

2 研究概要報告

研究成果報告書（1）

研究課題名	食中毒原因となる自然毒の特定方法等に関する研究
担 当	衛生科学部 主査専門研究員 宮手 公輔
1 目的	<p>毒成分を含有する植物、キノコ、魚介類等を誤食したことによる食中毒は全国的に発生しており、岩手県においても過去 20 年間で 149 名の患者が発生（うち死者 2 名）している。</p> <p>食中毒が発生した際には、健康被害の拡大防止のために正確かつ速やかな原因特定が重要であり、機器による食品中毒成分の分析は、原因特定のために極めて有効な手段であるが、当センターの分析体制は十分でなく、分析可能品目（成分）は、植物毒 11 品目（22 成分）に限られている。</p> <p>このため、本研究では、当センターにおける自然毒分析法の充実強化を図り、本県における健康危機管理体制の更なる強化を目指すものである。</p> <p>また、ホタテガイ等の毒化が本県漁業に被害をもたらしており、過年度までにおいて分析法検討及び定点での麻痺性貝毒量のモニタリング分析を行ってきた。当該モニタリングを継続して行い、情報を解析して減衰速度に関する知見を得ることを併せて本研究の目的とする。</p> <p>今年度は、自然毒分析に関しては、植物毒及びキノコ毒の 29 成分を対象として、LC-MS/MS 法を用いた毒成分分析法を検討した。また、ホタテガイ中麻痺性貝毒のモニタリング分析では、4 月から 10 月までの期間における県内産ホタテガイのモニタリング検査を実施した。</p>
2 方法	<p>(1) 植物性自然毒分析項目の拡充</p> <p>今年度新たに、アミグダリン、ジギトキシン、ジゴキシン、グラヤノトキシン I、ククルビタシン、ニコチン及びフェブリフジンの 7 成分の標準品を購入し、LC-MS/MS を用いて分析条件の検討を行った。</p> <p>(2) 植物性自然毒の LC-MS/MS 法による添加回収試験</p> <p>検体にカレー、ギョウザ及びひょうれん草の胡麻和えを用いて図 1 のとおり前処理を行い、自然毒 29 成分について添加回収試験を実施した。</p> <p>なお、フィルターろ過工程においては、既報で使用した Captiva ND Lipids ろ過のほか、0.45μm フィルターろ過（ナカライテスク社製コスモスピンフィルター-H）及び限外ろ過（日本ミリポア社製 ULTRAFREE-MC 50k）を使用して機器測定溶液を調製し、図 2 の機器条件により分析して回収率の比較を行った。</p> <p>(3) 麻痺性貝毒のモニタリング分析</p> <p>令和 3 年 4 月 5 日から 10 月 18 日まで、県内の定点においてサンプリングした採取したホタテガイについて、ホタテガイから中腸線を採取し LC-MS/MS 法により麻痺性貝毒を測定した。</p>
3 結果	<p>(1) 分析項目の拡充</p> <p>新たに条件検討を行った成分を含め、29 成分 MRM 条件を設定・見直しを行った。各成分の 100 ppb 標準溶液を図 2 の条件により分析したところ、図 3 のとおりクロマトグラムが得られた。</p> <p>(2) LC-MS/MS 法による添加回収試験</p> <p>添加回収試験の結果を図 4、図 5 及び図 6 に示す。0.45μm メンブレンフィルター及び限外ろ過フィルターでは全ての成分の回収率が 70%以上であった。リン脂質やタンパク質除去を期待し使用した Captiva ND Lipids では、アトロピン（3 食品平均回収率 30.0%）、ヒパコニチン（同 62.9%）、α-ソラニン（同 55.0%）及びムスカリン（同 4.5%）の回収率が低く検証の指標とした 70%を下回った。</p> <p>(3) 麻痺性貝毒モニタリング分析</p> <p>麻痺性貝毒の推移を図 7 に示す。4 月下旬に貝毒の上昇し、4 月 26 日に最高値 18.6 MU/g となった。</p>
4 今後の研究方向等	<p>植物性自然毒による食中毒発生時の即時対応に向け既報による分析法の測定項目の拡充を図り、計 29 成分について検出できることを確認した。簡便な前処理であることから、検体搬入から結果判定までの所要時間は短時間であるとともに、人事異動等による技術継承においても特別なスキル等を要しない方法であることから本法を本県の自然毒分析法とするため、今後、標準作業書等の整備を進めていくこととする。</p> <p>また、LC-MS/MS 法による特定が困難なケースに備え、来年度は PCR 法を導入すべく検証を実施していく予定である。</p> <p>更に、麻痺性貝毒のモニタリング分析について、今後も継続してデータ採取を行うとともに、過年度に採取し蓄積しているデータを解析することにより貝毒の減衰速度の数式化を目指していく。</p>

試料5~10g (50mL PP製試験管)
 ↓ + MeOH20mL
 ↓ ホモジナイズ (11,000rpm, 1min) × 2回
 ↓ 遠心分離 (3,500rpm, 4°C, 5min)
 上澄液 (MeOH層) を合わせて50mL定容
 ↓ メタノールを用いて100倍希釈
 ↓ フィルター遠心ろ過 (※3種比較)
 ・ Captiva ND Lipids : 3000rpm, 5min
 ・ コスモスピンフィルター及び限外ろ過 : 10,000g, 10min
 測定溶液

<LC>
 機器 : Agilent社製 HP1100
 移動相 : A液...10mMギ酸アンモニウム、B液...MeOH
 グラジエント : 0min(95:9) → 2min(95:5) → 3min(70:30)
 → 20min(5:95) → 30min(0:100) → 40min(0:100)
 → 40.1min(95:5) → 50min(95:5)
 流速 (mL/min) : 0 min(0.2) → 20 min(0.2) → 30 min(0.4)
 → 40 min(0.4) → 40.1 min(0.2) → 50 min(0.2)
 カラム : Imtakt Scherzo SM-C18 150×2mm 3μm
 カラム温度 : 40°C
 試料注入量 : 5μL
 <MS/MS>
 機器 : AB Sciex社製 API4000
 イオン化方式 : ESI (+)
 Ionspray voltage : 5500V
 Ion source temp : 400°C

図1 自然毒分析前処理手順

図2 LC-MS/MS分析条件

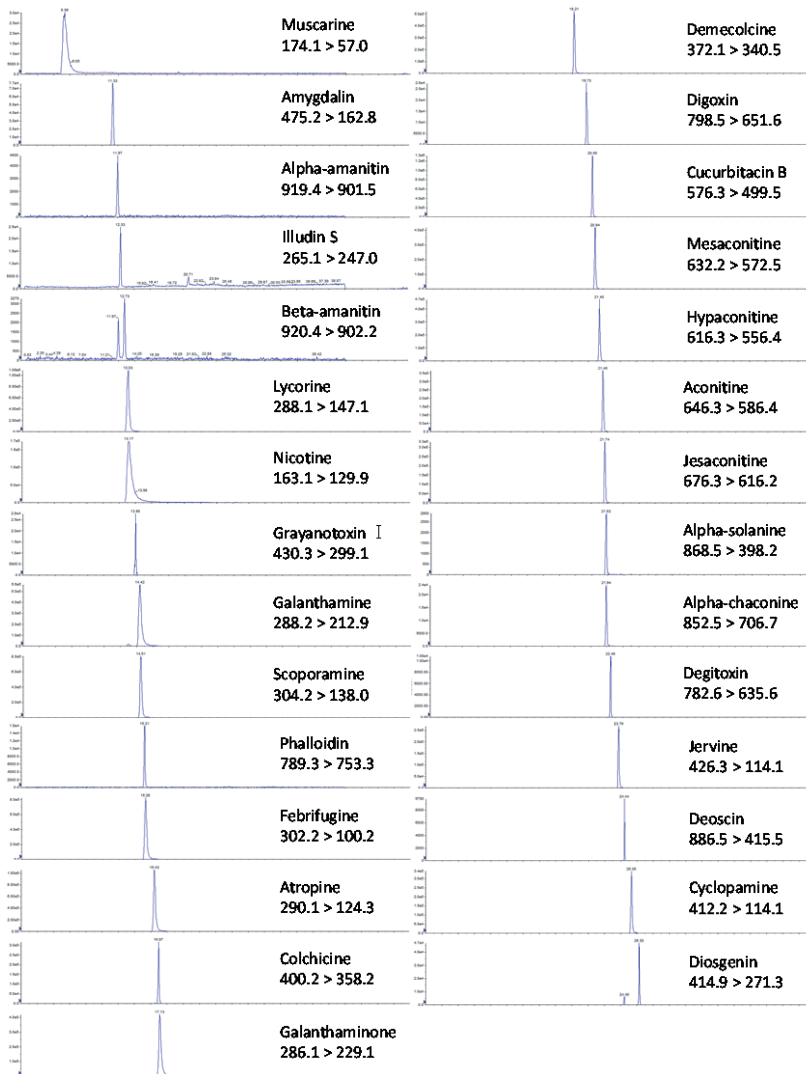


図3 LC-MS/MS分析 各成分クロマトグラム



図4 添加回収試験 (Captiva ND Lipids)

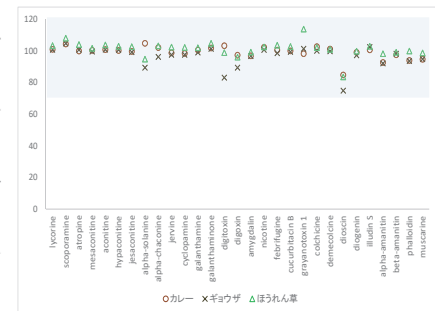


図5 添加回収試験 (コスモスピンフィルター)

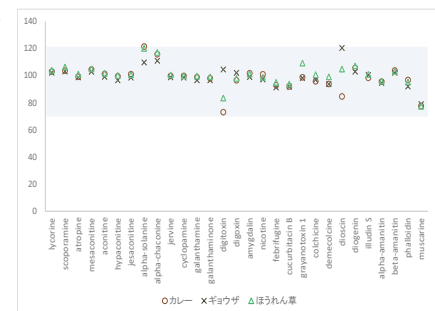


図6 添加回収試験 (限外ろ過フィルター50k)

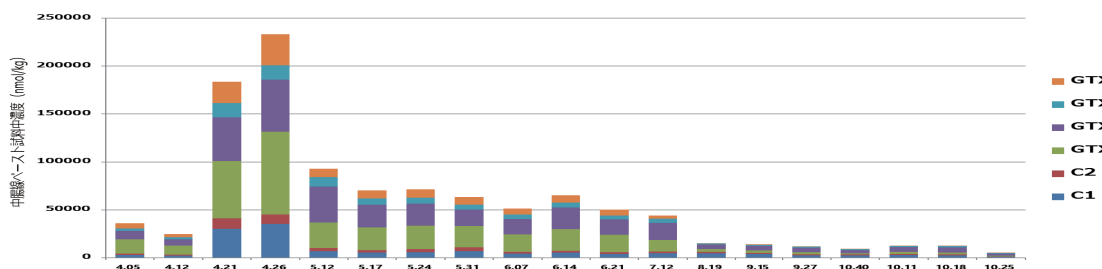


図7 中腸線中具毒含有量

研究成果報告書（2）

研究課題名	安全性審査済み遺伝子組換え大豆遺伝子定量分析法の確立
担 当	衛生科学部 主任専門研究員 関村 照吉、主査専門研究員 宮手 公輔
<p>1 目的</p> <p>現在、当センターで実施している安全性審査済み遺伝子組換え大豆検査は、Roundup Ready Soybean 遺伝子 (RRS 遺伝子と略) のみを対象に実施している。一方、2002年に承認された Liberty Link Soybean 遺伝子 (LLS 遺伝子と略) 及び2007年に承認された Roundup Ready 2 Yield 遺伝子 (RRS2 遺伝子と略) が収穫されており、既に国内に流通していると考えられる。また、大豆の分別生産流通管理を実施しても意図せずに混入してくる遺伝子組換え大豆の混入許容値は、上記3つの遺伝子の合計が5%であったものが、「遺伝子組換えでない」と表記する場合は、2023年4月から含まれていないときのみ限定される¹⁾ことが決まっている。このため、それぞれの含有率を明らかにして合算する必要がある。昨年度は、RRS 遺伝子に加え LLS 遺伝子の分析を追加したことから、本年度は RRS2 遺伝子をさらに追加し、告示法の3遺伝子を測定するため研究を実施した。</p> <p>2 方法</p> <p>(1) 試料 ポジティブコントロール遺伝子(ポジコン遺伝子と略)は、RRS 遺伝子(シグマ社:含有量 1%の大豆粉、ERMBF410DP)及びRRS2 遺伝子(プラクティカル社: MON 89788 Soybean Powder DNA 含有量 996g/Kg、AOCS 0906-B2) の2種類とした。また、流通大豆3種類の分析も実施した。</p> <p>(2) DNA 抽出用キット 検査方法²⁾の DNeasy Plant mini kit 法 (QIAGEN 社)</p> <p>(3) 粉碎処理装置 試料の粗粉碎にはフードプロセッサー (パナソニック社) を、微粉碎にはミルサー (大阪ケミカル社) をまた、GM-200 (レイテ社) も用いた。</p> <p>(4) DNA の抽出方法 検査方法の1試料あたり3併行で実施した。</p> <p>(5) DNA 量の測定 DNA 抽出液は、分光光度計 Genespec III (日立ハイテックサイエンス社) を用いて、吸光度 230~320nm の紫外吸収スペクトルを測定し、260nm の吸光度の値1を 50ng/μL DNA として DNA 濃度を算出した。DNA 濃度を算出後 TE 緩衝液で 20ng/μL に希釈して PCR 検液とした。</p> <p>(6) リアルタイム PCR による定量 リアルタイム PCR は、QuantStudio 5 (アプライドジャパンシステム社) を用いて定性・定量し、相関係数が 0.990 以上を確認して結果とした。</p> <p>3 結果と考察</p> <p>(1) 大豆組換えポジコン遺伝子の測定結果 表1に前報³⁾の LLS 遺伝子を含めた3遺伝子のプライマーに反応するかどうかの結果と表2に RRS2 ポジコン遺伝子を4回測定した結果を示した。大豆の内在遺伝子 Le1 はいずれの DNA 検液からも検出され、RRS・LLS 及び RRS2 遺伝子のプライマーはそれぞれの遺伝子のみ反応し、他のプライマーには全く反応せず定性⁴⁾は明確であった。RRS2 遺伝子の定量結果は 100%と保証含有量とほぼ一致した。図1に RRS 及び RRS2 ポジコンの内在遺伝子 Le1 とそれぞれの遺伝子の増幅曲線を示した。この方法によって定性・定量できることが確認できた。</p> <p>(2) 試料の測定結果 3種類の大豆試料の組換え3遺伝子を測定した結果を表3に示す。これらからは3遺伝子とも検出されなかった。</p> <p>(3) 検査経費および作業時間 図2に3検体の DNA 抽出器具類及び試薬を示した。また、表4に検体数が6検体(1プレート当たり、大豆内在遺伝子 Le1 と他の1遺伝子の測定で3検体検査可能)までの、RRS 遺伝子のみの検査に LLS 遺伝子及び RRS2 遺伝子を加えた3遺伝子を検査する場合の経費と作業時間の比較を示した。6検体では、RRS 遺伝子のみの検査では2プレートであったものが、3遺伝子の検査では6プレートが必要となり、経費は2.5倍、検査時間は1.8倍に増えると試算した。この結果を受け、安全性審査済み遺伝子組換え大豆検査3遺伝子検査法の標準作業書を作成した。</p> <p>4 今後の研究方向等</p> <p>「遺伝子組換えでない」の表示厳格化に伴い2021年9月に現行法を残し、混入判定法として遺伝子組換え作物の混入の有無を、内在と組換え遺伝子のリアルタイム PCR の増幅率の差で示せることを利用した方法である $\Delta \Delta Cq$ 法が追加⁵⁾された。このことから、大豆遺伝子の有無を調べる定性検査を新たに研究テーマとして取り組むこととしたい。</p>	

