

# 広島県立総合技術研究所 保健環境センター研究報告

## 第 31 号

2023 年 12 月

### 目 次

#### 資 料

学生寮で発生した腸管出血性大腸菌 O26 集団感染事例の分子疫学解析 東久保 唯, 平塚 貴大, 秋田 裕子 .....	1
2013 年から 2022 年までに広島県で検出されたノロウイルス GII.2 及び GII.4 Sydney の遺伝子解析 末井 真菜, 伊藤 彩乃, 重本 直樹 .....	7
まつげ美容液中の医薬品成分等迅速分析法の確立 菅田 和子, 伊達 英代 .....	13
LC-MS/MS を用いた農産物を主原料とした加工食品中の残留農薬の一斉分析法 井原 紗弥香, 渡部 緑, 中島 安基江 .....	19
広島県における微小粒子状物質 (PM <sub>2.5</sub> ) の 10 年間の推移 竹本 光義, 久保田 光 .....	27
京橋川の河岸干潟における泥分・有機物集積域の形成要因 後田 俊直 .....	33
他誌掲載論文 (2022 年 10 月～2023 年 9 月) .....	42

資料

## 学生寮で発生した腸管出血性大腸菌O26集団感染事例の分子疫学解析

東久保 唯, 平塚 貴大, 秋田 裕子

### Molecular Epidemiological Analysis of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26 isolated from an Outbreak Case in a Student Dormitory

TOKUBO Yui, HIRATSUKA Takahiro, and AKITA Hiroko

(Received: October 13, 2023)

2022年に県内の学生寮で発生した腸管出血性大腸菌O26集団感染事例から分離された16株について、血清型別検査に加えて分子疫学解析手法であるMLVA法、PFGE法及びSNPs解析を実施した。分離された菌株は、血清型別検査では1株のみH抗原の表現型が異なったが、遺伝子型はすべての株で一致した。MLVA法による解析では16株中15株が同一集団事例関連株と判断可能な2遺伝子座以内の相違であったが、1株の結果が3遺伝子座の相違となり、判断の基準を超えた。この理由として、伝播の過程でプラスミドを獲得したことが考えられた。一方、PFGE法では、すべての株でバンドパターンの差異が1バンド以内であった。SNPs解析では、すべての株間の変異差は1塩基以内であった。今回比較した分子疫学解析では、3つの解析結果にわずかな差が確認されたものの、いずれの手法も同一集団事例の判断に有用な手法であることが示された。

Key words : 腸管出血性大腸菌, MLVA法, PFGE法, SNPs解析, 分子疫学解析

## 結 言

腸管出血性大腸菌感染症とは、ベロ毒素を産生する腸管出血性大腸菌を原因とする感染症である。臨床症状として腹痛、発熱、下痢、血便などがあり、溶血性尿毒症症候群（HUS）を引き起こすと、重篤な後遺症を残したり、死亡する可能性もある。主な感染経路は経口感染で、食品を介した食中毒や、汚染された環境を介して集団感染を起こす場合がある。これらの感染源を解明するためには、菌株レベルで遺伝子を解析する分子疫学解析が重要である。腸管出血性大腸菌の主要な血清群として、O157, O26, O111などが挙げられる。2022年に県内で最も発生届の多かった血清群はO26であり、その中には、学生寮で発生した集団感染事例と1件の家族内感染事例が含まれていた。今回、学生寮で発生した集団感染事例におけるO26の菌株について株間の分子疫学的関連性を明らかにするため、Multilocus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA) 法、Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) 法及び

全ゲノムを利用したSingle-Nucleotide Polymorphism (SNPs) 解析を行ったので概要を報告する。

## 方 法

### 1 供試菌株

2022年の5月下旬から6月初旬にかけて県内の学生寮で発生した集団感染事例で患者から分離され、当所へ搬入された腸管出血性大腸菌O26 16株(菌株番号22-01~15, 17)を用いた。

### 2 血清型別検査

分離された16株の血清型別を実施した。O血清型別用の試験液には、BHI斜面培地で純培養した各菌株を生理食塩水に濃厚に懸濁し、121℃で30分の高圧蒸気滅菌後、900×gで20分遠心した沈査を滅菌生理食塩水で再懸濁したものを使用した。H血清型別用の試験液作成のために、BHI斜面培地で純培養した各菌株を0.2% TSA培地の端に接種し一晩培養後、反対の端まで遊走した部分を白金耳で釣菌し、TSB培地に接種した。

一晚培養後、最終濃度が0.5%となるようホルマリン加生理食塩水液を加えて固定し、試験液として使用した。

型別には病原大腸菌免疫血清「生研」(デンカ生研)を使用し、添付資料に従い検査を実施した。

また、H型についてはHg11のみ、遺伝子型別も実施した。型別用プライマーは病原体検出マニュアル(腸管出血性大腸菌)に記載のHg検出用プライマーを使用した。DNAテンプレートとして、BHI斜面培地で純培養した各菌株を500 µLの滅菌蒸留水に懸濁し、95°C5分加熱後、13000 rpmで2分遠心したものの上清を使用した。PCR試薬にはEx Taq HS (TaKaRa)を使用した。各プライマーの最終濃度が0.2 µMとなるよう試薬を調整し、98°C/1分後に98°C/10分、65°C/30秒、72°C/30秒の反応を35回繰り返し、72°C/10分その後伸長を行った。PCR産物の有無をアガロースゲル電気泳動によって確認した。

### 3 MLVA法

MLVAハンドブック[1]の方法に従い、O157-10を除いた17ヶ所の遺伝子座について、型別時と同様の方法で作成したDNAテンプレートをを用いて解析した。QIAGEN Multiplex PCR Kit (QIAGEN) を用いて各菌株で2セットのPCR反応を実施し、3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) 及びGene Mapper Software 5 (Applied Biosystems) を用いてフラグメント解析を行った。Fragment size markerはGeneScan 600 LIZ Size Standard v2.0 (Applied Biosystems) を使用した。なお、フラグメント解析によりピークが認められない場合はリピート数を「-2」とした。また、BioNumerics Ver.6.6 (Applied Maths) を用いMinimum Spanning Tree (MST) 解析を行った。

### 4 PFGE法

国立感染症研究所の方法[2]に準拠した。制限酵素はXba I (TaKaRa) を用い、電気泳動はBIO-RAD CHEF MAPPER (BioRad) を用いて6V/cm、パルスタイム2.16-63.8秒、14°Cの条件で18時間行った。バンドパターンは、BioNumerics Ver.6.6 を用いてDice 及びUPGMAによりクラスター解析を行った。バンドパターンの相違数が3以内を同一クラスターとして分類した。

### 5 SNPs解析

分離された菌株からPowerBead tubes, glass 0.5mm (QIAGEN) によるビーズ破砕後にQIAamp DNA

Mini Kit (QIAGEN) によってDNAを抽出し、QIAseq FX DNA Library CDI Kit (QIAGEN) を使用してライブラリを作成した。iSeq 100 system (Illumina) を使用し、150bpのペアエンドシーケンスを実施した。得られたリードデータについてfastp [3] (ver. 0.23.2) によるクオリティコントロールを実施後、BactSNP (ver. 1.1.0, <http://platanus.bio.titech.ac.jp/bactsnp>) を使用してコアSNPsを抽出し、シュードゲノムを作成した。参照配列として、National Center for Biotechnology Information (NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) から取得した腸管出血性大腸菌のゲノムデータ(アクセッション番号 AP018808) を使用した。作成したシュードゲノムから組み換え領域をGubbins [4] (ver. 3.1.6) によって除去し、popart (ver. 1.7, <https://popart.maths.otago.ac.nz/>) を使用してmedian-Joining法によるネットワーク図を作成した。

## 結 果

### 1 血清型別検査

血清型別の結果を表1に示した。22-10を除く15株はO26:H11と型別された。22-10は0.2%TSA培地中で遊走がみられなかったため、O26:H-と判定した。遺伝子の保有状況を確認するため、Hg11型別PCRを実施した結果、22-10を含むすべての株がHg11に型別された。

表1 本事例で分離された腸管出血性大腸菌の性状

菌株番号	血清型		毒素型
	表現型	遺伝子型 (H型のみ)	
22-01	O26:H11	Hg11	VT1
22-02	O26:H11	Hg11	VT1
22-03	O26:H11	Hg11	VT1
22-04	O26:H11	Hg11	VT1
22-05	O26:H11	Hg11	VT1
22-06	O26:H11	Hg11	VT1
22-07	O26:H11	Hg11	VT1
22-08	O26:H11	Hg11	VT1
22-09	O26:H11	Hg11	VT1
22-10	O26:H-	Hg11	VT1
22-11	O26:H11	Hg11	VT1
22-12	O26:H11	Hg11	VT1
22-13	O26:H11	Hg11	VT1
22-14	O26:H11	Hg11	VT1
22-15	O26:H11	Hg11	VT1
22-17	O26:H11	Hg11	VT1

## 2 MLVA法

MLVA法によって解析を行った菌株の各遺伝子座のリピート数及びMLVA型を表2に示した. 16株中22-03, 17以外の14株は, すべての遺伝子座のリピート数が一致し, 13m2214であった. 一方で, 22-03は3か所, 22-17 は1か所の遺伝子座にリピート数の違いがみられた. 22-03は17遺伝子座のうち, 3か所の遺伝子座 (EHC-2, O157-37, EHC-6) でリピート数が異なっており, MLVA型は22m2016となった. EHC-2では他の株と比べて1リピート増加し, 14リピートであった. O157-37, EHC-6においては, それぞれ3リピート, 10リピートという結果になったが, 他の株ではこの遺伝子座でピークは検出されなかった. 22-17では1か所の遺伝子座 (O157-9) において他の株より1リピート多く9リピートで, MLVA型は14m2192であった. 16株のうち14株が13m2214, 1株は22m2016, 1株は14m2192となり, 同じ集団感染事例の中に異なるMLVA型の菌株が存在していたことが確認された. この結果をMinimum Spanning Treeによって解析したものを, 図1Aに示した.

## 3 PFGE法

解析した16株のPFGE法によるバンドパターンを図2に示した. 22-09以外の15株で同一のバンドパターンを示し, 22-09とは1バンドの差があった (図2).

## 4 SNPs解析

菌株間のSNPsに基づき作成したネットワーク図を図1Bに示した. 16株のうち13株にはSNPsはみられず, 22-02, 22-17, 22-11にはそれぞれ主要な集団から1塩基ずつ変異が生じていた.

## 考 察

この集団感染事例の16株について行った血清型別の結果, 22-03はHg11の遺伝子は保有しているものの, その発現がない株であると考えられた. 本事案のように疫学情報が明確である場合は, 同一事案に関連性がある株かどうかの判断に窮することはないが, 疫学情報が不明な場合, 性状と分子疫学解析の結果が不一致であるとその判断が困難になる場合がある. 今回の結果から, 遺伝子を保有していても発現していない可能性があることから, 遺伝子の保有状況も確認するとともに, 他

表2 MLVA法による各遺伝子座のリピート数とMLVA型

菌株番号	各遺伝子座のリピート数														MLVA type			
	O157 -3	O157 -9	O157 -25	O157 -34	EH157 -12	EH111 -11	BH111 -8	EHC-1	EHC-2	EHC-5	O157 -17	O157 -19	O157 -36	O157 -37		EH26 -7	EH111 -14	EHC-6
22-01	-2	8	2	1	2	2	1	7	13	-2	-2	1	-2	-2	3	1	-2	13m2214
22-02	-2	8	2	1	2	2	1	7	13	-2	-2	1	-2	-2	3	1	-2	13m2214
22-03	-2	8	2	1	2	2	1	7	<b>14</b>	-2	-2	1	-2	<b>3</b>	3	1	<b>10</b>	<b>22m2016</b>
22-04	-2	8	2	1	2	2	1	7	13	-2	-2	1	-2	-2	3	1	-2	13m2214
22-05	-2	8	2	1	2	2	1	7	13	-2	-2	1	-2	-2	3	1	-2	13m2214
22-06	-2	8	2	1	2	2	1	7	13	-2	-2	1	-2	-2	3	1	-2	13m2214
22-07	-2	8	2	1	2	2	1	7	13	-2	-2	1	-2	-2	3	1	-2	13m2214
22-08	-2	8	2	1	2	2	1	7	13	-2	-2	1	-2	-2	3	1	-2	13m2214
22-09	-2	8	2	1	2	2	1	7	13	-2	-2	1	-2	-2	3	1	-2	13m2214
22-10	-2	8	2	1	2	2	1	7	13	-2	-2	1	-2	-2	3	1	-2	13m2214
22-11	-2	8	2	1	2	2	1	7	13	-2	-2	1	-2	-2	3	1	-2	13m2214
22-12	-2	8	2	1	2	2	1	7	13	-2	-2	1	-2	-2	3	1	-2	13m2214
22-13	-2	8	2	1	2	2	1	7	13	-2	-2	1	-2	-2	3	1	-2	13m2214
22-14	-2	8	2	1	2	2	1	7	13	-2	-2	1	-2	-2	3	1	-2	13m2214
22-15	-2	8	2	1	2	2	1	7	13	-2	-2	1	-2	-2	3	1	-2	13m2214
22-17	-2	<b>9</b>	2	1	2	2	1	7	13	-2	-2	1	-2	-2	3	1	-2	<b>14m2192</b>

の検査結果との比較を行うことで疫学的解析の精度が向上する可能性がある。

MLVA法による解析の結果、今回用いた菌株については3つの型がみられた。集団感染の一部と考える基準の範囲はリピート数の異なる遺伝子座が1~2遺伝子座以内とされているが、1株のみ3遺伝子座の違いとなり、基準を超えた。

同一の集団感染事例の中でMLVA型に多型がみられるひとつの理由として、プラスミドの獲得や脱落によるリピート数の変化があることが考えられた。O157-37, EHC-6はプラスミド上にあるこ

とが知られており[5], 22-03のみがプラスミドを保有していたために2遺伝子座が他の株と異なり, その結果集団内で1株だけ3遺伝子座が異なるリピート数であったと示唆された。

22-03がプラスミドを獲得したことを確認するため、今回の16株のNGSによって得られたデータについて解析を実施した。iSeqから得られたショートリードデータを Genepid-J (<https://gph.niid.go.jp/genepid-j/>) によって解析した結果、解析した株のうち22-03のみがInc FIIタイプのプラスミドを保有していた。また、Inc

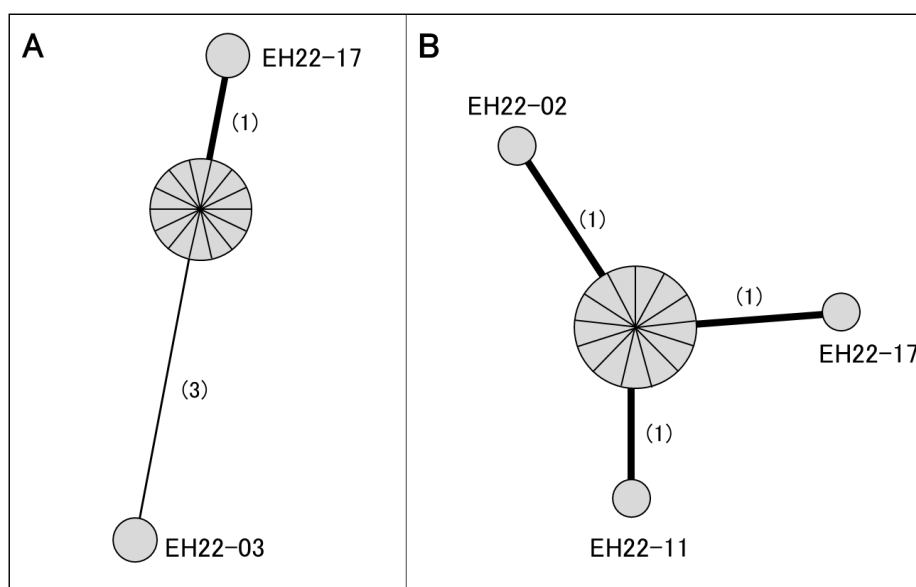


図1 MLVA法によるMST (A) とSNPs解析によるネットワーク図 (B) の比較

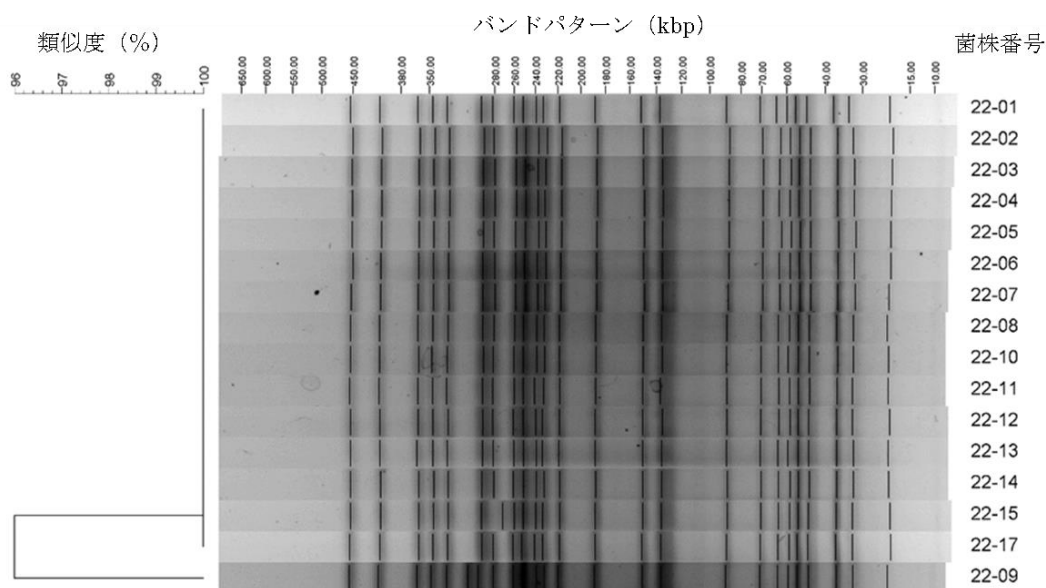


図2 PFGE法によるバンドパターンの比較

FIIプラスミドと判定されたコンティグの配列を確認すると、配列中にO157-37, EHC-6のタンデムリピートが存在していた。このように、疫学情報では共通事項がみられる株であっても、MLVA解析において3遺伝子座以上の違いがみられる場合もあるため、集団感染事例においては疫学情報を基にして総合的に判断する必要がある。

PFGE法では、22-09が1バンド異なるのみで他の株は同一のバンドパターンを示した。集団感染の一部と考える基準の範囲は、その違いが7バンド以内とされているため[6]、今回分離された16株はすべて集団感染事例に関わる菌株であると判断できる範囲内であった。

SNPsの比較では、16株中13株には変異がみられず、その他の3株においてもそれぞれ1塩基ずつの変異のみであった。Lee[7]らの報告によると、MLVA法において遺伝子座の差異が3つ以内であれば、SNPsの差は約20~40塩基になることが報告されている。今回解析した株間のSNPsは1塩基以内の変異にとどまっており、この結果はLeeらの報告と一致していた。22-03についてはプラスミドの獲得によるリピート数の変化があったことが推測されるが、プラスミドの獲得が直接的に遺伝子内の塩基置換に影響しているわけではないため、MLVA法において3遺伝子座の違いがあっても、SNPsの差が比較的少なかったことが推測された。

MLVA法、PFGE法及びSNPs解析の結果に違いが見られたのは、3つの解析法の対象が異なることにあると考えられる[8]。MLVA法は決められた遺伝子座に存在する繰り返し配列の数によって分別するものであるのに対し、PFGE法はゲノム全体を制限酵素で切断し、分子量の異なる断片数の違いにより株を分別する。SNPs解析ではすべての株が共通して保有するSNPsを抽出し、組み換え領域を取り除いた後に解析に使用した。このように各手法の原理の違いによって、今回の解析では結果に違いが生じたことが示唆された。22-03はMLVA法による解析においては集団感染事例関連株であると判断する基準から外れてしまったが、それ以外の解析手法では、いずれの手法においても集団感染事例関連株と判断できる範囲内の差であった。

## 結 語

2022年に県内の学生寮で発生した集団感染事例から分離された腸管出血性大腸菌O26 16株について、MLVA法、PFGE法及びSNPs解析により分子疫学解析を実施した。今回の事例で分離された株は、MLVA法では多型がみられたが、PFGE法、SNPs解析ではすべての株が事例関連株であると判断する基準範囲内であった。今回の事例のように、株間で血清型別や分子疫学解析の結果に違いがみられることがあるため、解析結果の解釈には疫学情報を考慮するとともに、複数の方法を併用することにより、より正確な判断が可能となると考えられる。

## 謝 辞

本研究は新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業(23fk0108636h0502)の補助を受けて実施した。

## 文 献

- [1] 地方衛生研究所全国協議会 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. 腸管出血性大腸菌 MLVA ハンドブック (O157, O26, O111 編) 第1版 (Ver1.2) (2018年11月). <https://www.chieiken.gr.jp/manual01/MLVA/MLVA-handbook2018.pdf>
- [2] 寺嶋淳, 泉谷秀昌 他. 食品由来感染症の細菌学的疫学指標のデータベース化に関する研究. 平成15年度総括・分担研究報告書. 2004, 10-21.
- [3] Chen S, Zhou Y, et al. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics*. 2018, 34, i884-i890.
- [4] Croucher NJ, Page AJ, et al. Rapid phylogenetic analysis of large samples of recombinant bacterial whole genome sequences using Gubbins. *Nucleic Acids Res*. 2015, 43(3), e15.
- [5] Izumiya H, Pei Y, et al. New system for multilocus variable-number tandem-repeat analysis of the enterohemorrhagic

- Escherichia coli* strains belonging to three major serogroups: O157, O26, and O111. *Microbiol Immunol.* 2010, 54, 569–577.
- [6] Tenover FC, Arbeit RD, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol.* 1995, 33, 2233-2239.
- [7] Lee K, Izumiya H, et al. Effective surveillance using multilocus variable-number tandem-repeat analysis and whole-genome sequencing for enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157. *Appl Environ Microbiol.* 2019, 85(17), e00728-19.
- [8] 野田万希子, 門倉由紀子 他. 腸管出血性大腸菌集団感染事例の解析と継代培養によるPFGEとMLVA パターン変化の比較. 岐阜県保健環境研究所報. 2017, 25. 1-6.

