

委託プロジェクト研究
「食品の安全性と動物衛生の向上のためのプロジェクト」
2017年度 最終年度報告書

13406604

水稲におけるヒ素のリスクを低減する栽培管理技術の開発

研究実施期間	平成25年度～平成29年度（5年間）
代表機関	国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 （農業環境変動研究センター）
研究開発責任者	加藤 直人
共同研究機関	国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 （北海道農業研究センター、東北農業研究センター、中央農業研究センター、西日本農業研究センター、九州沖縄農業研究センター）
	国立大学法人 島根大学生物資源科学部
	秋田県農業試験場
	新潟県農業総合研究所
	栃木県農業試験場
	千葉県農林総合研究センター
	滋賀県農業技術振興センター
	地方独立行政法人 大阪府立環境農林水産総合研究所
	山口県農林総合技術センター
	熊本県農業研究センター
	地方独立行政法人 北海道立総合研究機構
	地方独立行政法人 青森県産業技術センター
	岩手県農業研究センター
	埼玉県農業技術研究センター
	長野県農業試験場
富山県農林水産総合技術センター	
兵庫県立農林水産技術総合センター	
普及・実用化支援組織	
研究開発責任者 連絡先	TEL : 029-838-8311 FAX : 029-838-8199 E-mail : nkato@affrc.go.jp

<別紙様式3. 最終年度報告書>

I-1. 年次計画

研究課題	研究年度					担当研究機関・研究室	
	25	26	27	28	29	機関	研究室
1. カドミウム低吸収品種を用いたヒ素・カドミウムの同時低減技術を可能にする栽培管理技術の開発						農研機構 農業環境変動 研究センター	有害化学物質研究 領域
	←→						
2. ヒ素集積の異なるイネ品種・変異体の選抜と特性評価						農研機構 農業環境変動 研究センター	有害化学物質研究 領域
	←→						
3. 資材施用等による水稲のヒ素低減技術の開発						農研機構 農業環境変動 研究センター	有害化学物質研究 領域
	←→						
4. 水管理を利用したヒ素・カドミウムの同時低減技術の開発						農研機構 農業環境変動 研究センター	有害化学物質研究 領域
	←→						
5. 地下水水位制御システムを用いた水管理による玄米中ヒ素・カドミウム同時低減法の開発						農研機構 東北農研センター	生産環境研究領域
	←→						
6. 資材等および水管理を用いたヒ素・カドミウムの同時低減を可能にする栽培管理技術の開発						農研機構 農業環境変動 研究センター	有害化学物質研究 領域
	←→						
7. 品種・資材・水管理の組み合わせによるヒ素・カドミウムの同時低減を可能にする栽培管理技術の開発						農研機構 農業環境変動 研究センター	有害化学物質研究 領域
8. 水管理によるヒ素・カドミウムの同時低減を可能にする栽培管理技術の高度化						農研機構 農業環境変動 研究センター	有害化学物質研究 領域

9. 土壌特性を用いた玄米ヒ素予測技術の開発	←				農研機構 農業環境変動 研究センター	有害化学物質研究 領域
10. 玄米のヒ素濃度早期予測法の開発	←				農研機構 農業環境変動 研究センター	有害化学物質研究 領域
11. コメのヒ素濃度事前予測に適した土壌サンプリング法の開発	←		→		島根大学	生物資源教育研究 センター
12. 分子認識による簡易無機ヒ素測定法のコメ試料への適用性の評価	←		→		農研機構 農業環境変動 研究センター	有害化学物質研究 領域
13. 蛍光X線分析によるコメの総ヒ素濃度の簡易定量技術の開発	←		→		農研機構 農業環境変動 研究センター	有害化学物質研究 領域
14. ヒ素迅速分析法の土壌溶液、土壌および玄米への適用性評価と最適化	←			→	農研機構 農業環境変動 研究センター	有害化学物質研究 領域

I - 2. 実施体制

研究項目	担当研究機関・研究室		研究担当者
	機関	研究室	
研究開発責任者	農業環境変動研セ	土壌環境研究領域長 (～2014. 3) 研究コーディネータ (2014. 4～2016. 3)	◎荒尾知人 (～2016. 3)
	農業環境変動研セ	有害化学物質研究領域長	◎川崎晃 (2016. 4～2017. 3)
	農業環境変動研セ	有害化学物質研究領域長	◎加藤直人 (2017. 4～2018. 3)
1. カドミウム低吸収品種を用いたヒ素・カドミウムの同時低減技術を可能にする栽培管理技術の開発	農業環境変動研セ 秋田農試 千葉農総セ 富山農総セ 奈良農総セ 滋賀農技セ 滋賀農技セ 山口農総セ 熊本農研セ 栃木県試 栃木県試 栃木県試 兵庫農技セ	土壌環境研究領域 生産環境部 土壌環境研究室 土壌・環境保全課 環境・安全担当 環境研究部 環境研究部 資源循環研究室 生産環境研究所 土壌環境研究室 土壌環境研究室 土壌環境研究室 農産園芸部	○石川 覚 伊藤正志 原田浩司 中田 均 西田一平 西川学(2015. 4～2016. 3) 武久邦彦 西村誠 (2014. 4～2016. 3) 徳永哲夫(～2016. 3) 白尾 謙典 宮崎成生 吉澤比英 (～2015. 3) 蜂巢恒平 (2015. 4～) 松山稔
2. ヒ素集積の異なるイネ品種・変異体の選抜と特性評価	農業環境変動研セ	土壌環境研究領域	○石川 覚
3. 資材施用等による水稻のヒ素低減技術の開発	農業環境変動研セ 農業環境変動研セ 農業環境変動研セ 農業環境変動研セ 農業環境変動研セ	有害化学物質研究領域 有害化学物質研究領域 有害化学物質研究領域 有害化学物質研究領域 有害化学物質研究領域	○牧野知之 山口紀子 赤羽幾子 川崎晃 須田 碧海

<p>4. 水管理を利用したヒ素・カドミウムの同時低減技術の開発</p>	<p>農業環境変動研セ 農業環境変動研セ</p>	<p>有害化学物質研究領域 有害化学物質研究領域</p>	<p>○加藤英孝 中村 乾</p>
<p>5. 地下水水位制御システムを用いた水管理による玄米中ヒ素・カドミウム同時低減法の開発</p>	<p>東北農研セ 東北農研セ 東北農研セ 東北農研セ 東北農研セ</p>	<p>生産環境研究領域 生産環境研究領域 生産環境研究領域 生産環境研究領域 生産環境研究領域</p>	<p>○三浦憲蔵 戸上和樹 工藤一晃 青木和彦 加藤邦彦</p>
<p>6. 資材等および水管理を用いたヒ素・カドミウムの同時低減を可能にする栽培管理技術の開発</p>	<p>農業環境変動研セ 農業環境変動研セ 農業環境変動研セ 農業環境変動研セ 農業環境変動研セ 農業環境変動研セ 農業環境変動研セ</p> <p>島根大</p> <p>東北農研セ 東北農研セ 東北農研セ 東北農研セ 東北農研セ</p> <p>秋田農試</p> <p>新潟農総研</p> <p>滋賀農技セ 滋賀農技セ 滋賀農技セ 滋賀農技セ</p> <p>大阪環農水研 大阪環農水研</p> <p>栃木農試</p>	<p>土壌環境研究領域 土壌環境研究領域 土壌環境研究領域 土壌環境研究領域 土壌環境研究領域 土壌環境研究領域 土壌環境研究領域</p> <p>生物資源教育研究セ</p> <p>生産環境研究領域 生産環境研究領域 生産環境研究領域 生産環境研究領域 生産環境研究領域</p> <p>生産環境部</p> <p>基盤研究部</p> <p>環境研究部 環境研究部 環境研究部 環境研究部</p> <p>食の安全研究部 食の安全研究部</p> <p>土壌環境研究室</p>	<p>○牧野知之 赤羽幾子 山口紀子 川崎晃 加藤英孝 中村乾 須田 碧海</p> <p>松本真吾</p> <p>三浦憲蔵 戸上和樹 工藤一晃 青木和彦 加藤邦彦</p> <p>伊藤正志</p> <p>本間利光</p> <p>武久邦彦 猪田有美 (～ 2014. 3) 西村誠(2014. 4 ～2016. 3) 鳥塚智 (～ 2016. 3)</p> <p>佐野修司 内山知二</p> <p>宮崎成生</p>
<p>7. 品種・資材・水管理の組み合わせによるヒ素・カドミウムの同時低減を可能にする栽培管理技術の開発</p>	<p>農業環境変動研セ 農業環境変動研セ 農業環境変動研セ 農業環境変動研セ 農業環境変動研セ 農業環境変動研セ</p> <p>秋田農試</p> <p>新潟農総研 新潟農総研 新潟農総研</p> <p>新潟農総研 新潟農総研</p>	<p>有害化学物質研究領域 有害化学物質研究領域 有害化学物質研究領域 有害化学物質研究領域 有害化学物質研究領域 有害化学物質研究領域</p> <p>生産環境部</p> <p>基盤研究部 基盤研究部 基盤研究部</p> <p>基盤研究部 基盤研究部</p>	<p>○牧野知之 須田碧海 赤羽幾子 加藤英孝 中村乾 石川寛</p> <p>伊藤正志</p> <p>本間利光 門倉綾子 (2013. 4～2014. 3) 土田徹(2014. 4 ～2017. 3)</p> <p>大峽広智(～ 2016. 3) 石井勝博 (2016. 4～)</p>

8. 水管理によるヒ素・カドミウムの同時低減を可能にする栽培管理技術の高度化	栃木県試 栃木県試	土壌環境研究室 土壌環境研究室	宮崎成生 蜂巢恒平
	千葉農総セ	土壌環境研究室	原田浩司
	滋賀農技セ 滋賀農技セ 滋賀農技セ	環境研究部 環境研究部 環境研究部	野 雄大 (2016. 4~) 武久邦彦 高山尊之 (2016. 4~)
	大阪環農水研 大阪環農水研	食の安全研究部 食の安全研究部	佐野修司 金剛穂波
	山口農総セ 山口農総セ 山口農総セ	資源循環研究室 資源循環研究室 資源循環研究室	徳永哲夫 (~2016. 3) 平田俊昭 (2016. 4~) 原田夏子
	熊本農研セ	生産環境研究所	白尾謙典
	島根大 島根大	生物資源教育研究セ 生物資源教育研究セ	松本真悟 春日純子
	農業環境変動研セ 農業環境変動研セ 農業環境変動研セ 農業環境変動研セ	有害化学物質研究領域 有害化学物質研究領域 有害化学物質研究領域 有害化学物質研究領域	○加藤英孝 中村 乾 牧野知之 須田碧海
	北農研セ	生産環境研究領域	西村誠一
	東北農研セ	生産環境研究領域	三浦憲蔵 (~2017. 3)
	東北農研セ 東北農研セ	生産環境研究領域 生産環境研究領域	永田 修 (2017. 4~) 戸上和樹
	中央農研セ 中央農研セ	土壌肥料研究領域 水田利用研究領域	江波戸宗大 平内央紀
	西日本農研セ 西日本農研セ 西日本農研セ 西日本農研セ	営農・環境研究領域 営農・環境研究領域 営農・環境研究領域 水田作研究領域	松森堅治 望月秀俊 森 伸介 長田健二
	九沖農研セ 九沖農研セ	水田作研究領域 水田作研究領域	原 嘉隆 中野恵子
	北海道中央農試 北海道中央農試 北海道中央農試 北海道中央農試	環境保全グループ 環境保全グループ 環境保全グループ 環境保全グループ	藤井はるか 竹内晴信 (~2017. 3) 塚本康貴 中村隆一 (2017. 4~)
	青森県農総研 青森県農総研 青森県農総研	生産環境部 生産環境部 生産環境部	藤澤春樹 谷川法聖 境谷栄二
	岩手農研セ 岩手農研セ	環境部 環境部	葉上恒寿 島 輝夫
	埼玉農研セ 埼玉農研セ	生産環境・安全管理 研究担当	杉沼千恵子 山崎晴民

	長野農試 長野農試 長野農試 長野農試 富山農総セ 富山農総セ	環境部 環境部 環境部 環境部 土壌・環境保全課土 壌・環境保全課	関谷尚紀 近藤 和 (2016. 4～12) 岡崎直人 (2017. 4～) 上原敬義 (2017. 4～) 中田 均 山田宗孝
9. 土壌特性を用いた 玄米ヒ素予測技術の開 発	農業環境変動研セ 農業環境変動研セ 新潟農総研 新潟農総研 新潟農総研 新潟農総研 新潟農総研 熊本農研セ 兵庫農技セ 兵庫農技セ	有害化学物質研究領域 環境情報基盤研究領 域 基盤研究部 基盤研究部 基盤研究部 基盤研究部 基盤研究部 生産環境研究所 農産園芸部 農産園芸部	○村上政治 前島勇治 門倉綾子 (2013. 4～2014. 3) 土田徹(2014. 4 ～2017. 3) 大峽広智(～ 2016. 3) 石井勝博 (2016. 4～) 本間利光 (2017. 4～) 白尾謙典 大塩哲視 松山稔
10. 玄米のヒ素濃度 早期予測法の開発	農業環境変動研セ 農業環境変動研セ 農業環境変動研セ 農業環境変動研セ 中央農研セ	有害化学物質研究領域 有害化学物質研究領域 有害化学物質研究領域 有害化学物質研究領域 農産安全研究統括監	○赤羽幾子 牧野 知之 加藤 英孝 中村 乾 荒尾 知人
11. コメのヒ素濃度 事前予測に適した土 壌サンプリング法の 開発	島根大学	生物資源教育研究セ	○松本真悟
12. 分子認識による 簡易無機ヒ素測定法 のコメ試料への適用 性の評価	農業環境変動研セ (株)住化分析セ (株)住化分析セ	物質循環研究領域技 術開発センター技術 開発センター	○阿部薫 中村勝雄 新井秀和
13. 蛍光X線分析によ るコメの総ヒ素濃度 の簡易定量技術の開 発	農業環境変動研セ	土壌環境研究領域	○川崎 晃
14. ヒ素迅速分析法 の土壌溶液、土壌お よび玄米への適用性 評価と最適化	農業環境変動研セ 農業環境変動研セ	有機化学物質研究領 域有害化学物質研究領 域	○馬場浩司(～ 2016. 3) ○川崎 晃 (2016. 4～)

中課題番号	13406604	研究期間	平成25～29年度
大課題名	食品の安全性と動物衛生の向上のためのプロジェクト		
中課題名	水稻におけるヒ素のリスクを低減する栽培管理技術の開発		
代表機関・研究開発責任者名	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 農業環境変動研究センター 有害化学物質研究領域長 加藤直人		

I-1. 研究目的

国内農畜水産物の実態調査の結果から、コメは他の農作物に比べてヒ素濃度が高いこと、国産コメ中のヒ素の大部分は無機ヒ素であることが判明しており、日本人が食品から摂取する無機ヒ素のうち、コメがその主要部分を占めると考えられる。一方、コーデックス委員会は精米中無機ヒ素については基準値0.2 mg/kg (2014年)、玄米中無機ヒ素については基準値0.35 mg/kg (2016年)を採択した。

水稻におけるヒ素のリスク低減技術を開発するためには、水田の好氣的な水管理によって土壌中のヒ素の溶出が抑制されるとカドミウムが可溶化するというトレードオフ問題や、生産現場での実行性や収量・品質を考慮する必要がある。

このため、本研究では

1. 110 「カドミウム低吸収品種を用いたヒ素・カドミウムの同時低減技術を可能にする栽培管理技術の開発」
2. 120 「ヒ素集積の異なるイネ品種・変異体の選抜と特性評価」
3. 210 「資材施用等による水稻のヒ素低減技術の開発」
4. 220 「水管理を利用したヒ素・カドミウムの同時低減技術の開発」
5. 230 「地下水位制御システムを用いた水管理による玄米中ヒ素・カドミウム同時低減法の開発」
6. 240 「資材等および水管理を用いたヒ素・カドミウムの同時低減を可能にする栽培管理技術の開発」
7. 310 「品種・資材・水管理の組み合わせによるヒ素・カドミウムの同時低減を可能にする栽培管理技術の開発」
8. 320 「水管理によるヒ素・カドミウムの同時低減を可能にする栽培管理技術の高度化」
9. 410 「土壌特性を用いた玄米ヒ素予測技術の開発」
10. 420 「玄米のヒ素濃度早期予測法の開発」
11. 430 「コメのヒ素濃度事前予測に適した土壌サンプリング法の開発」
12. 510 「分子認識による簡易無機ヒ素測定法のコメ試料への適用性の評価」
13. 520 「蛍光X線分析によるコメの総ヒ素濃度の簡易定量技術の開発」
14. 530 「ヒ素迅速分析法の土壌溶液、土壌および玄米への適用性評価と最適化」

により、コメのヒ素とカドミウムの同時大幅低減を実現する総合管理技術の構築、ヒ素汚染リ

スクマップのゾーニング用に適した予測式の開発。イネ茎葉中濃度等から、栽培環境が異なる産地に適応した玄米ヒ素濃度の早期予測法の確立、玄米中総ヒ素、無機ヒ素、水田土壌及びその土壌溶液に含まれる無機ヒ素の簡易分析法の開発を目標とし、その結果、水稻におけるヒ素の体系的なリスク低減技術が開発されることが期待される。

I-2. 研究結果

- (1) 110「カドミウム低吸収品種を用いたヒ素・カドミウムの同時低減技術を可能にする栽培管理技術の開発」

土壌類型や気象条件の異なる様々な地域において、カドミウム低吸収品種を様々な水管理で栽培した結果、コシヒカリ環1号と中干し後の節水栽培(土壌表面が乾燥し始めたら入水)との組み合わせによりヒ素とカドミウムを同時に低減できることを明らかにした。

- (2) 120「ヒ素集積の異なるイネ品種・変異体の選抜と特性評価」

ヒ素集積の異なる候補変異体のヒ素吸収特性を調査し、いずれの水管理においても候補変異体の玄米無機ヒ素濃度は有意に低下し、約30%の低減効果が認められた。稲わらのヒ素濃度は約半減した。また、変異体は親品種よりも稈長が短く精玄米収量は低い傾向であった。幼植物を用いた簡易スクリーニング法を構築し、低ヒ素候補変異体を選抜した。

- (3) 210「資材施用等による水稻のヒ素低減技術の開発」

鉄および鉄酸化物を含有する使用済スチールショットとスチールショット製造時の副産物で高いヒ素溶出抑制効果が明らかとなり、有望資材として選定した。ポット試験により、間断灌漑と廃棄鉄粉の組み合わせは玄米のAsとCdの同時低減に有効であることを明らかにした。鉄プラークのAs集積やAsバリア機能、および資材連用による玄米ヒ素低減効果を示した。

- (4) 220「水管理を利用したヒ素・カドミウムの同時低減技術の開発」

灌漑間隔7日(3湛4落)の間断灌漑により土壌中の溶存総ヒ素・カドミウム濃度の上昇が抑制され、玄米中の無機ヒ素・カドミウムとも比較的濃度に抑えられること、排水不良圃場においても、表面排水を徹底すれば、間断灌漑により通常の圃場と同等のヒ素・カドミウム低減効果が得られることが明らかになった。排水過良水田においても、間断灌漑期の降雨が多い年には、玄米中カドミウム濃度を低濃度に保ったまま溶存ヒ素・玄米中無機ヒ素濃度を低減しうるということが明らかになった。

- (5) 230「地下水位制御システムを用いた水管理による玄米中ヒ素・カドミウム同時低減法の開発」

地下水位制御システムを利用して、イネの出穂期前後の水管理の違いが玄米中のヒ素およびカドミウム濃度に与える影響を調査した。地下水位が高く還元的なグライ低地土においては、出穂2週間前までの中干し延長や出穂2週間後からの早期落水でも土壌が十分に好氣的にならず、玄米中無機ヒ素濃度の明瞭な低減は認められなかったが、カドミウム濃度はこれらの処理により増加する場合があることが明らかになった。

- (6) 240「資材等および水管理を用いたヒ素・カドミウムの同時低減を可能にする栽培管理技術の開発」

鉄資材の施用により玄米中無機ヒ素濃度は多くの試験地で有意に低下し、その低

減率の平均は施用1年目に製鋼スラグ26%、水酸化鉄31%、ゼロ価鉄46%で、特にゼロ価鉄で大幅な低減効果が認められた。収量・品質への有意な悪影響を与えずに、溶存AsとCd濃度を同時低減し、玄米中無機AsとCd濃度を同時低減するために有効な水管理は湛水3日落水4日行う間断灌漑であることが明らかとなった。

- (7) 310「品種・資材・水管理の組み合わせによるヒ素・カドミウムの同時低減を可能にする栽培管理技術の開発」

間断3湛4落と製鋼スラグの組み合わせにより、間断3湛4落単独区に比べ玄米無機Asは22%低減し、玄米Cdは68%低減した(施用1年目)。さらに品種をコシヒカリ環1号とすることで、玄米Cdを0.004 mg/kgに抑制できた。間断3湛4落区の整粒粒比は、通常コシヒカリの63.4%に対してコシヒカリ環1号では55.2%と有意に低下したが、製鋼スラグの施用により59.1%まで回復した。

- (8) 320「水管理によるヒ素・カドミウムの同時低減を可能にする栽培管理技術の高度化」

平成28年度・同29年度とも、間断3湛4落区では湛水区に比べて玄米中無機ヒ素濃度が有意に低下した。間断灌漑による低減効果は湛水区の玄米中無機ヒ素濃度が高い(およそ 0.2 mg kg^{-1} 以上)試験圃場で大きい傾向があり、湛水区の濃度が低い場合には低減効果が認められない場合もあった。また、玄米中無機ヒ素濃度と出穂後3週間の土壌溶液中溶存総ヒ素濃度の間には正の直線関係があった。

- (9) 410「土壌特性を用いた玄米ヒ素予測技術の開発」

出穂後1~3週の日平均気温の平均値、および酸性しゅう酸塩で土壌から抽出されるヒ素、マンガン、アルミニウム、鉄等を説明変数とする玄米のヒ素濃度予測式を作成した。条件の異なる様々な現地圃場に対する予測式の適合性を確認し、酸化還元電位による水管理の仕分けを行い、土壌特性値と栽培期間中の気象特性値から玄米無機ヒ素濃度を80%以上の判別率で予測できる式を導出した。

- (10) 420「玄米のヒ素濃度早期予測法の開発」

栽培途中の茎葉の総ヒ素濃度等から当該年の玄米無機ヒ素濃度を予報する早期予測法を検討し、出穂後5日以降の止葉を用いてより精度の良い予測が可能になると考えられた。

- (11) 430「コメのヒ素濃度事前予測に適した土壌サンプリング法の開発」

コメのヒ素濃度事前予測に適した土壌サンプリング法を検討し、同数の採取数では、無作為採取する場合よりも、対角線で採取する方法により区間推定の方が全体平均に対する推定誤差の割合が小さくなる傾向が認められた。

- (12) 510「分子認識による簡易無機ヒ素測定法のコメ試料への適用性の評価」

分子認識による亜ヒ酸測定法をコメの無機ヒ素測定に適用するため、コメからのヒ素の抽出やヒ素の形態統一化などの前処理などを検討し、現場に適用できる暫定版プロトコールを作成した。

- (13) 520「蛍光X線分析によるコメの総ヒ素濃度の簡易定量技術の開発」

蛍光X線分析のばらつきを考慮した上で、ヒ素濃度に応じて玄米をスクリーニングする方法を検討し、総ヒ素濃度が $0.09 \sim 0.12 \text{ mg/kg}$ のコメ試料については、177~1497秒で 0.2 mg/kg を超えないと判断できた。

- (14) 530「ヒ素迅速分析法の土壌溶液、土壌および玄米への適用性評価と最適化」

既存の無機ヒ素簡易分析法の土壌溶液、土壌、玄米への適用可否を明らかにすると共に改良・最適化し、玄米中無機ヒ素 0.20 mg/kg 以上の玄米に対しては室間共同試験のHorRat

が2未満であり、適用できることが確認された。

I-3. 今後の課題

コシヒカリ環1号をベースに地域の栽培特性に適する低Cd品種が育成されつつあるので、今後は本課題で得られた成果を活用し、それら新品种の節水栽培による玄米As濃度や収量、品質への影響を調査する必要がある。

出穂前後各3週間に落水を2~3回、4日間連続して落水状態に保つことにより、期間を通じて3湛4落の間断灌漑を行った場合と同等の溶存ヒ素・玄米中無機ヒ素濃度低減効果が得られれば、より実行の容易な水管理法とすることができる。そのためには、落水期間中に降雨があった時の灌漑入水のタイミングを決めるための分かりやすい水管理指標を開発し、検証する必要がある。

入水・落水日程の固定した間断灌漑では落水期の降雨のために圃場が十分に乾かない場合がある。落水期間中に降雨があった時の灌漑入水のタイミングを決めるための分かりやすい水管理指標とともに、降雨に対応可能で容易に実行できる水管理法を開発する必要がある。

ケイ酸や鉄資材、有機質資材などの少量継続施用による玄米ヒ素・カドミウム低減メカニズムを明らかにする必要がある。製鋼スラグやケイ酸資材は多種多様であるので、ヒ素低減効果の更なる解析と土作りやコシヒカリ環1号の生育改善の観点から資材評価を進める必要がある。

コシヒカリ環1号を始めとした現在育成中の低Cd品種の様々な地域における現地適合性の解析と、資材施用を含めた栽培・肥培管理の最適化を更に進める必要がある。鉄資材の効果持続性と少量継続施用の効果検証を要する。

土壌特性を用いた玄米のヒ素濃度予測式は様々な土壌及び気象特性をもつ現地圃場での適合性検証が必要である。玄米のヒ素濃度早期予測法は年次（気象等）の影響を考慮する必要がある。

コメに関する無機ヒ素簡易分析法は、精米の低濃度試料についても今後室間共同試験をおこない妥当性を確認していく必要がある。また、講習会等を引き続き開催すると共に利用者の要望に沿った改良をおこない普及を進めていく必要がある。

中課題番号	13406604	研究期間	平成25～29年度
小課題番号	110	研究期間	平成25～27年度
中課題名	水稲におけるヒ素のリスクを低減する栽培管理技術の開発		
小課題名	カドミウム低吸収品種を用いたヒ素・カドミウムの同時低減技術を可能にする栽培管理技術の開発		
小課題責任者名・研究機関	石川 覚・農研機構 農業環境変動研究センター		

1) 研究目的

コメ中のカドミウム濃度低減に向けて、農林水産省が作成した実施指針の中では、出穂前後3週間の湛水管理が推奨されている。しかし長期間に亘る湛水管理はコメ中のヒ素濃度を上昇させるため、水稲においてヒ素とカドミウムは「トレードオフ」の関係にある。一方、我々の研究グループは、イオンビーム照射したコシヒカリからカドミウム吸収や蓄積が著しく低下した品種を開発することに成功した。この低カドミウム品種の玄米カドミウム濃度は水管理に関係なく、高カドミウム土壌で栽培しても、食品衛生法で定められた0.4 mg/kgを大幅に下回る。よって、長期の湛水管理が不要になると同時にヒ素の低減化も期待できる。

そこで本研究では、土壌類型や気象条件の異なる様々な地域において、カドミウム低吸収品種を様々な水管理で栽培し、ヒ素とカドミウムを同時に低減できる最適な栽培管理技術を開発する。

2) 研究成果

1. 土壌類型や気象条件の異なる9つの地域 (A-I) において、コシヒカリおよびコシヒカリ環1号を湛水 (FLD)、間断灌漑 (AWD)、節水 (WAS) の3つの水管理を基本に栽培した。湛水は各地域のカドミウム対策用の水管理で、間断灌漑は田面が見え始めたら入水を繰り返す水管理で、節水は土壌表面に乾燥が見え始めてから入水する水管理で行った (図1)。各地域とも研究開始1年目 (A-EはH25年度、F-IはH26年度、なおFとGはH26年度に栽培圃場を変更) は湛水区を設けたが、ヒ素の低減が目標であったため、2年目以降は間断を対象区とし、節水区の数を増やした。栽培前は土壌を採取し、土壌の理化学性を分析した (以下分析項目: pH、炭素・窒素含量、CEC、交換性塩基、可給態リン酸、遊離酸化鉄、非晶質鉄、非晶質Al、可給態ケイ酸、交換性Mn、1MHC1-As, 0.1M-HCl Cd)。栽培期間中は土壌の酸化還元電位 (Eh) を経時的にモニタリングするとともに、土壌溶液も経時的に採取し、ヒ素とCd濃度を分析した。玄米と稲わらの総ヒ素濃度、Cdおよびマンガン濃度をICP-MSで測定し、玄米の形態別ヒ素濃度はHPLCを装備したICP-MSで測定した。生育および収量は以下の項目を調査した (出穂日、稈長、穂長、穂数、わら重、精もみ重、精玄米重、玄米千粒重)。玄米品質は外観品質と粒形を穀粒判別器

で調査した。

2. 9つの地域における各品種の玄米ヒ素・Cd濃度を図2に示した。同一年で湛水区・間断区・節水区のセットがあるH25年（A-E）とH26年（F-I）のデータを示した。DとF地域を除き、玄米ヒ素濃度は湛水＞間断灌漑＞節水の順であった。品種間のヒ素濃度には大きな差がなかった。湛水区の玄米ヒ素濃度に比べ、間断区は平均で約20%減、節水区は平均で約45%減となり、玄米ヒ素濃度における水管理の効果が明確に現れた。DとF地域で水管理の効果が見られないのは、土壌Ehから類推すると天候等の影響でねらい通りの水管理ができなかったためと思われる。玄米ヒ素濃度には地域間差があり、黒ボク土壌であるEとF地域は他の地域に比べて有意に低い値であった。一方、コシヒカリの玄米Cd濃度は節水＞間断灌漑＞湛水の順となり、ヒ素とのトレードオフ関係が明確に認められた。しかし、コシヒカリ環1号は水管理にかかわらず、どの地域でも玄米のCd濃度はほとんど検出されなかった。これらの結果から、コシヒカリ環1号を節水栽培することで、玄米のヒ素とCd濃度を同時に減らすことが可能であることがわかった。
3. 9地域における玄米収量の平均相対比（湛水栽培したコシヒカリを100とした場合の相対比）を、A-Eは平成25年のデータで、またF-Iは平成26年のデータをもとに図3に示した。コシヒカリの場合、間断灌漑区で約2%、節水区で4%の収量減となった。一方、コシヒカリ環1号は、間断灌漑区で約2%、節水区で5%の収量減となった。この事から節水栽培は品種にかかわらず、収量にやや負の影響を与えることがわかった。
4. 水管理と品種が玄米品質に与える影響を高温年と通常年に分けて、整粒歩合から判断した。各年に湛水栽培したコシヒカリの整粒歩合を100とした相対比で示した（図4）。高温年（H25年）はコシヒカリの節水区で約20%整粒歩合が低下した。一方、コシヒカリ環1号の場合、湛水栽培であっても品質の低下が著しく、特に節水区では約32%減であった。通常年（H26年）の場合、コシヒカリの品質は水管理の影響を受けなかったが、コシヒカリ環1号では最大7%整粒歩合が低かった。これらの結果から、節水栽培は特に高温年で玄米品質を低下させる懸念があることがわかった。

3) 成果活用における留意点

1. コシヒカリ環1号を節水栽培することで、玄米のヒ素とCd濃度を同時に減らすことが可能であることがわかった。しかし、場所や天候によっては、排水がうまく行かず、玄米ヒ素濃度が低下しない場合もある。
2. コシヒカリ環1号の節水栽培は地域や土壌にもよるが、玄米収量がやや減少傾向になる。
3. コシヒカリ環1号の節水栽培は、特に高温年において著しく玄米品質を低下させる恐れがあるので注意が必要である。

4) 今後の課題

収量と品質は水管理に加え天候に左右されるところが大きい。コシヒカリ環1号をベースに地域の栽培特性に適する低Cd品種が育成されつつあるので、今後は本課題で得られた成果を活用し、それら新品种の節水栽培による玄米As濃度や収量、品質への影響を調査する必要がある。

