, **32**, 215-218, 2015
- 9) Banjo, M. et al. : *Escherichia coli* H-genotyping PCR; a complete and practical platform for molecular H-typing. *J. Clin. Microbiol.*, **56**, e00190-18, 2018
- 10) 国立保健医療科学院、国立感染症研究所：平成29年度短期研修細菌研修資料, 2017年11月
- 11) タカラバイオ株式会社：毒素原性大腸菌エンテロトキシン遺伝子の検出, 参考資料 特殊細菌検出用 Primer Set Application 2, 4-5, 2017年6月
- 12) Scheutz, F. et al. : Multicenter Evaluation of a Sequence-Based Protocol for Subtyping Shiga Toxins and Standardizing Stx Nomenclature. *J. Clin. Microbiol.*, **50**, 2951-2963, 2012
- 13) 国立感染症研究所薬剤耐性研究センター：薬剤耐性菌研修会資料, 2017年9月
- 14) 高橋洋平他：中南地域でヒトから分離された下痢原性大腸菌等の性状解析(2018年4月～12月). 青森県環境保健センター年報, **31**, 33-39, 2020

表 1 2019 年搬入株の分類・抗原遺伝子型・薬剤耐性パターン

分類 (株数)	抗原遺伝子型	耐性薬剤	保有遺伝子	薬剤耐性遺伝子	株数	
ETEC (4)	Og9:HgUT	-	STp, <i>stx2e</i> , <i>astA</i>		1	
	Og25:Hg16	ABPC, PIPC, CEZ, CTX	LT	ESBL (CTX-M-1g)	1	
	Og27:Hg7	NA	STp, <i>astA</i>		1	
	Og169:Hg41	TC, DOXY	STp, <i>astA</i>		1	
EPEC (33)	Og21:Hg21	-			2	
	Og35:Hg19	NA			1	
	Og49:Hg10	GM, TC, MINO, DOXY	<i>astA</i>		1	
		TC, MINO, DOXY	<i>astA</i>		1	
	Og51:Hg49	-			1	
	Og55:Hg7	-			1	
	Og64:Hg21	ABPC, CEZ, CTX, CAZ, TC, MINO, DOXY, NA, CPF, LVFX, ST		AmpC (CIT 型)	1	
	Og71:Hg40	-			1	
	Og85:Hg31	-			1	
		TC, MINO, DOXY			1	
	Og98:Hg8	-			1	
	Og108:Hg21	-			1	
	Og128:Hg2	-	<i>astA</i>		1	
		TC, DOXY, ST, CP			1	
	Og145:Hg16	-			1	
	Og145:Hg28	TC			1	
		TC, CP			1	
	Og156:Hg8	-			1	
	Og157:Hg39	-			1	
	Og167:Hg9	-			1	
	Og174:Hg6	-			1	
	Og179:Hg31	ABPC, PIPC			1	
	OgGP1:Hg6	-			1	
	OgGP5:Hg40	ABPC, PIPC, TC, DOXY, NA, CP			1	
		NA			1	
	OgUT:Hg6	-			2	
	OgUT:Hg21	-			2	
	OgUT:Hg30	-			1	
		ABPC, KM, TC, DOXY, NA, CPF, LVFX, ST, CP			1	
		ABPC, PIPC, TC, ST			1	
	EAggEC (19)	Og11:Hg1/12	ABPC, TC, ST			1
		Og65:Hg1/12	ABPC, TC, ST	<i>astA</i>		1
		Og81:Hg27	NA	<i>astA</i>		1
Og92:Hg33		-			2	
Og99:Hg4		-			1	
Og111:Hg21		ABPC, CEZ	<i>astA</i>	(AmpC)	1	
		ABPC, PIPC, CEZ		(AmpC)	2	
		ABPC, PIPC, CEZ, CAZ		(AmpC)	1	
Og126:Hg27		ABPC, CEZ	<i>astA</i>	(AmpC)	3	
Og130:Hg27		ABPC, NA, ST			1	
		NA			1	
Og172:Hg27		ABPC, NA, ST			1	
Og175:Hg31		ABPC, CEZ, CAZ	<i>astA</i>	AmpC (DHA 型)	1	
Og176:Hg34		ABPC, PIPC, CEZ, NA, ST	<i>astA</i>		1	
OgUT:Hg19		-			1	
総計						56

※ -: 24 剤全てに感性又は中間

## 青森県内でヒトから分離されたサルモネラ属菌の血清型と薬剤感受性 (2020 年)

橋本恭奈 山上剛志 高橋洋平 武差愛美<sup>1</sup>

2020 年 1 月から 12 月までの期間に県内 11 定点医療機関から青森県環境保健センターに搬入されたサルモネラ属菌 42 株を対象として、血清型別試験及び薬剤感受性試験を実施した。血清型別試験の結果、O4:i:-が最も多く、次いで *Infantis*、*Typhimurium* が多かった。また、薬剤感受性試験の結果、29 株が 1 剤以上の薬剤に耐性であった。血清型と薬剤耐性パターンを比較すると、O4:i:-や *Infantis* には薬剤耐性株が多く、*Typhimurium* には薬剤耐性株が少ない傾向が見られた。薬剤感受性試験で、テトラサイクリン系薬剤に耐性を示した株のテトラサイクリン系薬剤耐性遺伝子保有状況を確認したところ、*tet(A)* または *tet(B)* のいずれかが検出され、血清型と保有するテトラサイクリン系薬剤耐性遺伝子に一定の関係性が認められた。

Key words : *Salmonella*, serotype, PCR, Susceptibility test, AMR

### 1. はじめに

サルモネラ属菌 (*Salmonella* spp.) は腸内細菌科 (Enterobacteriaceae) 細菌に属するグラム陰性桿菌である。O 抗原、莢膜抗原 (Vi 抗原)、鞭毛抗原 (H 抗原) の組み合わせにより約 2,500 の血清型があり<sup>1)</sup>、代表的な食中毒菌の一つである。

青森県環境保健センターでは、県内の 11 定点医療機関でヒトから分離されたサルモネラ属菌の菌株を収集し、性状解析を実施している<sup>2)</sup>。今回、2020 年に当センターに搬入されたサルモネラ属菌の血清型別試験及び薬剤感受性試験を実施したので結果を報告する。

### 2. 材料と方法

#### 2.1 材料

2020 年 1 月から 12 月に県内の 11 定点医療機関から搬入されたサルモネラ属菌 45 株のうち、同一患者から一定期間にわたり複数回分離された同一株 3 株を除いた、42 株を用いた。

#### 2.2 方法

##### (1) 血清型別試験

サルモネラ免疫血清「生研」(デンカ)を用い、定法にしたがって血清型を確認した。

併せて、アルカリ熱抽出法により抽出した DNA を鋳型として既報<sup>3)</sup>のプライマーによる multiplex PCR を実施し、複相菌の 2 相発現に關与する *fljB* 遺伝子保有状況等を確認した。PCR 試薬は TaKaRa Ex Taq Hot Start Version または EmeraldAmp MAX PCR Master Mix (いずれもタカラバイオ) を用い、得られた増幅産物は 3 %アガロースゲルで電気泳動した。

##### (2) 薬剤感受性試験

KB ディスク (栄研化学) を用い、1 濃度ディスク拡散法により行った。McFarland 濃度 0.5 に調製した菌液をミュラーヒントン II 寒天培地 (BD) に塗布し、ディスク配置後、35 °C、好氣的条件下で 16~18 時間培養後判定した。使用薬剤は、β-ラクタム系薬剤 13 剤 (ABPC, PIPC, CEZ, CTM, CTX, CAZ, CFPM, CMZ, LMOX, FRPM, IPM, MEPM, AZT) 及びそれ以外の薬剤 13 剤 (FOM, GM, KM, AMK, TC, MINO, DOXY, NA, CPFX, LVFX, ST, CP, CL) の計 26 薬剤とした。阻止円の測定値が中間 (Intermediate) を示したものは、感性 (Susceptible) に含めた。このうち、テトラサイクリン系薬剤 (TC, MINO, DOXY ; 以下「TCs」と表記) 1 剤以上に耐性を示した株については、既報<sup>4)</sup>にしたがって PCR を実施し、TCs 耐性遺伝子保有状況を確認した。DNA 抽出や試薬は、(1)と

1 環境生活部環境保全課

同様とした。

### 3. 結果

#### 3.1 血清型別試験

2020年に搬入されたサルモネラ属菌の血清型の内訳では O4:i:- が 17 株と最も多く、次いで Infantis (6 株) と Typhimurium (5 株) が多かった。このほか、Schwarzengrund、Stanley、Weltevreden が各 2 株、その他の血清型はいずれも各 1 株であった (表 1)。

PCR では、*fljB* 遺伝子が全ての複相菌から検出された一方、単相菌からはいずれも検出されなかった。

表 1 2020 年搬入株の血清型

O 血清群・血清型	株数 (内訳)
<b>O4</b>	<b>30</b>
O4:i:-	17
Typhimurium	5
Schwarzengrund	2
Stanley	2
Agona	1
Brandenburg	1
Saintpaul	1
Sandiego	1
<b>O6,7</b>	<b>8</b>
Infantis	6
Thompson	1
Livingstone	1
<b>O6,8</b>	<b>1</b>
Newport	1
<b>O3,10</b>	<b>2</b>
Weltevreden	2
<b>O13</b>	<b>1</b>
Agoueve / Cubana <sup>※</sup>	1
<b>総計</b>	<b>42</b>

※O22 群と O23 群を区別できなかったため、血清型名を併記した。

#### 3.2 薬剤感受性試験

薬剤耐性パターンと菌株数の内訳は表 2 のとおりであった。CL には判定基準が設定されていないものの、阻止円径が特に小さい株はなかった。

被検菌のうち、1 剤以上に耐性の株は 42 株中 29 株であった。このうち、ペニシリン系薬剤 (ABPC, PIPC) に 1 剤以上耐性の株が 15 株、TCs に 1 剤以上耐性の株が 16 株であった。ペニシリン系薬剤と TCs のどちらにも 1 剤以上耐性を示した株は 7 株で、こ

のうち 1 株は ST 及び CP にも耐性を示した。そのほか、アミノグリコシド系薬剤 (GM, KM, AMK) に 1 剤以上耐性の株が 2 株認められ、いずれも KM にのみ耐性を示した。

TCs に耐性の 16 株に対して TCs 遺伝子を標的とする PCR を実施したところ、16 株全てから *tet(A)* または *tet(B)* のいずれかが検出された。TC, DOXY に耐性で MINO に感性の 9 株からは、いずれも *tet(A)* が検出され、TC, MINO, DOXY 全てに耐性の 7 株からは *tet(B)* が検出された。なお、*tet(A)* と *tet(B)* の両方が検出された株はなかった。

表 2 2020 年搬入株の薬剤耐性パターン

薬剤耐性パターン	株数
全て感性	17
ABPC	8
ABPC, PIPC, TC, DOXY, ST, CP	1
ABPC, PIPC, TC, MINO, DOXY	2
ABPC, TC, MINO, DOXY	4
KM	1
KM, TC, DOXY, ST	1
TC	5
TC, DOXY	2
TC, MINO, DOXY	1
<b>総計</b>	<b>46</b>

### 4. 考察

血清型、薬剤耐性パターンの内訳を表 3 に示した。2020 年に最も搬入の多かった O4:i:- では、17 株中 14 株が ABPC に、7 株が TCs に耐性を示した。O4:i:- に次いで多かった Infantis では、6 株中 5 株が TC に耐性を示した。一方、2020 年で 3 番目に搬入数の多かった Typhimurium では耐性が比較的少ない傾向にあった。このほか、KM に耐性を示した 2 株は、いずれも血清型が Schwarzengrund であった。以上の結果は、全国的な傾向<sup>5)</sup>に類似していると考えられる。

また、TCs に対する耐性と血清型に注目すると、3.2 で TCs の 3 剤全てに耐性を示し、*tet(B)* を保有していた 7 株は全て O4:i:- であった。一方、MINO に対しては感性を示し、*tet(A)* を保有する 9 株は O4:i:- 以外の血清型であった。このことから、2020 年に搬入された TCs 耐性株では、血清型と保有する TCs 耐性遺伝子に一定の関係性が認められた。

薬剤耐性の傾向をはじめ、検出頻度の多い病原性細菌の菌種や血清型等を病原体サーベイランスによって把握し、解析結果を提供していくことは、感染

症流行の早期探知及び疫学調査等の一助となると考えられる。そのため今後も菌株の収集及び性状解析を継続して実施し、データを蓄積・分析していく必要がある。

表3 血清型と薬剤耐性パターンの内訳

血清型と薬剤耐性パターン	TCs 耐性遺伝子	株 数
<b>O4:i-</b>		<b>17</b>
全て感性	-	2
ABPC	-	8
ABPC, PIPC, TC, MINO, DOXY	tet(B)	2
ABPC, TC, MINO, DOXY	tet(B)	4
TC, MINO, DOXY	tet(B)	1
<b>Agona</b>		<b>1</b>
TC, DOXY	tet(A)	1
<b>Brandenburg</b>		<b>1</b>
ABPC, PIPC, TC, DOXY, ST, CP	tet(A)	1
<b>Saintpaul</b>		<b>1</b>
TC, DOXY	tet(A)	1
<b>Schwarzengrund</b>		<b>2</b>
KM	-	1
KM, TC, DOXY, ST	tet(A)	1
<b>Infantis</b>		<b>6</b>
全て感性	-	1
TC	tet(A)	5

※同一血清型の全株が全ての薬剤に感性であったもの(14株)は、表から除外している。

## 5. まとめ

1) 2020年に県内11定点医療機関から青森県環境保健センターに搬入されたサルモネラ属菌42株を対象に血清型別試験を実施した結果、O4:i-が最も多く、次いで、Infantis、Typhimuriumであった。

2) 薬剤感受性試験の結果、42株中29株が1剤以上

の薬剤に耐性であった。その多くはペニシリン系薬剤又はテトラサイクリン系薬剤もしくはその両方に耐性を示した。

3) O4:i-やInfantisには耐性株が多く、Typhimuriumには少ない傾向が見られた。また、血清型及びTCs耐性遺伝子保有状況との間に一定の関係性が認められた。

4) 検出頻度の多い病原性細菌の菌種や血清型等の傾向を把握し、引き続き解析結果を提供していくため、今後も菌株収集及び性状解析を実施し、データの蓄積と分析を行っていく。

## 謝 辞

菌株収集に御協力いただいた、青森県立中央病院、青森市医師会臨床検査センター、青森市民病院、弘前市医師会健診センター、弘前市立病院、八戸市医師会臨床検査センター、八戸市立市民病院、つがる西北五広域連合つがる総合病院、十和田市立中央病院、一部事務組合下北医療センターむつ総合病院、公立野辺地病院の検査担当の方々に厚くお礼申し上げます。

## 文 献

- 1) 吉田眞一他編：戸田新細菌学改訂34版。南山堂，東京，2013
- 2) 橋本恭奈他：青森県内におけるサルモネラ属菌の性状解析(2019年)。青森県環境保健センター年報，**31**，59-62，2020
- 3) Lee, K. et al. : A novel multiplex PCR assay for *Salmonella* subspecies identification. *J. Appl. Microbiol.*, **107**, 805-811, 2009
- 4) L.-K. Ng et al. : Multiplex PCR for the detection of tetracycline resistant genes. *Mol. Cell. Probes*, **15**, 209-215, 2001
- 5) 薬剤耐性ワンヘルス動向調査検討会：薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書2020

## 特定原材料の検出を目的とした PCR における DNA 抽出法の比較例

福田 理 五十嵐飛鳥 田中綾乃 山本明美

食物アレルギー表示に係る特定原材料の検査法のうち、PCR 法による定性検査では、主としてシリカゲル膜タイプキットを用いる方法とイオン交換樹脂タイプキットを用いる方法の 2 種類の DNA 抽出法が公定法で定められている。流通加工食品 6 点を試料とし、それぞれ 2 種類のキットを用いて DNA 抽出を行ったところ、多くの試料でイオン交換樹脂タイプのキットの方が効率よく抽出することができたが、試料によってはあまり差が無いものもあり、作業時間の観点から、シリカゲル膜タイプキットを用いたほうがよい試料もあることがわかった。加工食品は多種多様であり、さらに DNA 抽出は工程が多く複雑であることから、効率よく作業を進めるためにも、今後もデータを蓄積していく必要がある。

Key words: specific ingredients for allergy-labelling system, PCR, DNA extraction

### 1. はじめに

食物アレルギーは、主に乳児又は小児で発症することが多いが、成人でも発症する場合があります、その症状はショック症状など重篤となる場合もあります。

このような健康危害を防止する観点から、我が国においては、食物アレルギーの発症数及び発症の重篤度を鑑み、食品表示法及びその関連規則により、7 品目（卵、乳、小麦、そば、落花生、えび、かに）が「特定原材料」として定められ、全ての流通段階で表示が義務付けられている。また、「特定原材料に準ずるもの」として、21 品目について表示が推奨されている。

特定原材料の検査は、「食品表示基準について」（平成 27 年 3 月 30 日付け消費者庁次長通知、最終改正令和 2 年 3 月 27 日）別添「アレルギーを含む食品の検査方法」（以下「公定法」という。）により検査法が定められている。公定法では、初めにスクリーニング検査として ELISA 法による定量試験を行い、有意に検出された場合で、かつ、当該食品の原材料表示及び製造記録を確認の上、特定原材料の使用が認められない場合は、確認検査としてウエスタンブロット法（卵、乳）又はポリメラーゼ連鎖反応（PCR）法（小麦、そば、落花生、えび、かに）による定性試験を行うこととされている。

当所では、令和 3 年度時点で卵、乳、小麦、そば、

落花生のスクリーニング検査に対応しており、今後、甲殻類（えび、かに）のスクリーニング検査及び小麦、そば、落花生、えび、かにの PCR 法による確認検査に対応していく予定である。

特定原材料のうち「えび」及び「かに」については、ELISA 法のキットが「甲殻類」検出用として販売されており、ELISA 法だけでは「えび」と「かに」を区別できないため、PCR 法による確認検査の実施を求められるケースが多くなることが想定される。

公定法においては、PCR 法に供する鋳型 DNA の抽出精製の方法として、①CTAB 法、②シリカゲル膜タイプのキットを用いる方法、③イオン交換樹脂タイプのキットを用いる方法の 3 種類が示されている。①は、クロロホルムなどの有害物質の使用により注意を要するため、主としては②又は③で行うこととなる。②及び③は、いずれも市販の抽出精製キットを用いる方法であり、検査対象検体の加工程度が低いものは②が、加工程度の高いものは③が、それぞれ適しているとされている。また、②の一例として、DNeasy Plant Mini（QIAGEN、以下「PM-kit」という。）が、③の一例として、Genomic-Tip 20/G（QIAGEN、以下「GT-kit」という。）が、それぞれ例示されている。

これらのキットによる DNA 抽出精製に要する時間は、PM-kit で約半日～1 日、GT-kit で約 1 日～2 日

であり、血液などの臨床検体用の核酸抽出キットと比較すると数倍ほどの時間を要し、工程も多く複雑である。このことから、公定法においては一方の方法で DNA が抽出されない場合には他方を試みるとされているものの、このような事態は極力避けたいといえる。

田口ら<sup>2)</sup>は、えび又はかにを含むとの表示がある様々な加工食品から PM-kit 及び GT-kit を用いて DNA を抽出し、えび及びかにの DNA について PCR を行い、比較した結果を報告している。しかしながら、加工食品は多種多様であり、同種の食品であっても一部の使用原材料の相違によって前処理後の性状が大きく異なる場合があるなど、具体的にどういった加工食品にどちらの方法が適しているかという判断においては、経験の蓄積が必要である。

本稿では、当所で PCR 法による特定原材料の定性試験を開始するための足掛かりとして、本県において特定原材料検査の対象検体として比較的多く選定される加工食品のうち、すり身製品（魚肉練り製品を含む。）及び菓子類製品のうちいくつかを試料として選定し、これらについて、それぞれ PM-kit 及び GT-kit での DNA 抽出精製を行い、えび DNA 及びかに DNA の検出を目的とする PCR を試みた結果をまとめ、今後の業務の参考とするため、ノートとして記す。

## 2. 試料及び方法

### 2.1 試料

表 1 に示す試料（すり身製品 3 試料、菓子類製品 3 試料）を用いた。いずれもフードプロセッサーにより粉砕した後、均質混和して試験に供した。

## 2.2 方法

### 2.2.1 ELISA 法による定量試験

各試料を PCR に供する前に、各試料に含まれる甲殻類由来のタンパク質を ELISA 法により定量した。定量は、甲殻類アレルギー検出用 ELISA キット 2 種類（FA テスト EIA-甲殻類 II「ニッスイ」（日水製薬、以下「N-kit」という。）及び甲殻類キット II「マルハニチロ」（マルハニチロ、以下「M-kit」という。））を用い、各キットの説明書に記載の手順で行った。

### 2.2.2 PCR 法による定性試験

公定法における PCR 法の主な手順は、(1)DNA の抽出精製、(2)DNA の精製度の確認及び定量、(3)植物 DNA 又は動物 DNA の検出用プライマー対を用いた PCR、(4)各特定原材料 DNA の検出用プライマー対を用いた PCR、となっている。

(1)DNA の抽出精製は、PM-kit 及び GT-kit を用い、それぞれ公定法に記載の手順で行った。各キットで、1 試料につき 2 点併行で実施した。

(2)DNA の精製度の確認及び定量は、各 DNA 抽出液について、微量分光光度計 NanoDrop 1000 (Thermo Fisher Scientific) を用いて波長 260 nm の紫外光の吸光度 ( $A_{260}$ ) を測定し、吸光度 1 につき 50 ng/ $\mu$ L として、およその DNA 濃度を算出した。また、波長 280 nm 及び 230 nm の紫外光の吸光度 ( $A_{280}$  及び  $A_{230}$ ) も同時に測定されるため、これらと波長 260 nm の吸光度の比をそれぞれ算出し、精製度を確認した。

(3)植物 DNA 又は動物 DNA の検出用プライマー対を用いた PCR は、抽出精製された DNA が PCR の増幅反応に適したものであるかを確認するために行うもので、検査対象検体の原材料の特性に応じ、植物 DNA 又は動物 DNA のいずれの検出系を行うかを選択するものとされている。今回は、すり身製品 3

表 1 試料名及び特定原材料等の表示

No.	試料名	特定原材料等表示 <sup>※1</sup>	注意喚起表示 <sup>※2</sup>
1	とりごぼうすり身	<u>小麦</u> 、 <u>卵</u> 、大豆、鶏肉、豚肉	無し
2	冷凍揚げちくわ	<u>小麦</u> 、大豆	かに、えび
3	えび入りすり身	<u>えび</u> 、 <u>かに</u> 、 <u>小麦</u> 、 <u>卵</u> 、大豆、豚肉	無し
4	スナック菓子 (コオロギパウダー入り)	<u>小麦</u> 、さば、大豆、豚肉、鶏肉、 (甲殻類の類似成分含有)	卵、乳
5	スナック菓子	<u>小麦</u> 、牛肉、大豆、鶏肉、豚肉	卵、乳、えび、かに
6	揚げせんべい	<u>えび</u> 、いか	乳、小麦

※1 「特定原材料」及び「特定原材料に準ずるもの」の原材料としての使用の表示があるものを記載。下線が特定原材料。

※2 原材料としては使用していないが、共通製造ラインでの使用、原料の餌として使用、その他混入の可能性に係る表示があるものを記載。



試料は動物 DNA の検出を、菓子類製品 3 試料は植物 DNA の検出を、それぞれ試みた。反応試薬は、AmpliAq Gold DNA Polymerase (Applied Biosystems) 及び付属のバッファー、MgCl<sub>2</sub>、dNTP 並びに公定法に記載の塩基配列のプライマー対を用いた。反応液組成及び反応条件については、公定法に記載のとおりとした。DNA 抽出液は、(2)の定量結果を基に、それぞれ 10 ng/μL~50 ng/μL の範囲に収まるように希釈し (原液の DNA 濃度が 10 ng/μL 以下であるものは原液のまま)、PCR に供した。

(4)各特定原材料 DNA の検出用プライマー対を用いた PCR は、特定原材料のえび及びかにについて、(3)と同様、公定法に記載の反応液組成及び反応条件で行った。また、PCR 法でえび DNA が検出されたものについては、公定法に従い制限酵素 HaeIII により処理し、偽陽性の有無を確認した。DNA 抽出液は、(3)と同じものを用いた。

### 3. 結果

#### 3.1 ELISA 法による定量試験

2 種類の ELISA キットによる定量結果を表 2 に示す。甲殻類の使用の表示がある No.3 及び No.6 は、20 μg/g を超えて検出された。No.4 はコオロギパウダーが原材料として使用されており、N-kit で 19.8 μg/g、M-kit で 0.9 μg/g 検出された。No.1 及び No.2 は、甲殻類使用の表示は無いが、2.0 μg/g~3.8 μg/g 検出された。No.5 は、甲殻類の使用の表示が無く、ELISA 法でも検出されなかった。

#### 3.2 PCR 法による定性試験

微量分光光度計による DNA 濃度定量結果を表 2 に示す。

公定法によると、DNA 抽出液は PCR に供する際に原則として 20 ng/μL で調製するとされている。No.2 の PM-kit による DNA 抽出液を除いては、この濃度を上回っていた。

多くの試料で、PM-kit よりも GT-kit の方が抽出液中の DNA 濃度が高かったが、No.1 及び No.6 については、両キットの差がほとんど無かった。

波長 260 nm と 280 nm の紫外光の吸光度比  $A_{260}/A_{280}$  は、公定法では 1.2 ~ 2.5 の範囲にあれば PCR に適した品質であるとされており、全ての DNA 抽出液がこの範囲内であった。

波長 260 nm と 230 nm の紫外光の吸光度比  $A_{260}/A_{230}$  は、公定法では 2.0 を下回った場合は糖やフェノールなどの低分子夾雑物の影響により PCR がうまく行われない可能性があるとしてされている。GT-kit は No.6 を除いておおむね 2.0 に近いが、それ以上の値であった。一方、PM-kit は、すり身製品である No.1 及び No.3 で 2.0 に近い値であったが、No.2、No.4、No.5、No.6 では 2.0 を大きく下回った。

試料 No.1、No.2、No.3 については動物 DNA、試料 No.4、No.5、No.6 については植物 DNA の検出を目的とする PCR を行ったところ、全ての DNA 抽出液で目的位置付近にバンドが検出され、特筆すべき反応阻害は無いと思われた。

表 2 ELISA 法による定量試験及び PCR 法による定性試験結果 (n = 2)

No.	ELISA (μg/g)		抽出 DNA の定量及び精製度						PCR (PM/GT)	
	N-kit	M-kit	PM-kit			GT-kit			えび	かに
			DNA 濃度 (ng/μL)	$A_{260}/A_{280}$	$A_{260}/A_{230}$	DNA 濃度 (ng/μL)	$A_{260}/A_{280}$	$A_{260}/A_{230}$		
1	2.8	3.4	392.9	1.91	1.92	632.6	1.82	1.88	-/-	-/-
			518.6	1.87	1.91	385.4	1.86	1.97	-/+	-/-
2	2.0	3.8	10.6	1.76	1.52	772.2	1.91	2.19	-/+	-/-
			6.2	1.80	0.83	572.2	1.83	1.95	-/-	-/-
3	20<	20<	129.9	1.95	2.05	483.7	1.84	1.91	+/+	-/-
			39.1	1.89	1.74	310.2	1.85	1.74	+/+	-/-
4	19.8	0.9	297.7	1.65	0.60	934.3	2.00	2.56	-/-	-/-
			190.8	1.61	0.63	1054.1	1.96	2.42	-/-	-/-
5	<0.3	<0.3	184.7	1.79	0.78	837.8	1.89	2.38	-/-	-/-
			68.7	1.69	0.86	1059.4	1.87	2.10	-/-	-/-
6	20<	20<	184.3	1.67	0.64	202.0	1.66	0.70	+/+	-/-
			326.5	1.53	0.67	255.2	1.58	0.77	+/+	-/-

えび DNA 及びかに DNA の検出を目的とした PCR に供した結果を表 2 に示す。なお、表 2 のえび PCR の結果については、制限酵素 HaeIII による処理の結果、えび DNA であることが確認されたもののみ「+」と表記した。

えびの使用の表示がある No.3 及び No.6 は、いずれの抽出法でもえび DNA が検出された。一方、えびの使用の表示は無いが、No.1 及び No.2 の GT-kit による抽出液から、えび DNA が検出された。