資料

## 2013年から2022年までに広島県で検出された ノロウイルスGII.2及びGII.4 Sydneyの遺伝子解析

末井 真菜, 伊藤 彩乃, 重本 直樹

### Genetic Analysis of Norovirus GII.2 and GII.4 Sydney Genotypes detected in Hiroshima Prefecture between 2013 and 2022.

SUEI Mana, ITO Ayano and SHIGEMOTO Naoki

(Received: October 13, 2023)

ノロウイルスの遺伝子型別法は、Capsid領域の配列によって行われていたが、本ウイルスは以前からORF1とORF2の間のジャンクション領域で遺伝子の組み換えが頻発することが知られており、ORF1のRdRp領域とORF2のCapsid領域の両方を用いて遺伝子型別を行うDual Typing法が推奨されている。今回、2013年から2022年までに当センターで検査を実施した急性胃腸炎患者のノロウイルス陽性検体のうち、検出数の多かったノロウイルスGII.2とGII.4 SydneyについてDual Typing法で遺伝子型別を行い、系統樹解析を行った。その結果、当該期間においては、GII.2はGII.2[P16]のみ、GII.4 SydneyはGII.4 Sydney[P16]とGII.4 Sydney[P31]の2つの遺伝子型が存在していたことが判明した。

Key words : ノロウイルス, Dual Typing法, GII.2, GII.4 Sydney

## 結 言

ノロウイルスは下痢症を引き起こす主要な原因ウイルスの一つであり、わが国では主に11月から2月にかけて食中毒や集団発生を引き起こす病因物質として知られている[1]。

ノロウイルスのゲノムは、3つのOpen reading frame (ORF) によって構成されており[2]、以前はノロウイルスの遺伝子型別は、Capsid領域の配列によって行われていた。しかし、ORF1とORF2の間のジャンクション領域において遺伝子の組み換えが頻発することが知られており[3]、大きな流行を引き起こすと考えられている。このことから、現在はノロウイルスの遺伝子型を正確に把握するため、ORF1のRNA依存性RNAポリメラーゼ (RdRp) 領域とORF2のCapsid領域の両方を用いて遺伝子型別を行うDual Typing法が推奨されている[4]。

今回我々は、2013年から2022年に検出されたノロウイルスのうち、検出頻度が高かったGII.2とGII.4 Sydneyについて、改めてDual Typing法を用いて遺伝子型

別を行い、多少の知見を得たので報告する。

## 方 法

### 1 供試サンプル

2013年1月から2022年12月までに感染症発生動向調査事業により、県内医療機関より提出された感染性胃腸炎患者の便検体から検出したGII.2 17検体、GII.4 Sydney 102検体、感染性胃腸炎集団事例で検出したGII.2 34検体、GII.4 Sydney 31検体のcDNAを用いた。なお、これらcDNAは、10%糞便乳剤からQIAamp Viral RNA mini Kit(QIAGEN)により抽出したRNA 9.5 µlに5×buffer 4 µl, 2 mM dNTPs 4 µl, 50 µM Random primer pd(N)<sub>9</sub> (タカラバイオ) 1 µl, RNase inhibitor(40U/ µl) (TOYOBO) 0.5 µl, ReverTra Ace (100U/ µl) (TOYOBO) 1 µlを加え、30℃・10分、42℃・30分、99℃・5分の条件で逆転写反応を行ったものである。

### 2 PCR法によるRdRp-Capsid領域の増幅

PCR反応は、AmpliTaq Gold Fast PCR Master



Mix UP (Applied Bio systems) 10 µl, 10 µMのセンス及びアンチセンスプライマー各1 µlとcDNA 3 µlを加えた20 µlの反応液で、95°C・10分の熱変性の後、96°C・3秒、57°C・30秒、68°C・5秒を40サイクル行い、最後に72°C・10分の最終伸長を行った。プライマーにはNoVGIIのRdRpの3'端領域とCapsidのN/S領域をカバーするMON431とG2SKRを用いた[5]。

### 3 遺伝子型別と系統樹の作成

PCR増幅産物を2%アガロースゲルで電気泳動し、増幅産物を確認後に、QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN) を用いて精製した。その後、BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (ThermoFisher Scientific) によりシーケンス反応を行い、BigDye X Terminator Purification Kit (ThermoFisher Scientific) で精製後、Applied Biosystem 3500 Genetic Analyzer (ThermoFisher Scientific) を用いたダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定した。MEGA X[6]及びCalicivirus typing tool (<https://calicivirustypingtool.cdc.gov/>) [7]にて遺伝子型を決定し、系統樹の作成はMEGA Xを使用し、Maximum-likelihood法にて行った。

## 結 果

Dual Typing法を用いて、2013年から2022年に検出されたノロウイルスGII.2とGII.4 SydneyのCapsidのN/S領域とRdRpの3'端領域における遺伝子型別を実施し、系統樹を作成した。

GII.2の遺伝子型は、51株全てがGII.2[P16]だった。Capsid領域の系統樹を図1a、RdRp領域の系統樹を図1bに示した。Capsid領域の系統樹では、2016/2017シーズン（シーズンは9月から翌年の8月まで）の流行株24株と2020/2021シーズンの流行株12株はそれぞれ一塊のクラスターを形成した。一方、RdRp領域の系統樹では、2020/2021シーズンの流行株は2016/2017シーズンの流行株とは株間で若干の変異があり、同じ枝の下流にそれぞれのクラスターを形成した。

GII.4 Sydneyの遺伝子型は、GII.4 Sydney[P16]が15株、GII.4 Sydney[P31]が118株であった。Capsid領域の系統樹を図2a、RdRp領域の系統樹を図2bに示した。Capsid領域の系統樹では、RdRp領域がP16であった株とP31であった株で大きく2つに分かれた。RdRp領域がP31であった株については2015/2016シーズンの30株及び13株を主としたクラスターが2つ認められ

たが、その他のシーズンの株は系統樹内に分散して認められた。RdRp領域の系統樹では、P16とP31の2つのグループに分類され、P16のグループは2016/2017シーズン～2019/2020シーズンの株が含まれ、P31のグループは2013/2014～2021/2022シーズンの株が含まれており、特定のシーズンの株のみで構成される大きなクラスターは見当たらなかった。

## 考 察

2013/2014シーズンから2021/2022シーズンにかけて感染症発生動向調査事業及び感染性胃腸炎集団事例の検査で検出が多かったノロウイルスGII.2とGII.4 SydneyのCapsid領域及びRdRp領域の系統樹解析を行った。

GII.2は2016/2017シーズン及び2020/2021シーズンにおいて全国的に主要流行株であり[8, 9]、広島県においても同様で [10]、検出されたノロウイルスの主要遺伝子型であった。系統樹解析の結果においてもCapsid領域とRdRp領域ともに2016/2017シーズンと2020/2021シーズンの株はそれぞれクラスターを形成しており、2つのシーズンで遺伝子レベルはやや異なる株が流行したことが示唆された(図1a, 1b)。

一方、GII.4 Sydneyは、2013/2014シーズンから2020/2021シーズンにおいて、コンスタントに検出され続けている遺伝子型であり、広島県においては2015/2016、2017/2018、2019/2020の3シーズンにおいて主要遺伝子型であった[9]。GII.4 Sydneyの系統樹解析ではRdRp領域にP16とP31を持つ2つの遺伝子型のグループ (GII.4 Sydney[P16], GII.4 Sydney[P31]) が認められ(図2b)、これらのグループはCapsid領域の系統樹でも明確に区別された(図2a)。GII.4 Sydney[P16]の検出シーズンは、2016/2017シーズン以降であり、一方GII.4 Sydney[P31]は2013/2014シーズンから現在まで検出され続けていることから、GII.4 Sydney[P16]は、GII.4 Sydney[P31]の後に出現し、少なくとも2016/2017シーズン以降は2つの異なる遺伝子型のGII.4 Sydneyが混在していたことが明らかとなった。

GII.4 Sydney[P31]のグループについては、2015/2016シーズンに流行した株はCapsid領域とRdRp領域ともに、このシーズンの株を主とするクラスターを形成したが、それ以外のシーズンの株は系統樹内で分散しており、多様なGII.4 Sydneyが長期間

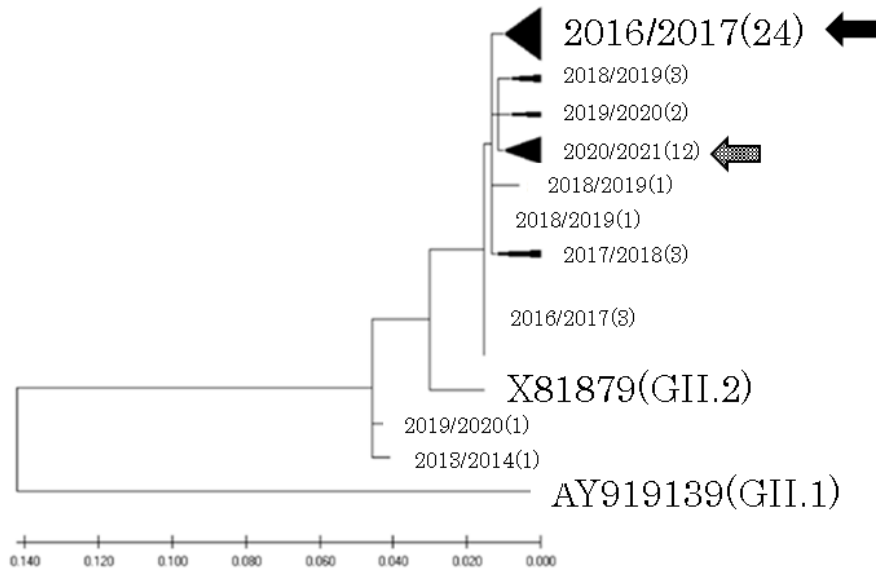


図1a ノロウイルスGII.2の系統樹 (Capsid領域)  
( ) 内は検体数

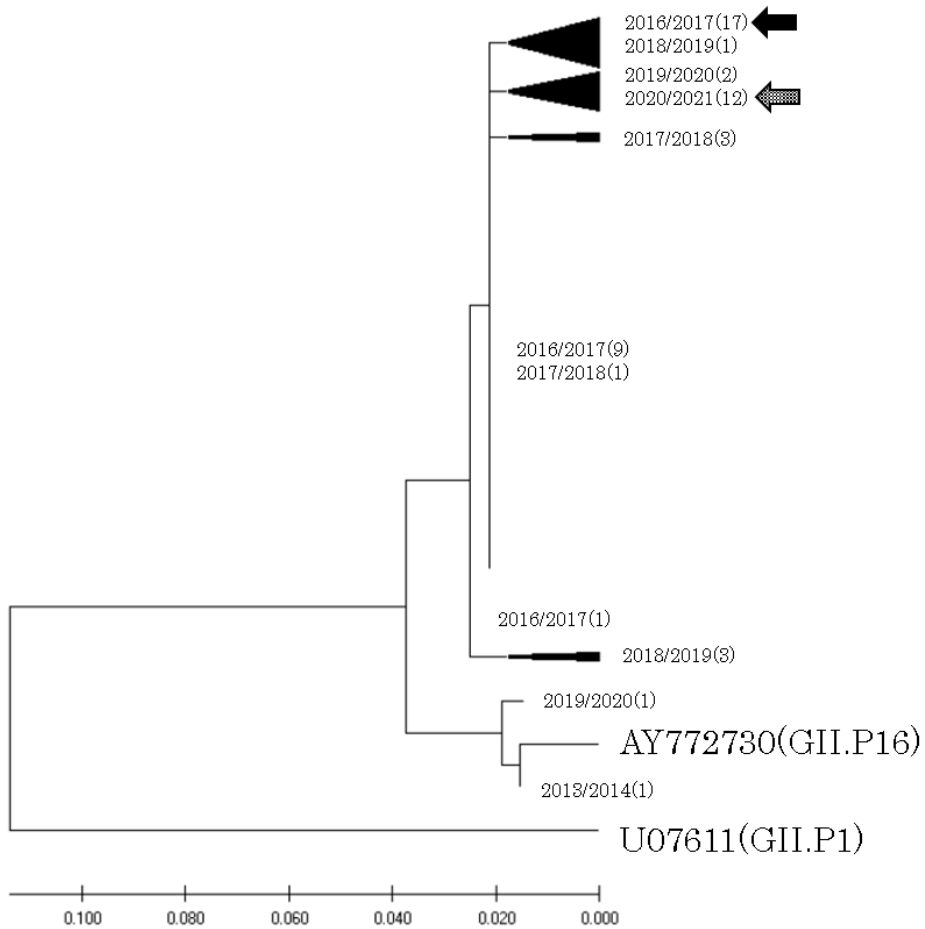


図1b ノロウイルスGII.2の系統樹 (RdRp領域)  
( ) 内は検体数

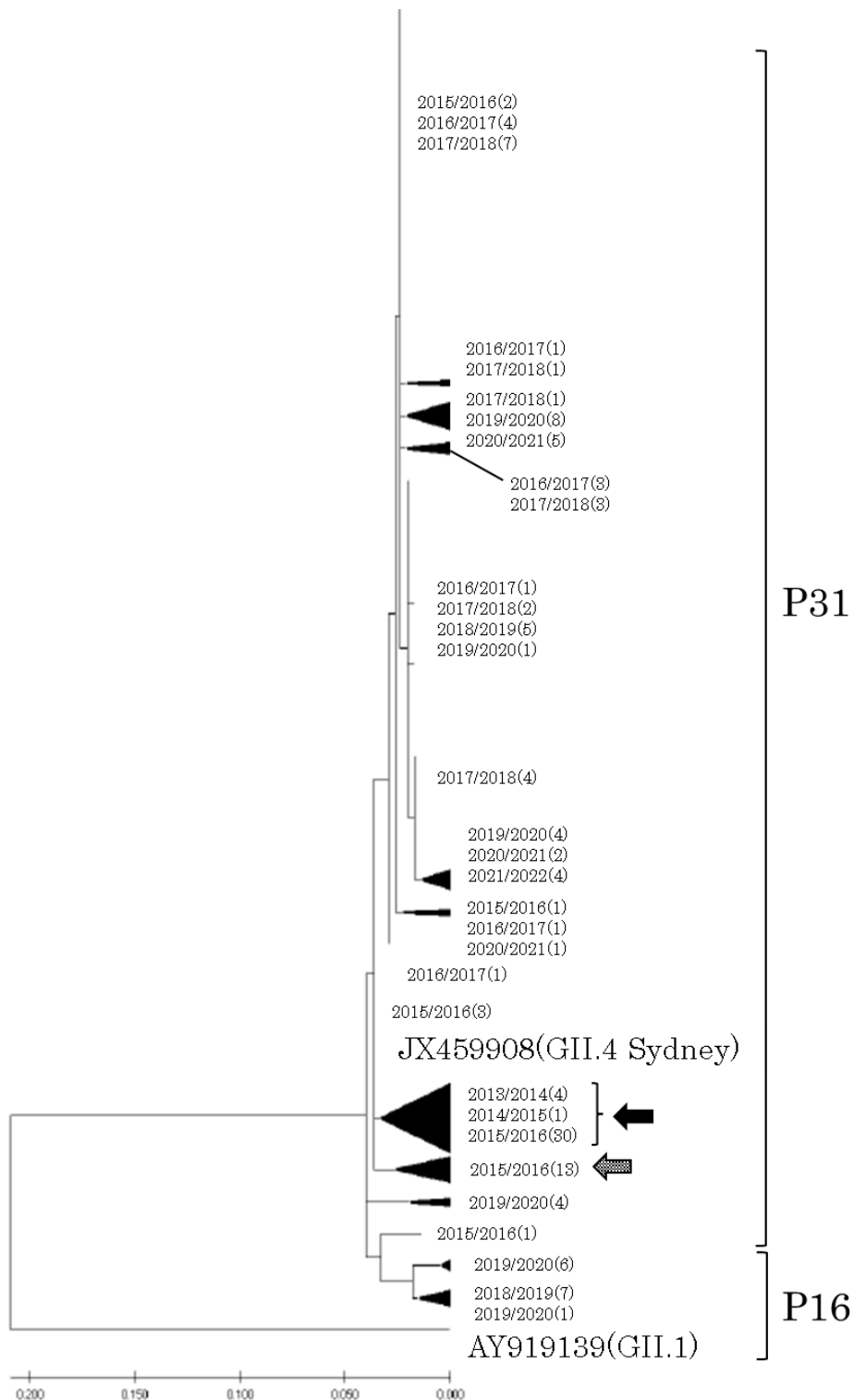


図2a ノロウイルスGII.4 Sydneyの系統樹 (Capsid領域)  
 ( ) 内は検体数

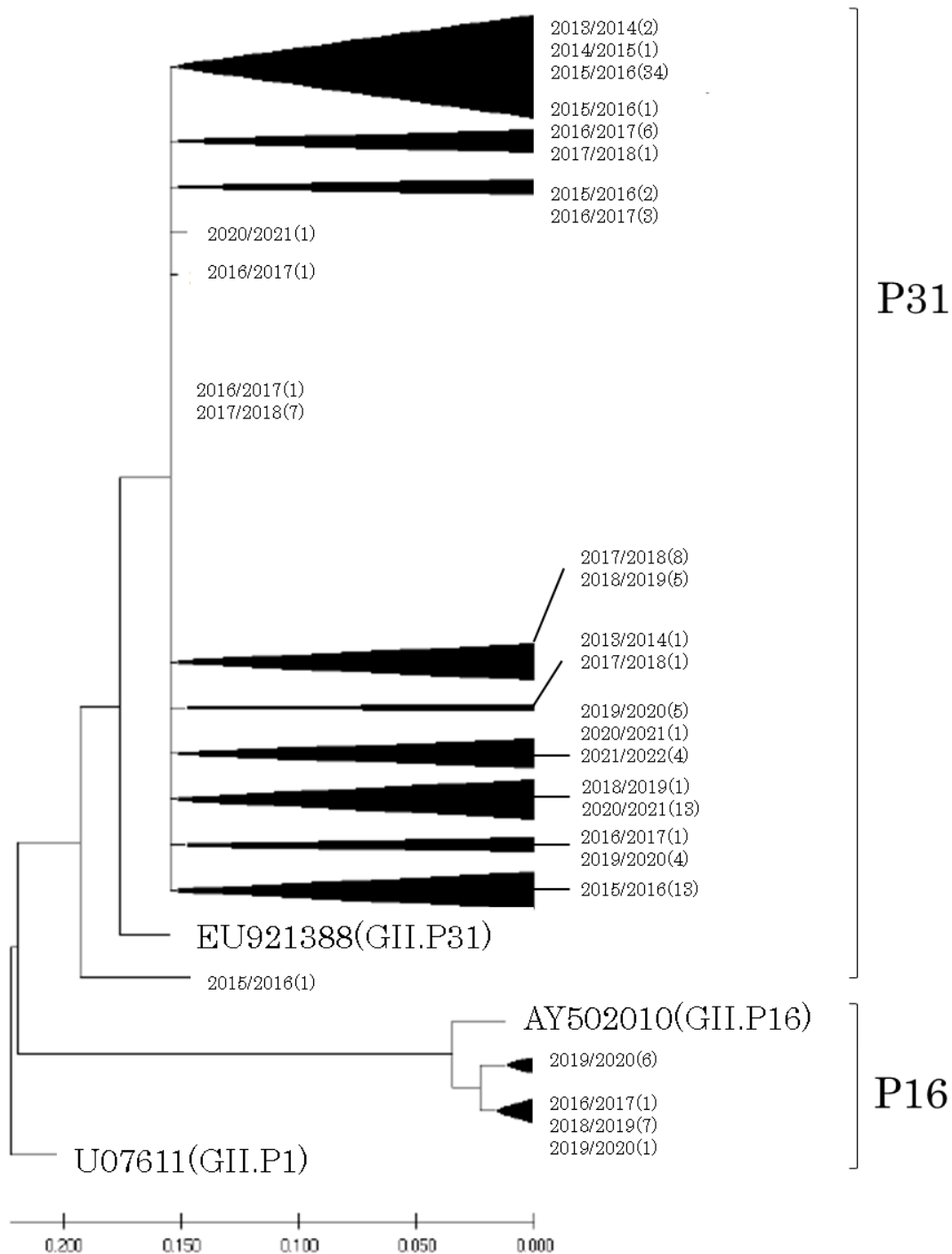


図2b ノロウイルスGII.4 Sydneyの系統樹 (RdRp領域)  
( ) 内は検体数

に渡って出現していることが示唆された(図2a, 2b)。

2019/2020シーズン以降は、新型コロナウイルスの流行下にあり、手洗いなどの対策や、人同士の接触が減少したことで、ノロウイルス全体の検出数が減少した。2023年5月以降、新型コロナウイルス感染症が5類感染症に変わり、現在、人の活動や感染症の動向が活発化している。このため、パンデミック以降のノロウイルスの動向については関心を持って注視しているところである。今のところ広島県においては、2016/2017シーズン～2019/2020までは混在していたGII.4 Sydney[P16]とGII.4 Sydney[P31]のうち、GII.4 Sydney[P16]については、2020/2021シーズン以降は認められていない状況である。まだ、ノロウイルスの流行そのものが低調であるため、見解を述べるにはまだ情報が少なく、継続的な調査が必要である。

## 結 語

ノロウイルスのゲノムでは、ORF1とORF2の間のジャンクション領域での組み換えが起こることにより、キメラウイルスが生成される可能性があり、このような変異ウイルスにより大きな流行を引き起こす恐れがある。このため、ノロウイルスの変異をより詳細に監視するために、Capsid領域とRdRp領域の両方を用いて遺伝子型別を行うDual Typing法が必要であると考えた。2013年1月から2022年12月までの急性胃腸炎患者検体から検出されたノロウイルスのうち、GII.2とGII.4 Sydneyを対象に調査を行った結果、GII.2はGII.2[P16]のみで、GII.4 SydneyはGII.4 Sydney[P16]とGII.4 Sydney[P31]の2つの遺伝子型が存在していたことが判明した。

## 文 献

- [1] Shigemoto N, Hisatsune Y, et al. Detection of gastroenteritis viruses among pediatric patients in Hiroshima prefecture, Japan, between 2006 and 2013 using multiplex reverse transcription PCR-based assays involving fluorescent dye-labeled primers. *J Virol Methods*. 2017, 89, 791-800.
- [2] Katayama K, Shirato-Horikoshi H, et al. Phylogenetic analysis of the complete genome of 18 Norwalk-like viruses. *Virology*. 2002, 299, 225-239
- [3] Bull R, Hansman G, et al. Norovirus recombination in ORF1/ORF2 overlap. *Emerg Infect Dis*. 2005, 11, 1079-1085.
- [4] 片山和彦, 木村博一. ノーウォークウイルス(ノロウイルス)の遺伝子型(2015年改訂版). IA SR. 2015-09-08. <https://www.niid.go.jp/niid/ja/norovirus-m/norovirusiasrs/5913-pr4274.html>, 参照 2023-09-20.
- [5] Cannon JL, Barclay L, et al. Genetic and Epidemiologic trends of norovirus outbreaks in the United States from 2013 to 2016 demonstrated emergence of novel GII.4 recombinant viruses. *J Clin Microbiol*. 2017, 55, 2208-2221.
- [6] Kumer S, Stecher G, et al. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Bio Evol*. 2018, 35,1547-1549.
- [7] Tatusov RL, Chhabra P, et al. Human calicivirus typing tool: A web-based tool for genotyping human norovirus and sapovirus sequences. *J Clin Virol*. 2021, 134, 104718.
- [8] 国立感染症研究所疫学センター. シーズン別ウイルス検出状況, 由来ヒト: 胃腸炎ウイルス, 2013/14～2023/24. 2023-09-19. <https://kansen-levelmap.mhlw.go.jp/Byogentai/Pdf/data96j.pdf>, 参照 2023-09-20.
- [9] 小泉光, 菅原直子, 他. 2016/2017 シーズンに流行したノロウイルスの遺伝子型について. 宮城県保健環境センター年報. 2017, 35, 36-39.
- [10] 末井真菜, 伊藤彩乃, 他. 広島県における2020/2021シーズンのノロウイルス流行状況について. 広島県立総合技術研究所保健環境センター研究報告. 2021, 29, 17-20.