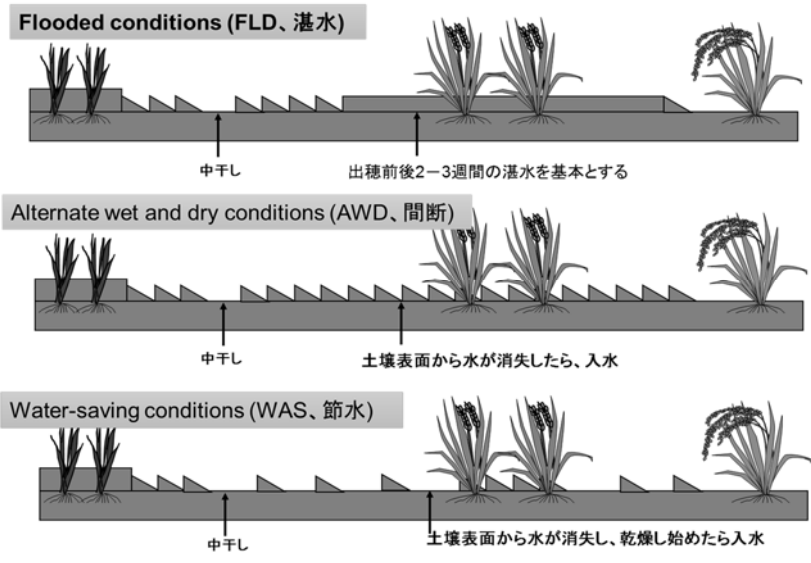


図1 水管理方法

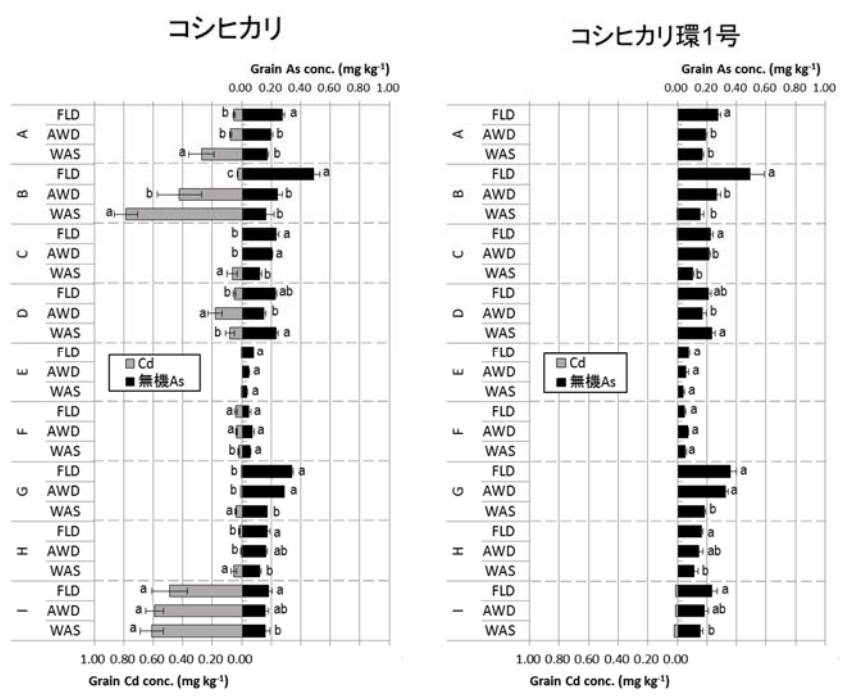


図2 玄米の無機ヒ素濃度とCd濃度
 A-Iは試験地、FLD:湛水、AWD:間断灌漑、WAS:節水
 カラム上の英字は統計処理による有意差を示す (Tukey, P<0.05)
 A-Eは平成25年度の結果、F-Iは平成26年度の結果

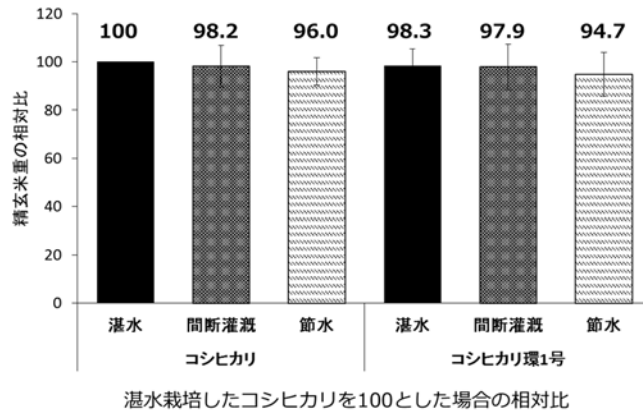


図3 精玄米重の比較

カラム上の数字は湛水栽培したコシヒカリの玄米収量を100とした場合の相対比を示す。

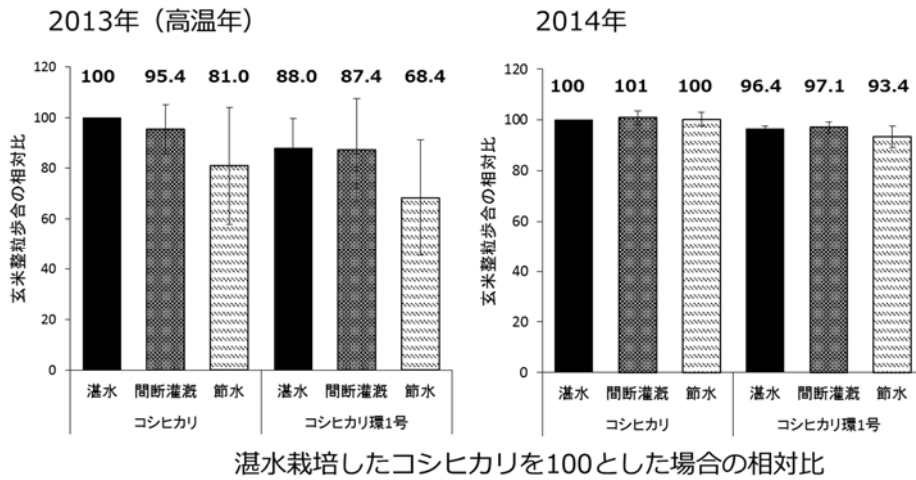


図4 玄米品質（玄米整粒歩合）の比較

カラム上の数字は湛水栽培したコシヒカリの玄米整粒歩合を100とした場合の相対比を示す。

中課題番号	13406604	研究期間	平成25～29年度
小課題番号	120	研究期間	平成25～27年度
中課題名	水稲におけるヒ素のリスクを低減する栽培管理技術の開発		
小課題名	ヒ素集積の異なるイネ品種・変異体の選抜と特性評価		
小課題責任者名・研究機関	石川 覚・農研機構 農業環境変動研究センター		

1) 研究目的

コメのヒ素低減に向けて、ヒ素吸収の少ない水稲品種の開発やヒ素高吸収品種による植物浄化は有効な手段である。これまでに我々の研究グループは、玄米の形態別ヒ素濃度における品種間変異の調査を行い、日本の主要な品種間ではヒ素濃度にほとんど変異がないこと、69品種からなる世界のイネコアコレクション間では総ヒ素濃度で最大3倍程度の差があることを見出した。また、イオンビームをイネ種子に照射して作出した多数のコシヒカリ変異体から、玄米ヒ素濃度が普通コシヒカリの1/2～1/3程度である変異体と逆に3倍程度高い変異体を一次選抜で獲得している。そこで本研究では、これまでのスクリーニングによって選抜されたヒ素集積の異なるイネ品種や候補変異体のヒ素吸収特性と栽培特性を調査し、その実用性を評価すると共に、簡易・迅速にヒ素吸収性の異なるイネ変異体を選抜できるスクリーニング法を構築し、品種開発に資する新たな遺伝資源の獲得を目指すことを目的とする。

2) 研究成果

1. 先のプロジェクト（農林水産省委託プロジェクト研究「生産・流通・加工工程における体系的な危害要因の特性解明とリスク低減技術の開発」）によって一次選抜されたコシヒカリ変異体を農環研圃場において常時湛水栽培し、玄米中の無機ヒ素濃度を測定した（図1）。その結果、A3-7-29, A5-3-29, A3-7-23が低ヒ素候補変異体として選抜された。一方、玄米無機ヒ素濃度が著しく上昇した変異体は圃場試験でも高いことが確認された。
2. 低ヒ素候補変異体の中でA3-7-29とA5-3-29は明らかに弱勢を示した。そこでA3-7-23を低ヒ素変異体の第1候補として、水管理との組み合わせによるヒ素吸収への影響を調査した。コシヒカリやコシヒカリ環1号に比べて、いずれの水管理（湛水、間断灌漑、節水）においてもA3-7-23の玄米ヒ素濃度は有意に低下し、約30%の低減効果が認められた。稲わらのヒ素濃度は約半減した。
3. A3-7-23の生育と玄米収量調査を行った。出穂日、稈長、穂数はコシヒカリやコシヒカリ環1号とほぼ同等であった。稈長は明らかに低く、コシヒカリよりも5～8cm程度短

稈であった。精玄米重に関しては統計上有意ではないが、低い傾向が認められた。この事からA3-7-23はコシヒカリや環1号に比べて、生育や玄米収量が低いことがわかった。

4. イオンビーム照射したコシヒカリ変異体を約3,000個体程度、幼植物を用いた簡易スクリーニング法等を通して新たに選抜し、得られた結果を基に、農環研圃場にて二次選抜を行った。その結果、A3-7-23よりも玄米総ヒ素濃度の低い個体は得られなかったが、コシヒカリよりも統計的に低い3個体（As7-7-17, As3-5-33, As3-10-20）が得られた（図2）。生育調査の結果、As3-5-33は出穂が遅く実用性が低いと思われた。As3-10-20は個体の分離が認められ、今度固定個体を獲得する必要があるが、通常の生育を示した個体はコシヒカリと同等の粒重を示した。As7-7-17は今回選抜した中で最も玄米ヒ素濃度が低かったが、生育はA3-7-23と同様にやや弱勢を示した（表1）。

3) 成果活用における留意点

玄米ヒ素濃度がコシヒカリの約3割減となった変異体の生育や玄米収量はコシヒカリに比べて有意に低く、このままでは実用性がない。コシヒカリへ戻し交雑し、低ヒ素形質が維持されたまま、農業形質がコシヒカリに戻るかどうかの検討が必要である。

4) 今後の課題

1. 低As候補変異体であるA3-7-23をコシヒカリに戻し交配し、低ヒ素でコシヒカリ並の農業形質を持つ系統を作出する。

2. 新たな低As候補変異体の低As性を再確認するとともに、イオンビーム処理以外の変異体ライブラリーを利用して、スクリーニングを行う。

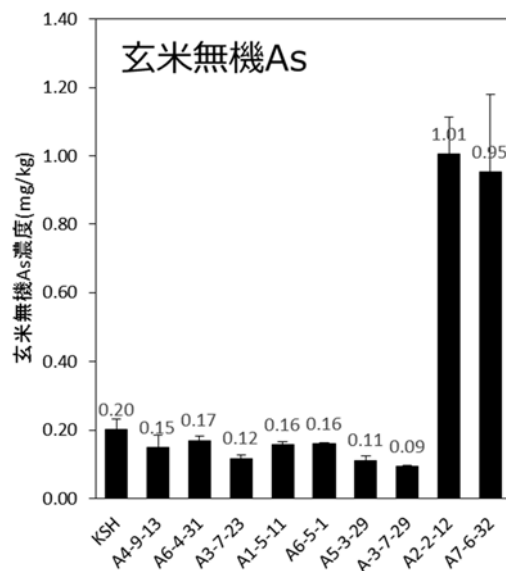


図1 コシヒカリ変異体の玄米無機ヒ素濃度の比較

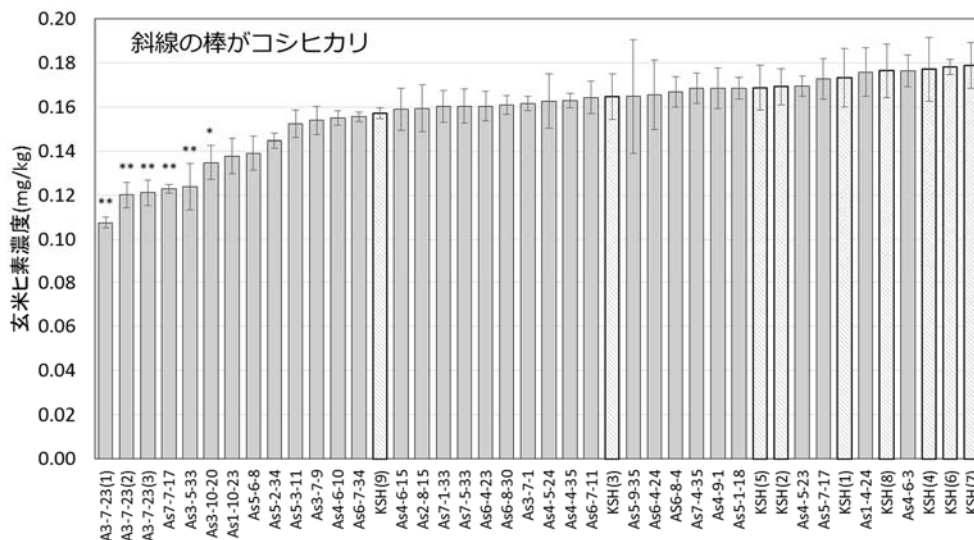


図2 新たにスクリーニングしたコシヒカリ変異体の玄米総ヒ素濃度
KSH(9) (コシヒカリ) の玄米ヒ素濃度を基準にダネット法による有意差検定を実施 (**P<0.01, *P<0.05)

表1 新たな低ヒ素候補変異体の生育概要

品種・系統	出穂日 (月日)	稈長 (cm)	穂長 (cm)	穂数 (本/株)	もみ重 (g/株)
コシヒカリ	8/5	85.4	22.0	9.1	28.59
A3-7-23	8/6	77.3	20.4	8.5	18.46
As7-7-17	8/6	79.3	20.8	8.3	21.50
As3-5-33	8/15以降	91.1	16.8	15.3	19.22
As3-10-20	8/5	81.6	20.6	10.2	29.65

中課題番号	13406604	研究期間	平成25～29年度
小課題番号	210	研究期間	平成25～29年度
中課題名	水稲におけるヒ素のリスクを低減する栽培管理技術の開発		
小課題名	資材施用等による水稲のヒ素低減技術の開発		
小課題責任者名・研究機関	牧野知之・農研機構 農業環境変動研究センター		

1) 研究目的

価格や施用しやすさ、資材施用にともなう反応メカニズム等を考慮しつつ、土壌ヒ素(As)の溶出抑制やイネの吸収低減に有効な資材を鉄資材等の各種資材からバッチ試験やポット栽培等で選抜する。水稲根部のアイロンプラークの形成過程を解析し、ヒ素に対する機能を明らかにする。全国の既存の各種資材連用区で栽培された玄米のAs濃度を測定し、資材連用の影響を明らかにする。

2) 研究成果

1. 土壌ヒ素溶出抑制に適した資材の選定

バッチ試験で10 g乾土相当の土壌および図1に示した廃棄鉄粉などの各種資材0.1 gを培養ビンに秤取し、固液比1:3となるように超純水を加え、窒素パージした後、密栓して混合、30℃暗所で培養した。培養開始後30, 60, 100日目に土壌懸濁液を採取した。懸濁液中の溶存ヒ素をICP-MSで分析した結果、廃棄物由来の鉄粉の一種であるスチールショットやスチールグリッドで高いヒ素溶出抑制効果が明らかとなり、有望資材として選定した(図1)。また、廃棄鉄粉2種(使用後鉄粉: 鋳物製品の砂落としに使用後のスチールショット, 副産鉄粉: スチールショット製造時の副産物)を1t/10aおよび3t/10a相当量供試して湛水3連、間断4連で水稲ポット試験を行い、栽培期間中の土壌溶液中As・Cdおよび玄米As・Cd濃度を測定した。廃棄鉄粉施用により、対照に比べて玄米As濃度は湛水、間断灌漑ともに有意に低下した(図2)。特にスチールショット製造時の副産物である副産鉄粉で高い効果が得られた。両資材ともに施用量を1t/10aから3t/10a相当に増加することで低減率の上昇が認められた。玄米Cdについても間断灌漑栽培で有意な吸収抑制効果がみとめられ、間断灌漑と廃棄鉄粉の組み合わせは水稲のAsとCdの同時低減に有効と考えられる。

2. 水稲のアイロンプラークによるヒ素吸収抑制

ナイロンメッシュ製のライゾバックを利用した水稲ポットに鉄資材(ゼロ価鉄、水酸化鉄)を施用した試験を行い、根部およびメッシュ内側の根域土壌と外側のバルク土壌におけるヒ素および鉄の集積程度を酸性シュウ酸アンモニウム抽出処理やX線吸収スペクトル近傍構造(XANES)で測定した。ライゾボックスを用いた水稲ポット試験では、ポット土壌の酸性シュウ酸アンモニウム抽出Fe(Feo)と同抽出Asの比(As/Feo)は0.9～1.4と資材の施用および種類に関わらず近い値を示した。一方、水稲根部のAs/Feoは無施用区で4.6と鉄

資材区に比べ高い値を示し、アイロンプラークにおけるAs集積、すなわちAsに対するバリア機能が示唆された(表1、図3)。アイロンプラーク中のAsの化学形態は主にAs(III)でヒ素硫化物の生成は認められなかった(表2)。粋試験においても根部のAs化学形態の解析では、As(III)存在比は土壌よりもアイロンプラーク中で高くなる傾向が認められた(データ未掲載)。

3. 各種資材の長期連用が玄米ヒ素濃度に及ぼす影響評価

表3に示した資材を長期連用した全国18地点の資材連用区から経年的(3~5年間)に収集した玄米を用いて、各地点毎に総As濃度と収穫年度を2元配置とした分散分析を行った。その結果、地点1, 2, 4, 6, 8, 9, 10, 12, 15, 18で資材連用における有意な結果が得られた(表4)。ただし、地点1, 9, 10および18では、玄米中のAsとCdのトレードオフ関係が認められ、資材よりも圃場内での水分状態の偏りが玄米As濃度に影響したと推察される(データ未掲載)。一般的に資材連用が玄米As濃度を有意に増加させる現象は認められず、通常の資材施用で玄米As濃度への悪影響はほとんど考慮しなくて良いと考えられる。また、ケイカル連用区では玄米無機Asが低減する傾向が認められ、土づくりを目途としたケイ酸資材の施用量レベルでも連年施用することで、玄米無機As低減が期待できることが示唆された。

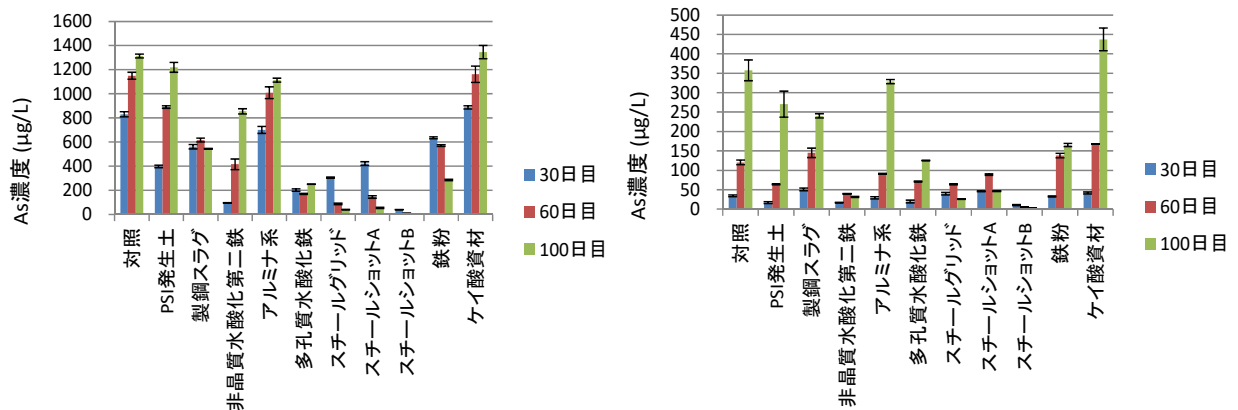


図1 各種資材施用バッチ試験におけるヒ素溶出抑制効果の比較(追加スクリーニング)

左図：SI土壌 (灰色低地土, 1M HCl抽出As=7.51 mg/kg)

右図：A土壌 (灰色低地土, 1M HCl抽出As=8.36 mg/kg)

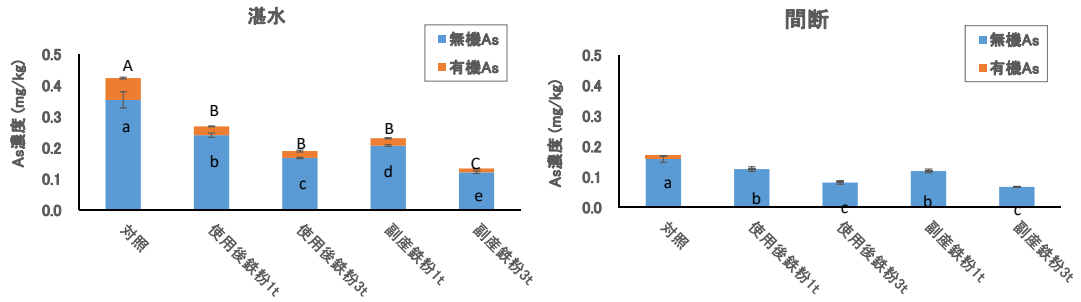


図2 水管理を変えて廃棄鉄粉を施用した水稻ポット試験における玄米中のAsおよびCd濃度

表1 ライズボックス水稻ポット試験における水稻根部の非結晶性鉄(Fe0)およびシュウ酸アンモニウム抽出Asの比較 n=2

処理区	根部			メッシュ内部土壌			メッシュ外側土壌		
	Feo (g kg ⁻¹)	As (mg kg ⁻¹)	As/Feo	Feo (g kg ⁻¹)	As (mg kg ⁻¹)	As/Feo	Feo (mg kg ⁻¹)	As (mg kg ⁻¹)	As/Feo
ゼロ価鉄	110±6.1	132±30	1.2	17.6±0.2	19.6±0.4	1.1	15.4±2.1	19.0±0.8	1.2
水酸化鉄	113±1.5	347±13	3.1	18.1±0.2	16.6±0.0	0.9	14.2±0.6	17.3±1.2	1.2
無施用	96.7±2.9	449±15	4.6	13.3±0.4	16.3±0.8	1.2	11.4±0.2	15.6±0.3	1.4

表2 ライズボックス水稻ポット試験におけるアイロンプラーク中のAsの化学形態比 (XANESによる分析)

	AsV		AsIII	
	存在比	SD	存在比	SD
ゼロ価鉄	0.33 ± 0.05		0.67 ± 0.05	
水酸化鉄	0.38 ± 0.03		0.62 ± 0.03	
無施用	0.23 ± 0.05		0.77 ± 0.05	

*ヒ素硫化物の生成は認められない

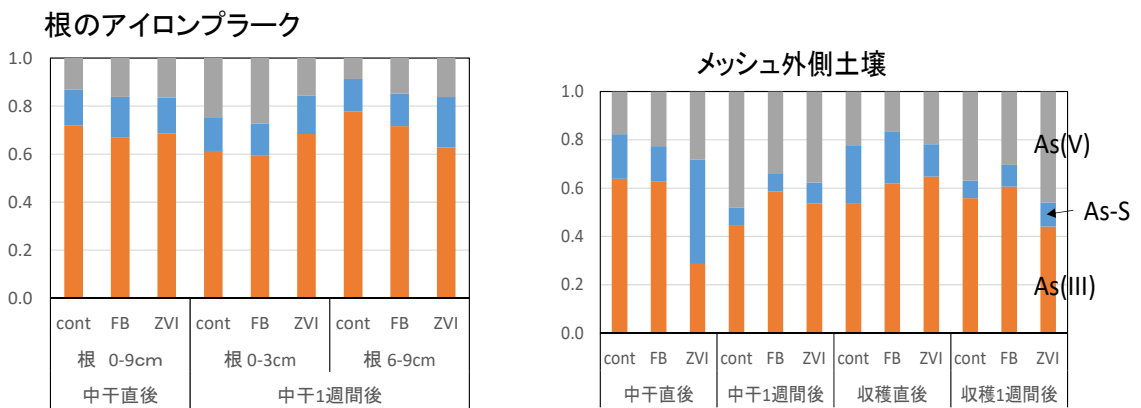


図3 根部 (アイロンプラーク) およびバルク土壌のAs化学形態

表3 長期連用した資材の種類 (18 地点)

1	2	3	4	5	6	7	8	9
化学肥料(溶リン添加)	化学肥料	化学肥料	化学肥料	化学肥料	化学肥料	化学肥料	化学肥料	化学肥料
化学肥料(溶リン無)	無肥料	牛ふん堆肥	稲わら・化学肥料	化肥+わら堆肥1t	木質牛糞3t	木質牛糞	稲わら	稲わら
牛ふん堆肥連用(溶リン添加)	有機肥料	鶏ふん堆肥	稲わら・化学肥料施用	化肥+稲わら	稲わら牛糞0.5t	木質鶏糞	総合改善	稲わら堆肥
牛ふん堆肥連用(溶リン無)	緑肥	豚ふん堆肥	ケイカル	化肥+土改材(ようりん、ケイカル)	稲わら牛糞1.5t	木質豚糞		総合改善
場内の稲わら連用(溶リン添加)			無窒素		無窒素			
場内の稲わら連用(溶リン無)								
無窒素(リン・カリのみ施用)(溶リン添加)								
無窒素(リン・カリのみ施用)(溶リン無)								
10	11	12	13	14	15	16	17	18
化学肥料	化学肥料	化学肥料	化学肥料	化学肥料	化学肥料	化学肥料	化学肥料	化学肥料
稲わら	堆肥1t	堆肥2年おき	牛ふん堆肥	稲わら 化肥無	無カリ	稲わら	ケイカル	稲わら堆肥-化学肥料
籾殻豚ふん	堆肥2t	堆肥5年おき	稲わら堆肥	稲わら 化肥有	無リン酸	堆肥	元氣3兄弟	稲わら堆肥-無カリ
総合改善		堆肥隔年	稲わら牛ふん	豚糞オグズたい肥1t 肥無	稲わら堆肥 1t	無窒素		稲わら堆肥-無リン酸
		堆肥毎年		豚糞オグズたい肥1t 肥有	稲わら堆肥 2t	無肥料		稲わら堆肥-無堆肥
				豚糞オグズたい肥2t 肥無	稲わら堆肥 3t			稲わら堆肥-無窒素
					稲わら堆肥 4t			無堆肥-無カリ

表4 資材連用区の玄米総As濃度について収穫年度と資材を2元配置とする分散分析

地点No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
収穫年度	**	**	**	n.s.	**	**	*	**	**	*	**	**	n.s.	**	**	n.s.	n.s.	**
資材	*	**	n.s.	**	n.s.	**	n.s.	**	**	*	n.s.	**	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.	**
交互作用	-	**	-	n.s.	-	**	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-	n.s.	n.s.	n.s.	**
採取年数	4	3	3	3	3	4	2	3	3	3	3	4	2	3	4	3	3	4

*” および”**”はそれぞれ5%および1%水準で有意, n.s.は5%水準で有意差無し.

3) 成果活用における留意点

資材連用区ではヒ素とカドミウムのトレードオフ効果が認められる事例がある。資材による土壌膨潤や透水性変化などが関係している可能性があり、資材連用効果を判定する際には土壌化学性と物理性を分けて考慮する必要がある。

4) 今後の課題

ケイ酸や鉄資材、有機質資材などの少量継続施用による玄米ヒ素・カドミウム低減効果を各地の連用処理区の土壌特性、現地での土壌溶液モニタリングおよびポット試験等を通じて更に把握するとともに、そのメカニズムを明らかにする必要がある。製鋼スラグやケイ酸資材は多種多様であるので、ヒ素低減効果の更なる解析と土作りやコシヒカリ環1号の生育改善の観点から資材評価を進める必要がある。

中課題番号	13406604	研究期間	平成25～29年度
小課題番号	220	研究期間	平成25～29年度
中課題名	水稲におけるヒ素のリスクを低減する栽培管理技術の開発		
小課題名	水管理を利用したヒ素・カドミウムの同時低減技術の開発		
小課題責任者名・研究機関	加藤英孝・農研機構 農業環境変動研究センター		

1) 研究目的

水田土壌中のヒ素は還元的条件下で可溶化しやすく、酸化的条件下では不溶化するのに対し、カドミウムは酸化的条件下で可溶化しやすく、還元的条件下で不溶化するところから、土壌中の溶存ヒ素濃度とカドミウム濃度はトレードオフ関係にあるとされてきた。しかし、最近の研究により、溶存ヒ素濃度が高いのは気相率が閾値気相率より小さい時に限られること、一方で溶存カドミウム濃度は気相率とともにほぼ直線的に増加すること、そのために、溶存ヒ素・カドミウムがともに低濃度になる気相率が存在することが見出された。これらの関係は、気相率に着目した適切な水管理により、溶存ヒ素・カドミウムを同時に低濃度に抑えることが可能なことを示唆する。本課題では、(i) 類型の異なる水田圃場において湛水・落水などの水管理の違いによる気相率、酸化還元電位 (Eh)、溶存ヒ素およびカドミウム濃度の経時的变化を解明すること、および (ii) 土壌中の溶存ヒ素およびカドミウムを同時に低濃度に保ち、水稲によるヒ素吸収を低減するための気相率に着目した適切な水管理法を明らかにするとともに、その現場適用性を検証することを目的とした。

2) 研究成果

類型の異なる水田圃場において、中干し後の水管理が異なる処理区（出穂前後各3週間湛水区および灌漑間隔の異なる間断灌漑区）の深さ5cmおよび15cmの気相率、Eh、溶存ヒ素およびカドミウム濃度の経時的变化を調査した。研究期間の前半では腐植質グライ低地土 A2401 圃場、細粒質斑鉄型グライ低地土 B2402 圃場、中粒質斑鉄型グライ低地土 C2403 圃場および細粒質普通灰色台地土 D2404 圃場を調査圃場とした。間断灌漑区の灌漑間隔は平成25年度は4～5日、6～7日および8～9日とし、同26年度は6日（3日間湛水・3日間落水）および8日（3日間湛水・5日間落水）、同27年度は7日（3日間湛水・4日間落水）とした。B2402 圃場ではこれらの処理区に加えて、灌漑間隔10日（3日間湛水・7日間落水）の間断灌漑区および無灌漑区をそれぞれ平成26～27年度および平成25～27年度に設けた。研究期間の後半では排水不良 N32011 水田圃場（細粒質表層灰色グライ低地土）および排水過剰 T32012 水田圃場（中粒質灰色化低地水田土）を調査圃場とした。出穂前後各3週間湛水区に加えて、N32011 圃場では間断灌漑3湛4落（3日間湛水・4日間落水）、同3湛7落（3日間湛水・7日間落水）および中干し早期開始の各区を設け、T32012 圃場では間断灌漑

3 湛 4 落、間断灌溉 2 湛 3 落(2 日間湛水・3 日間落水)、中干し短縮(平成 28 年度)および間断灌溉 4 湛 3 落(同 29 年度)の各区を設けた。いずれの圃場においても、各処理区の深さ 5 cm および 15 cm に TDR 土壌水分計および Eh センサーを設置し、体積含水率および気相率の値を土壌ごとに得られた TDR 校正曲線を使って求めた。土壌溶液の採取は埋設したファイバー式土壌溶液採取器を用いて 4 日~10 日前後の間隔で行い、ICP-MS により溶存総ヒ素およびカドミウム濃度を測定した。これらにより、水管理の違いが溶存ヒ素・カドミウム濃度および玄米中無機ヒ素・カドミウム濃度(課題 240 および 320 による)に与える影響を明らかにした。

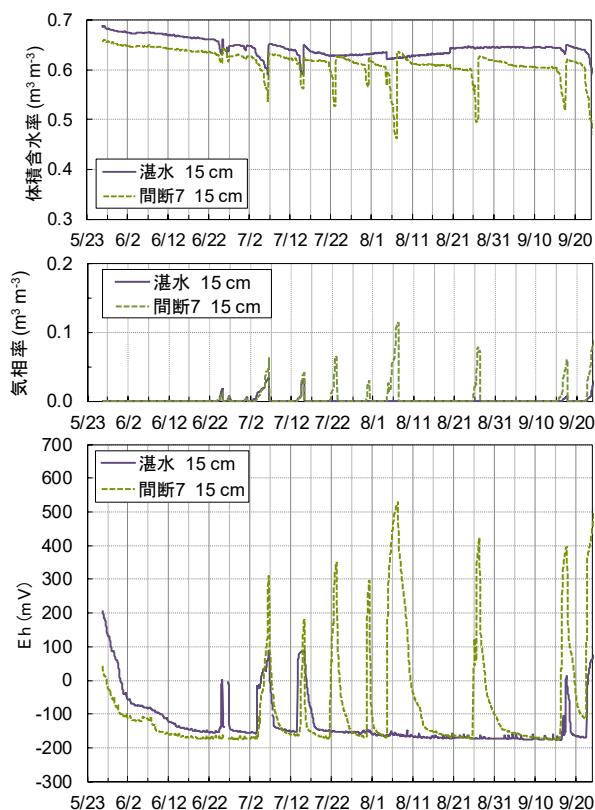


図 1 水管理の異なる処理区における体積含水率、気相率および Eh の経時的变化の例(2015 年 B2402 圃場深さ 15 cm)。中干し(6/19~7/2)および不規則的な間断灌溉の後、7/17~8/26 にかけて湛水区は常時湛水、間断 7 区は灌溉間隔 7 日(3 湛 4 落)の間断灌溉の水管理。

間断灌溉による溶存ヒ素低減効果は灌溉後の落水期間の長さにより大きく異なった。平成 25 年度に設けた灌溉間隔 4~5 日(落水期間 1~2 日)の間断灌溉区では、いずれの圃場においても、深さ 5 cm・15 cm とともに気相率の上昇が認められなかった。同区では間断灌溉期を通じて Eh も -200 mV 前後と低く、湛水区と同様の還元的な状態に保たれ、溶存総ヒ素濃度の継続的な上昇が見られた。これに対し、平成 26 年度に設けた灌溉間隔 6 日(3 湛 3 落)および同 8 日(3 湛 5 落)の間断灌溉区、および平成 27 年度に設けた灌溉間隔 7 日(3 湛 4 落)の間断灌溉区では、間断灌溉期間中の落水後の気相率と Eh の上昇が明瞭に観察された(図 1)。これらの間断灌溉区では、湛水区に比較して、出穂前後各 3 週間の間溶存総ヒ素濃度が顕著に低下した(図 2)。溶存総ヒ素濃度は、概して落水により気相率が 0.05 m³