表1 3遺伝子定性試験

	Le1	RRS	LLS	RRS2
RRSプライマー	+	+	-	-
LLSプライマー	+	-	+	-
RRS2プライマー	+	-	-	+

+:検出、 -:不検出



図2 3検体分のDNA抽出器具・試薬

表2 RRS2 遺伝子定量試験

RRS2ポジティブコントロール(100%含有)				
測定機	内標比	Le1(copy数)	RRS2(copy数)	割合(%)
PRISM 7900HT	1.32	11,900	15,700	100
Quant Studio 5	1.51	59,900	89,700	99
Quant Studio 5	1.51	59,100	89,400	100
Quant Studio 5	1.51	59,900	90,600	100
			平均	100

表3 大豆試料の3遺伝子定量結果

	Le1(copy数)	RRS(copy数)	RRS(割合:%)	Le1(copy数)	LLS(copy数)	LLS(割合:%)	Le1(copy数)	RRS2(copy数)	RRS2(割合:%)
カナダ産	9,808	0	-	11,002	0	-	16,814	0	-
国産	22,810	0	-	23,424	0	-	46,527	0	-
アメリカ産	19,813	0	-	25,295	0	-	41,772	0	-

表4 3遺伝子・検体数6の検査時経費・作業時間

6検体までの検査	経費金額(円)	作業時間(hr)	検査日数
RRS プレート数2	137,747	19.4	3日間
RRS・LLS・RRS2 プレート数6	348,823	34.2	5日間
	2.53倍	1.76倍	

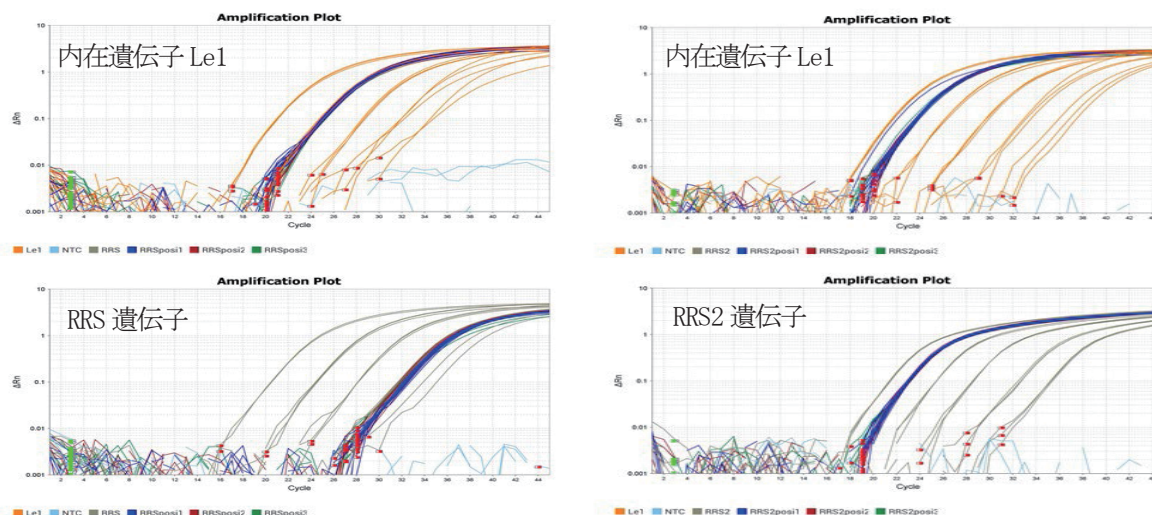


図1 RRS及びRRS2遺伝子のPCR増幅曲線(黄色・緑色:標準レイト遺伝子、青色:ポジコン遺伝子)

- 文献 1) 新たな遺伝子組換え表示制度に係る考え方(補足資料), 消費者庁(2019)
 2) 安全性審査済みの遺伝子組換え食品の検査方法, 消食表第139号(2019年3月)
 3) 安全性審査済み遺伝子組換え大豆のLLS遺伝子定量分析法の確立, 本報, 20, 32-33(2022)
 4) 高島令王奈, 遺伝子組み換えダイズ検知法の開発及び妥当性確認, 醸協誌, 108, 156-163(2013)
 5) 安全性審査済みの遺伝子組換え食品の検査方法, 消食表第389号(2021年9月改正)

研究成果報告書（3）

研究課題名	残留農薬検査に係る前処理方法の検討
担 当	衛生科学部 主任専門研究員 後藤 吉乃

1 目的

当センターでは、残留農薬検査を厚生労働省が定める通知試験法¹⁾により行っているところであるが、簡便で迅速であるとされるSTQ法（Solid Phase Extraction Technique with QuEChERS method）が他に知られている。

このことから、業務効率化を図り、検査対象農産物の拡大に繋げることを目的として、同法導入の妥当性評価を行ったものである。

2 方法

食品試料に農薬混合標準液を添加し、STQ法による添加回収試験を行った。食品試料は、きゅうり、りんご、じゃがいも、なす、ピーマン、トマト、オレンジの7品目。

農薬標準の添加は、0.01ppm及び0.04ppmの2濃度とし、1日（1回）2併行、5日間の枝分かれ試験を行った。

GC-MS/MSの測定条件を表1のとおりとし、得られた測定結果について、「妥当性評価ガイドライン²⁾」に基づき、選択性、真度（回収率）、精度及び定量限界の性能パラメータを算出して妥当性を評価した。

機 器	GC: Agilent社製 7890B MS/MS: Agilent社製 7000D
キャリアガス	ヘリウム
注入口温度	270°C
オープン温度	80°C (1min) - 20°C/min - 140°C - 4°C/min - 200°C - 8°C/min - 300°C - 20°C/min - 310°C (5.5min) → 310°C (ポストラン50min)
トランスファーライン温度	290°C
カラム	Agilent社製 VF-5MS (0.25mm × 30 m, 0.25 μm)
注入モード	スプリットレス
試料注入量	2 μL
イオン化方式	EI (70eV)
イオン源温度	320°C
測定モード	MRM

3 結果

GC-MS/MSによる妥当性評価の結果は表2のとおりであり、評価した農薬181成分に対して妥当性が確認された成分数を示してある。

昨年度に妥当性評価を実施した3品目と、本年度の7品目を合わせた計10品目における結果は表3のとおり。

10品目に共通して全評価項目が適合となった農薬成分は92成分であった。

品 目	選択性	0.01ppm			0.04ppm			定量限界	全評価項目
		回収率	併行精度	室内精度	回収率	併行精度	室内精度		
きゅうり	176	175	179	180	174	181	181	179	164
りんご	177	173	181	181	178	181	181	180	169
じゃがいも	179	171	175	180	173	181	180	177	164
なす	179	167	178	176	169	180	180	178	162
ピーマン	179	163	175	176	164	181	181	176	155
ト マ ト	179	175	176	176	173	181	181	177	164
オ レ ン ジ	176	131	167	166	147	180	180	176	119

4 今後の研究方向等

現在、LC-MS/MSを用いた妥当性評価を実施しているところであり、総合的な結果が良好であれば残留農薬検査実施標準作業書を改定し、STQ法にて残留農薬検査を実施していくこととする。また、他の農産物についても添加回収試験を実施し、検査対象品目を拡充することで、本県の食の安全を支えるために必要な試験検査体制の充実強化を図っていく。

（参考文献）

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知「食品に残留する農薬、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）
- 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1224第1号）

表3 妥当性評価結果 (GC-MS/MS測定)

分析対象化合物	R2年度報告分			R3年度実施分 (今回報告分)							
	ほうれんそう	キャベツ	なたまめ	きゅうり	りんご	じゃがいも	なす	ピーマン	トマト	オレシジ	
1 Acetochlor	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
2 Acrinathrin	○	x	x	○	○	○	○	○	○	○	
3 Alachlor	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
4 Aldrin	○	○	x	○	○	○	○	○	○	○	
5 Anilofos	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
6 Atrazine	○	○	○	○	○	○	○	○	○	x	
7 Azaconazole	○	○	○	○	○	○	○	○	○	x	
8 Bendiocarb	○	○	○	x	○	○	x	x	x	x	
9 Benfluralin	○	x	○	○	○	○	○	○	○	○	
10 Benfuresate	○	○	○	x	○	○	○	○	○	○	
11 Benoxacor	○	○	○	○	○	○	○	○	○	x	
12 BHC_a	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
13 BHC_b	○	○	○	○	○	○	○	x	○	x	
14 BHC_d	○	○	○	○	x	x	x	x	x	x	
15 BHC_r	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
16 Bifenox	○	x	○	x	○	x	x	x	x	x	
17 Bifenthrin	○	○	x	○	○	○	○	○	○	○	
18 Bromophos	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
19 Bromopropylate	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
20 Bupirimate	○	○	○	x	○	○	x	○	○	x	
21 Buprofezin	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
22 Butachlor	○	○	○	○	○	○	○	○	○	x	
23 Butamifos	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
24 Butylate	○	○	○	○	○	○	○	○	○	x	
25 Cadusafos	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
26 cafenstrolol	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
27 Chlorbenzilate	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
28 Chlordane(cis)	○	○	x	○	○	○	○	○	○	○	
29 Chlordane(trans)	○	○	x	○	○	○	○	○	○	x	
30 Chlorfenapyr	○	x	x	○	○	○	○	○	○	○	
31 Chlorpyrifos	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
32 Chlorpyrifos-methyl	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
33 Chlorthal-dimethyl	○	○	○	x	x	x	x	x	x	x	
34 Clomazone	○	○	○	○	○	○	○	x	○	x	
35 Cyanazine	x	x	x	○	○	○	○	○	○	○	
36 Cyanophos	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
37 Cyfluthrin_1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
38 Cyfluthrin_2	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
39 Cyfluthrin_3	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
40 Cyfluthrin_4	○	○	○	○	○	x	○	○	○	○	
41 Cyhalofop-butyl	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
42 Cyhalothrin_1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
43 Cyhalothrin_2	○	○	○	○	○	○	○	○	○	x	
44 DDD (4,4')	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
45 DDE (4,4')	○	○	x	○	○	○	○	○	○	○	
46 DDT (2,4')	○	○	x	○	○	○	○	○	x	○	
47 DDT (4,4')	○	○	x	○	○	○	○	○	○	○	
48 Diazinon	○	○	○	x	x	x	x	x	x	x	
49 Dichlofenthiol	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
50 Diclocymet II	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
51 Diclocymet I	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
52 Diclofop-methyl	○	○	○	○	○	x	x	○	○	○	
53 Dicloran	○	○	○	○	○	○	○	○	○	x	
54 Dicofol	○	○	○	x	○	x	○	x	x	x	
55 Dieldrin	○	○	○	○	○	○	○	○	○	x	
56 Diethofencarb	○	○	○	○	○	○	○	x	○	x	
57 Diflufenican	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
58 Dimethametryn	○	○	○	○	x	○	x	x	○	x	
59 Dimethenamid	○	○	○	○	○	○	○	x	○	x	
60 Dimethylvinphos	○	○	○	x	x	○	x	○	○	○	
61 Edifenphos	○	○	○	○	○	x	x	○	○	x	
62 Endosulfan (a)	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
63 Endosulfan (b)	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
64 Endrin	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
65 EPN	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
66 EPTC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	x	
67 Esprocarb	○	○	○	○	○	○	○	○	○	x	
68 Ethalfuralin	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
69 Ethion	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
70 Ethofumesate	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
71 Ethoprophos	○	○	○	○	○	○	○	○	○	x	
72 Etofenprox	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
73 Fenamidone	○	○	○	○	○	○	x	○	x	x	
74 Fenitrothion	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
75 Fenobucarb	○	○	○	○	○	○	○	○	○	x	
76 Fenothiocarb	○	○	○	x	○	○	○	○	○	○	
77 Fenoxanil	○	○	○	○	○	○	○	○	○	x	
78 Fenpropathrin	○	○	○	○	○	○	○	○	x	○	
79 Fenpropimorph	○	○	○	○	○	○	○	x	○	x	
80 Fensulfothion	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
81 Fenthion	○	○	x	○	○	○	○	○	○	○	
82 Fenvalerate_1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
83 Fenvalerate_2	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
84 Flamprop-methyl	○	○	○	x	x	x	x	x	x	x	
85 Flucyprym	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
86 Flucytrinate_1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
87 Flucytrinate_2	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
88 Fluquinconazole	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
89 Flusilazole	○	○	○	○	x	○	○	○	○	○	
90 Flutolanil	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
91 Fluvinate_1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	