資料

まつげ美容液中の医薬品成分等迅速分析法の確立

菅田 和子, 伊達 英代

Rapid Determination of Medical Components Found in the Cosmetics such as Eyelash Serum

SUGETA Wako and DATE Hideyo

(Received: September 22, 2023)

近年、市場の拡大に伴い、まつげ美容液は広島県内でも相談件数が増加していることから、それらに含まれるProstaglandinF2α (PGF2α) 誘導体5成分及び発毛剤1成分の計6成分をHPLCにより定量する方法を検討した。さらにこれらの成分の他、育毛剤1成分、防腐剤及び化粧品に配合可能な医薬品成分11成分を加えた計18成分をHPLC及びLC-QTOF/MSにより確認する方法を検討し、分析法を確立した。HPLCによる成分の確認については、Carpronium Chloride及びPanthenolを除く16成分を分離し、確認可能な分析条件を見出した。LC-QTOF/MSによる成分の確認については、SWATH法を用いることで、迅速に18成分すべてを確認することができた。また、PGF2α誘導体5成分及び発毛剤1成分の添加回収試験を行ったところ、回収率は良好であった。

今回確立した分析法を用いて、令和4年度に広島県健康福祉局薬務課が実施した「無承認無許可医薬品実態調査」において買い上げたまつげ美容液3検体の検査を実施したところ、PGF2α誘導体、発毛剤及び育毛剤成分は検出されなかった。

Key words : まつげ美容液, ProstaglandinF2α誘導体, 発毛剤, HPLC, LC-QTOF/MS

結 言

まつげにハリ、コシ、ツヤを与える等の効能をうたう美容液（以下「まつげ美容液」）は、メイクトレンドがアイメイク重視にシフトしたことで、その市場は大きく拡大してきている[1]。これに伴い、国内においては、まつげ美容液の使用により健康被害を受けたという相談が、独立行政法人国民生活センターへ平成30年に281件寄せられている。これを受けて実施された市場調査では、頭髪への使用目的で承認された医薬部外品の育毛剤がまつげ美容液として販売されている事例等が報告されている[2]。これを受け、令和元年8月8日付けで厚生労働省は関係都道府県に対し、「まつげ美容液を標榜する化粧品等の安全性確保について」[3]を発出し、化粧品の製造販売業者に対する監視指導の徹底を行うよう通知している。

広島県においては、広島県環境県民局消費生活課に問い合わせたところ、令和4年5月6日時点の消費生活相談データベース（PIO-NET）の検索結果では、県内

のまつげ美容液に関する健康被害相談件数は年々増加傾向にあった（表1）。

表1 広島県内のまつげ美容液に関する相談件数

	令和元年	令和2年	令和3年
全相談件数	6 件	18 件	49 件
健康被害相談件数	0 件	4 件	12 件

海外ではまつげ美容液へ緑内障治療薬のProstaglandinF2α (PGF2α) 誘導体が添加されている事例がいくつか報告されている[4,5]。PGF2α誘導体は、毛包を成長期へ転化させることでまつげの増毛作用や伸長作用を起こす[6]。なお、PGF2α誘導体のひとつであるBimatoprostは、まつ毛貧毛症治療薬として国内でも承認されている。しかし、PGF2α誘導体には、目に対する副作用があり、まつげ美容液の使用者の体質によっては、目の充血及び角膜障害の発生等の重篤な健康被害が発生する恐れがある。

そこで、本研究では、まつげ美容液中に違法に添加

された事例のあるPGF2α誘導体, 発毛剤及び育毛剤成分を分析対象成分とした。さらに, 市販のまつげ美容液の表示を調査したところ, 多くの製品で「化粧品基準 別表第3の1」の「防腐剤及び化粧品に配合可能な医薬品成分」が配合されていることから, これらの成分も含めた計18成分について分析法を検討し, 高速液体クロマトグラフ (HPLC) を用いた分析法では16成分の, 液体クロマトグラフ-四重極飛行時間型質量分析計 (LC-QTOF/MS) を用いた分析法では18成分の確認が可能な方法を確立した。また, 確立した分析法を用いて, 令和4年度無承認無許可医薬品実態調査を実施したので, その結果についても報告する。

## 方 法

### 1 試料

分析法の検討用試料として, 市販まつげ美容液1製品を用いた。令和4年度無承認無許可医薬品実態調査では, 買い上げた検体3製品を用いた。

### 2 試薬

#### (1) 標準品

##### (a) 分析対象成分

分析対象成分は, 海外においてまつげ美容液に違法に添加された事例のあるPGF2α誘導体5成分, 国内外でまつげ美容液として販売されていた事例のある発毛剤1成分及び育毛剤1成分の計7成分とした。分析対象成分及び使用した標準品のメーカーを表2に示した。

表2 分析対象としたPGF2α誘導体, 発毛剤及び育毛剤成分と使用した標準品のメーカー名

	No.	成分名	化学式	メーカー名
PGF2α 誘導体	1	Latanoprost	C <sub>26</sub> H <sub>40</sub> O <sub>5</sub>	東京化成工業株式会社
	2	Bimatoprost	C <sub>25</sub> H <sub>37</sub> NO <sub>4</sub>	東京化成工業株式会社
	3	Tafluprost	C <sub>25</sub> H <sub>34</sub> F <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	シグマアルドリッチジャパン合同会社
	4	Isopropyl Unoprostone	C <sub>25</sub> H <sub>44</sub> O <sub>5</sub>	Cayman Chemical
	5	Cloprostenol isopropyl ester	C <sub>25</sub> H <sub>35</sub> ClO <sub>6</sub>	Tronto Research Chemicals Inc.
発毛剤	6	Minoxidil	C <sub>9</sub> H <sub>15</sub> N <sub>5</sub> O	Tronto Research Chemicals Inc.
育毛剤	7	Carpronium Chloride	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> ClNO <sub>2</sub>	Tronto Research Chemicals Inc.

### (b) その他成分

その他の分析対象成分として, 防腐剤及び化粧品に配合可能な医薬品成分11成分は, 表3で示した製品を用いた。

### (2) 試薬

抽出溶媒には, 関東化学株式会社製HPLC用蒸留水を使用した。HPLC用移動相には, 関東化学株式会社製HPLC用蒸留水及びアセトニトリル並びに富士フィルム和光純薬工業株式会社製リン酸を, LC-QTOF/MS用移動相には, 富士フィルム和光純薬工業株式会社製LC-MS用アセトニトリル, 蒸留水及びギ酸を使用した。

### (3) 器材

ADVANTEC社製0.20 μm孔径ディスパーザブルメンブレンフィルターユニット及び島津ジーエルシー社製0.45 μm孔径シリンジフィルターを使用した。

### 3 装置及び分析条件

#### (1) HPLCによる確認

装置は1260 Infinity II (Agilent Technologies, Inc. 製) を用いた。分析条件は表4に示した。

#### (2) LC-QTOF/MSによる確認

装置は1260 Infinity II prime (Agilent Technologies, Inc. 製) 及びX500R (AB SCIEX Pte. Ltd. 製) を用いた。分析条件は表5及び表6に示した。

表3 防腐剤及び化粧品に配合可能な医薬品成分と使用した試薬のメーカー名

No.	成分名	化学式	メーカー名
8	Phenoxyethanol	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	富士フィルム和光純薬工業株式会社
9	Benzoic acid	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	ナカライテスク
10	Methylparaben	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	富士フィルム和光純薬工業株式会社
11	Ethylparaben	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	東京化成工業株式会社
12	Propylparaben	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	東京化成工業株式会社
13	Isopropylparaben	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	東京化成工業株式会社
14	Butylparaben	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	関東化学株式会社
15	Isobutylparaben	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	東京化成工業株式会社
16	Panthenol	C <sub>9</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>4</sub>	東京化成工業株式会社
17	Tocopheryl acetate	C <sub>31</sub> H <sub>52</sub> O <sub>3</sub>	富士フィルム和光純薬工業株式会社
18	Dipotassium glycyrrhiza	C <sub>42</sub> H <sub>60</sub> K <sub>2</sub> O <sub>16</sub>	東京化成工業株式会社

表4 HPLC分析条件

装置	Agilent Technologies 1260 Infinity II			
カラム	CAPCELLPAK C18 4.6×250 mm, 5 μm SHISEIDO製			
カラム温度	40 °C			
注入量	20 μL			
移動相	A : 0.1 %リン酸水溶液 B : アセトニトリル			
グラジエント条件	グラジエント条件			
時間 (min)	A (%)	B (%)	流量 (mL/min)	
0	85	15	1	
4	85	15	1	
7	65	35	1	
20	65	35	1	
30	45	55	1	
38	45	55	1	
43	1	99	1	
60	1	99	1.5	
65	1	99	1.5	

表5 LC-QTOF/MS分析条件

LC装置	Agilent Technologies 1260 Infinity II Prime					
カラム	YMC - Triart C18 150×2.1 mm, 3 μm YMC.CO.,LTD製					
カラム温度	40 °C					
注入量	10 μL					
流量	0.3 mL/min					
移動相	A : 0.1 %ギ酸水溶液 B : 0.1 %ギ酸アセトニトリル溶液					
グラジエント条件	(B) 5 % (3 min hold) → 17 min → 95 % → 5 min → 99 % (15 min hold)					
QTOF/MS装置	AB SCIEX	X500R	QTOF			
Polarity	+ (-)					
Ion source gas1	60 psi	Ion source gas2	60 psi	Curtaingas	30 psi	
CAD gas	7 psi	Temperature	350 °C	Sprey voltage	5500(-4500) V	
TOF MS						
DP	80(-80) V	CE	5(-5) V			
TOF mass	100-1000 Da	Accumulation time	0.1 s			
TOF MS/MS						
DP	80(-80) V	CE	35(-35) V	CES	15 V	
ToF mass	50-1000 Da	Precursor mass	100-900 Da	Window width	25 Da	
Accumulation time	0.05 s					

表6 標準品のプレカーサーイオン

No.	成分名	Polarity	Precursor ion (m/z)
1	Latanoprost	+	433.29485
2	Bimatoprost	+	416.27954
3	Tafuprost	+	453.24471
4	Isopropyl Unoprostone	+	425.32615
5	Cloprostenol isopropyl ester	+	467.21949
6	Minoxidil	+	210.13494
7	Carpronium Chloride	+	160.13321
8	Phenoxyethanol	+	139.07536
9	Benzoic acid	-	121.0295
10	Methylparaben	-	151.04007
11	Ethylparaben	-	165.05572
12	Propylparaben	-	179.07137
13	Isopropylparaben	-	179.07137
14	Butylparaben	-	193.08702
15	Isobutylparaben	-	193.08702
16	Panthenol	+	206.13868
17	Tocopheryl acetate	+	473.39892
18	Dipotassium glycyrrhiza	-	820.38759



#### 4 試料溶液の調製

試料100 mgを量り取り, 水を加えて溶解し, 正確に100 mLとし, メンブレンフィルターでろ過し, 試料溶液とした。

#### 5 標準溶液の調製

Latanoprost (No.1) は2 mg, Bimatoprost (No.2), Minoxidil (No.6) 及びCarpronium Chloride (No.7) は1 mg, Cloprostenol isopropyl ester (No.5) は5 mgを量り, それぞれメタノールを加えて1 mLとし, 各標準原液とした。Tafluprost (No.3) は5 mgを量り, メタノールを加えて5 mLとし標準原液とした。Isopropyl Unoprostone (10 mg/mL) (No.4) は, 0.1 mLをとり, メタノールを加えて1 mLとし標準原液とした。防腐剤8成分 (No.8-15) 及びTocopheryl acetate (No.17) 及びDipotassium glycyrrhiza (No.18) 100 mgを量り, メタノールを加えて10 mLとし標準原液とした。Panthenol (No.16) は, 100 mgを量り, 水を加えて10 mLとし標準原液とした。No.1-18の各標準原液を最終的に10 µg/mLとなるようにメタノールを加えて調製したものをHPLC用混合標準溶液とした。

また, Phenoxyethanol (No.8) 及びBenzoic acid (No.9) は1 µg/mLに, その他の16成分は0.1 µg/mLに調整したものを混合し, LC-QTOF/MS用混合標準溶液とした。

#### 6 HPLCによる添加回収試験

添加回収試験用試料として, 市販のまつげ美容液1製品を使用した。市販まつげ美容液にPGF2α誘導体及び発毛剤成分をそれぞれ5 mg/gとなるように添加し, 「4 試料溶液の調製」のとおり, 添加回収用試料溶液を調製した。各成分の検量線は1-10 µg/mLの範囲で作成した。なお, 育毛剤成分であるCarpronium Chloride (No.7) については, 分離が困難であったため, 実施しなかった。

### 結果および考察

#### 1 HPLCによる分析法の検討結果

PGF2α誘導体, 発毛剤及び育毛剤成分を分析対象成分とし, さらに防腐剤及び化粧品に配合可能な医薬品成分も含めた計18成分について分析法を検討した。ピークが近接していたLatanoprost (No.1) 及びCloprostenol isopropyl ester (No.5), Phenoxyethanol (No.8), Benzoic acid (No.9) 及びMetylpara-

ben (No.10), Butylparaben (No.14) 及びIsobutylparaben (No.15) について, 各成分の確認が可能となる程度の分離を確保するため, グラジエント勾配を微調整したところ, 育毛剤であるCarpronium Chloride (No.7) 及び化粧品に配合可能な医薬品成分であるPanthenol (No.16) を除く16成分が確認可能となった (図1)。

なお, Carpronium Chloride (No.7) 及びPanthenol (No.16) は, 高極性成分であり, 保持時間 (RT) の早い時間に溶出したため, 溶媒ピークやまつげ美容液に含まれる夾雑物との分離が困難であった。これらの成分をHPLCで分析する際は, 分析条件を変更し, 個別に確認する必要がある。

#### 2 HPLCによる分析対象成分の添加回収試験結果

まつげ美容液の成分表示の上位は水や水に可溶性グリセリンであるため, 水で希釈することで試料溶液の調製が可能であった。

分析対象成分の添加回収率は, 95-102 %と良好であり (表7), 実製品の分析にも適用可能であると判断した。

#### 3 LC-QTOF/MSによる分析法の検討結果

LC-QTOF/MSでは, 一度にMSスペクトル及びMS/MSスペクトルが取得できるSWATH法を用い, Positive及びNegativeモードで各成分を確認できる条件 (表5及び表6) を検討した。防腐剤 (No.9-15) 及びDipotassium glycyrrhiza (No.18) はNegativeで分析することが可能であり (図2), PGF2α誘導体 (No.1-5), 発毛剤 (No.6), 育毛剤 (No.7), 防腐剤 (No.8) 及び化粧品に配合可能な医薬品成分 (No.16及び17) についてはPositiveで分析可能であった (図3)。

なお, HPLCと同様に, LC-QTOF/MSによる本分析法においても, No.7のCarpronium ChlorideはRTの早い時間に溶出し, ピークが2本に分離してしまうことから, 確認には注意が必要である。

#### 4 令和4年度無承認無許可医薬品実態調査の結果

今回確立した分析法により, 令和4年度の無承認無許可医薬品実態調査において買い上げた3製品について検査を実施した結果, 買い上げ検体から, PGF2α誘導体, 発毛剤及び育毛剤成分は検出されなかった。

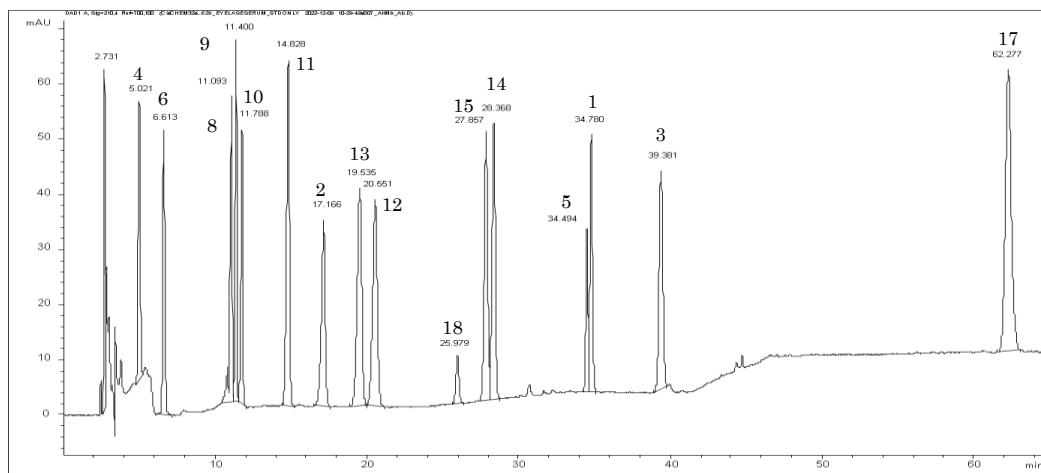


図1 HPLCによるまつげ美容液中の分析対象成分及びその他の成分のクロマトグラム

表7 HPLCによる分析対象成分の添加回収試験結果

No.	成分名	回収率	RSD
1	Latanoprost	95 %	0.13
2	Bimatoprost	95 %	0.09
3	Tafluprost	97 %	0.06
4	Isopropyl Unoprostone	102 %	0.10
5	Cloprostenol isopropyl ester	96 %	0.09
6	Minoxidil	102 %	5.30

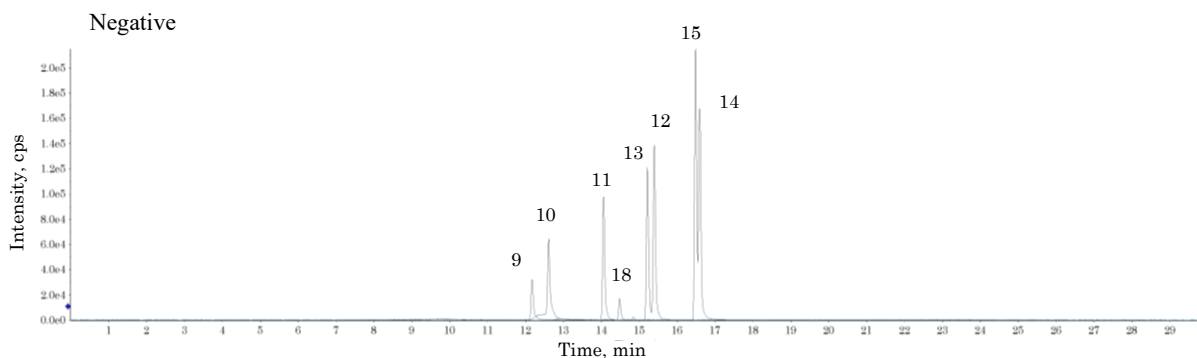


図2 LC-QTOF/MS SWATH法 (Negative) によるその他成分のEIC

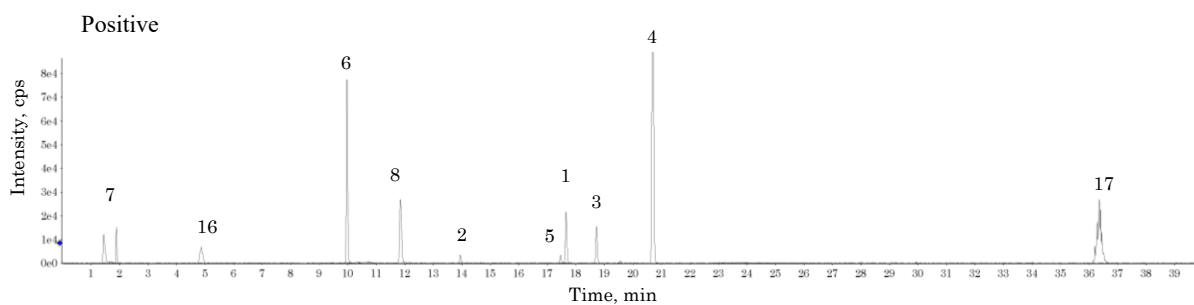


図3 LC-QTOF/MS SWATH法 (Positive) による分析対象成分及びその他成分のEIC

## 結 語

本研究では、県内でも健康被害相談事例のあるまつげ美容液の医薬品成分分析法について検討した。その結果、HPLCによりPGF<sub>2α</sub>誘導体及び発毛剤の計6成分の定量が可能となった。さらにHPLCでは、6成分に防腐剤及び化粧品に配合可能な医薬品成分10成分を加えた計16成分について、LC-QTOF/MSでは発毛剤1成分及び化粧品に配合可能な医薬品成分1成分も加えた計18成分について確認可能な分析条件を確立した。

また、今回確立した分析法により、令和4年度の無承認無許可医薬品実態調査で買い上げた製品について検査を実施した結果、違反は確認されなかった。

独立行政法人国民生活センターによると、PIO-NETに登録された化粧品関連の健康被害相談件数は、2022年に4296件と、2021年と比べて約1000件以上増加している[7]。その中には個人輸入による事例もあった。国外から個人輸入した化粧品等については、国内では未承認の医薬品成分や医師の処方箋が必要とされる医薬品成分、あるいは、国内で化粧品への配合が認められていない成分が含まれていたり、配合が認められている成分であっても、最大配合量を超えて含まれていることがあるため、注意が必要である[8]。したがって、今回の対象試料であるまつげ美容液に限らず、今後も県内の健康被害発生状況を注視し、様々な化粧品分析に対応できる体制を整えていく。

## 文 献

- [1] 株式会社 富士経済. “メイクアップ, ボディケアの国内市場を調査” プレスリリース第21087号, 2021-09-09.
- [2] 独立行政法人国民生活センター. “まつげ美容液による危害が急増！－効能等表示の調査もあわせて実施－”. 2019-08-08. [https://www.kokusen.go.jp/news/data/n-20190808\\_2.html](https://www.kokusen.go.jp/news/data/n-20190808_2.html) 参照 2023-9-20.
- [3] 厚生労働省医薬・生活衛生局医薬品審査管理課長, 厚生労働省医薬品・生活衛生局医薬安全対策課長, 厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課長通知. まつげ美容液を標榜する化粧品等の安全性確保について. 令和元年8月8日薬生薬審発0808第1号, 薬生安発0808第1号, 薬生監麻発0808第2号.
- [4] Medical Products Agency. “Pharmaceutical ingredients in one out of three eyelash serums”. 2013-04-15. <https://www.dr-jetskeultee.nl/jetskeultee/download/common/artikel-wimpers-ingredients.pdf> 参照2023-9-20.
- [5] Derek J. Enhanced Eyelashes: Prescription and Over-the-Counter Options. *Aesth Plast surg.* 2011, 35, 116-121, DOI 10.1007/s00266-010-9561-3.
- [6] 小林茂樹. 緑内障治療薬としてのプロスタグランジンF<sub>2α</sub>誘導体制剤(プロストン系およびプロスト系)の特性について. *日本医科大学医学会雑誌.* 2012, 8, 134-142.
- [7] 独立行政法人国民生活センター “化粧品の危害” 2023-09-01. [https://www.kokusen.go.jp/soudan\\_topics/data/cosmetic\\_harm.html](https://www.kokusen.go.jp/soudan_topics/data/cosmetic_harm.html), 参照 2023-09-15.
- [8] 独立行政法人国民生活センター “個人輸入した医薬品, 化粧品等にご注意！-インターネット通信販売で購入した美白クリームで皮膚障害が発生-” 2023-09-06. [https://www.kokusen.go.jp/news/data/n-20230906\\_1.html](https://www.kokusen.go.jp/news/data/n-20230906_1.html). 参照2023-09-20.