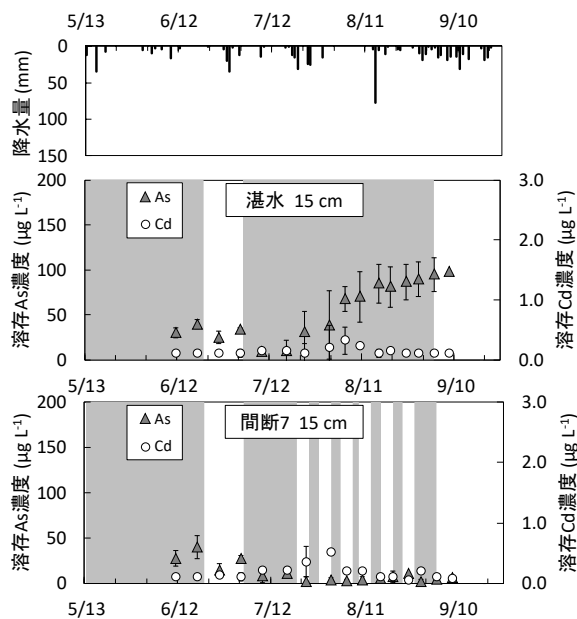


図 2 水管理の異なる処理区における溶存総ヒ素濃度およびカドミウム濃度の推移(2015 年 B2402 圃場深さ 15 cm)。網かけは湛水期間および田面水残存期間。他の試験圃場においても同様の推移が観察された。

m^{-3} に達すると低下し、 $0.10 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$ に達すると再湛水後の上昇が抑制される傾向があった。また、灌漑間隔 6 日 (3 湛 3 落) では落水後に溶存総ヒ素濃度が低下しきれない場合があったのに対し、灌漑間隔 8 日 (3 湛 5 落) では溶存ヒ素は低濃度に抑えられたものの、一部の圃場で溶存カドミウム濃度の上昇が見られた。溶存カドミウム濃度の上昇は気相率が $0.10 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$ を超えると著しかった。灌漑間隔 7 日 (3 湛 4 落) の間断灌漑区では、間断灌漑期間を通じて溶存総ヒ素・カドミウムとも低濃度に保たれた。

間断灌漑期間中の落水による Eh 上昇のピーク値と溶存ヒ素濃度低減効果の関係は試験圃場によって異なり、一定の関係が見出されなかった。Eh 0 mV 以上の継続日数と溶存ヒ素低減効果の関係は試験圃場による違いが比較的小さく、概して、Eh 0 mV 以上の状態が 1~2 日継続すると溶存総ヒ素濃度が低減される傾向があった (図 3)。

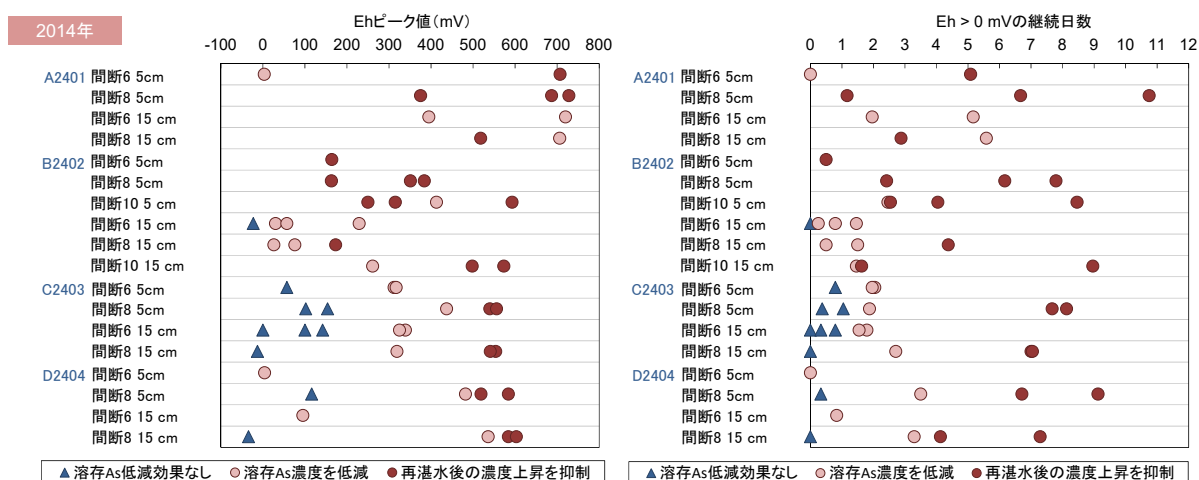


図 3 間断灌漑期の酸化還元電位ピーク値および同 0 mV 以上の継続日数が溶存ヒ素濃度を与える影響 (2014 年度 A2401, B2402, C2403 および D2404 圃場)。

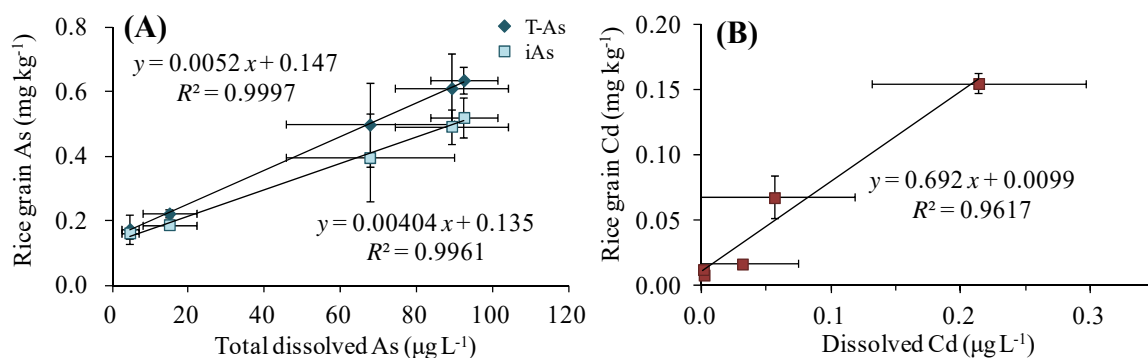


図 4 玄米中ヒ素・カドミウム濃度と溶存総ヒ素・カドミウム濃度の関係 (2013 年 B2402 圃場)。T-As は玄米中総ヒ素濃度、iAs は同無機ヒ素濃度。溶存ヒ素・カドミウム濃度は、水管理の異なる処理区の深さ 15 cm から出穂後 3 週間の 4 採取日に採取した溶液中の濃度の平均値 (Honma et al. 2016. *Environ. Sci. Technol.*, **50**, 4178–4185)。

玄米中ヒ素濃度 (総ヒ素および無機ヒ素) およびカドミウム濃度は、それぞれ出穂後 3 週間の溶存総ヒ素濃度およびカドミウム濃度と直線的関係があった (図 4)。水管理の異なる処理区における玄米中無機ヒ素濃度とカドミウム濃度の関係では、土壌が最も還元的な状態におかれる湛水区から、より酸化的な灌漑間隔の長い間断灌漑区に向かって玄米中無機

ヒ素濃度の低下が見られた（図5）。土壌がさらに酸化的になる灌漑間隔10日（3湛7落）の間断灌漑区や無灌漑区では、年次によっては玄米中カドミウム濃度の上昇が著しかった。灌漑間隔7日（3湛4落）の間断灌漑区では、間断灌漑期間とくに出穂後3週間の溶存総ヒ素・カドミウム濃度が低く抑制されたのを反映して、玄米中の無機ヒ素・カドミウムとも比較的低濃度に抑えられた。

排水不良 N32011 圃場においても、表面排水を徹底することにより、間断灌漑3湛4落、同3湛7落などの水管理に応じた体積含水率・気相率およびEhの経時的变化が明瞭に観察され、溶存総ヒ素濃度は湛水区に比べて著しく低い値に抑えられた。玄米中無機ヒ素濃度も間断灌漑区では湛水区に比べて低減された。同圃場では、中干し期間延長により再湛水後の溶存総ヒ素濃度の上昇も抑えられた。排水過良 T32012 圃場においても、間断灌漑による溶存総ヒ素濃度および玄米中無機ヒ素濃度の低減が見られた。同圃場では、平成28年度は間断灌漑期に入水後もEhが低下しきれず、湛水区<高頻度2湛3落区<間断3湛4落区の順に玄米中カドミウム濃度が高まったが、間断灌漑期の降雨が比較的多かった同29年度は間断灌漑3湛4落区、同4湛3落区、高頻度間断灌漑2湛3落区のいずれにおいても間断灌漑期湛水時にはEhが-200mV前後まで低下し、玄米中カドミウムも比較的低濃度に抑えられた（図6）。

以上から、灌漑間隔7日（3湛4落）の間断灌漑により溶存総ヒ素・カドミウム濃度の上昇が抑制され、玄米中の無機ヒ素・カドミウムとも比較的低濃度に抑えられること、排水不良圃場においても、表面排水を徹底すれば、間断灌漑によりこれと同等のヒ素・カドミウム低減効果が得られることが明らかになった。排水過良水田においても、間断灌漑期の降雨が比較的多い年には、玄米中カドミウム濃度を低濃度に保ったまま溶存ヒ素・玄米中無機ヒ素濃度を低減しうることが明らかになった。

3) 成果活用における留意点

土壌中カドミウム含量が高い圃場では、間断灌漑期の落水後経過日数とともに溶存カドミウム濃度が継続的に上昇する傾向があるので、注意を要する。

4) 今後の課題

出穂前後各3週間に落水を2~3回、4日間連続して落水状態に保つことにより、期間を通じて3湛4落の間断灌漑を行った場合と同等の溶存ヒ素・玄米中無機ヒ素濃度低減効果が得られれば、より実行の容易な水管理法とすることができる。そのためには、落水期間

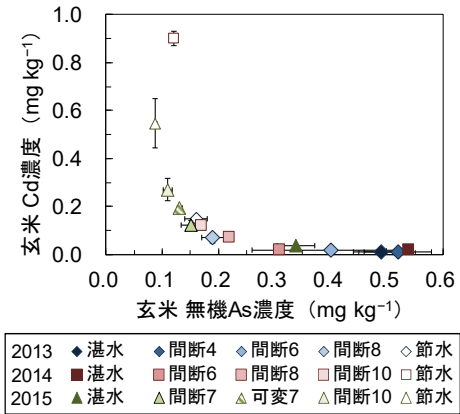


図5 水管理の異なる処理区における玄米中無機ヒ素濃度とカドミウム濃度の関係（B2402圃場）。湛水区、灌漑間隔（4、6、7、8および10日）の異なる間断灌漑区および節水区（中干し後は無灌漑）の比較。可変7は灌漑間隔7日で灌漑時の湛水深を圃場の減水深に合わせて加減。

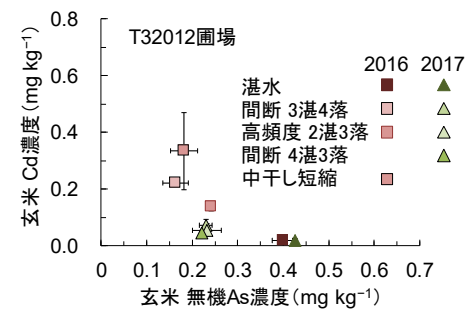


図6 水管理の異なる処理区における玄米中無機ヒ素濃度とカドミウム濃度の関係（T32012圃場）。

中に降雨があった時の灌漑入水のタイミングを決めるための分かりやすい水管理指標を開発し、検証する必要がある。

中課題番号	13406604	研究期間	平成25～29年度
小課題番号	230	研究期間	平成25～27年度
中課題名	水稲におけるヒ素のリスクを低減する栽培管理技術の開発		
小課題名	地下水位制御システムを用いた水管理による玄米中ヒ素・カドミウム同時低減法の開発		
小課題責任者名・研究機関	戸上和樹・農研機構 東北農業研究センター		

1) 研究目的

地下水位制御システムを利用して、イネの出穂期前後の水管理の違いが玄米中のヒ素およびカドミウム濃度に与える影響を解明し、ヒ素・カドミウム濃度の同時低減に最適な水管理法を開発する。

2) 研究成果

グライ低地土の水田圃場（1M 塩酸抽出ヒ素濃度 21.1 mg kg^{-1} 、0.1M 塩酸抽出カドミウム濃度 2.6 mg kg^{-1} ）において、地下水制御システムを使用し水管理を変化させて水稲（ひとめぼれ）の栽培試験を行った。2013年度と2014年度は地下水位制御システムによる排水が不良となったため、2014年度の出穂3週間後過ぎに排水口の改良を施した。2015年度は、中干しを7月2～15日に行った後、中干し1週間延長（水管理1，2区）、出穂2週間後に早期落水（水管理1，3区）、対照として出穂前後3週間湛水（水管理4区）の処理区を設定し、湛水期間が短くカドミウム濃度が高まると予想された水管理1には苦土石灰を施用した区（水管理1 pH区）を設定した。中干し延長の期間に水管理1，2区で高いEhと低い体積含水率が維持されたのに対し、早期落水期間の初期に水管理1，3区で体積含水率の弱い低下が認められた（図1）。このような条件下で玄米中カドミウム濃度は、苦土石灰施用によって低減したことに加え、水管理3区より1，2区で高く、出穂後の早期落水より出穂前の中干し延長により増加することが示唆された（図2）。しかし、早期落水期間の降雨により落水の効果が不十分になったことも原因として考えられるため、今後の検討が必要である。一方、玄米中無機ヒ素濃度は処理区により差は認められなかった（図2）。地下水位が高く還元的なグライ低地土では、落水により酸化的環境をある程度維持しないと玄米中無機ヒ素濃度は低減しないことが明らかになった。

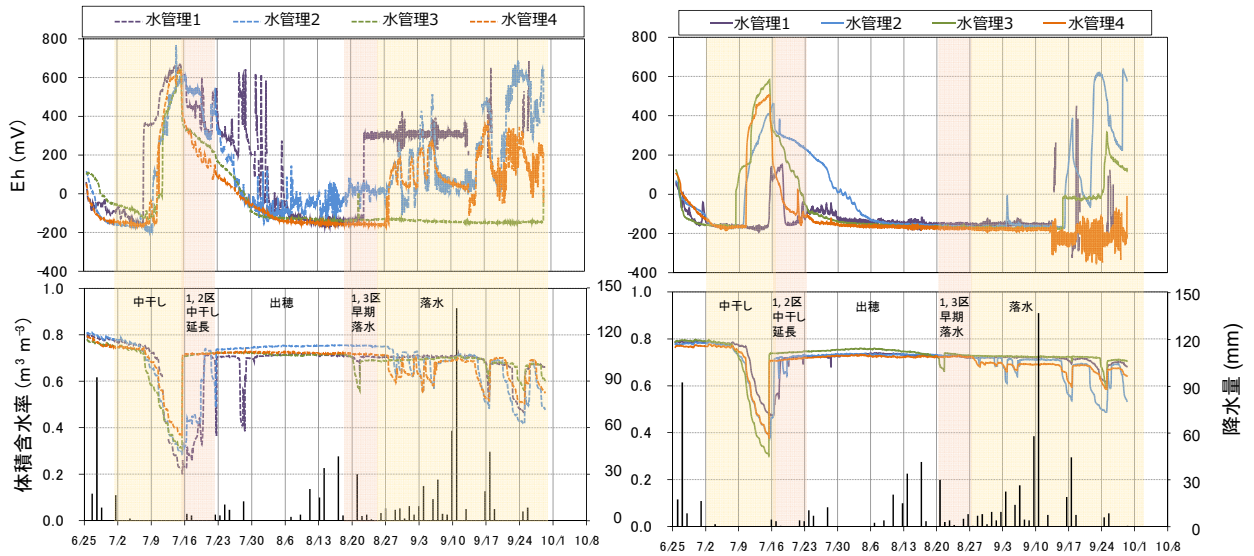


図1 2015年の土壌Ehと体積含水率の推移

左は深さ5 cm、右は深さ15 cm

中干し1週間延長（水管理1, 2区）、出穂2週間後に早期落水（水管理1, 3区）、出穂前後3週間湛水（水管理4区:対照）。

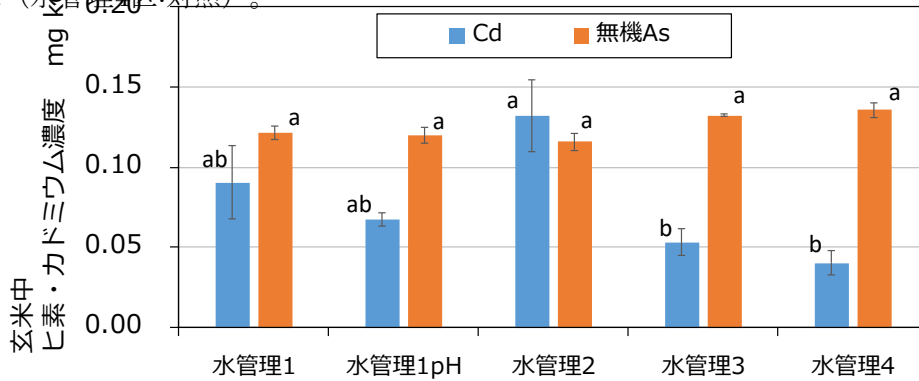


図2 水管理による玄米中ヒ素・カドミウム濃度の変化

中干し1週間延長（水管理1, 2区）、出穂2週間後に早期落水（水管理1, 3区）、出穂前後3週間湛水（水管理4区:対照）。水管理1区は出穂1～2週間前地下水位-15 cmと出穂1～2週間後地下水位-15 cmを追加。水管理1pH区は苦土石灰施用区。

エラーバーは標準偏差 (n = 2)。異なるアルファベットはTukey法により水管理間に有意差あり (p値 < 0.10)。

3) 成果活用における留意点

供試圃場は地下水位が高く、粘土鉱物がスメクタイト主体のため、降雨によって粘土が膨張し、地下水位制御システムを用いても排水不良となって田面が乾燥しない。このような圃場では地下水位制御システムによる水管理はきわめて困難である。

4) 今後の課題

グライ低地土等の排水不良水田において地下水制御システムを用い玄米中ヒ素・カドミウム濃度に対する水管理の効果を検討するためには、暗渠等による排水対策を十分に行う必要がある。

中課題番号	13406604	研究期間	平成25～29年度
小課題番号	240	研究期間	平成25～27年度
中課題名	水稲におけるヒ素のリスクを低減する栽培管理技術の開発		
小課題名	資材等および水管理を用いたヒ素・カドミウムの同時低減を可能にする栽培管理技術の開発		
小課題責任者名・研究機関	牧野知之・農研機構 農業環境変動研究センター		

1) 研究目的

気象条件や土壌条件の異なる地域における現地水田において、異なる水管理および資材施用条件下で、水稲を栽培し、玄米のヒ素(As)を低減できる資材を明らかにする。また土壌の気相率や玄米As/カドミウム(Cd)濃度を基に、玄米AsとCdが同時に低減できる水管理条件を見つけ出す。

2) 研究成果

1. 資材施用

土壌特性および気象条件の異なる6地域の水田圃場において中干し期以降、出穂後3週間3週間前までは湛水を基本とする水管理を行った。圃場には、バッチ試験で土壌Asの溶出抑制効果が認められた3種類の市販鉄資材を、各3反復で施用した。施用量は1 m²当たり、ゼロ価鉄1 kg、水酸化鉄資材1 kg、製鋼スラグ2 kgである。なお、X線回折では、水酸化鉄資材の構造は非結晶性鉄鉱物であるフェリハイドライトに類似した。

白金電極をセンサーとして水田土壌の酸化還元電位をデータロガーで自動計測した。ポータスカップを深さ5 cmおよび15 cmに埋設し、中干し前後、出穂2週間前、出穂期、出穂3週間後に土壌溶液を採取して、AsとCd濃度をICP-MSで測定した。水稲栽培後、玄米と稲わらを酸分解して分解液を得て、無機AsおよびCd濃度をICP-MSで測定した。水稲収量および玄米品質を測定した。

①玄米中のAs、Cd濃度

鉄資材施用により玄米中無機ヒ素濃度は多くの試験地で有意に低下し、その低減率の平均は製鋼スラグ26%、水酸化鉄31%、ゼロ価鉄46%で、特にゼロ価鉄で大幅な低減効果が認められた(図1:施用1年目)。玄米中のCd濃度は最大でも0.02 mg/kgと低く、湛水栽培によるCd吸収抑制が十分に寄与したと考えられる。また、製鋼スラグでは低濃度レベルながらも玄米Cd濃度の低下傾向が認められ、製鋼スラグのアルカリ成分による土壌pH上昇に起因すると推察した。また、玄米無機As低減率は経年的に低下傾向だが、一定の低減効果を3年間持続した(310課題の表1)。

②土壌溶液中のAs濃度と土壌固相におけるAsの化学形態

土壌溶液のAs濃度は、製鋼スラグ、水酸化鉄、ゼロ価鉄施用の順に低下し、土壌溶液濃度と玄米のヒ素濃度には相関が認められた(図2)。すなわち鉄資材による土壌溶液中ヒ素濃度の低下が水稲によるヒ素吸収抑制の一要因と思われる。一方、製鋼スラグ施用は土壌

溶液中のAs低減効果は小さいにも関わらず、玄米中のAs濃度は水酸化鉄施用に近い程度まで低減した。製鋼スラグは水稻の亜ヒ酸（As(III)）吸収と拮抗関係にあるケイ酸を含み、この成分が玄米Asの低減に寄与した可能性がある。

③水稻収量および整粒比

玄米収量、稲わら重および整粒粒比に関して、資材施用に伴う有意な悪影響は認められず、ゼロ価鉄施用ではむしろ整粒粒比が高まった。

以上より、水稻栽培において、出穂前後湛水管理と鉄資材施用を併用することで、収量や品質に悪影響を与えずに、玄米中の無機ヒ素とカドミウムの同時低減が可能であることが明らかとなった。

2. 水管理

気象条件や土壌種類の異なる4つの水田圃場で、中干し後の水管理を出穂前後各3週間湛水区、灌漑間隔の異なる間断灌漑区（2013：灌漑間隔5日=3日湛水/2日落水、7日=3湛/4落、9日=3湛/6落。2014：間隔6日=3湛/3落、8=3湛/5落）に設定した水稻栽培試験を行った。間断灌漑7日（3湛4落）について、十分な量を灌漑+自然落水後3日後に田面水排除区（間断7）と圃場の減水深に応じて灌漑水量を加減+自然落水後3日後に田面水排除区（可変7）とした。作土深5 cmと15 cmにTDR土壌水分計とEhセンサーを設置し、同深に設置したファイバー式土壌溶液採取器により7日前後の間隔で溶液を採取し、溶存As・Cd濃度をICP-MSで測定した。

玄米中でも無機As濃度が高い試料ではCd濃度が低く、逆にCd濃度が高い試料では無機As濃度が低くなる傾向が認められた。また、落水期間が短いほど無機As濃度が高く、落水期間の増加に伴ってCd濃度が上昇する傾向を示した（表2）。その中で、湛水3日落水4日の間断灌漑を行った間断7と可変7では玄米中の無機As濃度とCd濃度がともに比較的低濃度に抑制可能であった。玄米収量は資材、水管理ともに処理間で有意差は無いが、整粒比は2014年の水管理・間断8日（3日湛水5日落水）で湛水に比べて有意に低下したが、間断・可変7では有意差がなかった（表2）。これらの結果から、溶存AsとCd濃度を同時低減し、玄米中無機AsとCd濃度を同時低減するために有効な水管理は湛水3日落水4日行う間断灌漑であることが明らかとなった。

なお、玄米中無機ヒ素の濃度レベルと鉄資材施用による低減率には正の相関があり、玄米中無機ヒ素濃度が0.08 mg/kg以下（地点F）では、低減効果はほとんど認められなかった。

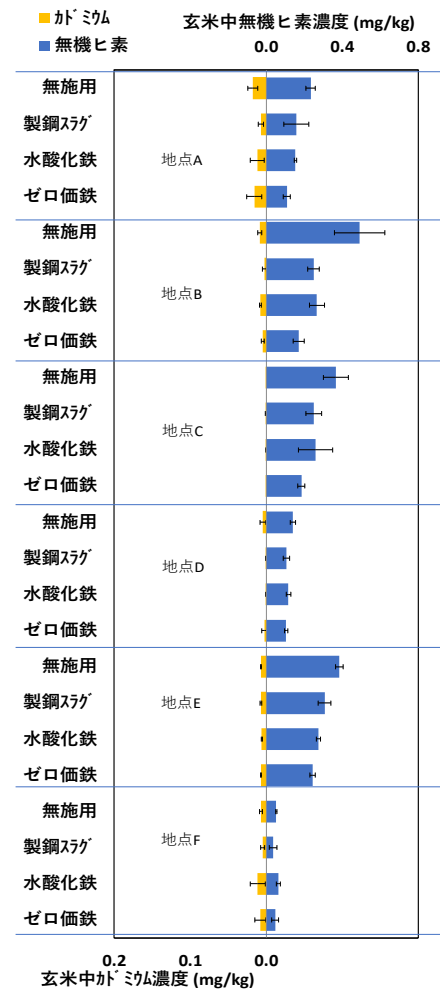


図1 資材施用が玄米中無機ヒ素およびカドミウム濃度に及ぼす影響（n=3、地点Eはn=2、エラーバーは標準偏差、地点と資材の二元配置分散分析において、鉄資材施用で玄米中無機ヒ素濃度は有意に低下、玄米水分率15%換算）

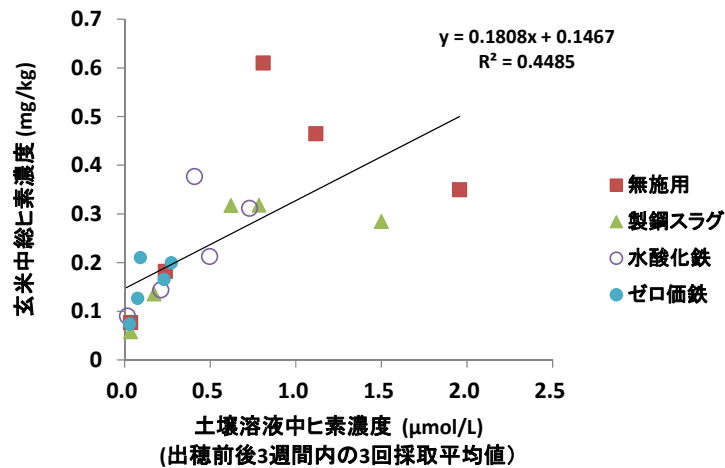


図2 土壌溶液中ヒ素濃度と玄米中総ヒ素濃度の関係

表1 資材施用が水稻収量および品質におよぼす影響

地点	玄米収量 (g/m ²)	稲わら重 (g/m ²)	整粒粒比 (%)
A	516 a	594 a	86.1 a
B	576 b	602 a	67.5 b
C	652 c	644 ab	63.2 c
D	484 a	450 c	76.3 d
E	528 ab	697 b	48.8 e
F	572 b	521 d	71.9 f
資材			
無施用	563 a	574 ab	70.0 a
製鋼スラグ	571 a	591 a	69.9 a
水酸化鉄	556 a	571 ab	72.8 ab
ゼロ価鉄	542 a	546 b	73.2 b
分散分析			
地点	**	**	**
資材	NS	NS	**

(資材の数値は地点A～Fの平均値。異符号間は5%水準、**は1%水準で有意差有り、NSは5%水準で有意差無し)

表2 各水管理における玄米無機As, Cd, 収量, 整粒比

年度	処理	無機As (mg/kg)	Cd (mg/kg)	玄米収量 (kg/10a)	整粒比
2013	湛水	0.319 ab	0.018 a	568 a	68.9 a
	間断5	0.337 a	0.025 a	570 a	70.0 a
	間断7	0.273 b	0.024 a	572 a	69.8 a
	間断9	0.208 c	0.039 d	560 a	68.1 a
2014	湛水	0.226 a	0.077 a	490 a	78.0 a
	間断6	0.154 b	0.109 a	491 a	75.5 ab
	間断8	0.114 c	0.164 b	484 a	73.2 b
2015	湛水	0.248 a	0.047 a	515 a	75.3 a
	間断7	0.133 b	0.101 b	531 a	74.8 a
	間断可変7	0.119 b	0.132 c	507 a	74.3 a

3) 成果活用における留意点

施用後の飛散を防止するため資材は耕うん直前に圃場に直接施用する。玄米中無機ヒ素の濃度が高くない圃場での効果は小さい。

4) 今後の課題

最適水管理条件（3湛4落）を広域的に検証し、玄米As・Cd同時低減効果および生育への影響評価を行う必要がある。品種・水管理・資材を組み合わせた同時低減技術を検討する。資材施用継続効果を引き続き検証する必要がある。ゼロ価鉄資材は玄米ヒ素低減効果が高いものの、高価格のため、同様の特性を持つ安価な代替資材が望ましい。

中課題番号	13406604	研究期間	平成25～29年度
小課題番号	310	研究期間	平成28～29年度
中課題名	水稲におけるヒ素のリスクを低減する栽培管理技術の開発		
小課題名	品種・資材・水管理の組み合わせによるヒ素・カドミウムの同時低減を可能にする栽培管理技術の開発		
小課題責任者名・研究機関	牧野知之・農研機構 農業環境変動研究センター		

1) 研究目的

気象条件や土壌条件の異なる地域の水田において、品種、資材、水管理の併用効果が水稲のヒ素（As）・カドミウム（Cd）濃度、収量や品質へ及ぼす影響を検証し、AsとCdを同時低減できる最適な栽培管理条件を明らかにする。資材の持続性および新規資材の玄米As低減効果を明らかにする。

2) 研究成果

①水管理と資材施用の併用

気象要因や土壌類型の異なる6地点の水田圃場（グライ低地土、黒ボク土、灰色台地土、低地水田土、および灰色低地土）において、水管理（湛水および中干以降3日間湛水4日間落水の繰り返しを基本とした間断灌漑）と資材施用（製鋼スラグ20 t/haおよび廃棄鉄粉10 t/ha）を併用して地域適合品種の栽培試験を行い、玄米の無機As濃度、Cd濃度、精玄米重、整粒粒比を測定した。

全地点の玄米無機As濃度の平均値は湛水>>湛水+製鋼スラグ>湛水+廃棄鉄粉>間断>>間断+製鋼スラグの順に低下した（図1）。湛水区と湛水+鉄資材（製鋼スラグまたは廃棄鉄粉）併用区の間には有意差が認められ、廃棄鉄粉施用ではゼロ価鉄と同様の難溶性ヒ素硫化物の生成、製鋼スラグ施用では水稲の垂ヒ酸吸収において拮抗作用のあるケイ酸が玄米無機ヒ素低減に寄与したと推察される。一方、間断灌漑+製鋼スラグ併用区では間断灌漑に比べて玄米無機Asの更なる低減が得られるとともに、間断灌漑による玄米Cd濃度上昇に対する抑制効果も認められた（図1）。玄米無機AsおよびCdの同時低減に対する間断灌漑と製鋼スラグの併用効果が明らかとなった（図1）。製鋼スラグに含有するアルカリ分が土壌pHを高めることで土壌中Cdの溶出を抑制し、玄米Cd濃度の低減に寄与したと考えられる。間断灌漑でやや低下した玄米収量は、統計的に有意ではないが製鋼スラグの施用で増加する傾向が認められた（図1）。整粒粒比に有意な差は認められなかった。

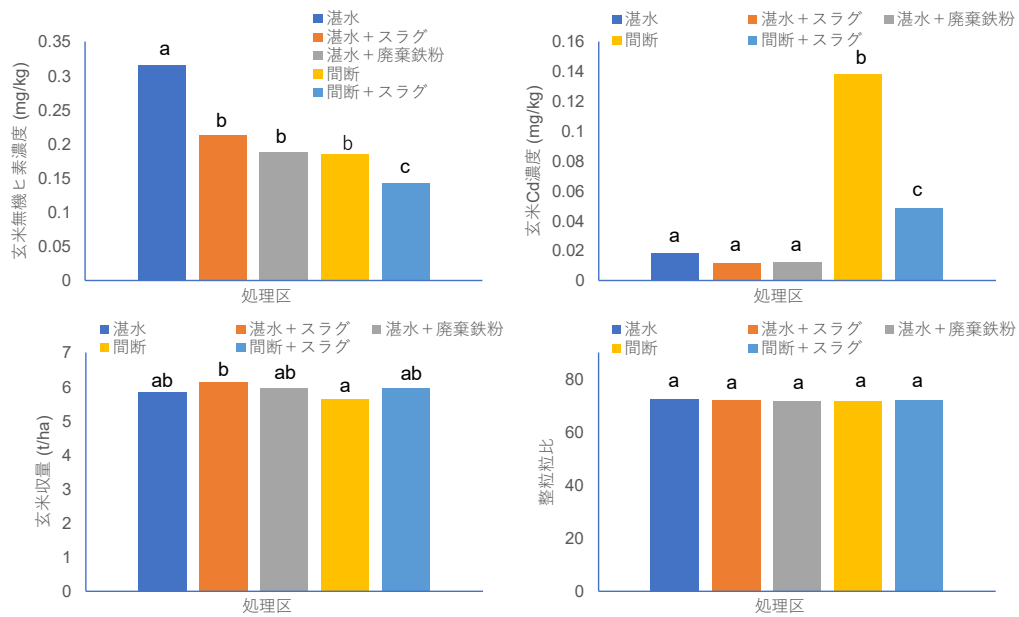


図1 水管理と資材の併用における玄米中無機As、同Cd濃度、玄米収量および整粒粒比 (地点数=6) (2016年)

②品種、資材、水管理の併用効果

気象要因や土壌類型の異なる4地点の水田圃場（グライ低地土、低地水田土、黒ボク土）において、コシヒカリ環1号、鉄資材（製鋼スラグ20 t/ha）および間断灌漑を併用した栽培試験を行い、玄米の無機As濃度、Cd濃度、玄米収量、整粒粒比を測定した。

間断灌漑とコシヒカリ環1号の組み合わせで、湛水管理やコシヒカリと比較して玄米AsとCdの同時低減が可能であった（図2）。間断灌漑に伴い、やや低下がみられたコシヒカリ環1号の玄米収量および整粒粒比は製鋼スラグの施用で回復する傾向が認められ、製鋼スラグがコシヒカリ環1号の生育に寄与する可能性が示唆された。2016年は、統計的に有意ではないが、間断灌漑で玄米収量がやや低下する傾向を示したが、2017年では影響が認められなかった。

なお、玄米中無機ヒ素の濃度レベルと鉄資材施用による低減率には正の相関があり、玄米中無機ヒ素濃度が0.08 mg/kg以下では、低減効果はほとんど認められなかった。