一方、かに DNA については、使用の表示がある No.3 も含め、全て検出されなかった。

また、ELISA で甲殻類由来たんぱく質が検出されたコオロギパウダーを含む No.4 については、えび DNA 及びかに DNA のいずれも検出されなかった。

#### 4. 考察

微量分光光度計の測定結果によると、全体的には PM-kit より GT-kit の方が抽出液の DNA 濃度が高い傾向にあり、これは田口ら<sup>2)</sup>の報告と一致していた。特に、No.2、No.4、No.5 は製造段階で「揚げ」の工程が含まれると思われ、このような試料は特に両キットの DNA 濃度の差が大きかった。ただし、同じく「揚げ」の工程が含まれると推定される No.6 は、両キット間の差はほとんど無く、この原因は不明である。

No.6 については、両キットとも  $A_{260}/A_{230}$  の値が 2.0 を下回っていたが、PCR を行ってみたところ、両キットともえび DNA を検出することができた。

先述のとおり、GT-kit は、DNA 抽出効率は良いが、自然落下でイオン交換樹脂カラムを通していくことから、事前に 10,000 × g 程度の高速で遠心してその上清を負荷したとしても、試料によっては油分などがあるとカラムに詰まりが生じることがあり、作業効率が著しく低下することがあった。一方、PM-kit は、GT-kit よりも全体としての DNA 濃度は低かったが、遠心でカラムを通していくことから、詰まることはほとんど無かった。

公定法によれば、DNA 抽出液の PCR への適否は、① $A_{260}$  から算出した DNA 濃度、② $A_{260}/A_{280}$ 、 $A_{260}/A_{230}$  の値による夾雑物の影響の可能性、③植物 DNA 又は動物 DNA の PCR による確認、の 3 点により判断することとなる。本稿において選定した試料の中では、すり身製品である No.1 及び No.3 については、いずれの抽出法でも上記①～③を概ね満たしており、これらの試料は、作業効率の観点から PM-kit を選択したほうが良いといえる。一方、「揚げ」の工程が含まれる試料については、GT-kit による抽出が必要と

考えられた。

また、本研究ではコオロギパウダーを含む試料を選定した。ELISA 法では特に N-kit で明らかな反応が確認されたが、PCR 法では交差反応が無かった。食用昆虫を使用した加工食品は、今後多く流通する可能性があるが、先述の結果により、コオロギについては PCR 法による確認検査で正しい判定が可能であることが分かった。

今般、すり身製品及び菓子類製品の計 6 試料を選定して DNA 抽出法を比較したが、実試料となる加工食品は、冒頭に述べたとおり多岐にわたっており、今後も情報収集に努めるとともに、自らも経験を蓄積していきたい。

#### 文 献

- 1) 平成 30 年度食物アレルギーに関連する食品表示に関する調査研究事業報告書，URL: [https://www.caa.go.jp/policies/policy/food\\_labeling/food\\_sanitation/allergy/pdf/food\\_index\\_8\\_190531\\_0002.pdf](https://www.caa.go.jp/policies/policy/food_labeling/food_sanitation/allergy/pdf/food_index_8_190531_0002.pdf), 2022 年 2 月 3 日閲覧
- 2) 田口大夢他: 特定原材料えび・かにの PCR 確認検査法の適用性, 食品衛生学雑誌, **55**(1), 1-12, 2014

## 農産物中の残留農薬検査結果

### —平成 24 年度から令和 2 年度まで—

岩館樹里 福士貴史 田中綾乃 花石竜治 柴田めぐみ<sup>1</sup>  
工藤志保<sup>1</sup> 五日市健夫<sup>2</sup> 工藤 翔<sup>3</sup> 山本明美

平成 24 年度から令和 2 年度までに青森県内で収去された農産物の残留農薬検査結果をとりまとめた。農産物 660 検体について検査を実施した結果、基準値を超えたものは 1 検体だけであった。また、県産農産物における農薬検出率は 34.0 %、輸入農産物における農薬検出率は 60.9 % であり、9 年間で検出された農薬は、55 種類であった。

Key words : Agricultural products, Pesticide residues, Simultaneous determination

#### 1. はじめに

当センターでは、青森県内に流通している食品の安全性を確保するため、主に県産農産物の残留農薬検査を実施している。

平成18年5月に食品中に残留する農薬等にポジティブリスト制度が導入され、残留基準が設定されていなかった農薬についても一律基準（0.01 ppm）が設けられた。

これに伴い、当センターにおいても、ガスクロマトグラフ・質量分析計（以下「GC/MS」という。）2台及び液体クロマトグラフ・質量分析計（以下「LC/MS/MS」という。）1台を使用した一斉分析法による検査を実施した。

平成24年度当所年報<sup>1)</sup>において、平成19年度から平成23年度までに実施した農産物の残留農薬検査について、検出状況等を取りまとめ、報告していたことから、今回、平成24年度から令和2年度までに実施した農産物の残留農薬検査について、検出状況等を取りまとめたので報告する。

#### 2. 方法

##### 2.1 検体

表 1 に示すとおり、平成 24 年 4 月から令和 2

年 3 月までに県内で収去され当センターに搬入された県産農産物 19 品目 568 検体及び輸入農産物 5 品目 92 検体、合計 24 品目 660 検体を対象とした。

##### 2.2 検査対象農薬

検査対象農薬を表 2 に示した。

この中で妥当性が確認され、かつ検査と同時に実施している添加回収試験において回収率が 70 ~120 % であったものを検査報告項目とし表 3 に示した。

平成 26 年度に妥当性評価方法の見直しを実施したため、平成 26 年度以降は報告数が減少している。

##### 2.3 検査方法

###### (1) GC/MS一斉分析法

GC/MSによる農薬等の一斉試験法（農産物）

（平成 17 年 11 月 29 日付け食安発第 1129002 号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知）を一部変更した方法

###### (2) LC/MS/MS一斉分析法

「限外ろ過法を用いたLC/MS/MSによる農産物中の残留農薬一斉分析<sup>2)</sup>」の一部を変更した方法

<sup>1</sup>環境保全課 <sup>2</sup>青森県警察本部

<sup>3</sup>原子力センター

## 2.4 装置及び測定条件

検査で用いた装置及び測定条件を以下に示した。

### (1) GC/MS

装置：①(株)島津製作所 GCMS-QP2010 Ultra

(令和2年度は当該のみを使用)

②(株)島津製作所 GCMS-QP2010

(～令和元年度まで①と同時使用)

カラム：Rtx®-5MS w/Integra-Guard®

(内径 0.25 mm×30 m、膜厚 0.25 μm)

カラム温度：50℃ (1 min)－25℃/min－125℃

－10℃/min－300℃ (15 min)

注入口温度：250℃

インターフェース温度：250℃

注入量：1 μL

### (2) LC/MS/MS

装置：Waters LC ; ACQUITY UPLC I-Class

MS ; Xevo TQ-S micro

カラム：Waters 社製 ACQUITY UPLC®

BEH C18

(内径2.1 mm×100 mm、粒子径1.7 μm)

注入量：3 μL

流量：0.3 ml/min

移動相：A ; 5 mM酢酸アンモニウム溶液

B ; メタノール

## 3. 結果及び考察

### 3.1 農産物別農薬検出状況

#### (1) 県産農産物

農産物別の農薬検出状況を表4に示した。

全検体19品目568検体のうち193検体から農薬が検出された。農薬検出率を農薬検出検体数（農

薬が1種類以上検出された検体）÷総検査検体数×100とすると、全体の検出率は34.0%であった。

農薬検出率が50%を超えた農産物は、果物が多く、りんご92.3%（72検体/78検体）、いちご80.0%（4検体/5検体）、もも66.7%（4検体/6検体）、ピーマン60.0%（12検体/20検体）であった。

基準値を超えたものは、平成30年度に1検体あり、にんじんからアセフェート0.02ppm（基準値0.01ppm（一律基準））が検出された。他はすべて基準値内であり、その検出濃度は基準値を大幅に下回る値であった。

農薬が全く検出されなかった農産物は、アスパラガス（0検体/5検体）、かぼちゃ（0検体/1検体）、とうもろこし（0検体/16検体）、にんにく（0検体/15検体）、ばれいしょ（0検体/34検体）であった。

#### (2) 輸入農産物

農産物別の農薬検出状況を表5に示した。

全検体5品目92検体のうち56検体から農薬が検出され、全体の検出率は60.9%であった。

県産農産物と比較し農薬の検出率は高いが、基準値を超えたものはなかった。

オレンジ（23検体/23検体）、レモン（10検体/10検体）の検出率が100%となっているが、これは、柑橘類にポストハーベストとして使用されている防かび剤のイマザリルやチアベンダゾールがすべての検体から検出されたことによるものである。

キウイからは、農薬は検出されなかった（0検体/12検体）。

表1 検査対象農産物

農産物	検体数								
	平成24年度	平成25年度	平成26年度	平成27年度	平成28年度	平成29年度	平成30年度	令和元年度	令和2年度
1 アスパラガス		5							
2 いちご		5							
3 かぼちゃ								1	
4 キャベツ									5
5 玄米		5	6	6	6	6	6	6	3
6 ごぼう	6	7		5	6	5	5	5	
7 大根	6	6	8	8	8	5	6	5	5
8 とうもろこし						6	5	5	
9 トマト	11	8	9	8		7	7	7	7
10 長いも	6	6	6	6	6	6	6	6	
11 にんじん	6	6	6	6	6	7	7	7	
12 にんにく	7							4	4
13 ねぎ	9	5	10	10	8				
14 ばれいしょ	4	8	8	8					6
15 ピーマン		6	7	7					
16 ほうれんそう	6	6	8	5	5				5
17 メロン						3	3	3	
18 もも						3	3		
19 りんご	12	10	11	10	11	8	8	8	
20 オレンジ（輸入）			3	3	4	4		4	5
21 キウイ（輸入）						6	6		
22 パナナ（輸入）	7	4				5	5	5	5
23 パプリカ（輸入）					8	4		4	
24 レモン（輸入）			3	3	2	1		1	
総数	80	87	85	85	70	76	61	71	45

表 2 検査対象農薬

GC-MS農薬測定項目 237農薬		LC-MS農薬測定項目 54農薬
1 BHC ( $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ )	80 ジフェナミド	159 フェンアミド
2 DDT (DDD, DDEを含む)	81 ジフェノコナゾール	160 フェンシルホチオン
3 EPN	82 シフルトリン	161 フェンチオン
4 EPTC	83 ジフルフェニカ	162 フェントエート
5 XMC	84 シプロコナゾール	163 フェンバレート
6 $\gamma$ -BHC	85 シベルメトリン	164 フェンプロコナゾール
7 アクリナトリン	86 シマジン	165 フェンプロバトリン
8 アザコナゾール	87 ジメタメトリン	166 フェンプロビモルフ
9 アジンホスメチル	88 ジメチビン	167 フサライド
10 アセタミプリド	89 ジメチルビンホス	168 プタクロール
11 アセトクロール	90 ジメテナミド	169 プタミホス
12 アセフェート	91 ジメトエート	170 プチレート
13 アトラジン	92 シメトリン	171 プリリメート
14 アニロホス	93 ジメビバレート	172 ププロフェジン
15 アメトリン	94 シラフルオフェン	173 フラムブロップメチル
16 アラクロール	95 スピロキサミン	174 フルアクリプリム
17 アルドリ	96 スピロジクロフェン	175 フルキンコナゾール
18 アレスリン	97 ゴキサミド	176 フルジオキシニル
19 イサゾホス	98 ターバシル	177 フルシトリネート
20 イソキサチオン	99 ダイアジン	178 フルシラゾール
21 イソフェンホス	100 チオベンカルブ	179 フルチアセットメチル
22 イソプロカルブ	101 チオメト	180 フルトラニル
23 イソプロチオラン	102 チフルザミド	181 フルトリアホール
24 イブロジオン	103 テクナゼン	182 フルバリネート
25 イプロベンホス	104 テトラクロロルビンホス	183 フルミオキサジン
26 イマザメタベンズメチルエステル	105 テトラジホ	184 フルミクロラックベンチル
27 イミベンコナゾール	106 テニルクロール	185 フルリドン
28 ウニコナゾール P	107 テブコナゾール	186 プレチラクロール
29 エスプロカルブ	108 テブフェンピラド	187 プロシミドン
30 エタルフルラリン	109 テフルトリン	188 プロチオホス
31 エチオフェンカルブ	110 デメトシ-S-メチル	189 プロバクロー
32 エチオン	111 デルタメトリン及びトラロメトリン	190 プロバジン
33 エディフェンホス	112 テルブトリン	191 プロバニル
34 エトキサゾール	113 テルブホス	192 プロバルギット
35 エトフェンブックス	114 トリアジメノール	193 プロビコナゾール
36 エトフェメート	115 トリアジメホ	194 プロビザミド
37 エトプロホス	116 トリアゾホス	195 プロヒドロジヤクモ
38 エンドスルファン	117 トリアレート	196 プロフェノホス
39 エンドリン	118 トリシクラゾール	197 プロボキスル
40 オキサジアジン	119 トリブホス	198 プロマシル
41 オキサジキシル	120 トリフルラリン	199 プロメトリン
42 オキシフルオルフェン	121 トリプロキシストロビン	200 プロモブチド
43 オリザリン	122 トルクロホスメチル	201 プロモプロビレート
44 カズサホス	123 トルフェンピラド	202 プロモホス
45 カフェンストロール	124 ナプロバミド	203 ヘキサクロロベンゼン
46 カブタホール	125 ニトロータールイソプロビ	204 ヘキサコナゾール
47 カルバリル	126 ノルフルラゾン	205 ヘキサジノン
48 カルフェントラゾンエチル	127 バクプロトラゾール	206 ペナラキシル
49 カルボキシ	128 パラチオン	207 ペノキサコール
50 カルボフラン	129 パラチオンメチル	208 ヘプタクロ
51 キナルホス	130 ハルフェンブックス	209 ペルメトリン
52 キノキシフェン	131 ビコリナフェン	210 ベンコナゾール
53 キノクラミン	132 ビテルタノール	211 ベンダイオカルブ
54 キノメチオナート	133 ビフェノックス	212 ベンディメタリン
55 キャプタン	134 ビフェントリン	213 ベンフルラリン
56 キントゼン	135 ビペロホス	214 ベンフレセート
57 クレソキシムメチル	136 ビラクロホス	215 ホサロン
58 クロマゾン	137 ビラゾホス	216 ホスチアゼート
59 クロルタールジメチル	138 ビラフルフェンエチル	217 ホスファミドン
60 クロルデン	139 ビリダフェンチオン	218 ホスメット
61 クロルビリホス	140 ビリダベン	219 ホレート
62 クロルビリホスメチル	141 ビリフェノックス	220 マラチオン
63 クロルフェナビル	142 ビリブチカルブ	221 ミクロブタニル
64 クロルフェンビンホス	143 ビリプロキシフェン	222 メタミドホス
65 クロルプロファム	144 ビリミカーブ	223 メタラキシル及びメフェノキサム
66 クロルプロファム	145 ビリミジフェン	224 メチオカルブ
67 クロロベンジレート	146 ビリミノバクメチル	225 メチダチオン
68 シアナジン	147 ビリミホスメチル	226 メトキシクロール
69 シアノホス	148 ビリメタニル	227 メトブレン
70 ジエトフェンカルブ	149 ビロキロン	228 メトミノストロビン
71 ジクロシメット	150 ピンクロゾリン	229 メトラクロール
72 ジクロフェンチオン	151 フィプロニル	230 メビンホス
73 ジクロフルアニド	152 フェナミホス	231 メフェナセット
74 ジクロホップメチル	153 フェナリモル	232 メフェンビルジエチル
75 ジクロラン	154 フェントロチオン	233 メプロニル
76 ジクロルボス及びナレド	155 フェノキサニル	234 モノクロトホス
77 ジコホール	156 フェノチオカルブ	235 レナシル
78 シハロトリン	157 フェントリン	236 オルトフェニルフェノール
79 シハロホップチル	158 フェノブカルブ	237 ジフェニル
		1 XMC
		2 アザメチホス
		3 アジンホスメチル
		4 アセフェート
		5 アゾキシストロビン
		6 アニロホス
		7 アラニカルブ
		8 アルジカルブ及びアルドキシカルブ
		9 イソキサフルトール
		10 イソプロカルブ
		11 イプロバリカルブ
		12 イマザリル
		13 イミダクロプリド
		14 インドキサカルブ
		15 エスプロカルブ
		16 エチオフェンカルブ
		17 オキサミル
		18 オリザリン
		19 カルバリル
		20 カルボスルファン
		21 カルボフラン
		22 クロキントセットメキシル
		23 クロチアニジン
		24 クロマフェノジド
		25 クロリダゾン
		26 クロルプロファム
		27 シアゾファミド
		28 ジクロルボス及びナレド
		29 シフルフェナミド
		30 シプロジニル
		31 シメコナゾール
		32 ジメチリモール
		33 チアクロプリド
		34 チアベンダゾール
		35 チアメトキサム
		36 チオジカルブ及びメソミル
		37 チオベンカルブ
		38 デスメディファム
		39 テフルペンズロン
		40 ナプロアニリド
		41 ビラソリネート
		42 ビリフタリド
		43 ビリブチカルブ
		44 フェノキシカルブ
		45 フェノブカルブ
		46 フェリムゾン
		47 プタフェナシル
		48 フラチオカルブ
		49 ベンゾフェナップ
		50 ベンフラカルブ
		51 メタミドホス
		52 メトキシフェノジド
		53 モリネート
		54 オルトフェニルフェノール

表 3 検査報告項目数

農産物	検査項目数									
	平成24年度	平成25年度	平成26年度	平成27年度	平成28年度	平成29年度	平成30年度	令和元年度	令和2年度	
1 アスパラガス		244								
2 いちご		244								
3 かぼちゃ								188		
4 キャベツ										77
5 玄米		233	135	129	109	108	113	114	122	
6 ごぼう	252	218		158	144	137	137	151		
7 大根	239	233	164	173	151	154	157	141	74	
8 とうもろこし						115	153	146		
9 トマト	259	246	202	201		179	185	151	91	
10 長いも	238	237	121	128	122	117		129		
11 にんじん	233	238	167	162	146	159	142	144		
12 にんにく	233							70	61	
13 ねぎ	244	218	147	136	146					
14 ばれいしょ	252	230	155	149						60
15 ピーマン		249	165	171						
16 ほうれんそう	229	197	146	173	190					160
17 メロン						160	155	121		
18 もも						162	156			
19 りんご	247	225	167	173	152	156	172	169		
20 オレンジ (輸入)			122	152	137	89		145	134	
21 キウイ (輸入)						180	169			
22 パナナ (輸入)	252	237				153	104	152	145	
23 パプリカ (輸入)					169	152		140		
24 レモン (輸入)			132	170	164	111		161		
平均	243	232	152	160	148	142	149	141	103	

表 4 県産農産物における農薬検出状況

No.	農産物	分析 件数	検出 検体数	検出率 (%)	検出農薬
1	アスパラガス	5	0	0.0	
2	いちご	5	4	80.0	アセタミプリド、アゾキシストロビン、エトキサゾール、テブフェンピラド、プロシミドン、 マイクロブタニル
3	かぼちゃ	1	0	0.0	
4	キャベツ	5	1	20.0	エトフェンブロックス
5	玄米	44	19	43.2	エトフェンブロックス、クロチアニジン、シベルメトリン、トリシクラゾール、 トルフェンピラド、フェリムゾン、フサライド、フルトラニル、プロモブチド
6	ごぼう	39	1	2.6	プロチオホス
7	大根	57	13	22.8	アセフェート、オキサミル、クロルピリホス、シベルメトリン、トルフェンピラド、 ホスチアゼート
8	とうもろこし	16	0	0.0	
9	トマト	64	29	45.3	アセタミプリド、アセフェート、アゾキシストロビン、イミダクロプリド、クロチアニジン、 クロルフェナビル、シアゾファミド、ジエトフェンカルブ、ジフェノコナゾール、 チアクロプリド、トルフェンピラド、フルジオキシニル、ベルメトリン、メタミドホス
10	長いも	42	3	7.1	アセフェート、イミダクロプリド、メタミドホス
11	にんじん	51	4	7.8	アセフェート※、エトフェンブロックス、シベルメトリン、フェニトロチオン
12	にんにく	15	0	0.0	
13	ねぎ	42	19	45.2	アセタミプリド、アゾキシストロビン、エトフェンブロックス、クレソキシムメチル、 シベルメトリン、トルフェンピラド、フルジオキシニル、ベルメトリン
14	ばれいしょ	34	0	0.0	
15	ピーマン	20	12	60.0	アセタミプリド、アセフェート、アゾキシストロビン、イミダクロプリド、 エトフェンブロックス、チオジカルブ及びメソミル、トルフェンピラド、プロシミドン、 ベルメトリン、メタミドホス、メトキシフェノジド
16	ほうれんそう	35	8	22.9	イミダクロプリド、クロチアニジン、シアゾファミド、シベルメトリン、ダイアジノン、 チアメトキサム、ベルメトリン、ベンゾフェナップ
17	メロン	9	4	44.4	アセフェート、クロチアニジン、チアクロプリド、メタミドホス
18	もも	6	4	66.7	アセタミプリド、クレソキシムメチル、クロチアニジン、フェンブコナゾール
19	りんご	78	72	92.3	アセタミプリド、キャブタン、クロルピリホス、シハロトリン、シフルトリン、シブロジニル、 シベルメトリン、チアクロプリド、トリフロキシストロビン、フェニトロチオン、 フェンプロパトリン、プロバルギット
	総数	568	193	34.0	

※：基準値超過項目

表 5 輸入農産物における農薬検出状況

No.	農産物	分析 件数	検出 検体数	検出率 (%)	検出農薬
1	オレンジ	23	23	100.0	イマザリル、カルバリル、クロルピリホス、チアベンダゾール、プロプロフェジン
2	キウイ	12	0	0.0	
3	バナナ	31	19	61.3	アゾキシストロビン、イマザリル、クロチアニジン、クロルピリホス、チアベンダゾール、 チアメトキサム、ピフェントリン
4	パプリカ	16	4	25.0	アクリナトリン、クロチアニジン、クロルフェナビル、チアクロプリド、チアメトキサム、 ピリダベン、ピリプロキシフェン
5	レモン	10	10	100.0	アゾキシストロビン、イマザリル、イミダクロプリド、オルトフェニルフェノール、 クロルピリホス、シベルメトリン、チアベンダゾール、ピリプロキシフェン、ピリメタニル、 フェンプロバトリン、マラチオン
	総数	92	56	60.9	

3.2 農薬別の検出件数

平成24年度から令和2年度の9年間に検出された農薬を表6に示した。

9年間で検出された農薬は、55種類であった。

また、同一検体から複数の農薬が検出された検体もあり、延べ検出検体数は448検体であった。

表 6 平成24年度～令和2年度検出農薬一覧

No.	検出農薬項目	延べ検出 検体数	検出農産物 (件数)
1	シベルメトリン	61	玄米(1) 大根(1) にんじん(1) ねぎ(4) ほうれんそう(1) りんご(52) レモン(1)
2	イマザリル	33	オレンジ(23) バナナ(1) レモン(9)
3	チアベンダゾール	33	オレンジ(23) バナナ(1) レモン(9)
4	アゾキシストロビン	31	いちご(1) トマト(10) ねぎ(7) ビーマン(2) バナナ(4) レモン(7)
5	アセタミプリド	30	いちご(2) トマト(5) ねぎ(1) ビーマン(1) もも(2) りんご(19)
6	クロルピリホス	25	大根(1) りんご(6) オレンジ(3) バナナ(14) レモン(1)
7	トリプロキシストロビン	25	りんご(25)
8	トルフェンピラド	20	玄米(1) 大根(5) トマト(4) ねぎ(9) ビーマン(1)
9	クロチアニジン	16	玄米(2) トマト(2) ほうれんそう(3) メロン(3) もも(3) バナナ(1) パプリカ(2)
10	イミダクロプリド	13	トマト(5) 長いも(1) ビーマン(4) ほうれんそう(1) レモン(2)
11	トリシクラゾール	10	玄米(10)
12	アセフェート	9	大根(1) トマト(2) 長いも(3) にんじん(1) ビーマン(1) メロン(1)
13	キャブタン	8	りんご(8)
14	チアクロプリド	8	トマト(1) メロン(2) りんご(4) パプリカ(1)
15	ベルメトリン	8	トマト(3) ねぎ(2) ビーマン(2) ほうれんそう(1)
16	メタミドホス	7	トマト(2) 長いも(3) ビーマン(1) メロン(1)
17	シハロトリン	6	りんご(6)
18	シフルトリン	6	りんご(6)
19	フェリムゾン	6	玄米(6)
20	フェンプロバトリン	6	りんご(5) レモン(1)
21	エトフェンブロックス	5	キャベツ(1) 玄米(1) にんじん(1) ねぎ(1) ビーマン(1)
22	クレゾキシムメチル	5	ねぎ(2) もも(3)
23	フェニトロチオン	5	にんじん(1) りんご(4)
24	プロバルギット	5	りんご(5)
25	クロルフェナビル	4	トマト(2) パプリカ(2)
26	シアゾファミド	4	トマト(1) ほうれんそう(3)
27	チアメトキサム	4	ほうれんそう(2) バナナ(1) パプリカ(1)
28	ピフェントリン	4	バナナ(4)
29	ピリプロキシフェン	4	パプリカ(2) レモン(2)
30	フサライド	4	玄米(4)
31	プロモブチド	4	玄米(4)
32	オキサミル	3	大根(3)
33	オルトフェニルフェノール	3	レモン(3)
34	ジエトフェンカルブ	3	トマト(3)
35	ピリダベン	3	パプリカ(3)
36	フルジオキシニル	3	トマト(2) ねぎ(1)
37	プロシミドン	3	いちご(1) ビーマン(2)
38	アクリナトリン	2	パプリカ(2)
39	ホスチアゼート	2	大根(2)
40	ミクロブタニル	2	いちご(2)
41	エトキサゾール	1	いちご(1)
42	カルバリル	1	オレンジ(1)
43	ジフェノコナゾール	1	トマト(1)
44	シプロジニル	1	りんご(1)
45	ダイアジノン	1	ほうれんそう(1)
46	チオジカルブ及びメソミル	1	ビーマン(1)
47	テブフェンピラド	1	いちご(1)
48	ピリメタニル	1	レモン(1)
49	フェンプロコナゾール	1	もも(1)
50	プロプロフェジン	1	オレンジ(1)
51	フルトラニル	1	玄米(1)
52	プロチオホス	1	ごぼう(1)
53	ベンゾフェナップ	1	ほうれんそう(1)
54	マラチオン	1	レモン(1)
55	メトキシフェノジド	1	ビーマン(1)
	総数	448	

最も検出頻度が高い農薬はシペルメトリンで 7 種類の農産物 61 検体から検出された。61 検体のうち 52 検体はりんごであった。

次に検出頻度が高いのは、イマザリル 33 検体、チアベンダゾール 33 検体、アゾキシストロビン 31 検体、アセタミプリド 30 検体であった。

これらの検出濃度は、各農産物における基準値を大幅に下回っており、適正な農薬使用であると推定された。(表 7)

表 7 検出頻度が高い農薬の検出濃度範囲

農薬名	農産物	検出濃度範囲 (ppm)	基準値 (ppm)
シペルメトリン	玄米	0.01	0.05
	大根	0.01	0.05
	にんじん	0.01	0.05
	ねぎ	0.01-0.02	5.0
	ほうれんそう	0.03-0.13	2.0
	りんご	0.01-0.07	2.0
	レモン	0.01	2.0
イマザリル	オレンジ	0.01-1.24	5.0
	バナナ	0.11	2.0
	レモン	0.01-1.41	5.0
チアベンダゾール	オレンジ	0.19-1.63	10
	バナナ	0.05	3
	レモン	0.14-1.60	10
アゾキシストロビン	いちご	0.59	10
	トマト	0.01-0.092	3
	ねぎ	0.02-0.176	10
	ピーマン	0.01-0.08	3
	バナナ	0.019-0.19	3
	レモン	0.01-0.88	10
アセタミプリド	いちご	0.20-0.57	3
	トマト	0.04-0.06	2
	ねぎ	0.02	5
	ピーマン	0.01	1
	もも	0.04-0.17	2
	りんご	0.01-0.17	2

国内で農薬登録のないメタミドホスが、トマト、長いも、ピーマン、メロンの 7 検体から検出されていたが、これらの検体からはアセフェートも検出されていたことから、アセフェートが代謝されメタミドホスが生じ検出されたものと考えられた。