資料

## LC-MS/MS を用いた農産物を主原料とした 加工食品中の残留農薬の一斉分析法

井原 紗弥香, 渡部 緑, 中島 安基江

### Simultaneous Determination Method for Pesticide Residues in Processed Foods made mainly from Agricultural Products using LC-MS/MS

IHARA Sayaka, WATANABE Midori, and NAKASHIMA Akie

(Received October 26, 2023)

農産物を主原料とした加工食品中に残留する可能性のある農薬について、厚生労働省通知の「LC/MS による農薬等の一斉試験法 I (農産物)」を参考に、LC-MS/MS を用いた迅速一斉分析法を検討した。検討した分析法を用いて、りんごジュース、白菜漬け、いちごジャム及びレーズンを対象に添加回収試験を行ったところ、70 成分のうち 8 割の成分で回収率 70~120%及び CV 値 25%未満を達成し、良好な結果を得た。また、本法は厚生労働省通知の一斉分析法と比べ、使用溶媒量を約 3 分の 1 に、試験溶液の調製時間を約 3 分の 2 に削減することができた。

Key words : 残留農薬, 加工食品, 一斉分析法, LC-MS/MS

## 緒 言

加工食品中の農薬分析法は、平成 20 年 1 月の中国産冷凍餃子へのメタミドホス混入事件などを受け、厚生労働省事務連絡(平成 25 年 3 月 26 日付) [1]にて、「迅速検出法」が示されている。この分析法は、健康被害防止の観点から、健康被害を生じる濃度の農薬等の有無を判断できるよう開発された、迅速性及び簡便性に優れた手法である。そのため、この方法で得られた結果による加工食品の残留基準値への適合判定はできない。

加工食品の残留基準値の適合判定に用いられる分析法の開発には、加工工程による濃縮等の様々な情報が必要であるため、厚生労働省は、個々の分析法の設定は困難との見解を示している[2]。また、加工食品の原材料が各基準値を満たしている場合には、その加工食品も食品規格に適合するものとして取り扱われており、当該加工食品の残留農薬等の残留値によらず流通は可能である。

しかし、農薬の一日摂取許容量 (ADI) に対する摂取量の把握や、製造工程の管理を行うなどの目的において、加工食品を対象とした残留農薬の分析は必須であり、加工食品全般を網羅した分析法の開発が望まれている。これまでに、農産物を主原料とした加工食品として、ジャム、ジュース、乾燥果実、漬け物等を対象とし、厚生労働省通知の「LC/MS による農薬等の一斉試験法 I (農産物)」 [3] (一斉分析法) を改良した分析法が報告されている[4-6]。

今回、我々は農産物を主原料とした加工食品について、加工形態に応じた抽出方法を検討し、上記一斉分析法を改良した。さらに、改良した分析法について、当県で検出事例のある農薬等に対する一律基準値の判定が適用可能か検証したので、結果について報告する。

## 方 法

### 1 試料

加工形態が異なる加工食品として、果汁飲料、漬け物、ジャム及び乾燥果実の 4 種類の加工食品を選択し、

それぞれを代表とする食品として、りんごジュース、白菜漬け、いちごジャム及びレーズンを用いた。

## 2 標準品及び試薬

対象農薬の単品標準品は、和光純薬工業（株）、関東化学（株）及び林純薬工業（株）製の残留農薬試験用を用いた。各農薬標準品は10 mg相当量を精密に量り、アセトンに溶解し1,000 µg/mLの標準原液とした。さらに、混合標準溶液として、各農薬の標準原液 1 mLを混合しメタノールで100 mLに定容した（各10 µg/mL）（混合標準液 A）。また、LC 農薬 204 成分標準液キット（各100 µg/mL）（ジーエルサイエンス（株）製）を、各10 µg/mLになるようメタノールで希釈した（混合標準液 B）。混合標準液 A と B を混合し、0.1 µg/mLの混合標準溶液を調製した。

アセトン、メタノール、アセトニトリル及びトルエンは、関東化学（株）製の残留農薬・PCB 試験用を、塩化ナトリウムはキシダ化学（株）製の残留農薬分析用を、リン酸水素ナトリウム及びリン酸二水素カリウムは、ナカライテスク（株）製の特級品を用いた。

固相抽出カラムは、SPELCO 社製のグラファイトカーボン/エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム（500 mg/500 mg）（GC/NH<sub>2</sub>ミニカラム）を用いた。

移動相の調製には、ギ酸は富士フィルム和光純薬（株）製、酢酸アンモニウムはシグマアルドリッチ製、蒸留水及びメタノールはいずれも関東化学（株）製の LC/MS 用を用いた。

## 3 対象農薬成分の選定

原材料に残留する可能性のある農薬を想定し、過去に当県で検出事例のある農薬等及び急性参照用量が設定してある農薬等から 70 成分を選定した（表 1）。

## 4 装置

高速液体クロマトグラフは、アジレント・テクノロジー（株）製の Agilent 1290 infinity II、タンデム質量分析装置はアジレント・テクノロジー（株）製の Agilent 6470 を使用した。

## 5 測定条件

測定条件を表 2 及び 3 に示した。移動相は、ギ酸系（FA）と酢酸アンモニウム系（AA）の 2 系統とした。

## 6 試験溶液の調製法

果汁飲料、漬け物、ジャム及び乾燥果実を対象に、試料の均一化の方法及び抽出方法について操作性を考慮し、図 1～3 に示す方法により、試験溶液を調製した。いずれもアセトニトリルで抽出後、抽出液の量に対して 3 分の 1 量のトルエンを加え、混和後、全量を GC/NH<sub>2</sub> ミニカラムを用いて精製を行い、濃縮後メタノール 5 mL で再溶解したものを試験溶液とした。

## 7 添加回収試験と定量

各試料に対し、各農薬が試験溶液中に 0.01 µg/g となるよう混合標準溶液を添加し、2 名 2 併行 2 日間で実施した。

検量線は、直線性が認められた 5 ng/mL から 20 ng/mL の範囲とし、絶対検量線法、または標準添加法により定量した。

## 8 マトリクス効果の確認

各試料を「6 試験溶液の調製法」に従い調製し、混合標準溶液を 10 ng/mL となるよう試験溶液に添加した（添加試料溶液）。この添加試料溶液と同じ濃度の混合標準溶液を測定し、添加試料溶液の混合標準溶液に対するピーク面積値の比（マトリクス比）を算出し、マトリクス効果を確認した。

## 9 分析法の性能評価

検討した分析法の性能を評価する指標として、回収率及び CV 値を求め、評価基準値は妥当性ガイドライン[7]を参考に、回収率が 70～120% 及び CV 値が 25% 未満とした。

## 結果及び考察

### 1 試験溶液の調製法

4 つの加工形態（果汁飲料、漬け物、ジャム及び乾燥果実）で選定したりんごジュース、白菜漬け、いちごジャム及びレーズンについて、図 1～図 3 に示した方法で試験溶液の調整が可能であった。

特に水分含量が少ないレーズンは、予め 2 倍量のリン酸バッファーを加え、2 時間放置することで流動性が生じ、フードミキサーによる試料の均一化が可能であった。また、他の加工食品の 1 回目の抽出操作時の溶媒量 15 mL では、ホモジナイズ後の遠心分離で上清回収が困難であったため、加える溶媒量を 20 mL に

変更し上清を得た。その後の操作は、他の加工食品と同様の操作を行った。

一斉分析法では試料量 20 g のところ、本法では試料量を 5 g としたことから、抽出溶媒量を 100 mL から 25~30 mL へと削減できた。さらに GC/NH<sub>2</sub> ミニカラムに負荷する前の転溶操作を省略したところ、本法

は一斉分析法と比べ、試料調製に使用する溶媒量は約 3 分の 1 に、試料調製に要する時間を約 3 分の 2 に短縮できた。

表 1 対象農薬成分

No.	Cpd Name	当県検出事例*	急性参照用量**	No.	Cpd Name	当県検出事例*	急性参照用量**
1	メチダチオン		0.01	36	クロチアニジン	○	
2	アセトクロール	○		37	シペルメトリン	○	
3	アトラジン	○		38	シロマジン		0.1
4	ブプロフェジン	○		39	ジメタナミド		0.5
5	ブタミホス	○		40	ジノテフラン	○	
6	クロルピリホスメチル	○		41	エトフェンプロックス	○	
7	ジフェノコナゾール	○		42	フェンプロパトリン	○	
8	エトキサゾール	○		43	フェンピロキシメート(E,Z)		0.02
9	ファモキサドン		0.6	44	フルジオキサニル	○	
10	フェナミホス		0.003	45	イマザリル		0.05
11	フェンプロピモルフ		0.2	46	イミダクロプリド		4
12	イソキサイオン	○		47	インドキサカルブ		0.1
13	クレソキシムメチル	○		48	マラチオン		2
14	メタラキシル	○		49	メタミドホス		0.003
15	メソミル		0.02	50	メトキシフェノジド		0.9
16	マイクロブタニル	○		51	モノクロトホス		0.002
17	オメトエート	○		52	ニテンピラム	○	
18	オキサジキシル	○		53	オキサミル		0.009
19	フェントエート	○		54	ピリミカルブ		0.1
20	プロフェノホス		1	55	ピリミホスメチル		0.2
21	ピレトリン I		0.2	56	プロクロラズ		0.1
22	ピリメタニル	○		57	プロパモカルブ		2
23	スピロジクロフェン	○		58	ピラクロストロビン		0.05
24	テブコナゾール	○		59	スフホキサフロル	○	
25	アセフェート		0.1	60	テブフェノジド		0.9
26	アセタミプリド	○	0.1	61	テブフェンピラド	○	
27	ベナラキシル		0.1(妊婦)	62	チアベンダゾール		0.3(妊婦)
28	ビフェントリン		0.01	63	チアクロプリド	○	0.03
29	カズサホス		0.001	64	チアメトキサム	○	
30	カルバリル		0.2	65	チオジカルブ		0.04
31	カルベンダジム		0.1(妊婦)	66	トランス-ペルメトリン	○	
32	クロルフェナピル	○		67	トリアジメホン		0.08
33	クロルプロファム		0.5	68	トリアジメノール		0.08
34	クロルピリホス		0.1	69	アクリナトリン	○	
35	シス-ペルメトリン	○		70	フルベンジアミド	○	

\* ○：検出事例あり (H29-R1 行政検査及び実態調査)

\*\* JMPR において審議された急性参照用量 単位：mg/kg 体重/日

表 2 測定条件

LC conditions							
Analytical column:	Inertsil ODS-4 HP (GL Sciences) (3.0×150mm, 3µm)						
Mobile phase	FA; A=0.1% formic acid/water, B=0.1% formic acid/methanol AA; A=0.1% ammonium acetate/water, B=0.1% ammonium acetate/methanol						
Gradient profile:	Time(min)	0.0	1.0	3.5	6.0	8.0	17.5
	B(%)	15	40	40	50	55	95
Flow rate:	0.2 mL/min						
Column temperature:	40°C						
Injection volume:	3 µL						
MS/MS conditions							
Scan type:	MRM						
Ion source:	ESI(positive,negative)						
Gas temperature:	300°C						
Gas flow	10 L/min						
Nebulizer	50 psi						
Sheath gas heater	400°C						
Sheath gas flow	12 L/min						
Capillary	±3000 V						

表 3 MRM トランジション

No.	Cpd Name	Prec Ion	定量イオン		定性イオン		Polarity	No.	Cpd Name	Prec Ion	定量イオン		定性イオン		Polarity
			Prod Ion	CE (V)	Prod Ion	CE (V)					Prod Ion	CE (V)	Prod Ion	CE (V)	
1	メチルダチオン	303.0	145.0	5	85.0	21	+	13	クレソキシムメチル	314.1	267.1	4	222.1	16	+
2	アセトクロール	270.1	224.1	8	148.1	16	+	14	メタラキシル	280.2	220.1	12	192.1	20	+
3	アトラジン	216.1	174.0	20	68.0	44	+	15	メソミル	163.0	106.0	9	88.0	5	+
4	ブプロフェジン	306.2	201.1	12	57.1	24	+	16	ミクロプタニル	289.1	125.0	40	70.1	20	+
5	ブタミホス	333.1	180.0	8	96.0	36	+	17	オメトエート	214.0	182.9	8	124.9	24	+
6	クロルピリホスメチル	321.9	289.9	16	124.9	24	+	18	オキサジキシル	279.1	219.1	8	132.1	36	+
7	ジフェノコナゾール	406.1	337.0	16	251.0	28	+	19	フェントエート	321.0	135.0	20	79.1	52	+
8	エトキサゾール	360.2	304.1	20	141.0	36	+	20	プロフェノホス	375.0	346.9	13	304.8	17	+
9	ファモキサドン	375.1	225.1	16	72.1	24	+	21	ピレトリン I	329.0	161.0	5	105.0	41	+
10	フェナミホス	304.0	217.0	25	202.0	41	+	22	ピリメタニル	200.1	107.0	28	42.1	52	+
11	フェンプロピモルフ	304.0	147.0	33	132.0	49	+	23	スピロジクロフェン	411.1	313.1	8	71.2	16	+
12	イソキサイオン	314.1	105.0	16	96.9	55	+	24	テブコナゾール	308.2	125.1	45	70.1	25	+
No.	Cpd Name	Prec Ion	定量イオン		定性イオン		Polarity	No.	Cpd Name	Prec Ion	定量イオン		定性イオン		Polarity
			Prod Ion	CE (V)	Prod Ion	CE (V)					Prod Ion	CE (V)	Prod Ion	CE (V)	
25	アセフェート	184.0	142.9	4	49.1	24	+	48	マラチオン	331.1	285.1	4	127.1	12	+
26	アセタミプリド	223.1	126.0	24	56.1	16	+	49	メタミドホス	142.0	125.0	8	94.0	16	+
27	ペナラキシル	326.0	208.0	16	148.0	20	+	50	メトキシフェノジド	369.0	149.0	16	91.0	55	+
28	ビフェントリン	440.2	181.1	8	166.1	48	+	51	モノクロトホス	224.0	193.0	4	127.0	16	+
29	カズサホス	271.1	159.0	12	131.0	24	+	52	ニテンピラム	271.1	225.1	8	196.0	20	+
30	カルバリル	202.0	145.0	8	127.0	32	+	53	オキサミル	237.0	90.1	5	72.0	25	+
31	カルベンダジム	192.1	160.0	20	132.0	36	+	54	ピリミカルブ	239.0	182.0	16	72.0	32	+
32	クロルフェナビル	349.0	131.0	44	80.9	36	-	55	ピリミホスメチル	306.1	164.2	24	108.1	36	+
33	クロルプロファミ	214.1	172.1	5	154.0	21	+	56	プロクロラズ	376.0	308.0	8	70.0	28	+
34	クロルピリホス	349.9	198.0	17	125.0	17	+	57	プロバモカルブ	189.2	102.1	20	74.0	28	+
35	s-ベルメトリン	408.1	183.1	24	165.0	55	+	58	ピラクロストロピン	388.0	194.0	9	163.0	29	+
36	クロチアニジン	250.0	169.0	12	131.9	16	+	59	スフホキサフル	278.1	174.0	4	154.0	36	+
37	シベルメトリン	433.1	191.0	12	91.0	55	+	60	テブフェノジド	353.0	297.1	4	133.0	20	+
38	シロマジン	167.1	85.0	20	68.1	44	+	61	テブフェンピラド	334.2	145.0	32	117.0	44	+
39	ジメタナミド	276.1	244.1	12	168.0	28	+	62	チアベンダゾール	202.0	175.0	28	131.0	40	+
40	ジノテフラン	203.1	129.0	12	43.1	55	+	63	チアクロプリド	253.0	126.0	24	90.0	44	+
41	エトフェンプロックス	394.2	177.1	12	107.0	52	+	64	チアメトキサム	292.0	211.0	12	181.0	24	+
42	フェンプロバトリン	350.2	125.1	9	55.2	53	+	65	チオジカルブ	355.1	108.0	12	88.0	28	+
43	フェンピロキシメート(E,Z)	422.0	366.0	16	138.0	36	+	66	t-ベルメトリン	408.1	183.0	16	168.0	52	+
44	フルジオキサニル	247.0	180.0	32	126.0	36	-	67	トリアジメホン	294.1	197.1	13	69.2	20	+
45	イマザリル	297.0	255.0	12	159.0	24	+	68	トリアジメノール	296.0	99.0	20	70.0	20	+
46	イミダクロプリド	256.1	209.0	16	175.1	20	+	69	アクリナトリン	559.2	208.0	12	181.1	40	+
47	インドキサカルブ	528.0	203.0	48	150.0	24	+	70	フルベンジアミド	681.0	274.0	16	254.0	28	-

No.1~24 の移動相は FA, No.25~70 の移動相は AA

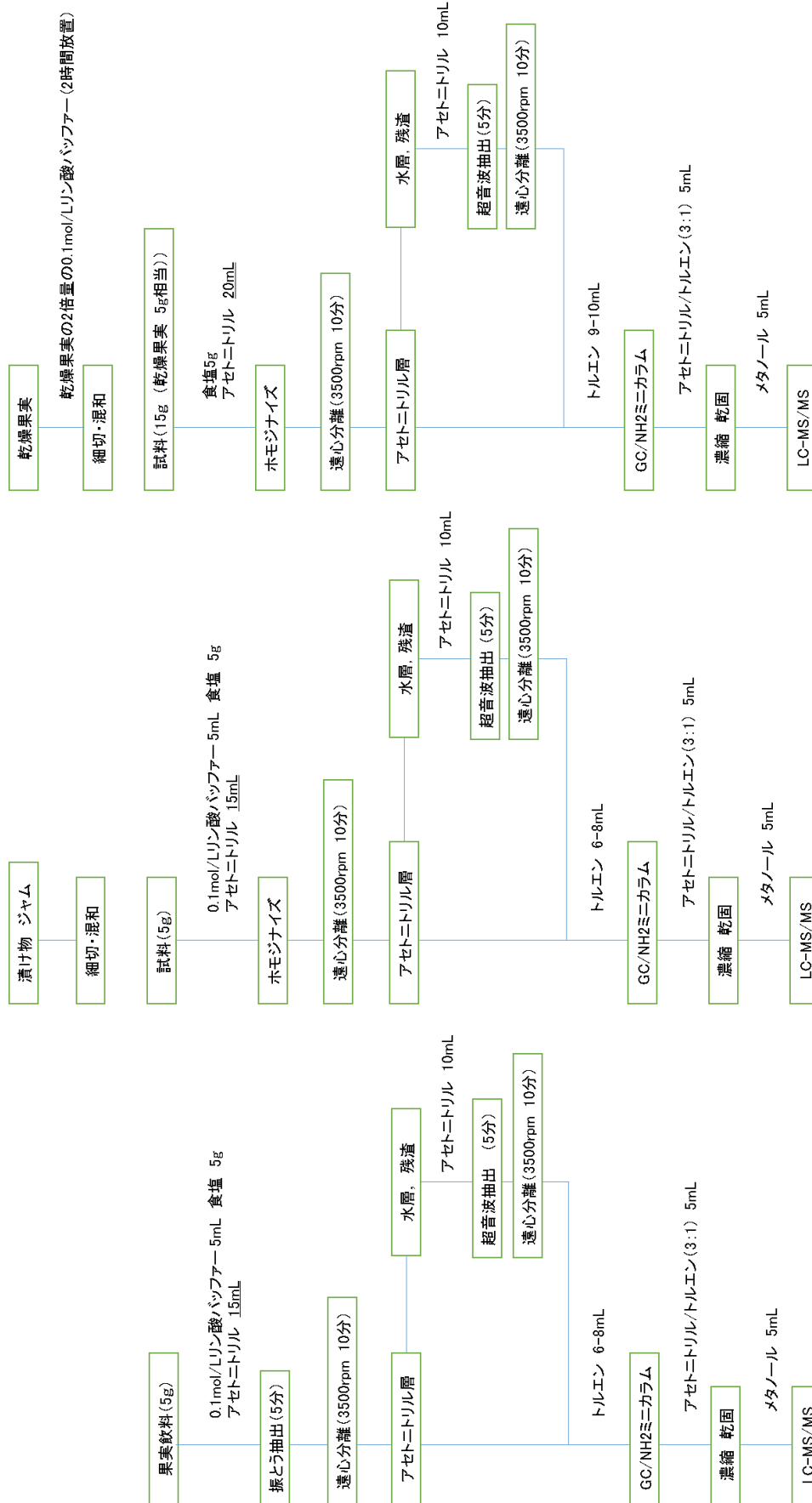


図 1 果実飲料の試験溶液の調製

図 2 漬け物、ジャムの試験溶液の調製

図 3 乾燥果実の試験溶液の調製



## 2 添加回収試験及び分析法の評価

添加回収試験の結果を表 4-1 及び表 4-2 に示した。なお、りんごジュースはアセタミプリド及びカルベンダジム、いちごジャムはピリメタニル、カルベンダジム及びチアメトキサム、レーズンはメタラキシル、ピリメタニル、テブコナゾール、アセタミプリド及びメトキシフェノシドが検出されたため、これらの結果については測定値を差し引いて添加回収率を求め、参考値として試験法の評価対象から除外した。