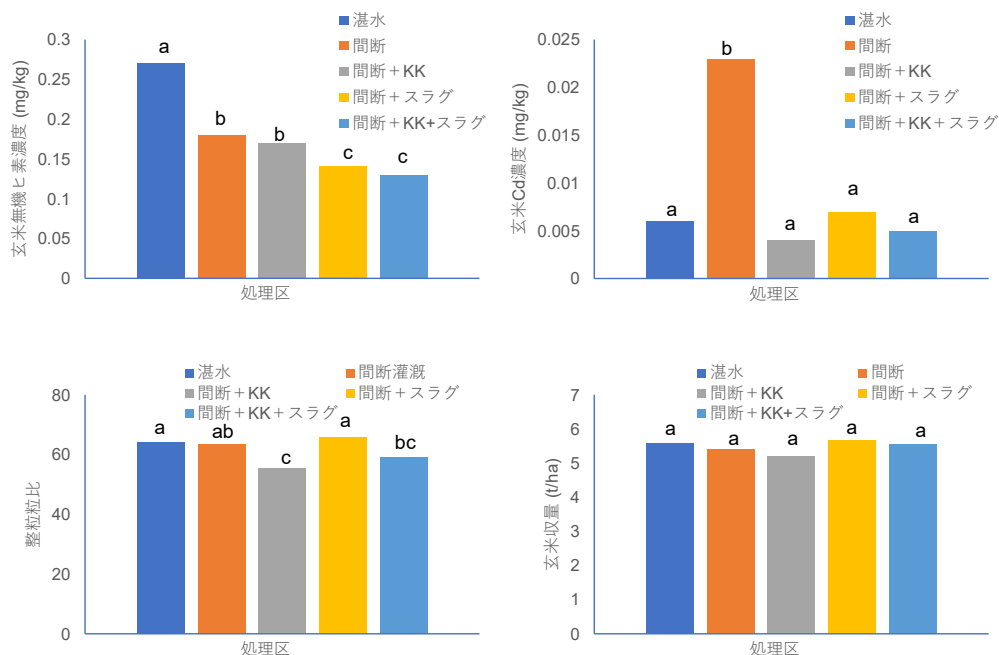


図2 品種（コシヒカリ環1号=KK）、資材、水管理併用試験における玄米中無機As濃度、同Cd濃度、玄米収量および整粒粒比（地点数=4）（2016年）

③資材の持続性

課題240に記載した各種鉄資材施用湛水区で水稻栽培を継続し、資材無施用湛水区に対する玄米無機As低減効果の持続性を評価した。施用後5年目でも無施用に比べて玄米無機Asが有意に低下し、一定の低減効果は維持された（表1）。ただし、低減率は経年的には低下傾向にあり、さらに持続性を検討する必要がある。

表1 鉄資材多量投入による玄米中ヒ素低減効果の持続性
（無施用湛水区に対する玄米無機As低減率(%)の経年変化）

鉄資材		2013	2014	2015	2016	2017
製鋼スラグ	平均	22.6	24.1	20.6	20.0	16.4
	最大	49.3	39.9	32.8	28.1	20.5
	最小	-3.6	7.56	10.8	13.7	11.6
水酸化鉄	平均	30.5	24.7	17.2	16.4	14.1
	最大	45.9	40.5	26.6	21.1	22.3
	最小	18.9	6.2	8.3	10.5	2.3
ゼロ価鉄	平均	44.1	29.2	18.1	16.3	11.6
	最大	65.2	48.3	28.5	29.7	17.0
	最小	13.8	5.2	5.2	4.8	6.3

④As低吸収品種の栽培特性

気象要因や土壌タイプの異なる4地点の水田圃場（グライ低地土、低地水田土、灰色低地土）においてAs低吸収コシヒカリ（農業環境変動研究センター提供、コシヒカリ変異体）を湛水および間断灌漑で栽培し、玄米無機As濃度及び栽培特性をコシヒカリと比較した。

湛水区のAs低吸収コシヒカリの玄米無機As濃度は同区の通常コシヒカリに比べて有意に低下し、現地試験でAs低減特性が確認された（データ未掲載）。間断灌漑区では有意差が認められず、通常コシヒカリの無機As濃度が低かったためと推察した。収量に関してはAs

低吸収コシヒカリと通常コシヒカリで同程度の地点とAs低吸収コシヒカリで低減する地点とがあった。全体的に玄米千粒重はAs低吸収コシヒカリで低めとなるが、玄米収量が同程度だった地点（図3の白丸）では、コシヒカリに比べてAs低吸収コシヒカリで一穂粒数が高めに出る傾向が認められ、粒数増加で収量が確保されたと考えられる（図3）。収量、稈長、千粒重、ワラ重はAs低吸収コシで有意に低下したが、整粒粒比、穂数、一穂粒数には有意差が認められなかった（図3）。

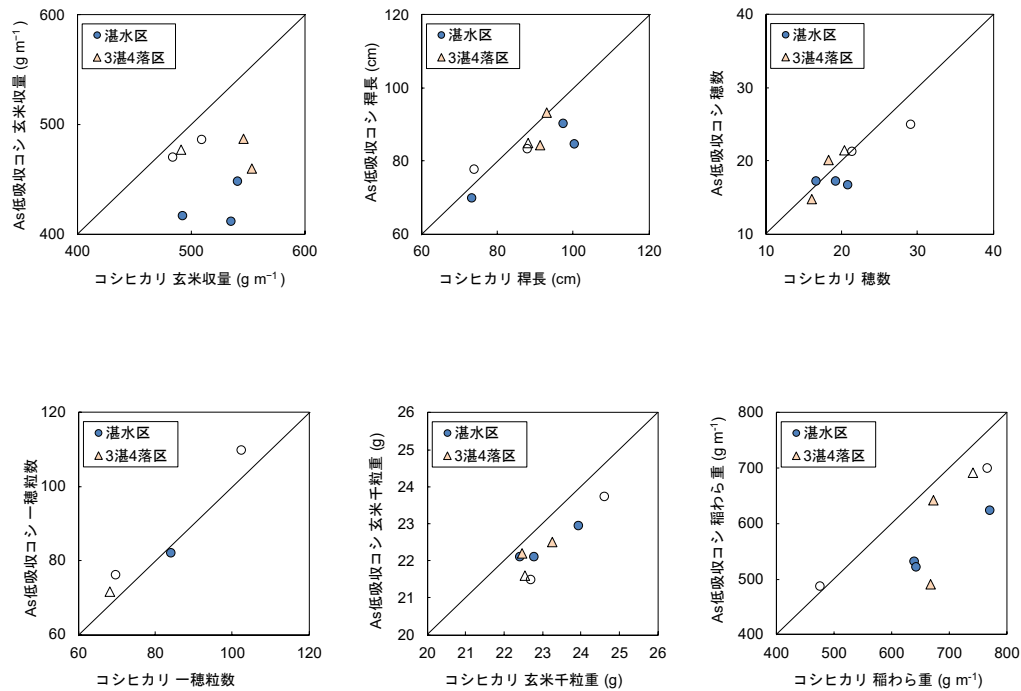


図3 コシヒカリと低As吸収性コシヒカリにおける玄米収量、稈長、穂数、一穂粒数および千粒重の比較（白抜きはコシヒカリと低As吸収性コシヒカリの玄米収量が同程度だった地点）（地点数=4）（2017年）

以上の結果より、気象条件や土壌条件の異なる地域の水田において、玄米無機AsおよびCdの同時低減に対する間断灌漑と鉄資材の併用効果を明示した。間断灌漑、鉄資材およびコシヒカリ環1号の組み合わせでは、間断灌漑がコシヒカリ環1号の生育・品質に及ぼす影響を明らかにするとともに、製鋼スラグによる改善効果を明らかにした。

3) 成果活用における留意点

施用後の飛散を防止するため、資材は耕うん直前に圃場に直接施用する。

4) 今後の課題

コシヒカリ環1号を始めとした現在育成中の低Cd品種の様々な地域における現地適合性の解析と、資材施用を含めた栽培・肥培管理の最適化を更に進める必要がある。鉄資材の効果持続性と少量継続施用の効果検証を要する。

中課題番号	13406604	研究期間	平成25～29年度
小課題番号	320	研究期間	平成28～29年度
中課題名	水稲におけるヒ素のリスクを低減する栽培管理技術の開発		
小課題名	水管理によるヒ素・カドミウムの同時低減を可能にする栽培管理技術の高度化		
小課題責任者名・研究機関	加藤英孝・農研機構 農業環境変動研究センター		

1) 研究目的

気象条件や土壌条件の異なる地域の水田において出穂前後の水管理が水稲のヒ素・カドミウム濃度、収量および品質に及ぼす影響を検証し、水管理による玄米ヒ素・カドミウム濃度の同時低減を可能にするための栽培技術の高度化を図る。

2) 研究成果

気象条件や土壌条件の異なる10か所の水田圃場(寒地、寒冷地、関東、日本海側寒冷地、温暖地および暖地；造成台地土、黒ボク土、灰色低地土、グライ低地土およびグライ台地土)および排水不良水田圃場・排水過良水田圃場において、出穂前後各3週間の水管理処理区として、湛水区および間断灌漑3湛4落区(灌漑間隔7日)を設けた栽培試験を行い、水管理が水稲のヒ素・カドミウム濃度、収量および品質に及ぼす影響を調査した。一部の試験圃場では、上記2つの処理区に加えて、間断灌漑3湛7落区(灌漑間隔10日)その他の圃場の排水特性に応じた処理区も設けた。

これらの圃場において、間断灌漑期に定期的に深さ10cm(排水不良・過良圃場では深さ5cmおよび15cm)の土壌溶液中の溶存総ヒ素・カドミウム濃度および酸化還元電位(Eh)を測定した。また、間断灌漑期の落水後の経過日数による作土内水位(穴あき塩ビパイプ内の水位)と気相率(TDR水分計を用いた体積含水率測定による推定)の変化を調査した。生育・収量調査を行い、玄米中の総ヒ素・カドミウム濃度および形態別ヒ素濃度の分析、および玄米品質の調査を行った。

試験圃場の多くにおいて、間断灌漑期には落水後経過日数に応じた体積含水率およびEhの変化が明瞭に観察された(図1および図2)。体積含水率の変化から推定した間断3湛4落区の落水4日後(間断灌漑入水直前)の気相率は、降雨がない場合、 $0.06\sim 0.12\text{ m}^3\text{ m}^{-3}$ 前後まで上昇し、Ehは100～600mVに達するが多かったが(湛水区では-150mV～-200mV前後でほぼ一定)、落水後の降雨のために気相率が $0.02\sim 0.03\text{ m}^3\text{ m}^{-3}$ 前後で、Eh上昇が0mV付近までまたはそれ以下にとどまった試験圃場もあった。間断灌漑期の作土内水位は、降雨がない場合、落水2～3日後に作土耕盤境界(深さ15cm前後)まで低下する試験圃場と低下が緩慢な圃場があった。いずれの場合も、作土内水位は降雨に鋭敏に反応し、気相率ともよい対応を示すことが多かった。

湛水区の土壤溶液中の溶存総ヒ素濃度は試験圃場によって大きく異なったが、多くの試験圃場では間断灌溉3湛4落区の濃度は湛水区に比べて著しく低下した(図1および図2)。一部の Eh 上昇が認められなかった圃場では、湛水区と間断3湛4落区の溶存総ヒ素濃度の違いは見られないか、またはわずかであった。多くの試験圃場では、溶存総ヒ素濃度が高かったのは Eh が $-70\text{ mV}\sim 0\text{ mV}$ 以下、気相率 $0.05\text{ m}^3\text{ m}^{-3}$ 以下の場合に限られた。溶存カドミウム濃度は湛水区に比べて間断灌溉区でやや高い傾向があった(データ省略)。

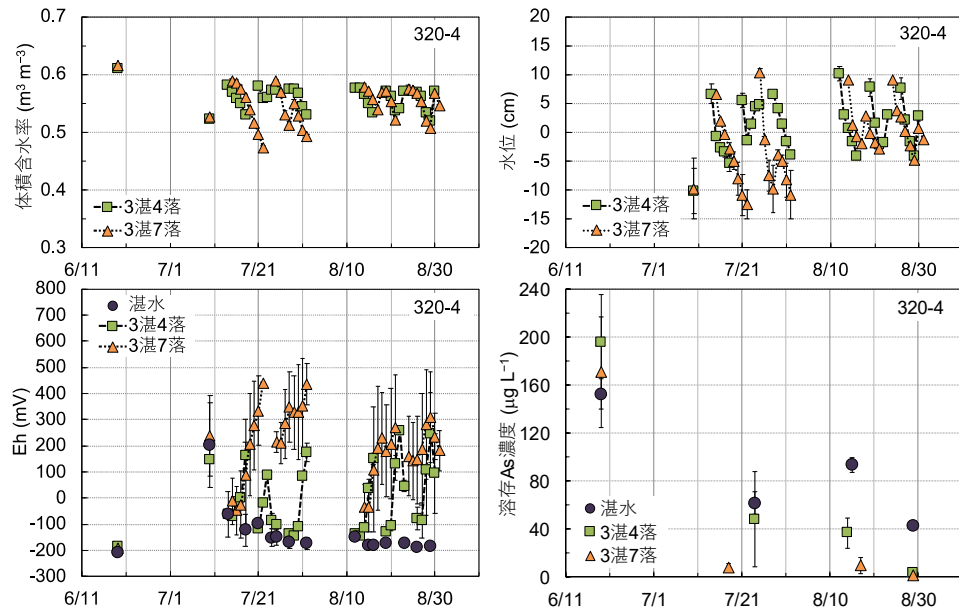


図1 水管理の異なる処理区における土壤の体積含水率, Eh, 作土内水位および溶存総ヒ素濃度の推移 (2017年度 J32004 細粒質還元型グライ土圃場). 間断灌溉期間は3湛4落区では7/11~8/30, 3湛7落区では7/12~8/31.

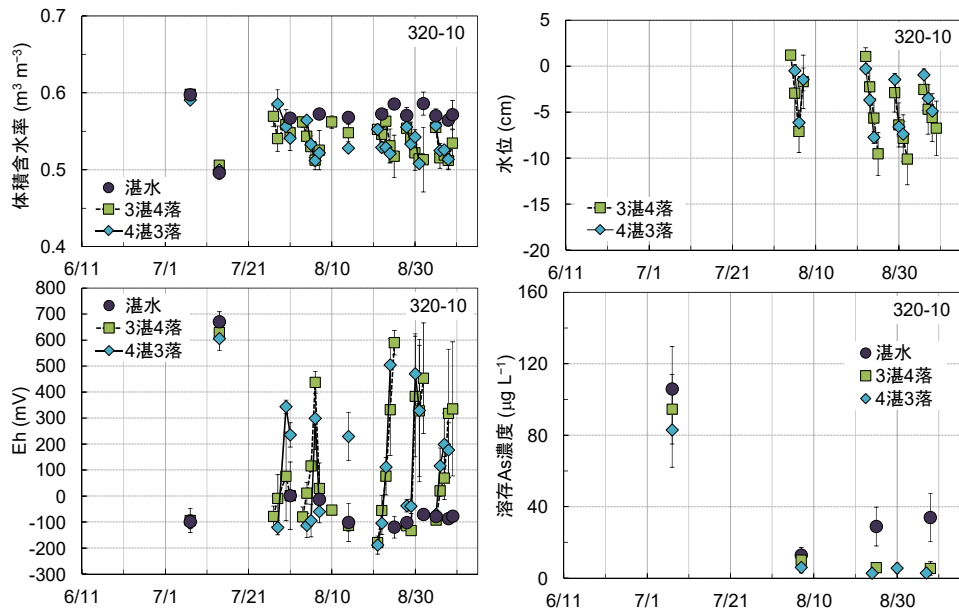


図2 水管理の異なる処理区における土壤の体積含水率, Eh, 作土内水位および溶存総ヒ素濃度の推移 (2017年度 S32010 灰色化低地水田土圃場). 間断灌溉期間は3湛4落区, 4湛3落区ともに7/24~9/14.

総ヒ素と無機ヒ素を分析すると、玄米中ヒ素は大部分が無機ヒ素であった。本課題およ

び課題 320 の計 21 地点の結果では、平成 28 年度・同 29 年度とも、間断 3 湛 4 落区では湛水区に比べて玄米中無機ヒ素濃度が有意に低下した（図 3 および表 1）。間断灌溉による低減効果は湛水区の玄米中無機ヒ素濃度が高い（およそ 0.2 mg kg^{-1} 以上）試験圃場で大きい傾向があり、湛水区の濃度が低い場合には低減効果が認められない場合もあった。また、平成 28 年度・同 29 年度とも、湛水区では玄米中無機ヒ素濃度と出穂後 3 週間の土壤溶液中溶存総ヒ素濃度の間には正の直線関係があった（図 4）。間断 3 湛 4 落区の玄米中カドミウム濃度は湛水区に比べて有意に高かった。精玄米重・整粒粒比には試験地の多くで水管理による差が認められなかった。平成 28 年度は一部の圃場で間断 3 湛 4 落区では湛水区に比べて両者が劣っていたが、平成 29 年度は水管理による有意な差は認められなかった。

以上から、一部のコメ中カドミウム濃度が高くなりやすい圃場を除けば、灌溉間隔 7 日（3 日湛水・4 日落水）の間断灌溉を行うことにより、玄米収量・品質を低下させることなく、玄米ヒ素・カドミウムを同時に低濃度に抑えられることが明らかになった。

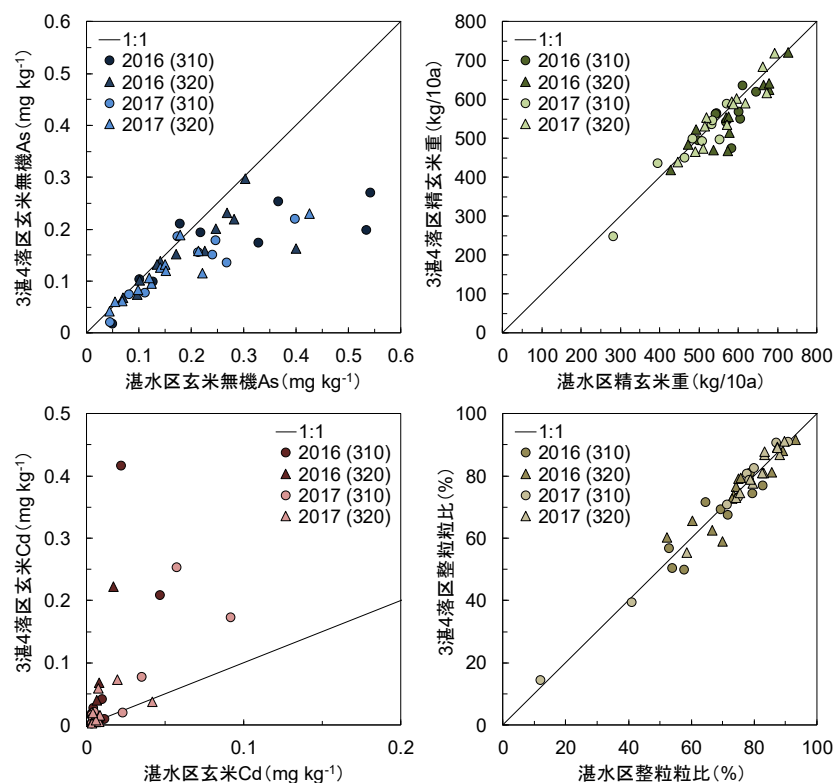


図 3 出穂前後各 3 週間湛水区と間断灌溉 3 湛 4 落区の玄米中無機ヒ素・カドミウム濃度、精玄米重および整粒粒比の比較。課題 310 および 320 の計 21 試験地の平成 28 年度および 29 年度の結果。記号一つが 1 試験地の結果を表す。

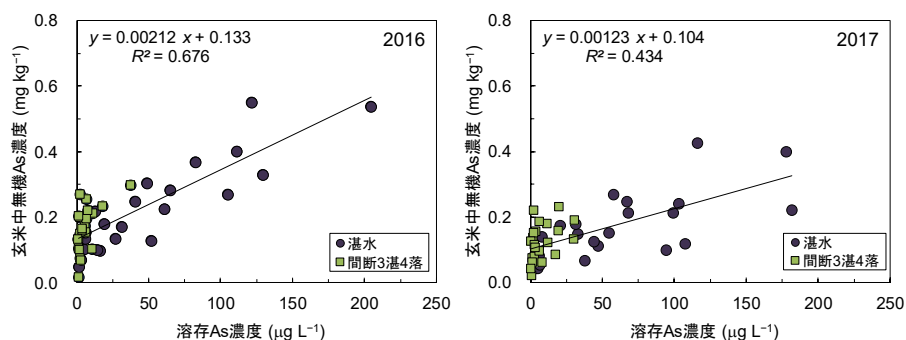


図4 湛水区および間断3湛4落区における玄米中無機ヒ素濃度と出穂後3週間の平均溶存ヒ素濃度の関係。課題310および320の計21試験地の結果。

表1 出穂前後各3週間の水管理の違いが玄米中無機ヒ素・カドミウム濃度、精玄米重および整粒粒比に与える影響（平均値±標準偏差）。課題310および320の計21試験地の平成29年度の結果。

	玄米中無機As濃度 mg kg ⁻¹	玄米中Cd濃度 mg kg ⁻¹	精玄米重 kg (10a) ⁻¹	整粒粒比 %
湛水区	0.174 ± 0.104	0.026 ± 0.050	536 ± 93	75.7 ± 18.0
間断灌溉区	0.125 ± 0.059	0.048 ± 0.074	531 ± 98	76.0 ± 18.4
分散分析	***	**	n.s.	n.s.

および*はそれぞれ1%および0.1%水準で有意、n.s.は5%水準で有意でないことを示す。

3) 成果活用における留意点

間断灌溉3湛4落の水管理だけでは玄米中カドミウムを低濃度に抑えきれない圃場が存在する。

4) 今後の課題

入水・落水日程の固定した間断灌溉では落水期の降雨のために圃場が十分に乾かない場合がある。落水期間中に降雨があった時の灌溉入水のタイミングを決めるための分かりやすい水管理指標とともに、降雨に対応可能で容易に実行できる水管理法を開発する必要がある。

中課題番号	13406604	研究期間	平成25～29年度
小課題番号	410	研究期間	平成25～29年度
中課題名	水稲におけるヒ素のリスクを低減する栽培管理技術の開発		
小課題名	土壌特性を用いた玄米ヒ素予測技術の開発		
小課題責任者名・研究機関	村上政治・農研機構 農業環境変動研究センター		

1) 研究目的

国際食品規格（コーデックス規格）の策定などを行っているコーデックス委員会が、玄米無機ヒ素濃度に関する最大基準値を定めたことから、玄米無機ヒ素の低減対策技術の開発は急務となっている。コメ中無機ヒ素の低減対策の実施にあたっては、まず、基準値を超過する圃場の主な要因を明らかにし、ヒ素汚染リスクの高い地点をゾーニングによって把握する必要がある。ヒ素、玄米、土壌に関するこれまでの報告によると、玄米収量に関しては、土壌ヒ素濃度との間に高い負の相関関係が認められたため、土壌ヒ素濃度から玄米の減収程度を予測することは可能であるとされており、農用地土壌汚染防止法のヒ素の判断基準として土壌ヒ素濃度が採用されている。しかし、玄米無機ヒ素濃度と土壌ヒ素濃度に関する報告は、圃場数が少ない、玄米ヒ素濃度がコーデックスの最大基準値を大きく下回っている、水管理が不明、相関関係が低い等、玄米無機ヒ素の基準値対策として採用するには不十分なものであった。一方、玄米無機ヒ素濃度に影響を与える土壌以外の要因としては、水管理のほかに気象条件との相関が高いという報告がでてきた。そこで、本課題では、土壌のみならず気象条件をも考慮することで、ヒ素汚染リスクマップのゾーニング用に適する玄米のヒ素濃度予測式を開発することを目的とする。

2) 研究成果

1. 玄米無機ヒ素濃度の予測

「生産・流通・加工工程における体系的な 危害要因の特性解明とリスク管理技術の開発」プロジェクトでは、ポット栽培した土壌と玄米のサンプルセットを用いた解析を行ったが、温室で栽培することから気象条件を考慮することができない。そこで、本課題では、現地圃場（189点）で栽培した玄米と土壌のサンプルセットを用いて、玄米のヒ素濃度予測式を作成した。土壌は、1圃場につき2～5地点から水稲栽培前に採取（採取地点数は試験区の規模による）し、風乾、篩別（2mm）後、分析に供した。玄米は、栽培前土壌を採取した地点付近から稲体を採取し、風乾、もみすり、篩別（1.85mm）、重量測定後、粉碎し分析に供した。土壌のヒ素等元素濃度はICP発光分光光度計で、玄米の無機ヒ素濃度はHPLC-ICP-MSで測定した。玄米ヒ素濃度に影響を及ぼす栽培時の水管理特性は、出穂前後3週間にわたり7～10日に1回のペースで測定した酸化還元電位（Eh300mV）を基準として、湛

水区（121点）と間断区（68点）に分け、解析用のサンプルセットとした。玄米無機ヒ素濃度を目的変数、現地圃場の土壌（pH、トルオーグリン酸（TrP）、酸性シュウ酸塩抽出のアルミニウム（Al）、ヒ素（As）、カドミウム、銅、鉄（Fe）、カリウム、マンガン（Mn）、リン、鉛、硫黄、ケイ素、チタン、亜鉛（Zn））および気象特性値（日平均・最低・最高気温の出穂前後3週間・出穂後1~4週間の平均値）を説明変数として、重回帰分析（ステップワイズ法）を行った。予測式は、多重共線性の判断基準である分散拡大係数（VIF）>10に該当しないもののうち、決定係数（R²）ができる限り大きいものを選抜した。

湛水区

選抜した予測式は、玄米ヒ素濃度=-0.4+0.02（日平均気温の出穂後1~3週の平均値）+0.002Mn-0.0001AsMn-0.002Mn/As+0.05As/TrP+48As/(Al+1/2Fe)、VIF≤6、R²=0.7であった。縦軸を玄米無機ヒ素濃度実測値、横軸を玄米無機ヒ素濃度予測値としてサンプルをプロットした図において、縦軸の0.35 mg kg⁻¹（玄米無機ヒ素濃度国際基準値）に横線をひき、その横線が95%予測区間の上限と交差する地点に縦線をひいて4つの区画に分けると、右上と左下が正しく判別できた真陽性と真陰性、左上と右下が正しく判別できなかった偽陰性と偽陽性になる。この図から、正しく判別できなかったのは16%（偽陽性16%、偽陰性0%）で、残り84%は正しく判別することができた（図1左）。

間断区

選抜した予測式は、玄米ヒ素濃度=-0.4+0.02（日平均気温の出穂後2~3週の平均値）+0.0002Mn-0.0003Mn/As-0.002Zn/As-0.00001(Al+1/2Fe)/As、VIF<3、R²=0.7であった。上記と同様に4区画に分けると、正しく判別できなかったのは2%（偽陽性2%、偽陰性0%）で、残りの98%は正しく判別することができた（図1右）。

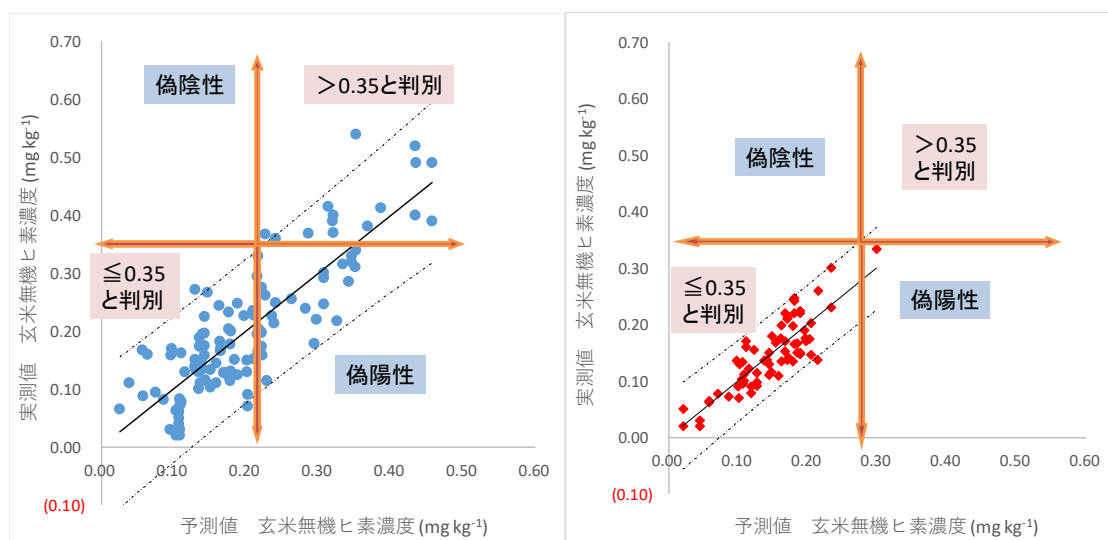


図1 玄米無機ヒ素濃度予測値（横軸）と実測値（縦軸）との関係（左：湛水区、右：間断区）。点線は95%予測区間を示す。

2. 酸化還元電位（Eh）に替わる簡易測定法の検討

水管理特性は栽培期間中の酸化還元電位（Eh）を基準としたが、電極を含めた測定機器が高価であることなどから、一般の農家で日常的に使用するのには現実的でなく、適用範囲に限られる。そこで、Ehに替わる簡易測定法を検討した。Ehの代替候補として、田面水位

(土壌表面からの推移を定規で測定；4年間)、土壌硬度(山中式土壌硬度計；1年間)、体積含水率(スタンドアロン土壌水分計(Hydrosense)、1年間)、鉄棒のサビ具合(2年間)を測定した。鉄棒(直径5mm、長さ55cm)は、土壌表面に対し垂直に挿入した。鉄棒のサビ具合は、サビが全く無：0、サビがやや有り：0.5、サビがほぼ全面に有を1として数値化した(図2)。測定期間は出穂前後3週間、測定間隔は7~10日間隔とした。その結果、出穂後におけるEhとの相関係数は、鉄棒サビが最も高く、ついで田面水位であった。ただし、田面水位に関しては、年によっては相関係数が大きくばらつく場合があったため、単独ではなく両者を併用することが妥当と思われた(表1)。

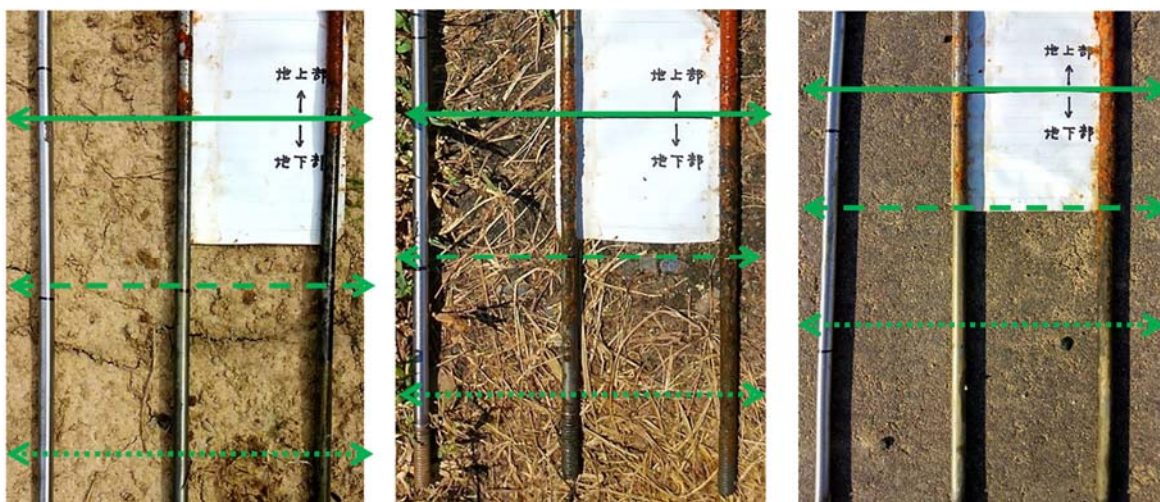


図2鉄棒のサビ具合

実線：土壌表面、長点線：土壌5cm深、短点線：：土壌10 cm深

左：サビ無で0、中央：サビやや有りで0.5、右：サビ有で1 (0~5cm深において)。

表1出穂後におけるEh (5 cm深) と田面水位土壌硬度、体積含水率、鉄棒サビとの相関係数

	H26	H27	H28	H29
田面水深	-0.7~-0.9	-0.7~-0.8	-0.1~-0.9	-0.8~-0.9
土壌硬度			+0.8~+0.9	
体積含水率				-0.2~+0.8
鉄棒サビ			+0.8~+0.9	+0.8~+0.9

空欄は測定せず。

3) 成果活用における留意点

湛水区予測式では、外れ値に近い値が検出されており、外れ値の扱いについての検討や、外れ値が出ないような予測式の選抜を再検討する必要がある。

Ehの簡易測定法の候補の一つである鉄棒サビは2年間のみしか実施していないため、さらに複数年での検証が必要である。また、鉄棒のサビ具合は、土壌から引き抜いた後、すぐに汚れを落とし、直後にサビ具合を判断する必要があることと、測定者によって判断基準

が異なってしまうため、判断の根拠となる色の基準を作成する必要がある。

4) 今後の課題

様々な土壌及び気象特性をもつ現地圃場における全国レベルでの適合性の検証。
鉄棒のサビ具合の色基準の作成。

中課題番号	13406604	研究期間	平成25～29年度
小課題番号	420	研究期間	平成25～29年度
中課題名	水稲におけるヒ素のリスクを低減する栽培管理技術の開発		
小課題名	玄米のヒ素濃度早期予測法の開発		
小課題責任者名・研究機関	赤羽幾子、牧野知之、加藤英孝、中村乾・ 農研機構 農業環境変動研究センター 荒尾知人・農研機構 中央農業研究センター		