妥当性評価適合数 149 142 138 164 169 164 162 155 164 119

研究成果報告書（４）

研究課題名	食品添加物の試験法に関する研究
担当	衛生科学部 主査専門研究員 今野 鈴子

1 目的

当センターでは、食品収去検体の食品添加物検査として、保存料（ソルビン酸 (SOA)、安息香酸 (BA)、パラオキシ安息香酸エステル類（同エチル (PHBA-Et)、同イソプロピル (PHBA-iPr)、同プロピル (PHBA-Pr)、同イソブチル (PHBA-iBu)、同ブチル (PHBA-Bu)）、甘味料（サイクラミン酸 (CYC)）、酸化防止剤（tert-ブチルヒドロキノン (TBHQ)）、着色料（酸性タール系色素 12 種）の検査を実施している。一方、食品に使用される食品添加物の種類は多く、また、全国的には、輸入食品を中心に食品添加物の使用基準違反が報告されていることから、食の安全安心の確保のため、当センターにおける食品添加物の検査体制を充実させていく必要がある。

本研究では、LC-MS を用いた保存料および甘味料の一斉分析条件の確立と測定対象物質の拡充について検討を行うとともに、食品収去試験においてこれらの一斉分析が可能であるか検討した。併せて、TBHQ の確認試験法について検討を行った。

2 方法

(1) 保存料および甘味料の一斉分析条件の検討

新たに測定対象とすることを検討する保存料 2 物質（パラオキシ安息香酸メチル (PHBA-Mt)、デヒドロ酢酸 (DHA)）と甘味料 4 物質（サッカリン (SAC)、アセスルファムカリウム (AK)、スクラロース (SUC)、ズルチン (DU)）を含む、保存料および甘味料計 14 物質の標準物質を 80%メタノールに溶解したものを標準溶液とし、LC-PDA および MS による一斉分析条件の検討を行った。分析条件は図 1、2 に示したとおり。

機器: Waters ACQUITY UPLC H-class
 移動相: (A液) 0.025%ギ酸 (B液) MeOH
 グラジエント: (B 液) 0分 (20%) → 8分 (50%) → 17分 (60%) → 17.1分 (90%)
 21分 (90%) → 21.1分 (20%) → 26分 (20%)
 流速: 0.25mL/分
 カラム: ACQUITY UPLC BEH C18 (2.1×100mm, 1.7 μm)
 カラム温度: 40℃ 注入量: 3 μL
 検出器: PDA 取り込み波長: 190~400nm
 PDA解析波長: SOA 260nm, BA 230nm, PHBA類 255nm, DHA 307nm,
 SAC 200nm, AK 225nm, DU 235nm

図1 LC-PDA条件

機器: Waters ACQUITY QDa
 イオン化モード: ESI(-)
 プローブ温度: 200℃
 キャピラリー電圧: 0.8kV
 SIRチャンネル

	m/z	コーン電圧
CYC	178	20 V
SUC	397	20 V

図2 MS条件

(2) 食品における添加回収試験

たくあん漬、しょうゆ、黄もも缶、プロセスチーズ、ウインナーの 5 品目に保存料および甘味料 14 物質の食品分析用標準物質を添加し、透析法（図 3）による添加回収試験を行った。標準物質は、透析液中濃度で 2.5 μg/mL (BA, DHA は 5.0 μg/mL) となるように添加し、一斉分析条件により測定を行った。

(3) 酸化防止剤 (TBHQ) の確認試験法の検討

通知法¹⁾ および既報²⁾ を参考に、L-アスコルビン酸パルミチン酸エステルアセトニトリル溶液 (APMeCN) に溶解しアセトンで希釈した標準品を用いて GC-MS/MS による測定条件を、APMeCN に溶解した標準品を用いて LC-MS による測定条件を検討した。

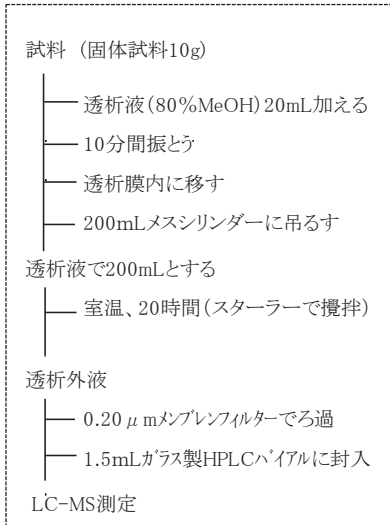


図3 透析法の手順

3 結果

(1) 保存料および甘味料の一斉分析条件の検討

LC-PDA で測定可能な保存料9物質と甘味料3物質(SAC、AK、DU)について、0.5、1.0、2.5、5.0、7.5、10.0 $\mu\text{g/mL}$ の6濃度 (BA、DHA は2倍の濃度) で検量線の直線性を確認したところ $r^2=0.999\sim 1.000$ と良好であった。また、吸収波長を持たないためMSで測定したCYC、SUCの2物質について、0.5、1.0、2.5、5.0 $\mu\text{g/mL}$ の4濃度での検量線の直線性はいずれも $r^2=0.998$ と良好であった。

(2) 食品における添加回収試験

・妥当性評価ガイドライン³⁾を参考に回収率70~120%、併行精度10%未満の目標値を設定し評価した。たくあん漬、もも缶、チーズ、ウインナーの4品目では、保存料9物質および甘味料3物質(CYC、SUC、DU)が目標値を満たした(表1)。甘味料2物質(SAC、AK)については目標値を満たさなかったが、これはLCにおける溶出時間が早く、夾雑ピークとの分離が不十分だったためと考えられる。

・しょうゆは他の食品よりも回収率が低い傾向にあった。このため、Oasis HLBによる精製を試みたが、回収率の向上は見られなかった。

		回収率 (%)					併行精度 (%)				
		しょうゆ	たくあん	黄もも缶	チーズ	ウインナー	しょうゆ	たくあん	黄もも缶	チーズ	ウインナー
			78.6	103.0	100.8	106.0	96.9	0.7	3.7	4.3	1.9
保存料	SOA	102.8	103.1	100.8	108.1	110.1	0.7	3.8	4.4	2.0	1.8
	BA	78.3	102.8	100.8	107.3	106.6	1.8	3.5	4.1	2.0	2.3
	PHBA-Et	70.4	100.9	100.5	105.2	106.3	2.3	3.6	4.3	1.9	1.8
	PHBA-Pr	73.5	101.5	101.3	105.7	106.7	2.2	3.6	4.2	2.0	1.8
	PHBA-iBu	67.5	99.5	99.7	103.1	105.1	5.9	3.5	3.9	2.1	1.7
	PHBA-Bu	71.3	100.2	100.0	103.2	103.0	2.5	3.6	4.2	2.0	1.9
	PHBA-Mt	83.5	105.1	103.9	107.0	109.5	1.3	3.8	4.4	1.7	1.7
	DHA	52.2	103.7	99.7	100.0	93.7	0.9	3.9	4.6	1.8	2.5
	甘味料	DU	108.0	103.8	102.4	106.4	106.3	1.4	3.8	4.4	1.7
CYC		61.6	118.1	117.5	113.3	111.1	1.0	3.5	4.3	1.7	1.7
SAC		145.4	114.9	79.3	61.2	60.8	2.2	3.9	3.6	2.6	1.1
AK		42.3	114.8	55.1	28.4	26.7	1.5	3.9	6.4	2.8	2.2
SUC		31.3	119.1	110.3	87.8	96.3	3.7	3.2	4.3	2.3	2.1

表1 添加回収結果 (透析法)

(3) 酸化防止剤 (TBHQ) の確認試験法の検討

GC-MS/MS では図5、LC-MS では図6の条件で測定可能であることが分かった。

機器: (GC) Agilent 7890B (MS/MS) Agilent 7000D
 キャリアガス: ヘリウム 注入口温度: 280°C
 昇温条件: 100°C(1分)-10°C/分-250°C(3分)-8°C/分
 -300°C(3.5分) → 310°C(ポストラン5分)
 トランスファーライン温度: 280°C
 カラム: Agilent VF-5MS (0.25mm×30m, 0.25 μm)
 注入モード: スプリットレス 注入量: 2 μL
 イオン化方式: EI (70eV) イオン源温度: 280°C

図5 GC-MS/MS 測定条件

機器: Waters ACQUITY UPLC H-class
 移動相: (A液) 2mM酢酸アンモニウム溶液 (B液) MeOH
 グラジエント: B 液 30%(0分)→99%(5分)→99%(10分)
 →30%(10.1分)→30%(20分)
 流速: 0.2mL/分
 カラム: ACQUITY UPLC HSS T3 (2.1×100mm, 1.8 μm)
 カラム温度: 40°C 注入量: 2 μL
 検出器: PDA 波長: 290nm

図6 LC-MS 測定条件

4 今後の研究方向等

回収率の目標値を満たさなかった甘味料2物質の測定条件やしょうゆの精製工程等を再検討し、透析法による保存料および甘味料の一斉分析が可能であるか検討を続ける。良好な結果が得られた場合には標準作業書を作成し、食品添加物検査の効率化を図る。

参考文献

- 1) tert-ブチルヒドロキノン(TBHQ)に係る試験法について (平成17年3月3日付け食安監発第0303331号)
- 2) 食品中のフェノール系酸化防止剤の実態調査 (福岡市保健環境研究所所報29号, 2003年)
- 3) 農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン (平成22年12月24日食安発1224第1号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知別添)

研究成果報告書（5）

研究課題名	腸管出血性大腸菌の分離に用いる選択分離培地の検討
担当	検査部 上席専門研究員 山中 拓哉、主任専門研究員 太田 美香子、主任専門研究員 高橋 幸子、部長 千葉 和久
<p>1 目的</p> <p>腸管出血性大腸菌(EHEC)感染症は時に重篤な合併症を起こし患者の生命に関わることがあるため、迅速かつ確実な検査が求められる。当所では感染症法に基づき、保健所の依頼により患者家族および接触者についての EHEC 感染症検査を年間数百件実施している。本検査ではターゲットとなる EHEC の血清型に特徴的な性状を指標に便検体からの菌分離を行うが、これについては検査法の確立していない希少な血清型や O 血清型別不能の EHEC 検査が著しく難しくなるという問題点がある。</p> <p>これを踏まえ当部では当所の保存菌株 (H25~27) および便検体 (H28~30) を材料として EHEC 各血清型の性状についてのデータを収集し、検査法の開発を目指す研究を行ってきた。その結果、EHEC の検査法、特に検査時に使用する選択分離培地についての知見を得ることに成功した。</p> <p>本研究においては、以前の研究以降に得られたデータを拡充するとともに、研究をさらに推し進め、EHEC の検査に使用される選択分離培地に含まれる成分についての詳細な検討を行い、EHEC 検査法の改善へとつなげることを目的とする。</p> <p>2 方法</p> <p>(1) 令和3年度に当所に持ち込まれ EHEC 感染症検査で陽性となった便検体の一部を対象とし、選択分離培地での所見を中心に検査データおよび分離菌株の生化学的性状に関するデータを収集した。</p> <p>(2) 令和3年10月に保健所からの依頼により実施した腸管出血性大腸菌 O157VT1, 2 の検便検査において、O157 分離用選択分離培地である CT-ソルビトールマッコンキー (CT-SMAC) 寒天培地に優占的に発育した夾雑菌 (大腸菌) のコロニー (赤色) が O157 の定型的コロニー (無色) を覆い隠し、O157 が分離できないという事例が発生した。この点に着目し、本検査における便検体および分離菌株について詳細な解析を行った。これと併せて CT-SMAC 寒天培地について培地メーカー間の性能差についての検討も行った。</p> <p>3 結果</p> <p>(1) 令和3年度に解析を実施した検体は、O157 が1検体、O103 が1検体、O115 が1検体及び OUT (O 血清型別不能株) が2検体であった。これらの検体および分離菌株について選択分離培地でのコロニーの所見および生化学的性状に関するデータを記録した。</p> <p>(2) O157 の検査において使用した CT-SMAC 寒天培地は腸管出血性大腸菌の分離選択剤であるセフィキシム / 亜テルル酸カリウム (CT 添加剤) を含有する。このことから、本培地に発育した夾雑菌は CT 添加剤に対する耐性を持つと考えられる。この点について検証するため、検査で分離した O157 菌株および夾雑菌について、CT-SMAC 寒天培地における発育を比較した。培地としては検査で使用した A 社製に加え、B 社、C 社製のものをを用いて互いの性能を比較した。結果を表 1 に示す。</p>	

表1 CT-SMAC寒天培地における発育*

培地の種類	A社製	B社製	C社製
	CT-SMAC	CT-SMAC	CT-SMAC
O157	+	+	+
夾雑菌	+	遅延	+

*CT添加剤については製品・濃度とも全て同じ

O157 菌株および夾雑菌ともに CT-SMAC 寒天培地において発育したことから CT 添加剤に対する耐性を持つ事が示唆された。ただし、B社製の CT-SMAC 寒天培地においては夾雑菌に発育遅延が観察されたことから、①B社製の培地では CT 添加剤の効果が他社製より相対的に強くなる、②夾雑菌は CT 耐性を持つがO157 より弱い、と考察される。

これを踏まえ便検体を B社製の CT-SMAC 寒天培地に塗抹し培養したところ、O157 のコロニー（無色）が発育し分離に成功した。B社製の培地では CT 添加剤の効果がA社製より高く、検査においてA社製の CT-SMAC 寒天培地上に発育した夾雑菌の発育が抑制されたためと考えられる。