### 3.3 残留基準超過事例

平成 24 年度から令和 2 年度の 9 年間で基準を超過したのは、アセフェートが検出されたにんじん 1 検体のみであった。

にんじんのアセフェート基準値 0.01 ppm (一律基準) に対し、0.02 ppm が検出された。

保健衛生課で調査したところ、生産者は数種類の野菜を生産しており、にんじんから 30cm 離れ

た所にあるナスにオルトラン顆粒を蒔いていたことが原因であった。

### 3.4 検出農薬の推定一日摂取量と ADI との比較

農産物から検出された農薬について、ヒトに対する影響を考慮するため、最も高濃度で検出された農産物についてその最大検出濃度から一日摂取量を推定し、ADI (許容一日摂取量) と比較した。9 年間に検出された 55 種類の農薬の最大検出濃度 ( $\mu\text{g/g}$ ) にその農産物の一日摂取量 ( $\text{g/日}$ ) を乗じたものを推定一日摂取量とし ( $\mu\text{g/日}$ )、体重 50 kg のヒトにおける各農薬の ADI に対する割合を算出した結果を表 8 に示した。

各農産物の一日摂取量は、令和元年度国民健康・栄養調査の食品群別栄養素等摂取量 ( $\text{g/日}$ ) に従った。ADI は日本又は JMPR (FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議) の値<sup>3)</sup>を使用した。

ADI に対する割合が最も高かったのは、アセフェートの 10.66% であったが、今回検出されたすべての農薬について、毎日摂取したとしても健康上問題となるレベルではないと考えられる。

## 4. まとめ

平成 24 年度から令和 2 年度までの 9 年間に青森県内で収去された農産物の残留農薬検査結果は以下のとおりであった。

- 1) 農薬検出率は、県産農産物が 34.0 %、輸入農産物が 60.9 %であった。基準値を超過したものは、アセフェートが検出されたにんじん 1 検体だけであり、他はすべて基準値内であった。
- 2) 検出された農薬は 55 種類であり、最も検出頻度の高い農薬はシペルメトリンであった。

## 文 献

- 1) 工藤志保他：農産物中の残留農薬検査結果—平成 19 年度から平成 23 年度まで—。青森県環境保健センター年報, **23**, 36-42, 2012
- 2) 畠山えり子他：限外ろ過法を用いた LC/MS/MS による農産物中の残留農薬一斉分析。食品衛生学雑誌, **47**, 137-145, 2006
- 3) 国立医薬品食品衛生研究所「農薬等 ADI 関連情報データベース」: [http://www.nihs.go.jp/hse/food-info/pest\\_res/index.html](http://www.nihs.go.jp/hse/food-info/pest_res/index.html)



表 8 検出農薬の推定一日摂取量と ADI との比較

No.	検出農薬項目	検出農産物	最大検出濃度 ( $\mu\text{g/g}$ )	推定一日摂取量 ( $\mu\text{g/日}$ )	ADI ( $\text{mg}/50\text{kg/日}$ )	対ADI比 (%)
1	シベルメトリン	ほうれんそう	0.13	1.170	1.10	0.11
2	イマザリル	レモン	1.41	27.495	1.25	2.20
3	チアベンダゾール	オレンジ	1.63	31.785	5.00	0.64
4	アゾキシストロビン	レモン	0.88	17.160	9.00	0.19
5	アセタミプリド	いちご	0.57	0.171	3.55	0.00
6	クロルピリホス	レモン	0.22	4.290	0.05	8.58
7	トリフロキシストロビン	りんご	0.08	1.416	2.50	0.06
8	トルフェンピラド	ねぎ	0.31	14.229	0.28	5.08
9	クロチアニジン	ほうれんそう	0.53	4.770	4.85	0.10
10	イミダクロプリド	ピーマン	0.06	0.282	2.85	0.01
11	トリシクラゾール	玄米	0.12	35.640	2.50	1.43
12	アセフェート	メロン	0.39	12.792	0.12	10.66
13	キャプタン	りんご	0.12	2.124	5.00	0.04
14	チアクロプリド	りんご	0.02	0.354	0.60	0.06
15	ペルメトリン	ピーマン	0.10	0.470	2.40	0.02
16	メタミドホス	トマト	0.031	0.502	0.03	1.79
17	シハロトリン	りんご	0.03	0.531	0.43	0.12
18	シフルトリン	りんご	0.02	0.354	1.00	0.04
19	フェリムゾン	玄米	0.16	47.520	0.95	5.00
20	フェンプロパトリン	りんご	0.12	2.124	1.30	0.16
21	エトフェンプロックス	ねぎ	0.27	12.393	1.55	0.80
22	クレソキシムメチル	ねぎ	0.03	1.377	18.00	0.01
23	フェニトロチオン	りんご	0.02	0.354	0.25	0.14
24	プロバルギット	りんご	0.16	2.832	0.49	0.58
25	クロルフェナピル	パプリカ	0.13	0.611	1.30	0.05
26	シアゾファミド	ほうれんそう	1.00	9.000	8.50	0.11
27	チアメトキサム	ほうれんそう	0.21	1.890	0.90	0.21
28	ビフェントリン	バナナ	0.01	0.161	0.50	0.03
29	ピリプロキシフェン	パプリカ	0.04	0.188	5.00	0.00
30	フサライド	玄米	0.02	5.940	—	—
31	プロモブチド	玄米	0.03	8.910	2.00	0.45
32	オキサミル	大根	0.01	0.257	1.00	0.03
33	オルトフェニルフェノール	レモン	0.03	0.585	20.00	0.00
34	ジエトフェンカルブ	トマト	0.01	0.162	21.00	0.00
35	ピリダベン	パプリカ	0.26	1.222	0.25	0.49
36	フルジオキサニル	トマト	0.08	1.296	16.50	0.01
37	プロシミドン	いちご	0.03	0.009	1.75	0.00
38	アクリナトリン	パプリカ	0.02	0.094	0.80	0.01
39	ホスチアゼート	大根	0.02	0.514	0.05	1.03
40	ミクロブタニル	いちご	0.06	0.018	1.20	0.00
41	エトキサゾール	いちご	0.02	0.006	2.00	0.00
42	カルバリル	オレンジ	0.02	0.390	0.38	0.10
43	ジフェノコナゾール	トマト	0.02	0.324	0.48	0.07
44	シプロジニル	りんご	0.01	0.177	1.35	0.01
45	ダイアジノン	ほうれんそう	0.01	0.090	0.05	0.18
46	チオジカルブ及びメソミル	ピーマン	0.27	1.269	1.40	0.09
47	テブフェンピラド	いちご	0.05	0.015	0.11	0.01
48	ピリメタニル	レモン	0.67	13.065	8.50	0.15
49	フェンブコナゾール	もも	0.01	0.328	1.50	0.02
50	ブプロフェジン	オレンジ	0.04	0.780	0.45	0.17
51	フルトラニル	玄米	0.01	2.970	4.35	0.07
52	プロチオホス	ごぼう	0.03	1.377	0.08	1.84
53	ベンゾフェナップ	ほうれんそう	0.008	0.072	0.10	0.07
54	マラチオン	レモン	0.01	0.195	14.50	0.00
55	メトキシフェノジド	ピーマン	0.01	0.047	4.90	0.00

— : ADI値が不明であるため、算出していない。

## ペルオキシ二硫酸塩を用いた地下水質中の 1,4-ジオキサンの浄化実験

花石竜治 菅尾聡也

地下水質中の 1,4-ジオキサン浄化方法を室内実験で検討した。反応系として、水酸化アルカリの塩基性条件下でペルオキシ二硫酸塩(過硫酸塩)を用いる方法を選び、塩基の種類、濃度での反応速度を比較した。その結果、5%またはそれ以下の濃度のペルオキシ二硫酸ナトリウム、および水酸化カルシウム懸濁液あるいは pH 12 以上で水酸化ナトリウムを含む薬剤を、検水に対して 1 割の比で混合した場合に、1,4-ジオキサンの半減期は 1 から 2 日であった。また、水酸化ナトリウムを用いた場合には、反応系に含まれる懸濁物の量が少なかった。以上の検討結果から、設定した薬剤の条件で、1,4-ジオキサンの浄化が可能であることが示された。

Key words: 1,4-Dioxane, Peroxodisulfate, Basic condition, Groundwater, Waste water treatment

### 1. はじめに

1,4-ジオキサンは、分子構造を図 1(a) に示す環状エーテルで、融点 12 °C、沸点 101 °C<sup>1)</sup> であり、有機化合物はもちろん、ある種の無機化合物も溶解する非プロトン性溶媒である。この物質は、エチレングリコールの脱水縮合で得られ、合成化学上、便利な性質から、かつて化学工業の溶媒として多用された。また、他の酸素官能基を含む有機化合物の合成における副生成物でもある。しかし、これは有害物質であり、ラットの経口急性毒性として LD<sub>50</sub> が 4200 mg/kg とされている<sup>2)</sup>。

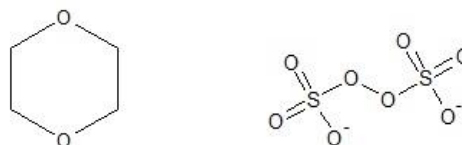
この 1,4-ジオキサンは、青森・岩手県境の不法投棄現場の地下水から検出されており<sup>3)</sup>、この現場を原状回復させるためには、1,4-ジオキサンの浄化が大きな課題となっている。

一般に、水質中の揮発性有機化合物の浄化方法として、物理的あるいは化学的な処理が主に研究されている<sup>4)</sup>。しかし、1,4-ジオキサンの場合、水との親和性が極めて強く、水-空気の気液分配系で気相への移行が少なく、ばっ気(バブリング)などの方法が有用でない。また有効な吸着剤などもないという難点がある。

このような状況で、近年、1,4-ジオキサンの浄化方法として、酸化分解による化学的除去方法が検討されるようになった。その方法は、ペルオキシ二硫酸塩(過硫酸塩)を用いるものである<sup>5)</sup>。

岩手県は、青森・岩手県境の不法投棄現場において、この酸化剤と石灰乳を用いた浄化を実施してきた<sup>6)</sup>。今回、当所では、当該方法を青森県現場

に適用可能かどうか確認するために、室内における 1,4-ジオキサンの分解実験を行ったので、その結果について報告する。

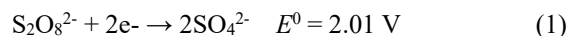


(a) 1,4-ジオキサン (b) ペルオキシ二硫酸イオン  
図 1 関係する化学種の分子構造。

### 2. ペルオキシ二硫酸塩による 1,4-ジオキサンの分解の有機化学的機構

#### 2.1 熱力学的な反応駆動力<sup>5),7)</sup>

ペルオキシ二硫酸イオン S<sub>2</sub>O<sub>8</sub><sup>2-</sup> の酸化反応の半反応式は(1)式で与えられる。その高い標準酸化還元電位は、オゾンや過酸化水素、過マンガン酸イオンの酸化反応と同程度であり、強力な酸化力を呈する。

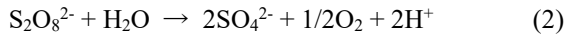


#### 2.2 酸化反応活性種の生成機構

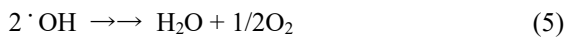
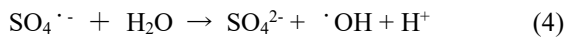
ペルオキシ二硫酸イオンは、図 1(b) のとおり、1 分子あたり 2 個の硫黄原子を含むオキソアニオンである。これによる水溶液中の酸化反応機構は、pH に依存してラジカル種を含み、複雑とされている。

(1) 酸性から弱アルカリ性条件下の水溶液中でのペルオキシ二硫酸イオンの分解反応機構<sup>8)</sup>

水溶液中の酸性条件から中性、弱アルカリ性条件(pH>0.3)では、2電子酸化の反応(2)式により水を酸化して酸素を与える。



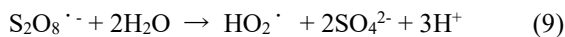
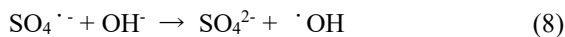
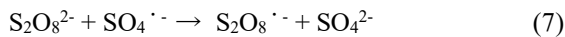
反応(2)において、ペルオキシ二硫酸イオンの分解は、まず O-O 結合の均等開裂によりラジカルアニオンである硫酸ラジカル  $\text{SO}_4^{\cdot-}$  を生成する(3)。これが水と反応してヒドロキシルラジカル  $\cdot\text{OH}$  を与え(4)、続いて、ヒドロキシルラジカルが不均化反応をして酸素を与える(5)が、この反応は、多くの素反応の結果とされている。



式(3)(4)で生成した硫酸ラジカルとヒドロキシルラジカルは、前駆体のペルオキシ二硫酸イオンと反応する可能性も示唆されており、反応機構は複雑とされている。

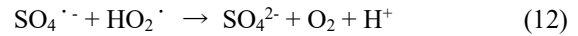
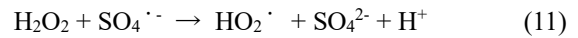
pH>3 におけるペルオキシ二硫酸イオンの加水分解で生成した硫酸ラジカルは、一部分が、逆反応(6)でペルオキシ二硫酸イオンに戻る。このほかには、硫酸ラジカルはペルオキシ二硫酸イオンから電子を引き抜き、ペルオキシ二硫酸ラジカル  $\text{S}_2\text{O}_8^{\cdot-}$  を生成する(7)。あるいは水からヒドロキシルラジカルを生成する(4)。

弱アルカリ性(pH<13)では、反応式(8)のとおり、硫酸ラジカルが水酸化物イオンを酸化して、ヒドロキシルラジカルを生成させる。ペルオキシ二硫酸ラジカル  $\text{S}_2\text{O}_8^{\cdot-}$  は、水と反応してヒドロペルオキシラジカル  $\text{HO}_2^{\cdot}$  を与える(9)。

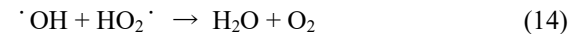


ヒドロキシルラジカルは、再結合して過酸化水素を与える(10)。過酸化水素はさらに、硫酸ラジカルと反応し、ヒドロペルオキシラジカルと酸素を与え(11)、ヒドロペルオキシラジカルは硫酸

ラジカルと反応し、酸素、水素イオンおよび硫酸イオンを生成する(12)。



過酸化水素はまた、ヒドロキシルラジカルおよびヒドロペルオキシラジカルを經由して、(13)(14)式により、酸素へ段階的に酸化される。



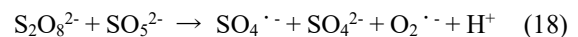
以上のとおり、酸性から弱アルカリ性の条件下でのペルオキシ二硫酸イオンの加水分解は、複雑なラジカル連鎖反応とされている。

(2) 強アルカリ条件下の水溶液中でのペルオキシ二硫酸イオンの分解反応機構<sup>8), 9), 10)</sup>

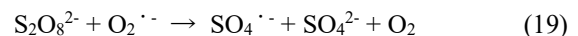
この条件では、ペルオキシ二硫酸イオンは、塩基触媒加水分解(Base-catalyzed hydrolysis)を起こすことが知られている。その反応では、ペルオキシ二硫酸イオンからペルオキソ一硫酸イオン  $\text{SO}_5^{2-}$  を生じる(15)。ペルオキソ一硫酸イオン  $\text{SO}_5^{2-}$  は、硫酸イオンと酸素に分解される(16)。



ペルオキソ一硫酸イオン  $\text{SO}_5^{2-}$  は、過酸化水素の共役塩基であるヒドロペルオキシドアニオン  $\text{HO}_2^{\cdot}$  を与え(17)、また、ペルオキシ二硫酸イオンと反応し、硫酸ラジカルおよびスーパーオキシドアニオン  $\text{O}_2^{\cdot-}$  を与えると推定されている(18)。



生成した硫酸ラジカルは、(4)式以降と同様に、ラジカル連鎖反応する。スーパーオキシドアニオンは、ペルオキシ二硫酸イオンと反応して、また硫酸ラジカルを生成する(19)。



強アルカリ性条件においても、ペルオキシ二硫酸イオンの加水分解は、ラジカル連鎖反応であり、その中心的役割をするラジカル活性種は、硫酸ラジカルとヒドロキシルラジカルであると考えられている。

### (3) 強アルカリ条件の水溶液中において有機物を分解する化学種<sup>11)</sup>

Furman et al. は、ラジカル捕捉剤 (Radical scavenger) を使用して、アルカリ性条件でのラジカル活性種の推定を行った。捕捉剤として、硫酸ラジカルおよびヒドロキシルラジカルを捕捉するアニソール、ヒドロキシルラジカルのみを捕捉するニトロベンゼンなどを用いた。

pH を段階的に変えてこれらの捕捉剤の損失率の経時変化を測定した結果、pH>11 の高いときに、損失率が著しく高かった。

次に、pH 12 として、アニソールをプローブとし、これとは別のラジカル捕捉剤を共存させ、アニソールの損失率を測定した。捕捉剤なしの条件で 30 分後の損失率が 99 % 以上であったが、ヒドロキシルラジカルのみを捕捉する *tert*-ブチルアルコールが共存した場合、およびヒドロキシルラジカルと硫酸ラジカルの両方を捕捉する 2-プロパノールが共存した場合には、損失率はそれぞれ 8 %、12 % であった。この実験結果から、塩基により活性化されたペルオキシ二硫酸イオンの系においては、ヒドロキシルラジカルが酸化反応の主な役割を果たすことが示されている。なお、この実験をニトロベンゼンについても行い、同様の結論を得ている。

ヒドロキシルラジカルは、硫酸ラジカルと水酸化物イオンの反応(8)により生成するとされている。

硫酸ラジカルの酸化力は比較的弱いが、ヒドロキシルラジカルは有機化合物を非選択的に酸化するとされている。また、強アルカリ条件下において、塩基濃度のペルオキシ二硫酸イオン濃度に対する比が大きい場合に、ニトロベンゼンに対する酸化活性が高いことを指摘している。

以上から、Furman et al. は、強アルカリ性条件下でペルオキシ二硫酸イオンは、その濃度に対する塩基濃度の比が高いほど活性が高いと結論した。

## 2.3 水質中の 1,4-ジオキサンの分解に関する先行研究

### (1) 有機物の酸化反応<sup>8), 12)</sup>

水溶液中でペルオキシ二硫酸イオンから生じるラジカル活性種のうち、標準酸化還元電位が高く、有機物の酸化反応活性が高いのは硫酸ラジカルとヒドロキシルラジカルである。ヒドロキシルラジカルは、電子移動反応、水素引き抜き反応、およびラジカル付加反応を引き起こす。一方、硫酸ラジカルでよく見られるのは電子移動反応であり、反応速度も硫酸ラジカルのほうが小さい。

ヒドロキシルラジカルの反応速度は、特に反応性が比較的低いと考えられる脂肪族化合物において、硫酸ラジカルと比較して大きいと報告されている。

### (2) 1,4-ジオキサンの酸化反応<sup>5)</sup>

Felix-Navarro et al. は pH 3~11 の条件下で、ペルオキシ二硫酸イオンを大過剰として、その初期濃度および温度を変えて、1,4-ジオキサンの酸化分解速度を擬一次反応速度として求め、その結果、pH 11 で最も反応速度が小さいとの結果を得ている。

この研究は、本研究が意図した強アルカリ条件 (pH $\geq$ 12) の範囲には該当しない。

彼女らの実験で、ペルオキシ二硫酸イオンの初期濃度は 0.025 mol/L である。ペルオキシ二硫酸イオンの加水分解では、水素イオンを 2 当量生成する<sup>11)</sup>。一方、pH 11 は、[OH<sup>-</sup>]=0.001 mol/L に相当するため、ペルオキシ二硫酸イオンが与える水素イオンを中和しきれず、反応系の pH を保持できない条件である。

よって、彼女らの報告は、強アルカリ性条件の検討をしたものではないが、ペルオキシ二硫酸イオンによる 1,4-ジオキサンの分解反応が、ペルオキシ二硫酸イオンの濃度が大過剰の場合、擬一次反応速度式に従うことを示したといえる。

## 3. 材料および方法

### 3.1 検水、試薬および機器

検水は、青森県三戸郡田子町の県境不法投棄現場において、2021 年 6 月 21 日に採取した地下水 (1,4-ジオキサン濃度 0.41 mg/L) とした。これを用いた分解実験を、GC-MS による評価を含めて、6 月 30 日までに終了した。

ペルオキシ二硫酸ナトリウム (過硫酸ナトリウム) は、ADEKA 社製を用いた。水酸化ナトリウム (苛性ソーダ) は、AGC 社製、水酸化カルシウム

(消石灰)は宇部マテリアルズ製を用いた。チオ硫酸ナトリウム五水和物は、和光純薬工業製の試薬特級品を用いた。

1,4-ジオキサン標準品、1,4-ジオキサン-d<sub>8</sub>標準品は、富士フィルム和光純薬製を用いた。塩化ナトリウムは和光純薬工業製の試薬特級品を用いた。水はGC-MS用にはミネラル水(Evian水)を、試薬調製には超純水を用いた。

用いたGC-MS測定装置の構成は、Agilent社製質量分析計7000D GC/TQに7890B GC system、ヘッドスペース装置7697A Headspace sampler、水素発生装置AIR-TECH NM plusを組み合わせたものであった。ヘッドスペースGC-MS条件を表1に示す。

GC-MS測定は、告示法(昭和46年環境庁告示第59号付表8)に準拠し、1,4-ジオキサン-d<sub>8</sub>を内標準とする相対検量線法で定量した。なお、検水の1,4-ジオキサン濃度が検量線範囲(0~0.1 mg/L)外の場合には、希釈して定量した。なお、試料の測定はn=2で行った。

ヘッドスペースGC-MS測定用のバイアルは以下のとおり作成した。検体については、3gの塩化ナトリウムを入れたバイアルに、10 mLの試料溶液を取り、20 µLの1,4-ジオキサン-d<sub>8</sub>・メタノール溶液(10 µg/mL)およびメタノール10 µLを加え、封をして振とうし、塩化ナトリウムを溶解した。

検量線を作成するため、上記と同量の塩化ナトリウムを入れたバイアルに、ミネラル水10 mLを取り、20 µLの1,4-ジオキサン-d<sub>8</sub>・メタノール溶液(10 µg/mL)およびバイアル内での濃度上限が0.1 mg/Lになる範囲で1,4-ジオキサン・メタノールの標準液10 µLを加えて、封をして振とうし、塩化ナトリウムを溶解した。

### 3.2 分解実験に用いた薬剤、その添加量およびGC-MSによる評価のための反応停止

#### (1) 薬剤調製

水100 mLにペルオキソ二硫酸ナトリウム5 gを加え、水酸化カルシウムあるいは25%水酸化ナトリウム溶液を加えて薬剤を調製した。水酸化ナトリウム溶液の添加量については、次項で述べる。これらの組成を表2に示す。

水酸化カルシウム溶液は、0.1%が飽和濃度(溶解度0.17 g/100 mL<sup>1)</sup>)と同じ桁であり、5%加えたものは懸濁状態となった。これはいわゆる石灰乳である。

#### (2) 薬剤添加および酸化反応停止

共栓付き三角フラスコに検水100 mLを取り、前項の薬剤10 mLを添加、攪拌し、実験室内の室温で放置した。薬剤添加直後、2日後、5日後および7日後に、このフラスコ内の溶液から10 mLを採取し、5%チオ硫酸ナトリウム溶液を1 mL加えて転倒攪拌し、ヘッドスペースGC-MS用のバイアルに封入し、GC-MS測定時まで冷蔵庫内で保管した。

表1 1,4-ジオキサンのGC-MS分析設定。

#### (1) GC-MS条件

使用カラム	Agilent社 Select Volatile CP7410 (25 m×0.2 mmφ×1.12 µm 膜厚)
移動相	ヘリウム、1 mL/min
注入モード	スプリット(1:20)
インレット温度	180 °C
トランスファライ ン温度	200 °C
MSイオン化モード	EI(+)

<GC 昇温プログラム>

40 °C (2 min) → 10 °C/min → 90 °C  
→ 20 °C/min → 190 °C (12 min)

#### (2) MS SIM(Selected Ion Monitoring)設定

物質名	目的	定量 イオン (m/z)	確認 イオン (m/z)	観測保 持時間 (min)
1,4-ジオキ サン	標的	88	58	6.6-7.3
1,4-ジオキ サン-d <sub>8</sub>	内標 準	96	64	6.6-7.3

#### (3) ヘッドスペース条件

GC サイクル時間	18.5 min
オープン温度	60 °C
ループ温度	80 °C
トランスファライン温度	140 °C
平衡化時間	5 min
平衡前時間	0.1 min
注入時間	0.5 min

表 2 薬剤溶液の調製。

薬剤	Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> (g)	Ca(OH) <sub>2</sub> , w/v%	25 % aq. NaOH added
A	0	0	0
B	5	5 %	0
C	5	0.1 %	0
D	5	0	6.9 mL (pH 12)
E	5	0	8.5 mL (pH 13)
F	5	0	27 mL (pH 14)

#### 4. 反応系の pH 調整のための水酸化ナトリウム溶液添加量および反応停止のためのチオ硫酸ナトリウム溶液の添加量について

##### 4.1 水酸化ナトリウム添加の場合の pH 調整

水溶液中の塩基性条件下のペルオキシ二硫酸イオンによる酸化反応では、ペルオキシ二硫酸イオン 1 当量が、2 当量の水素イオンを与える<sup>11)</sup>。

このことから、反応系を反応開始時から終了時まで塩基性に保持するために、ペルオキシ二硫酸イオンが生じる水素イオンの量と酸塩基平衡から、反応系の設定 pH を決定する水酸化ナトリウム溶液量を計算した。なお、この設定 pH は、ペルオキシ二硫酸イオンの全量が酸化反応で消費されたあとの pH であり、薬剤調製直後からその全量消費までの pH は、この設定値よりも高いはずである。

薬剤の pH を 12、13、14 とするために加える 25 % 水酸化ナトリウム溶液量を、以下の酸塩基平衡論で求めた。

5 g のペルオキシ二硫酸ナトリウムは 0.021 mol であり、酸化反応で遊離する水素イオンは 0.042 mol となる。

100 mL の水に x mL の 25 w/v% 水酸化ナトリウムを加えた場合、水酸化ナトリウムの物質量は x/160 mol となる。よって、薬剤中の水酸化物イオン濃度は、

$$[\text{OH}^-] = \frac{\frac{x}{160} \text{ mol} - 0.042 \text{ mol}}{(100 + x) \text{ mL} \times 0.001 \text{ L/mL}}$$

となる。

水のイオン積を  $K_w = 1 \times 10^{-14} (\text{mol/L})^2$  とすると、

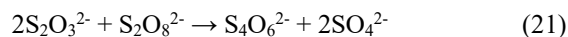
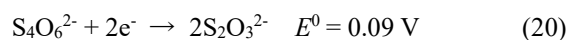
$$\text{pH} = -\log_{10}[\text{H}^+] = -\log_{10} \frac{K_w}{[\text{OH}^-]}$$

この式により、薬剤中の設定 pH に対応する 25 w/v% 水酸化ナトリウム溶液添加量を求めた。計算の結果、pH 12 には、6.9 mL、pH 13 は 8.5 mL、pH 14 は 27 mL が必要と算出され、表 2 に示すとおりとなった。

なお、今回の pH 計算は、アルカリ性が強い場合に応用できるものであり、中性付近の pH を求めるには、イオン種の電荷均衡を考慮する必要がある<sup>13)</sup>。

##### 4.2 酸化反応の停止のためのチオ硫酸ナトリウム溶液添加量

(20)式で表したチオ硫酸イオン S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup> の還元反応の標準酸化還元電位は、+0.09 V であり<sup>14)</sup>、(1)式で表されたペルオキシ二硫酸イオンの酸化反応と組み合わせると、十分に高い平衡定数を与えることから、(21)式のとおり、化学量論的に反応すると判断される。