1) 研究目的

本研究は、異なる水管理および気温等で栽培された水稲のヒ素吸収パターンを把握し、栽培途中の茎葉の総ヒ素濃度等から当該年の玄米無機ヒ素濃度を予報する早期予測法を開発する。

2) 研究成果

2013年、2014年に細部課題番号240-2の圃場の作土を用いて異なる栽培法（水管理（5水準）×気温（2水準）、それぞれ3反復）で実施した水稲ポット栽培試験の結果、玄米無機ヒ素濃度と相関の高かった部位は、出穂期の止葉（ $r=0.948^{**}$ 、**は1%水準で有意であることを示す、以下同）、穂（ $r=0.964^{**}$ ）、登熟期（出穂後3週）の葉身（ $r=0.883^{**}$ ）、葉鞘+稈（ $r=0.935^{**}$ ）、止葉（ $r=0.924^{**}$ ）、穂（ $r=0.897^{**}$ ）、収穫期の稲わら（ $r=0.929^{**}$ ）、籾殻（ $r=0.952^{**}$ ）の総ヒ素濃度であった。これらは、当該年の玄米無機ヒ素濃度を予測する部位になり得る可能性が高いと考えられた。圃場での稲体採取の作業性を考慮し、予測に用いる部位として、出穂期、登熟期の止葉および穂を選出した。ポット栽培試験で得られた出穂期、登熟期の止葉および穂の総ヒ素濃度から玄米無機ヒ素濃度を予測する式のプロトタイプ（単回帰式）を4つ作成した。

2015年には、細部課題番号240-1、240-2、240-3、240-4の水管理試験圃場から出穂期および登熟期に稲体（地上部）を1～2株採取し、止葉と穂の試料を得た。止葉および穂の総ヒ素濃度とプロトタイプの予測式を用いて得られた玄米無機ヒ素濃度の予測値は、当該年の玄米無機ヒ素濃度の実測値よりも高くなる傾向がみられた。そこで、2015年に得られた水管理試験圃場の止葉と穂のデータを用いて、予測式（単回帰式）を改良した。

2016年においては、小課題300番の10圃場から採取した止葉、穂の総ヒ素濃度と改良型予測式を用いて、玄米無機ヒ素濃度の予測値を算出し、実測値と比較した。概ね実測値に近い値が得られたが、出穂期においては、玄米無機ヒ素濃度の実測値が 0.3 mg kg^{-1} 以上のサンプルにおいて、予測値がばらつく傾向がみられた。これは、玄米へのヒ素蓄積が出穂期から登熟期の水管理や気象に影響を受けるためと考えられた。

2017年は、採取する部位を止葉に絞り、圃場と採取頻度を拡充して、出穂期～登熟期の止葉総ヒ素濃度から推定される玄米無機ヒ素濃度の予測値の妥当性を検証した。出穂期（出

穂日±2日、n = 75、予測式： $y = 0.022x + 0.115$ （yは玄米無機ヒ素濃度の予測値、xは止葉の総ヒ素濃度、以下同）、出穂後5日（出穂日から5±2日後、n = 47、予測式： $y = 0.022x + 0.073$ ）、出穂後10日（出穂日から10±2日後、n = 68、予測式： $y = 0.016x + 0.100$ ）、登熟期（出穂後3週、出穂日から21±2日後、n = 43、予測式： $y = 0.012x + 0.076$ ）の止葉総ヒ素濃度と玄米無機ヒ素濃度のrから、出穂後5日以降の止葉を用いることでより精度の良い予測が可能になると考えられた（図）。

3) 成果活用における留意点

玄米へのヒ素蓄積は出穂期から登熟期の水管理および気象に影響を受けるため、出穂期に得られる玄米無機ヒ素濃度の予測値と実測値の関係には年次変動が生じると考えられる。

4) 今後の課題

生育途中の茎葉の総ヒ素濃度から玄米無機ヒ素濃度を精度良く予測するためには、年次（気象等）の影響を考慮する必要がある。複数年の現地データをフィードバックし、予測式を作成する。

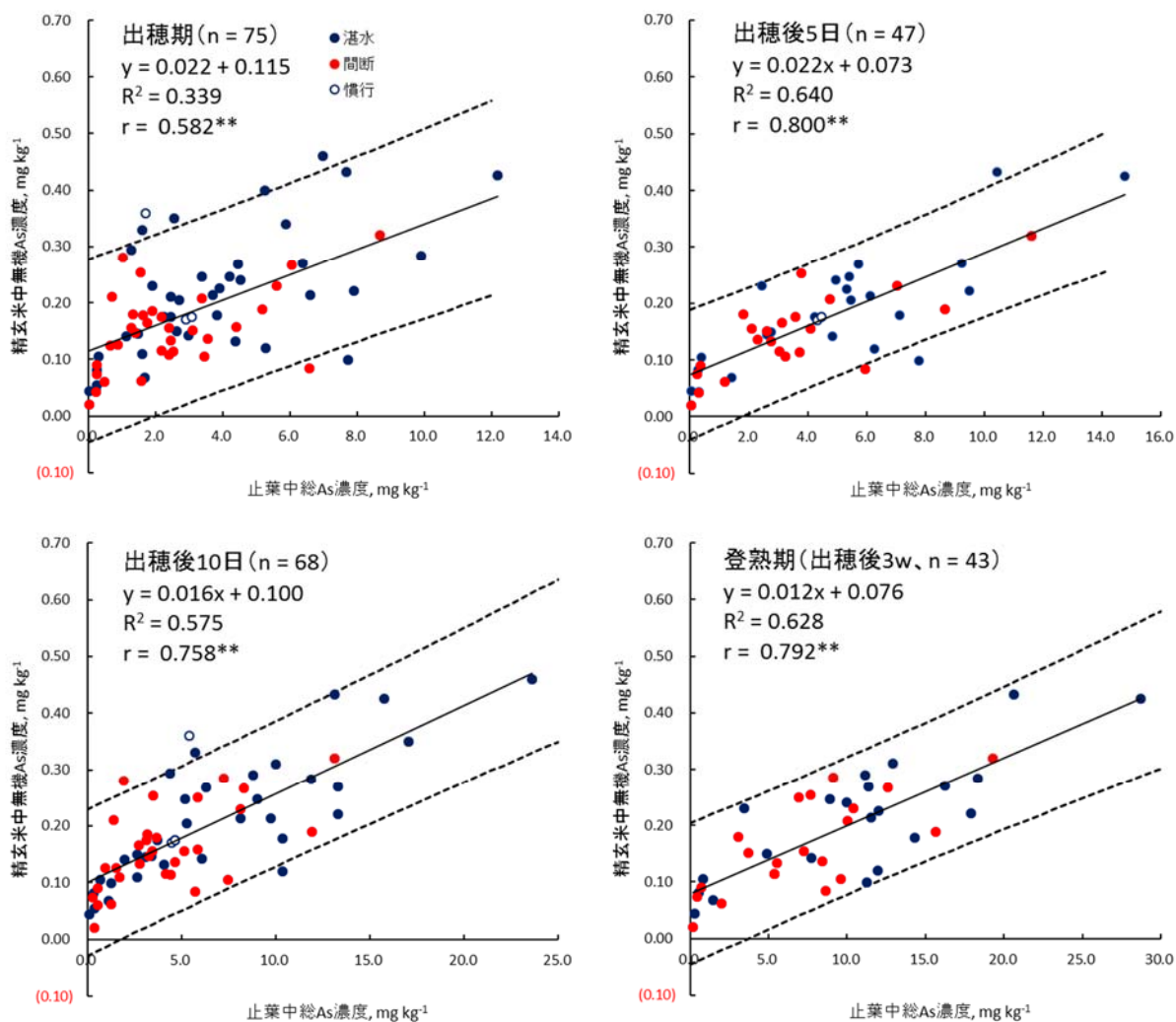


図. 止葉の総ヒ素濃度(乾物重あたり)と玄米無機ヒ素濃度との相関関係(H29 水管理試験圃場、出穂期：出穂日±2日、出穂後5日：出穂日から5±2日後、出穂後10日：出穂日から10±2日後、登熟期(出穂後3週)：出穂日から21±2日後、**は1%水準で有意であることを示す、実線は回帰直線、破線は95%予測区間)

中課題番号	13406604	研究期間	平成25～29年度
小課題番号	430	研究期間	平成25～27年度
中課題名	水稲におけるヒ素のリスクを低減する栽培管理技術の開発		
小課題名	コメのヒ素濃度事前予測に適した土壌サンプリング法の開発		
小課題責任者名・研究機関	松本真悟・島根大学		

1) 研究目的

コメのヒ素濃度事前予測に適した土壌サンプリング法(統計的に妥当なサンプリング点数)を確立するとともに、イネのヒ素吸収反応に影響を及ぼす要因として、土壌の1M塩酸抽出ヒ素濃度、可給態リン酸、遊離酸化鉄および可給態ケイ酸等との関連を検証し、生産現場で活用可能なヒ素汚染リスク予測のための土壌サンプリング法を確立することを目的とする。

2) 研究成果

- (1) 一筆の水田の1M塩酸抽出ヒ素濃度の代表値の決定において、95%信頼区間の推定を行う場合、母分散が不明であるため、その推定値を得る必要がある。そこで、本試験においては、一筆の圃場を縦横4mメッシュで分割し、その交点から土壌試料を採取して分析を行った。供試したO市の00圃場(18a)、N5圃場(19a)、N6圃場(14a)、M市のH1圃場(17a)、H2圃場(25a)の各年度の採取サンプル数はそれぞれ90、96、64、75、135点であり、これらのサンプルから得られた分散を各圃場の母分散と仮定して区間推定を行った。また、分析値は正規分布すると考えられるため、その95%確率は $-1.96 \leq (\bar{X} - \mu) / (\sigma / \sqrt{n}) \leq 1.96$ であり、 $\bar{X} - \mu$ は $\pm 1.96 \cdot (\sigma / \sqrt{n})$ の推定誤差を持つ。本試験においてサンプル数nにおける推定誤差を危険率 t_a 値(t分布において自由度に対応するt値)を用いて $\pm t_a \cdot (\sigma / \sqrt{n})$ とし、平均値の信頼区間ならびに必要なサンプル数との関係を明らかにした。
- (2) 平成25年度に調査したO市の00圃場、N5圃場、N6圃場における1M塩酸抽出ヒ素濃度の平均値はそれぞれ、7.71、9.36および8.46 mgkg⁻¹であり、変動係数は15%程度であった(表1)。M市のH1圃場の1M塩酸抽出ヒ素濃度および変動係数はいずれもO市の3圃場より低く、それぞれ1.07mgkg⁻¹、11.9%であった(表1)。
- (3) 各圃場の1M塩酸抽出ヒ素濃度の95%信頼区間推定値を求めた場合、圃場全体の平均に対する推定誤差の割合が5%以内となるようなサンプル数は、全サンプル数の32～59%と算出された(表2)。
- (4) 圃場の対角線を等分割した地点の64 m²から採取したサンプルを用いて信頼区間を推定した場合、いずれの圃場においても、同数の採取数では、無作為採取する場合よりも、対角線で採取する方法により区間推定する方が全体平均に対する推定誤差の割合が小さくなる傾向が認められた(図1)。対角線5点法だと、95%信頼区間の幅は比較的ヒ素濃

度の高いO市の圃場では全体平均±10～16%程度、比較的ヒ素濃度の低いM市のH1圃場では全体平均±4%程度に収まる結果となった。

(5) 1M塩酸抽出ヒ素濃度の年次変動

平成25年度～平成27年度の3カ年の土壤中の1M塩酸抽出ヒ素濃度の年次間の変動係数はO0圃場、N5圃場、N6圃場ではそれぞれ1.8、2.6、5.6%で年次変動は小さかった(表3、表4)。H1圃場の2年間のデータでも年次間の変動係数は1.2%と小さかったがH2圃場では18.6%とやや高くなった。これは2年間のデータしかないことおよび低濃度で分散が比較的大きかったためと推察される。

(6) 1M塩酸抽出ヒ素濃度と玄米総ヒ素濃度の圃場内変動の対応

O0圃場は表3でも示したように土壤の1M塩酸抽出ヒ素濃度の圃場内変動が大きく、いずれの調査年次においても極端に低い地点と高い地点が同じ地点に認められた(図2)。玄米総ヒ素濃度の最高値は土壤の1M塩酸抽出ヒ素濃度の最高値と同一地点付近で観察され、両者は比較的よく対応していた。またN5圃場およびN6圃場も土壤の1M塩酸抽出ヒ素濃度と玄米総ヒ素濃度の変動はよく対応しており、両者ともに圃場中央の水平方向に比較的低い値が観察され、水尻付近で高くなる傾向が認められた(図3、図4)。さらに、H1およびH2圃場においても両者の変動はよく一致しており、圃場中央付近から水平方向に低い値を示し、水尻付近で高い値が観察された(図5、図6)。以上の結果は土壤の1M塩酸抽出ヒ素濃度と玄米総ヒ素濃度の圃場内変動は、圃場整備などによる土壤の攪乱や汚染形態だけではなく、圃場内の水の移動による土壤の乾湿にも影響されているのではないかと考えられた。

(7) 1M塩酸抽出ヒ素濃度と玄米総ヒ素濃度の相関関係

すべての地点のデータがそろっている平成26年度の結果から土壤の1M塩酸抽出ヒ素濃度と玄米ヒ素濃度の相関関係を解析したところ、S圃場を除く5圃場では有意な正の相関が認められたが、H1、H2圃場は他の圃場に比べて1M塩酸抽出ヒ素濃度がかなり低いため、これらの値に引っ張られた結果とも考えられ、1M塩酸抽出ヒ素濃度が3～6 mgkg⁻¹程度の圃場のデータも含めた解析が必要である(図7)。

表1 調査圃場の土壤の1M塩酸抽出ヒ素濃度の基本統計

基本統計量	O0圃場	N5圃場	N6圃場	H1圃場
平均(mg kg ⁻¹)	7.71	9.34	8.46	1.07
サンプル数	90	96	64	75
分散	1.69	1.85	1.50	0.02
標準偏差	1.30	1.36	1.23	0.13
標準誤差	0.14	0.14	0.15	0.01
推定誤差	0.27	0.28	0.31	0.03
変動係数(%)	16.9	14.6	14.5	11.9
95%信頼区間(mg kg ⁻¹)	7.43 ~ 7.98	9.07 ~ 9.62	8.15 ~ 8.77	1.05 ~ 1.10

表2 平均に対する推定誤差の割合から算出したサンプル数と1M塩酸抽出ヒ素濃度の信頼

推定誤差/平均 (%)	大田市						松江市	
	O0圃場		N5圃場		N6圃場		H1圃場	
	必要 サンプル数	95%信頼区間 (mg kg ⁻¹)	必要 サンプル数	95%信頼区間 (mg kg ⁻¹)	必要 サンプル数	95%信頼区間 (mg kg ⁻¹)	必要 サンプル数	95%信頼区間 (mg kg ⁻¹)
5	47	7.32 ~ 8.09	35	7.94 ~ 8.78	36	8.05 ~ 8.88	25	1.02 ~ 1.13
10	14	6.95 ~ 8.46	11	7.54 ~ 9.18	11	7.64 ~ 9.28	8	0.97 ~ 1.18
15	8	6.62 ~ 8.79	7	7.23 ~ 9.49	7	7.33 ~ 9.59	5	0.92 ~ 1.23
20	6	6.34 ~ 9.07	5	6.85 ~ 9.87	5	6.94 ~ 9.98	4	0.87 ~ 1.28

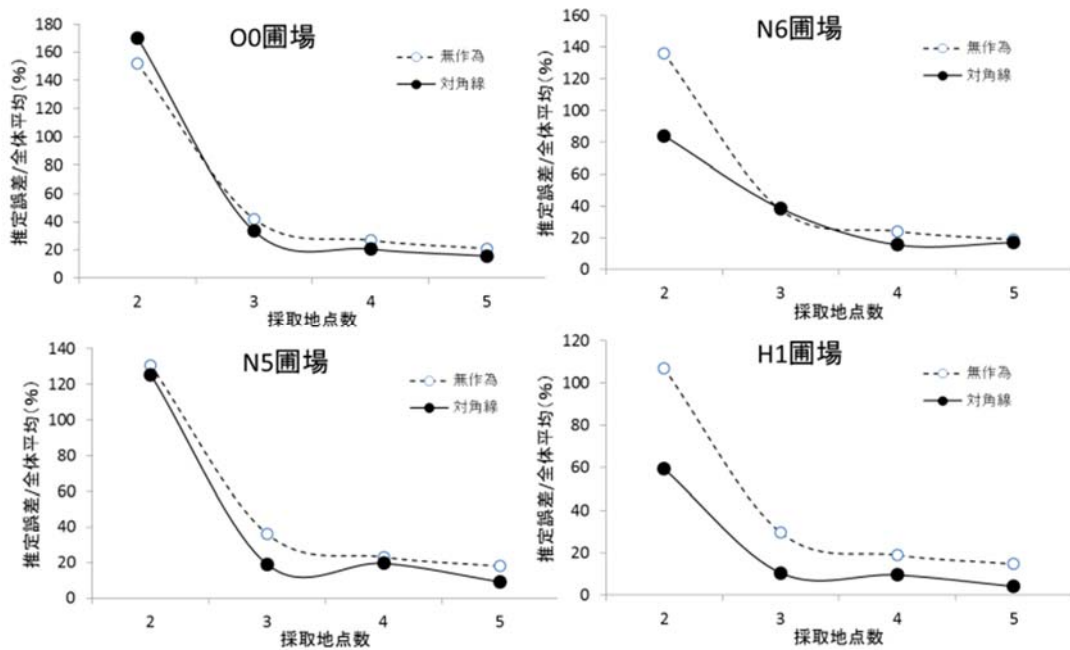


図1 土壌の1M塩酸抽出ヒ素濃度の推定において全体平均に対する推定誤差の割合に対する対角線採取法と無作為採取法の比較

表3 調査圃場の土壌の1M塩酸抽出ヒ素濃度の年次変動

	年度	細粒灰色低地土			中粗粒灰色低地土	
		O0	N5	N6	H1	H2
平均	H27	7.92	9.80	7.76	—	1.35
	H26	7.97	9.52	8.64	1.09	1.75
	H25	7.71	8.36	8.46	1.07	—
	平均	7.86	9.23	8.29	1.08	1.55
変動係数	H27	30.0	13.1	16.2	—	21.2
	H26	31.9	21.0	20.5	14.5	18.5
	H25	16.9	14.6	14.5	11.9	—
	平均	26.3	16.2	17.0	13.2	19.9
95%信頼区間	H27	7.42 ~ 8.41	9.54 ~ 10.1	7.45 ~ 8.07	—	1.30 ~ 1.40
	H26	7.43 ~ 8.50	9.12 ~ 9.93	8.20 ~ 9.08	1.06 ~ 1.13	1.70 ~ 1.81
	H25	7.43 ~ 7.98	9.07 ~ 9.62	8.15 ~ 8.77	1.05 ~ 1.10	—
	平均	7.43 ~ 8.30	9.24 ~ 9.87	7.93 ~ 8.64	1.05 ~ 1.12	1.50 ~ 1.60

表4 調査圃場の土壌の1M塩酸抽出ヒ素濃度の年次変動の解析

基本統計量	細粒灰色低地土			中粗粒灰色低地土	
	O0	N5	N6	H1	H2
平均(mg kg ⁻¹)	7.86	9.56	8.29	1.08	1.55
サンプル数	3	3	3	2	2
分散	0.02	0.06	0.22	0.00	0.08
標準偏差	0.14	0.25	0.47	0.01	0.29
標準誤差	0.08	0.15	0.27	0.01	0.20
推定誤差	0.25	0.46	0.86	0.04	0.88
変動係数	1.8	2.6	5.6	1.2	18.6
95%信頼区間(mg kg ⁻¹)	7.61 ~ 8.12	9.09 ~ 10.0	7.43 ~ 9.15	1.04 ~ 1.12	0.67 ~ 2.43

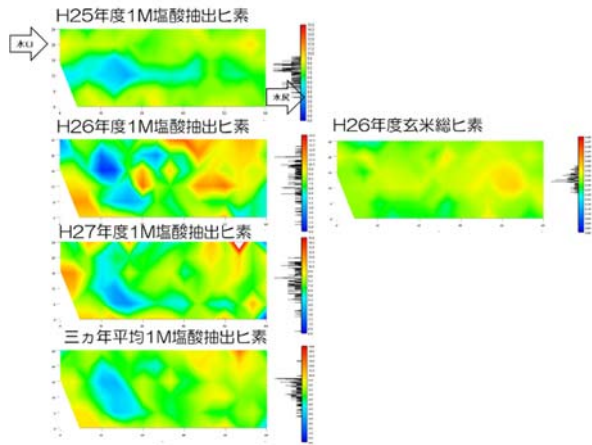


図2 メッシュデータから作成したO0圃場の1M塩酸抽出ヒ素濃度と玄米総ヒ素濃度の圃場内等高線図

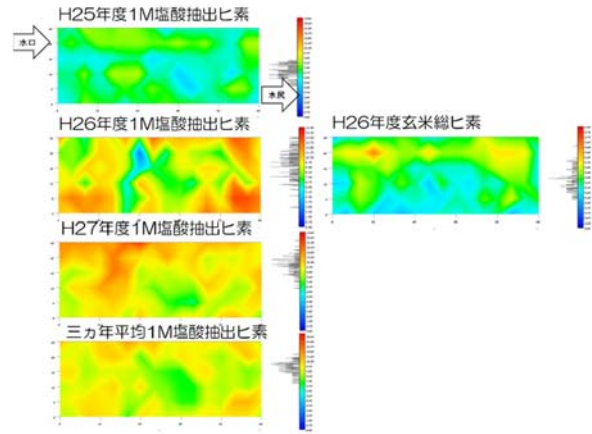


図3 メッシュデータから作成したN5圃場の1M塩酸抽出ヒ素濃度と玄米総ヒ素濃度の圃場内等高線図

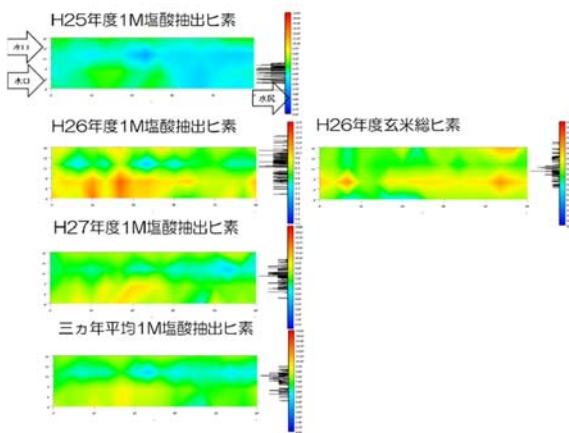


図4 メッシュデータから作成したN6圃場の1M塩酸抽出ヒ素濃度と玄米総ヒ素濃度の圃場内等高線図

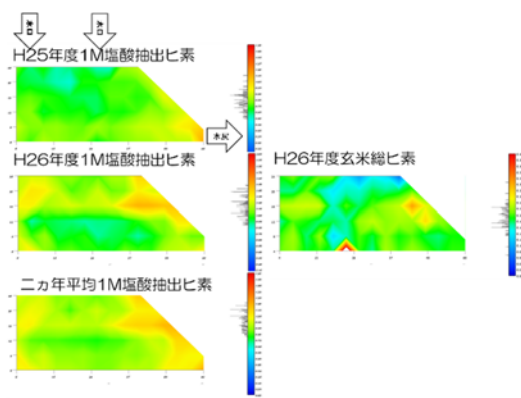


図5 メッシュデータから作成したH1圃場の1M塩酸抽出ヒ素濃度と玄米総ヒ素濃度の圃場内等高線図

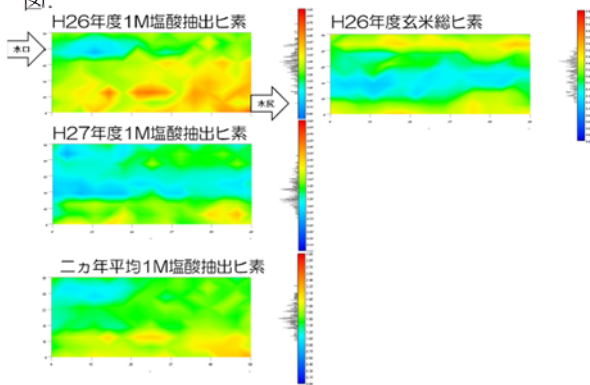


図6 メッシュデータから作成したH2圃場の1M塩酸抽出ヒ素濃度と玄米総ヒ素濃度の圃場内等高線図

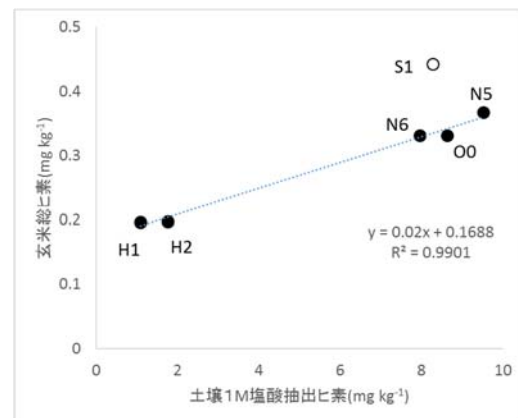


図7 1M塩酸抽出ヒ素濃度と玄米総ヒ素濃度の相関。

3) 成果活用における留意点

圃場の代表値を決定する場合、対角線5点法が有効であると考えられる。

4) 今後の課題

土壌の1M塩酸抽出ヒ素濃度および玄米総ヒ素濃度の年次変動の解析とその変動要因について、土壌特性値、気象、分析方法との関連から調査する必要がある。

中課題番号	13406604	研究期間	平成25～29年度
小課題番号	510	研究期間	平成25～27年度
中課題名	水稻におけるヒ素のリスクを低減する栽培管理技術の開発		
小課題名	分子認識による簡易無機ヒ素測定法のコメ試料への適用性の評価		
小課題責任者名・研究機関	阿部薫・農研機構 農業環境変動研究センター		

1) 研究目的

ヒ素は人体への毒性が高く、国際基準値が定められている。汚染された農産物の流通を防止するには、生産や流通の現場で迅速にヒ素濃度を知る必要がある。現状のコメ中の無機ヒ素の測定は、硝酸による酸部分分解-HPLC/ICP-MS法などにより行われ、高額機器が必要である。一方、環境水中のヒ素のオンサイト簡易分析法としていくつかのキットが市販されているが、リン酸や鉄などの夾雑イオンにも同様に反応する、臭化水銀などの毒性試薬を使用するなどの欠点がある。分子認識による亜ヒ酸測定法は、リン酸などの夾雑イオンの影響を受けず高度選択的に亜ヒ酸を測定でき、劇薬の使用も無い。

そこで、本研究では、当該測定法をコメの無機ヒ素測定に適用するため、コメからのヒ素の抽出やヒ素の形態統一化などの前処理について、基礎的手法を開発する。さらに、コメ中の無機ヒ素濃度を簡易・迅速に測定できるように、コメ試料の前処理法について操作性の向上や定量面での改善を行い、現場に適用できるプロトコルを開発する。また、コメ中無機ヒ素の簡易定量法としての適用性や妥当性を評価する。

2) 研究成果

(1) 既存の簡易ヒ素分析法の適用可否の検討

3種の市販の水質分析用ヒ素検査キット、すなわち、メルコクアント（ヒ素分析キット超高度用）、アノーディングストリップングボルタンメトリー法（ASV法、電気化学測定装置にALS820、作用電極に金薄膜処理した6 mmグラッシーカーボンを使用）、及び排水等におけるヒ素分析の公定法の1つであるジエチルジチオカルバミン酸銀吸光光度法（メルクのスペクトロファントヒ素検査キット使用）、を用いて玄米抽出液の分析を行い適用性、問題点を評価した（図1）。

水質分析用ヒ素検査キット（Gutzeit法）においては、ヒ素検出反応時に泡が大量に発生するためアルシンの捕集が妨害され全くヒ素が検出されなかったが、消泡剤を添加することでこの問題は解決できた。しかし、分析値は0.026 mgL⁻¹となり、HPLC-ICPMS分析値0.017 mgL⁻¹より過大評価されていた。硫化水素が同様に検出されてしまうことが原因の1つと考えられる。10 mm UVセルを用いたジエチルジチオカルバミン酸銀吸光光度法においては、50 mLの抽出液をキットの要求する検液量350 mLまで希釈した場合0.0024 mgL⁻¹となり、キットの定量下限値0.005

mgL⁻¹を下回った。無希釈とし350 mLの抽出液を利用することも考えられるが実用的ではない。簡易分析法の一つであるASV法の場合、試験した系では0.02 mg L⁻¹の標準液が検出できなかったため、玄米抽出液への適用は前濃縮等の処理無しには困難と考えられる。

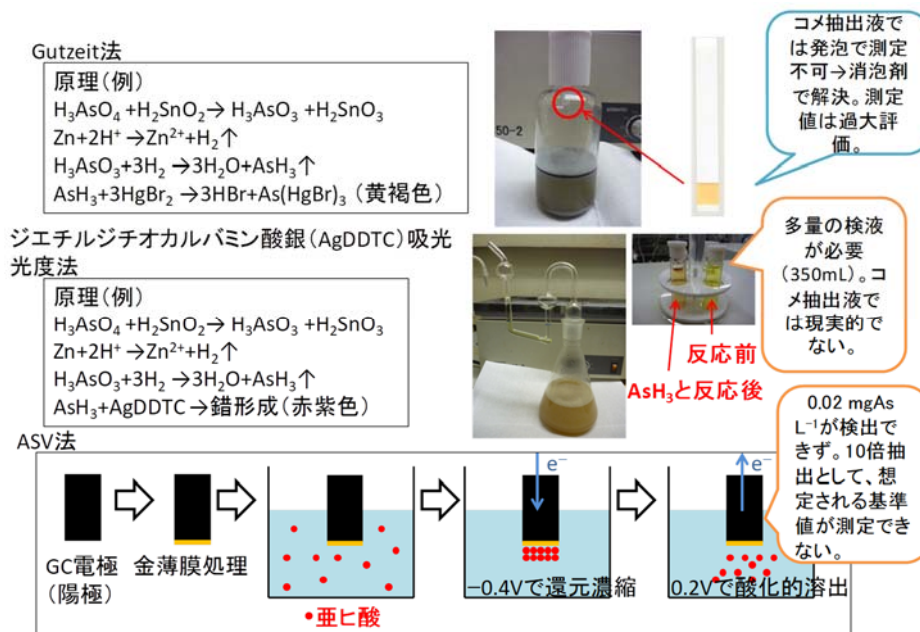


図1 コメ抽出液への既存の無機ヒ素測定法の適用可否の検討

(2)分子認識法への米試料への適用

a. 検出に干渉する米抽出液のマトリクス除去法

亜ヒ酸に特異的に反応するタンパクとDNA断片を利用した測定系(図2)について、米試料への適用を検討した。

玄米、精米微粉末を固液比1:10、水、希酸(1%硝酸、塩酸)で95°C2時間ヒートブロック加温した抽出液について、8倍程度に希釈すれば本来の応答値が得られることがわかった。しかし希釈をしないと応答値が低下しマトリクスの影響が認められた(図3)。

要因解明のため、各種無機イオンや糖について添加試験を行った結果、分子認識測定法への影響は、無機陽イオン(金属、重金属)は5 mgL⁻¹、リン酸イオンは1%、ヒ酸イオンは10 mg L⁻¹添加しても影響は認められなかった(応答値は無添加の93-107%の範囲)(表1、表2)。しかし、グルコース、マルトースを0.5%以上添加すると顕著に応答値が低下したことから、分子認識測定法の阻害要因は糖の可能性が高いと考えられた(図4)。

糖類を除去するため、各種充填剤について、官能基、細孔系、表面処理等の条件スクリーニングの後、特に有望と思われるR-SO₃H系充填剤について充填量とグルコース除去率について評価した結果、1%程度のグルコース濃度であれば当該充填剤2.5mL程度の充填量で90%以上除去可能であることが確認できた(図5)。