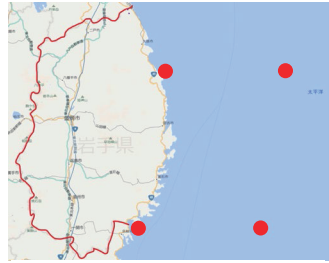
4 今後の研究方向等

腸管出血性大腸菌の検査において、便検体に含まれる夾雑菌の性質により菌分離が困難になる事例を示した。特に今回は培地のメーカー間で検査結果に差が生じることを示唆する結果となった。本研究の結果を踏まえ、検査で使用する培地種について再検討の必要があると思われる。

研究成果報告書（6）

研究課題名	ヒトと環境における薬剤耐性菌サーベイランス
担当	保健科学部 主任専門研究員 岩渕 香織
1 目的 <p>岩手県内のヒトにおける薬剤耐性菌サーベイランスとして、ESBL（基質拡張型ベータラクタマーゼ）産生菌のCTX型別解析を行い、検出される型別の変化を監視する。また、環境中の薬剤耐性菌サーベイランスとしては下水道流入水のCRE（カルバペネム耐性腸内細菌科細菌）の分離解析を行い、2018、2019年に県内医療機関及び下水道事務所と連携してそれぞれ行っており、引き続きデータを収集し監視を行う。</p>	
2 方法 <ul style="list-style-type: none">ヒトにおける薬剤耐性菌サーベイランス<p>ESBL産生菌は、これまでの型別結果や、検出状況の比較を行うため、菌株の収集を行った。協力機関は、県立中部病院、県立胆沢病院、県立磐井病院の3医療機関とし、収集した菌株は解析を行うまで保存することとした。CREは、感染症発生動向調査で届出のあった医療機関から菌株を収集し、解析を行うまで保存することとした。</p>環境中の薬剤耐性菌サーベイランス<p>北上川上流流域下水道事務所都南支所に月1回の下水道流入水の採水を依頼し、採水された流入水を濃縮し冷凍保存した。カルバペネマーゼ産生菌の分離培養検査PCR法およびディスク法等によるカルバペネマーゼ産生の確認などの解析を行うまで保存することとした。</p>	
3 結果 <p>県立磐井病院から提供のあった50株のESBL産生菌および、カルバペネマーゼ耐性腸内細菌科細菌感染症の届出のあった3株のCREは、スキムミルク培地に保存し-80℃で冷凍保存した。</p> <p>下水道流入水は令和3年4月から令和4年3月までの12検体を濃縮し、スキムミルク培地で-80℃で保存した。</p>	
4 今後の研究方向等 <p>収集し保存した菌株および下水道流入水濃縮液について、解析を実施し、サーベイランスを行う。</p>	

研究成果報告書（7）

研究課題名	海洋プラスチックごみの調査法に係る基礎検討															
担 当	環境科学部 技師 浅沼 英明															
1 目的																
<p>近年、世界的な課題として認識されている海洋プラスチックごみ汚染は、その広大な汚染範囲とプラスチックの膨大な流通量から汚染実態はいまだ明らかになっていない。なかでも 5 mm 以下のプラスチック粒子（マイクロプラスチック、MP）は、多くの機関で調査され、汚染実態の把握が進められている。本県においても、「岩手県海岸漂着物対策推進計画」を策定し、海岸漂着物の汚染実態調査などが進められているが、MP の調査事例はわずかである。海洋漂流 MP の汚染実態の把握は、排出抑制対策の実施や効果の確認のために重要であることから、海洋漂流 MP 調査手法の確立を目的として実態把握調査を試験的に実施した。</p>																
2 方法																
2-1 有機物分解条件の検討	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <caption>表1 有機物分解条件</caption> <thead> <tr> <th></th> <th>添加試薬</th> <th>温度・時間</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>H₂O₂処理</td> <td>30% H₂O₂ 100mL</td> <td>55°C-3日</td> </tr> <tr> <td>フenton反応</td> <td>0.05M Fe(II) aq 20mL 30% H₂O₂ 100mL</td> <td>5分静置後 75°C-3日</td> </tr> <tr> <td>硝酸分解</td> <td>HNO₃ (69.5%) 30mL</td> <td>一晚放置後 100°C-2時間</td> </tr> <tr> <td>アルカリ分解</td> <td>10% KOH 30mL</td> <td>60°C-24時間</td> </tr> </tbody> </table>		添加試薬	温度・時間	H ₂ O ₂ 処理	30% H ₂ O ₂ 100mL	55°C-3日	フenton反応	0.05M Fe(II) aq 20mL 30% H ₂ O ₂ 100mL	5分静置後 75°C-3日	硝酸分解	HNO ₃ (69.5%) 30mL	一晚放置後 100°C-2時間	アルカリ分解	10% KOH 30mL	60°C-24時間
	添加試薬	温度・時間														
H ₂ O ₂ 処理	30% H ₂ O ₂ 100mL	55°C-3日														
フenton反応	0.05M Fe(II) aq 20mL 30% H ₂ O ₂ 100mL	5分静置後 75°C-3日														
硝酸分解	HNO ₃ (69.5%) 30mL	一晚放置後 100°C-2時間														
アルカリ分解	10% KOH 30mL	60°C-24時間														
<p>試料中に多く含まれる動物プランクトンの有機物分解手法を検討した。模擬試料にアミエビを使用し、表1に示す4手法についてその有効性を比較した。</p>																
2-2 添加回収試験	<p>前処理方法の妥当性を確認するため、添加回収試験を実施した。模擬試料には、1～3 mm 角の黄色 PP フラグメントを使用した。海水に模擬試料 50 個とアミエビ 5 g を添加し、回収率を確認した。</p>															
2-3 海洋漂流 MP 調査	<p>本県海域における試験調査を実施した。測定対象は、目視で確認できる MP とした。調査地点は、本県の北部の黒崎と南部の椿島のそれぞれ 0 海里地点と 50 海里（岸から 93 km 沖）地点の合計 4 地点を設定した。</p> <div style="text-align: right;">  <p style="text-align: center;">図1 調査地点</p> </div> <p>試料の採取には、ニューストーンネット（口径 75 cm 角、ネットメッシュ 0.35 mm）を用いた。曳網条件は、1～3 ノット、20 分とした。ネット開口部の両側には、浸水深さが 1/2～2/3 になるように浮きを固定した。以上により、200 m³ 程度の濾水量が得ることとした。さらに開口部の中央には、濾水計を設置し、正確な濾水量の把握を試みた。曳網の際には、船体から 2 m 程度離れた位置にネットを固定し、船舶から剥がれた塗料片の試料への混入を防いだ。このほか、メタデータとして開始終了時刻、天候、風況、降雨状況、緯度経度などを記録した。採取した試料は、PVC 製広口容器に回収し、ホルマリンを 2% になるように添加して冷暗所に保存した。</p> <p>前処理方法は、以下の通りとした。試料を目合い 4.75 mm の金属ふるいに通し、大きい夾雑物を分離した。続いて、通過液を目合い 1.00 mm の金属ふるいに通し、ふるい上の MP をピンセットで回収した。1.00 mm ふるいの通過液は、ふるい受器に重液を加えて浮上した MP を回収した。回収した MP は、個数のカウント、形状と色の記録を行った。さらに、FT-IR（Nicolet iS50）を用いて、ATR 法（スキャン回数 4、保存波領域：400～4,000 cm⁻¹）で測定し、材質の同定を行った。</p>															
3 結果																
3-1 有機物分解条件の検討結果	<p>H₂O₂ 処理及びフenton処理では、試料の脱色と縮小が見られた。H₂O₂ を用いた処理は、最も一般的な手法であるが、アミエビに対しては甲殻が分解されずに残り、MP が埋もれる結果となった。アルカリ分解では、試</p>															

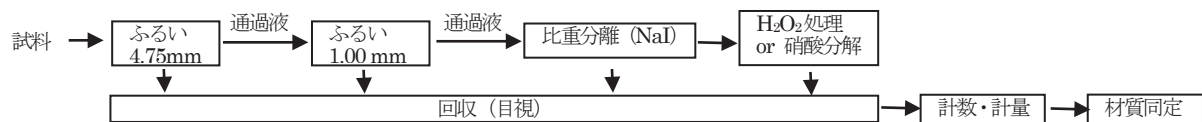


図2 前処理フロー

料に大きな変化は認められなかった。硝酸分解では、試料の完全な分解が見られたが、硝酸分解はMPを劣化させることが知られている。試料への劣化影響を少なくするため、本調査では目視で確認できる比較的大きいMPを測定対象としたうえ、ふるいによる分離で回収可能なMPは、分解処理を行わずに回収することとした。また、比重分離を行った後の有機物の分解には、試料に含まれる夾雑物の性状により、H₂O₂処理か硝酸分解を選択して実施することとした。

3-2 添加回収試験

試験では、ふるいによるサイズ分離と比重分離によりすべてのMPが回収され、回収率は100%となった。

3-3 海洋漂流MP調査結果

調査結果を表2に示す。夏期は、南部沖合が最も多く48個が回収され、個数を濾水量で割った個数密度(個/m³)は、0.22であった。冬期の最大は北部沿岸で、45個・個数密度0.17であった。夏期は、南部沖合で個数が多かったのに対して、冬期は北部沿岸の個数が増加し、その他の3地点で減少した。MPの特徴は、フラグメント形状が最も多く、素材別ではポリエチレン(PE)、ポリプロピレン(PP)、ポリスチレン(PS)の順に多かった。

表2 調査結果

		北部沿岸	北部沖合	南部沿岸	南部沖合
夏期	個数(個)	5	34	26	48
	個数密度(個/m ³)	0.03	0.12	0.13	0.22
冬期	個数(個)	45	5	9	7
	個数密度(個/m ³)	0.17	0.02	0.03	0.02
大きさ	1~5mm	49	38	33	50
	1mm未満	1	1	2	3
形状	フラグメント	48	35	28	49
	フォーム	0	1	7	6
	繊維	2	3	0	0
材質	PE	35	22	18	23
	PP	14	12	8	14
	PS	1	2	9	13
	その他・不明	0	3	0	5

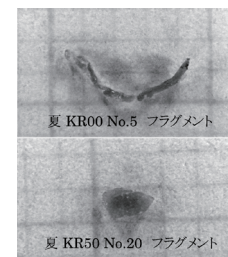


図3 回収したMP (方眼1mm)

4 まとめ

有機物分解条件について、一般的な有機物分解手法であるH₂O₂処理では、多量に含まれた動物プランクトンを分解できなかった。本調査では、対象とする粒子径を比較的大きくすることで、ふるいによるサイズ分離と比重分離により高い回収率を得ることができたが、対象の粒子径を小さくするためには、さらなる前処理条件の検討が必要となる。

環境省が実施した先行調査において、本県海域の個数密度は0.113~2.78 個/m³となっており、本調査結果の0.02~0.22 個/m³は、これと大きく変わらない結果となった。MPの特徴としては、フラグメント形状のPE及びPP製品が圧倒的に多く、発泡スチロールや繊維から想定される漁具由来のMPよりも生活雑品類由来のMPが多い傾向が見られた。

本調査では、夏期調査と冬期調査で個数に大きな差が生じた。MPは、海流に乗って移動しながら不均一に存在しているものと考えられ、サンプリング時にネットが通過するタイミングによって、結果が大きく異なると考えられる。季節による変動や汚染実態の把握をするためには、地点数の増加と継続した調査によりデータを蓄積することが求められる。

【参考文献】 Guidelines for Harmonizing Ocean Surface Microplastic Monitoring Methods, 環境省, 2019年5月

研究成果報告書（8）

研究課題名	微小粒子状物質の発生源解明に関する研究
担当	地球科学部 主任専門研究員 木登 梢

1 目的

大気中に浮遊する微小粒子状物質（以下「PM2.5」という。）はイオン成分、炭素成分及び無機元素成分などから構成されており、成分組成を解析することはPM2.5の発生源を解明する手がかりとなる。本研究では、令和元年度から令和3年度にかけて実施した県内2地点の成分分析結果について解析を行い、PM2.5の発生源について考察した。

2 方法

調査地点は、滝沢市巣子局及び一関市三反田局の2地点とし、表1のとおり季節毎に2週間、午前0時から24時間、サンプラー（Thermo社製FRM2025i型）を用いPTFE及び石英フィルターに試料を捕集した。分

表1 調査期間

年度	春季	夏季	秋季	冬季
R1	5/8～5/21	7/19～8/1	10/17～10/30	1/16～1/29
R2	5/13～5/26	7/22～8/4	10/20～11/2	1/21～2/3
R3	5/12～5/25	7/20～8/2	10/20～11/2	1/19～2/1

析は「大気中微小粒子状物質（PM2.5）成分測定マニュアル」（環境省）¹⁾に準拠して行い、質量濃度、イオン成分（Cl⁻、NO₃⁻、SO₄²⁻、NH₄⁺、Na⁺、K⁺、Ca²⁺及びMg²⁺）、炭素成分（有機炭素（OC）及び元素状炭素（EC））及び無機元素成分（Na、Al、K、Ca、Sc、V、Cr、Fe、Ni、Zn、As、Sb及びPb）を測定した。

3 結果と考察

(1) PM2.5 濃度及び主要成分

両地点のPM2.5質量濃度範囲は、巣子局1.0～25.0μg/m³、三反田局1.3～23.2μg/m³であり、調査期間別の平均濃度は、両地点ともに令和2年度春季が低く令和2年度冬季が高かった（図1）。両地点の質量濃度の相関（r=0.90）及び主要成分の相関は強く（表2）、また調査を実施した3か年の平均成分組成はどの季節も概ね同程度であり（図2）、両地点は同様の発生源による広域的な汚染の影響を強く受けていると考えられた。成分組成は、両地点ともに、春季及び夏季はSO₄²⁻、秋季は炭素成分、冬季はNO₃⁻の割合が他の季節に比べて高くなっており、季節による特徴がみられた。ECについては、全季節で巣子局より三反田局の方が、組成割合が高く、また、巣子局より三反田局の濃度が高い日が多かった（図3）。周辺に固定発生源及び移動発生源が少ない巣子局に対し、三反田局は国道4号線沿いに位置しており、自動車排気の影響が観測された結果と考えられた。