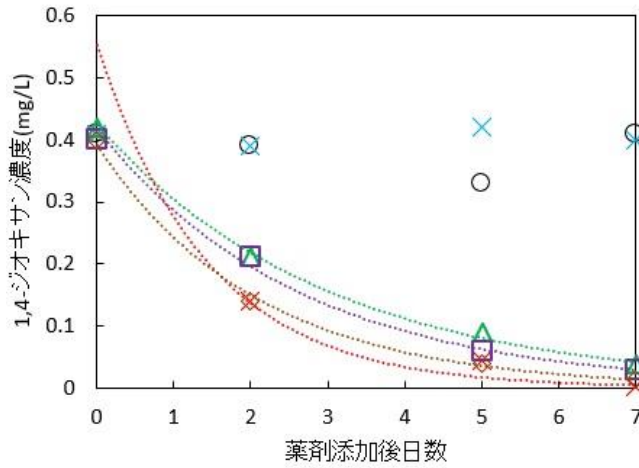
ここで、1 当量のペルオキシ二硫酸イオンは、2 当量のチオ硫酸イオンと反応する。

以上から、大過剰である 4 当量のチオ硫酸ナトリウムを用いて、酸化反応を停止することにした。これは、三角フラスコ内の反応系溶液の 10 mL に対して、5 % チオ硫酸ナトリウム溶液を 1 mL 添加することに相当する。

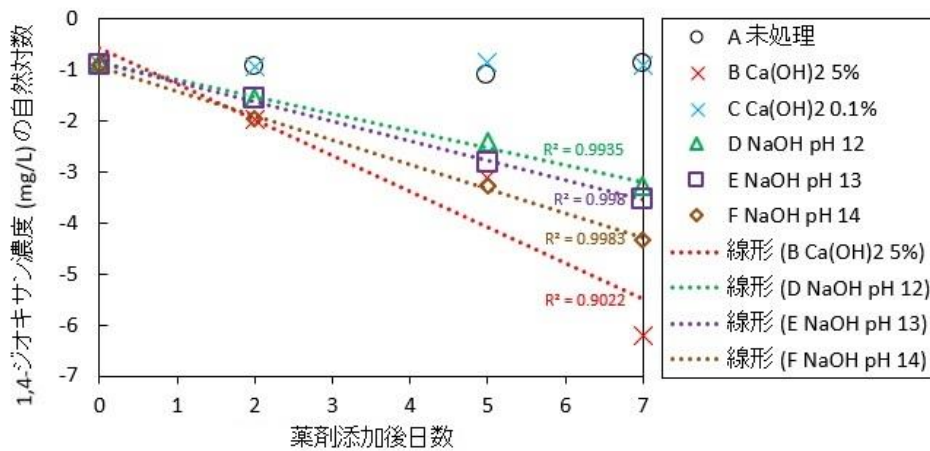
## 5. 結果

図 2(a) に検水中の 1,4-ジオキサン濃度の経時変化を、薬剤 A~F までを用いた場合についてプロットした。また図 2(b) には、その濃度の自然対数をプロットした。

図 2(b) において、濃度の自然対数プロットはほぼ回帰直線上にあり、このことは、この経時変化が一次の減衰であることを示唆した。



(a) 1,4-ジオキサン濃度対添加後日数のプロット。



(b) (a) の片対数プロット。

図 2 酸化反応による 1,4-ジオキサンの濃度減衰の測定結果。

## 6. 考察

ペルオキシ二硫酸イオンによる 1,4-ジオキサンの分解反応は次式の形の速度式で表されると考えられる<sup>5)</sup>。

$$-\frac{d[\text{diox}]}{dt} = k[\text{diox}]^m[\text{ox}]^l$$

ここで、 $[\text{diox}]$  は 1,4-ジオキサン濃度を、 $[\text{ox}]$  は酸化剤としてのペルオキシ二硫酸イオン濃度を示し、 $m$ 、 $l$  は反応の次数である。

前述したように、酸化反応の機構は複雑と考えられるが、ここでは反応速度が  $[\text{diox}]$  に比例する、すなわち  $m = 1$  で表されるとする。

また、1,4-ジオキサンの初期濃度は約 0.4 mg/L であり、 $[\text{diox}]_0 = 4.5 \mu\text{mol/L}$  に相当するが、薬剤中のペルオキシ二硫酸イオンの初期濃度は、薬剤中に添加された水酸化ナトリウム溶液が最も多く、

薬剤中のペルオキシ二硫酸イオン濃度が相対的に最も低い場合でも 0.16 mol/L であり、これを 1 割の比率で加えた反応系では初期濃度  $[\text{ox}]_0 \cong 16 \text{ mmol/L}$  である。これらのことから、酸化反応中も  $[\text{ox}]/[\text{diox}] \gg 1$  であると考えられる。

これらの考察から、反応速度式は次の擬一次反応速度式に簡略化できる<sup>5)</sup>。

$$-\frac{d[\text{diox}]}{dt} = k_1[\text{diox}]$$

上式を時間で積分すると、

$$[\text{diox}] = [\text{diox}]_0 \exp(-k_1 t) \quad (22)$$

であり、両辺の対数を取ると、次の一次式(23)を得る。



$$\log_e \left( \frac{[diox]}{[diox]_0} \right) = -k_1 t \quad (23)$$

ここで実験結果から得られた図 2(b) の片対数プロットが直線性を持つことは、(22)(23)式が成立していることを示す。その直線の傾きは、 $-k_1$  となる。

表 3 に、各薬剤使用条件において、図 2(b) の片対数プロットの直線の傾きから求めた擬一次反応速度定数  $k_1$  を示す。また、この  $k_1$  から、次式で半減期  $t_{1/2}$  を求めて、表 3 に併記した。

$$t_{1/2} = -\frac{\log_e \left( \frac{1}{2} \right)}{k_1}$$

表 3 1,4-ジオキサン濃度の経時変化から求めた擬一次反応速度定数および半減期。

記号	薬剤	$k_1(\text{day}^{-1})$	$t_{1/2}(\text{day})$
A	なし	0.01	>7
B	5 % Ca(OH) <sub>2</sub>	0.70	0.99
C	0.1 % Ca(OH) <sub>2</sub>	<0.01	>7
D	NaOH pH 12	0.33	2.1
E	NaOH pH 13	0.38	1.8
F	NaOH pH 14	0.48	1.4

図 2 から、1,4-ジオキサン濃度は、薬剤 B、D、E、F を使用した場合、数日で減衰し、また、表 3 から、その半減期は 1~2 日であることが分かった。

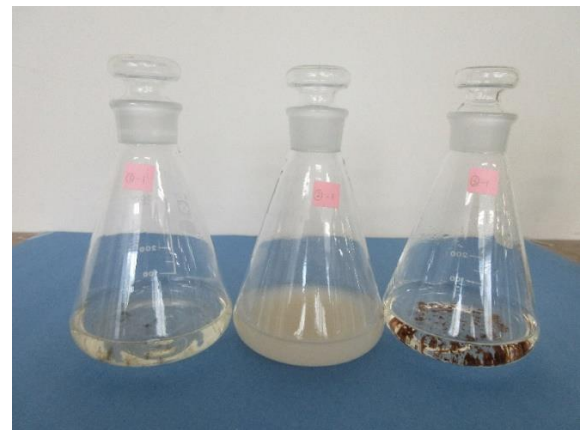
塩基として水酸化ナトリウムを用いた薬剤 D、E、F の使用時の場合、水酸化カルシウムを用いた薬剤 B の使用時に比べて、反応速度はやや小さかった。しかし、反応中の画像を示した図 3 のとおり、前 3 者は反応系に生じた懸濁物質が後者に比べて少なかった。このことから、水酸化ナトリウムを用いる方法では、懸濁物の影響が小さいことが期待された。この点は、水酸化ナトリウム法が土木工学的に有利な理由である。

水酸化ナトリウムを使用した場合、薬剤の pH が高いほど、反応速度が大きくなった。これは、Furman et al.<sup>11)</sup> が示した実験結果の傾向と一致しており、また、アルカリ性条件でヒドロキシルラジカルが水酸化物イオンから生じるという仮説を支持する結果であった。

なお、水酸化カルシウムの水 100 mL に対する

溶解度は 25 °C で 0.17 g であり<sup>1)</sup>、また水酸化カルシウムは空気中の二酸化炭素を吸収して水に不溶な炭酸カルシウムを生成する。薬剤 C 中の水酸化カルシウム濃度は、飽和濃度の約 60% の濃度であり、0.014 mol/L である。項 4.2 で考察したように、使用したペルオキシ二硫酸イオンが生じる水素イオンは薬剤中で 0.42 mol/L であることから、塩基としての水酸化カルシウムが、反応過程で消費されつくした可能性がある。

また、5% で懸濁状態 (石灰乳) の水酸化カルシウムを用いた場合には、水酸化物イオンが二酸化炭素やペルオキシ二硫酸イオンの反応で消費されても、石灰乳から常に水酸化物イオンが供給され、速い反応速度につながったと推定された。



(a) 左から、A、B、C



(b) 左から、D、E、F

図 3 反応開始から 8 日後の反応系の画像。

## 7. 結論

青森・岩手県境不法投棄現場の地下水中の 1,4-ジオキサン浄化を目標として、塩基性条件下でのペルオキシ二硫酸塩による分解反応の検討を行った。



分解反応系を設定するため、酸塩基平衡および酸化還元反応の化学量論を議論して、反応系pH設定およびGC-MS測定のための酸化反応停止の方法を試行した。

その結果、塩基として水酸化ナトリウムあるいは石灰乳状態の水酸化カルシウムを用いた場合に、1,4-ジオキサンは半減期1~2日で低濃度化した。また薬剤のアルカリ性が強いほど、反応速度が大きく、半減期が短かった。また、水酸化ナトリウムを使用した場合、反応系の懸濁物が少なく、土工学的に有利と考えられた。

今回行った室内試験により、ペルオキソ二硫酸塩と水酸化ナトリウムを用いた浄化方法が、青森県現場でも有効である可能性が示された。

## 文 献

- 1) 長倉三郎, 他: 岩波 理化学辞典 第5版. 岩波書店, 東京, 1998.
- 2) 環境省 物質に関する基本的事項 1,4-ジオキサン  
<https://www.env.go.jp/chemi/report/h15-01/pdf/chap01/02-2/09.pdf>  
(2021年12月28日アクセス)
- 3) 青森・岩手県境不法投棄事案アーカイブ  
<https://www.pref.aomori.lg.jp/soshiki/kankyo/hozen/kenkyo-archive-toppage.html>  
(2021年12月27日アクセス)
- 4) 今村 聡, 他: 有機化合物による土壌・地下水汚染の浄化技術. 安全工学, **43**, 12-19, 2004
- 5) Felix-Navarro, R. M. et al.: Kinetics of the Degradation of 1,4-Dioxane Using Persulfate. *Journal of Mexican Chemical Society*, **51**, 67-71, 2007.
- 6) 第81回原状回復対策協議会  
[https://www.pref.iwate.jp/\\_res/projects/default\\_project/\\_page\\_/001/032/632/202012191.pdf](https://www.pref.iwate.jp/_res/projects/default_project/_page_/001/032/632/202012191.pdf)  
(2021年12月27日アクセス)
- 7) Cotton, F. A. et al.: *Advanced Inorganic Chemistry*. 5th ed., John Wiley & Sons, New York, USA, 1988.
- 8) Lee, C. et al.: Chemistry of persulfate for the oxidation of organic contaminants in water. *Membrane and Water Treatment*, **9**, 405-419, 2018.
- 9) Furman, O. S. et al.: Mechanism of Base Activation of Persulfate. *Environmental Science and Technology*, **44**, 6423-6428, 2010.
- 10) Singh, U. C. et al.: Decomposition of peroxodisulphate in aqueous alkaline solution. *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*, **38**, 541-543, 1976.
- 11) Furman, O. S. et al.: Effect of Basicity on Persulfate Reactivity. *Journal of Environmental Engineering*, **137**, 241-247, 2011.
- 12) Liang, C. et al.: Identification of Sulfate and Hydroxyl Radicals in Thermally Activated Persulfate. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **48**, 5558-5562, 2009.
- 13) Freiser, H. et al. 藤永太一郎, 他訳: イオン平衡, 化学同人, 京都, 1967.
- 14) Weller, R. et al.: *Inorganic Chemistry*. 6th ed., Oxford University Press, Oxford, UK, 2014.

## ベイズ統計手法を用いた CMB 法による微小粒子状物質 (PM<sub>2.5</sub>) 成分の発生源解析

内海宣俊 花石竜治

ベイズ統計手法を用いた CMB 法により、県内の測定地点である弘前市立文京小学校局でこれまでに収集した PM<sub>2.5</sub> 成分測定結果を解析し、主要な発生源寄与を推定した結果、寄与が大きかったのは「道路粉塵」、「乾燥炉木材」、「黄砂」であった。次に、得られた発生源寄与から推定濃度を算出し、各発生源の濃度変化を検証したところ、「道路粉塵」は年間を通じて、「乾燥炉木材」は秋季～冬季にかけて、「黄砂」は春季に濃度が高い傾向がみられた。また、風向頻度との相関をみると、「道路粉塵」は冬季に北寄り、「乾燥炉木材」は春季～秋季には西寄り、冬季は北寄り、「黄砂」は年間を通じて西～南寄りの風向頻度と正の相関が高かった。併せて、二次生成粒子の影響を把握するため、イオン成分についても同様の検証を行ったところ、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、NH<sub>4</sub><sup>+</sup> は春季～夏季に、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、Cl<sup>-</sup> は冬季に濃度が高い傾向がみられた。また、NH<sub>4</sub><sup>+</sup> と SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> は、年間を通じ風向頻度に対する相関が類似していた。

Key words : PM<sub>2.5</sub>, Component analysis, Chemical mass balance, Bayesian statistics, Wind rose

### 1. はじめに

PM<sub>2.5</sub> は、大気中に浮遊する小さな粒子のうち、大きさが 2.5 μm 以下の非常に小さな粒子の総称である。これらは、粒子の大きさが非常に小さい（髪の毛の太さの 30 分の 1）ため、肺の奥深くまで入りやすく、呼吸器系や循環器系への影響が懸念されている。そのため、環境省では PM<sub>2.5</sub> に係る環境基準を定め、各自治体においては、その削減を進めるべく、成分分析により主成分を明らかにし、寄与する発生源を把握するための調査を進めている。本県では、工藤らが既報<sup>1)</sup>において、PM<sub>2.5</sub> 成分分析結果を報告している。

発生源を把握する解析手法には、レセプターモデルがあり、その代表としては、Chemical mass balance (CMB) 法と Positive Matrix Factorization (PMF) 法の 2 つが挙げられる。両者の特徴を簡単に説明すると、CMB 法は、発生源の情報（発生源プロファイル）があれば、少ないデータで比較的簡単に発生源寄与を推定することができ、PMF 法は、発生源に係る事前情報を必要とせず、複数の環境測定データを用いることで、発生源プロファイルとその寄与を同時に推定できる。

今回は、CMB 法を用いて発生源解析を行うこととした。

また、これまでの PM<sub>2.5</sub> 成分解析における CMB

法では、最小二乗法を使用したものが主であったが、今回は花石<sup>2)</sup>が作成した CMB 法計算を行う表計算ソフトマクロを利用し、ベイズ統計手法により CMB 解析を行った。

さらに、得られた発生源寄与やイオン成分濃度の変化と風向との相関についても解析し、知見が得られたので、これらの結果について報告する。

### 2. 調査概要

#### 2.1 本県における調査

青森県では、大気汚染防止法第 22 条の規定に基づく大気汚染の状況の常時監視に関する事務の処理基準および PM<sub>2.5</sub> の成分分析ガイドライン<sup>3)</sup>に基づき、県内における PM<sub>2.5</sub> の質量濃度や成分組成の割合、季節変動等を把握するため調査を実施している。

#### 2.2 対象とする調査地点および調査期間

PM<sub>2.5</sub> 成分測定調査は、2014 年度から 2016 年度秋季までは、県南東部に位置する八戸市内の一般環境大気測定局で実施し、八戸市の中核市移行（2017 年 1 月）後の 2017 年度からは、県南西部に位置する弘前市立文京小学校の自動車排出ガス測定局（以下「文京小学校局」という。）に調査地点を変更している。

今回、この2地点のうち、今後も当所において継続して調査を実施する地点である文京小学校局で得られたデータについて発生源解析を行った。

図1に調査地点である文京小学校局の位置を、表1に調査期間を示す。

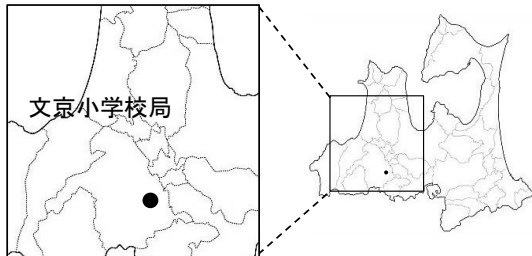


図1 調査地点

表1 調査期間(文京小学校局)

	2017年度	2018年度
春季	5月10日～5月23日	5月9日～5月22日
夏季	7月20日～8月2日	7月20日～8月2日
秋季	10月19日～11月1日	10月19日～11月1日
冬季	1月18日～1月31日	1月18日～1月30日
		※
	2019年度	2020年度
春季	5月8日～5月21日	5月13日～5月26日
夏季	7月17日～8月1日	7月21日～8月4日
秋季	10月17日～10月30日	10月21日～11月3日
冬季	1月15日～1月28日	1月21日～2月5日
		※

※14日以上期間となっている場合には、機器不良等によるサンプリング欠測日が含まれており、サンプリングは全て1季14日間実施。

### 2.3 試料採取方法

試料採取は、ムラタ計測器サービス(株)製スリットジェットエアサンプラ(MCAS-SJ-A1)を使用し、30 L/minで24時間(0時～24時)採取した。

当該機器は1台に独立した2経路が備わっており、イオン成分および炭素成分測定用石英繊維フィルタ(PALL製 2500QAT-UP φ47mm)と無機元素成分測定用PTFEフィルタ(PALL製 Teflo φ47mm)を各経路にセットし、同時に採取を行った。

採取後のフィルタは、サンプラ内で最長6日間保管した後回収し、分析まで冷凍保存した。

### 2.4 分析方法

#### (1) 質量濃度

PTFEフィルタを用いて標準測定法により質量濃

度を求めた(夏季を除く)。フィルタの秤量にはウルトラマイクロ天秤(メトラー・トレド(株)製XP2U)を使用した。なお、2017年度夏季については、フィルタの秤量条件(温度 $21.5 \pm 1.5^\circ\text{C}$ 、相対湿度 $35 \pm 5\%$ 、24時間以上コンディショニング)が整わなかったことから、同局に設置している自動測定機(東京ダイレック(株)製SHARP monitor 5030)の値を用いた。

#### (2) イオン成分

イオン成分8項目( $\text{Cl}^-$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ )は、石英繊維フィルタの1/2を超純水20 mLで20分間超音波抽出し、イオンクロマトグラフ(Thermo Scientific DIONEX製ICS-1600)で測定した。

#### (3) 無機元素成分

無機元素成分29項目(Na、Al、K、Ca、Sc、Ti、V、Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Zn、As、Se、Rb、Mo、Sb、Cs、Ba、La、Ce、Sm、Hf、W、Ta、Th、Pb)は、PTFEフィルタをマイクロウェーブによる加熱で酸分解(硝酸5 mL、ふっ化水素酸2 mL、過酸化水素1 mL)し、ICP-MS(Agilent製7890C)で測定した。

#### (4) 炭素成分

炭素成分2項目(有機炭素(OC)、元素状炭素(EC))の測定は、サーマルオプティカル・リフレクタンス法により、外部委託で行った。

### 3. 発生源寄与解析

#### 3.1 解析方法

解析には、CMB法のうち、ベイズ統計手法とマルコフ連鎖モンテカルロ(MCMC)法を組み合わせた柏木らの既報<sup>4)</sup>(2006)のアルゴリズムを、花石が数値計算方法に改良を加えて移植した表計算ソフトのマクロを使用した。

この方法は、比率モデルを採用しているため、物理的に解釈が容易な無次元(範囲[0, 1])の発生源寄与を与える。

#### 3.2 MCMC法の計算条件

今回、解析における計算条件は、burn-in回数を9,800回、単一連鎖法回数を10,000回、多重連鎖法回数を10回とした。

#### 3.3 発生源プロフィールデータ

CMB法を用いた解析では、環境サイドデータと発生源プロフィールデータ(発生源から排出される粒子の化学組成)が必要となる。

解析では、環境省<sup>5)</sup>および東京都<sup>6)</sup>の調査集計結果を発生源プロフィールデータとして使用した。

(表2)

発生源の名称は、発生源プロフィールデータに表記されたものを使用することとした。

今回使用する表計算ソフトマクロでは、最大15個までの発生源項目を解析できることから、調査地点である文京小学校局が自動車排出ガス測定局であることも考慮し、「道路粉塵」、「自動車排気」、「タイヤ&ブレーキ粉塵」、「ディーゼル車未規制車」およびPM<sub>2.5</sub>のデータ解析において代表的な項目である「黄砂」などを含めた計15種類の発生源プロフィールを選定した。

### 3.4 PM<sub>2.5</sub> データ

環境サイドデータは、2017年度から2019年度までは環境省のホームページ<sup>7)</sup>に掲載されているPM<sub>2.5</sub>成分測定結果のデータを、2020年度については、当所で測定し取りまとめたデータを使用した。

無機元素成分は、2017年度から2019年度については、24元素(Na、Al、K、Ca、Sc、Ti、V、Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、As、Se、Rb、Mo、Sb、Cs、Ba、La、Ce、Sm、W)のデータを使用した。

炭素成分については、収集したデータのうち、2項目(OC、EC)のデータを使用した。

2020年度については、上記の項目から欠測となったCaを除いた無機元素成分25項目のデータをCMB解析で使用した。

イオン成分については、発生源寄与の解析では使用せず、二次生成粒子の影響を考えるために使用することとし、収集したデータのうち、4項目(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、Cl<sup>-</sup>)のデータを使用した。

なお、成分濃度については、検出下限値未満の測定値は0として扱い、欠測項目については集計から除外した。

### 4. PM<sub>2.5</sub> データのチェック (マスクロージャーモデルによるチェック)

マスクロージャーモデルは、粒子状物質の質量濃度と幾つかの主要成分との関係を統計的に求め、以後の測定で成分測定データから質量濃度を推定し、測定した質量濃度の妥当性を評価する方法の1つで、環境省が日本に適したモデル案を提案している<sup>8)</sup>。

厳密には測定地点、季節などにより粒子状物質の性状は異なる場合があるが、およその地域代表性の検証及び異常値の判断に関して有効な手法である。

今回使用した質量濃度推定式を以下に示す。

$$\text{推定質量濃度} = 1.375[\text{SO}_4^{2-}] + 1.29[\text{NO}_3^-] + 2.5[\text{Na}^+] + 1.4[\text{OC}] + [\text{EC}] + 9.19[\text{Al}] + 1.40[\text{Ca}] + 1.38[\text{Fe}] + 1.67[\text{Ti}]$$

この手法により解析した結果を図2に示す。

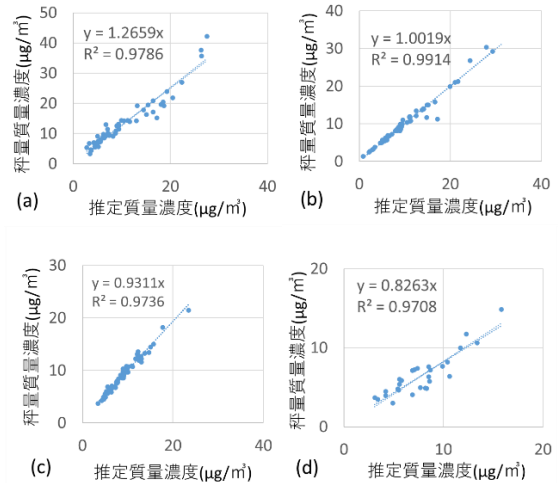


図2 マスクロージャーモデルによる解析 (a: 2017、b: 2018、c: 2019、d: 2020年度の結果)

2017年度から2019年度の測定データについては、マスクロージャーモデルにより推定された質量濃度と秤量質量濃度の相関を調べた結果、問題となるデータはなかった。

2020年度については、マスクロージャーモデルの解析を行う上で必要な項目となるCa成分の測定が春季および夏季で欠測としたことから、秋季および冬季のみマスクロージャーモデルによる解析を行ったが、問題となるデータはなかった。

## 5. CMB解析結果と考察

### 5.1 発生源寄与の推定

2017年度から2020年度までのCMB法を用いて推定した発生源寄与の結果を表3(a)-(d)に示す。

表には発生源寄与のほか、二次生成粒子の影響を考えるためのイオン成分の寄与、未知発生源の寄与「UK」、測定した質量濃度、推定した寄与の不確かさ「UC」を含めている。

なお、この推定した寄与の不確かさは、(1)式で定義される。

表 2 採用した発生源プロファイルデータ (空欄はゼロ)

成分	発生源 (mg/kg)														
	道路粉塵	海塩粒子	鉄鋼工業	石油燃焼	廃棄物焼却	自動車排気	タイヤ& ブレーキ粉塵	ガス機関	乾燥炉木材	建設機械 油圧ショベル	船舶補助発電 ディーゼル	ディーゼル 機関	ディーゼル車 未規制車	植物質燃焼	黄砂
OC	69000					247000	79800	199000		358000	100000		178000		43400
EC	12800	0.028	5000	300000	50000	494000	153000	79400		189000	116000		104000	97100	3270
Na	12500	304000	13600	10000	120000	76.4	9200	7220	10200		339	740	122	6550	7230
Al	61100	0.29	9990	2100	4200	1570	49000	6140	309	10000	268			63200	75300
K	12700	11000	13200	850	200000	197	8060	3320	71600	528	179	429	94.1	370	22100
Ca	55200	11700	45100	850	11000	1460	12000	79400	7590		607	11400	725	415	30400
Sc	13.3	0.0012	1.32	0.09	0.46	0.119	2.3								15.7
Ti	5050	0.029	1000	740	900	146	3000								4150
V	108	0.058	125	6380	27	7.25	110		3.75	24.5	83.9	88.6			111
Cr	279	0.0015	3160	210	850	11.6	340	722	75	86.8	44.6	10.9	522		97.5
Mn	1060	0.058	22000	120	330	19.3	1410	541	84.4	377		4.57		10	826
Fe	53100	0.29	157000	4600	6100	989	76600	3250	1160			314	2670	100	45100
Co	21.7	0.015	44	31	21	1.47	20	1010	1.16			0.63	8.40		20.1
Ni	80.3	0.015	2900	3970		9.89	260		29.4			37.1			54.9
Cu	268	0.017	3700	1	3600	113	8700		106			4.86			113
As	11.3	0.029	103.6	23	150	3.69	100		24.7						22.4
Se	1.43	0.12	51.1	48		1.67	20		0.197						3.15
Rb	55.6	3.5	76.8	2	260	0.49	34		128						112
Mo	8.55					5.91	512								11.9
Sb	13	0.014	90	6.9	952	19.6	4200								14.8
Cs	3.59	0.029	3	0.1	12	0.0745	3.7								10.5
Ba	499	0.86	500	1000	390	98.9	18800		93.8			2.2			609
La	31.3	0.009	9.75	40	7.7	0.341	7.5		0.106						62.1
Ce	59.9	0.012	68.7	70	170	1.08	24		0.247						108
Sm	5.93	0.001	0.212	7.6	0.46	0.0304	0.43								8.05
W	11.6	0.003	47.4	20	100	0.686	9.6	137							3.38













$$UC = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^{n_j} \text{var}(\theta_j)}{n_j}}, \quad (1)$$

ここでは、

var : 発生源寄与の分散

$\theta_j$  :  $j$  番目の発生源の寄与 (無次元)

$n_j$  : 発生源の数

UC は、値が小さければ、発生源寄与および未知発生源寄与の組成が収束しやすく、かつ得られた推定寄与の精度が高いことを表す。反対に、値が大きい場合は、発生源寄与および未知発生源寄与の組成の収束がしにくく、収束するまでに必要な単一連鎖法回数が増大するデータであることの指標となる。

ここで表 3(b) 2018 年度の秋季、冬季の未知発生源の推定寄与をみると、負の寄与となっており、そのデータの UC が、他に比べ高くなっていることが分かる。そこで、当初設定した計算条件を見直し、burn-in 回数を 19,800 回、単一連鎖法回数を 20,000 回、多重連鎖法回数を 10 回として再度解析を行ったところ、負の寄与はなく発生源寄与が収束した。(表 3(e))