白菜漬け及びレーズンにおいてマトリクス効果が大きかった成分（マトリクス比 0.5～0.7）は標準添加法により定量した。回収率及び CV 値について目標値を満たした成分数は、りんごジュース、白菜漬け、いちごジャム及びレーズンで、それぞれ 64、64、62 及び 59 成分であった。

白菜漬け及びレーズンにおいて標準添加法により定量したが、回収率が 70%未満であった成分は、シロマジン及びプロパモカルブであった。これらは、強塩基性の化合物であることから、本法が酸性条件化における抽出ではなかったため、回収率が低かったと考えられた。また、プロパモカルブは、蒸気圧が 730 mPa であり、濃縮によって揮散しやすいことが低回収率となった主な原因と考えられた[5]。

本法は概ね 8 割の成分で良好な結果が得られたことから、加工食品中の残留農薬分析法として有用であると考えられた。今回、加工形態に注目し抽出方法の検討を行ったが、酸性の強い果実を用いた加工食品の抽出時に、氏家らは pH 調整を行っている[6]。当県の特産品には、みかんやレモン等の柑橘類が多いため、これらの加工食品について本法の適用が可能か更なる検討が必要である。

## 結 語

原材料に残留する可能性のある農薬等及び急性参照用量が設定されている農薬等 70 成分を対象に、農産物を主原料にした加工形態が異なる加工食品（りんご

ジュース、白菜漬け、いちごジャム及びレーズン）中の残留農薬分析法を検討した。回収率 70～120%及び CV 値 25%未満を満たす対象成分の割合は加工食品ごとで異なるものの、概ね 8 割の成分で良好な結果が得られた。また、一斉分析法の手順を簡便化したことで、一斉分析法と比べて、試験溶液の調製に使用する溶媒量を約 3 分の 1 に、試験溶液の調製に要する時間を約 3 分の 2 に短縮することが可能となり、加工食品中の残留農薬検査において効率化が図られた。

## 文 献

- [1] 医薬食品局食品安全部基準審査課事務連絡. 加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法について. 平成 25 年 3 月 26 日.
- [2] “加工食品についての質問”“試験法についての質問”. [https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou\\_iryuu/shokuhin/zanryu/060329-1.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/zanryu/060329-1.html). 厚生労働省.参照 2023-06-21.
- [3] 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. 平成 17 年 1 月 24 日付け食安発第 0124001 号.
- [4] 榎元清美, 下堂蘭栄子, 他. 県内産加工食品の残留農薬実態調査について. 鹿児島県環境保健センター所報. 2012, 13, 84-90.
- [5] 福井直樹, 高取聡, 他. LC-MS/MS による農産物を主原料とした加工食品中の残留農薬一斉分析法の検討. 食品衛生学雑誌. 2013, 6, 426-433.
- [6] 氏家あけみ, 安永恵. 果実加工品に残留する防かび剤の実態について. 香川県環境保健研究センター所報. 2015, 14, 65-67.
- [7] 厚生労働省医薬食品局食品安全部部長通知. 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 日食安発 1224 第 1 号.

表 4-1 添加回収率 (移動相 FA)

No.	Cpd Name	添加濃度0.01ppm (n=4)							
		りんごジュース		白菜漬け		いちごジャム		レーズン	
		回収率(%)	CV(%)	回収率(%)	CV(%)	回収率(%)	CV(%)	回収率(%)	CV(%)
1	メチダチオン	78.8	5.5	96.4	11.4 *	93.1	3.5	90.3	3.6
2	アセトクロール	91.0	1.1	90.7	2.0 *	95.5	2.6	82.0	8.9
3	アトラジン	89.1	0.9	91.3	2.0 *	96.1	1.8	82.8	4.8
4	ブプロフェジン	88.4	4.7	87.4	7.5 *	89.2	2.8	81.3	4.6
5	ブタミホス	97.5	2.5	87.8	2.2 *	94.0	1.6	72.6	6.2
6	クロルピリホスメチル	76.8	10.8	85.2	1.0 *	79.3	5.7	79.9	6.3
7	ジフェノコナゾール	93.1	1.5	89.2	1.6 *	98.4	3.8	72.4	4.5
8	エトキサゾール	89.5	8.4	84.5	4.8 *	82.1	5.4	61.8	5.3
9	ファモキサドン	90.0	2.6	85.5	1.9 *	78.3	3.9	69.9	18.1 *
10	フェナミホス	83.6	1.8	91.0	2.2 *	93.8	2.2	73.9	11.5
11	フェンプロピモルフ	75.3	3.5	89.0	2.1 *	87.3	1.2	72.9	4.3
12	イソキサイオン	96.9	4.2	86.4	3.6 *	93.4	1.9	75.5	6.7
13	クレソキシムメチル	98.9	2.1	92.2	2.9 *	93.0	3.8	79.6	5.1
14	メタラキシル	88.8	2.6	95.6	1.6 *	96.6	3.8	78.8 <sup>a</sup>	1.9 <sup>a</sup>
15	メソミル	91.9	3.2	137.4	3.2	86.6	7.2	82.5	3.3
16	ミクロブタニル	89.6	1.0	91.2	2.3 *	94.2	2.0	81.8	7.7
17	オメトエート	72.0	4.1	84.8	4.0 *	73.6	5.6	75.9	2.0 *
18	オキサジキシル	92.6	2.5	87.1	29.8	92.9	4.1	84.3	3.8
19	フェントエート	98.1	1.4	88.9	2.8 *	89.3	2.4	87.0	5.5 *
20	プロフェノホス	75.1	19.1	86.7	9.6 *	89.0	2.5	72.4	4.6
21	ピレトリン I	83.6	13.6	77.8	3.5 *	82.8	6.9	70.9	9.4
22	ピリメタニル	88.9	2.0	85.5	1.5 *	103.6 <sup>a</sup>	1.5 <sup>a</sup>	73.1 <sup>a</sup>	4.2 <sup>a</sup>
23	スピロジクロフェン	88.2	11.6	78.4	2.4 *	83.8	6.0	71.6	6.5
24	テブコナゾール	93.2	0.8	91.2	2.0 *	98.6	1.8	74.4 <sup>a</sup>	0.9 <sup>a</sup>

\*:標準添加法による定量

<sup>a</sup>:参考値

網掛け: 目標値に不適合

表 4-2 添加回収率 (移動相 AA)

No.	Cpd Name	添加濃度0.01ppm (n=4)							
		りんごジュース		白菜漬け		いちごジャム		レーズン	
		回収率(%)	CV(%)	回収率(%)	CV(%)	回収率(%)	CV(%)	回収率(%)	CV(%)
25	アセフェート	70.8	2.6	81.4	0.9 *	74.3	0.7	75.4	3.6 *
26	アセタミプリド	92.0 <sup>a</sup>	2.9 <sup>a</sup>	94.4	1.0 *	89.5	2.2	51.7 <sup>a</sup>	19.0 <sup>*,a</sup>
27	ベナラキシル	96.5	1.3	92.1	1.6 *	94.6	1.0	75.5	3.6
28	ピフェントリン	63.5	3.5	77.5	3.3 *	81.6	4.8	77.3	4.7 *
29	カズサホス	88.3	2.1	85.0	4.4	89.4	1.7	70.2	2.0
30	カルバリル	92.7	1.1	93.8	1.2 *	89.5	2.4	72.2	3.0
31	カルベンダジム	91.9 <sup>a</sup>	9.3 <sup>a</sup>	108.7	4.2 *	109.3 <sup>a</sup>	3.6 <sup>a</sup>	73.4	51.4
32	クロルフェナピル	96.9	4.0	81.4	4.3 *	87.0	5.6	74.1	3.3
33	クロルプロファミ	87.7	6.2	92.0	3.9 *	94.6	6.9	88.3	2.4 *
34	クロルピリホス	90.6	4.7	79.4	4.1 *	85.7	7.1	81.6	5.0 *
35	シス-ペルメトリン	78.8	1.0	80.9	3.3	81.8	2.4	81.0	18.9 *
36	クロチアニジン	84.2	3.0	101.9	3.8 *	46.8	0.7	88.1	4.7 *
37	シベルメトリン	87.8	2.8	71.8	7.6	84.6	5.9	67.9	5.7 *
38	シロマジン	46.4	4.6	62.2	4.2 *	34.8	2.5	24.7	5.0 *
39	ジメタナミド	92.4	1.4	90.7	0.6 *	99.0	0.7	75.1	0.8
40	ジノテフラン	101.0	10.6	95.1	2.8 *	83.9	1.3	96.3	3.9 *
41	エトフェンプロックス	82.6	1.4	77.6	3.5 *	82.5	3.5	72.1	6.7 *
42	フェンプロパトリン	90.6	4.7	79.4	4.1 *	85.7	7.1	81.6	5.0 *
43	フェンピロキシメート(E,Z)	89.7	2.6	83.7	3.7 *	82.6	3.9	79.8	6.0 *
44	フルジオキサニル	98.0	3.3	94.2	2.0 *	92.2	5.9	75.3	4.8
45	イマザリル	94.9	2.0	91.7	1.9 *	93.5	2.6	77.4	4.1
46	イミダクロプリド	88.4	2.8	94.0	2.2 *	86.2	4.0	94.2	0.9 *
47	インドキサカルブ	96.9	1.8	88.3	1.5 *	92.3	2.8	85.8	8.6 *
48	マラチオン	93.5	2.1	90.9	0.4 *	102.6	1.0	76.4	1.7
49	メタミドホス	66.9	7.6	75.9	6.2 *	43.9	0.9	73.4	4.8 *
50	メトキシフェンジド	97.0	3.4	92.2	2.4 *	96.0	2.3	58.9 <sup>a</sup>	12.7 <sup>a</sup>
51	モノクロトホス	91.5	2.6	94.6	1.6 *	90.4	1.6	79.8	3.8
52	ニテンピラム	75.8	3.1	78.7	5.4 *	79.7	0.9	79.1	4.9 *
53	オキサミル	93.4	3.1	101.3	2.5 *	92.0	1.0	81.7	6.6
54	ピリミカルブ	91.6	1.7	90.8	1.1 *	94.2	1.0	77.0	1.7
55	ピリミホスメチル	91.5	2.4	82.5	3.3	90.0	2.3	73.7	4.0
56	プロクロラズ	97.7	0.5	87.7	3.2 *	96.8	5.7	85.2	3.9 *
57	プロパモカルブ	70.2	9.5	69.3	7.1 *	64.9	1.8	52.7	6.4 *
58	ピラクrostロビン	98.9	6.3	85.6	2.3	99.8	4.1	85.5	1.4 *
59	スフホキサフロル	88.8	2.1	93.3	1.5 *	81.2	1.5	91.4	0.7 *
60	テブフェノジド	96.6	3.1	82.3	3.6	85.9	3.5	87.1	3.9 *
61	テブフェンピラド	90.6	4.8	80.0	6.8	88.3	6.0	86.1	9.3 *
62	チアベンダゾール	79.7	3.2	77.5	4.4 *	59.0	9.7	82.3	23.1 *
63	チアクロプリド	92.4	1.7	98.4	1.1 *	89.8	2.7	94.4	2.0 *
64	チアメトキサム	87.9	4.6	96.5	5.3 *	92.2 <sup>a</sup>	3.4 <sup>a</sup>	93.2	2.2 *
65	チオジカルブ	92.5	2.0	39.6	8.8 *	95.3	2.4	77.8	1.9
66	トランス-ペルメトリン	77.2	2.7	77.9	3.4 *	84.1	2.3	81.0	18.9 *
67	トリアジメホン	93.1	4.4	95.5	3.0 *	95.8	2.0	90.3	4.9 *
68	トリアジメノール	95.7	1.4	92.8	2.5 *	96.6	8.0	89.5	2.6 *
69	アクリナトリン	64.5	5.2	67.5	6.0	81.6	5.5	70.5	15.6 *
70	フルベンジアミド	101.4	5.4	93.0	2.2 *	89.1	7.1	77.4	7.9

\*:標準添加法による定量

<sup>a</sup>:参考値

網掛け:目標値に不適合

## 資料

広島県における微小粒子状物質 (PM<sub>2.5</sub>) の10年間の推移

竹本 光義, 久保田 光

Annual variation of PM<sub>2.5</sub> in Hiroshima Prefecture  
over the past 10 years

TAKEMOTO Mitsuyoshi and KUBOTA Akira

(Received: November 8, 2023)

広島県では大気汚染防止法第22条に基づき、PM<sub>2.5</sub>質量濃度の監視を2011年度から実施し、成分分析についても2013年度から実施している。PM<sub>2.5</sub>質量濃度の減少傾向やPb/Zn比の解析結果等から、大陸からの越境汚染の影響が減少したことが示唆された。また、成分としては二次生成粒子（主に硫酸イオン）が減少していることが分かった。2020年度以降では、重油燃焼の寄与が減少しており、2020年1月に発効された船舶燃料油中の硫黄分規制強化の影響を受けたと考えられた。一方、同時期にCOVID-19の流行による人流活動・経済活動の抑制による大気質への影響も報告されており、複合的な要因によりPM<sub>2.5</sub>質量濃度が減少したと考えられた。

Key words : 微小粒子状物質 (PM<sub>2.5</sub>) , 経年変化, ケミカルマスバランス (CMB) 法, 発生源解析, 船舶燃料

## 結 言

2010年に大気中微小粒子状物質 (PM<sub>2.5</sub>) の環境基準が設定され、大気汚染防止法第22条に基づき、全国の自治体でPM<sub>2.5</sub>質量濃度のモニタリングが開始された。また、PM<sub>2.5</sub>削減対策の検討や発生源の解析に資するために、PM<sub>2.5</sub>の成分分析の実施も常時監視に盛り込まれた。

広島県におけるPM<sub>2.5</sub>質量濃度の監視は、2011年度に井口小学校等3地点（広島市設置）で開始し、その後順次、各市町で監視体制が整備され、2022年度では県内25地点で監視している。また、広島県では2013年度から大竹油見公園局（大竹市）において成分分析を実施しており、2022年度までに10年間分の成分分析データを蓄積している。そこで、本報告では広島県におけるPM<sub>2.5</sub>の過去10年間のデータを整理し、考察したので報告する。

## 方 法

1 PM<sub>2.5</sub>質量濃度

PM<sub>2.5</sub>自動測定装置のデータをもとに、広島県の一般環境の年平均値と、日本全国の一般環境の年平均値について比較した。また、大陸からの移流の影響を鑑み、中国及び韓国の年平均値についても比較した。広島県の一般環境の年平均値は、一般環境の各測定局の年平均値を広島県環境白書[1]から参照し、それらの値を平均し算出した。日本全国の一般環境、中国及び韓国の質量濃度は環境省の資料[2]を引用した。

## 2 成分分析

大竹油見公園局において、四季ごとに24時間×14日間のサンプリングを実施し、成分分析マニュアル[3]に準拠し、成分分析を実施した。成分分析データの解析期間は2013年度から2022年度の10年間とした。炭素成分は2015年度から成分分析を開始したため、2015年度から2022年度の8年間のデータについて解析した。また、検出下限値未満のデータは検出下限値の半分の値に置き換えて平均値を算出した。

## (1) イオン成分

イオンクロマトグラフ法により、以下のイオン成分

を測定した。

陰イオン :  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$

陽イオン :  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$

## (2) 無機元素成分

酸分解/ICP-MS法により、以下の31元素を分析した。

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, Cd, Be

## (3) 炭素成分

熱分離光学補正法 (IMPROVE法) により、以下の成分を分析した。IMPROVEプロトコルを表1に示す。

表1 IMPROVEプロトコル

炭素フラクション	測定条件	
	分析温度	分析雰囲気
OC1	120°C	He
OC2	250°C	He
OC3	450°C	He
OC4	550°C	He
EC1	550°C	98%He+2%O <sub>2</sub>
EC2	700°C	98%He+2%O <sub>2</sub>
EC3	800°C	98%He+2%O <sub>2</sub>

有機炭素 (OC) :  $\text{OC} = \text{OC1} + \text{OC2} + \text{OC3} + \text{OC4} + \text{OCPyro}$

元素状炭素 (EC) :  $\text{EC} = \text{EC1} + \text{EC2} + \text{EC3} - \text{OCPyro}$

OCPyro: He 雰囲気中で熱分解し炭化した有機炭素が、(He + O<sub>2</sub>) 雰囲気中に試料フィルタから分離した量を補正する。レーザ光強度が初期値に戻るレーザ分割前に検出されたEC1フラクションの炭素量を補正に用いる。

## 3 発生源解析

大竹油見公園局 (大竹市) の成分分析データをもとに、ケミカルマスバランス (CMB) 法による発生源解析を実施した。

CMB法とは、環境データを各種発生源の組み合わせによるものと仮定し、発生源の寄与率を推定する方法である。計算には統計数理研究所が開発したCMBK v2.1[4]を使用し、発生源プロファイルは山神ら[5]の報告を引用した。

成分分析データの採否判定はマスクロージャーモデルによって行った。マスクロージャーモデルは、粒子状物質の質量濃度と、いくつかの主要成分との関係を統計的に求めておき、以後の測定において成分測定データから質量濃度を推定し、測定質量濃度の妥当性が評価できるというものである。本研究では、環境省から提示されている日本に適したマスクロージャーモデルの質量濃度推定式 (2018年改訂) [6]を用いた。質量濃度推定式を以下に示す。

$$M = 1.586[\text{SO}_4^{2-}] + 1.372[\text{NO}_3^-] + 1.605[\text{nss-Cl}^-] + 2.5[\text{Na}^+] + 1.634[\text{OC}] + [\text{EC}] + [\text{SOIL}]$$

$$[\text{nss-Cl}^-] = [\text{Cl}^-] - 18.98[\text{Na}^+]/10.56$$

[nss-Cl<sup>-</sup>] : 非海塩由来 (non-sea salt) 塩化物イオン  
[nss-Cl<sup>-</sup>]が負の値となった場合はゼロとして計算

$$[\text{SOIL}] = 9.19[\text{Al}] + 1.40[\text{Ca}] + 1.38[\text{Fe}] + 1.67[\text{Ti}]$$

[SOIL] : 土壌粒子成分

マスクロージャーモデルから算出した質量濃度Mと、自動測定装置の1時間値から算出した24時間平均質量濃度M<sub>avg</sub>の比M/M<sub>avg</sub>が0.5以下、または2.0以上となる測定データについては除外した。成分分析データは四季平均値を算出し、各測定項目を割合データに変換した。

各種発生源の計算には、EC, Na, K, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Zn, As, Se, Sb, Laの13成分を用いた。OC, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>は発生源プロファイルに含まれるが、二次生成由来のものが多く含まれると推定されるため、計算の対象としなかった[5]。有機粒子の値は、一次生成粒子に含まれるOC濃度を、観測したOC濃度から差し引いたのち、有機粒子の換算係数1.634を掛けて算出した。

## 結果及び考察

### 1 PM<sub>2.5</sub>質量濃度の経年変化

PM<sub>2.5</sub>質量濃度の年平均値の推移を図1に示す。広島県の一般環境におけるPM<sub>2.5</sub>質量濃度の年平均値及び日本全国の一般環境における年平均値 (図1 (a)) は、いずれも減少していた。また、中国及び韓国の年平均値 (図1 (b)) も減少していた。大陸側の大気汚染が改善した結果、日本に到達する大気汚染物質が減少し

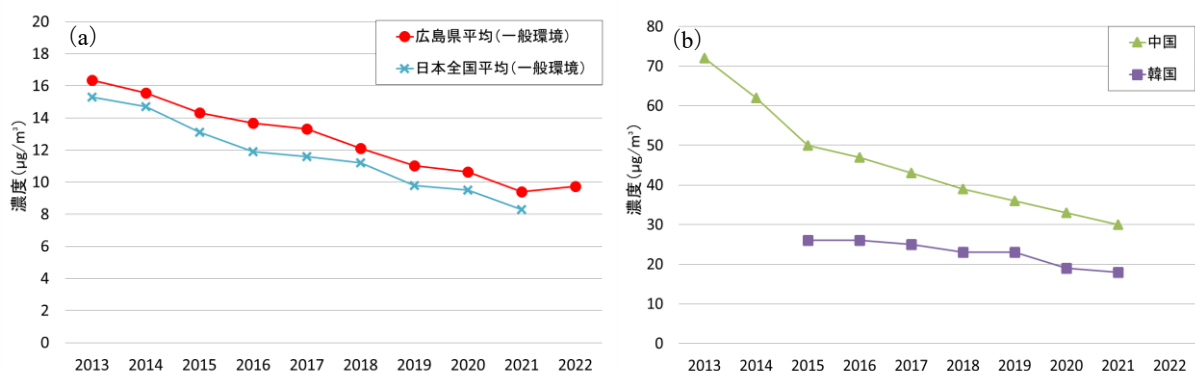


図1 PM<sub>2.5</sub>質量濃度の推移（年平均値） (a) 国内 (b) 中国及び韓国

たことが、広島県や日本全国のPM<sub>2.5</sub>質量濃度が減少した一因であると考えられる[7].