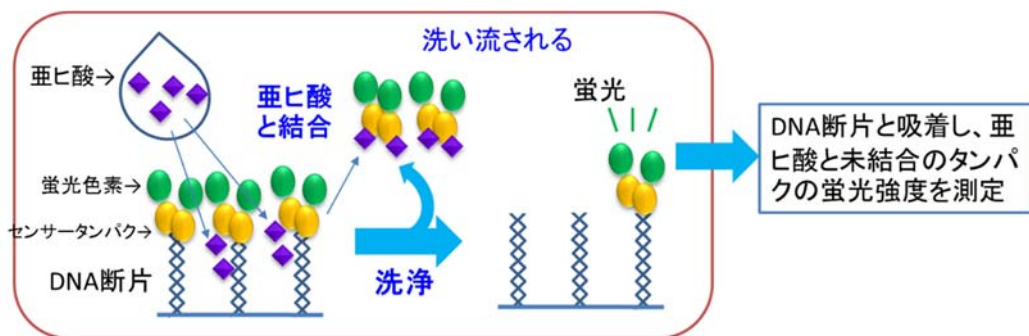


図2 分子認識の亜ヒ酸検出系の概念図

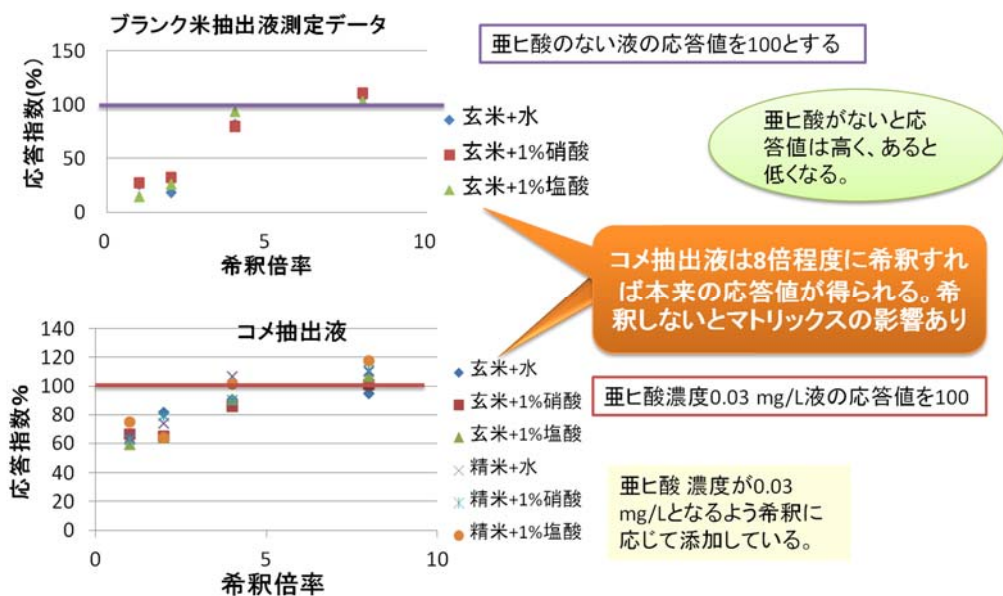


図3 抽出液の分子認識法による応答と希釈倍率

上:ブランク米は、総ヒ素 0.03 mgkg^{-1} 以下

下: コメ抽出液に亜ヒ酸濃度が 0.03 mgL^{-1} となるよう添加

表1 金属濃度の分子認識測定法への影響

添加濃度(mgL^{-1})	0.01	0.05	0.10	0.50	1.00	5.00
Cd	98.2%	94.3%	100.4%	107.1%	98.1%	97.2%
Zn	103.2%	98.2%	93.2%	107.3%	107.3%	104.3%
Mn	104.3%	95.1%	108.2%	94.2%	89.2%	98.2%
Cu	93.1%	101.3%	98.1%	98.1%	98.1%	101.3%
Fe	94.2%	95.5%	94.3%	99.8%	103.2%	94.1%
Na	91.3%	98.2%	93.3%	105.1%	94.3%	100.5%
Mg	99.3%	93.2%	101.1%	94.9%	95.3%	98.8%
Ca	100.9%	93.1%	99.3%	108.1%	108.3%	100.9%

無添加の応答を100%として表示。亜ヒ酸濃度： 0.01 mgL^{-1} 。

表2. 主要な陰イオンの分子認識測定法への影響

	0.1ppm	1.0ppm	10ppm	100ppm	0.10%	1.00%
リン酸	-	-	-	94.3%	97.2%	95.4%
ヒ酸	98.2%	94.3%	97.1%	-	-	-
フィチン酸	89.2%	94.3%	91.2%	-	-	-

無添加の応答を100%として表示。亜ヒ酸濃度：0.01mgL⁻¹。

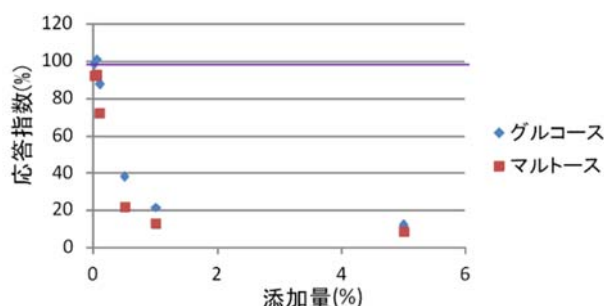


図4 分子認識法への糖濃度の影響無添加の応答を100として表示。亜ヒ酸濃度：0.01mgL⁻¹。

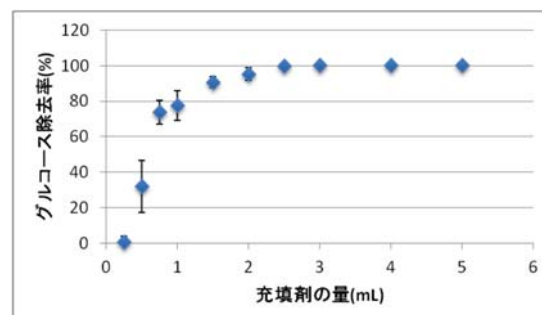


図5 固相抽出のための充填剤量とグルコース除去率（試料溶液1mLをカラムに添加後、0.2mL/minの流速でカラムを透過。

b. 新検出系におけるマトリックスの影響

メーカー開発中の亜ヒ酸の検出系に修正（DNA断片に結合した方のタンパクではなく、亜ヒ酸と結合しDNA断片と結合しないタンパクの蛍光を測定等）（図6）があったため、新検出系での米抽出液のマトリックスの影響等を調査した。実試料の機器分析値と分子認識測定法との比較を実施した。

分子認識法での測定値は、米抽出液に添加した亜ヒ酸濃度と傾き0.91の直線関係となり、幾分低く評価される傾向があるものの（図7）、マトリックスの影響は大きくなかった。玄米からの希塩酸加熱抽出液中について、HPLC-ICP-MS法による亜ヒ酸濃度と分子認識法による測定値とは良い対応が見られ($r^2=0.964$)、分子認識法による測定値はHPLC-ICP-MS測定値の平均89.8%、変動係数8.1%であった（図8）。

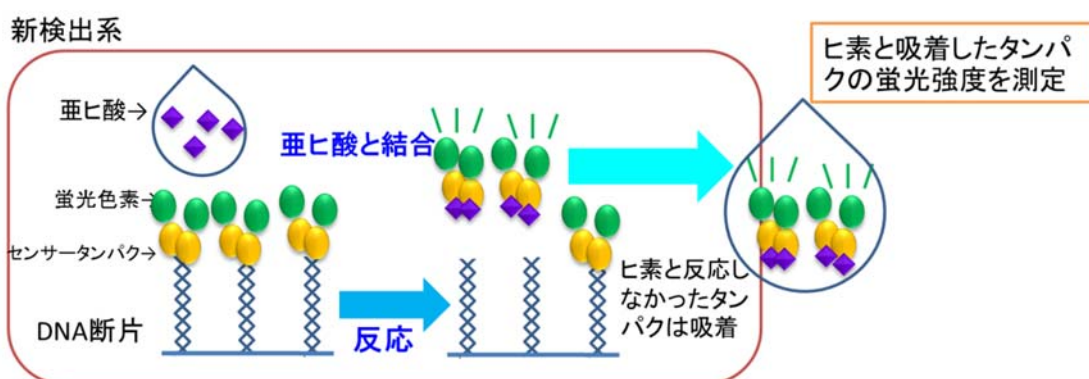


図6 開発メーカーにより修正された、新検出系の概念図

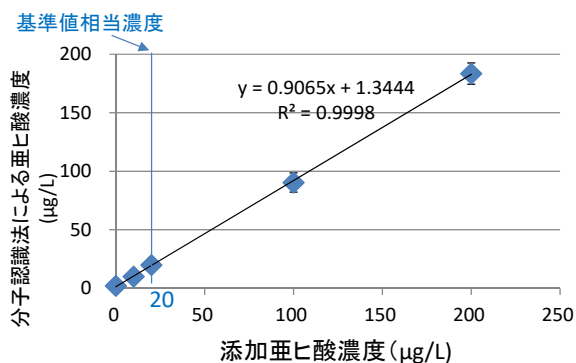


図7 ヒ素をほとんど含まない米の希硝酸抽出液にヒ素標準溶液を添加し、分子認識法で測定

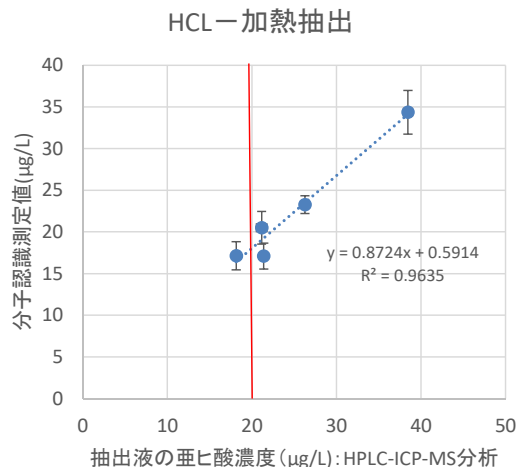


図8 玄米の塩酸加熱抽出液の分子認識法測定値とHPLC-ICP-MS亜ヒ酸測定値の比較 (0.28M塩酸、1:4、2時間加熱抽出、後1:10にfill up)

c. 抽出液中の無機ヒ素を亜ヒ酸に形態統一する方法

(1) 検出系は亜ヒ酸しか検出できないので抽出液中のヒ酸を還元する試薬を検討した。0.15 M硝酸による玄米または精米抽出液にヒ酸を 0.02 mg L^{-1} となるように添加し、さらに3種の還元剤(亜硫酸ナトリウム、チオ硫酸ナトリウム、還元型グルタチオン)を加えてHPLC-ICPMSで測定した。亜硫酸ナトリウム(10-100 mM)ではヒ酸は亜ヒ酸へ還元されていなかった。チオ硫酸ナトリウム(0.5-10 mM)では添加1日後において、ヒ酸は確認されずに亜ヒ酸が増加した。しかし、高濃度では還元の際に不溶物が生じることやDMAが消失することなど系内での反応は複雑であった。還元型グルタチオン(4 mM)では、加熱することにより還元が進み 80°C 、3時間で添加したヒ酸の90%以上が亜ヒ酸に還元された(図9)。またDMAに対する影響も見られなかった。玄米や精米の0.15 M硝酸抽出液中には元々ヒ酸は微量にしか存在しない。還元の効果の評価するため 0.02 mg L^{-1} のヒ酸を添加したが実試料では抽出液中のヒ酸は多く見積もっても 0.005 mg L^{-1} (コメ中に 0.1 mg kg^{-1})と考えられる。よってヒ酸が低濃度である実試料では還元型グルタチオンの加熱時間を短縮することができるかも知れない。また、加熱抽出時に同時に還元型グルタチオンを添加しておくことで還元作業の効率化が期待できる。

(2) グルタチオンを初めから添加し硝酸加熱抽出する処理で、米からの無機ヒ素が亜ヒ酸の形態で抽出され(図10)、また、亜ヒ酸溶液へ還元型グルタチオンを添加した際に、分子認識法応答値への特段の影響は認められないこと(図11)がわかった。しかし、グルタチオン添加では無機ヒ素抽出効率のわずかな低下が認められたので抽出条件の最適化が必要である(図10)。一方、塩酸を抽出に用いることで、ヒ酸が亜ヒ酸として抽出されやすくなる(Narukawa et al., Talanta130(2014)213-220)との報告がある(図12)。ヒ酸濃度は亜ヒ酸に比べ低いため用いる酸の選択や係数を掛ける等で無機ヒ素に読み替える方向の検討も必要と考える。

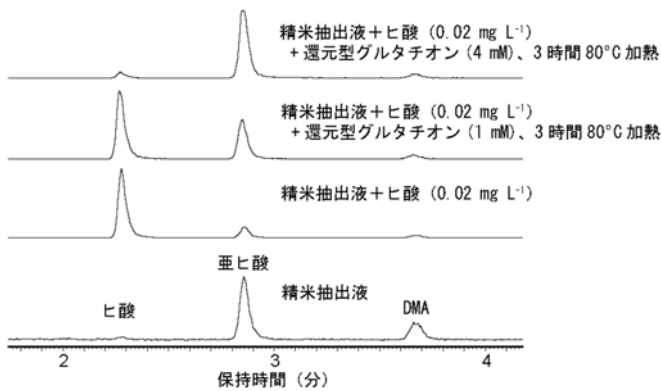


図9 米抽出液に還元型グルタチオン添加しヒ酸を還元

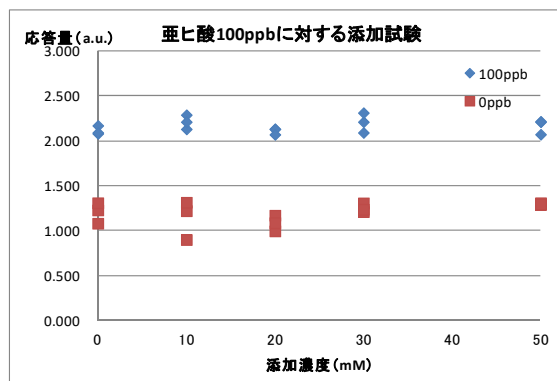


図11 還元型グルタチオンの分子認識測定法への影響

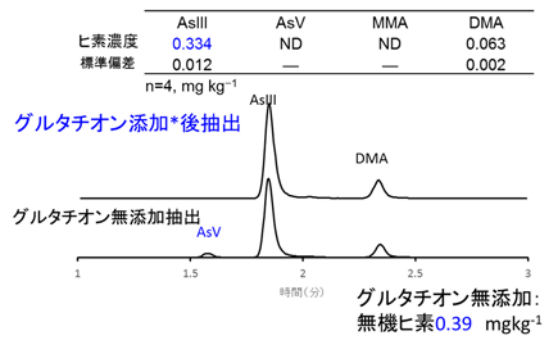


図10 還元型グルタチオン添加・希酸加熱抽出による無機ヒ素の抽出・還元 (米粉砕試料0.5gに、グルタチオン13mM、0.28 M 硝酸2 mL添加、加熱 (2時間、110°C))

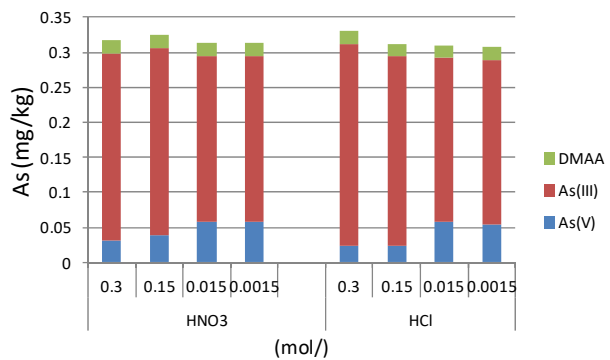


図12 硝酸、塩酸濃度と形態別ヒ素抽出効率 (Narukawa et al., Talanta130(2014)213–220より作図)

(3) 分子認識法によるコメ中ヒ素濃度測定 of 簡易・迅速化

a. 粉碎の簡略化の検討

ミキサーミル、多検体粉碎器、抹茶用ミル粉碎で、それぞれ50%体積に到達するための粒径は、55 μ m、108 μ m、171 μ mと大きな差があったが、希酸加熱での抽出効率には差が認められなかった(図13、表3)。熱水抽出には150 μ m以下の粒径が必要であるため (T. Narukawa, K. Chiba, J. Agric. Food Chem. 58 (2010) 8183.) 抹茶用ミルの利用は難しいが、希酸加熱抽出には利用できる可能性がある。

希酸加熱での無機ヒ素抽出効率と粉碎粒径の関係を濃度の異なるコメを用いてより詳細な調査を行った。玄米(総ヒ素0.12 As mg kg⁻¹DW、0.43 As mg kg⁻¹DW)について調査したところ、家庭用簡易粉碎器でも粉碎時間を長くすると、理化学ミルと同等の微粉碎が可能であった(図14)。また、1%硝酸加熱の抽出効率と粒径の間には明瞭な傾向は無く、粉碎に家庭用粉碎器の利用が可能と考えられる(図15, 16)。

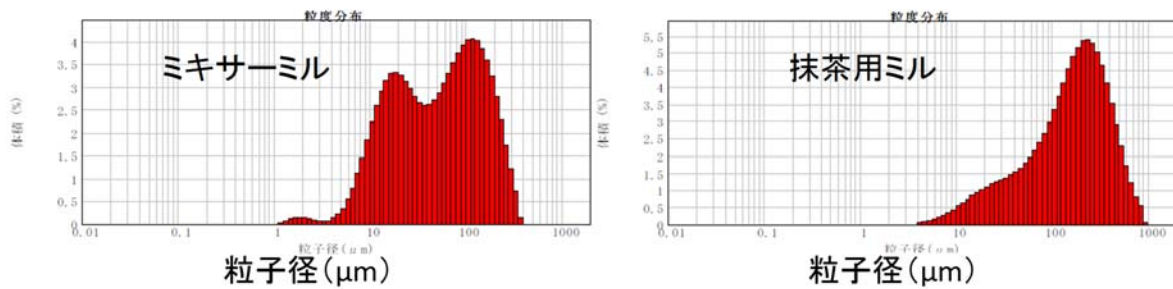


図13. 理化学粉碎器（ミキサーミル）と家庭用ミル（抹茶ミル）の粒度分布

表3 1%硝酸加熱抽出による各粉碎物の形態別ヒ素濃度(mg kg⁻¹)

	理化学用		家庭用
	ミキサーミル	多検体粉碎器	抹茶ミル
50%体積の粒径(μm)	55	108	171
ヒ酸	0.007(0.001)	0.008(0.001)	0.005(0.001)
亜ヒ酸	0.081(0.003)	0.086(0.003)	0.079(0.002)
DMA	0.002(0.001)	0.002(0.001)	0.001(0.001)

n=3、()内はSD(切り上げ)

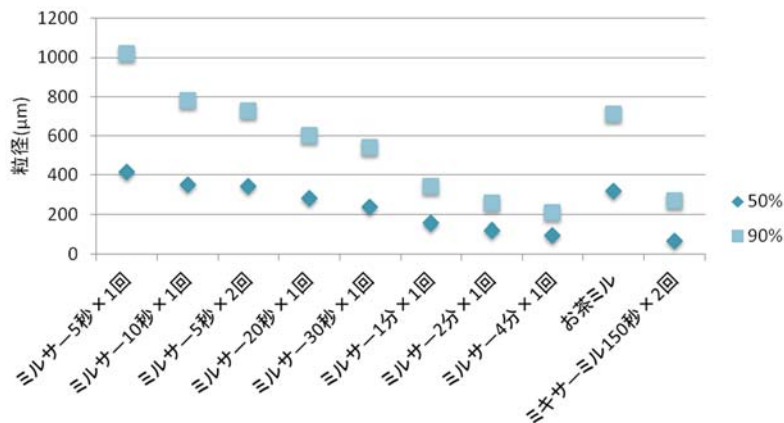


図14 家庭用ミル（ミルサー、お茶ミル）・粉碎時間、理化学ミル（ミキサーミル）の粒径比較

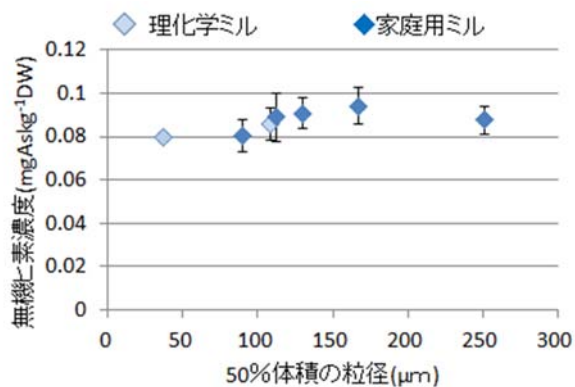


図15 玄米の粒径と無機ヒ素抽出率（低濃度米）

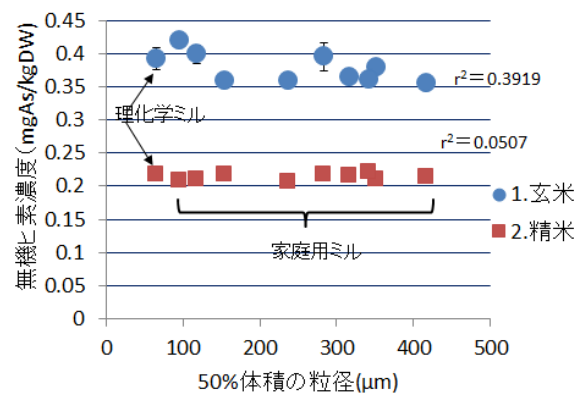


図16 玄米・精米の粒径とヒ素抽出率（高濃度

(1%硝酸、95°C2時間ヒートブロック加熱、1:10抽出)

米)

(0.15 mol/L硝酸、100°C2時間ヒートブロック

加熱、1:4抽出)

b. 酵素による抽出の検討：

粗く破碎（4分割程度）した玄米を酵素溶液に一晩浸漬する処理で、無機ヒ素はほぼ抽出された。全粒での処理では十分な抽出率は得られなかった(図17)。

酵素試薬により抽出した液は、ヒ酸が検出されず酵素処理過程でヒ酸が亜ヒ酸に還元されている可能性が示唆された(図18)。が、酸抽出過程で亜ヒ酸がヒ酸に酸化されていた可能性もあり、今後より高濃度のヒ素を含む試料で確認したい。

ヒ素をほとんど含まない玄米を酵素抽出（1：10、一晩浸漬）、亜ヒ酸標準液の添加試験の結果、分子認識法測定値は添加した亜ヒ酸濃度と傾き0.94の直線関係となり(図19)、マトリックスの影響は大きくなかった。玄米の酵素抽出液について、HPLC-ICP-MS法による亜ヒ酸濃度と分子認識法測定値とは良い対応が見られ($R^2=0.993$)、分子認識法による測定値はHPLC-ICP-MS測定値の平均105%、変動係数10.2%であった(図20)。

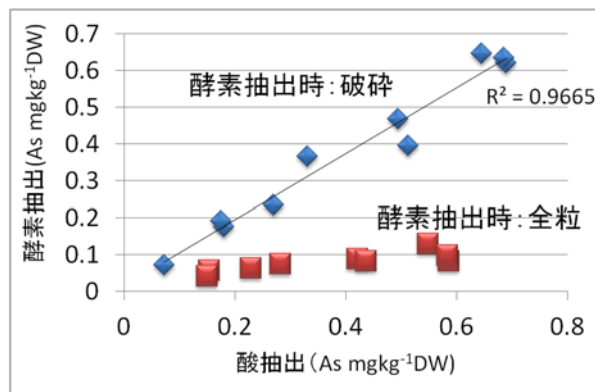


図17 酵素試薬による無機ヒ素抽出の試み（酵素溶液に1晩浸漬、1:10抽出）

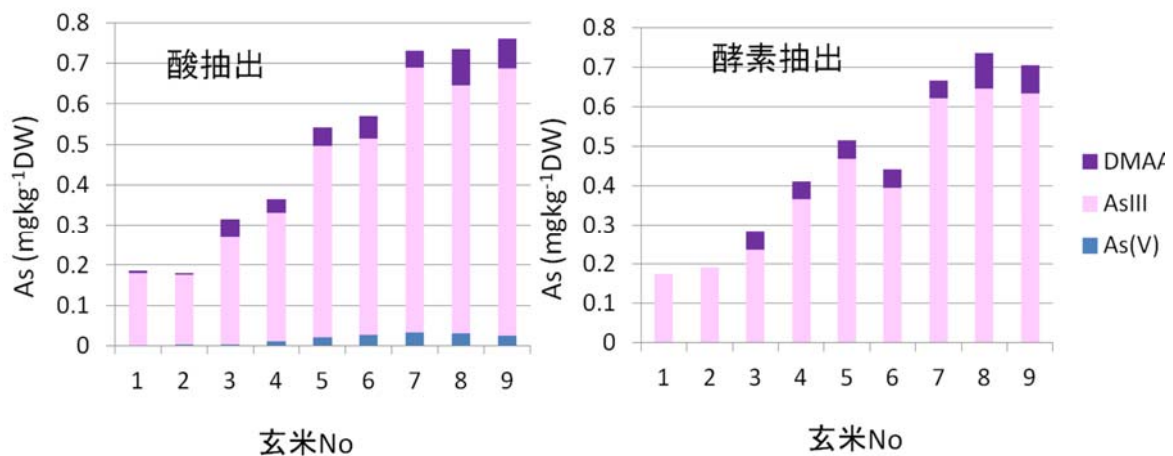


図18 玄米微粉碎試料を酸加熱（1%硝酸、95°C2時間ヒートブロック加熱、1:10）抽出した場合、と玄米破碎物(4分割～粗目状)を酵素試薬に1:10一晩浸漬抽出した場合の無機ヒ素濃度比較

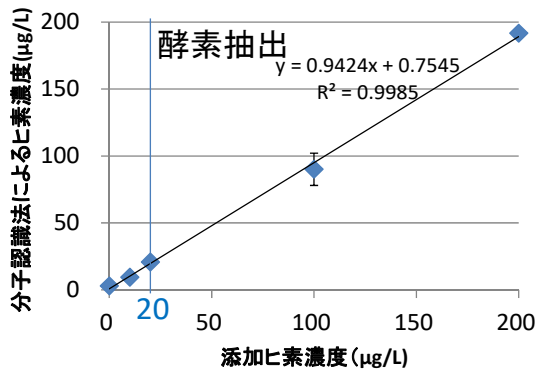


図19 ヒ素をほとんど含まない米の酵素抽出液にヒ素標準溶液を添加し、分子認識法で測定した値

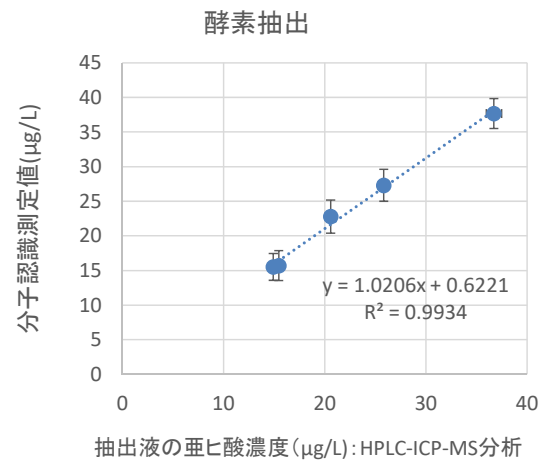


図20 玄米の酵素抽出液の分子認識法測定値とHPLC-ICP-MS亜ヒ酸測定値
(酵素溶液に1晩浸漬、1 : 10)

c. 分子認識法による簡易分析プロトコールの作成

これまで得られた成果をもとに、暫定番プロトコールを作成した (図21)

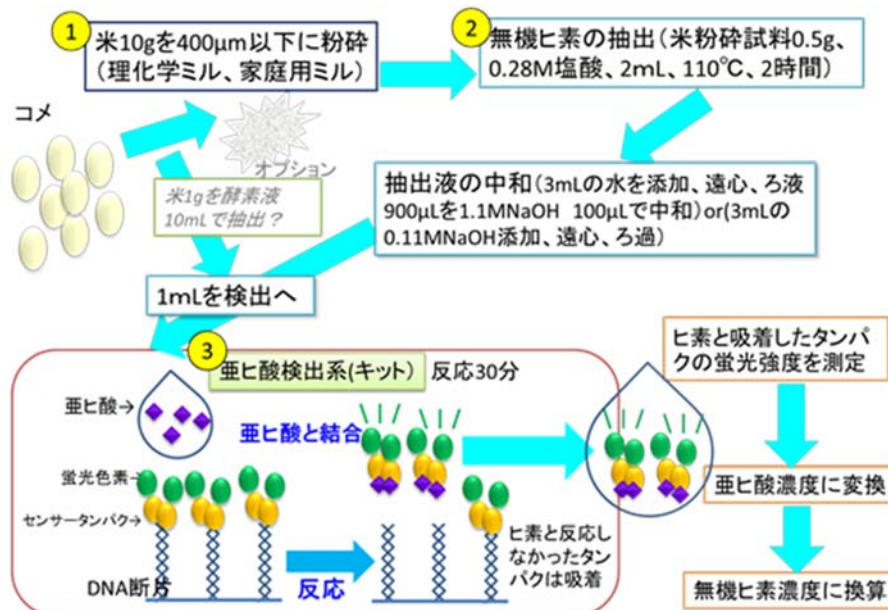


図21 分子認識法を利用したコメ中無機ヒ素濃度簡易測定手順(暫定案)

1. 粉砕

約10gの米（玄米、精米）を400 μm 以下の粒径に粉砕。玄米の場合、理化学ミルが望ましいが、家庭用ミル（ミルサー）10秒以上の粉砕、または抹茶ミル。

2. 無機ヒ素の米（玄米、精米）からの抽出

粉砕物0.5gをPPの蓋付き丸底試験管に分取し、0.28 mol/L塩酸2mL、110 $^{\circ}\text{C}$ 2時間ヒートブロック加熱する。水3mLを加え、遠沈後、上澄みを採取。（もしくは、0.15~0.2M NaOH 3mLを加え、遠沈。）

3. 検出キットによる亜ヒ酸濃度測定（0.11M塩酸酸性として）

1)抽出液900 μL に1.1M水酸化ナトリウム溶液100 μL を混和し（←2.で、0.15~0.2M NaOH でフィルアップする場合は削除）、1MKBPバッファ65 μL を添加混和し、検液とする。標準液（0.01M塩酸）1000 μL に1MKBPバッファ65 μL 混和を検液とする。

3) 成果活用における留意点

分子認識法による亜ヒ酸測定系は、まだ開発途上のものであり、商品化はされていない。

4) 今後の課題

抽出時のグルタチオン添加では無機ヒ素抽出効率の低下が認められたことから抽出条件の最適化をおこなうか、米中ヒ酸含量の数学的補正による分子認識法測定値の無機ヒ素濃度への変換が必要である。また、前処理プロセスの簡易化を進めるため、米からの抽出法の簡易化すなわち粉砕や加熱などの手間の少ない方法を開発することも必要である。具体的には、最終的な抽出酸条件において抽出効率の下がらない最大粒径を明らかにする、また、酵素等の利用により、加熱せず浸漬1晩程度で全粒から抽出できる方法を開発する。

中課題番号	13406604	研究期間	平成25～29年度
小課題番号	520	研究期間	平成25～27年度
中課題名	水稻におけるヒ素のリスクを低減する栽培管理技術の開発		
小課題名	蛍光X線分析によるコメの総ヒ素濃度の簡易定量技術の開発		
小課題責任者名・研究機関	川崎 晃・農研機構 農業環境変動研究センター		

1) 研究目的

蛍光X線分析のばらつきを考慮した上で、ヒ素濃度に応じて米をスクリーニング、すなわち、ある一定値以下と判断される試料、ある一定値を超えると判断される試料、判断するには長時間の測定が必要なため他の方法で分析すべき試料、の3群に分類する分析手法を開発する。蛍光X線分析は前処理を必要とせず、連続自動測定が可能なことから、多数の検体を処理するのに適している。米を輸出する際に、輸出先国のヒ素基準を満たしていることを本手法で迅速に確認・管理するような使い方が想定される。

2) 研究成果

米の総ヒ素測定に適するように条件設定したエネルギー分散型蛍光X線分析装置を用い、玄米試料（総ヒ素 0.80 mg kg^{-1} 、粒状、 3.4 g 供試）の測定を実施し、As-K α 線近傍のスペクトルを確認した（図1）。測定時間（デッドタイムを含む全測定時間）600秒、励起電圧30 kV、X線管球電流750 μA の条件でAs-K α 線のピークが明瞭に認められ、測定可能であることが確認できた。また、As-K α 線（10.53 keV）にPb-L α 線（10.55 keV）が干渉するが、コメ中のPb濃度は低いこと、Pb-L β 線（12.61 keV）のピークが認められないことから、Pbの干渉は無視できると判断された。

蛍光X線分析の検出下限（Lower limit of detection, LLD）は、バックグラウンド強度の統計変動（標準偏差）の3倍に相当する濃度と定義される（JIS K 0119: 2008 蛍光X線分

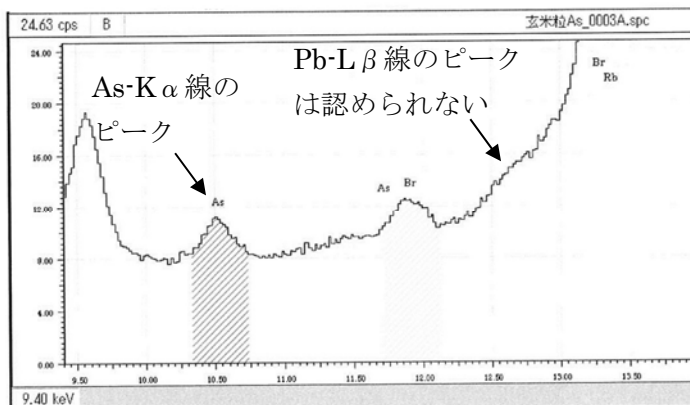


図1. スペクトルの例（縦軸はX線強度（cps）、試料は粒状玄米、総ヒ素 0.80 mg kg^{-1} 、測定時間（デッドタイムを含む実時間）600秒、励起電圧30 kV、X線管球電流750 μA ）。As-K α の明瞭なピークが認められた。Pb-L β 線のピークは認められないことから、As-K α へのPb-L α 線の干渉はないと判断された。

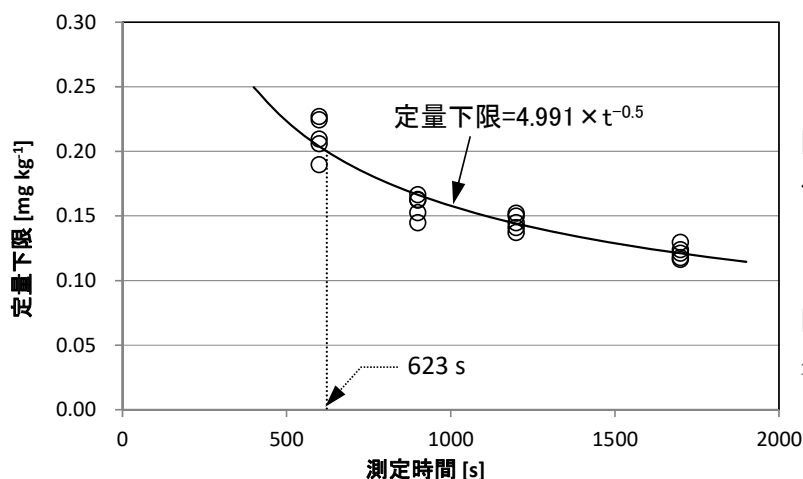


図2. 測定時間と定量下限の関係（認証標準物質NMIJ7531aを測定時間600秒、900秒、1200秒、1700秒でそれぞれ5回繰り返し測定。測定時間以外の条件は図1と同じ）。