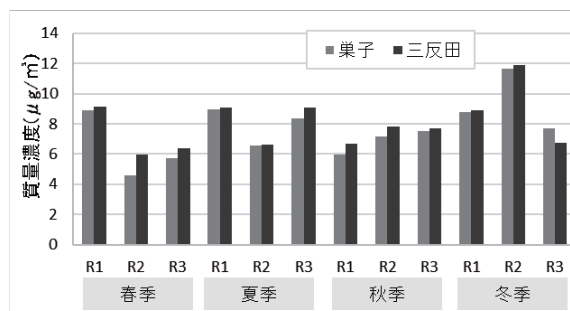


図1 PM2.5 質量濃度の推移（調査期間別）

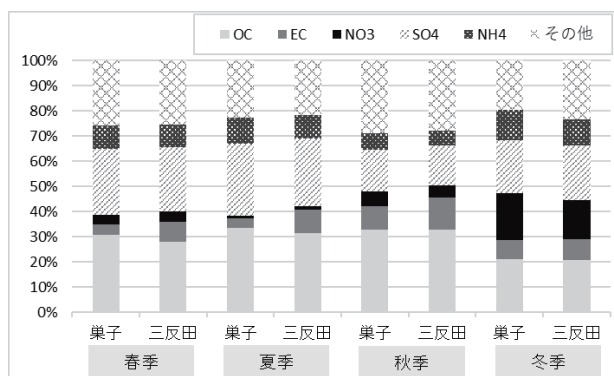


図2 PM2.5 成分組成（3年平均、季節別）

表2 炭素成分及びイオン成分の2地点の相関係数（r）

OC*	0.87	EC*	0.73	NO ₃ ⁻ *	0.89	SO ₄ ²⁻ *	0.85	NH ₄ ⁺ *	0.85
Cl ⁻	0.71	Na ⁺	0.70	K ⁺	0.66	Ca ²⁺	0.75	Mg ²⁺	0.87

※ *は主要成分

(2) 主要成分以外のイオン成分

イオン成分のうち Cl^- 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} の濃度について、両地点の相関は強く (表 2)、これらの成分は、主要成分と同様に広域的な汚染の影響を受けていると推察された。その一方で、 K^+ の相関はやや弱く、巣子局より三反田局の濃度が高い日が多くあり、三反田局では地域発生源による K^+ の上乘せがあると考えられた (図 4)。

(3) 無期元素成分

無機元素成分は質量濃度への寄与は僅かであるが、発生源の情報を多く含んでいるため、濃度やその比を用いた発生源解析が行われている。有鉛ガソリンを用いている地域では、一般的な汚染元素である Zn に対して相対的に Pb 濃度が高くなる傾向があることから、大陸からの長距離輸送の指標として Pb/Zn 比が用いられており、国内起源の場合 0.2~0.3 程度、大陸起源の場合は 0.5~0.6 程度と推定されている²⁾。両地点の Pb/Zn 比は、巣子局 0.19~0.33、三反田局は 0.24~0.31 で推移しており、過去に中国北京市で採取された試料の 0.77³⁾ と比較して低い値であった。また、As は石炭燃焼の指標、V は石油燃焼の指標であることから、石油燃焼に対する石炭燃焼の指標として As/V 比が用いられており、中国など石炭燃焼が石油燃焼より優勢な地域では As 濃度が相対的に V 濃度より高くなる傾向がある。両地点の As/V 比は、巣子局 1.67~3.58、三反田局 1.95~3.28 で推移しており、北京市の 8.5³⁾ と比較して低い値であった。なお、As/V 比は過去の値 (H28~H30 平均値 巣子局 0.60~1.85) と比較し高い値となったが、これは、新型コロナウイルス感染症拡大に伴う経済低迷や輸送量減少等で石油消費量が減少した影響により令和 2 年度以降、V 濃度が低下したためであると考えられる。

無期元素 2 成分の相関では、両地点ともに Ni と V (巣子局 $r=0.73$ 、三反田局 $r=0.74$)、巣子局は Pb と As ($r=0.78$)、三反田局は K と Zn ($r=0.70$) の相関が強く、それぞれ石油燃焼 (Ni、V)、石炭燃焼 (Pb、As)、廃棄物燃焼 (K、Zn) の指標であることから、巣子局の PM2.5 は石油燃焼及び石炭燃焼、三反田局の PM2.5 は石油燃焼及び廃棄物燃焼の影響を受けている可能性が考えられた。また、全調査期間の平均成分濃度について、三反田局では、ブレーキ粉塵 (Fe、Sb)、タイヤ粉塵 (Zn)、石油燃焼 (V、Ni) の指標成分が巣子局に比べて高く、EC と同様に沿道に位置する影響が反映されていた。

4 まとめ

県内 2 地点の PM2.5 について、同様の発生源による広域汚染の影響を強く受けていることが示唆された。越境汚染の指標 (Pb/Zn 比、As/V 比) は、中国で観測された値と比較し低い値であり、調査期間における両地点の PM2.5 は越境汚染の影響を強くは受けていないと思われたが、発生源の特定までは至らなかった。無期元素成分の相関から、両地点の PM2.5 は共通して石油燃焼由来の影響を強く受けている可能性が考えられた。三反田局においては、沿道に位置する影響によると思われる自動車排気、ブレーキ粉塵、タイヤ粉塵、石油燃焼等を起源とする成分濃度のほか、 K^+ 濃度が巣子局に比べて高い等、地域発生源の影響も受けていることが示唆された。

<参考文献>

- 1) 環境省: "大気中微小粒子状物質 (PM2.5) 成分測定マニュアル 無機元素測定法 第2版", 2019年5月
- 2) 日置正一ほか: 松山, 大阪, つくばで観測した浮遊粉じん中金属元素濃度比による長距離輸送と地域汚染特性の解析, 大気環境学会誌, 44, 91-101(2009)
- 3) 米持真一ほか: 2013年1月に中国北京市で採取した高濃度 PM2.5、PM1 の特徴, 大気環境学会誌, 48, 140-144(2013)

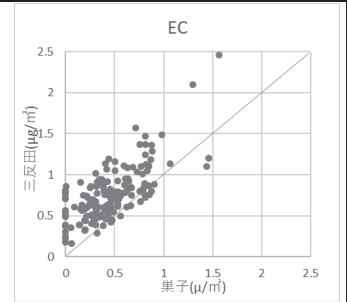


図3 両地点の EC の相関

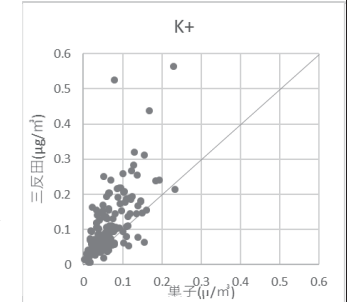


図4 両地点の K^+ の相関

表3 両地点の Pb/Zn 比及び As/V 比 (季節別)

	Pb/Zn 比		As/V 比	
	巣子	三反田	巣子	三反田
春季	0.30	0.28	2.69	3.28
夏季	0.19	0.24	1.67	1.95
秋季	0.30	0.31	2.58	2.30
冬季	0.33	0.26	3.58	2.47

研究成果報告書（9）

研究課題名	酸性雨による環境影響の総合的評価（広域連携事業）
担 当	地球科学部 主査専門研究員 門脇 日和、主任専門研究員 木登 梢

1 目的

本研究は、降水の酸性化に影響を及ぼす乾性沈着物（ガス成分及び粒子状成分）の濃度をモニタリングし、成分濃度の推移や各成分の関連等に注目し解析することで、本県における酸性雨の実態把握に資することを目的とする。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第6次酸性雨全国調査（以下「全環研調査」）のフィルターパック法による乾性沈着調査に参加することで、測定精度の向上に資するとともに、全国的観点から見た本県の大気汚染状況について評価を行うことも目的とする。

2 方法

- (1) 調査期間 2021年3月29日から2022年3月28日まで
- (2) 試料採取周期 通年調査とし、原則2週間単位（全26回）
- (3) 調査地点 盛岡市（当センター屋上）
- (4) 採取方法 図1のとおり6段ろ紙ホルダーに各種ろ紙を装着し、ダイアフラム型ドライ真空ポンプを用いて流量約2L/minの吸引速度で大気を採取することでガス成分及び粒子状成分を捕集した。
- (5) 分析方法 捕集後のろ紙を水（4～5段目は0.05%過酸化水素）20mlで振とう抽出し、0.45μmディスクフィルターでろ過したものを試験液とし、イオンクロマトグラフ法により陰イオン（硫酸イオン、硝酸イオン、塩化物イオン及び亜硝酸イオン）及び陽イオン（アンモニウムイオン、ナトリウムイオン、カリウムイオン、カルシウムイオン及びマグネシウムイオン）を測定した。

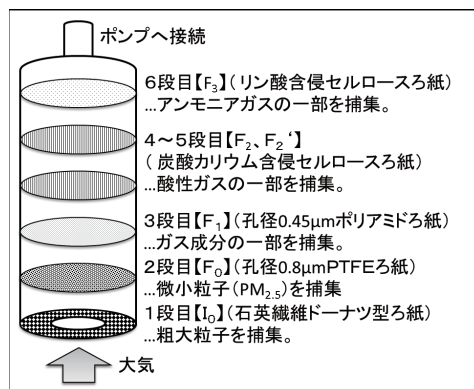


図1 フィルターパック法の概要

得られた濃度、吸引流量（20℃換算値）より、乾性沈着物成分の大気中濃度（nmol/m³）を求めた。

(6) 測定値の評価 測定結果について、サンプリングの正確さの検証を目的とし、全環研調査要領で示される基準である「F₀におけるイオンの当量濃度積算値が50neq/m³以上であること」及び、「F₀におけるイオンバランス（陰イオン積算値/陽イオン積算値）が0.7～1.3の範囲内であること」により評価を行った。また、当センターにおける先行研究により、調査地点の降水（湿性沈着及び乾性沈着の合計）中の海塩起源成分（塩化物イオン、ナトリウムイオン及びマグネシウムイオン）は概ね海塩組成比を保っていることが分かっていることから、ガス成分及び各粒子状成分の合計値のMg/Naモル比及びCl/Naモル比と海塩組成比の文献値¹⁾を比較評価した。

3 結果

(1) 測定値の評価

F₀におけるイオンの当量濃度積算値が50neq/m³を下回った回は6回あり、該当するサンプリング期間については図に色を付した。基準値を下回った原因としては、実際にF₀で捕集された微小粒子の量が少なかったことが考えられる。他の原因として、ホルダー内部でリークが発生し、一部の微小粒子がF₀で捕集されずにF₁に到達したことが考えられるが、F₀とF₁のイオン濃度を比較検討したうえで内部リークは無かったものと判断し、全てのデータを採用した。なお、イオンバランスは全ての回で基準を満たした（0.9～1.1の間で推移）。

また、海塩組成比について文献値と比較を行った。サンプリング全26回分についてMg/Naモル比を算出したところ、範囲は0.09～0.18（平均値0.11、中央値0.11）で推移しており、概ね文献値（0.11）を保っていた。一方、Cl/Naモル比の範囲は1.18～8.05（平均値1.74、中央値1.28）であり、全ての回で文献値（1.16）を上回った。塩化物成分はガスの形態でも存在しており、特に春季から夏季は濃度が高くなっている。この傾向は過去2年の結果でも同様であり、海塩以外の塩化物の起源の存在と季節的な影響が示唆された。

(2) 各成分の濃度推移

主要成分の形態別濃度推移を図2～図9にそれぞれ示す。成分によって異なる推移を示していた。硫黄酸化物成分は、主に微小粒子として存在していた。窒素酸化物成分は、季節による形態の変化が顕著であり、春季及び秋季は粗大粒子、夏季はガス、冬季は微小粒子としての存在割合が高くなっていた。アンモニア成分は年間を通じてガスとして、ナトリウムイオン、マグネシウムイオン、カルシウムイオンは粗大粒子として、カリウムイオンは微小粒子としての存在割合が高かった。主に土壌由来であるカルシウムイオンについては、気象庁の定点観測地点である札幌及び仙台で黄砂が観測された期間（3/29～31、5/8～9）では濃度が高く、盛岡にも到達していたことが示唆された。海塩起源成分である塩化物成分、ナトリウムイオン、マグネシウムイオンの粗大粒子は近似した挙動を示し、夏季に濃度の低下がみられたが、塩化物成分のガスについては、前述のとおり海塩起源成分とは異なる挙動を示した。

5 今後の研究方向等

本研究は一旦中断となるが、今後も全環研調査結果等から全国の状況について情報収集するとともに、当部で別途行っている酸性雨調査及び大気常時監視（大気自動測定機、PM2.5成分分析）の結果とも併せて、岩手県の大気及び酸性雨の状況について調査・解析を行っていく。