一方、広島県の一般環境におけるPM<sub>2.5</sub>質量濃度の年平均値は、日本全国の一般環境における年平均値と比べ、高い値であった。この要因としては、瀬戸内海周辺地域では大陸からの越境汚染の影響を受けやすいことや、局地風や周辺工業地帯、船舶排出ガス等の地域汚染の影響が大きいことが指摘されている[8,9].

## 2 PM<sub>2.5</sub>成分の経年変化

大竹油見公園局のPM<sub>2.5</sub>成分分析結果のうち、特徴的な項目について示す。

### (1) イオン成分

大竹油見公園局のPM<sub>2.5</sub>イオン成分のうち、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>の四季平均値の推移を図2に示す。

SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>は大幅に減少しており、成分分析を開始した2013年度と2022年度を比べると半分以下の値であった。NH<sub>4</sub><sup>+</sup>は2015年度に最も高い値を示したが、その後は横ばいまたは、わずかに減少傾向であった。NO<sub>3</sub><sup>-</sup>は2013年度から2015年度までは減少傾向であったが、

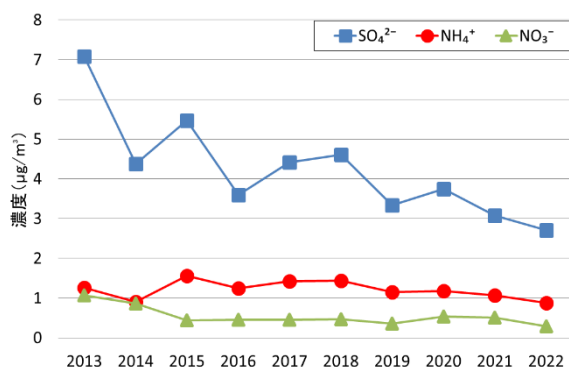


図2 イオン成分の推移（四季平均値）

その後はほぼ横ばいで推移していた。

### (2) 無機元素成分

大竹油見公園局の無機元素成分のうち、土壌の指標とされるAl及びCa、越境汚染の指標とされるPb及びZn、石油燃焼の指標とされるNi及びVについて、四季平均値の推移を図3～図5に示す。

土壌の指標であるAl、Caは2014年度以降、減少傾向であるが、2016年度から2018年度にかけて四季平均値が高かった。気象庁によると、2016年5月7日及び2017年5月6日～8日に広島で黄砂が観測されており[10]、黄砂の影響により濃度が高くなったと考えられる。また、これらの年度にみられた黄砂による影響は、他県でも同様に報告されている[11,12].

Pb及びZnはともに減少傾向であった。Pbは有鉛ガソリンの規制が厳しい日本に比べ、中国の排出量が多いといわれており、越境汚染の指標とされている[13,14]. 一方、Znは鉄鋼工業、都市廃棄物焼却炉など多様な発生源から排出されており、一般的な大気汚染の指標とされている[15]. そのため、大陸からの越境汚染が影響した場合、Pb/Zn比は相対的に高い値を示すといわれている[13-16]. Pb/Zn比の推移を図6に示す。Pb/Zn比は近年減少傾向であり、越境汚染の影響が減少したものと示唆された。また、2017年度ではZn濃度が高かったが、Pb濃度は上昇しなかった。この期間は地域汚染の影響が大きかったと考えられる。

石油燃焼の指標とされるNi及びVは、ともに近年減少傾向であった。V濃度の季節別平均値の推移を図7に示す。V濃度は、季節変動性を示し、春季及び夏季の海風が卓越する暖候期に上昇することから、船舶排出ガスや湾岸部の重油燃焼由来であると考えられている。また、2020年度を境にV濃度が顕著に減少し

ており、これは2020年1月に発効した船舶燃料油中の硫黄規制強化（MARPOL条約：船舶による汚染の防止のための国際条約）の影響であると考えられる。中坪ら[17]の検討によれば、船舶燃料を低硫黄燃料油に変更することで、船舶から排出される粉じん中のV濃度が顕著に減少することが示されている。また、浅川[18]の報告によれば、V濃度は2020年度以降、全国各地において顕著に減少しており、本県においても同様の影響があったと推察された。V/Ni比の推移を

図8に示す。Bressiら[19]及びPondlfiら[20]の報告によれば、船舶が影響した場合、PM<sub>2.5</sub>中のV/Ni比が2.1-3.1程度となることが報告されている。県西部沿岸地域である大竹においては、2015年度から2019年度にかけてV/Ni比が2.1を超えており、船舶排ガスの影響があったと考えられる。一方、2020年度以降は、V/Ni比が2.1を下回っており、規制強化による船舶排出ガスの質変化を観測したものと考えられ、今後のV/Ni比の議論の際には、船舶排出ガスの質の変化について

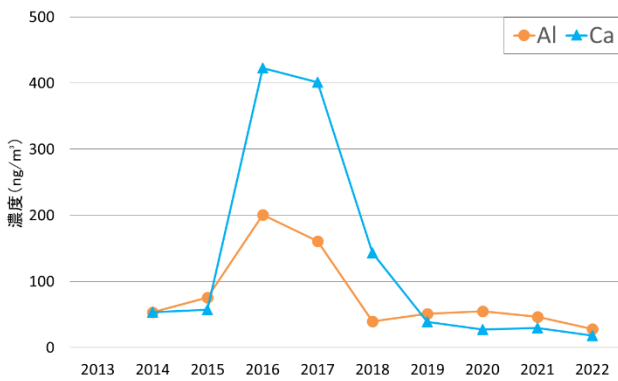


図3 土壌の指標元素の推移（四季平均値）

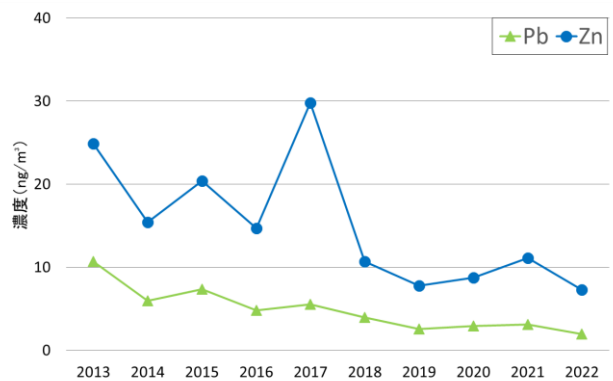


図4 越境汚染の指標元素の推移（四季平均値）

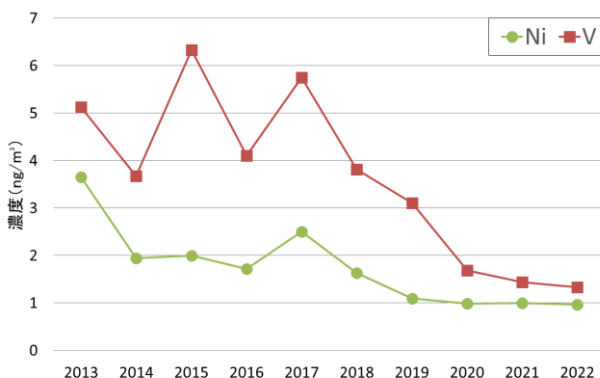


図5 石油燃焼の指標元素の推移（四季平均値）

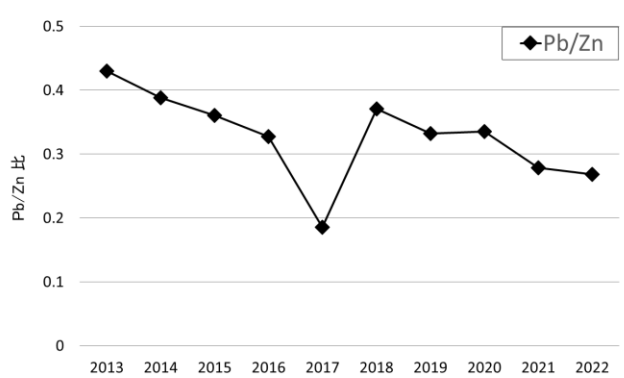


図6 Pb/Zn比の推移（四季平均値）

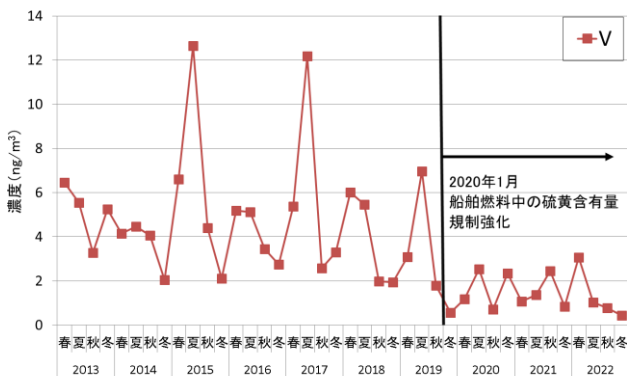


図7 V濃度の推移（季節別平均値）

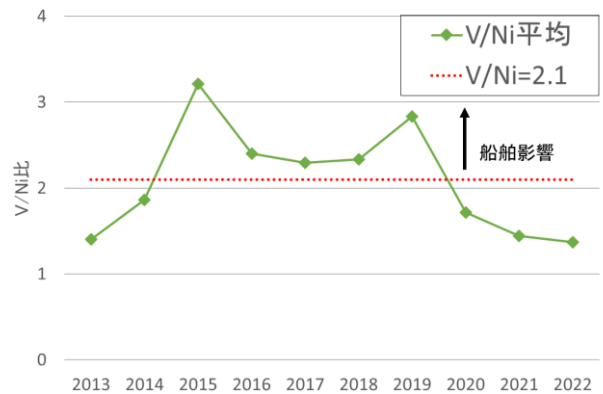


図8 V/Ni比の推移（四季平均値）



でも留意すべきである。

### (3) 炭素成分

有機炭素(OC), 元素状炭素(EC)及び全炭素(TC)の四季平均値の推移を図9に示す。ECの主な発生源は自動車, ボイラー等の化石燃料を使用した内燃機関によるものである。ECは, 2015年度から2016年度にかけて減少し, その後はほぼ横ばいで推移していた。

OCの由来は様々で, 発生源から直接排出される一次生成粒子だけでなく, 揮発性有機化合物(VOC)が粒子化したものや, 粒子に吸着した有機化合物などが観測される[21]。OCは2017年度に最も高い値を示したが, その後はわずかに減少傾向であった。TCはECとOCの総和であり, 観測を開始した2015年度が最も高く, その後は減少傾向であった。

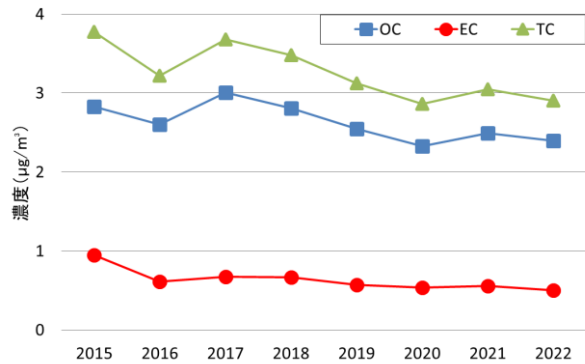


図9 炭素成分の推移 (四季平均値)

された影響として, 五島列島等の遠隔地において, PM<sub>2.5</sub>質量濃度, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>の減少[22]が報告されるなど, 複数の要因により日本国内のPM<sub>2.5</sub>質量濃度が減少したものと考えられる。今後, COVID-19の影響が小さくなった際に, 改めて検証する必要がある。

NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, 有機粒子, 自動車(排出ガス・ブレーキ粉じん), 自然発生源由来(土壌・海塩), バイオマス燃焼については, ほぼ横ばいであった。

## 結 語

広島県では2011年度より, PM<sub>2.5</sub>質量濃度の常時監視を行ってきた。また, 大竹油見公園局(大竹市)において, 10年間にわたり成分分析を実施し, これらのデータを解析することで以下のことが分かった。

1) PM<sub>2.5</sub>質量濃度は減少傾向であり, 二次生成粒子(主にSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>)が減少した。また, Pb/Zn比の解析等から, 大陸からの越境汚染の影響減少が示唆された。

### 3 発生源寄与濃度の経年変化

大竹油見公園局のPM<sub>2.5</sub>成分分析結果をもとに, CMB法により発生源寄与濃度を推定した結果を図10に示す。発生源寄与濃度のうち減少量が大きい項目は, 二次生成粒子(主にSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>)であった。この減少要因としては, 先に述べた越境汚染の影響が小さくなったためと考えられる。また, 2020年度以降では, 2019年度以前に比べて重油燃焼の寄与濃度が低下していた。これは, 前述の船舶燃料油中の硫黄分規制強化の影響であると考えられるが, 2020年度は中国で新型コロナウイルスCOVID-19が流行したため, ロックダウンが実施され, 人流活動・経済活動が抑制

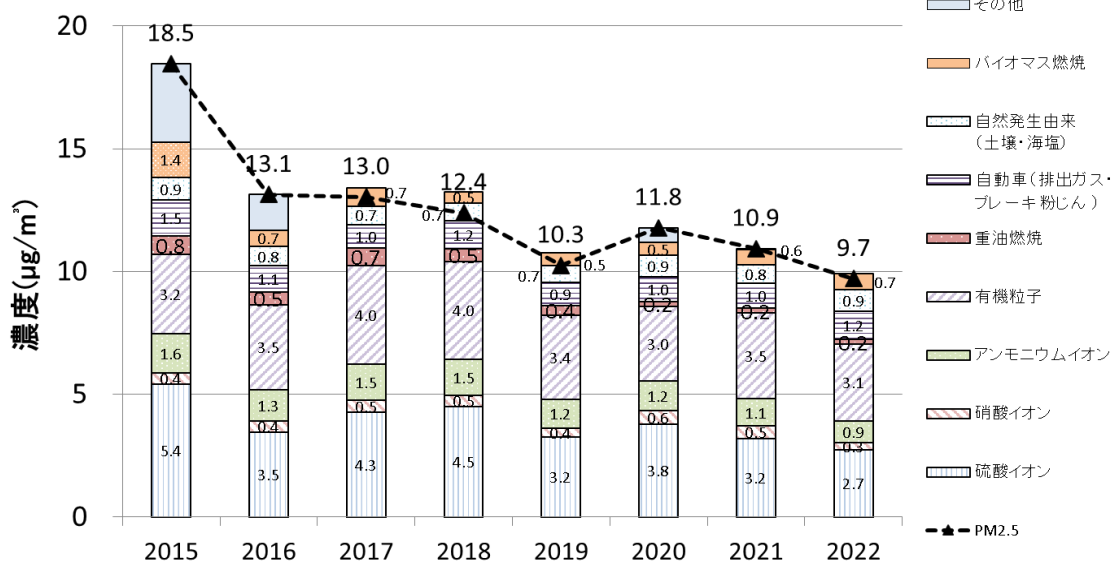


図10 発生源寄与濃度の推移



- 2) 2016年度及び2017年度ではAl, Ca濃度が高く, 黄砂の影響が示唆された。
- 3) 2020年度以降では, V濃度及び重油燃焼の寄与濃度が減少しており, 船舶燃料油中の硫黄分規制強化の影響が示唆された。
- 4) 2020年度はCOVID-19の流行による人流活動・経済活動の抑制により, 大気質に影響が生じたとの報告があることから, 複合的な要因により, PM<sub>2.5</sub>質量濃度が減少したと考えられた。

## 文 献

- [1] 広島県環境白書. <https://www.pref.hiroshima.lg.jp/site/eco/>, 参照 2023-08-31.
- [2] 令和3年度 大気汚染物質(有害大気汚染物質を除く)に係る常時監視結果. <https://www.env.go.jp/content/000139516.pdf>, 参照 2023-08-31.
- [3] 大気中微小粒子状物質(PM<sub>2.5</sub>)成分測定マニュアル. <https://www.env.go.jp/air/osen/pm/ca/manual.html>, 参照 2023-08-31.
- [4] 統計数理研究所. 学術研究リポジトリ. [https://ismrepo.ism.ac.jp/?action=pages\\_view\\_main&active\\_action=repository\\_view\\_main\\_item\\_detail&item\\_id=32744&item\\_no=1&page\\_id=13&block\\_id=21](https://ismrepo.ism.ac.jp/?action=pages_view_main&active_action=repository_view_main_item_detail&item_id=32744&item_no=1&page_id=13&block_id=21) 参照 2023-08-31.
- [5] 山神真紀子, 久恒邦裕, 他. 微小粒子状物質(PM<sub>2.5</sub>)の発生源寄与率の推定. 名古屋市環境科学調査センター年報. 2012, 1, 20-25.
- [6] 環境省. 微小粒子状物質(PM<sub>2.5</sub>)成分分析マニュアルに関するQ&A, 25, <https://www.env.go.jp/content/000119231.pdf>, 参照 2023-08-31.
- [7] 鶴野伊津志, 王哲, 他. PM<sub>2.5</sub>越境問題は終焉に向かっているのか?. 大気環境学会誌. 2017, 52(6), 177-184.
- [8] 大原利眞. PM<sub>2.5</sub>問題の3年間を振り返る. 大気環境学会誌. 2016. 51(3), A47-A50.
- [9] 中坪良平, 堀江洋祐, 他. 瀬戸内海沿岸において1時間ごとに観測したPM<sub>2.5</sub>化学成分の解析. エアロゾル研究. 2018, 33(3), 175-182.
- [10] 気象庁. 黄砂のデータ集. [https://www.data.jma.go.jp/env/kosahp/kosa\\_data\\_index.html](https://www.data.jma.go.jp/env/kosahp/kosa_data_index.html), 参照 2023-08-31.
- [11] 熊谷貴美代, 梅田真希, 他. 群馬県における大気中PM<sub>2.5</sub>成分調査結果(2016年度). 群馬県衛生環境研究所年報. 2017, 49, 55-56.
- [12] 松本弘子, 辻井温子, 他. PM<sub>2.5</sub>高濃度事例及び黄砂飛来事例の解析. 福岡市保環研報. 2022, 47, 84-92.
- [13] 豊永悟史, 村岡俊彦, 他. 多地点同時テーブル紙成分分析によるPM<sub>2.5</sub>高濃度事例解析. 熊本県保健環境科学研究所報. 2013, 43, 41-49.
- [14] 日置正, 中西貞博, 他. エアロゾル研究. 2006, 21(2), 160-175.
- [15] 日置正, 紀本岳志. 大気環境学会誌. 2009, 44(2), 91-101.
- [16] 辻昭博, 日置正. 大気環境学会誌. 2013, 48(2), 82-91.
- [17] 中坪良平, 高石豊, 他. C重油及びA重油使用時の船舶から排出されるPMの実船観測. 第61回大気環境学会年会 要旨集. 2020, B6-03, 104-105.
- [18] 浅川大地. 大阪市における大気中微小粒子状物質(PM<sub>2.5</sub>)濃度及び組成の10年間の変遷. 大阪市立環境科学研究センター報告. 2022, 5, 29-34.
- [19] Bressi M, et al. Sources and geographical origins of fine aerosols in Paris(France). Atmos. Chem. Phys. 2014, 14, 8813-8839.
- [20] Pondlfi M, et al. Source apportionment of PM(10) and PM(2.5) at multiple sites in the strait of Gibraltar by PMF: impact of shipping emissions. Environ. Sci. Pollut. Res. 2010, 18, 260-269.
- [21] 環境省. 粒子状物質中の炭素成分について. <https://www.nies.go.jp/kanko/news/21/21-5/21-5-04.html>, 参照 2023-09-07.
- [22] 板橋秀一, 王哲, 他. COVID-19に対する中国のロックダウン期間におけるPM<sub>2.5</sub>越境輸送の変容. 大気環境学会誌. 2020, 55(6), 239-247.