析通則)。また、バックグラウンド強度がBG(cps)のとき、その理論標準偏差は、 $\sigma = \sqrt{BG/t}$ 、 $(t$ は測定時間 (s)) で表される。総ヒ素濃度の異なる3種類の認証標準物質の総ヒ素測定を行い、検量線を外挿して求めたバックグラウンド強度からLLDを求めたところ、測定時間を600秒としたときLLDは 0.064 mg kg^{-1} であった。蛍光X線分析のJIS規格において、定量下限の定義はないが、ここでは一般的な考え方に従ってBG強度の統計変動の10倍とすると、定量下限は 0.21 mg kg^{-1} となり、600秒の測定条件で 0.2 mg kg^{-1} に迫る定量下限になることがわかった。さらに、測定時間を600秒、900秒、1200秒、1700秒とし、認証標準物質(NMIJ7531a)の繰り返し測定の結果から推算したバックグラウンド強度から定量下限を求めた結果、それぞれ平均で、 0.21 、 0.16 、 0.14 、 0.12 mg kg^{-1} となった。定量下限を測定時間 t の関数で表すと、定量下限 $=4.99t^{-0.5}$ となり、定量下限 0.2 mg kg^{-1} を得るための測定時間は623秒と推算された(図2)。また、この関係式から定量下限が 0.15 mg kg^{-1} 、 0.1 mg kg^{-1} になる測定時間を求めると、それぞれ1107秒(18分27秒)、2491秒(41分31秒)と推算された。

測定時間600秒の条件で玄米粒試料とその粉砕試料についての測定値を比較した(表1)。総ヒ素濃度の高い試料1点を除き、粒と粉末で測定値に大きな違いはなく、スクリーニングレベル(玄米の場合、無機ヒ素の国際基準は 0.35 mg kg^{-1})の総ヒ素濃度であれば、粒試料で測定可能と考えられた。ただし、粒試料の場合は試料を充填したときの空隙が多く、誤差の要因となるので、コンプトン散乱線で補正した強度を使う必要がある。それから、何らかの理由で粉砕試料を測定する必要がある場合、ステンレス製の粉砕器を使うことが望ましい。微量重金属を測定する際によく用いられるタングステンカーバイト製の粉砕器を使用すると、粉砕器から混入したタングステンのピーク(L β 線)がAs-K α ピークの近傍に出現するため、バックグラウンド補正に影響が認められた。ステンレス製の粉砕器であれば、鉄、ニッケル、クロムが多少混入してもAs-K α 近傍にピークは生じなかった。

表1. 玄米(粒、粉末)の総ヒ素測定測定(600秒5回測定の平均とSD)

	ICP-MS測定		蛍光X線測定As濃度	
	As濃度	As濃度		
		mg kg ⁻¹	粒状試料	粉末試料
	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	
No.1 (A2)	0.34	0.40±0.02	0.42±0.03	
No.2 (A4)	0.28	0.27±0.03	0.31±0.03	
No.3 (B4)	0.30	0.36±0.02	0.34±0.03	
No.4 (JM)	0.37	0.61±0.03	0.36±0.04	

スクリーニング分析法を検討する目的で、玄米および白米の認証標準物質等4点を各10回繰り返し測定した。測定時間が1700秒の場合、ヒ素のスペクトル強度（規格化強度）の標準偏差の推定値は 4×10^{-5} となり、本測定条件では、同じヒ素濃度のコメを繰り返し測定したときのスペクトル強度の分布は、標準偏差が 4×10^{-5} のt分布になると推定された。自由度38におけるt分布の片側1%点は2.43であることから、標準偏差の2.43倍、濃度換算で 0.032 mg kg^{-1} の範囲を超えるものは片側に1%しか存在しないと推定された。すなわち、総ヒ素濃度が 0.2 mg kg^{-1} のコメを本条件で測定した場合、99%の試料については 0.168 mg kg^{-1} 以上の測定結果が得られることから、測定結果が 0.168 mg kg^{-1} 未満であれば、総ヒ素濃度が 0.2 mg kg^{-1} を超える可能性は低いと判断できる（図3）。同様の検討を測定時間1200秒、600秒、300秒で実施した結果、総ヒ素濃度が 0.2 mg kg^{-1} の粉末試料を測定した場合、99%の試料は、それぞれ 0.148 、 0.145 、 0.137 mg kg^{-1} 以上の測定値になるという結果が得られた。たとえば精米粉末を300秒間測定した時点で 0.137 mg kg^{-1} 未満の値が得られていれば、総ヒ素濃度が 0.2 mg kg^{-1} を超える可能性は低いと判断できる。

同様の検討を市販の精米粒試料4点（総ヒ素濃度 $0.09 \sim 0.25 \text{ mg kg}^{-1}$ ）で実施した結果、測定時間1700秒、1200秒、900秒、600秒としたとき、それぞれ 0.171 、 0.163 、 0.148 、 0.138 mg kg^{-1} がスクリーニングの判別レベルとなった。すなわち、精米粒試料の1700秒間測定において 0.171 mg kg^{-1} 未満の値が得られていれば、総ヒ素濃度が 0.2 mg kg^{-1} を超える可能性は低いと判断できる（図4）。精米粒試料の600秒測定は、粉末試料の測定時よりスペクトル強度の標準偏差が大きいため、判別レベルが低くなった。粒試料測定において強度の標準偏差が大きくなった要因は、バックグラウンド補正に起因する誤差が影響していると考えられた。

総ヒ素濃度が既知の米試料15点（粒状）を用い、測定時間600秒、および1700秒、それぞれデッドタイムを含む）ごとに、 0.2 mg kg^{-1} レベルにおけるスクリーニング（ 0.2 mg kg^{-1} を超えると判断される試料、超えないと判断される試料、どちらも判断できない試料の3群に分ける）を試みた。判定のレベルは図4に示したばらつきを適用し、600秒測定におい

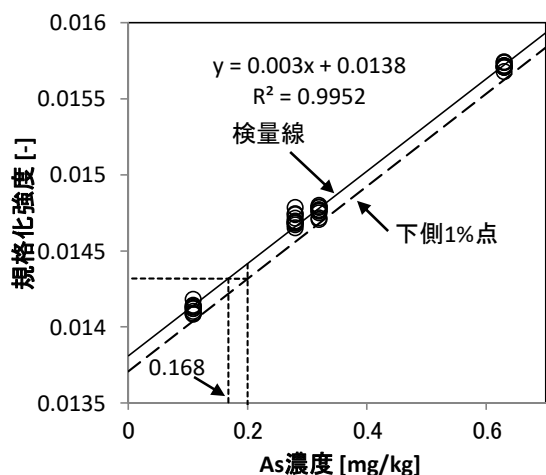


図3. 認証標準物質等による検量線とその下側1%点。作図は総ヒ素濃度が 0.2 mg kg^{-1} を超えないと判断される測定値（測定時間1700秒）。

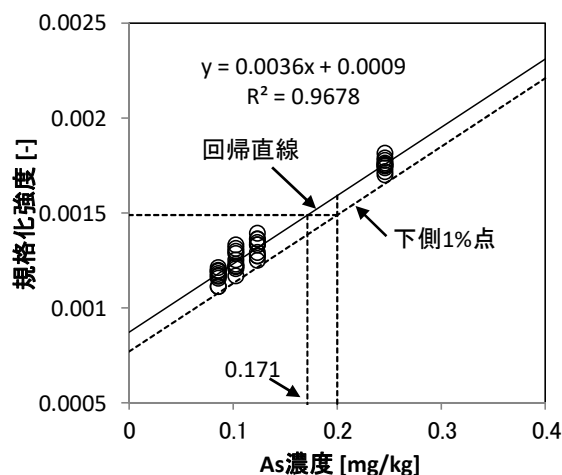


図4. 精米（粒）測定結果の回帰分析とその下側1%点。作図は総ヒ素濃度が 0.2 mg kg^{-1} を超えないと判断される測定値（測定時間1700秒）。

表2. XRFによる玄米試料の分析結果とスクリーニングの判定結果

ICP-MS 測定値 mg/kg	蛍光X線分析 (600秒) mg/kg		蛍光X線分析 (1700秒) mg/kg	
0.83	0.710	○	0.680	○
0.58	0.600	○	0.573	○
0.56	0.450	○	0.453	○
0.45	0.410	○	0.430	○
0.41	0.420	○	0.377	○
0.41	0.410	○	0.363	○
0.26	0.240		0.247	○
0.26	0.270	○	0.247	○
0.26	0.250		0.243	○
0.21	0.240		0.233	○
0.19	0.160		0.170	○
0.18	0.160		0.183	
0.15	0.130	○	0.143	○
0.14	0.190		0.183	
0.14	0.180		0.153	○

○印は、600秒または1700秒測定で0.2 mg kg⁻¹を超える、あるいは超えないと判断できたもの。

表3. 精米粒の繰り返し測定精度 (600秒測定)

試料	n	As(mg/kg)	
精米1	1	0.24	平均 0.21
	2	0.19	SD 0.019
	3	0.23	
	4	0.20	
	5	0.20	
精米2	1	0.24	平均 0.25
	2	0.25	SD 0.014
	3	0.25	
	4	0.28	
	5	0.25	
精米3	1	0.28	平均 0.27
	2	0.29	SD 0.024
	3	0.23	
	4	0.28	
	5	0.27	

SD: 標準偏差
X線検出器の統計変動(標準偏差)の濃度換算値は0.025 mg kg⁻¹であり、実測値の標準偏差は統計変動で説明できると判断される。

ては、得られた値が0.138 mg kg⁻¹未満の時は0.2 mg kg⁻¹を超えない、0.262 mg kg⁻¹を超える時は0.2 mg kg⁻¹を超えると判断し、1700秒測定においては、それぞれ0.171 mg kg⁻¹、0.229 mg kg⁻¹を判定のレベルとした。米試料15点のうち、ICP-MS測定値が0.4 mg kg⁻¹を超える試料については、600秒測定において0.2 mg kg⁻¹を超えると判断できた。ICP-MS測定値が0.26 mg kg⁻¹の試料については、600秒測定では判断が難しいものの、1700秒測定では判断できた。ICP-MS測定値が0.15 mg kg⁻¹以下の試料についても600秒測定では判断が難しく、1700秒測定では概ね0.2 mg kg⁻¹を超えないと判断できた(表2)。

粒試料の測定においては、特に測定時間が短い条件において、粉末試料の測定よりもばらつきが大きくなる傾向にあり、その原因としてバックグラウンドレベルの推定に誤差が含まれているためと考えられた。そこで、バックグラウンド推定方式の改善(平滑化の回数を調整してノイズの影響を受けにくくするなど)を図った上で、精米のスクリーニングレベル(0.2 mg kg⁻¹)付近の総ヒ素濃度の精米粒試料3点をそれぞれ繰り返し測定に供試し、ばらつきを再評価した。それぞれ600秒測定を5回繰り返したときの測定値の標準偏差は、0.019、0.014、0.024 mg kg⁻¹となり、600秒測定の標準偏差は概ね0.02 mg kg⁻¹前後であると考えられた(表3)。一方、検出器の理論統計変動は、As-K α 線のグロス強度がI(cps)、

表4. 統計変動に基づく判定

	測定時間 (s)	蛍光X線測定値 mg kg ⁻¹	判断	ICP-MS分析値 mg kg ⁻¹
精米粒1	1172	0.13	低い	0.12
精米粒2	177	0.02	低い	0.09
精米粒3	1497	0.14	低い	0.12
精米粒4	1168	0.13	低い	0.10
精米粒5	1700	0.24	時間切	0.25

測定時間（デッドタイムを除く実測定時間）が t (s) のとき、 $\sigma = \sqrt{I/t}$ (cps) で表され、検量線を使って統計変動に相当する濃度を算出できる。供試した精米粒試料のAs-K α 線のグロス強度から推算された統計変動の濃度換算値は、いずれの試料にも0.025 mg kg⁻¹であった。したがって、バックグラウンド推定の改善により、精米粒の600秒測定においても測定値のばらつきは検出器の統計変動の範囲内に抑えられていることが確認された。

上述のとおり、測定値のばらつきは検出器の理論統計変動の濃度換算値であることから、この濃度換算値を使ってスクリーニング分析ができる。すなわち、理論統計変動の濃度換算値 σ_c は、測定中のAs-K α 線のグロス強度と測定時間から算出でき、 σ_c の値は測定時間の平方根に反比例するので、測定時間が長くなるに従って小さくなる。このとき、 σ_c の値の3倍の範囲を超えて0.2 mg kg⁻¹より低いと判断できるまで測定すれば、危険率0.2%未満（片側確率0.13%）の水準で0.2 mg kg⁻¹未満のコメのスクリーニングができる。この手法を適用した結果を表4に示す。このときの最長測定時間は、装置の制約から1700秒とし、1700秒の時点で判断できないものは時間切れとした。総ヒ素濃度が0.09~0.12 mg kg⁻¹の精米試料については、177~1497秒で0.2 mg kg⁻¹を超えないと判断できた。一方、総ヒ素濃度が0.25 mg kg⁻¹の試料については、1700秒の測定で0.2 mg kg⁻¹を超えるのか超えないのかの判断ができなかった。この条件は片側確率1%未満なので、信頼性の高いスクリーニングができる一方で、測定時間が長くなり、時間内に判別できない試料も多くなる。使用した装置のソフトウェアでは、 σ_c の値の整数倍での判断しかできなかったが、ソフトウェアを調整して片側確率1%で判断するようにすれば、より短い時間で、多く試料のスクリーニングが可能になると考えられる。

3) 成果活用における留意点

使用する蛍光X線分析装置の機種により、総ヒ素測定の感度、測定値のばらつきは異なることから、使用する機種での検討が必要となる。本研究では、EA1300VX（日立ハイテクサイエンス）を基に、ヒ素測定用のフィルターを追加し、ヒ素に最適化したX線光学系となるように調整された装置を使用した。

4) 今後の課題

精米粒試料においても測定値のばらつきは検出器の統計変動であることから、現在の装置ではこれ以上の精度向上は難しい。しかしながら、現時点においてAs-K α 近傍のバックグラウンドレベルが高いことから、X線光学系の更なる改良などにより、バックグラウンドレベルを下げる事ができれば、理論統計変動は小さくなり、ばらつきが小さくなる事が期待できる。

中課題番号	13406604	研究期間	平成25～29年度
小課題番号	530	研究期間	平成25～28年度
中課題名	水稲におけるヒ素のリスクを低減する栽培管理技術の開発		
小課題名	ヒ素迅速分析法の土壌溶液、土壌および玄米への適用性評価と最適化		
小課題責任者名・研究機関	川崎 晃・農研機構 農業環境変動研究センター		

1) 研究目的

コーデックス委員会において玄米並びに精米に含まれる無機ヒ素の最大基準値がそれぞれ0.35 mg/kg、0.2 mg/kgと決められ、また、コメ中の無機ヒ素を低減する技術も求められていることから、今後コメ生産者並びに関連事業者、行政当局においては、コメ中無機ヒ素を把握する必要性が増大していくだろうと予想される。現在、玄米中の無機ヒ素濃度及び玄米中の無機ヒ素濃度に影響する土壌溶液や土壌（抽出液）中の無機ヒ素濃度を分析するためには高額な機器と熟練技術が必要である。本研究では、既存の無機ヒ素簡易分析法の玄米、土壌溶液、土壌への適用可否を明らかにすると共に、改良・最適化を行い、安価で簡便かつ妥当性確認のとれた無機ヒ素分析法を開発する。

2) 研究成果

①既存の無機ヒ素簡易分析法の検討

表 1. 各分析法での土壌抽出液中無機ヒ素の分析

分析法	抽出液中無機ヒ素 (mg L ⁻¹)	費用	使用試薬の点数	必要溶液量	1検体当たり分析時間*1	溶液定量下限 (mg L ⁻¹)
ICPMS*2	0.77	装置本体1,500万円以上	>2*3	1 mL	5分	0.0003
メルク社メルコクアントヒ素テストキット*4 (100回測定分)、改良 Gutzeit 法	0.81	14,100円	2	10 mL	30分	0.02
メルク社スペクトロファンヒ素テストキット (30回測定分)、AgDDTC 法	1	60,300円*5	7	350 mL	150分	0.005*6
ASV 法	0.89	装置本体数百万円以上	1*7	10 mL	15分	0.1*8

*1: 分析装置準備時間や検量線作成時間は含めず、抽出液から検液の調製や試薬添加及び反応、測定データ取得に要する時間。*2: 10 µL 注入のフローインジェクション分析をする場合。*3: 内部標準用単元素試薬及び移動相用硝酸。*4: キットでは色見本との比較からの簡易定量であるため定量値は得られないのでスキャナーを用いた定量化を行った（詳細は研究成果②参照）。*5: キット以外に必要なガラス器具、別売り試薬を含む。吸光光度計の価格は除く。*6: 10 mm UV セル使用時。*7: 還元剤としてチオ硫酸ナトリウム。*8: 作用電極に大きく依存。

コメに関しての無機ヒ素簡易分析法の比較は小課題番号510にて既に説明されているの

で、ここでは土壌抽出液について記載する。農用地土壌汚染対策地域の指定要件に係るヒ素の量の検定に用いられる抽出法（振とう幅のみ変更、 1 mol L^{-1} 塩酸使用）に準じて灰色低地土水田土壌からヒ素を抽出し、改良Gutzeit法、ジエチルジチオカルバミン酸銀吸光度法（AgDDTC法）、アノードリングストリッピングボルタンメトリー法（ASV法）を用いて分析した（これらの方法の概要は小課題番号510を参照）。各分析は水での希釈以外は土壌抽出液に対して最適化せずに、市販で一般的に利用できる器材のみを使用した。比較結果は表1のとおり、ICPMSでの機器分析値とどの方法も近い値を示しており、適当な最適化をおこなえば土壌抽出液にも適用できそうであった。しかし、分析費用や分析時間、必要とする検液量を考えると改良Gutzeit法の利用に有利な点が多く、また小課題番号510で実施したコメでの簡易分析法の比較から改良Gutzeit法を土壌抽出液や土壌溶液、コメ試料へ最適化していくことが適当と判断された。

②メルク社のヒ素テストキット（改良Gutzeit法）の改良

比較試験で良好な結果が得られたメルク社のヒ素テストキットは飲料水や環境水等への適用を考えられたものであり、土壌抽出液やコメ抽出液等への適用に当たっては多くの変更を行った。その際に、元のキットの内容物を使用せず市販の試薬のみで分析ができるように変更した。キットでは、無機ヒ素を酸と亜鉛粉末により還元し生成させた揮発性の水素化ヒ素（アルシン）により、臭化水銀を塗布した試験紙を発色させ比色定量している。しかし、近年毒性の高い水銀を使用した分析法に対しては代替法が求められているため、キット内の臭化水銀が塗布された試験紙の代わりに、ブランク試験紙に硝酸銀溶液を塗布し用いた（図1、図2）。またキットでは定量は色見本との比較であることから定量値が得られず、反応溶液中の無機ヒ素濃度範囲が与えられるのみである。そのため、フラットヘッドスキャナーで読み取った呈色部分画像をRGB値表記した際のB値と反応液中の無機ヒ素濃度との相関が高いことを利用して定量値を得ることができた（図3）。



図1. 改良Gutzeit法での反応の様子（酸銀塗布試験紙はキャップに固定）



図2. 反応液中無機ヒ素濃度による硝酸銀塗布試験紙の呈色の変化

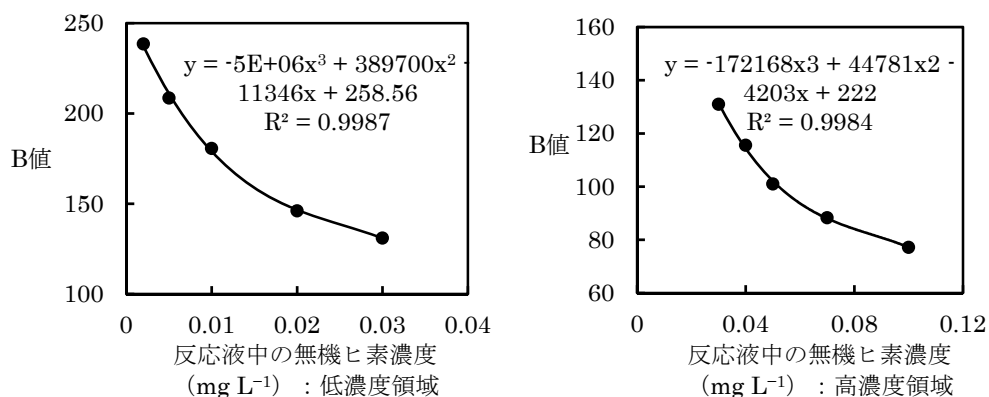


図3. 反応液中無機ヒ素濃度と呈色部の平均B値との関係

③ 土壌抽出液、土壌溶液の簡易分析

日本土壌肥料学会監修の土壌環境分析法（博友社、1997年、ISBN-13: 978-4826801683）に記載されているアスコルビン酸添加酸性シュウ酸アンモニウム抽出法で抽出した3種の土壌抽出液に対して硝酸銀呈色試験紙を用いた改良Gutzeit法（以下、簡易分析法）を適用した結果を表2に示した。簡易分析の結果は、低濃度の黒ボク土に関してはやや高めだったもののHPLC-ICPMSによる分析値と良い一致を示した。ブランク溶液の標準偏差の30倍から計算した反応溶液における溶液定量下限は0.0033 mg L⁻¹であり、添加回収試験の結果も良好であった。また、農用地土壌汚染対策地域の指定要件に係るヒ素の量の検定に用いられる抽出法（振とう幅のみ5 cmに変更、1 mol L⁻¹塩酸使用）に準じて抽出した抽出液に対してもHPLC-ICPMSと簡易分析による分析値を比較した（表3）。低濃度の黒ボク土に関してはやや高めだったもののHPLC-ICPMSによる分析値と良い一致を示した。同様に土壌溶液に関する添加回収率、相対標準偏差も良好な結果を与えた（表4）。

表2. アスコルビン酸添加酸性シュウ酸アンモニウム土壌抽出液の簡易分析

	灰色低地土	グライ土	黒ボク土
HPLC-ICPMS法での分析値(mg L ⁻¹)*1	0.51 ± 0.06	0.56 ± 0.01	0.052 ± 0.002
簡易分析法での分析値(mg L ⁻¹)	0.56 ± 0.07*2	0.52 ± 0.03*2	0.066 ± 0.004*3
相対標準偏差	13.4%	5.3%	5.7%
添加回収率*4	85-109%	90-94%	87-103%

分析値: 平均 ± 標準偏差、n = 3

*1: 抽出液を適宜希釈後、標準添加法により分析。*2: 抽出液を100倍に希釈後分析。*3: 抽出液を10倍に希釈後分析。*4: 灰色低地土、グライ土は共に抽出液の100倍希釈液にそれぞれ0.005 mg L⁻¹、0.01 mg L⁻¹となるように亜ヒ酸を添加。黒ボク土は抽出液の10倍希釈液に0.005 mg L⁻¹となるように亜ヒ酸を添加。

表3. 1 mol L⁻¹塩酸土壌抽出液の簡易分析

	灰色低地土	グライ土	黒ボク土
HPLC-ICPMS法での分析値(mg L ⁻¹)*1	0.311 ± 0.005	0.361 ± 0.010	0.056 ± 0.005
簡易分析法での分析値(mg L ⁻¹)*2	0.337 ± 0.028	0.367 ± 0.022	0.069 ± 0.004

分析値: 平均値 ± 標準偏差、*1: 抽出液を50倍に希釈して分析。n = 3。*2: 灰色低地土、グライ土は抽出液を50倍に希釈、黒ボク土は抽出液を10倍に希釈して分析。n = 4-5。

表4. 土壌溶液の簡易分析

	灰色低地土	グライ土	黒ボク土
添加回収試験での添加後濃度(mg L ⁻¹)*1	0.0061	0.0057	0.0052
簡易分析法での分析値(mg L ⁻¹)*2	0.0067 ± 0.0001	0.0063 ± 0.0002	0.0053 ± 0.0004
相対標準偏差	1.8%	2.7%	6.6%
添加回収率*3	103-109%	111-119%	86-100%

分析値: 平均 ± 標準偏差、n = 3

*1: ICPMSにより分析した土壌溶液の分析値に亜ヒ酸添加分0.005 mg L⁻¹を加算した濃度。*2: 土壌溶液の5倍希

积液に 0.005 mg L^{-1} となるように亜ヒ酸を添加後分析。*3: (添加後濃度-添加前濃度)/添加濃度(0.005) × 100。

④ 土壌抽出液無機ヒ素簡易分析の室間共同試験

農用地土壌汚染対策地域の指定要件に係るヒ素の量の検定に用いられる抽出法（振とう幅のみ5 cmに変更、 1 mol L^{-1} 塩酸使用）に準じて抽出した5種の土壌抽出液に対して、図4に示した簡易分析法を用いて分析した室間共同試験の結果を表5に示した。最も低濃度の試料についてはHorRatが2を超えたが、 0.366 mg L^{-1} 以上の試料についてはHorRatが2未満となり分析法の妥当性を確認できた。

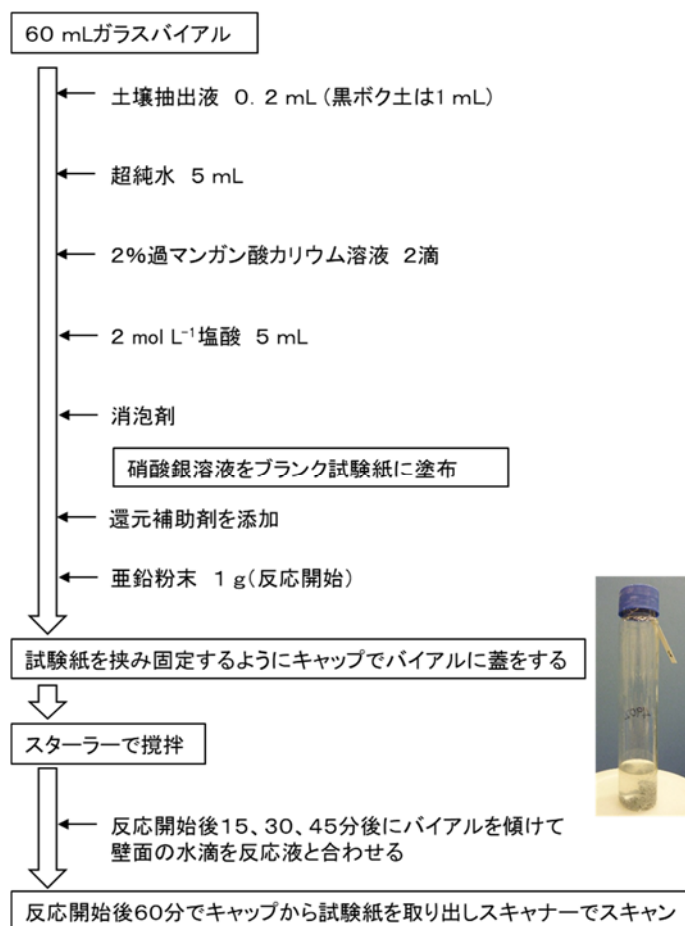


図4. 土壌抽出液の簡易分析スキーム

表5. 土壌抽出液中無機ヒ素簡易分析の室間共同試験結果

有効試験所数*	平均値 (mg L ⁻¹)	併行標準偏差 (mg L ⁻¹)	併行許容差 (mg L ⁻¹)	室間再現標準偏差 (mg L ⁻¹)	室間再現許容差 (mg L ⁻¹)	併行相対標準偏差 (%)	室間相対標準偏差 (%)	Horwitz-predicted 室間再現相対標準偏差 (%)	HorRat
9	0.236	0.057	0.159	0.098	0.275	24.0	42	20	2.10
9	0.366	0.052	0.147	0.066	0.185	14.3	18	19	0.97
9	0.369	0.026	0.072	0.087	0.243	7.0	24	19	1.27
9	0.505	0.031	0.087	0.088	0.246	6.2	17	18	0.98
8	0.908	0.055	0.154	0.072	0.202	6.1	8	16	0.49

*コクラン検定、シングルグラブ検定、ペアグラブ検定を順におこない外れ値を除いたものを解析。

⑤玄米の簡易分析

玄米からの無機ヒ素の抽出に機器分析で多用されている希硝酸を用いるとアルシンの生成を阻害するので、塩酸と過酸化水素の混合溶液を用いた。過酸化水素は無機ヒ素と同様に硝酸銀塗布試験紙を発色させる抽出液中の硫化物を酸化することで、硫化物による干渉を除去する。抽出液玄米は土壌試料に比べて無機ヒ素濃度が低いため、使用する検液量を多くする必要があり、マトリックスの影響が見られた。そこで、ほとんどヒ素を含まない玄米の抽出液にヒ酸標準液を添加し分析することでマトリックスマッチング検量線 (MMCAL) を作成した (図5)。MMCALを用いると特に低濃度の定量値が改善された (表6)。このMMCALに合致するように、玄米中無機ヒ素濃度とRGB値表記のB値が対応する色見本を顔料インクジェットプリンタにて作成した (図6)。ヒ素標準液を用いて検量線を作成しない場合でも、色見本をスキャナーで読み込みそのB値から検量線を作成できるようになったことで、より簡便な方法へと改良された。玄米に含まれるジメチルアルシン酸については、その濃度の1割程度が無機ヒ素として定量される程度であり、ジメチルアルシン酸濃度が無機ヒ素に比べて低い国内産米については問題にならないことを確認した。

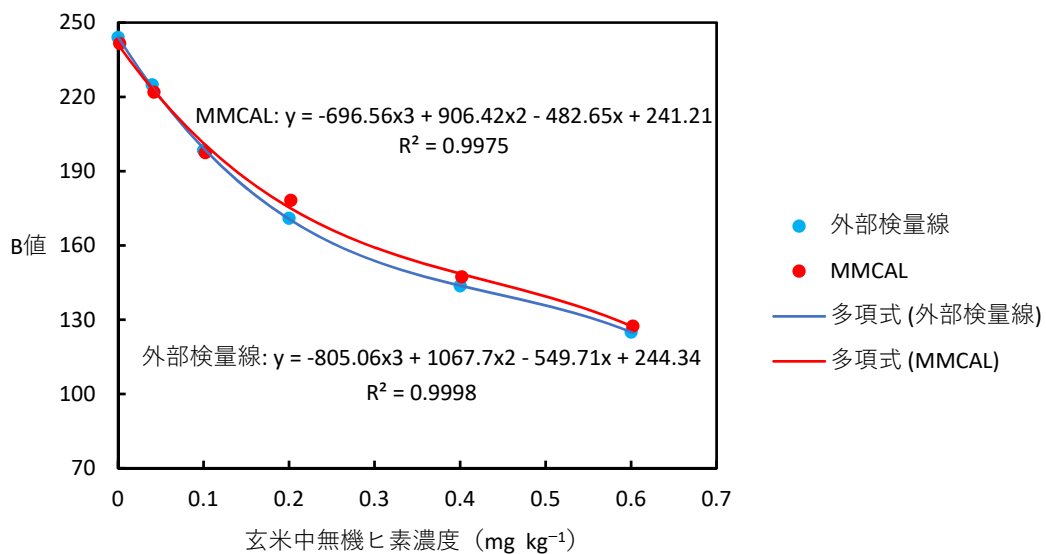


図5. 外部検量線とマトリックスマッチング検量線

表6. 2種の検量線での分析値の比較

	HPLC-ICPMS (mg kg ⁻¹)	簡易分析 (mg kg ⁻¹)	
		外部検量線	MMCAL
高ヒ素濃度玄米	0.288 ± 0.018	0.237 ± 0.009	0.276 ± 0.007
低ヒ素濃度玄米	0.073 ± 0.011	0.047 ± 0.003	0.072 ± 0.005

平均値 ± 標準偏差、米：機器分析: n = 2、簡易分析: n = 5。固液比 1:4 で抽出後、抽出液を 20 倍に希釈して HPLC-ICPMS 分析、簡易分析は抽出液を 5 倍に希釈して分析。



図6. 作成した色見本（B値が正確になるように印刷、R値、G値は参考程度）
左側から、玄米中無機ヒ素含量0.042、0.102、0.202、0.402、0.602、0.802 mg kg⁻¹に相当

⑥玄米中無機ヒ素簡易分析の室間共同試験

表7に示した5濃度レベルの玄米粉末に対して図7、図8に示した簡易分析法を用い分析した室間共同試験の結果を表8に示した。0.1 mg kg⁻¹程度の無機ヒ素を含む玄米に対しては適用困難であったが、0.20 mg kg⁻¹以上の玄米に対してはそのHorRat値が<2であることから簡易分析法を適用できることが分かった。