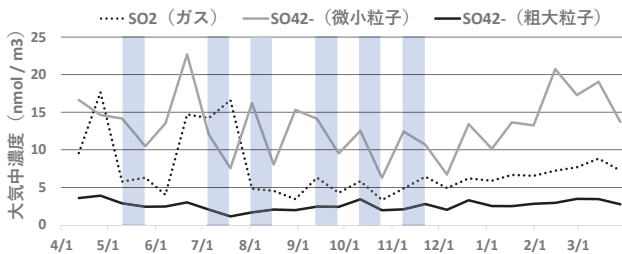


図2 硫黄酸化物成分の形態別濃度推移（2021年度）

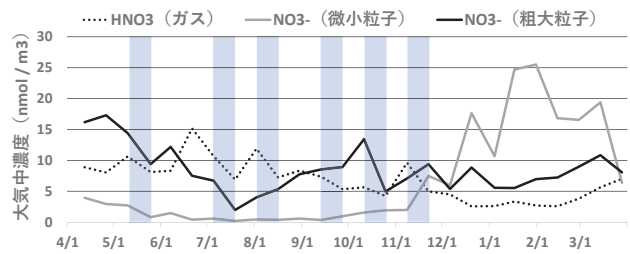


図3 窒素酸化物成分の形態別濃度推移（2021年度）

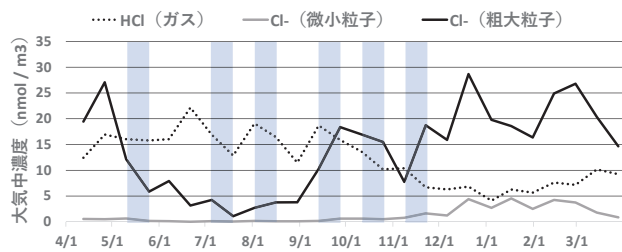


図4 塩化物成分の形態別濃度推移（2021年度）

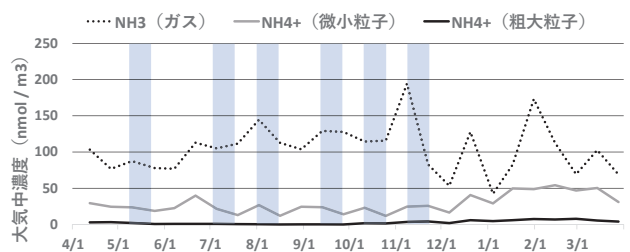


図5 アンモニア成分の形態別濃度推移（2021年度）

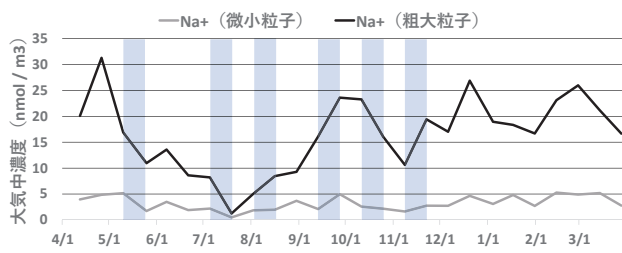


図6 ナトリウムイオンの形態別濃度推移（2021年度）

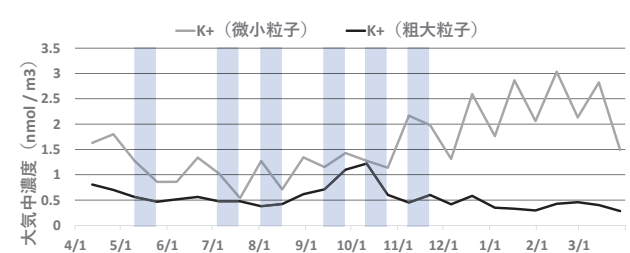


図7 カリウムイオンの形態別濃度推移（2021年度）

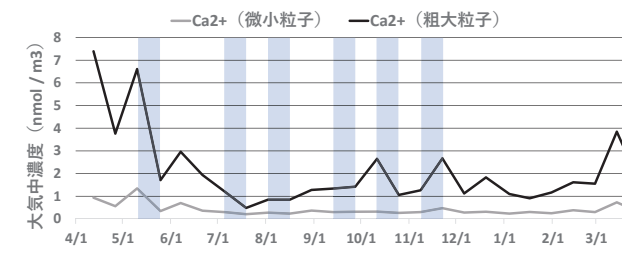


図8 カルシウムイオンの形態別濃度推移（2021年度）

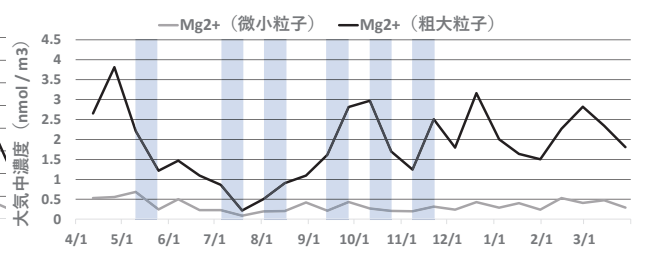


図9 マグネシウムイオンの形態別濃度推移（2021年度）

【参考文献】

- 1) 桑本融：”海水の無機成分”,化学と生物,Vol.22,No.7,1984

研究成果報告書（10）

研究課題名	医薬品・生活関連物質の環境実態及び環境リスク解明に関する研究
担当	環境科学部 上席専門研究員 伊藤 朋子

【研究①】化学物質の潜在的リスクの把握：環境水中のPPCPs等化学物質の残留実態調査

1 目的と方法

令和2年度に引き続き、岩手県内河川中の化学物質による潜在的リスクを把握するため、PPCPs等の環境残留実態を調査した。今年度は流域背景の異なる複数の河川を調査地点とし、シーズンごとに採水を行い、門上らの方法¹⁾²⁾に準拠して、AIQS-GC,LC併せて約1500物質のターゲットスクリーニングを実施した。

表1 採水地点の概要

採水地点	流域の土地利用状況、排水の流入等
A	畜産（乳牛）・牧草地
B	農地（水田）・住宅地
C	下水道放流水流入・農地（水田）
D	工場排水流入・農地（水田）

2 結果

各地点で検出された物質群と検出数を表2に、検出濃度の合計を図1に示す。最も化学物質を検出したのは下水道放流水が流入するC地点で、約120物質が検出され、物質群としては医薬品類が多数検出された。また、平均検出濃度合計では、下水道放流水流入下のC地点及び工場排水流入下のD地点が高く、水環境への化学物質の主要な負荷源となっていることが推察された。

表2 検出物質数

Group	A	B	C*	D
Pesticides	4	37	25	30
Industrial chemicals	15	15	19	15
Pharmaceuticals	6	20	58	15
Personal care products	4	7	9	7
Consumer products	2	3	4	3
Others	0	2	4	5
Total	31	84	119	75

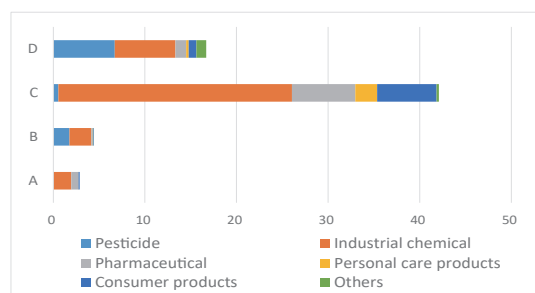


図1 地点ごと平均検出濃度合計（µg/L）

C地点の平均検出濃度上位30物質を表3に示す。この地点では、Palmitic acid, Stearic acid及びSucraloseなどが多量に検出され、パーソナルケア製品や食品として使用されたものが、生活排水として環境中に排出されていると考えられた。検出物質でMEC/PNECが1を超えたのは、Clarithromycin, Levofloxacin/Ofloxacin, Azithromycin、また、1~0.1のものにはRoxithromycin, Ketoprofen及びErythromycinであった。Clarithromycinなどの抗菌剤については、PNECだけでなく、薬剤耐性対策の面からも、環境中での挙動に注意が必要な物質群であると考えられる。工場排水が流入するD地点では、防錆剤の1H-Benzotriazole, 4&5-Methyl-1H-benzotriazoleの濃度が高く、自動車製造業関連工場の排水が流入していることを反映しているものと推察された。

表3 C地点における年平均検出濃度上位30物質の一覧

No.	検出物質	µg/L	No.	検出物質	µg/L
1	Palmitic acid	15	16	Merphos	0.19
2	Stearic acid	7.5	17	Tris(2-chloro- isopropyl)phosphate	0.19
3	Sucralose	5.8	18	Bezafibrate	0.18
4	Distyrylbiphenyl disulfonate (FB351)	2.1	19	1H-Benzotriazole	0.18
5	Fexofenadine	1.8	20	Tris(2-Chloroethyl)phosphate	0.18
6	Metformin	1.4	21	Atenolol	0.15
7	Cresyl Diphenyl Phosphate 2 (CDP 2)	0.76	22	Ionox100	0.15
8	Fluorescent brightener 71 (FB71)	0.62	23	Epinastine	0.15
9	Diphenhydramine	0.61	24	Disopyramide	0.15
10	Sulpiride	0.48	25	Diethyltoluamide(DEET)	0.13
11	Oleamide	0.37	26	Bromobutide	0.13
12	Steamide	0.33	27	Levofloxacin/Ofloxacin	0.12
13	Lauryl alcohol	0.28	28	Tributyl O-Acetylcitrate (ATBC)	0.12
14	Lidocaine base	0.28	29	Tetraglyme	0.12
15	Clarithromycin	0.20	30	Ethylhexyl methoxycinnamate	0.12

【研究②】環境リスクの低減：ヒト及び動物用医薬品等による環境リスクの低減（岩手大学との共同研究）

1 目的と方法

研究①の結果から、河川水中でMEC/PNECが0.1を超え、水域生態系への恐れがあると考えられるのは、抗菌剤をはじめとする医薬品類であることが判明した。抗菌剤は近年注目されている薬剤耐性対策の面からも、環境への負荷を低減する必要がある物質群と考えられる。このことから、研究②では、ヒト用医薬品の主要な排出源である下水道放流水に含まれる抗菌剤を対象として、岩手大学との共同研究により低減化方法の検討を行った。

まず初めに、下水道放流水に含まれる抗菌剤等医薬品類の残留実態を把握するため、シーズンごとに放流水を採水し、AIQS-LCによるターゲットスクリーニングを実施した。続いて、下水道放流水を①ゼオライトとの振とう接触処理、②アルゴンプラズマ処理の2方法で処理を行い、抗菌剤の除去試験を実施した。

1 結果

下水道放流水中のAIQS-LCによる医薬品類測定結果を図2に示す。下水道放流水から多様な医薬品が検出された。表3に岩手県における院外処方量上位の抗菌剤³⁾を示したが、これらの内、Levofloxacin/Ofloxacin, Clarithromycin, Azithromycin, Roxithromycin及びErythromycinが比較的高濃度で検出された。AmoxicillinやCefditoren Pivoxil等の表中のセフェム系抗菌剤については、DBに未登録の物質であるが、AIQS-LCはSWATH*測定を行うため、DB未登録の物質についてもサスペクトスクリーニング**が可能である。このため、取得データについてAmoxicillinやCefditoren Pivoxil等を検索したが、不検出であった。Amoxicillinは極性が高く、AIQSの前処理に用いる固相(HLB, AC-2)には保持されないことが報告されており⁴⁾、これらの物質群については、個別の測定方法を適用し、残留状況を把握する必要があると考えられる。

*SWATH：高分解能QTOFMSによるMSスペクトルとMS/MSスペクトルの同時取得測定

**サスペクトスクリーニング：上記精密質量情報を活用して分析データから任意の化合物を検索する手法

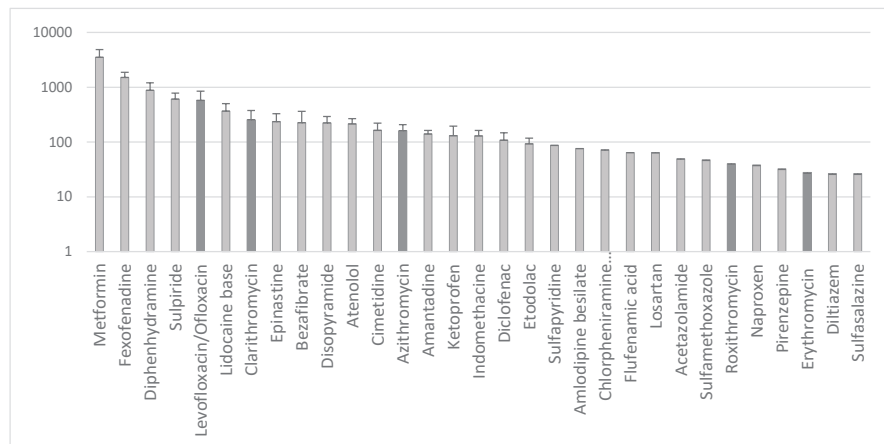


図2 AIQS-LCによる下水道放流水中の医薬品類測定結果

表3 岩手県の抗菌剤院外処方量

有効成分	院外処方量 (kg/year)
Clarithromycin	384.6
Amoxicillin	347.3
Levofloxacin	152.0
Cefditoren Pivoxil	118.9
Erythromycin	112.4
Minocycline	97.9
Cefcapene Pivoxil	83.1
Azithromycin	77.6
Cefdinir	62.2
Rifaximin	60.0
Garenoxacin	56.8
Cefaclor	45.5
Tosufloxacin	37.6
Roxithromycin	35.6

下水道放流水のゼオライト及びプラズマ処理後の抗菌剤除去率を図3に示す。ゼオライト処理では、Clarithromycinをはじめとしたマクロライド系抗菌剤とニューキノロン系のLevofloxacin/Ofloxacinで高い除去率を示した。これらの抗菌剤はアミン基を持ち、ゼオライトに選択的に除去されたものと推察される。サルファ剤の一部も抗菌作用を持ち、動物用には抗菌剤として使用されるものもある。今回、下水道放流水からスルピリドやスルフアメトキサゾールが検出されているが、ゼオライトではこれらサルファ剤は除去効果が低い結果となった。一方、プラズマ処理では医薬品の種類にあまり依存せず、全般に一定程度の除去率が得られた。

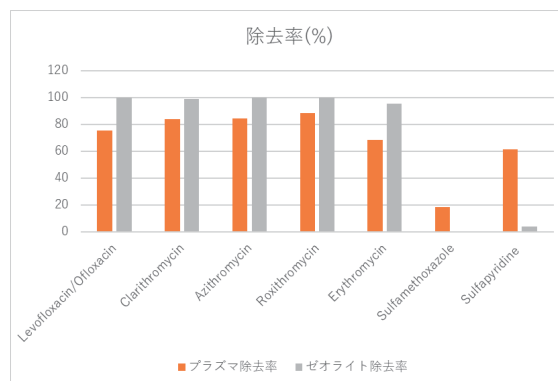


図3 各処理方法による抗菌剤除去率

【参考文献】

- 1) Jinya, D.; Iwamura, T.; Kadokami, K. Anal. Sci. 2013, 29, 483–486.
- 2) Kadokami, K.; Ueno, D. Anal. Chem. 2019, 91(12), 7749–7755
- 3) 厚生労働省, 第5回NDBオープンデータ, https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000177221_00008.html
- 4) 環境省, 化学物質分析法開発調査報告書(平成30年度), 99-130