なお、その他の年度については、当初設定した計算条件下で発生源寄与組成が収束し、非負の未知発生源寄与を与えた。

## 5.2 発生源寄与推定結果の考察

全体の推定結果をみると、年間を通じて寄与が高い傾向を示したものは、「道路粉塵」、「乾燥炉木材」であった。春は「黄砂」の寄与が高い傾向であった。

反対に、「自動車排気」、「ディーゼル車未規制車」はほとんど寄与がみられなかった。

その他、「海塩粒子」、「植物質燃焼」等の項目については、ある年度の特定の時期に寄与がやや高くなっていた。

なお、今回用いたベイズ統計法による CMB 解析法で、これまで明確に計算できなかった「未知発生源寄与」を算出することができ、結果は全データを平均すると約 5 割程度であった。このことから、今後も主要な発生源を網羅すべく、解析を進めていく必要があることが示唆された。

## 5.3 組成モデルにより得られた発生源寄与を使用する場合の単位換算

今回使用した CMB 法では、比率モデルを使用しており、以下の表記を用いて、(2)式で表す。

$$\zeta_i = \sum_{j=1}^{n_j} \xi_{ij} \theta_j + \omega_i \left( 1 - \sum_{j=1}^{n_j} \theta_j \right) \quad (2)$$

ここでは、

$\zeta_i$  :  $i$  番目の化学種の観測サイトにおける環境濃度 (単位 : mg/kg、計算時には g/g)

$\xi_{ij}$  : 発生源プロファイルで、 $i$  番目の化学種について、 $j$  番目の発生源を示す (単位 : mg/kg、計算時には g/g)

$\theta_j$  :  $j$  番目の発生源の寄与 (無次元)

$\omega_i$  : 未知発生源における  $i$  番目の化学種濃度 (単位 : g/g、表記時には mg/kg)

$n_j$  : 発生源の数

である。

この式において、環境濃度  $\zeta_i$  の単位 mg/kg =  $\mu\text{g/g}$  での表記から、単位系  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  に移行するため、その質量濃度が  $m_{total}$  (単位 :  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) であるとして計算すると、(3)式を得る。

$$\eta_i = m_{total} \cdot \zeta_i = \sum_{j=1}^{n_j} \xi_{ij} \cdot m_{total} \cdot \theta_j. \quad (3)$$

すなわち、比率モデルで得られた無次元の発生源寄与  $\theta_j$  に質量濃度を乗じた量(以下、「発生源濃度」という。)  $m_{total} \cdot \theta_j$  を、単位  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  で表した新たな寄与として取り扱うことができると考えた。

この量は、質量濃度に比例する量であり、発生源からの汚染寄与を表すと考えられる。

## 5.4 調査期間における環境中での発生源濃度等の変化について

5.2 および 5.3 の内容を踏まえ、2017 年度から 2020 年度までの発生源濃度の変化を図 3(a)-(d)に示す。

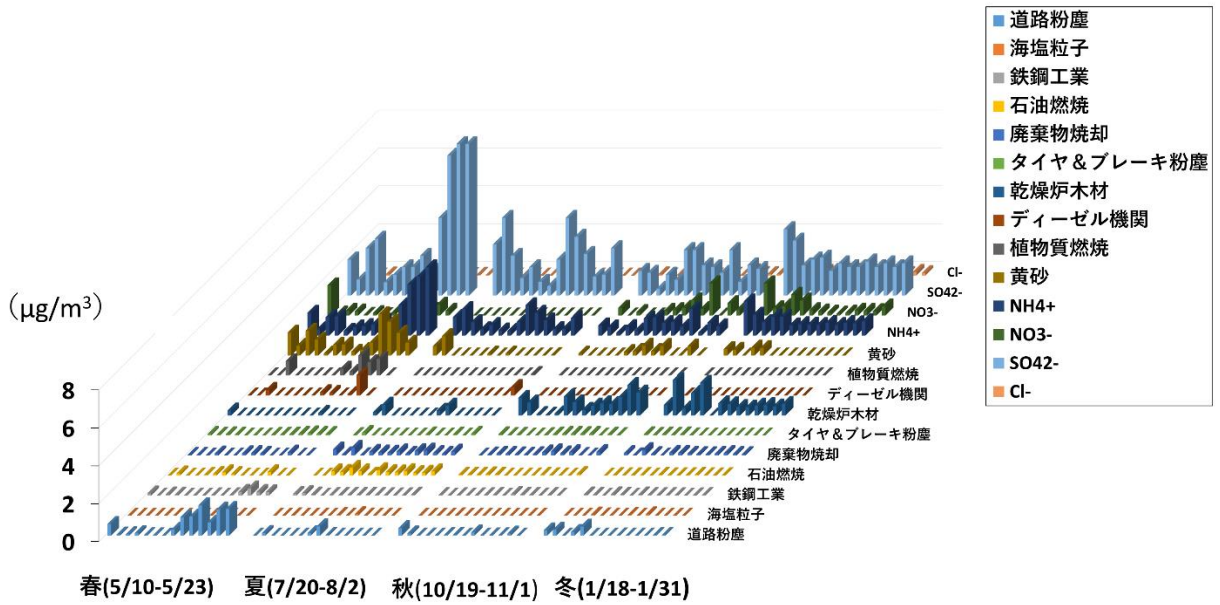


図 3(a) 発生源濃度およびイオン成分濃度の変化 (2017)

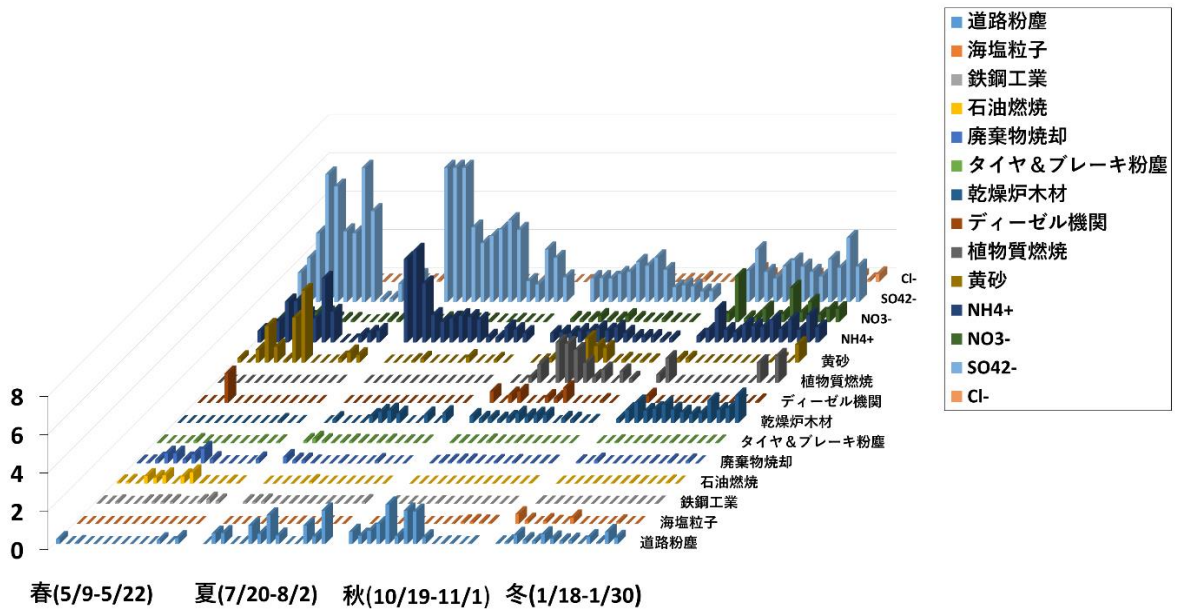


図 3(b) 発生源濃度およびイオン成分濃度の変化 (2018)

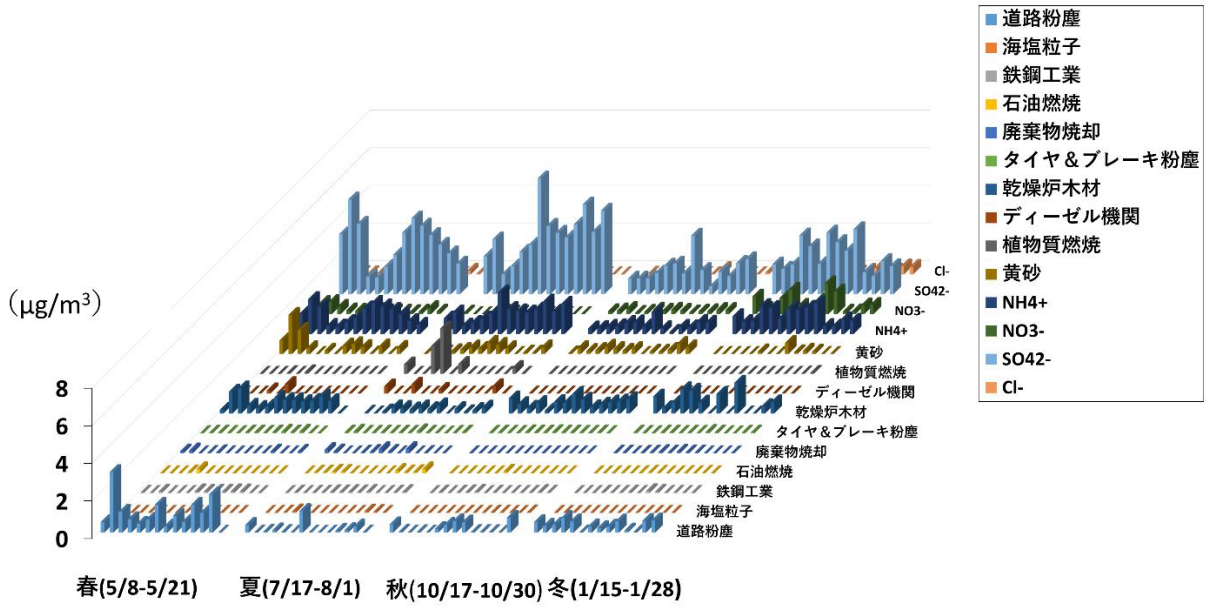


図 3(c) 発生源濃度およびイオン成分濃度の変化 (2019)

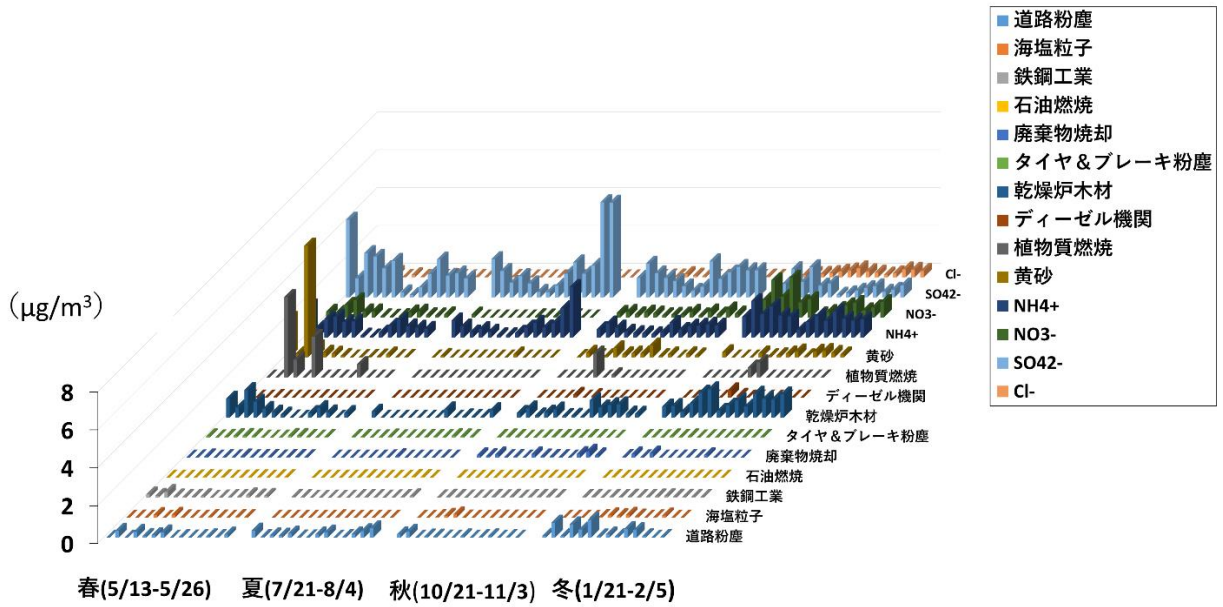


図 3(d) 発生源濃度およびイオン成分濃度の変化 (2020)

発生源濃度は、(3)式により算出した。

なお、発生源濃度については、推定寄与を解析した結果の中で、寄与がほとんどみられなかった項目について解析から除外した。よって、「道路粉塵」など発生源 10 項目とイオン成分 4 項目の計 14 項目とした。

### (1) 発生源濃度の変化

「道路粉塵」は、全季節で観測され、濃度も比較的高い傾向であった。

「乾燥炉（木材）」は、秋季から冬季にかけて濃度が高くなる傾向であった。

「黄砂」は、春季に高くなる傾向であった。

「植物質燃焼」は、2018 年度の秋季に高い傾向がみられた。

「ディーゼル機関」は、2018 年度の秋季および冬季に、濃度はそれほど高くなかったが確認された。

「鉄鋼工業」、「石油燃焼」は、2017 年度および 2018 年度の春季および夏季に、濃度はそれほど高くなかったが確認された。

「タイヤ&ブレーキ粉塵」は、年間を通じて低濃度の傾向であった。

「廃棄物焼却」は、季節性や継続性がないことから、スポット的な野焼き等を捉えたと考えられる。

### (2) イオン成分濃度の変化

全体で見ると、 $\text{SO}_4^{2-}$  が最も濃度が高く、そのほかは  $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{Cl}^-$  の順であった。

季節的な傾向を見てみると、 $\text{SO}_4^{2-}$  および  $\text{NH}_4^+$  は春季、夏季に濃度が高く、支配的に寄与していることが示唆された。 $\text{NO}_3^-$  および  $\text{Cl}^-$  は、夏季は濃度が低く、冬季に高くなる傾向であった。

松本ら<sup>9)</sup>(1981)や宝来<sup>10)</sup>(1996)で報告されているように、粒径分布を取ると  $\text{SO}_4^{2-}$  および  $\text{NH}_4^+$  は、微小粒子領域に分布し、 $\text{NO}_3^-$  および  $\text{Cl}^-$  は、季節により粒径分布が変化すると考えられている。

よって、春季および夏季は  $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{NH}_4^+$  が微小粒子領域に、 $\text{NO}_3^-$  および  $\text{Cl}^-$  が粗大粒子領域に多く存在し、冬は、4つのイオン成分が微小粒子領域に多く分布するようになるため、相対的に  $\text{NO}_3^-$  および  $\text{Cl}^-$  の濃度が高い傾向となったと考えられる。

### (3) その他

図3に示したとおり、イオン成分は総じて濃度が高く、エアロゾルの主体となる成分であることが窺える。

## 6 発生源濃度に対する風向の影響

### 6.1 風向頻度

2017年度から2020年度までの調査期間における

風配図を図4に示す。

解析および図の描画には、早狩<sup>11)</sup>が作成した表計算ソフトのアドインを使用した。

解析には、気象庁ホームページに掲載されている過去の気象データ<sup>12)</sup>のうち、地点：青森県「弘前」、期間：2017年度から2020年度の調査を実施した日、項目：「風向・風速」を選択して得られたデータを使用した。風向は16方位にCalmを加えたものとした。

結果をみると、春季は特定の方位というものはなく、多方位から風が吹いている傾向がみられた。これは、移動性高気圧の影響により、風向が変わりやすいためと考えられる。そのほかは、夏季は北東から、秋季および冬季は南西からの風が卓越していた。

このことから、文京小学校局において、様々な方向からの風に関する影響を把握する（つまり、様々な発生源の寄与を把握する）には、多方位から風が吹く春季が最も適していると考えられる。

### 6.2 風向頻度との相関

2017年度から2020年度までの調査期間における発生源濃度と風向頻度の相関を図5に示す。

これらは、早狩のアドインにより出力した風向頻度との相関係数を、発生源濃度の大小に応じて季節ごとに集計し、描画したものである。青が正の相関を、赤が負の相関を示し、円周は相関係数の絶対値1を表す。この描画には、確からしさの大きい高濃度データに重みを持たせて比較できるという長所がある。

なお、2017年度夏季のイオン成分については、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{Cl}^-$  の濃度が検出下限値未満のため、作成できなかった。

#### (1) 発生源項目と風向

項目ごとにみると、「道路粉塵」は冬季に北寄りの風向頻度との正の相関が高い傾向だった。

「タイヤ&ブレーキ粉塵」は春季は北寄り、夏季は南寄り、秋季は東寄り、冬季は北東からの風向頻度と正の相関が高い傾向だった。

調査地点が、道路とは北側および東側で接するような位置にあるため、上記2項目については、その影響が比較的高いと考えられる。

「乾燥炉木材」は、春季から秋季にかけては西寄りから、冬季は北寄りからの風向頻度と正の相関が高い傾向であった。



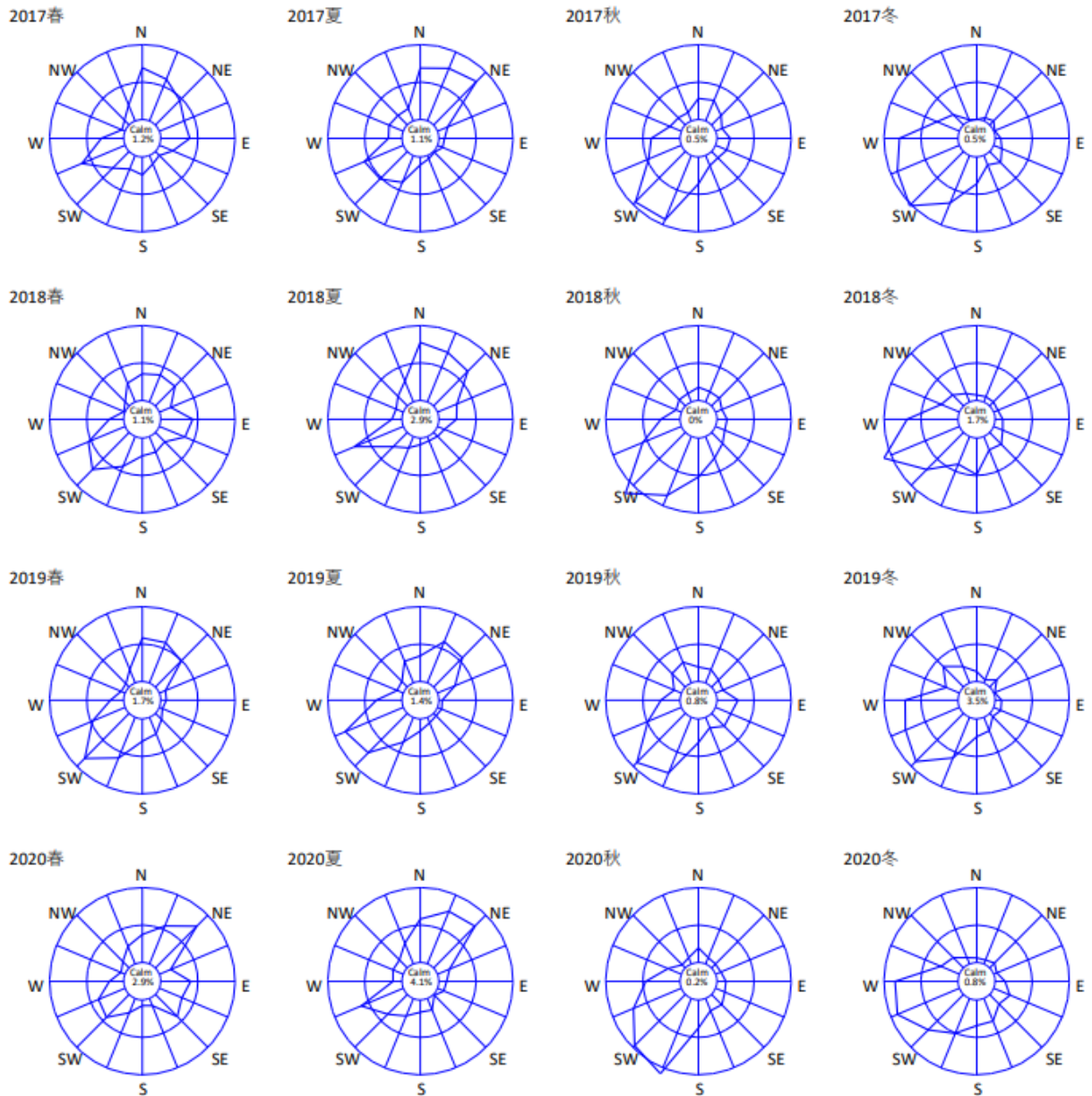


図 4 2017 年度から 2020 年度までの調査期間における風配図

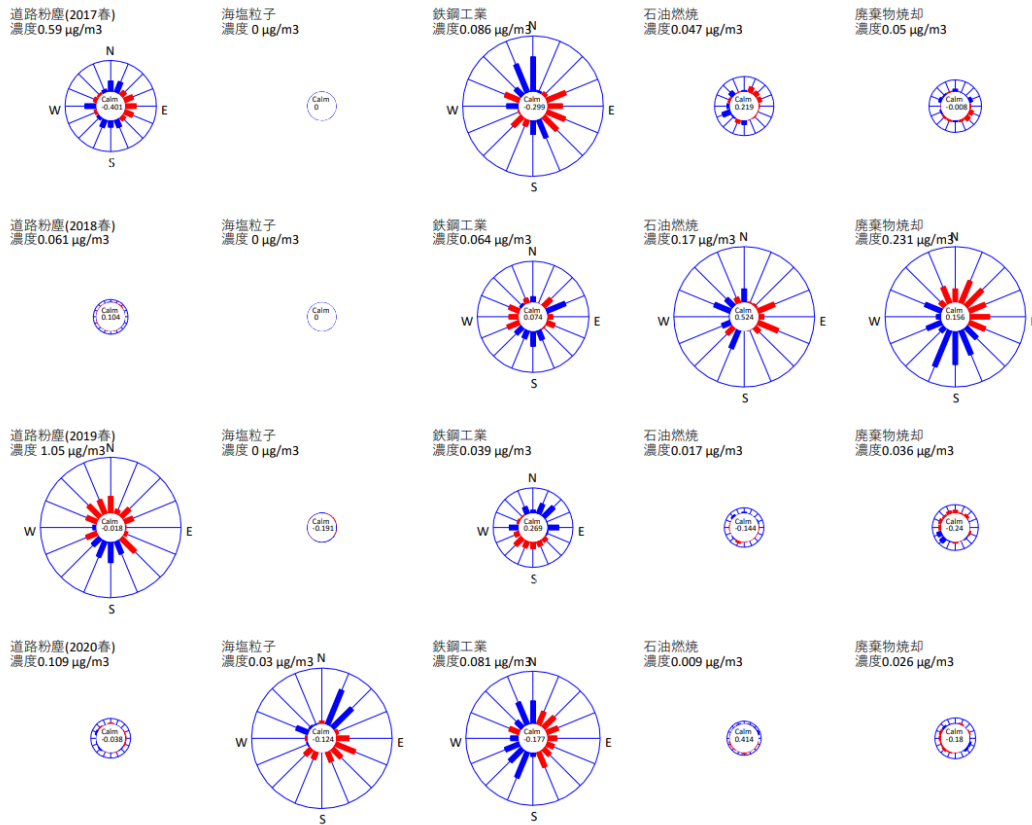


図 5(a) 発生源濃度と風向頻度の相関図(春 道路粉塵、海塩粒子、鉄鋼工業、石油燃焼、廃棄物焼却)

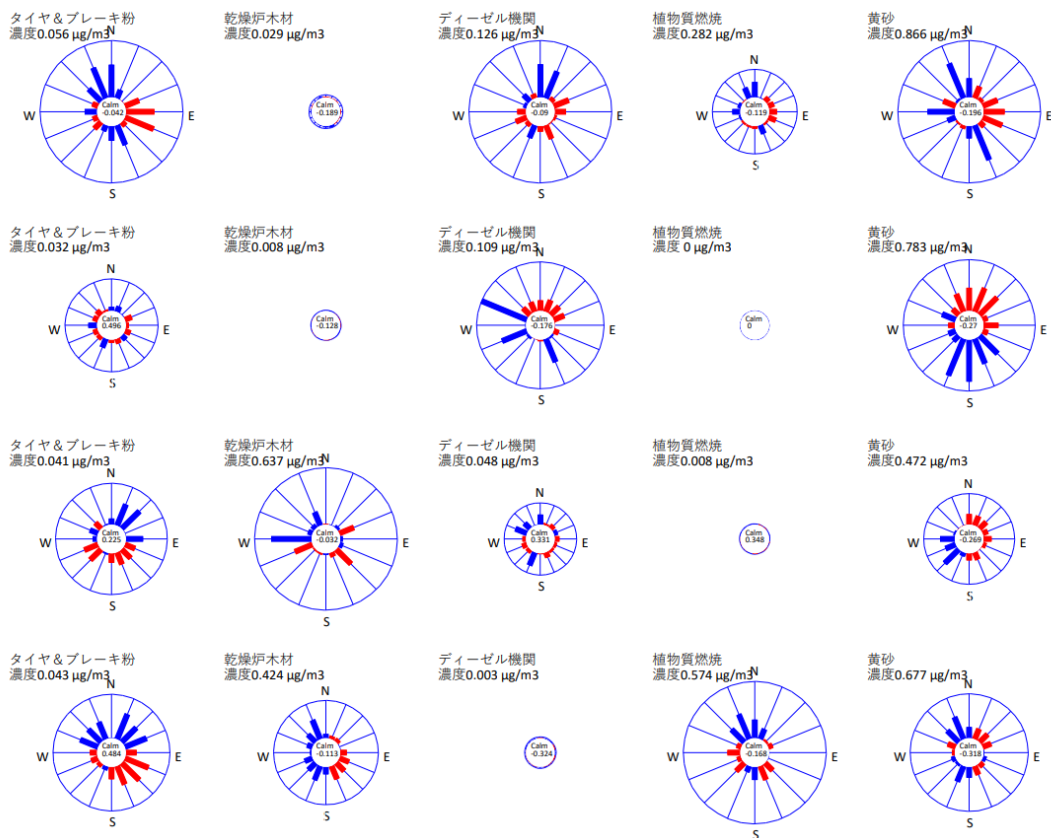


図 5(b) 発生源濃度と風向頻度の相関図(春 タイヤ&ブレーキ粉塵、乾燥炉木材、ディーゼル機関、植物質燃焼、黄砂)



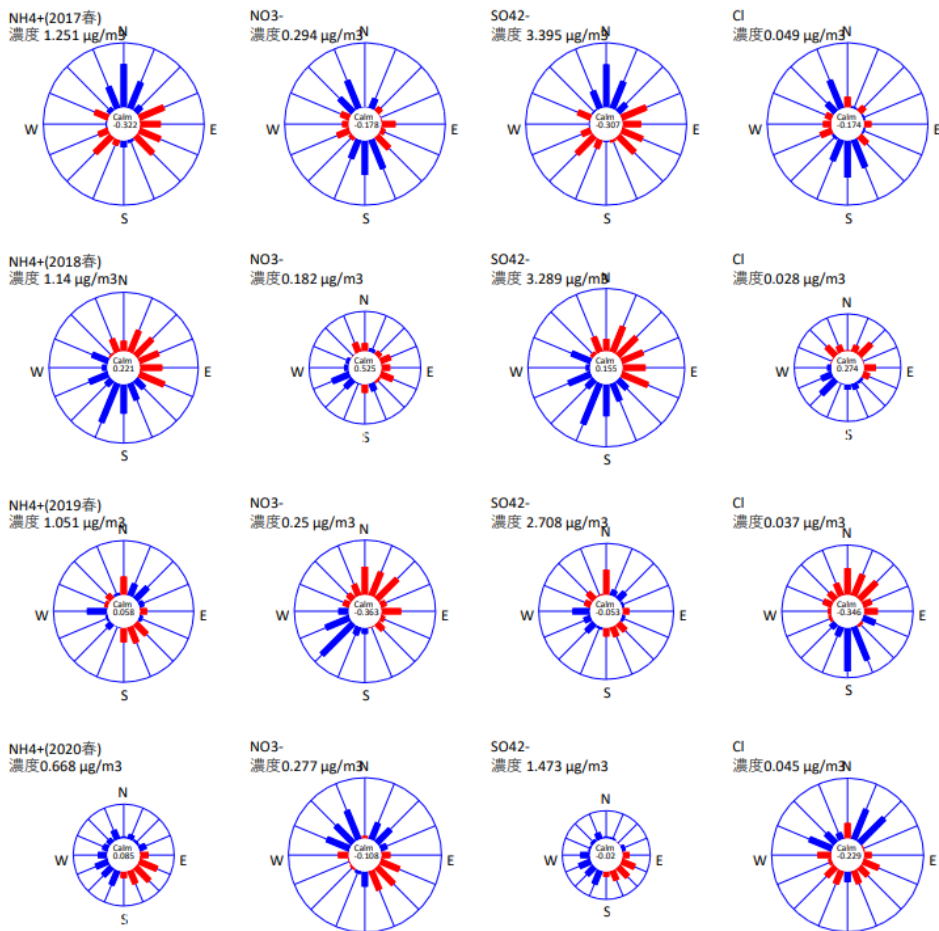


図 5(c) イオン成分濃度と風向頻度の相関図(春 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、Cl<sup>-</sup>)