資料

## 京橋川の河岸干潟における泥分・有機物集積域の形成要因

後田 俊直

### Formation Mechanism of Accumulated Area of Mud Content and Organic Matter in the Estuarine Tidal Flats in Kyobashigawa

USHIRODA Toshinao

(Received: November 13, 2023)

京橋川の中～下流域に泥分・有機物集積域が形成される要因について、塩分遡上・高濁度水塊の現地観測と干潟底質の横断分布調査の結果から考察した。京橋川は緩混合型の塩分分布を示し、塩水遡上に伴う塩淡水混合により凝集が起こり、フロック化した粒子が河道内の広範囲に堆積しているものと推察された。潮位差の大きい大潮や河川流量が増加した場合の干潮時に中～下流域で高濁度水塊が観測された。掃流力の増加により上流で再懸濁した堆積物が移送され中～下流域で堆積し、泥分・有機物集積域が形成されるものと推察された。一方、泥分・有機物の集積は上流域の護岸沿いにおいてもみられた。上流域の護岸沿いは、掃流力の大きくなる低水時に干出するため堆積物は残留し、泥化すると推察された。

Key words : 高濁度水塊, 感潮河川, 塩分, 太田川

### 結 言

広島県の西部に位置する一級河川の太田川は、下流デルタ域で太田川放水路と旧太田川（市内派川）に分派し、市内派川はさらに5つの河川に分派し、広島湾に注いでいる。瀬戸内海特有の大きな干満差（大潮時最大約4m）の影響を受け、潮位変動に伴い海水が遡上する感潮河川となっている。河川感潮域（汽水域）は河口から放水路と市内派川との分派点を超えて約12kmの区間に及んでいる[1]。

このような河川感潮域は、陸と海の接点に位置し、比重等性格の異なる淡水と海水が混合し、かつ周期的に発生する潮汐と海から吹く波浪などの影響を受け、常に変動する特殊な環境を有している[2]。河川感潮域における懸濁粒子の分布に関する特徴の一つはTurbidity Maximumと称される高濁度域が出現することであり、懸濁物質の移動や巻き上げ、堆積が顕著になることが知られている。上流からの河川の流れは海水の遡上の影響を受けて弱まり、時には逆流する。この流量の低下によって河川水中の懸濁物の沈降、堆積が起きる。また、河川水中の粘土粒子等が海水と接

触すると生化学的な反応（凝集作用）で沈降しやすくなり、河川感潮域に堆積することもよく知られている。一方、潮汐により遡上してきた海水中の懸濁物質も淡水と接触し、流れが遮られると堆積する。河川水には懸濁態の有機物や栄養塩が豊富に含まれているため、これらの供給は河口干潟の生態環境の形成に重要であるが、過度の集積は水質・底質環境の劣化をもたらす恐れがある[3]。実際、太田川の市内派川では有機泥が堆積し、においや見た目など水辺を利用する上での支障になっている場所もみられ、河川底質の改善や生物生息環境の保全が望まれている[4]。こうしたことから、太田川河口干潟の保全・再生のためには河川感潮域における底質の形成機構を把握することは重要である。

既報[5]では、太田川市内派川の一つである京橋川で調査を行った結果、中～下流域に泥分・有機物が極度に堆積した集積域が存在することを報告した。本研究では、このような集積域が形成される要因について、京橋川における塩分遡上・高濁度水塊の現地観測と干潟底質の横断分布調査の結果から考察した。

## 方 法

### 1 京橋川の概要

京橋川は、太田川水系の分流であり、太田川が形成する広島デルタの6河川のうちの1つである。京橋川は、旧太田川から分岐し、下流で元安川に合流するまでの流路6.2kmの区間である。広島市街地東部を蛇行して流れる都市河川であるが、上流には自然護岸やアシ原がみられる。干潟土壌の物理化学特性については既報[5]にて報告したとおりであり、その調査地点を図1、各地点の泥分率及びIL（強熱減量）の縦断分布を図2に示す。干潟土壌の特徴は、上流では砂質であるが、下流に向かうほど泥分が増加し、中～下流域（K-2地点）で泥分・有機物が極大となる集積域がみられた。

### 2 調査地点及び調査方法

#### (1) 河岸干潟の底質調査

底質調査は下流域の泥干潟（K-2）及び上流域の砂干潟（K-5）の2地点で、2017年11月15日の大潮の干潮時に行った。いずれの地点も両岸は護岸となっており、干潮時には護岸沿いに干潟が干出し、満潮時には護岸まで冠水する。底質の横断分布を調べるために、護岸から汀線に向かって5m間隔でサンプリングを行った。調査はK-2地点では右岸、K-5地点では左岸の干潟で行い、護岸から汀線までの距離は、K-2地点は約20m、K-5地点は約55mであった。干潟の表層（約5cm層）を採取し、均等に混合して試料とした。泥温及び酸化還元電位（ORP）は現地で干潟表面から5cm深の位置で測定した。なお、ORPは、標準水素電極を基準とした電位（Eh）に換算したものを測定値とした。

採取した試料は実験室に持ち帰り、含水率、強熱減量（IL）、粒度分布、硫化物（AVS）、全有機炭素（TOC）、全窒素（TN）、全有機窒素（TON）及び全りん（TP）を測定した。

含水率、IL、TOC、TN及びTONは底質調査方法[6]に従い測定した。TOC、TN及びTONは柳本製CHNコーダMT-3を用い、TOCは試料を塩酸で前処理して測定した。C/N比の算出には、CN同時測定した窒素の値をTONとし、TOC/TON（モル比）として求めた。硫化物は、検知管法（㈱ガステック製、ヘドロテックS）により測定した。粒度分布は、JIS A 1204のふるい分析及び沈降分析により測定した。TPは、灰化・塩酸抽出法[7]により前処理を行い、オートアナライザー（ピーエルテック㈱製、AACS）で測定した。

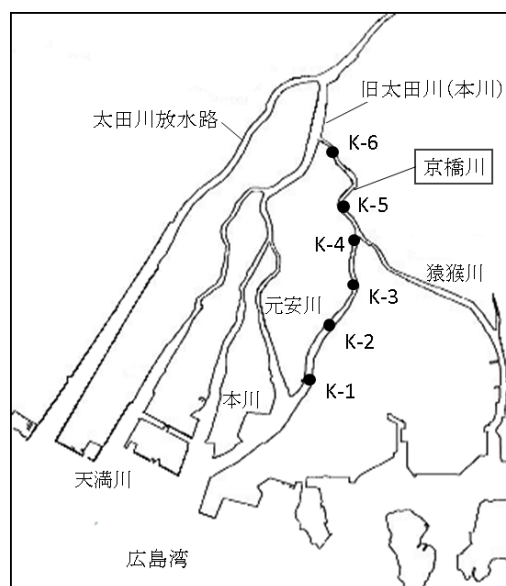


図1 太田川感潮域の地形と調査地点

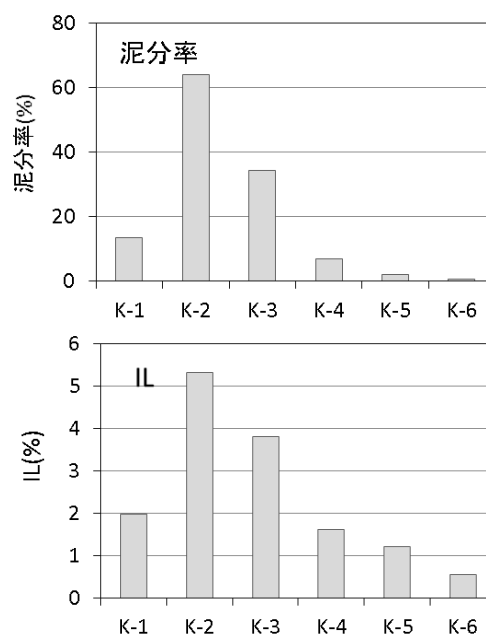


図2 京橋川の泥分率及びILの縦断分布

#### (2) 河川水質の移動観測

塩分及び濁度について空間分布（縦断分布）を調査するための移動観測を行った。測定機器には多項目水質計（環境システム㈱製、Quanta）を用いた。測定は橋上から行い、橋脚の近くの渦を巻くような場所を避け、流心に近い場所で水質計を下ろし、塩分及び濁度を鉛直方向に任意の間隔（10～50cm）で測定した。調査地点は京橋川の上流から下流にかけての8地点であり、その地点と京橋川の断面図を図3に示す。なお、

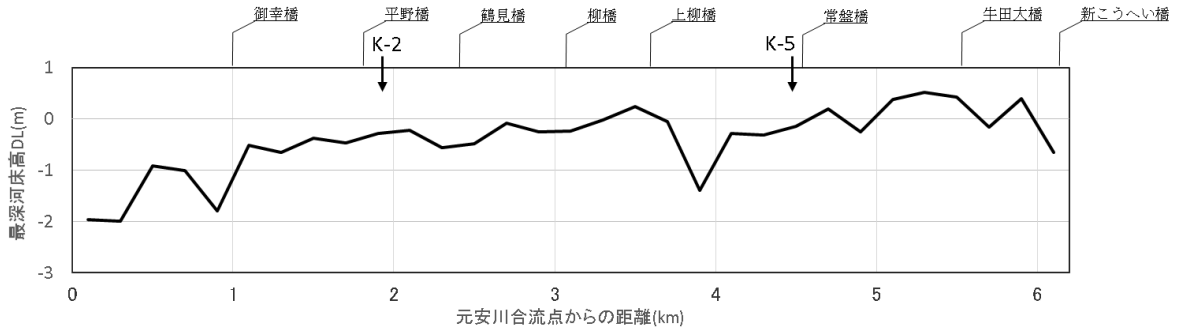


図3 京橋川の縦断図と調査地点

表1 観測日と河川流量及び潮位の状況

	観測日	干満差 (cm)	河川日流量 (m <sup>3</sup> /s)	潮汐, 河川の相対的状況	
				干満差	河川流量
CASE1	2015年9月15日	288	71	大	小
CASE2	2015年9月21日	110	46	小	小
CASE3	2015年8月28日	293	119	大	大

断面図は河川定期縦横断測量データ（国土交通省太田川河川事務所提供）を基に作成した。測定は満潮及び干潮前後1時間の潮止まりの時間帯に各地点を速やかに移動しながら行った。観測は2015年8月～9月に3回行った。観測日と当日の流量及び潮位の状況を表1に示す。河川流量は、河口から約15km上流の矢口第一観測所（国土交通省）のデータ[8]，潮位は、広島港の観測データ[9]を用いた。なお、河川流量は京橋川分岐点より上流の太田川の流量である。2015年の平水流量は59.85m<sup>3</sup>/s, 豊水流量は88.40 m<sup>3</sup>/s, 低水流量は38.58 m<sup>3</sup>/sであった。潮汐は、CASE1及びCASE3は大潮, CASE2は小潮であったため、相対的にCASE1は「干満差：大, 河川流量：小」, CASE2は「干満差：小, 河川流量：小」, CASE3は「干満差：大, 河川流量：大」の条件として考察を行った。

## 結果及び考察

### 1 干潟底質の横断分布

各調査地点における干潟土壌の粒度分布を図4に示す。K-2地点では護岸から汀線にかけて全体的に泥分（75μm以下の粒子, 粘土・シルト分）の割合が高く、泥分率は48～71%であった。汀線に向かうほど泥分は若干高くなる傾向がみられた。一方、上流側のK-5地点では、干潟の大部分が礫と砂で構成された砂質干潟で泥分率は1%以下であったが、護岸から10mまでの範囲では泥分率が26～39%と極端に高くなっていた。

次に各調査地点におけるEh, AVS, IL, TOC, TN及びTPを図5～10に示す。干潟のEhは、泥干潟のK-2

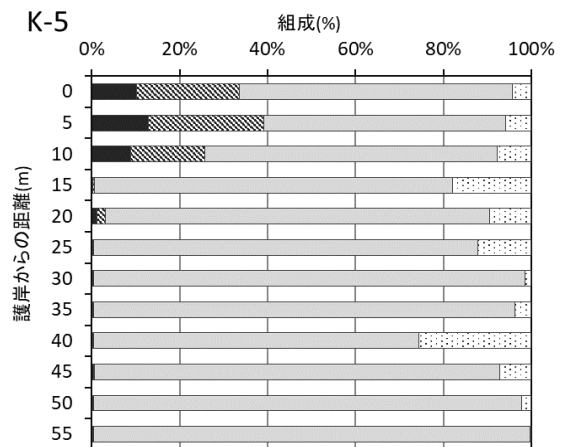
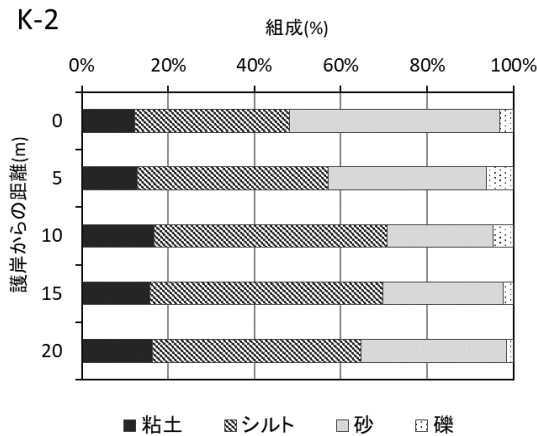


図4 京橋川K-2及びK-5地点における粒度組成の横断分布

地点で低くなった。一方、砂干潟のK-5地点では高くなったが、泥分率の高い護岸側及び20mの地点では若干低くなった。20mの地点は局所的に地盤が低くタイドプールとなっていたため、周囲より還元的になっているものと推察された。AVSはEhに対応しており、Ehの低いK-2地点では全体的に高くなり、水産用水基準[10]の0.2mgS/gを超える濃度もみられた。Ehの高いK-5地点では干潟の大部分でAVSは検出されなかったが、護岸から10mまでは高くなっており、護岸から5m

では0.41 mgS/gと高濃度であった。

IL, TOC, TN及びTPの横断分布は同様の傾向を示し、K-2地点では全体的に高く、護岸から汀線に向かって高くなる傾向がみられた。一方、K-5地点では護岸から10mまでは高く、そこから汀線にかけては低濃度となった。このような傾向は泥分の横断分布と同様であった。そこで泥分率とILの関係を図11に示す。両者には相関関係（K-2地点： $r=0.99$ ,  $p<0.01$ , K-5地点： $r=0.99$ ,  $p<0.01$ ）が認められた。また、TOC, TN

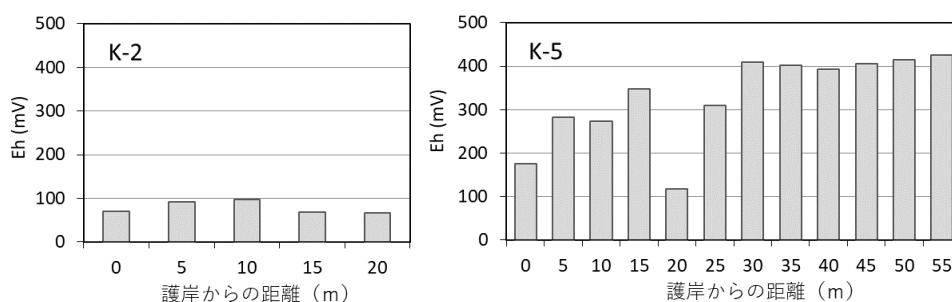


図5 京橋川K-2及びK-5地点におけるEhの横断分布

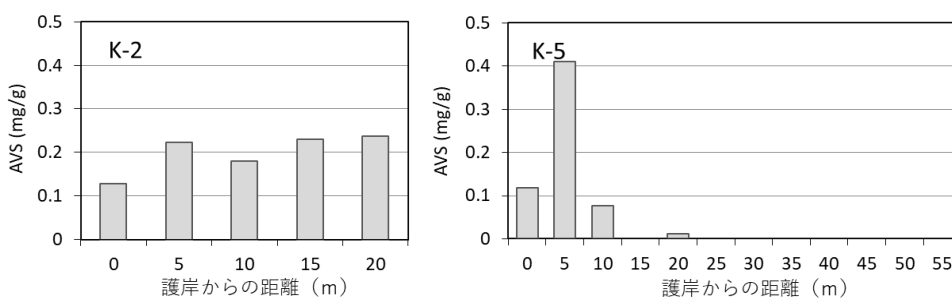


図6 京橋川K-2及びK-5地点におけるAVSの横断分布

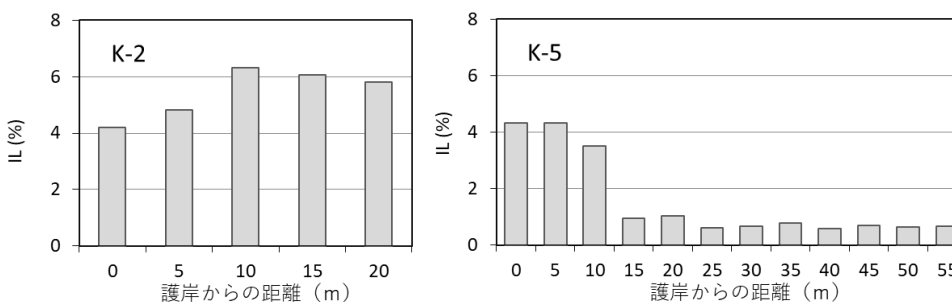


図7 京橋川K-2及びK-5地点におけるILの横断分布

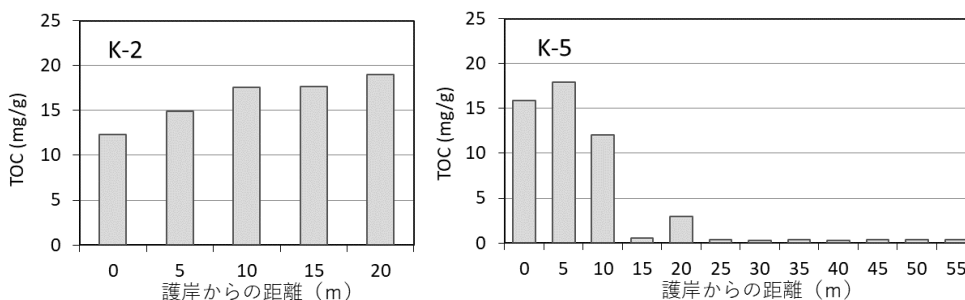


図8 京橋川K-2及びK-5地点におけるTOCの横断分布

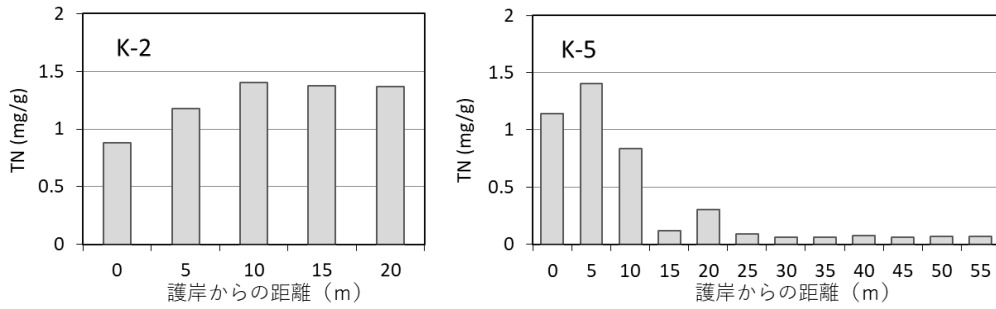


図9 京橋川K-2及びK-5地点におけるTNの横断分布

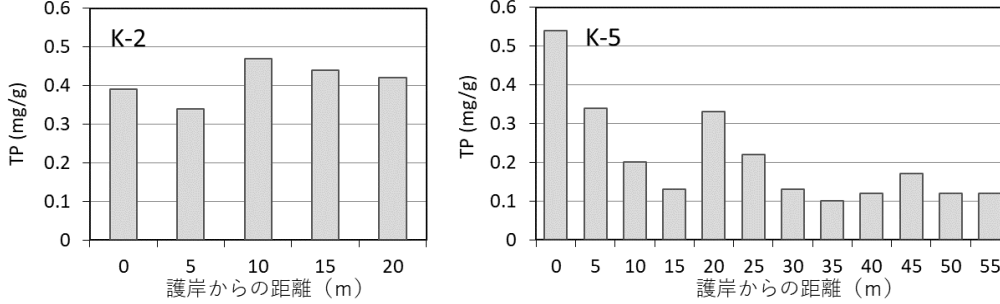


図10 京橋川K-2及びK-5地点におけるTPの横断分布

及びTPについても同様であった(図略)。このことから有機物及び栄養塩類は75 $\mu$ m以下の微細粒子に付着あるいは同様の挙動で干潟に堆積しているものと推察された。

次に各調査地点におけるC/N比の横断分布を図12に示す。C/N比はK-2地点では全域で17~18, K-5地点の護岸付近で14~15の高い値を示した。C/N比は海域プランクトンではモル比で6.6前後, 陸上由来有機物では12以上を示すことが知られている[11]。また, 分解の進行に従ってC/N比は高くなり, 有機物分解の最終形態と考えられるフミン質のC/N比は20~50といわれている[12]。このことから堆積した有機物は陸域起源, あるいは海域起源でも分解の進んだ有機物と考えられ, いずれにしても比較的分解の進んだ難分解有機物が堆積しているものと推察された。

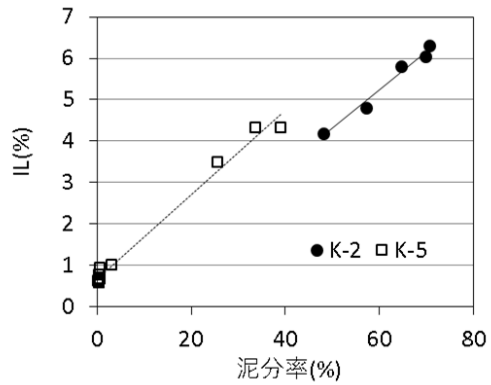


図11 京橋川干潟土壌の泥分率とILの関係

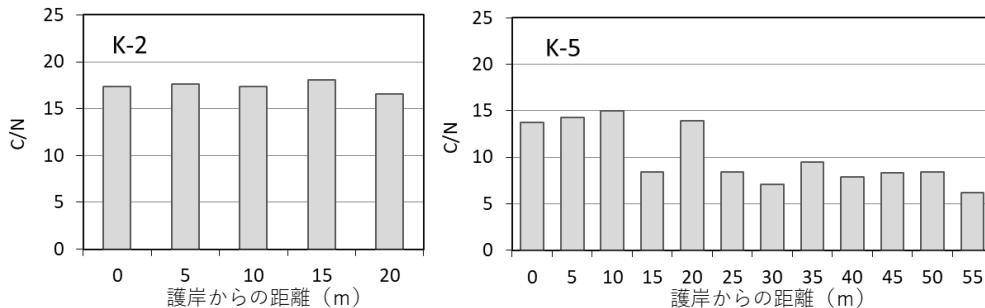


図12 京橋川K-2及びK-5地点におけるC/N比の横断分布

## 2 塩分・濁度の縦断分布

移動観測の測定結果から作成した満潮時及び干潮時の塩分・濁度の縦断分布図をそれぞれ図13及び図14に示す。なお底質の横断調査を行ったK-2地点は本安川合流地点から上流へ1.9km, K-5地点は4.5kmの位置にある。

塩分分布は、満潮時（図13）にはCASE1～3のいずれも上流から下流に向かって河川水が海水の上を流下し、河底上では逆に塩水が遡上する分布を示した。塩水遡上は、CASE1～3のいずれも30psuの塩水では2.5～3km地点まで、5psuの塩水ではCASE1及びCASE2では5.5～6kmの地点、CASE3では5km地点まで遡上していた。CASE3では等塩分線の間隔が狭くなっており、河川流量が大きいため塩水の遡上が抑えられているものと推察された。塩分の混合形態は、等塩分線が斜めに傾き、塩分勾配が水平、鉛直の両方向に存在する緩混合型であった。

干潮時（図14）は、小潮時のCASE2では河道内に高塩分水が残り、満潮時と同様に塩分躍層が維持されていたが、大潮時のCASE1及び河川流量の大きいCASE3では河道内のほぼ全域が河川水となっていた。