研究成果報告書（11）

研究課題名	重要な絶滅危惧植物を存続させるための技術開発に関する研究
担当	地球科学部 上席専門研究員 小山田 智彰
1 目的 <p>絶滅の危険性が極めて高い植物、特に「絶滅のおそれのある野生動植物の種の保存に関する法律（「種の保存法」）」の指定を受けている絶滅危惧植物を対象に、自生個体を存続させるための手法と苗生産を行うための技術の開発を行う。また、国や他機関からの絶滅危惧植物の保全に対する要請や指導依頼に対応し、研究によって培われた技術により、継続した国内屈指の技術支援実績を積み重ねて行き、希少野生植物の保護に資する。</p> <p>【研究の対象とした絶滅危惧植物】</p> <ul style="list-style-type: none">・岩手県に自生する「種の保存法」指定植物：アツモリソウ【研究分類①】・国から要請を受けた「種の保存法」指定植物：チョウセンキバナアツモリソウ【研究分類②】	
2 実施内容 <ol style="list-style-type: none">(1) 自生地への調査及び周辺環境の状況確認、保護対策への取り組み、先進地の活動状況についての調査を行う。(2) 種を存続させるための科学的な技術開発とその活用の評価を行う。(3) 国、県、市町村等の依頼に対応した技術支援を行う。（地域資源の活用等を含む）	
3 成果 <ol style="list-style-type: none">(1) アツモリソウの生息域内保全と野生株の移植について、自然環境復元学会に投稿した論文が掲載された。本種の生息域内保全と移植の取り組みでは学術誌初の快挙となる。花巻市より依頼されたアツモリソウ自生地の保全措置を進め、自生地から採取した種子発芽に着手した。（表1、表2、図1）(2) 環境省に依頼された種の保存法指定植物チョウセンキバナアツモリソウの発芽試験について、苗の提出を完了し、論文執筆に着手した。(3) 東日本大震災津波後の希少植物調査の調査結果が全環研会誌の震災10年特集の寄稿文として掲載された。また、新たな取り組みとして種の保存研究の対象4種について結実調査および採種に取り組んだ。（表1、図2、図3）(4) 大迫町商工会に提出したハヤチネウスユキソウとアツモリソウ花酵母の酵母パンが継続的に販売されており、その後追加で培養した絶滅危惧種ミチノクナシの果実酵母を同商工会に提出した。(5) 東北の産業支援に貢献する優れた研究技術の開発を行ったとして、上記の成果をもとに第21回インテリジェンス・コスモス奨励賞の受賞が内定した。（令和4年5月授与）	
4 今後の取り組み <ol style="list-style-type: none">(1) 自生地の保全に有効な技術開発を進め、効果の確認を行う。(2) 試験対象としている希少植物の生息域外保全を進める苗生産等の技術を開発する。(3) 国や地方公共団体等からの希少野生植物等の保護や資源活用の依頼内容に応じて技術支援を行う。	

表1 主な発表業績(令和3年度)

No	主催団体	掲載書誌名刊号頁	発表年月日	カテゴリー	タイトル名	発表者	審査
1	自然環境復元学会	自然環境復元研究 第12巻第1号, 3-16	2021/11/1	論文	生息域内保全を目的にしたアツモリソウ野生株の移植と保全措置の有効性	小山田智彰・鞍懸重和・高柳茂暢・吉田馨	有
2	全国環境研協議会	全環研会誌第46巻第4号	2021/12/27	寄稿文	<特集>東日本大震災から10年を経過して～国環研及び被災3県の環境研の取組～被災地岩手のあの時、そしてこれから(海浜性希少植物の被災後から現在にかけての状況とこれからの研究への展望)	小山田智彰	無

〈自然環境復元研究 Vol. 12 No. 1 (2021) より〉

- a. [繁殖] (自然状態での繁殖能力について)
 - 5 増殖が認められない
 - 4 弱い増殖力がある
 - 3 中位の増殖力が認められる
 - 2 著しい増殖力がある
 - 1 強大な増殖力がある
- b. [立地] (生息地の消失危険度について)
 - 5 極めて強い
 - 4 強い
 - 3 中
 - 2 弱い
 - 1 無い
- c. [個体数] (生息地点における個体数について)
 - 5 消失
 - 4 1～2個体
 - 3 3～5個体
 - 2 6～9個体
 - 1 10個体以上
- d. [採取] (あり・なし) (採取の危険度について)
 - 5 極めて強い
 - 4 強い
 - 3 中
 - 2 弱い
 - 1 無い
- e. [動物による食害の影響] (あり・なし) (食害の影響について)
 - 5 消失した
 - 4 大規模に食害を受けている
 - 3 部分的に食害を受けている
 - 2 一部に食害を受けている
 - 1 変化なし
- f. [病害虫による影響] (あり・なし) (病害虫の影響について)
 - 5 枯死した
 - 4 大きな影響を受けている
 - 3 部分的に影響を受けている
 - 2 一部に影響を受けている
 - 1 変化なし



図1 保護柵を襲撃するツキノワグマ

表2 考案したアツモリソウ消失リスク表

〈全環研会誌 Vol. 46 No. 4 (2021) より〉

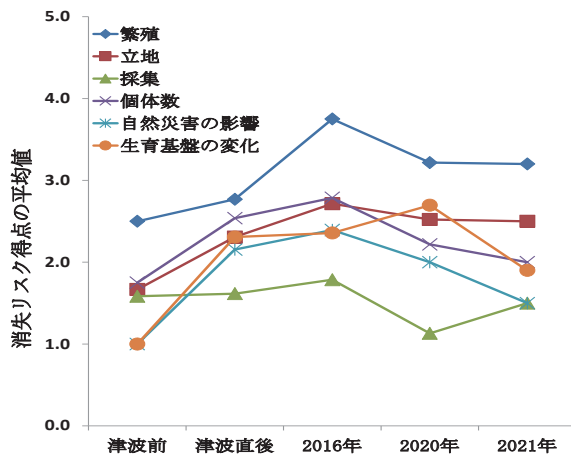


図2 海浜性希少植物の動態調査より消失リスク評価の調査結果



図3 東日本大震災発生後の調査で県内初確認したオオアカバナ(いわてレッドデータブックAランク)

〈表1を除いた引用文献〉

- 1) 小山田智彰：岩手県におけるアツモリソウの現状と保全. 全国環境研会誌, 44 (3), 122-127, 2019
- 2) 小山田智彰, 鞍懸重和, 千崎則正：岩手県における東日本大震災津波の影響調査:海浜性希少植物の動態. 全国環境研会誌, 45 (4), 33-38, 2020

研究成果報告書（12）

研究課題名	個体特性および個体群構造に基づいたイヌワシの保全に関する研究
担 当	地球科学部 上席専門研究員 前田 琢
<p>1 目的</p> <p>国内最大規模のイヌワシ生息地を有する岩手県では、これまでにのべ35つがいの繁殖が確認されてきた。しかし、2002年以降、消失するつがいが見られるようになり、その数は2021年時点で9つがいにまで増えている。背景には、長年続く繁殖成功率の低迷による若齢個体の減少があると推測される。今後安定的に生息数を維持していくためには、繁殖率の向上に資する保全方法を明らかにすることが重要となる。</p> <p>これまでの研究によって、県内のイヌワシの生息状況や生態的特性に関する多くの知見が集積されてきたが、個体の移動範囲、幼鳥の分散、地域間での遺伝的差異など、今後の生息動向を予測するために必要となる事項には、まだ十分解明されていないものも多い。また、つがい間ではばらつきのある繁殖成績や営巣場所選択についても、標高、地形、土地利用、植生等を考慮した分析により、そのしくみを明らかにする必要がある。本研究では、このような課題に取り組むことを通じて、岩手県のイヌワシの生息数を維持していくために必要な保全手法を明らかにすることを目的とした。</p> <p>3年度（2021年）には次に挙げる4項目に関して調査研究を行なった。(1) つがいの動向および繁殖状況のモニタリング調査、(2) 映像を用いた個体識別による移動分散調査、(3) 羽根等を利用した遺伝子解析（京都大学野生動物研究センターとの共同研究）、(4) 周辺環境や個体の特性等を考慮した繁殖成績の解析。</p> <p>2 方法</p> <p>(1) つがいの動向および繁殖状況のモニタリング調査</p> <p>県内で確認されている全つがいを対象に、繁殖期全般にわたる行動、巣の状態、ひなの生育状況等を調査し、繁殖経過を明らかにした。また、これまでに生息が確認されていない地域で、新たなつがいや営巣地を発見するための探索調査も実施した。調査したつがいは可能な限り個体識別を行ない、個体の入れ替わり等を検討した。また、カメラが設置されている一部の巣においては、イヌワシの繁殖行動を継続的に撮影し、親鳥の出入り頻度、抱卵・抱雛時間、雛の成長、給餌頻度、食餌率、餌内容などを定量的に分析した。</p> <p>(2) 映像を用いた個体識別による移動分散調査</p> <p>県内外で観察されたイヌワシを可能な限り写真撮影するとともに、各地の観察者が撮影した個体の映像を収集、整理し、特徴の比較を行なった。そして同一個体を判別することにより、個体の移動分散の状況を明らかにした。</p> <p>(3) 羽根等を利用した遺伝子解析</p> <p>イヌワシの巣の周辺や採餌場所から、脱落した羽根、ペレット、糞などを採集し、それらの試料をもとにミトコンドリアDNAのコントロール領域（CR）および擬似コントロール領域（ΨCR）や、核DNAのマイクロサテライトおよび主要組織適合複合体（MHC）遺伝子等について調べ、多様性やハプロタイプなどの解析を行なった。</p> <p>(4) 周辺環境や個体の特性等を考慮した繁殖成績の解析</p> <p>各営巣地の周辺の環境条件（標高、傾斜、土地利用、植生など）を国土数値情報やJAXA衛星写真判別データを利用して1～10km四方スケールで段階的に計測したほか、衛星画像に基づいて牧草地や伐採地など好適採餌場所となる環境の面積割合についても計測した。これらを説明要因として用い繁殖成績との関係をモデル解析した。さらに、補足情報として用いるため、各つがいの個体の年齢推定を行なった。</p>	

3 結果

(1) つがいの動向および繁殖状況の調査

2021年には県全体で26つがいの生息が確認され、このうち8つがいで抱卵、6つがいで育雛、2つがいでひなの巣立ちが確認された。繁殖成功率は7.7%で前年と同じであったが、産卵や孵化が見られたつがい数は大きく減少した。繁殖失敗の直接的原因が確認できた事例はなかったが、つがい相手が不在となって繁殖活動が停滞する事例が4つがいで見られた。新規つがいの発見はなかったが、既存つがいにおいて新たに2つの巣の存在が確認された。

巢内カメラによる調査では、巣立ちに至るまでの繁殖期の全映像を記録することができ、餌の供給や雛の食餌率などの変化を定量的に明らかにすることができた。その結果、餌の供給が停滞して一時的に絶食が続いた時期が見られたものの、雛が高日齢になっていたため乗り切ることができたと推測された。

(2) 映像を用いた個体識別による移動分散調査

大槌町で繁殖するつがいが、夏期に約30キロ離れた大船渡市に滞在していた事例や、約30キロの距離にある遠野市まで移動していた事例が明らかになった。また宮古市内でも成鳥による約20キロの移動事例が確認された。これらの事例から、隣接つがいがないになると行動圏が拡大する傾向があることが示唆された。

(3) 羽根等を利用した遺伝子解析

岩手県内で採集した試料を中心に、西日本の個体も加えた約60羽の野生個体について遺伝的特性を解析したところ、ハプロタイプの顕著な地理的偏りは見られず、国内のイヌワシは1つの遺伝的集団と見なせることが明らかになった。マイクロサテライトの遺伝的多様性は、別亜種と比較しても低いレベルにはなく、個体数減少が起きているにもかかわらず近親交配は進んでいないと判断された。しかし、平均アレル（対立遺伝子）多様度は少ない傾向が認められ、同様のことがMHC遺伝子の多様性についても明らかになったことから、日本のイヌワシはボトルネックにより希少な遺伝子を失いつつある状態と考えられた。このため、遺伝子プールとしての飼育個体群の活用が重要になると考えられた。

(4) 周辺環境や個体の特性等を考慮した繁殖成績の解析

2002～18年に抱卵が確認された巣における孵化の成否（204事例）、および孵化が確認された巣における巣立ちの成否（132事例）のデータを利用し、一般化線形混合モデル（GLMM）により解析を行なった結果、標高や農地率の低い場所にある巣は孵化の成功が、傾斜の急な場所にある巣では巣立ち成功が有意に多い傾向が明らかになった。

4 今後の研究方向等

(1) 各営巣地における繁殖状況や失敗原因の詳細な把握を進めるとともに、未確認つがいや消失つがいが示唆される地域を中心に、引き続き情報収集および探索調査を行なう。

(2) 各つがいを構成する個体の履歴について情報をまとめ、生存率の推定などに寄与するデータを蓄積する。

(3) 年齢など個体の特性を考慮することによって、繁殖成績を説明するモデルの精度向上を目指す。また、繁殖との関わりが示唆された標高や傾斜がどのように影響しているのかについて詳しい解明を進める。

(4) 多くの個体映像を集めて識別事例を増やし、広域的な移動分散の実態やつがい関係の知見を拡充する。

(5) MHC遺伝子と繁殖成績の関連を、飼育下個体や野生個体について解析し、配偶者選択を通じて繁殖成績の低下が生じるか検討する。また、遺伝子を用いた個体識別、近縁関係の解明方法についても検討する。

研究成果報告書（13）

研究課題名	ツキノワグマの個体群動態と将来予測手法の開発ならびに人里への出没メカニズムの解明
担 当	地球科学部 主任専門研究員 鞍懸 重和

1 目的

継続したヘア・トラップ調査の結果を組み入れた、県独自の個体群動態モデルと将来予測モデルを作成する。また、ツキノワグマ（以下、クマ）にGPSテレメトリー首輪を装着して詳細な行動を把握し、大量出没年と非大量出没年の行動の変化からクマの人里への出没要因を検討する。