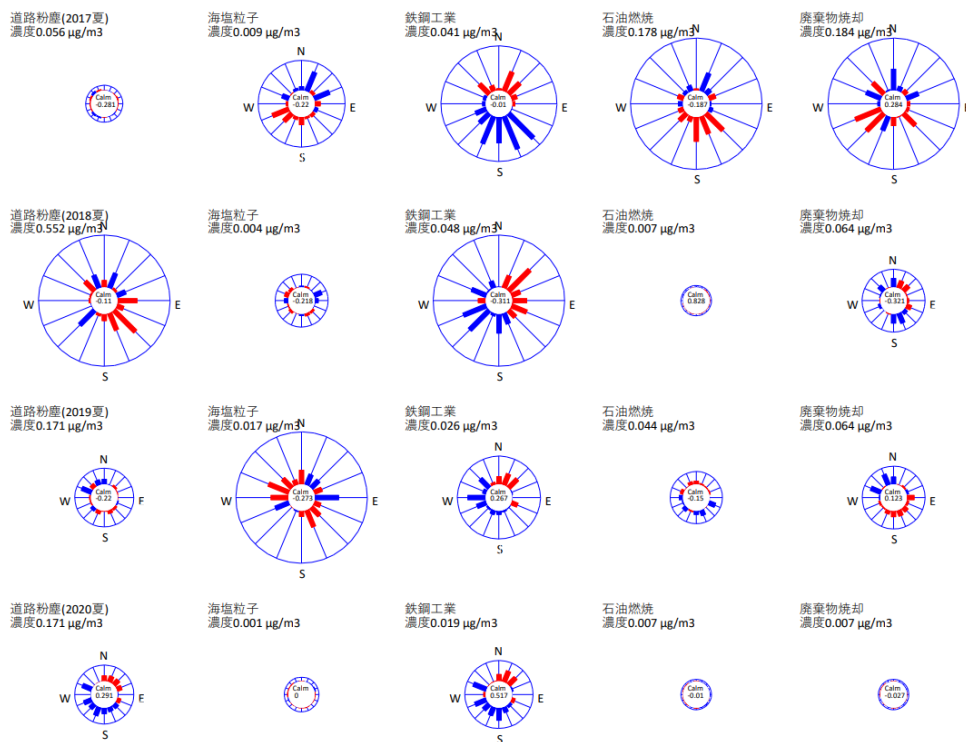


図 5(d) 発生源濃度と風向頻度の相関図(夏 道路粉塵、海塩粒子、鉄鋼工業、石油燃焼、廃棄物焼却)

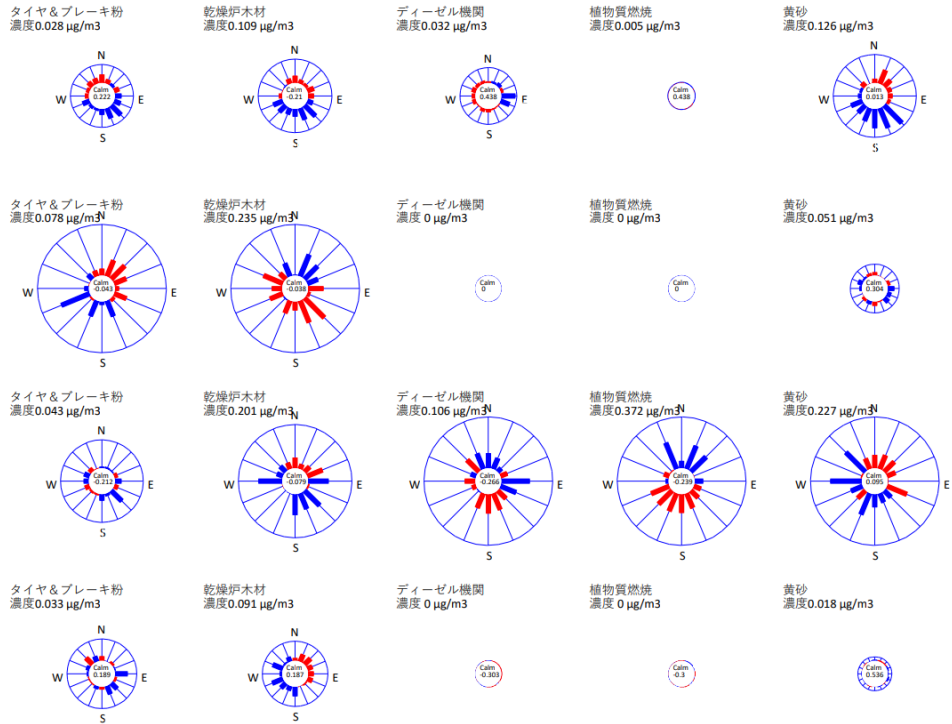


図 5(e) 発生源濃度と風向頻度の相関図(夏 タイヤ&ブレーキ粉塵、乾燥炉木材、ディーゼル機関、植物質燃焼、黄砂)

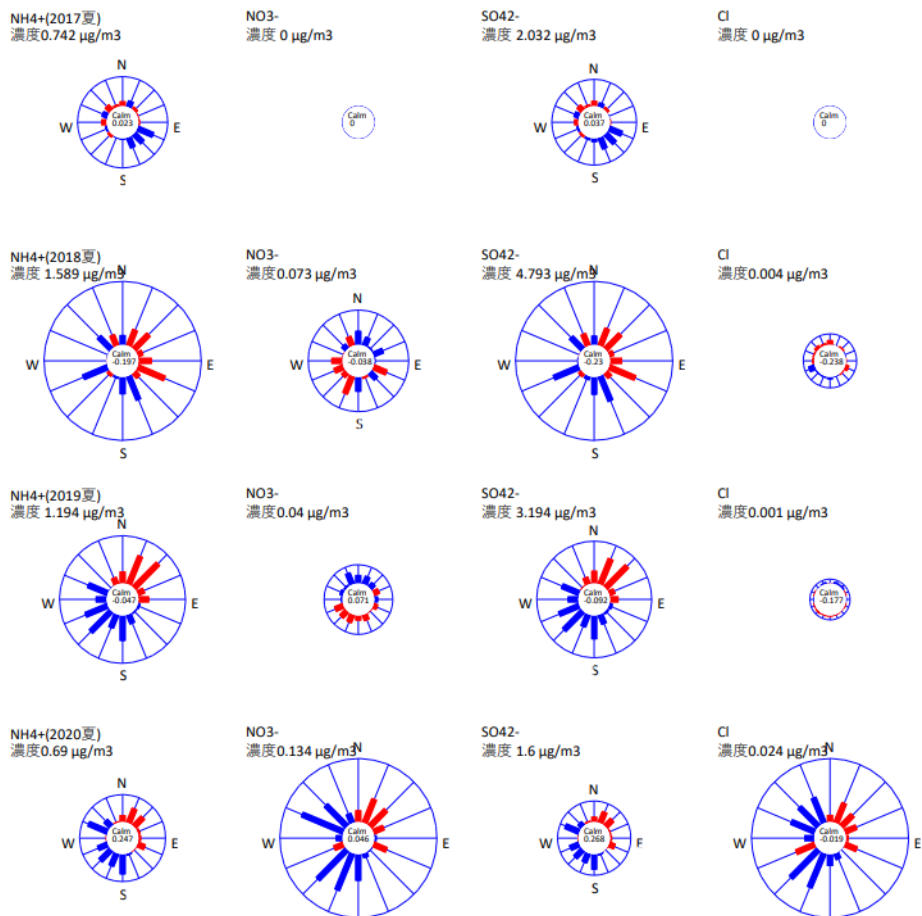


図 5(f) イオン成分濃度と風向頻度の相関図(夏  $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{Cl}^-$ )

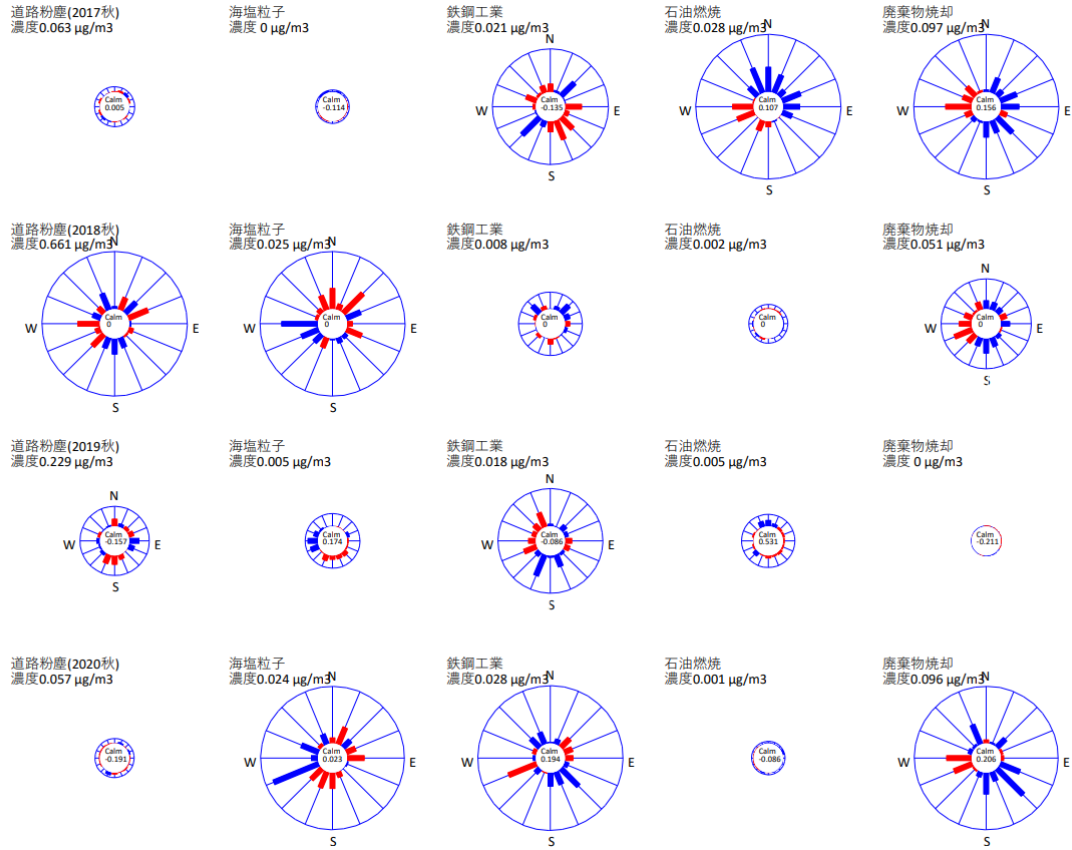


図 5 (g) 発生源濃度と風向頻度の相関図(秋 道路粉塵、海塩粒子、鉄鋼工業、石油燃烧、廃棄物焼却)

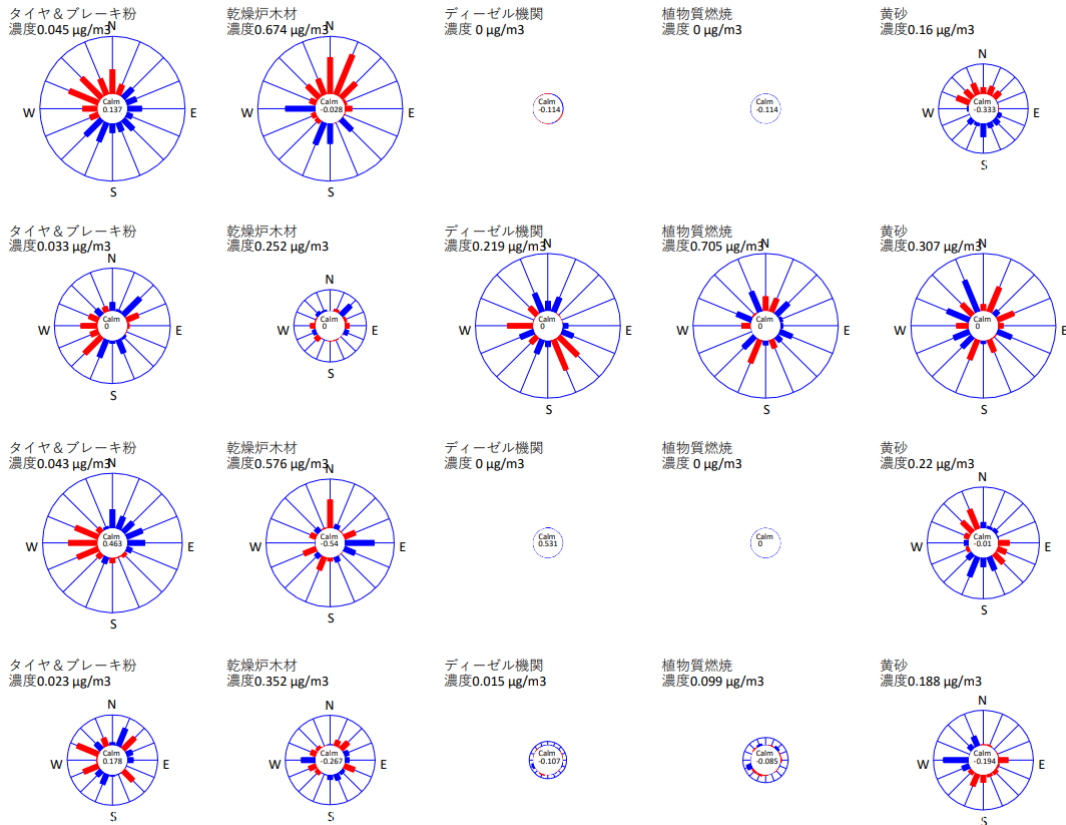


図 5 (h) 発生源濃度と風向頻度の相関図(秋 タイヤ&ブレーキ粉塵、乾燥炉木材、ディーゼル機関、植物質燃烧、黄砂)

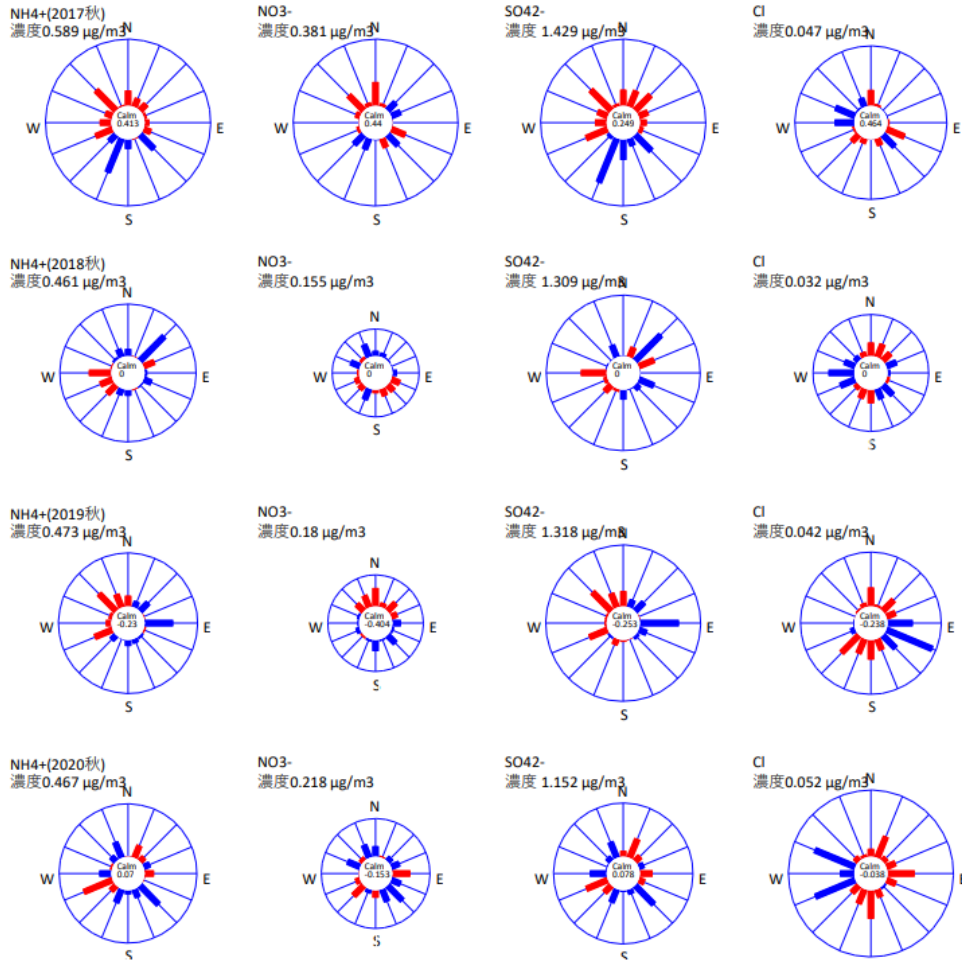


図 5 (i) イオン成分濃度と風向頻度の相関図(秋 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、Cl<sup>-</sup>)

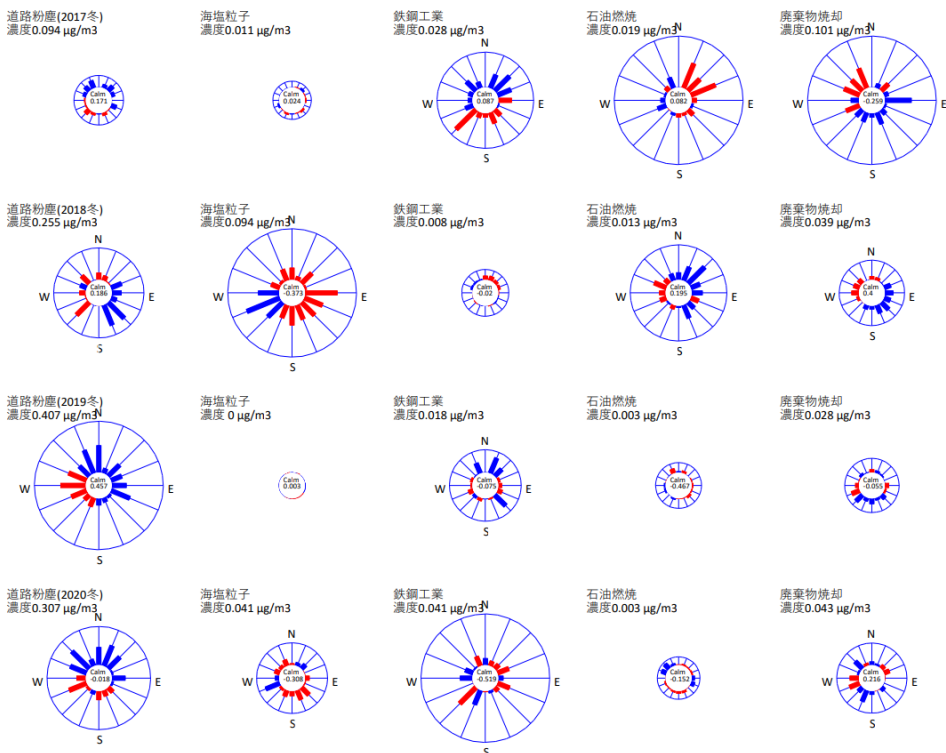


図 5 (j) 発生源濃度と風向頻度の相関図(冬 道路粉塵、海塩粒子、鉄鋼工業、石油燃焼、廃棄物焼却)

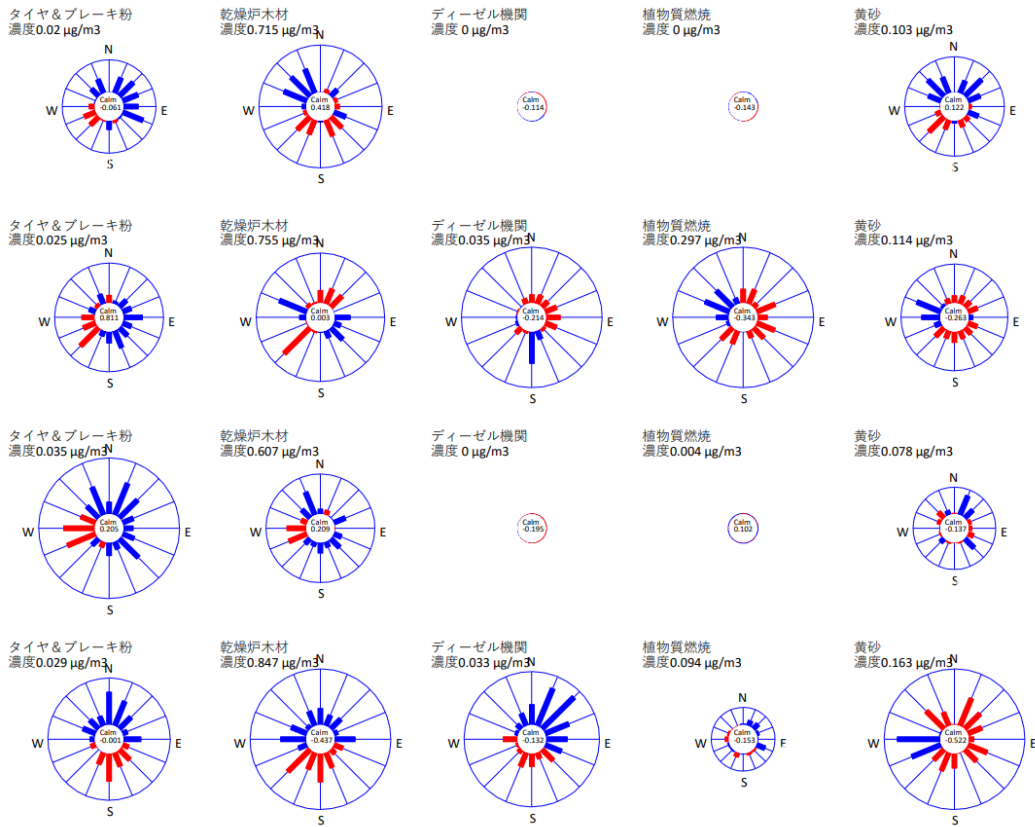


図 5(k) 発生源濃度と風向頻度の相関図(冬 タイヤ&ブレーキ粉塵、乾燥炉木材、ディーゼル機関、植物質燃焼、黄砂)

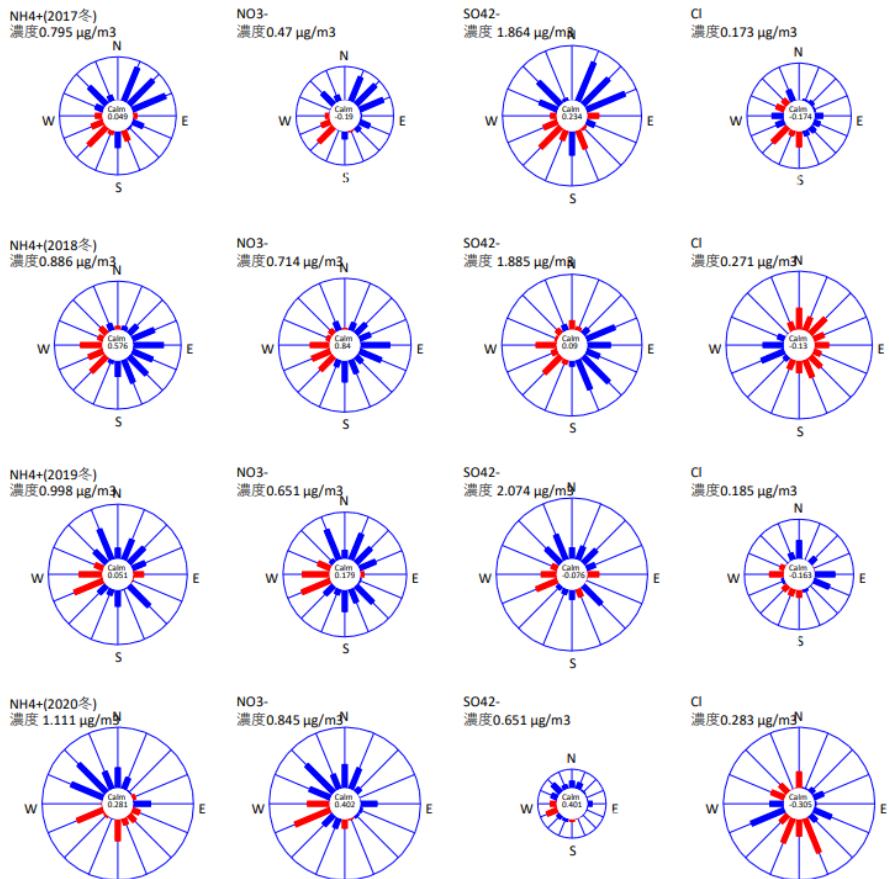


図 5(l) イオン成分濃度と風向頻度の相関図(冬  $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{Cl}^-$ )

「乾燥炉木材」のプロファイルデータ<sup>6)</sup>は、木くずを燃焼し、サイクロン、スクラバーで処理後のばい煙のうち、PM<sub>2.5</sub>粒子を捕集したものを基に作成されている。現状では、本研究の観測地点の周辺施設に木くずを燃料とする乾燥炉を利用している事業者等がいるかどうか把握できていないため、今後周辺環境を調査することとしたい。

「黄砂」は、年間を通じて西～南の方位からの風向頻度と正の相関が高い傾向だった。「黄砂」は大陸由来であり、調査地点からみると、大陸は南西寄りに位置しており、推定風向と概ね一致していた。

「鉄鋼工業」、「石油燃焼」、「廃棄物焼却」については、季節的な風向の特性はみられなかった。

## (2) イオン成分と風向

季節的な動向をみると、春季および秋季は、季節的な風向の特性はみられなかったが、夏季は全項目とも南西風と、冬季は北西～南まで広い風向に対しての正の相関が高い傾向だった。

イオン成分間の関係に着目すると、年間を通じて、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>とSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>の風向に対する相関が類似していることが分かった。NO<sub>3</sub><sup>-</sup>とCl<sup>-</sup>に着目してみると、春季に風向に対する相関が類似していた。

また、冬季にはNH<sub>4</sub><sup>+</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>の3成分が、風向に対する相関が類似していた。

これらの現象については、先に触れた松本らの既報<sup>9)</sup>や宝来<sup>10)</sup>の既報にあるように、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>およびSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>は、年間を通じて粒径分布に大きな変化がなく微小粒子領域にあり、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>およびCl<sup>-</sup>は、季節によって粒径分布に違いが生じ、このような相関関係になったと考えられる。

## 7. 成果と今後の課題

ベイズ統計手法によるCMB法で発生源寄与を推定できた。本研究で得られた未知発生源の寄与は決して小さいものではなく、用いた発生源プロファイルは決定的なものとは言えない。

発生源プロファイルは、本来、地域の特徴があると言われており<sup>5)</sup>、本県の環境に即した発生源プロファイルデータを作成していく必要がある。

風向データについても、今回は気象庁のデータを使用した。今後は実際の調査地点で風向データを収集し、より精度の高い解析を行えるようにしていく必要がある。

## 8. まとめ

これまでに文京小学校局で収集したPM<sub>2.5</sub>成分分析結果について、ベイズ統計手法によるCMB法を

用いて発生源寄与を推定した。また、得られた発生源寄与に質量濃度を乗じ、環境中での発生源濃度を算出し、その変化と風向との相関についても解析した。結果は以下のとおりであった。

### (1) 発生源寄与と推定

- 1) 選定した発生源 15 項目において、文京小学校局におけるPM<sub>2.5</sub>への寄与が高い項目は、「道路粉塵」、「乾燥炉木材」であった。
- 2) 春は、「黄砂」の寄与が高い傾向であった。
- 3) 秋から冬にかけては「海塩粒子」、「植物質燃焼」、「ディーゼル機関」の寄与がやや高く、「タイヤ&ブレーキ粉塵」は全季節を通じて寄与を確認できた。
- 4) 「自動車排気」、「ディーゼル車未規制車」については、ほとんど寄与がみられなかった。