濁度分布は、満潮時にはCASE1及びCASE2では河川水（塩分5psu以下の部分）と海水（塩分30psu以上の部分）は濁度が低く、河川水と海水が混合する部分で高くなる傾向がみられた。濁度の上昇要因としては、塩淡混合による微細懸濁物質の凝集、流速の増加による底泥の巻き上げが考えられるが、この場合は凝集による濁度上昇と推察された。ここで河川水及び海水の動きが少なく、巻き上げの影響が少ないと考えられるCASE2（小潮の満潮時）について塩分と濁度の関係を示したものを図15に示す。濁度は塩分5psu以下では2NTU前後であるが、5～10psuになると上昇する傾向がみられた。凝集の起こる塩分濃度については、現地底泥を用いた室内実験により、塩分濃度10psuで既に凝集が起こることが報告されており[13]、この結果と一致していた。CASE2の満潮時には、上流域の約5.5km地点から河口までにかけて塩分約15psuの等塩分線に沿って濁度が高くなっており、河道内の広い範囲で凝集が起こっているものと推察された。CASE3では、上流域で濁度が高く、下流ほど濁度が低くなる傾向がみられた。調査の3日前に流域で50mm以上の降雨があり、河川水に濁りがあったものと考えられた。

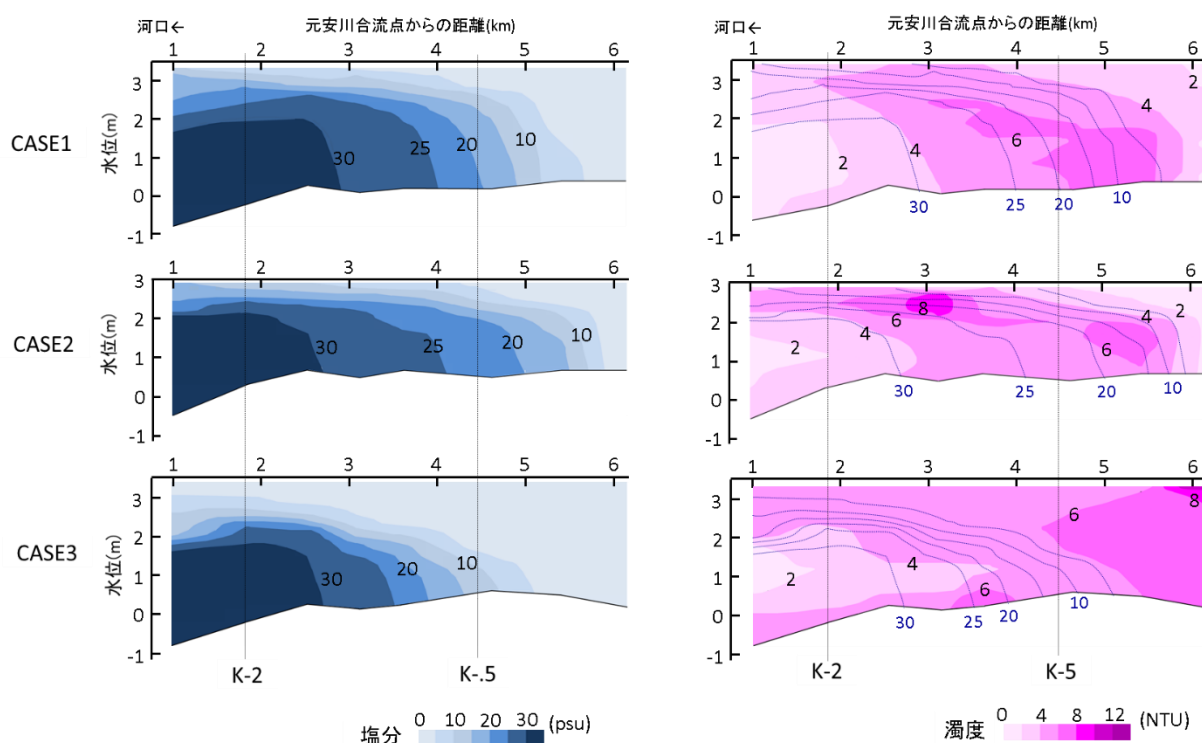


図13 京橋川の塩分・濁度の縦断分布（満潮時）

CASE1 干満差：大，河川流量：小

CASE2 干満差：小，河川流量：小

CASE3 干満差：大，河川流量：大

（濁度分布図中の点線は塩分分布を表す）



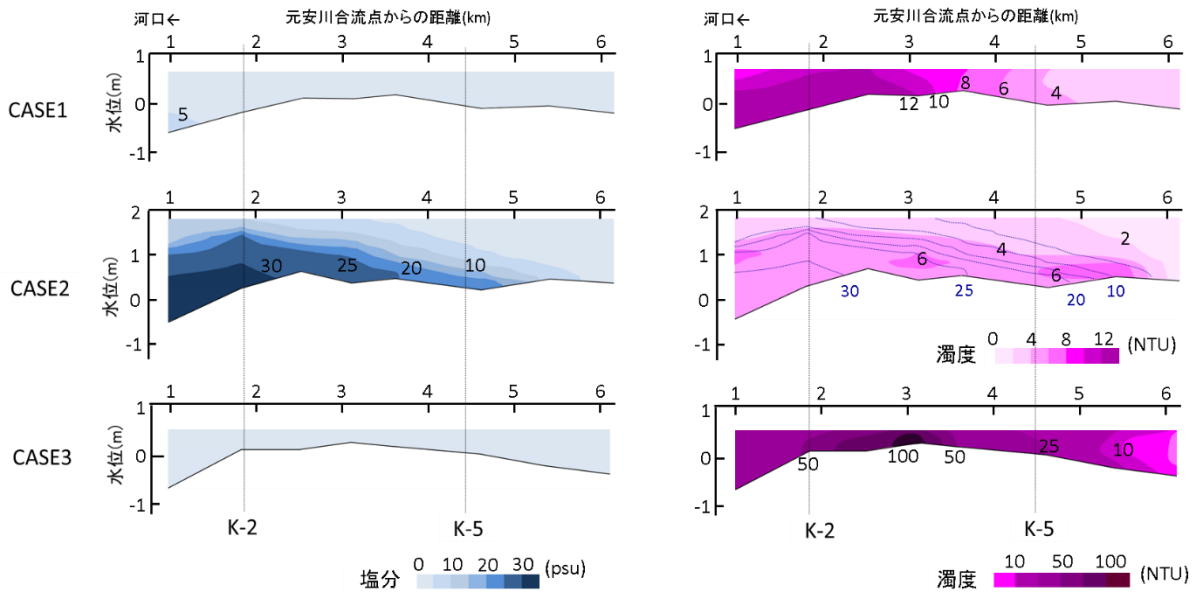


図14 京橋川の塩分・濁度の縦断分布（干潮時）

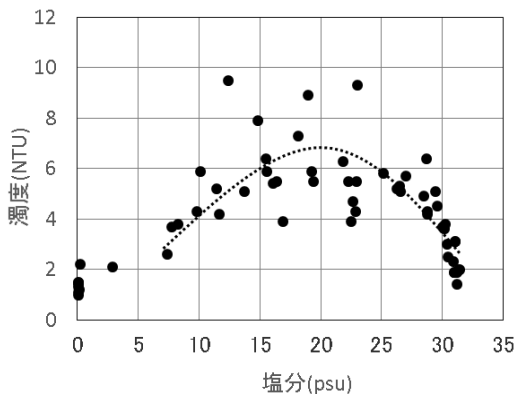


図15 塩分と濁度の関係（CASE2 満潮時）

底層部分でも濁度が若干高くなっていたが、これは巻き上げによるものと考えられた。CASE3では凝集による濁度増加は明確に観測されなかった。

干潮時の濁度分布は、CASE2では塩淡水混合域で部分的に濁度の高い領域がみられ、凝集によるものと思われた。CASE1では、濁度は約5km地点から上昇し、約3km地点から海側に向けて12NTU以上の高濁度域が続いていた。CASE1は潮位差が大きく、引き潮速度が速いため、河床の懸濁粒子が巻き上げられ、中～下流域に滞留しているものと考えられた。CASE3では濁度は上流の約6km地点から上昇し、約3km地点では最大100NTUとCASE1よりも1桁高くなっていた。CASE3では、潮位差が大きいことに加え、河川流量がCASE1の約1.7倍であったため、堆積物の巻き上げや輸送量が顕著に大きくなったものと推察された。

### 3 泥分・有機物の集積要因

京橋川の河口域では、中～下流域に泥分・有機物が極度に堆積した集積場（泥干潟）がみられたが、上流域の砂干潟においても護岸沿い（護岸から約10mの範囲）には泥分・有機物が極度に堆積していた。

感潮河川における堆積環境を支配する一つの要因に、懸濁粒子の凝集作用がある。平時に河川中を流下する浮遊性の懸濁物質は、粒径は小さく沈降しにくいですが、海水と接触するとフロックを形成して粒径が急激に大きくなり沈降速度を増して堆積するといわれている[14]。

今回の観測では、塩分5～10psuを超えると濁度が上昇しており（図15）、凝集によりフロックが形成されていることが推察された。京橋川の塩分分布は緩混合型であり、満潮時には塩淡水混合域は河口から上流5～6km地点まで及んでいることから、凝集は上流域から始まり、フロック化した粒子は下流までの広範囲で河床に沈降・堆積しているものと推察された。堆積したフロックは、水底の流れに伴い大きなせん断応力（掃流力）を受けると、破壊されて再懸濁して高濁度水塊を形成し、塩水に触れると再び沈降する[14]。今回の観測では、潮位差が大きく引き潮速度が速い大潮（CASE1）、特に河川流量が増加した場合（CASE3）の干潮時に中～下流域で高濃度水塊が観測された。河川水流下に伴う掃流力の増加により上流の堆積物が再懸濁、移送され中～下流域で高濃度水塊が形成されているものと推察された。今回の観測は満潮時及び干潮



時の潮どまりでの観測であり、上げ潮時・下げ潮時の観測を行っていないため高濁度水塊の移動（時間的変動）を捉えられていないが、干潮時に観測された高濁度水塊は中～下流域で沈降し、泥分・有機物の集積場を形成するものと推察された。

一方、上流域では、下げ潮時に水位が低下すると護岸側から干出する。流水部では水位の低下に伴い掃流力が大きくなると、堆積物の再懸濁が起こり下流へと輸送される。しかし、この時干出する護岸沿いは堆積物が残留し、泥化が進むものと考えられた。下流側の泥干潟においては、底質調査の結果では、護岸下よりも汀線に向かうほど泥分・有機物は高くなっていたが、上流とは逆に冠水時間の長い方が堆積は多くなるためこのような分布になるものと考えられた。

以上のような要因で京橋川において泥分・有機物の集積域が形成されるものと推察されたが、このような懸濁粒子の集積は京橋川のような長い感潮区間を有する河川の河口域では一般的に起こる現象である。京橋川では「水の都ひろしま」にふさわしい川づくりのため、石炭灰リサイクル材(Hiビーズ) [15]やキレート鉄発生材(キレートマリン) [16]を用いた底質改善の取り組みを行っているが、河川環境を維持管理していくには再堆積等の土砂動態を考慮した管理が必要となる。

浅海域における干潟は、水質浄化、食料供給、レクリエーションといった様々な恵み（生態系サービス）を与えてくれるが、このような有機物等の集積する泥場は親水や景観面ではマイナスと捉えがちである。一方で、京橋川の集積場に堆積している有機物は、C/N比の高い難分解性有機物であることから、陸域から流入するグリーンカーボンや海域で生成されたブルーカーボンを貯留する場として捉えることもでき、CO<sub>2</sub>吸収という新たな恵みとしての評価も必要である。

## 結 語

京橋川における泥分・有機物の集積要因について、塩分・濁度の縦断分布観測と干潟底質の横断分布調査の結果から考察した。

京橋川の塩分分布は緩混合型の分布を示し、満潮時には混合域は河口から上流5～6km地点まで及んでいた。凝集は上流域から始まり、フロック化した粒子は下流までの広範囲で河床に沈降・堆積しているものと推察された。

潮位差の大きい大潮や河川流量が増加した場合の干潮時に中～下流域で高濁度水塊が観測された。掃流力の増加により上流で再懸濁した堆積物が移送され、中～下流域で堆積し、泥分・有機物集積域が形成されるものと推察された。

一方、泥分・有機物の集積は上流域の護岸沿い（護岸～約10mの範囲）においてもみられた。上流域の護岸沿いは、掃流力の大きくなる低水時に干出するため堆積物は残留し、泥化すると推察された。

## 謝 辞

本研究の実施にあたり、国環研と地環研とのⅡ型共同研究「干潟・浅場や藻場が里海里湖流域圏において担う生態系機能と注目生物種との関係」（平成27～29年度）のメンバーには有益な情報・意見をいただいた。ここに謝意を表す。

## 文 献

- [1] 太田川生態工学研究会. 太田川放水路河口干潟における生態工学研究—太田川生態工学研究会報告書—。平成25年3月, p1.
- [2] 汽水域の河川環境の捉え方に関する検討会. 汽水域の河川環境の捉え方に関する手引書。平成16年5月, p1.
- [3] 西條八束・奥田節夫編. 河川感潮域—その自然と変貌—. 財団法人名古屋大学出版会。1996, p87-89.
- [4] 国土交通省中国地方整備局. 太田川水系河川整備計画【大臣管理区間】。令和2年11月, p62
- [5] 後田俊直, 寺内正裕. 太田川市内派川の河川感潮域に形成された干潟環境の特徴. 広島県立総合技術研究所保健環境センター研究報告. 2015, 23, 45-50.
- [6] 環境省水・大気環境局. 底質調査方法。平成24年8月.
- [7] 日本海洋学会編. 沿岸環境調査マニュアル[底質・生物編]. 恒星社厚生閣, 1986, p.59.
- [8] 国土交通省. 水文水質データベース. <http://ww1.river.go.jp/>, 参照2017-9-20.
- [9] 広島県防災Web. <http://www.bousai.pref.hiroshima.jp/hdis/>, 参照2017-9-20.
- [10] 日本水産資源保護協会. 水産用水基準. 第8版, 2

- 018.
- [11] Woo-Seok SHIN, 藤林恵, 野村宗弘, 中野和典, 西村修. 七北田川河口の3つの干潟における堆積有機物の起源とその特徴. 環境工学研究論文集. 2008, 45, 547-552.
- [12] 今井昌孝, 駒井克昭, 日比野忠史, 阿部徹, 西田芳浩. デルタ河川河口部に堆積する有機泥の分布特性. 水工学論文集. 2009, 53, 1447-1452.
- [13] 三村信男, 加藤始, 斉藤淳志, 田切康博. 河口・沿岸海域におけるシルトの凝集と沈降に関する研究. 第33回海岸工学講演会論文集. 1986, 34 7-351.
- [14] 国土技術政策総合研究所編. 流域における物質循環の動態と水域環境への影響に関する研究. 国土技術政策総合研究所プロジェクト研究報告. 2009, 28, 資3-65.
- [15] 中本健二, 廣中伸孝, 樋野和俊, 日比野忠史. ヘドロ堆積干潟での石炭灰造粒物による大規模底質改善施工技術の開発. 土木学会論文集B3 (海洋開発). 2015, 71(2), I\_808-I\_813.
- [16] 広島県. 新たな河川底質改善技術の実証試験調査結果. <https://www.pref.hiroshima.lg.jp/uploaded/attachment/253540.pdf>, 参照2023-10-16.

## 他誌掲載論文 (2022年10月~2023年9月)

### (1) Estimation of daily intake of food additives by Japanese young children using the market basket method in 2018

(Shoko Terami<sup>\*1</sup>, Hiroki Kubota<sup>\*1</sup>, Nozomi Koganesawa<sup>\*2</sup>, Saori Murakoshi<sup>\*2</sup>, Mutsumi Satou<sup>\*3</sup>, Yuriko Sekine<sup>\*3</sup>, Sayaka Watanabe<sup>\*4</sup>, Noriko Tsuruoka<sup>\*5</sup>, Mikio Sugiki<sup>\*6</sup>, Shoichi Tahara<sup>\*6</sup>, Megumi Yasunaga<sup>\*7</sup>, Kana Kamimoto<sup>\*7</sup>, Akie Nakashima, Sayaka Ihara, Tomoaki Takeshita<sup>\*8</sup>, Rumiko Kawahara<sup>\*8</sup>, Tomonori Takamine<sup>\*9</sup>, Ayuko Koja<sup>\*9</sup>, Noriaki Ebisu<sup>\*9</sup>, Tokiko Yanagimoto<sup>\*1</sup>, Chiye Tatebe<sup>\*1</sup>, Atsuko Tada<sup>\*1</sup> and Kyoko Sato<sup>\*1</sup>, Food Additives & Contaminants : Part A, 40(3), 328-345, 2023)

To estimate the daily intake of food additives by young children aged 1–6 years in Japan, an intake survey was conducted in 2018 using the market basket method for food additives, including twelve types of colourants, three kinds of preservatives, three kinds of sweeteners and two kinds of food manufacturing agents. A list of the daily consumption of processed foods was prepared based on a special survey (MHLW 2011) and used for the estimation. The results of the survey showed that the food additives with the highest daily intake were phosphorus compounds (phosphoric acid and its salts; 11.2 mg/kg bw/day, expressed as phosphorus), followed by propylene glycol (0.80 mg/kg bw/day). The daily intake of other food additives ranged from 0 to 0.20 mg/kg bw/day. The estimated daily intake of each food additives by young children was compared with the acceptable daily intake (ADI) or maximum tolerable daily intake (MTDI). The highest ratio of the estimated daily intake to ADI was 3.2% for propylene glycol, whereas the ratios of the estimated daily intake to ADI for colourants, preservatives and sweeteners ranged from 0 to 1.1% (benzoic acid). The ratio of the estimated daily intake to MTDI for phosphorus compounds was 16%.

<sup>\*1</sup>Division of Food Additives, National Institute of Health Sciences, <sup>\*2</sup>Sapporo City Institute of

Public Health, <sup>\*3</sup>Sendai City Institute of Public Health, <sup>\*4</sup>Narashino City Health and Welfare Center, <sup>\*5</sup>Chiba Prefectural Institute of Public Health, <sup>\*6</sup>Tokyo Metropolitan Institute of Public Health, <sup>\*7</sup>Kagawa Prefectural Research Institute for Environmental Sciences and Public Health, <sup>\*8</sup>Nagasaki Municipal Public Health and Environment Laboratory, <sup>\*9</sup>Okinawa Prefectural Institute of Health and Environment.

### (2) 沿岸海域の水温変動評価と底層溶存酸素量(DO)、有機物指標に係る地方環境研究機関との共同研究

(牧秀明<sup>\*1</sup>, 金谷弦<sup>\*1</sup>, 佐々木久雄<sup>\*2</sup>, 二宮勝幸<sup>\*3</sup>, 柏木宣久<sup>\*4</sup>, 飯村晃<sup>\*5</sup>, 小田新一郎, 横山智子<sup>\*6</sup>. 地球環境, 273, 3, 205-212, 2022)

沿岸海域における公共用水域水質測定データの活用と、水質環境基準生活環境項目に関連する未測定項目の補完的測定を行い、浅海域における水質形成要因解明を目的として地方環境研究機関と調査研究を行ってきた。公共用水域水質測定データの活用では、ダミー変数を用いた重回帰分析により、1980年代から2010年代までの約30年間、毎月測定されてきた海水温の長期変動トレンドの評価を行ったところ、多くの地点で有意な上昇傾向が確認された。水質環境基準生活環境項目に追加された底層溶存酸素量(DO)の多項目水質計による現場海中での直接測定を行い、外海に面して閉鎖性の低い一部の湾においても、あるいは冬季にも貧酸素水塊が発生していることを確認した。化学的酸素要求量(COD)の関連項目として、溶存性・懸濁性有機炭素(DOC・POC)、クロロフィルa等の補完的測定を行ったところ、CODとPOCの主成分はDOCと植物プランクトンにより、それぞれ構成されていることが示され、公共用水域(海域)におけるCODの評価上、陸起源のCOD負荷よりも、海域における内部生産による有機炭素生成に着目し管理していく必要性が有ると考えられた。

<sup>\*1</sup>国立研究開発法人国立環境研究所地球環境保全領域, <sup>\*2</sup>元・宮城県保健環境センター, <sup>\*3</sup>元・横浜市環境科学研究所, <sup>\*4</sup>統計数理研究所, <sup>\*5</sup>元・千葉県環境研究センター, <sup>\*6</sup>千葉県環境研究センター

---

---

広島県立総合技術研究所保健環境センター研究報告

第 31 号

2023 年 12 月 発行

広島県立総合技術研究所保健環境センター

〒734-0007 広島市南区皆実町一丁目 6-29

TEL (082) 255-7131

FAX (082) 252-8642

---

---

**BULLETIN  
OF  
THE HIROSHIMA PREFECTURAL TECHNOLOGY  
RESEARCH INSTITUTE, PUBLIC HEALTH AND  
ENVIRONMENT CENTER  
No.31  
December 2023**

**Contents**

**Reports**

Molecular Epidemiological Analysis of Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> O26 isolated from an Outbreak Case in a Student Dormitory. TOKUBO Yui, HIRATSUKA Takahiro and AKITA Hiroko .....	1
Genetic Analysis of Norovirus GII.2 and GII.4 Sydney Genotypes detected in Hiroshima Prefecture between 2013 and 2022. SUEI Mana, ITO Ayano and SHIGEMOTO Naoki .....	7
Rapid Determination of Medical Components Found in the Cosmetics such as Eyelash Serum SUGETA Wako and DATE Hideyo .....	13
Simultaneous Determination Method for Pesticide Residues in Processed Foods made mainly from Agricultural Products using LC-MS/MS IHARA Sayaka, WATANABE Midori and NAKASHIMA Akie .....	19
Annual variation of PM <sub>2.5</sub> in Hiroshima Prefecture over the past 10 years TAKEMOTO Mitsuyoshi and KUBOTA Akira .....	27
Formation Mechanism of Accumulated Area of Mud Content and Organic Matter in the Estuarine Tidal Flats in Kyobashigawa USHIRODA Toshinao .....	33
<b>Papers Published in Other Journals</b> (Oct. 2022 to Sep. 2023) .....	42