本年は、2009～2012年及び2018～2020年に実施された岩手県全域を対象としたヘア・トラップ調査（以下、大規模HT調査）の結果を用いて、ハーベストベースドモデルをベースとしたクマの個体群動態モデルを作成し、2022年夏季時点のクマの個体数を予測する（図1）。

2 方法

個体数推定ユニットは、北奥羽地域および北上高地を閉伊川で南北に分けた北上高地南部地域、北上高地北部地域の3ユニットとし、各ユニットの推定値を加算し岩手県全域の個体数を推定した。推定期間は、各ユニットで2009～2022年とした。推定に用いたデータは、2009～2021年の捕獲数と2018～2020年に実施した2回目の大規模HT調査結果の推定個体数と分散値を用いた。

推定モデルはハーベストモデルとした。個体数の経年の変動を表す過程モデルではマルサスモデルを用い、個体数と密度指標の関係を表す観測モデルは、変換係数などのパラメーターは用いず、2回目の大規模HT調査結果の推定個体数を、各ユニットの調査年時の個体数を推定するための密度指標データとして用いる1指標のみのモデルとした。また、個体数の期待値の誤差分布を正規分布とした上で、その分散値に2回目の大規模HT調査による推定個体数の分散値を用い個体数を推定した。事前分布は、各ユニットの初期頭数に誤差分布を正規分布とした上で、1回目の大規模HT調査による推定個体数および分散値を用いた。その他のパラメーターは無情報ないしそれに準ずる事前分布を用いた。

各パラメーターはマルコフ連鎖モンテカルロ法（MCMC法）により計算し、MCMC法による計算は初期値の異なる3本の連鎖についてそれぞれ200万回行い、初めの100万回を切捨て、以後200回ごとに結果を抽出した。また、MCMC法の計算には、計算ソフトであるJAGS4.3.0を用いた。各パラメーターの収束診断にはgelman-rubinによるRhat値を採用し、パラメーターの収束の判定はRhat値が1.1未満であることを基準とし判定した。

3 結果・考察

全パラメーターのRhat値は1.1未満であり、収束したものと判断した。

各ユニットの2009年（夏季）と2022年（夏季）の個体数の中央値は、県全域で3280頭と3358頭、北奥羽地域で1317頭と1754頭、北上北部地域で1143頭と748頭、北上南部地域で812頭と820頭であった（図2）。

各ユニットの自然増加率は、北奥羽地域で1.11、北上北部地域で1.05、北上南部地域で1.14であった（表1）。

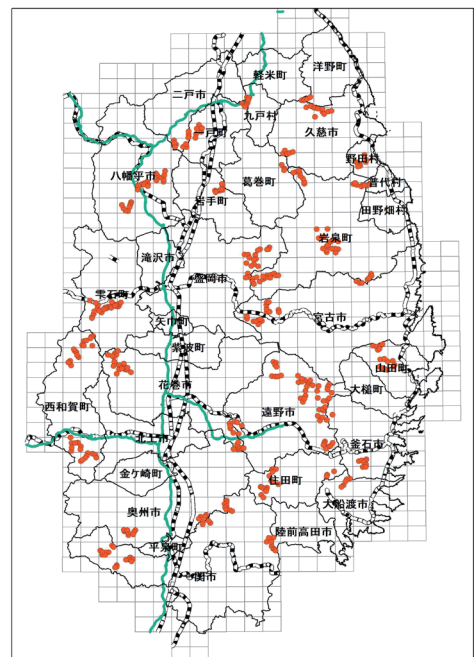


図1 第2回大規模HT調査時のトラップ設置位置

作成したモデルでは全パラメーターともに収束し良好にパラメーターを推定することができた。本モデルは標識再捕獲法による推定結果をデータとして活用する簡易なモデルとして位置づけているが、推定結果をデータとして活用することで、多くのパラメーターを簡略化し、捕獲履歴からハーベストモデル内の各パラメーターを算出するモデルよりも、より早く結果を算出するモデルとなっている。捕獲履歴からパラメーターを推定するモデルは推定パラメーター数が数万～十数万となるため、計算に時間がかかり、実際に運用する個体群動態モデルとしては問題である。捕獲履歴からパラメーターを推定するモデルと簡易なモデルでどの程度誤差が生じるかは不明であるが、両モデルも同じ捕獲履歴から個体数を算出するため、大きな誤差が生じるとは考えにくい。しかし誤差の程度を把握するため、今後、両モデル間での誤差の検証が課題となる。

現在のクマの推定個体数の推移は定常状態にあり大きな変化はないが、次期管理計画では、捕獲上限数の設定にあたり、推定個体数の14.5%の捕獲を基準としており、全地域とも算定基準よりも低い自然増加率となっている。このため、今後は、クマの個体数が減少傾向に移行する可能性もあるため、クマの保護管理にあたっては、継続したモニタリング調査の実施が必要である。

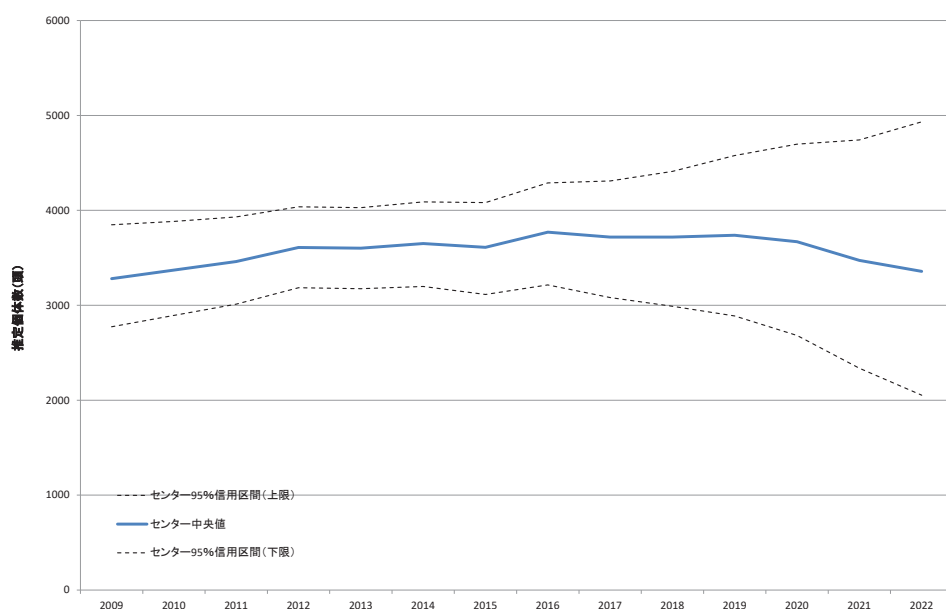


図2 岩手県におけるツキノワグマの個体数の推移

表1 各ユニットの内的自然増加率

	平均値	標準偏差	2.50%	median	97.50%
内的自然増加率 (北奥羽)	1.11	0.03	1.06	1.11	1.17
内的自然増加率 (北上南部)	1.14	0.06	1.05	1.14	1.23
内的自然増加率 (北上北部)	1.05	0.02	1.00	1.05	1.09

研究課題名	岩手県におけるニホンジカの個体数推定法に関する研究
担 当	地球科学部 主任専門研究員 鞍懸 重和

1 目的

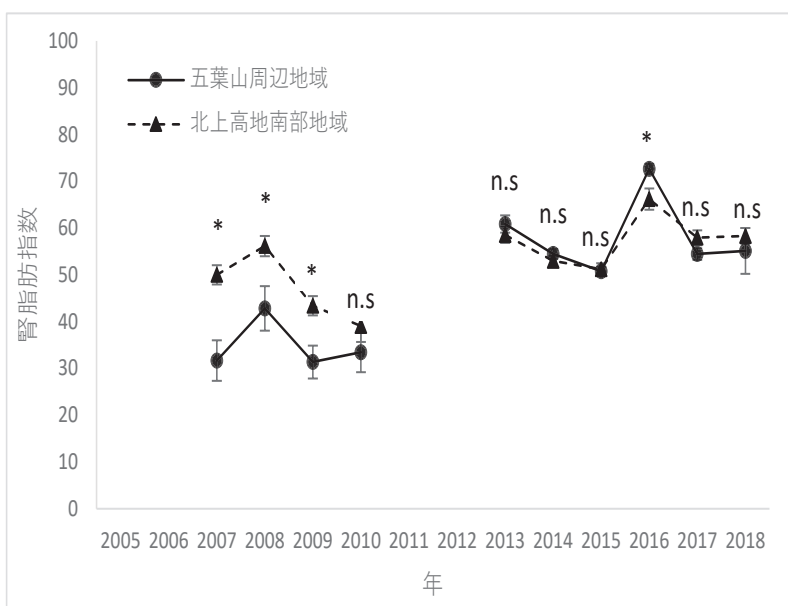
岩手県では、第6次シカ管理計画（以下、6次計画）において2005年から2018年の県全域のニホンジカ（以下、シカ）の個体数を、階層ベイズ法の枠組みを利用した Harvest_based Model（以下、ハーベストモデル）により推定した。6次計画で使用したモデルは岩手県を五葉山周辺地域（五葉山周辺5kmメッシュ25メッシュの範囲）、北上高地南部地域（北上川以東、閉伊川以南）及びその他の地域に分け推定するものだが、自然増加率は地域、年に関らず一定であることを仮定したモデルになっている。野生動物において自然増加率は、地域及び年により異なることが予想されるため、推定精度の高いモデルを構築するためには、今後地域性及び年変動を考慮に入れた自然増加率を推定するモデルが求められる。

そこで本研究では、自然増加率を構成する妊娠率や生存率と関係するシカの栄養状態に着目し、栄養状態の地域性、年変動の傾向を明らかにするとともに、試験的に栄養状態のデータを活用したハーベストモデルを構築した。

2 方法

シカの栄養状態は、2005年から2018年にかけて有害・狩猟により捕獲した個体の腎臓から、腎臓重量当たりの調整された腎脂肪および腎臓の合計重量で示される腎脂肪指数（ライニー係数）を算出し調査した。算出した腎脂肪指数は、五葉山周辺地域及び北上高地南部地域の2地域、年ごとに集計し、年ごとに2地域の腎脂肪指数をマンホイットニーのU検定で比較した。この時両地域のいずれかでサンプル数が50に満たない年については解析を行わなかった。

個体数推定に使用した基本となるモデルは、6次計画で使用したハーベストモデルを用い、腎脂肪指数をモデル内へ導入した。腎脂肪指数の導入は、モデル内の地域、年について一定とした自然増加率（以下、固定R）に対し、腎脂肪指数と連動する補正パラメーターを設け、固定Rに補正パラメーターを乗じたものを各地域、年ごとの自然増加率（以下、変動R）として各パラメーターを推定した。また補正パラメーターに腎脂肪指数変換係数を乗じ、それを対数化後ランダム変量を加え、再度指数化し直したものを腎脂肪指数の期待値とした。事前分布は、無情報ないしそれに準ずる事前分布を用いた。



各パラメーターはマルコフ連鎖モンテカルロ法（MCMC法）により計算し、MCMC法による計算は初期値の異なる3本の連鎖についてそれぞれ200万回行い、初めの100万回を切捨て、以後200回ごとに結果を抽出した。また、MCMC法の計算には、計算ソフトであるJAGS4.3.0を用いた。各パラメーターの収束診断にはgelman-rubinによるRhat値を採用し、パラメーターの収束の判定はRhat値が1.1未満であることを基準とした。

図1 五葉山周辺地域及び北上高地南部地域における腎脂肪指数の推移

3 結果と考察

年ごとのシカの腎脂肪指数の地域間比較では、2007年、2008年及び2009年で五葉山周辺地域が北上高地南部地域より腎脂肪指数が有意に低かった。また2016年には五葉山周辺地域が北上高地南部地域より有意に高かった。その他の年では有意な差は見られなかった(図1)。このことは個体数推定期間の初期には北上南部地域よりも五葉山周辺地域で栄養状態が悪く、2013年以降から2018年は両地域の栄養状態に大きな差が見られないことを示唆している。

2007年から2009年にかけて五葉山周辺地域でシカの栄養状態が悪かった理由の一つに、シカの生息密度の影響が考えられる。2007年、2009年及び2011年に実施された五葉山周辺地域におけるシカの追出し調査結果は、47.4頭/km²、39.2頭/km²及び45.7頭/km²と高い水準であった。五葉山周辺地域での餌資源量の変化は不明であるが、長期間のシカの高密度状態に伴う餌資源不足がシカの栄養状態を悪化させた可能性がある。

2013年以降は五葉山周辺地域と北上高地南部地域の栄養状態に大きな差は見られなかった。これは6次計画のシカの推定個体数において、五葉山周辺地域の推定個体数が2005年から2012年頃に向け増加、その後減少傾向に転じていることから、個体数の減少に伴い五葉山周辺地域の栄養状態が回復したものと考えられる。今後五葉山周辺地域の捕獲数を減少させると個体数が再び増加する可能性があり、今後も継続した高い捕獲圧が求められる。

ハーベストモデルによる個体数推定では、各パラメータの事後分布のRhat値は、34480個中33941個のパラメータが1.1未満であり、残り539個で収束しなかった。収束しなかったパラメータは糞塊密度変換係数、腎脂肪指数変換係数、固定R、変動R、各地域の推定個体数、環境収容力など主要なパラメータであった。特に腎脂肪指数変換係数の推定幅は広く、それに連動する自然増加率、個体数に大きく影響を及ぼし主要なパラメータが収束しなかったものと思われる。

本モデルでは腎脂肪指数が自然増加率と一定の関係があるもの仮定して導入したが、今後は、腎脂肪指数データの導入にあたり、自然増加率のパラメータを妊娠率および生存率に分離し、また腎脂肪指数データを雌雄に集計しなおし、それぞれのパラメータに適した形で腎脂肪指数データを使用するなど、再度導入方法について検討する必要がある。