### (2) 発生源濃度およびイオン成分濃度の変化

- 1) 「道路粉塵」は、全季節で観測され、濃度も比較的高い傾向であった。

「乾燥炉(木材)」は、秋季から冬季にかけて濃度が高くなる傾向であった。

「黄砂」は、春季に顕著に濃度が高くなる傾向であった。

- 2) イオン成分では、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>が最も濃度が高く、そのほかはNH<sub>4</sub><sup>+</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、Cl<sup>-</sup>の順であった。

季節的な傾向として、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>およびNH<sub>4</sub><sup>+</sup>は春季、夏季に濃度が高いことが示唆された。NO<sub>3</sub><sup>-</sup>およびCl<sup>-</sup>は、夏季は濃度が低く、冬季に高くなる傾向であった。

### (3) 発生源濃度およびイオン成分濃度に対する風向の影響

- 1) 風配図から、春季は特定の方位というものはなく、多方位から風が吹いている傾向がみられ、夏季は北東から、秋季および冬季は南西からの風が卓越していることが分かった。
- 2) 「道路粉塵」は冬季に北寄りの風向の頻度と正の相関が高い傾向だった。
- 3) 「乾燥炉木材」は、春季から秋季にかけて西寄り、冬季は北寄りの風向の頻度と正の相関が高い傾向だった。
- 4) 「黄砂」は、年間を通じて西～南の風向と正の相関が高い傾向だった。
- 5) NH<sub>4</sub><sup>+</sup>とSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>の風向頻度に対する相関が類似していた。
- 6) NO<sub>3</sub><sup>-</sup>とCl<sup>-</sup>は、春季に風向頻度に対する相関が類似していた。
- 7) 冬季は、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>の3成分の風向頻度に対する相関が類似し、Cl<sup>-</sup>のみ相関が異なる傾向を示した。

本研究は、これまでPM<sub>2.5</sub>の解析に用いられてきた最小二乗法のCMB法ではなく、ベイズ統計法のCMB法により発生源寄与を算出した。この方法の利点である未知発生源の存在の明確な仮定により、より確からしい発生源寄与が得られたと考える<sup>2)</sup>。

さらに、CMB解析で得られた発生源寄与を風向頻度との相関により解析した。

発生源プロファイルの選定など課題はあるものの、本研究で採用した解析法は、PM<sub>2.5</sub>成分分析結果の解釈に極めて有用であると考えられる。

## 文 献

- 1) 工藤香織, 他: 青森県における微小粒子状物質 (PM<sub>2.5</sub>) 成分測定結果. 青森県環境保健センター年報,**29**,83-88,2018
- 2) 花石竜治: ベイズ統計手法によりケミカルマスバランス法計算を行う表計算ソフトマクロの作成. 全国環境研会誌,**46**,132-137,2021
- 3) 環境省: 微小粒子状物質 (PM<sub>2.5</sub>) の成分分析ガイドライン (2011)
- 4) 柏木宣久, 他: 環境汚染に対する未確認発生源の寄与率の推定. 統計数理,**54**,123-146,2006
- 5) 平成 20 年度環境省請負業務結果報告書 平成 20 年度微小粒子状物質等実測調査 データ解析 (発生源寄与濃度の推計) 報告書, ムラタ計測器サービス株式会社, 2009
- 6) 東京都環境局 微小粒子状物質 (PM<sub>2.5</sub>) 対策について  
[https://www.kankyo.metro.tokyo.lg.jp/air/air\\_pollution/torikumi/pmn2\\_5/pm2\\_5.html](https://www.kankyo.metro.tokyo.lg.jp/air/air_pollution/torikumi/pmn2_5/pm2_5.html)  
(2021.8.11 アクセス可能)
- 7) 環境省: 微小粒子状物質 (PM<sub>2.5</sub>) の質量濃度及び成分測定 (手分析) 結果  
<https://www.env.go.jp/air/osen/pm/monitoring.html>  
(2021.8.11 アクセス可能)
- 8) 環境省: 微小粒子状物質曝露影響調査報告書 (2007)
- 9) 松本光弘, 他: 大気中エアロゾル成分のイオンクロマトグラフィーによる測定と挙動. 全国公害研会誌,**6-1**,15-21,1981
- 10) 宝来俊一: 各種大気エアロゾルの性状と動態に関する研究. 環境管理,**25**,75-89,1996
- 11) Excel アドイン工房「早狩」  
<http://www7b.biglobe.ne.jp/~hayakari/index.html>  
(2021.12.8 アクセス可能)
- 12) 気象庁: 過去の気象データ・ダウンロードサイト  
<https://www.data.jma.go.jp/gmd/risk/obsdl/index.php>  
(2021.11.23 アクセス)



## 深層学習を用いた湖沼における水質変動の予測

内海宣俊

機械学習手法の一つである深層学習は、人の気づかないデータの傾向や法則性を自動で検出することができ、膨大なデータの収集や解析処理が容易になった昨今では様々な分野で用いられている。今回、本県の公共用水域水質調査地点である十和田湖中央地点の表層における 1976 年度から 2009 年度までの水質等の各種データを学習データとして、深層学習により 2010 年度から 2019 年度の COD 値予測を試み、適用性について検討した。その結果、今回作成した学習モデルでは全体的な予測精度は低いものの、年度によっては比較的精度よく予測できた。このことから、予測対象のデータ傾向に対して適切な学習モデルを構築することができれば、精度の高い予測ができる可能性が示唆された。

Key Words : Deep learning, Neural network, Chemical Oxygen Demand

### 1. はじめに<sup>1,2,3)</sup>

深層学習 (Deep Learning) は機械学習手法の一つで、多層化したニューラルネットワーク(以下「NN」という。)を用いた帰納的な解析手法である。この手法は、収集したデータから特徴の強弱を表す特徴量(例えば、音声データであれば「声の高さ」や「声の大きさ」など、声を見分けるために必要な情報のこと)の抽出を自動で行い、分類や予測に活用されている。

この手法では、データやパラメータが膨大で、人間では気づかないようなデータの傾向や法則性なども、自動的に見つけ出し、分類や予測に活用することが可能である。

近年は、情報処理技術の発達により、膨大なデータの収集や解析処理が容易になり、深層学習を比較的取り入れやすい環境が整備されてきており、最近では、中谷ら<sup>4)</sup>が深層学習を用いた感潮河川中の DO(溶存酸素量)や EC(電気伝導度)の水質変動予測について報告するなど、水質予測の分野でも活用が進んできた。

さて、本県および秋田県にまたがる湖である十和田湖では、昭和 61 年度以降、COD(化学的酸素要求量)値が最も厳しい環境基準である湖沼 AA 類型 (COD 1mg/L 以下) を達成できない状況にあり、

その原因を解明するため、これまでに様々な関係機関が汚染源負荷量などの調査研究を進めてきた。これらの調査研究における水質解析では、物理系や生物化学系を定式化した解析モデルが用いられているが、水質に寄与する降雨などの気象現象などのほか、湖内の流動状態、内部生産の変化など、様々な因子を考慮する必要があり、精度の高い水質現象の再現や予測が難しいのが現状である。

そこで、今回、十和田湖における COD の変動に対して、深層学習を適用した手法により水質現象の再現・予測を試み、その適用性について検討した。その結果、若干の知見が得られたので報告する。

### 2. 解析モデル

#### 2.1 NN とは<sup>1,2)</sup>

NN は、人間の神経回路(ニューロン)の構造をモデル化したネットワーク(図 1)である。

実際のニューロンでは、細胞膜内の細胞膜外に対する相対電位を変えることで情報伝達を行い、電位が高い状態は「活性化状態」とされ、シナプス内にあるシナプス小胞から神経伝達物質が放出され、隣接する次のニューロンを活性化状態にしていく。これら一連の流れによって情報が伝達されたり、記憶が定着したりする。NN はこのようなシ



システムに倣い、ニューロンの値を「活性値」と呼び、出力ニューロンの活性値は、つながっている入力ニューロンの活性値を、シナプス上に仮想的に定義された重みを掛けて合計し、その値に対して活性化関数を適用して得られた値を用いることによりデータ処理を行う構造となっている。

つまり、数学的に NN の仕組みを考えると、入力に対して接続層とよばれるパラメータを持った「線形変換」と、活性化関数とよばれる「非線形関数」を繰り返し適用していくことで分類や予測値を計算するもの、つまり、単純な関数を合成し、複雑な関数を構成したものであると言える。

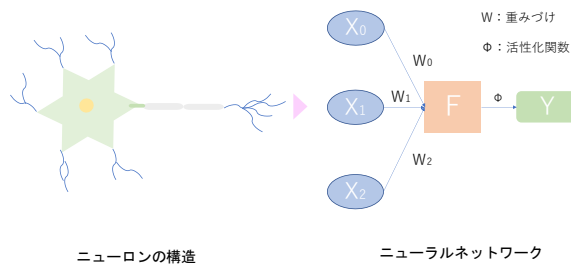


図1 ニューラルネットワークの概念図

## 2.2 深層学習<sup>1), 2), 3)</sup>

深層学習は、2.1 で説明した NN を用いる学習モデルであり、図 2 に示すように入力層と出力層の間にある隠れ層が「深層」と呼ばれるため、深層学習と名付けられている。ちなみに隠れ層とは、入力層から受け取った情報を様々な組み合わせで伝えていき、出力層に役立つ形に情報を変形して渡す役割を担う層である。

また、ここでの「学習」とは、より適切な分類や予測値を導くために、そこで使われる関数の挙動をパラメータの調整により修正していく行為(最適化問題を解くこと)である。

従来の機械学習では、人工知能が学習する際に着目するデータの特徴と、人が設定した特徴が異なる場合に精度が低くなるという問題があった。

これに対し深層学習では、人はネットワーク構造を設計するのみであり、人工知能がデータを学習し自ら特徴を捉え、それに基づいてまた学習していくスタイルであるため、結果として精度が良くなる。画像認識における分野では、深層学習の精度は人間を上回っており、他の分野でも精度の向上が進んでいる。

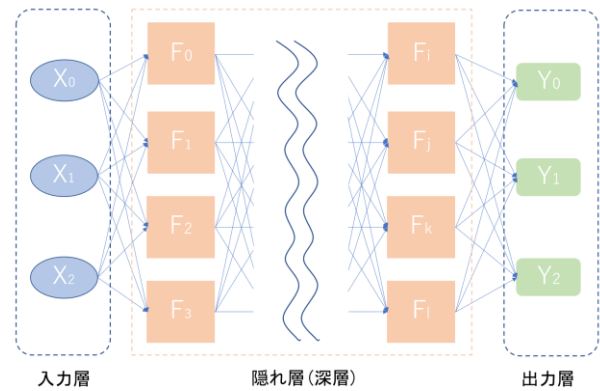


図2 深層学習の概念図

## 2.3 モデル概要

### (1) 使用したモデル

使用した深層学習モデルの構成について図 3 に示す。

今回は、階層型 3 層 NN を用い、アルゴリズムにはロジスティック回帰モデルを、損失関数には MSE (mean\_squared\_error) を採用した。

なお、深層学習モデルおよびアルゴリズムの開発環境は linux ubuntu20.04、Anaconda、python3.8.5、Keras<sup>5)</sup>を導入して構築し、必要に応じてコード編集して使用した。

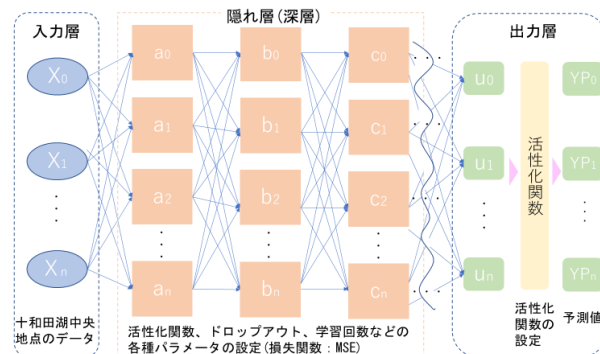


図3 使用モデルの構成

### (2) 学習条件の最適化の検討

データの加工法、活性化関数、隠れ層の数など各種項目のパラメータを様々な組み合わせ、予測精度が最も良くなる設定を検討した。

各項目のパラメータの検討範囲を表 1 に記載する。

### (3) 学習条件の設定

(2)により、およそ 600 のパターンを検討した結果、今回最も精度が高かった設定を表 2 に示す。

表 1 各項目のパラメータの検討範囲

設定項目	選択範囲
データ加工(学習データ)	正規化, 標準化
データ加工(検証データ)	正規化, 標準化
隠れ層における活性化関数	Relu, Softplus, Linear
隠れ層の階層	1~11
隠れ層のユニット数	5~250
ドロップアウト	0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5
Learning Rate	0.0001, 0.001, 0.01, 0.1
学習回数	50~2500
バッチサイズ	64, 128, 256, 512
最適化関数	Sgd, Rms, Adam, Adamax, Nadam, Adam(lr)
出力層における活性化関数	Softmax, Sigmoid

表 2 本研究における最終的な設定条件

設定項目	設定値
データ加工(学習データ)	標準化
データ加工(検証データ)	標準化
隠れ層における活性化関数	Relu
隠れ層の階層	5
隠れ層のユニット数	120
ドロップアウト	0.4
Learning Rate	0.0001
学習回数	800
バッチサイズ	128
最適化関数	Adam
出力層における活性化関数	Softmax

データは標準化により処理し、隠れ層における活性化関数には Relu 関数を、隠れ層の階層は 5 階層、ユニット数は 120、ドロップアウトは 0.4、Learning Rate は 0.0001、学習回数は 800 回、バッチサイズは 128 とした。また、出力層の活性化関数には softmax を採用し、学習には誤差逆伝播法および最適化関数 Adam を用いた。

### 3. データ

#### 3.1 使用データ

データは、当センターが保有しているデータおよび青森県庁のホームページ<sup>6)</sup>に掲載されている公共用水及び地下水の水質測定結果のうち、図 4 に示す十和田湖の中央地点(北緯: 40°28'28" 東経: 140°53'18")の表層における 1976 年度から 2019 年度までの「調査月」、「水温」、「pH」、「クロロフィル-a」、「透明度」、「COD」の 6 項目並びに気象庁ホームページに掲載されている過去の気象データ<sup>7)</sup>のうち、地点: 青森県「休屋」、期間: 1976 年度から 2019 年度、項目: 「最高気温」、「最大降水量」、「最大風速」の 3 項目の計 9 項目とした。

ただし、「最高気温」、「最大降水量」、「最大風速」の 3 項目については、水質の応答性を考慮

し、十和田湖の中央地点で公共用水域調査を実施した日の前日から連続した過去 15 日分の平均値を用いた。

なお、一部の項目に欠測がある調査日のデータについては使用しないこととした。

#### 3.2 学習データおよび検証データ

2.3 の学習モデルの性能評価には、3.1 の使用データのうち、1976 年から 2009 年のデータ(計 1809 データ)を学習データとし、2010 年から 2019 年のデータ(計 79 データ)を検証データとした。



図 4 十和田湖の調査地点図

### 4. 予測精度と適用性の検討

2.3 で設定した学習モデルにより検証データを入力し予測値を求めるが、深層学習による予測では、学習条件が同じ場合でも、実施ごとに予測値にある程度のばらつきが生じるため、今回は 10 回試行して予測値を求め、その 10 回分の予測値の平均値を最終的な予測値とした。

そして、求めた予測値と実測値と比較することで予測精度を評価し、今回のモデルの適用性について検討した。

### 5. 結果と考察

検証データの実測値と計算値の時系列データおよびその誤差を図 5 に示す。

図 5 をみると、2012 年度から 2015 年度にかけて実測値と予測値の誤差が大きい傾向がみられた。全期間における実測値と予測値の誤差の最大幅は 1.07 mg/L であった。また、全体的に実測値に比べ予測値が低い傾向であった。

一方、2010 年度、2011 年度および 2018 年度をみると、比較的精度よく予測できていた。

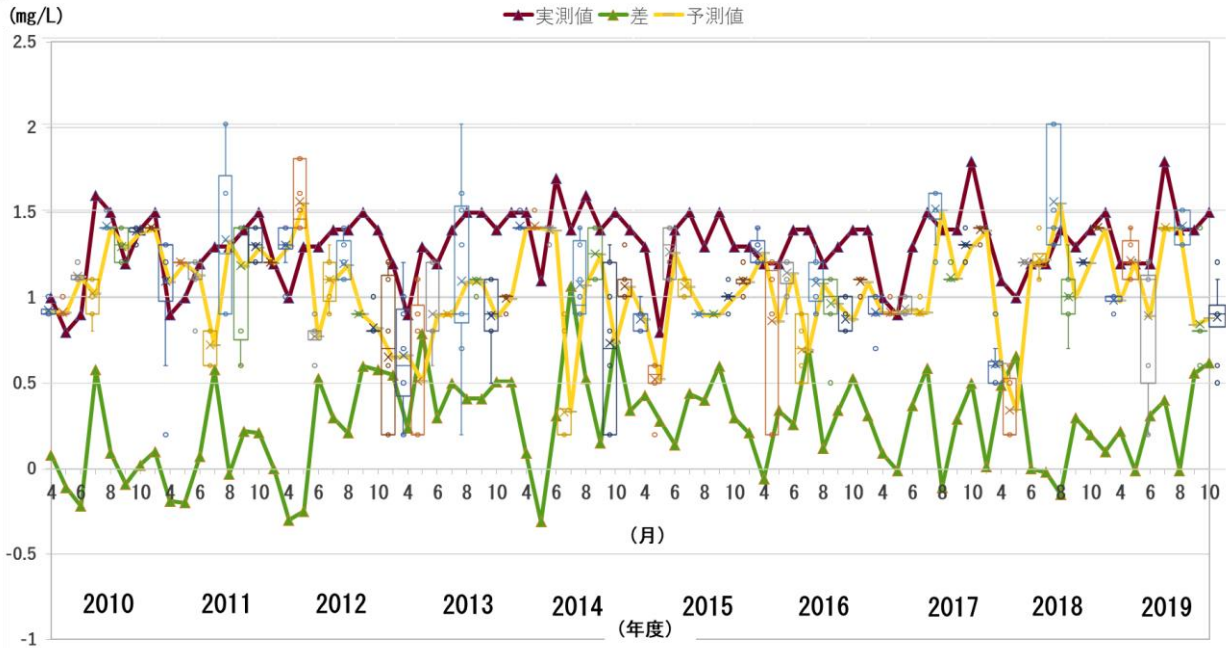


図 5 検証データの実測値と計算値の時系列データおよびその誤差

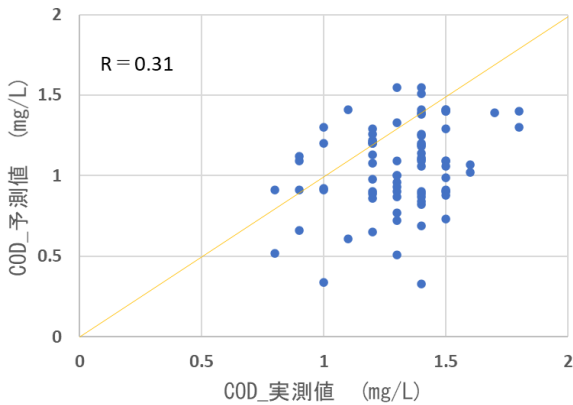


図 6 実測値と予測値の比較(検証データ)

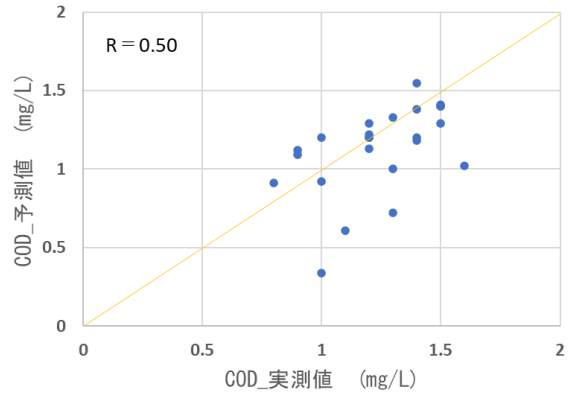


図 7 実測値と予測値の比較(2010、2011、2018年度)

つぎに、全検証データの実測値と予測値の比較を図 6 に、検証データのうち、比較的精度の良かった 2010 年度、2011 年度および 2018 年度の実測値と予測値の比較を図 7 に示す。

全検証データにおける相関係数は 0.31 であったが、2010 年度、2011 年度および 2018 年度における相関係数は 0.50 と約 1.7 倍の差であった。

ここで、各月ごとの実測値と予測値の誤差の平均値を表 3 に示す。他の月に比べて誤差が大きいのは、7 月および 10 月、誤差が比較的小さかったのは 4 月および 8 月であった。誤差の大きい月では、予測値が 0.3 mg/L になるなど著しく低い値をとることが多く、このことが予測値の精度を大きく低下させる要因であると考えられた。

表 3 各月ごとの誤差の平均値

月	誤差(平均値(mg/L))
4	0.22
5	0.30
6	0.25
7	0.52
8	0.21
9	0.36
10	0.42
11	0.24

## 6. 今後の課題

今回は、ロジスティック回帰モデルにより学習モデルを構築して検討を試みたが、さらに予測精度を高めるため、今後は「非線形時系列モデル」など、他のモデルによる検討も進め、予測値が著しく

小さくなる現象を改善する必要がある。また、学習データについても、全体的なデータ数の不足の可能性や、湖内の内部生産に関係するデータが少ないなど課題が多いため、引き続きデータの収集に努めていく必要がある。

## 7. まとめ

今回、十和田湖における COD の変動に対して、深層学習を適用した手法により水質予測を試み、その適用性について検討した結果は以下のとおりであった。

- 1)今回作成した学習モデルによる実測値と予測値の相関係数は 0.31 であった。
- 2)全体的に実測値に比べ予測値のほうが低い傾向であった。
- 3)2010 年度、2011 年度および 2018 年度は比較的精度よく予測できており、この期間における実測値と予測値の相関係数は 0.50 であった。
- 4)7 月および 10 月は他の月に比べ、誤差が大きい傾向であった。

作成した学習モデルでは、予測精度が低く実用には程遠い段階であるが、比較的精度よく予測できた年度もあり、予測対象のデータ傾向に対して適切な学習モデルを構築することができれば、精度の高い予測ができる可能性が示唆された。深層学習では、人の気づかないようなデータの傾向や法則性などを自動で検出することができ、様々なデータの解析に活用できる可能性が高い。また、一度学習モデルを構築出来れば、容易に精度の高い予測が可能となる。したがって、今後も継続して深層学習モデルの調査研究を進めていく必要があると考える。

## 謝辞

今回、深層学習に使用したモデルや学習における設定に際して、多大なご協力をいただいた当センター総務室の一戸重文技能技師に謝意を表す。

## 文 献

- 1)山口達輝, 他: 図解即戦力 機械学習&ディープラーニングのしくみと技術がこれ 1 冊でしっかりわかる教科書. 株式会社技術評論社, 2019
- 2)岡野原大輔: ディープラーニングを支える技術. 株式会社技術評論社, 2022
- 3)赤石雅典: 最短コースでわかるディープラーニングの数学. 日経 BP 社, 2021
- 4)中谷祐介, 他: 深層学習を用いた感潮河川中の水質変動予測. 土木学会論文集 B1(水工学), 73, 4, I-1141-1146, 2017
- 5)Keras Documentation  
<https://keras.io/ja/>  
(2022.1.24 アクセス)
- 6)青森県庁 HP 公共用水及び地下水の水質測定結果  
<https://www.pref.aomori.lg.jp/soshiki/kankyo/hozen/kousui.html>  
(2022.1.24 アクセス)
- 7)気象庁: 過去の気象データ・ダウンロードサイト  
<https://www.data.jma.go.jp/gmd/risk/obsdl/index.php>  
(2022.1.24 アクセス)

## 青森県内における稲わら焼却による大気汚染状況調査 —常時監視測定データ及び有機化合物等調査による実態把握—

菅尾 聡也

稲わら焼却による大気汚染状況調査については、2019年度に測定地点を五所川原第三中学校局の1地点から、つがる市立瑞穂小学校他の2地点に変更したところであるが、その新旧調査地点のデータの比較及び考察を行い、その結果に基づき今後の調査方法について検討した。有機化合物等の測定結果の比較では、以前の調査地点よりも3～5倍程度高濃度で検出され、地点変更後の2地点では、稲わら焼却発生源付近における有機化合物等濃度の状況を捉えることができた。また、持ち運びサイズであり、簡便な方法でPM<sub>2.5</sub>濃度の測定が可能なPM2.5テスターを用いて、稲わら焼却発生源付近におけるPM2.5濃度の確認を行った。今後は有機化合物等濃度とPM2.5濃度の相関関係を確かめるために、当該機器を活用し、稲わら焼却時以外のデータ等含めた比較検討データの収集を行いたい。

Key words : benzo[a]pyrene , aldehydes , suspended particulate matter , fine particulate matter(PM<sub>2.5</sub>), rice straw incineration

### 1. はじめに

稲わらの焼却は青森県全体としては減少傾向にあり、2020年度の水稲作付面積に対する焼却面積の割合は1.1%<sup>1)</sup>となっている。しかし、津軽地方では、稲わらを依然として焼却している地域もあり、毎年9～10月に集中する稲わら焼却時の煙による健康への影響や交通障害等が懸念されている。青森県では、1970年代に、五所川原地区を中心として稲わら焼却時の環境大気調査を開始し、2006年度からは一般環境大気測定局である五所川原第三中学校局（以下、「五三中局」という。）において、アルデヒド類（ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド）及びベンゾ[a]ピレン並びに粉じん濃度（以下、「有機化合物等濃度」という。）の調査を毎年実施していた。

しかし、五三中局は稲わら焼却が行われる田園地帯と距離が離れたところに位置しているため、2019年度から有機化合物等濃度の調査地点をより田園地帯に近い場所であるつがる市立瑞穂小学校（以下、「瑞穂小学校」という。）とつがる市立穂波小学校（以下、「穂波小学校」という。）の2地点に変更し調査を行った。

今回、地点変更以降の有機化合物等の調査結果及び県内の大気汚染常時監視データを基に、稲わら焼却による大気汚染状況の考察を行い、その結果に基づき今後の調査方法について検討を行ったので報告する。

### 2. 調査の概要

#### 2.1 調査地点

五三中局及び瑞穂小学校と穂波小学校の2地点並びに比較対象地点の弘前市立第一中学校局（以下、「一中局」という。）を図1に示す。

五三中局は一般環境大気測定局であり、前述のとおり田園地帯とは離れた地域に立地している。一方で、瑞穂小学校及び穂波小学校の2地点は広範囲にわたる田園地帯に近く、稲わら焼却が多く行われる地域であり、稲わら焼却の時期になると煙により周囲の視界が悪くなる地域である。（図2）

比較対象地点の一中局も田園地帯とは離れた地域に立地しており、稲わら焼却の影響が少ないと考えられる。また、一中局は「有害大気汚染物質等モニタリング調査」の実施地点であり、本調査における有機化合物等濃度との比較が可能であることから比較対象地点に選定した。

#### 2.2 調査項目及び解析期間

調査項目は、浮遊粒子状物質（以下、「SPM」という。）、微小粒子状物質（以下、「PM<sub>2.5</sub>」という。）及び有機化合物等濃度を調査項目として選定した。SPM濃度及びPM<sub>2.5</sub>濃度に関しては、大気汚染常時監視システムで収集した五三中局のデータを使用し、SPM濃度は2008年度から2021年度のデータを、PM<sub>2.5</sub>濃度は2011年度から2021年度のデータを解析対象とした。なお、2021年度の測定値については速報値である。

有機化合物等濃度については2011年度から2021年度



を解析対象とした。なお、2019年度以降のデータは瑞穂小学校及び穂波小学校地点のものとなっている。

また、比較対象地点である一中局は2017年度から「有害大気汚染物質等モニタリング調査」により有機化合物等の測定を開始したため、2017年度から2021年度を解析対象とした。

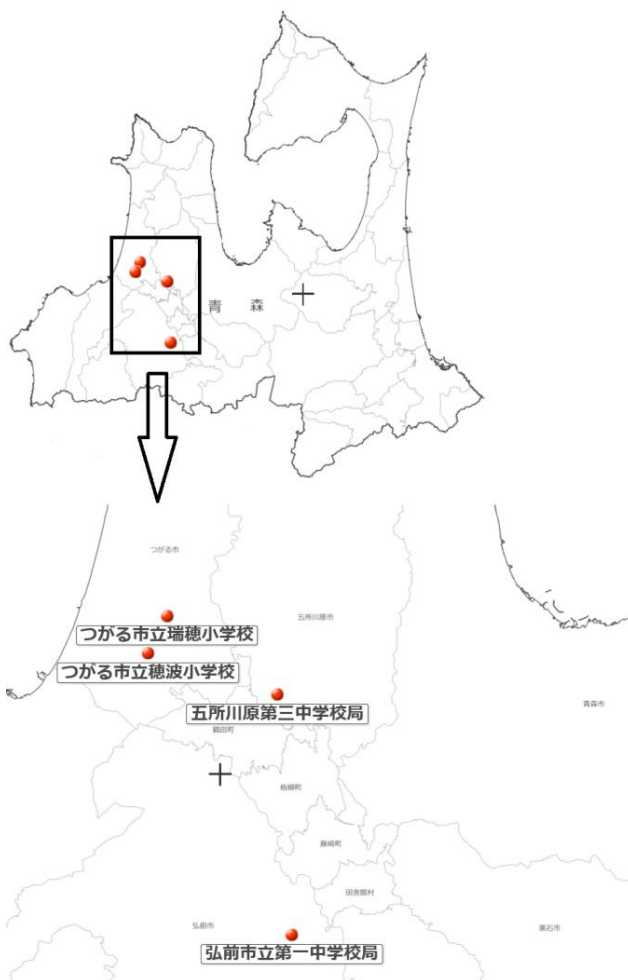


図1 調査地点



図2 稲わら焼却状況の様子（つがる市）

## 2.3 有機化合物等濃度の測定について

有機化合物等濃度の測定は、有害大気汚染物質測定法マニュアル（環境省）に基づき実施した。測定日については稲わら焼却が行われると予想される日を選んで各種サンプラーを設置し、サンプリングを行った。

なお、2011年度から2012年度までは12時間サンプリング、2013年度から2018年度までは24時間サンプリング、2019年度から2021年度は6時間サンプリングで実施した。

## 3. 結果と考察

### 3.1 大気汚染常時監視データについて

#### (1) 月平均値の推移

五三中局におけるSPM濃度及びPM<sub>2.5</sub>濃度の月平均値の年間推移について、年度ごとに表したものを図3に示す。測定機の故障や不具合により月の半分以上の日平均値が欠測となった月については除外した。

SPM濃度及びPM<sub>2.5</sub>濃度ともに、概ね春から夏にかけて高く、夏から冬にかけて低い濃度で推移しているが、10月は9月及び11月に比べると一時的に高くなるが多かった。

これは、青森県での、稲わらの焼却が概ね9月末から11月初めにかけて行われ、10月にピークを迎えることが多いためと考えられた。

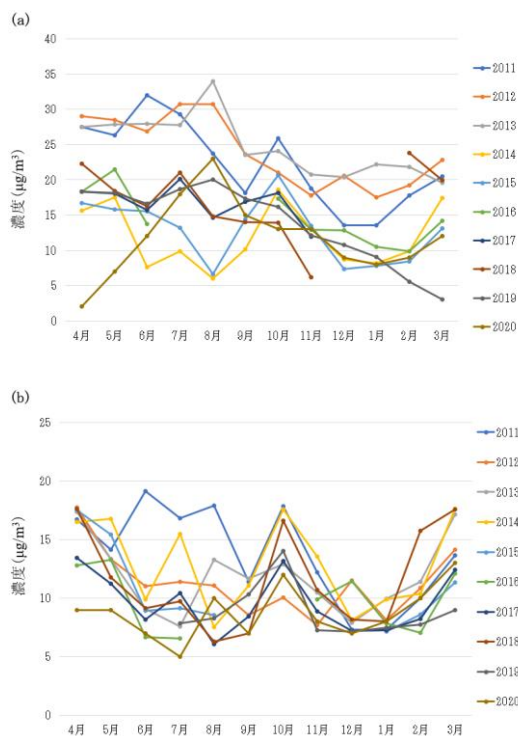


図3 月平均値の推移 ((a)SPM濃度、(b)PM<sub>2.5</sub>濃度)

## (2) 経年変化

五三中局の10月期におけるSPM濃度及びPM<sub>2.5</sub>濃度の平均値、津軽地域のうち、五三中局がある青森県西北地域における水稲作付面積に対する稲わら焼却面積及び稲わら販売希望者と買取希望者の商談成立数量(ha換算)<sup>1)、2)</sup>の経年変化を図4に示す。

SPM濃度及びPM<sub>2.5</sub>濃度について、2009年度以降は減少傾向にあることが分かった。

また、稲わら焼却面積は2010年度以降で大きく減少し、稲わら販売希望者と買取希望者の商談成立数量は2010年度以降増加傾向にあることが分かった。

青森県では2010年度に「青森県稲わらの有効利用の促進及び焼却防止に関する条例」を施行し、巡回指導や稲わら焼却等の防止に関する啓発を行っている。また、稲わら有効活用の促進として、稲わら販売希望者と買取希望者のマッチングリストを作成しており、県内外の稲わらの流通促進に取り組んでいる。

このことを踏まえると、SPM濃度及びPM<sub>2.5</sub>濃度が減少傾向を示す時期とは若干のずれがあるものの、近年の減少傾向には、当該条例に係る取組みの効果が表れていると推察できる。

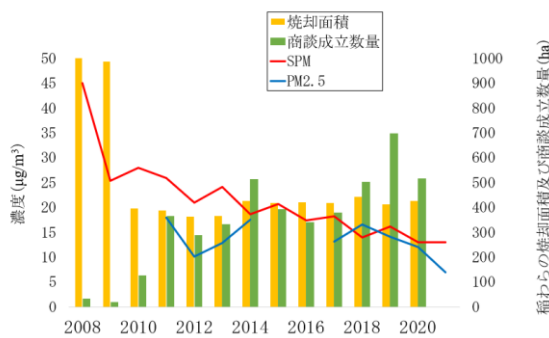


図4 月平均(10月)値、稲わらの焼却面積及び稲わら商談成立数量の経年変化(西北地域)

## (3) 稲わら焼却の集中時期について

2021年度の9月20日から10月31日におけるSPM濃度及びPM<sub>2.5</sub>濃度の1日平均値の推移(折れ線)と五所川原市のアメダス観測地点における日降水量(棒)の推移を図5に示す。

青森県農林水産部農産園芸課によると、今年度の稲刈りの始めは9月16日であり、それ以降でSPM濃度及びPM<sub>2.5</sub>濃度の上昇が確認できたのは、降水量の多い日の直前であった。焼却には数日間降雨がなく稲わらが乾燥

する等の条件が必要とされる。また、焼却後の延焼を防ぐため、焼却は雨予想の前日に行われる傾向がある。

以上のことから稲刈りの進捗状況や天気予報等の情報を確認することで、稲わら焼却が集中して行われる時期を概ね推察することが可能であると考えられる。

## 3.2 有機化合物等濃度の測定結果について

### (1) 地点変更後の測定結果について

アルデヒド類は合成原料として製造されるほか、燃焼過程によって生成される。また、ベンゾ[a]ピレンは木材の燃焼、剪定くずや農業廃棄物などのバイオマスの不完全燃焼、自動車や航空機の排ガスなどで発生することが知られており、青森県では、稲わら焼却が集中して行われると予想される日を選んでこれらの有機化合物等の濃度測定を実施している。

図6に稲わら焼却調査における有機化合物等濃度の推移を示す。変更後の2地点では、いずれも五三中局における調査結果と比較すると約3~5倍高い濃度が検出された。これは、当該地点が田園地帯に近く、周囲で稲わら焼却が行われていることに起因していると考えられる。また、比較対象地点である一中局で実施している有害大気汚染物質等モニタリング測定結果(2019年~2020年度)を表1に示す。同年度の稲わら焼却調査における有機化合物等濃度はいずれの年度においても、有害大気汚染物質等モニタリングの最大値よりも高い値を示した。上記の2つの調査でサンプリングの期間に差があること、稲わら焼却調査が濃度推移のピークとなる時間を狙ってサンプリングを行っていることもあるが、地点変更後の2地点では、稲わら焼却発生源付近における有機化合物等濃度の状況を捉えることができたと考えられる。

### (2) 有機化合物等濃度とSPM濃度及びPM<sub>2.5</sub>濃度の相関

既報<sup>3)</sup>において、五三中局における2006年度から2018年度(ただし、PM<sub>2.5</sub>については2011年度から2018年度)までの調査結果を用いた単相関解析を行っており、その結果からSPM濃度及びPM<sub>2.5</sub>濃度と有機化合物等濃度の良好な正の相関が認められている。この結果に調査地点が変更になった2019年度から2021年度の測定結果を追加して単相関解析を行った結果を図7に示す。なお、SPM濃度及びPM<sub>2.5</sub>濃度は、有機化合物等のサンプリング時間帯における大気汚染常時監視データの平均値で

あり、また、解析対象に一つでも欠測がある年度は除外して解析を行った。

図7及び表2に示すとおり、SPM濃度及びPM<sub>2.5</sub>濃度とベンゾ[a]ピレン濃度について、既報の結果ほど相関係数が高くはないが、正の相関が認められた。(r=0.660~0.695)

また、PM<sub>2.5</sub>濃度とアルデヒド類濃度についても、既報の結果ほど相関係数が高くはないが、正の相関が認められた。(r=0.695)

一方でSPM濃度とアルデヒド類濃度については、既報のような明確な相関関係は認められなかった。SPM濃度

及びPM<sub>2.5</sub>濃度と有機化合物等濃度が既報の結果ほど相関係数が高くはない又は明確な相関関係は認められなかった要因としては、SPM濃度及びPM<sub>2.5</sub>濃度の測定を行っている五三中局と有機化合物等濃度の測定を行っている瑞穂小学校及び穂波小学校との距離が離れていることが考えられる。そのため、稲わら焼却におけるSPM濃度及びPM<sub>2.5</sub>濃度と有機化合物等濃度との正確な関係性を得るには、有機化合物等濃度の測定地点もしくはその付近におけるSPM濃度及びPM<sub>2.5</sub>濃度の測定が必要である。

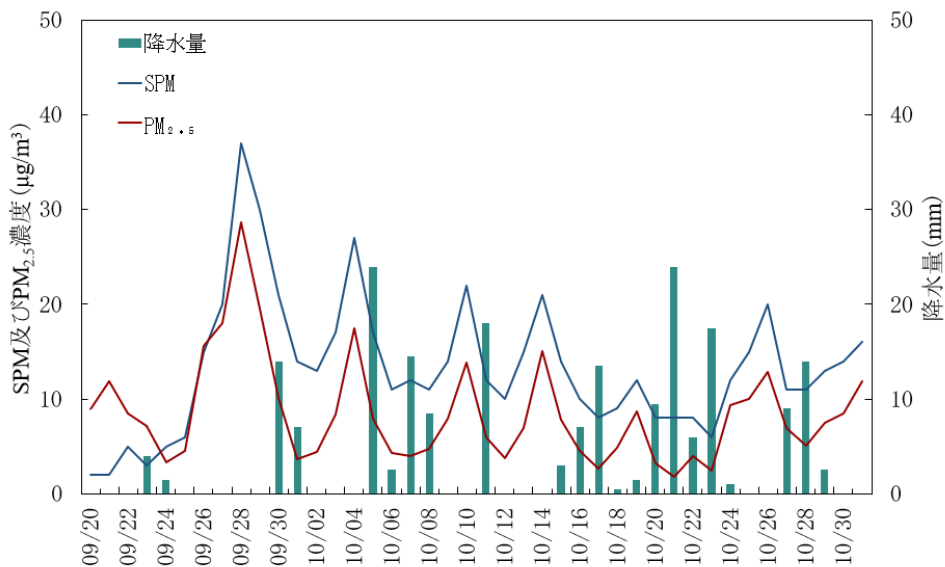


図5 五所川原第三中学校局におけるSPM濃度、PM<sub>2.5</sub>濃度及び降水量の推移(9~10月)

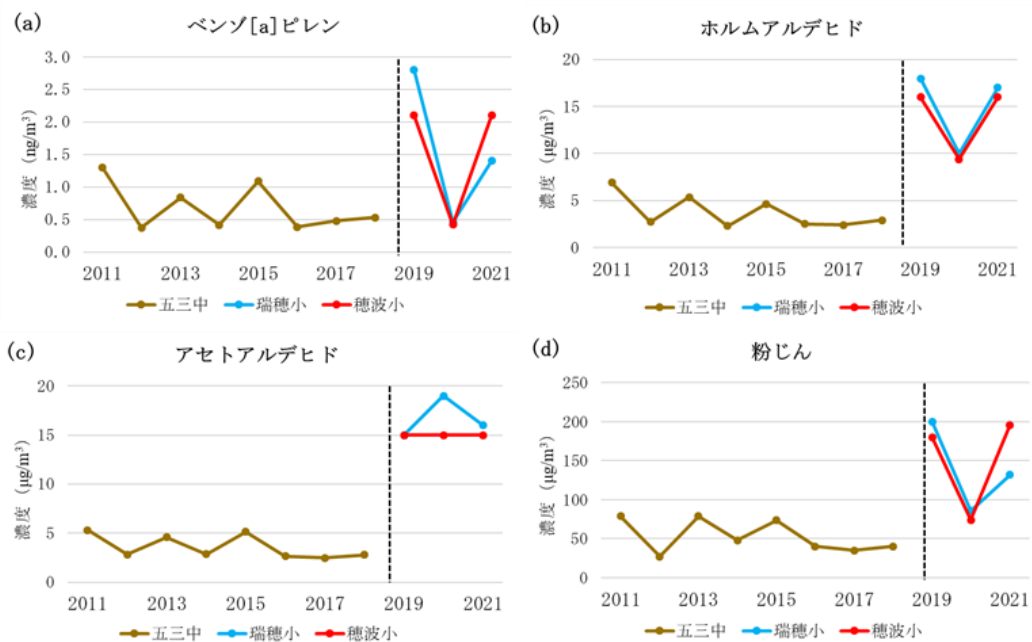


図6 稲わら焼却調査における有機化合物等濃度の推移

((a)ベンゾ[a]ピレン、(b)ホルムアルデヒド、(c)アセトアルデヒド、(d)粉じん)



表1 一中局における有害大気汚染物質等モニタリング測定結果(年間平均値(最小値～最大値))

測定年度	ベンゾ[a]ピレン (ng/m <sup>3</sup> )	ホルムアルデヒド (μg/m <sup>3</sup> )	アセトアルデヒド (μg/m <sup>3</sup> )
2019年度	0.096 (0.0082 ~ 0.44)	2.3 (0.88 ~ 6.1)	1.5 (0.68 ~ 4.1)
2020年度	0.086 (0.0055 ~ 0.28)	1.9 (0.91 ~ 3.2)	1.3 (0.77 ~ 2.0)

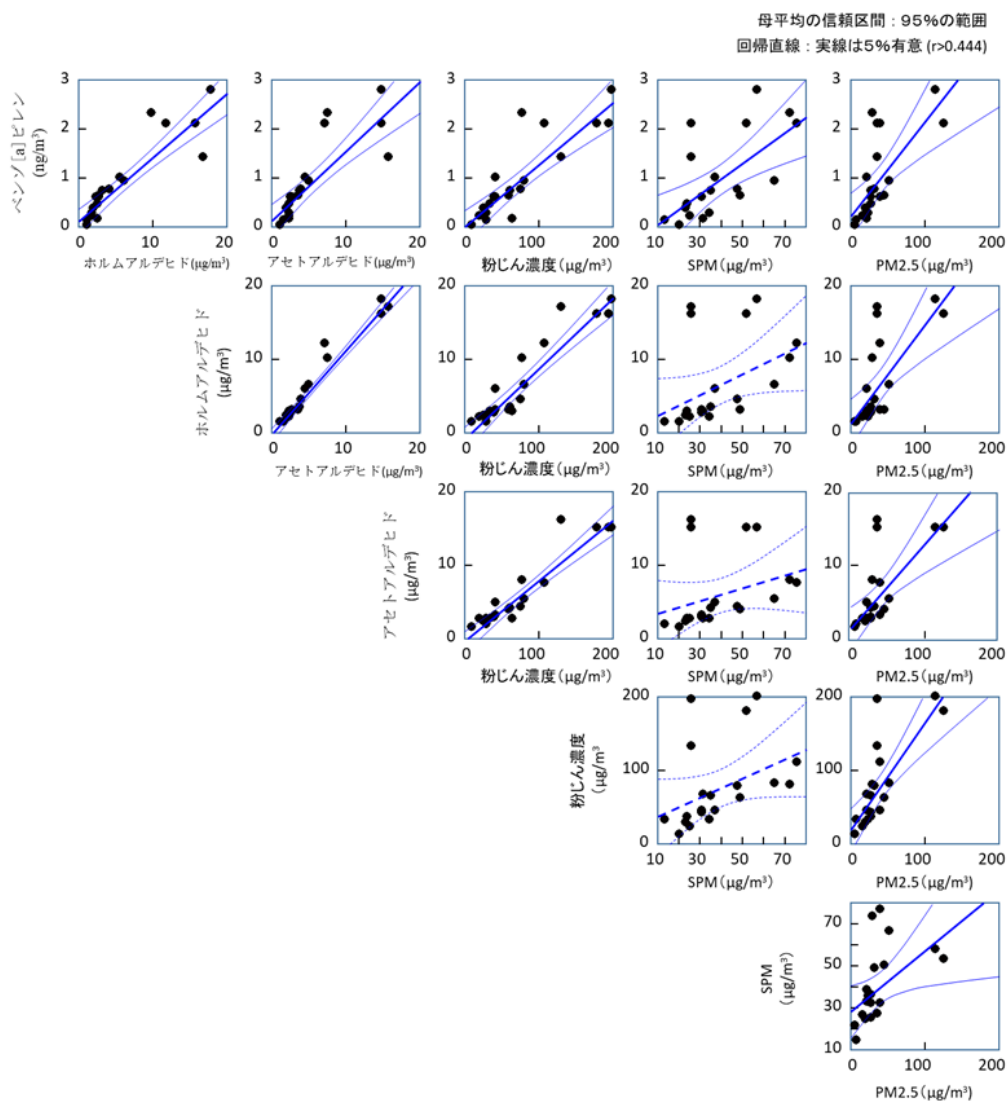


図7 単相関図

表2 単相関行列 (n=20)

単相関行列	ベンゾ[a]ピレン	ホルムアルデヒド	アセトアルデヒド	粉じん濃度	SPM	PM <sub>2.5</sub>
ベンゾ[a]ピレン	1	0.911**	0.849**	0.867**	0.660**	0.695**
ホルムアルデヒド		1	0.981**	0.942**	0.428	0.695**
アセトアルデヒド			1	0.942**	0.306	0.695**
粉じん濃度				1	0.401	0.770**
SPM					1	0.495*
PM <sub>2.5</sub>						1

\* : 5%有意 (>0.444)  
\*\* : 1%有意 (>0.561)

### 3.3 今後の調査について

#### (1) 瑞穂小学校及び穂波小学校測定結果の比較

前述のとおり、2019年度から有機化合物等濃度の測定について瑞穂小学校及び穂波小学校に地点変更を行った。両地点とも広範囲にわたる田園地帯に近く、稲わら焼却の時期になると煙により視界が悪くなる等、測定地点として類似しているところが多いことから、どちらか一方の測定で十分であると考えられたが、データ収集の観点から両地点で調査を継続してきた。そこで、2019年度から2021年度における2地点の有機化合物等濃度の測定結果について、単相関解析を行い、2地点間に相関関係が認められるか確認した。その結果を図8及び表3に示す。

図8及び表3のとおり、両地点の測定結果に良好な正の相関関係が認められることから、どちらか一方の測定で稲わら焼却発生源における状況を十分把握できることが示唆された。

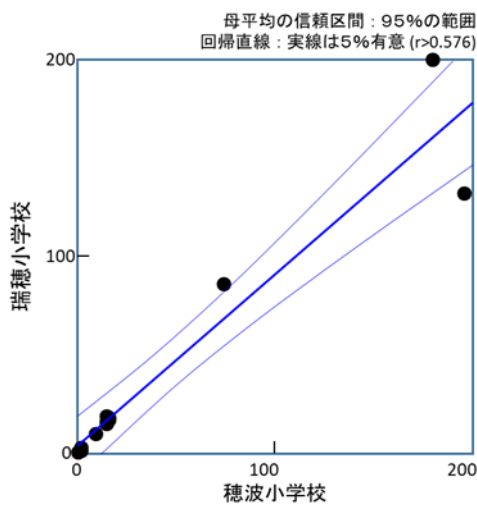


図8 単相関図

表3 単相関行列 (n=12)

	瑞穂小学校	穂波小学校
瑞穂小学校	1	0.957**
穂波小学校		1

\* : 5%有意 (> 0.576)  
 \*\* : 1%有意 (> 0.708)

#### (2) PM2.5テスターについて

前述のとおり、SPM濃度及びPM<sub>2.5</sub>濃度と有機化合物等濃度との正確な関係性を得るためには、有機化合物等濃度の測定地点もしくはその付近でSPM濃度及びPM<sub>2.5</sub>濃度の測定が必要であるが、そのために大気汚染常時監視測定局を移動させることや、新設することは現実的ではない。そこで今回、光明理化学工業株式会社製の「PM2.5テスター」に着目した(図9)。

この機器は持ち運びサイズのPM<sub>2.5</sub>測定機器であり、場所を選ばず測定が可能である。また、測定範囲が0～1000 µg/m<sup>3</sup>、瞬時値だけでなく測定値の記録も可能(1秒、10秒、1分、10分、1時間間隔)であり、外部電源(モバイルバッテリー等)を使用することで長時間の測定記録も可能な機器である。

今回PM2.5テスターを用いて、2021年9月29日の調査時に瑞穂小学校においてPM<sub>2.5</sub>測定を行った。なお、今回の測定におけるPM2.5テスターの記録間隔は1分とした。図10にPM2.5テスターの測定結果(1分値及び1分値を用いた1時間平均値)を示す。また、参考までに同期間の五三中局におけるPM<sub>2.5</sub>測定結果を併記する。

図10に示すとおり、18時付近に稲わら焼却の影響と考えられるPM<sub>2.5</sub>濃度の上昇を確認することができた。また、PM2.5テスターと五三中局のPM<sub>2.5</sub>濃度の推移は類似しており、また、瑞穂小学校におけるPM<sub>2.5</sub>濃度の方が高濃度を示した。このようにPM2.5テスターは、簡便な方法でPM<sub>2.5</sub>濃度の測定が可能であることから、今後有機化合物等濃度とPM<sub>2.5</sub>濃度の相関関係を確かめるために、稲わら焼却時以外のデータ等含めた比較検討データの収集に当該機器を活用していきたい。



図9 PM2.5テスター

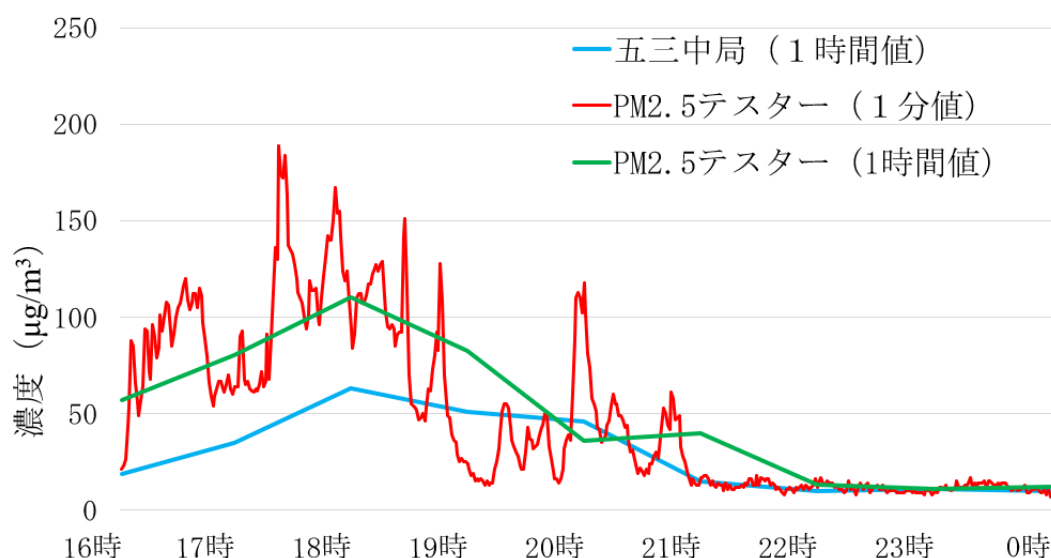


図10 PM2.5テスター測定結果（瑞穂小学校）及び五三中局測定結果（1時間値）の比較

#### 4. まとめ

##### (1) SPM濃度及びPM<sub>2.5</sub>濃度について

1) 五三中局のSPM濃度及びPM<sub>2.5</sub>濃度ともに、9月及び11月に比べて10月の濃度が一時的に高くなるが多かった。これは稲わらの焼却が概ね9月末から11月初めにかけて行われ、10月にピークを迎えることが多いためと考えられた。また、SPM濃度及びPM<sub>2.5</sub>濃度の10月の月平均値について、年々減少傾向にあることが分かった。これは、稲わら焼却等の防止に関する啓発事業や県内外の稲わらの流通促進事業等の「青森県稲わらの有効利用の促進及び焼却防止に関する条例」に係る取組みの効果が表れていると推察された。

2) 五三中局のSPM濃度及びPM<sub>2.5</sub>濃度の1日平均値の推移と降水量の推移を比較したところ、降水量の多い日の直前にSPM濃度及びPM<sub>2.5</sub>濃度の上昇が確認できた。この結果から稲刈りの進捗状況や天気予報等の情報を確認することで、稲わら焼却が集中して行われる時期を概ね推察することが可能であると考えられた。

##### (2) 有機化合物等濃度測定結果の地点変更前後の比較について

地点変更前の五三中局と地点変更後の2地点における測定結果を比較すると、地点変更後の2地点の方が全項目において約3～5倍高い濃度が検出された。このことは、地点変更後の2地点では、五三中局よりも稲わら焼却発

生源付近における有機化合物等濃度の状況を捉えることができたと考えられた。

##### (3) 有機化合物等測定結果とSPM濃度及びPM<sub>2.5</sub>濃度の相関について

五三中局のSPM濃度及びPM<sub>2.5</sub>濃度とベンゾ[a]ピレン濃度について、正の相関が認められた。一方で、SPM濃度及びPM<sub>2.5</sub>濃度とアルデヒド類（ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド）濃度については、明確な相関関係は認められなかった。稲わら焼却におけるSPM濃度及びPM<sub>2.5</sub>濃度と有機化合物等濃度との正確な関係性を得るには、有機化合物等濃度の測定地点もしくはその付近におけるSPM濃度及びPM<sub>2.5</sub>濃度の測定が必要であると考えられた。

##### (4) 今後の調査について

瑞穂小学校及び穂波小学校の両地点の測定結果に良好な正の相関関係が認められ、どちらか一方の測定で稲わら焼却の影響を十分把握できることが示唆された。

また、PM<sub>2.5</sub>テスターは、簡便な方法でPM<sub>2.5</sub>濃度の測定が可能であることから、今後有機化合物等濃度とPM<sub>2.5</sub>濃度の相関関係を確かめるために、当該機器を活用し、稲わら焼却時以外のデータ等含めた比較検討データの収集を行いたい。

## 謝 辞

本稿作成にあたり、PM2.5テスターのデモ機をご提供いただきました光明理化学工業株式会社の皆様に厚くお礼申し上げます。

## 文 献

- 1) 青森県農林水産部食の安全・安心推進課：2021年度稲わら有効利用の促進及び焼却防止対策連絡会議資料
- 2) 西北地域県民局地域農林水産部：2021年度事業概要
- 3) 北畠 茂, 他：青森県内における稲わら焼却による大気汚染状況について- 全国環境研会誌, **44**, 43-48, 2019

---

# 青森県環境保健センター年報

令和3年度  
令和4年3月発行

編 集 青森県環境保健センター

発 行 〒030-8566 青森市東造道 1-1-1

電 話(017)736-5411 FAX(017)736-5419

メールアドレス KANKYOSENTA@pref.aomori.lg.jp

ホームページ <http://www.pref.aomori.lg.jp/soshiki/kankyo/kankyosenta/center-home.html>

---