表7. 均一性確認試験結果（FAPASの技能試験プロトコル2002に準拠、分析はHPLC-ICPMS）

サンプルNo.	マテリアル1 (mg kg ⁻¹)		マテリアル2 (mg kg ⁻¹)		マテリアル3 (mg kg ⁻¹)		マテリアル4 (mg kg ⁻¹)		マテリアル5 (mg kg ⁻¹)	
1	0.103	0.097	0.185	0.187	0.239	0.244	0.285	0.285	0.609	0.613
2	0.099	0.100	0.188	0.185	0.244	0.243	0.288	0.285	0.599	0.599
3	0.096	0.100	0.186	0.185	0.244	0.240	0.286	0.284	0.609	0.602
4	0.098	0.100	0.189	0.186	0.249	0.246	0.289	0.286	0.598	0.602
5	0.095	0.095	0.187	0.188	0.243	0.242	0.287	0.288	0.598	0.604
6	0.097	0.099	0.191	0.188	0.240	0.238	0.286	0.282	0.602	0.599
7	0.096	0.100	0.185	0.187	0.244	0.241	0.290	0.283	0.615	0.601
8	0.097	0.098	0.188	0.189	0.228*	0.240*	0.290	0.280	0.595	0.611
9	0.100	0.099	0.188	0.183	0.242	0.244	0.293	0.296	0.596	0.602
10	0.097	0.098	0.186	0.185	0.239	0.241	0.292	0.292	0.600	0.594
平均値	0.098		0.187		0.242		0.287		0.602	
サンプル ング誤差 の分散	0**		9.0 × 10 ⁻⁸		3.4 × 10 ⁻⁶		5.8 × 10 ⁻⁶		2.8 × 10 ⁻⁶	
判定値 基準	4.2 × 10 ⁻⁶		3.1 × 10 ⁻⁶		3.7 × 10 ⁻⁶		1.1 × 10 ⁻⁵		3.4 × 10 ⁻⁵	

*コクラン検定で外れ値となったため、その後の計算には使用せず。

**反復誤差の分散がサンプリング誤差の分散より大きいため0とした。

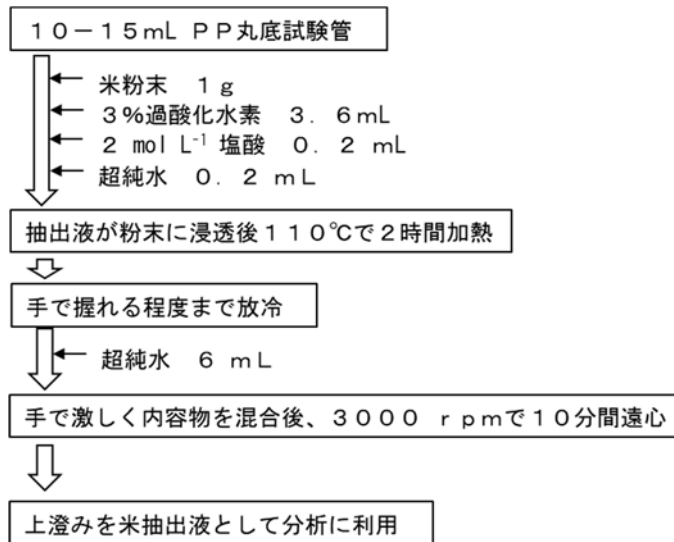


図7. 玄米粉末からの無機ヒ素抽出スキーム

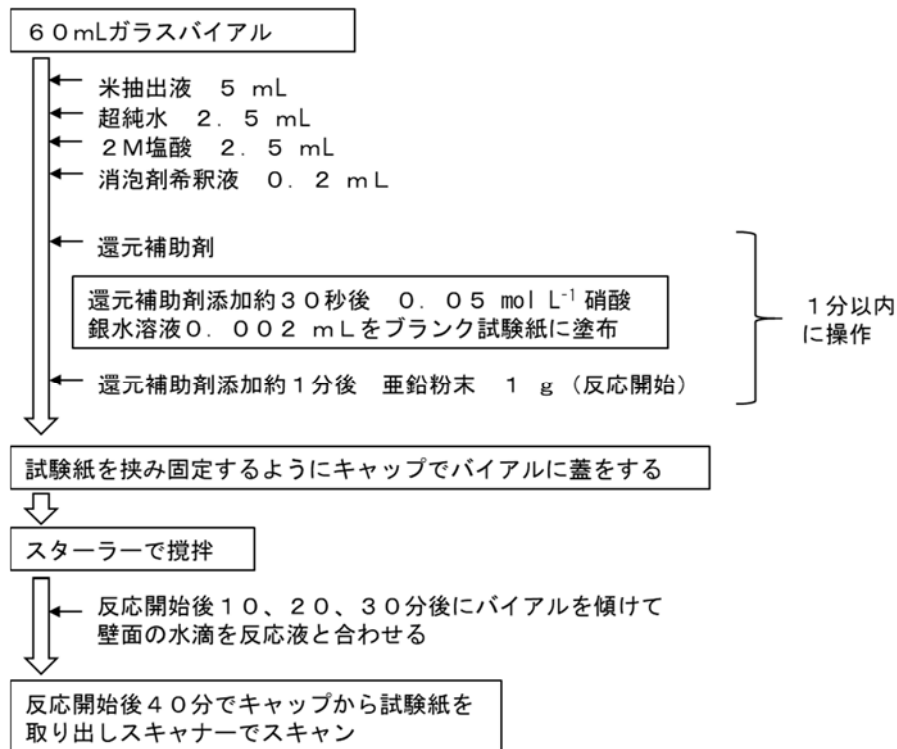


図8. 玄米抽出液の簡易分析スキーム

表8. 玄米中無機ヒ素簡易分析の室間共同試験結果

有効 試験 者数	併行 平均値	併行	室間	室間	併行	室間	Horwitz- predicted RSDR*	HorRat	
		標準	許容	再現	再現	相対			再現
		偏差 Sr	差 2.8 × Sr	標準 偏差 SR	許容差 2.8×SR	標準 偏差 RSDr			相対 標準偏差 RSDR
(mg kg ⁻¹)	(mg kg ⁻¹)	(mg kg ⁻¹)	(mg kg ⁻¹)	(mg kg ⁻¹)	(%)	(%)	(%)		
5**	0.077	0.040	0.113	0.028	0.079	52	37	22	2.38
10	0.208	0.064	0.179	0.071	0.200	31	34	20	1.69
9***	0.241	0.033	0.092	0.042	0.119	14	18	20	0.89
8****	0.311	0.028	0.079	0.056	0.156	9	18	19	0.94
9	0.608	0.028	0.077	0.117	0.329	5	19	17	1.12

*Horwitz の式の修正式を使用

**検量線の範囲外の分析値となった試験者が多数出たため検定は参考. RSDr > RSDR のため HorRat の計算には RSDr の値を使用

***外れ値検定 (コクラン検定及びグラブス検定) で試験者数の 2/9 を超える数が外れ値となったため、外れ値を除かず検定

****外れ値検定 (コクラン検定:上側危険率 2.5%) により 1 試験者が除外

⑦ 稲わらの簡易分析

分析は基本的に玄米の簡易分析法に従ったが、わらでは玄米よりも高濃度で無機ヒ素を含有するため、検量線の範囲に収まるように抽出時の固液比及び抽出液の希釈倍率を上げた。わら粉末試料から抽出した抽出液にヒ酸を添加した後に簡易分析し、その回収率が良好であることを確認した (表9)。茎葉から玄米中無機ヒ素の濃度を早期予測するなどの活用ができると考えられる。

表9. わら抽出液へ添加したヒ酸の回収率

ヒ酸添加量*	平均 ± 標準偏差**	回収率
0.05 µg	0.045 ± 0.004 µg	89%
0.3 µg	0.290 ± 0.004 µg	97%

*抽出及び希釈を考慮すると添加量0.05 µgはわら中無機ヒ素含量1.25 mg kg⁻¹に相当し、添加量0.3 µgはわら中無機ヒ素含量7.5 mg kg⁻¹ (飼料稲わら中総ヒ素の基準は7 mg kg⁻¹)に相当する。

** n = 3、*ヒ酸無添加時の平均値 (0.037 µg) を分析値から引いた値

3) 成果活用における留意点

①色見本の長期安定性については試験中であるが、ラミジップなどの遮光性・ガスバリア性能を持った袋に保管しておけば半年程度は安定なことは確認されている。

②簡易分析で精度良く分析するためには操作に慣れる必要がある。また、操作上の留意点もあるので講習会 (29年度から開催) を利用するなどすること。

③プロジェクトの終了以降も改良を重ねているので (最新版分析法詳細は別資料1参照)、利用の際には問い合わせなどして最新の情報を得ること。

④輸入米はジメチルアルシン酸の割合が高いものがあるため注意が必要であるが、総ヒ素の50%がジメチルアルシン酸のコメにおいても高々10%無機ヒ素を高めに評価してしま

う程度である。

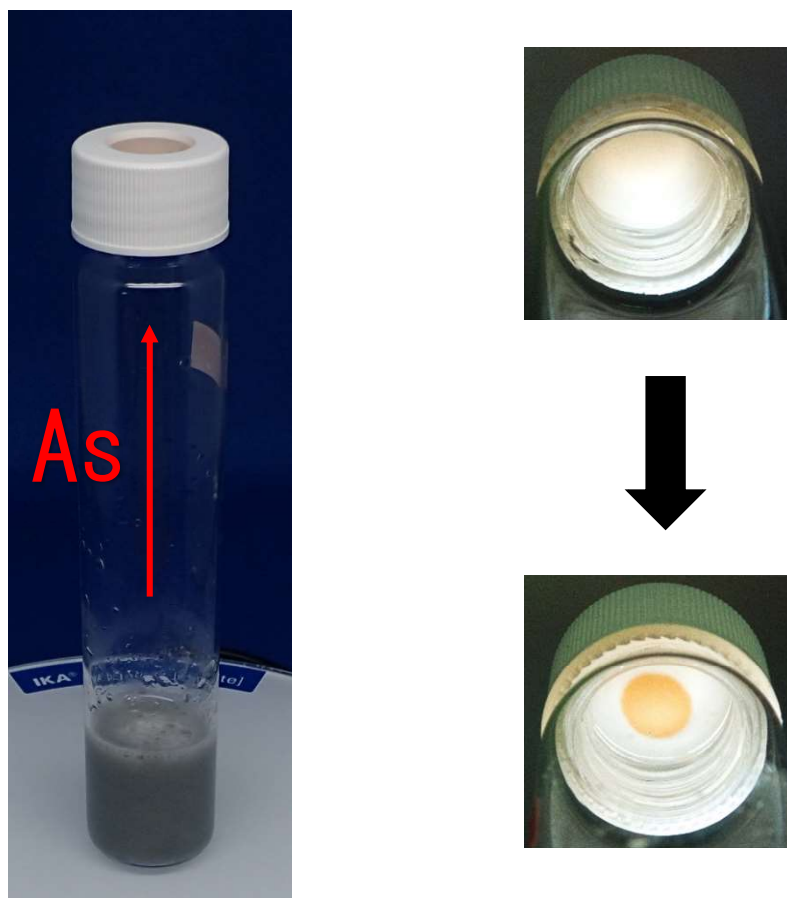
4) 今後の課題

①プロジェクト期間内では 0.2 mg kg^{-1} 未満の低濃度無機ヒ素玄米について妥当性が確認できなかった。また、玄米より無機ヒ素濃度が低い精米についても十分な検討がおこなえなかった。プロジェクト終了後さらに分析法が改善され精米についても対応しているので、これらの低濃度試料についても今後室間共同試験をおこない妥当性を確認していく必要がある。

②講習会等を引き続き開催すると共に利用者の要望に沿った改良をおこない普及を進めていく必要がある。

【標準操作手順書】

コメ中無機ヒ素の簡易分析法



Ver. 1.0

2019年3月

農研機構・農業環境変動研究センター

有害化学物質研究領域

はじめに

コーデックス委員会において玄米並びに精米に含まれる無機ヒ素の最大基準値がそれぞれ 0.35 mg/kg、0.2 mg/kg と決められたことを受け、今後、国内基準値が設定されることも考えられるため、コメ生産者並びに関連事業者、行政当局においては、コメ中無機ヒ素を把握する必要性が増大していくだろうと予想される。現状ではコメ中無機ヒ素の分析は十分な知識・技能を有した分析者による高価で高度な機器を用いた分析法しかなく、分析ができる機関も限られている。このため、より安価、より現場に近いところで分析が可能な方法が求められている。

本簡易分析法はコメ粉末から抽出した試験溶液中の無機ヒ素を還元水素化したアルシingasにより試験紙に塗布した硝酸銀を発色させ、その発色をスキャナーで読み取り定量化するという簡単なもので、一般的な実験室で実施でき、1 検体当たり 100 円程度の費用で分析が可能である。

本簡易分析法の利用にあたっては本標準操作手順書を理解した上でご利用いただき、不明な点は問い合わせさせていただきたい。

目次

1. 試薬・器具等・検量線作成用溶液・分析用試料	1
2. 器材の準備	3
3. 試薬の調製	4
4. 分析手順	5
5. 色見本を用いた検量線の作成	10
6. 呈色用円形ろ紙の画像解析	11
7. コメ中無機ヒ素含量の定量	12
8. 廃棄物の処理	12
付録. 分析法の妥当性確認データ	13

1. 試薬・器具等・検量線作成用溶液・分析用試料

(1) 試薬 (**太字**は指定のものを使用、それ以外は同等品で良い)

- ① 超純水 (18 MΩ 以上)
- ② 2 mol/L 塩酸* (例: 和光純薬 容量分析用 2 mol/L 塩酸)
*ヒ素分析用濃塩酸を希釈し作成しても良い
- ③ 30%過酸化水素水* (例: 関東化学 原子吸光分析用過酸化水素)
*30% 過酸化水素は劇物扱いになるので、6wt%以下の過酸化水素を用いることもできる。
- ④ **消泡剤(和光純薬 消泡剤PE-M 販売元コード010-17211または012-17215)**
- ⑤ モリブデン酸ナトリウム (例: 関東化学 特級モリブデン(VI)酸二ナトリウム二水和物)
- ⑥ タングステン酸ナトリウム (例: 関東化学 特級タングステン(VI)酸二ナトリウム二水和物)
- ⑦ **亜鉛粉末(和光純薬 ひ素分析用亜鉛粉末 販売元コード266-00901または268-00905)**
- ⑧ 0.1 mol/L 硝酸銀溶液* (例: 和光純薬 容量分析用 0.1 mol/L 硝酸銀溶液)
*より高濃度の硝酸銀溶液を用いても良い
- ⑨ 濃塩酸 (分析には不要だが、器具洗浄の際にあると便利、一般グレードで十分)
- ⑩ エタノール (分析には不要だが、器具洗浄の際にあると便利、一般グレードで十分)

(2) 器具等 (**太字**は指定のものを使用、それ以外は同等品で良い)

- ① 60 mL 揮発性有機化合物分析用 (VOA) バイアル (クリア)
- ② 呈色用円形ろ紙 (GE ライフサイエンス社の 3MM Chr **プロットィングろ紙** を 22 mm のサークルカッターやポンチにより円形にカットして用いること)
- ③ 10-15 mL PP 丸底試験管 (スクリューキャップ付き) *
*抽出に使用する。PP 遠沈管 (スクリューキャップ付き) でも代用可であるが丸底推奨。
- ④ **スターラー***及び回転子 (15 mm)
*複数の試験を同時並行で進めるなら多連スターラーを推奨する。強(磁)力スターラーなら複数の試験を 1 個のスターラーで実施できるが、各試験において十分な攪拌が得られない場合があると共に回転子が暴れやすいため事前の検討が必要。磁力が弱いスターラーの場合、試験数だけスターラーが必要。
- ⑤ **ピペットチップ** (5 μL、100 μL、1000 μL を採取できるもの) *

*5 mL チップがあると便利だが無くても良い

- ⑥ ピペッター（上記チップに対応のもの）100 μ L を採取できるピペッターは2本必要。
- ⑦ 薬包紙（中または大サイズのもの）
- ⑧ 薬さじ
- ⑨ ブロックヒーター及びブロック（使用する試験管に合った形状・サイズのもの）*
*ホットプレートとブロックの組み合わせでも代用できるが温度の確認が必要。また、恒温乾燥器の利用も可能だが設置場所によって温度ムラが非常に大きいため事前の検討が必要。
- ⑩ 遠心機（無くても可、あれば便利）
- ⑪ ストップウォッチ（時計でも代用可）
- ⑫ 天秤*
*最低限 0.01 g まで読み取れ、1 g 前後の重量が測れれば良いが、小数点以下の表示桁数がより多くても良い。
- ⑬ 500 mL ガラスビーカー*
*1 台の強カスターラーで複数の分析を同時に実施する場合のみ必要
- ⑭ 2 mL ガラスバイアル（内側がテフロン製のセプタムのスクリュューキャップ付き）
- ⑮ 100 mL、1 L の PP ボトル*
*ボトルの大きさは調製する試薬量に応じて変更して良い。
- ⑯ 超音波洗浄器（無くても可、分析後のガラスバイアルの洗浄にあれば便利）

(3) 画像解析の器材（太字は指定のものを使用、それ以外は同等品で良い）

- ① **色見本（本標準操作手順書作成者より入手）***
*色見本を使わない場合は、ヒ酸標準溶液と低無機ヒ素コメ粉末から検量線を作成するので、作成方法については本標準操作手順書作成者に問い合わせること。
- ② **フラットベッドスキャナー***
*専用機でなくてもスキャナー機能の他に印刷やコピー機能などを有した複合機も使うことができる。国内では主にエプソンかキャノンが安価なフラットベッドスキャナーを販売している（や）。また、測色計を利用しても良い（測定径が 5 mm 以下のもの）
- ③ **画像解析できるソフト**
オープンソースの GIMP または Adobe Photoshop Elements 等

(4) 分析用試料

コメ粉末（微粉末で粒状感のないもの）、50%体積粒径で 200 μm 以下を目安とする。理化学用の高価なミルでなくても、安価な家庭用のミキサーミルや抹茶用ミルを用いることができる。

2. 器材の準備

(1) 画像解析ソフトのインストール

- ① GIMP の HP (<https://www.gimp.org/>) からプログラムをダウンロードし、ファイルを実行後、画面の指示に従いインストールをおこなう。インストールの途中でインストール時の言語の選択が可能だが、English のままで良い。

(2) スキャナーの接続と設定

使用する PC でスキャナーを初めて使用する場合は、スキャナーの説明書に従い使用できる状態にしておくこと。スキャナーの設定は以下の通り、

- ① 出力解像度…300 dpi
- ② 画像補正……全て無し
- ③ 保存形式……TIFF
- ④ 色の設定……

Epson 製スキャナーの場合：EPSON Scan において環境設定（図 1 左）を開き、カラータブから ICM を選択し、ソース（スキャナー）には Epson 標準、ターゲットには sRGB を選択する。

Canon 製スキャナーの場合：ScanGear において詳細設定（図 1 右）を開き、色の設定タブからカラーマッチングを選択し標準に戻すボタンを押す。出力プロファイルを sRGB IEC61966-2.1 に変更する。

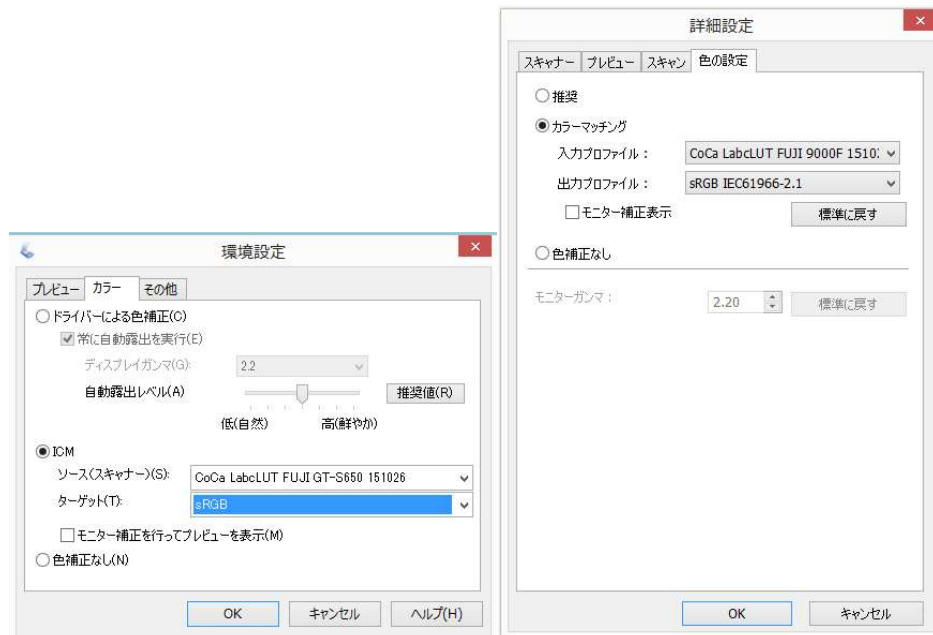


図 1. スキャナーの色設定

(3) 新品 VOA バイアルの洗浄

ふたのできる PP 製ボトル等にバイアルを入れ希塩酸をバイアルが浸るまで注ぎふたを閉め、一昼夜放置後バイアルを取り出し超純水で数回すすぐ。新品の VOA バイアルからは分析に支障が出るほどのヒ素が溶出する場合があるので、必ず酸洗浄すること。洗浄したバイアルは一度、コメ抽出液の代わりに超純水を用いて空試験をおこないバイアルからの汚染が無いことを確認する。

3. 試薬の調製

調製する試薬量や容器の大きさは必要に応じて変更して良い。

(1) 0.40 mol / L 過酸化水素水の調製

1L PP ボトルに 30%過酸化水素水（メーカーにより 30 g / 100 mL の場合と 30 g / 100 g の場合がある。ここでは 30 g / 100 g とする。）を 45.35 g 秤量し、超純水を加えて 1.00 kg とし、ふたを閉め良く振り混ぜる（0.40 mol / L 過酸化水素水の比重を 1 g / mL と見なす）。使いやすいように適当なサイズの PP ボトルに分取して使用する。調製後、冷暗所で保管し、使用期限は 1 年以内とする。

(2) 還元助剤の調製（0.020 mol / kg モリブデン酸ナトリウムと 0.010 mol / kg タングステン酸ナトリウムを含む水溶液）

1L PP ボトルにモリブデン（V I）酸ナトリウム二水和物 4.84 g と タングステン（V I）酸ナトリウム二水和物 3.30 g を秤量し、超純水を加え

て 1.00 kg とし、ふたを閉め良く振り混ぜる。

使いやすいように PP 試験管に分取して使用する。調製後、常温で保管し、使用期限は 1 年以内とする。

(3) 0.050 mol / L 硝酸銀水溶液

2 mL ガラスバイアルにピペッターで超純水 0.8 mL と 0.1 mol / L 硝酸銀水溶液 0.8 mL を加え、ふたを閉め良く振り混ぜる。冷暗所で保管し、使用時に薄黄色がかかった変色や灰黒色の不溶物が生じていたら調製し直す。

(4) 消泡剤

PP 試験管に分取して使用する。

4. 分析手順

亜鉛添加後は毒性のアルシリングスが発生する。密閉容器内での反応であるためアルシリングスの臭気を感じることは無いが、ドラフト内あるいは風通しのよい場所で試験すること。また、直射日光により硝酸銀が呈色するので、直射日光を避け室内で試験すること。

- (1) 使用する抽出用試験管に適用できるサイズのブロックヒーター*を準備し、110°C に加熱しておく。

*ブロックヒーターが無い場合はホットプレートとブロックの組み合わせが利用できる。但し、温度を実測により確認すること。



図 2. 過酸化水素水の添加

- (2) コメ粉末 1.00 g を秤量し試験管に加える。
- (3) ブロックヒーターが 110°C で安定しているのを確認する。
- (4) 試験管を傾けて試験管の底が一部見える程度までコメ粉末を片側に寄せる (図 2)。試験管の底に向けて抽出液として 0.40 mol / L 過酸化水素水 4 mL (1 mL × 4) *をピペッターで勢いよく加える (液体をコメ粉末に浸透しやすくするため)。加え終わったら蓋をしっかりと閉める。
*4 mL を一度に勢いよく加えると内容物があふれるので、1 mL × 4 回にすること。
- (5) 分析検体数だけ抽出液を加えたら、慎重にふたを弛めてガスを抜く*
*コメ中カタラーゼによる過酸化水素の分解が抽出液添加直後から始まり、発生した酸素で試験管内は加圧状態になっている。検体数が多いと加熱までに過酸化水素がほとんど消費されてしまうので、抽出液添加後から 10 分以内に加熱を開始できる程度の検体数にすること。10 分以上置くと抽出後に

コメが底に固まっている場合があり、その場合は再試験が必要。

- (6) 試験管のふたを再度しっかりと閉め、コメ粉末に液体が十分しみ渡るまで手で勢いよく振る。
- (7) 試験管をブロックヒーターにセットし3時間(精米で4時間)、110°C*で加熱し無機ヒ素を抽出する。**
*抽出液は97°C~99°Cになっている。110°C以上の設定はPPの耐熱を超えてしまうので不可。
- (8) 加熱終了後(図3)、手で握れる程度まで放冷し、ふたを開けて超純水を6 mL加える。ふたを開けた際にねじ口の外側に垂れた液は拭きとっておく。
- (9) 再度ふたを閉め、手で激しく試験管を振った後3000 rpmで10分間遠心する。遠心機が無い場合は試験管を30分程度静置し残渣がある程度沈むのを待つ(多少固形分が上澄みにあっても構わない)。
- (10) 複数検体を同時並行で分析する場合は次の(11)から(17)の各段階において検体数だけ操作する。
- (11) 15 mm 回転子を60 mL VOAバイアルに入れ超純水で数回すすぐ。回転子が落ちないようにマグネットを利用すると便利。
- (12) 抽出液の上澄み5 mLをVOAバイアルにピペッターで加える。
- (13) 2 mol/L塩酸5 mLをVOAバイアルにピペッターで加える。
- (14) 亜鉛粉末1.00 gを1つの対角線のみ折り目を入れた*薬包紙上に薬さじで秤量しておく。
*後で円錐状に丸めやすくするため
- (15) 10 µLチップを装着したピペッターを1本、100 µLチップを装着したピペッターを2本用意しておく*。
*それぞれ5 µLの硝酸銀溶液、100 µLの還元助剤、5滴の消泡剤用である。消泡剤は粘性が非常に高いので5滴分より容量の大きなチップでないと操作が困難である。
- (16) スターラーの電源を入れ1200 rpm*に設定しておく。
*回転数が確認できない場合は、VOAバイアルねじ口部まで液跳ねが生じずかつ亜鉛粉末が十分分散する程度の回転数に調整する。複数検体を同時に1台の強カスターラーで回転させる場合は、500 mLビーカーをスターラー上に置きその中にバイアルを立てるとバイアルの転倒を防げる。

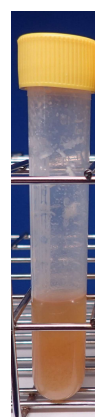


図3. 加熱終了後

- (17) 検体数分の VOA バイアルのふたの上に呈色用円形ろ紙を置き、硝酸銀溶液塗布のための準備をしておく (図4)。以下、(18) から (22) までの操作は 1 検体ずつ進めること。



図4. 硝酸銀溶液塗布の準備

- (18) VOA バイアルをスターラー上に置き還元助剤を 100 μL ピペッターで加える。内壁に付着した場合はバイアルを傾け反応液と合わせること。
- (19) 消泡剤を 100 μL チップを装着したピペッターで 5 滴滴下する*。
*粘性が高いので 5 滴滴下できる分より多めに吸引する。
- (20) 還元助剤添加約 60 秒後に 0.050 mol/L 硝酸銀溶液 5 μL をピペッターで取り、呈色用円形ろ紙の中央部にチップの先端を接触させ、ゆっくり液を押し出す (図5)。



図5. 呈色用円形ろ紙への硝酸銀溶液の塗布

- (21) 硝酸銀塗布面と反対側の面がセプタムと接触するように、呈色用円形ろ紙をバイアルキャップ内にはめ込む (図6)。



図6. 呈色用円形ろ紙のキャップへのセット

- (22) 還元助剤添加約 90 秒後に量り取っておいた亜鉛粉末を VOA バイアルに加え*、呈色用円形ろ紙をセットしたキャップを閉め**スターラーで攪拌する（反応開始）。
- *薬包紙を円錐状に丸めて液面に近いところから亜鉛粉末を静かに落とすこと。VOA バイアルの上部から亜鉛粉末を落とすと粉末が舞い呈色用円形ろ紙に付着してしまい、付着量が多い場合には画像解析に支障が出る。
- **VOA バイアル内で硝酸銀塗布面は反応液面に向き合っていることになる。発生するアルシingasが漏出しないようにしっかりと閉めておく。
- (23) 亜鉛粉末添加後、約 5 分、約 10 分、約 20 分の 3 回（厳密にこの時間でなくて、それぞれ数分ずれても良い）、バイアルを傾けてバイアル内壁に付着した液滴を反応液と合わせる*（図7）。



図7. バイアル内壁の付着した液の落とし込み

- *発生したアルシンが内壁の液体に溶け込み生じた無機ヒ素を反応液中に戻すと同時に発生する反応により生じた泡の泡切れをよくするためである。この際に、傾けすぎて試験紙を濡らしてしまわないこと。傾けすぎて試験紙を濡らした場合は、再試験が必要である。
- (24) 亜鉛粉末添加 40 分後に VOA バイアルからキャップを外し、呈色用円形ろ紙を取り出す*（反応終了）。
- *取り出しにくい場合はキャップ内のセプタムを円形ろ紙とは反対側から指で押すとセプタムごと取り出せる。未反応のアルシingasが漏出する恐れがあるので、キャップを外す際は特に換気に留意し、反応後のバイアル内の臭いを直接嗅ぐなどはしないこと。なおアルシンには独特なニンニクのような臭気があるとされている。
- (25) 取り出した円形ろ紙のスキナー画像を設定済みの条件で直ちに*取得し画像ファイルを保存する。
- *呈色は徐々に変色するので、反応終了後から遅くとも 5 分以内にはスキャ

ンを開始すること。

(26) (18) から (22) までを手際よくおこなった場合、例えば次の表のようなタイミングで5検体を同時に分析できる。もちろん、個々のバイアルに対する操作のタイミングが合っていれば、この表に従う必要は無い。各検体で操作のタイミングが重なる場合は、水滴を合わせる時間の方をずらす。表はストップウォッチ計測開始から30秒後に最初のサンプルに還元助剤を添加する場合。

表 1. 5 検体を分析する際の操作タイミング

検体番号	還元助剤と消泡剤の添加	硝酸銀塗布	亜鉛添加 (反応開始)	水滴を合わせる (1回目)	水滴を合わせる (2回目)	水滴を合わせる (3回目)	反応終了
1	0.5分	1.5分	2分	7分	12分	22分	42分
2	2.5分	3.5分	4分	9分	14分	24分	44分
3	4.5分	5.5分	6分	11分	16分	26分	46分
4	6.5分	7.5分	8分	13分	18分	28分	48分
5	8.5分	9.5分	10分	15分	20分	30分	50分

分析後のバイアル洗浄方法：バイアル洗浄の際、ガラス表面を傷つける恐れがあるため、**ブラシは使用しないこと**。回転子を取り出す必要は無いが、廃液用ポリタンクに落ちないようにマグネットを利用しながら洗浄作業すると良い。

- ① 反応後のバイアルは内容物を廃液用ポリタンクに廃棄し*、水でよくすすぎ残渣をなるべく除く。
*廃液用ポリタンクの投入口にロートを置き、台所用ゴミ取り不織布を被せると亜鉛だけ分離できる。亜鉛ごと廃液用ポリタンクに投入するとポリタンク内で酸と反応し水素ガスが発生し危険であるので注意すること。
- ② 超音波洗浄器があれば水をバイアルのネック部分まで加えて超音波洗浄器で5分間超音波洗浄する。内容物を廃液用ポリタンクに廃棄後、水でよくすすぎ洗液は廃液用ポリタンクに捨てる。超音波洗浄器が無ければ②を省略し③に。
- ③ 濃塩酸をバイアルのネック部分まで加え数分放置し内壁に付着した亜鉛を剥離させ落とす。劇物の濃塩酸を使いたくない場合は10wt%塩酸を用いて洗浄すること。その場合、濃塩酸よりも洗浄時間が長くなる。
- ④ 濃塩酸を適当なPPボトルに回収し(洗浄用として濃塩酸は使いまわす、多少亜鉛が入っていても構わない)、バイアルは水で2回すすぎ、洗液は廃液タンクへ捨てる。洗浄しても白い汚れがガラス内壁に残る場合は、濃塩酸を新しいものに

交換すること。

- ⑤ エタノールをバイアルのネック部分まで加えた後、回収する（洗浄用としてエタノールは使いまわす）。
- ⑥ 超純水で内部を数回すすぎ、水をよく切った後に内部に埃が付かないようにラップでくるむか、チャック付きポリエチレン袋などの袋に入れて次の利用まで保管する。乾燥過程で埃が付着するので完全に乾燥させる必要は無い。

5. 色見本を用いた検量線の作成

- (1) 設定済みの条件で色見本のスキャナー画像を取り込み保存する。
- (2) GIMP を立ち上げ保存した画像ファイルを GIMP から読み込む。「RGB 作業スペースに変換しますか？」と問われた場合は、「変換しない」を選択する。
- (3) 「ツール」もしくは「ウィンドウ」から「ツールボックス」を選択、さらに「ウィンドウ」から「ドッキング可能なダイアログ」を選択し「ツールオプション」と「ヒストグラム」を選択し表示させる。ツールボックスの中の「ズーム」ボタンをクリックし色見本の呈色部分を適当に拡大した後、「ツールボックス」の中の「楕円選択」を選ぶ。「ツールオプション」の中から「値を固定」を選択し、「サイズ」とする。サイズは 75×75 と変更する。呈色部分にカーソルを移動させクリックすると円形に選択される。選択は境界付近部分を外し、中心付近を含むように選択する（図 8）。

- (4) 「ヒストグラム」の「チャンネル」から「青」を選択し、「平均」の値（RGB 表色系で色を表現した際の平均 B 値）を記録する。*

*GIMP 2.10 のバージョンから B 値が直接数値としては表示されなくなったが、表示される数値に 255 を乗じると B 値が得られる。

- (5) 色見本の各色に対して B 値を記録する。
- (6) Excel 等の表計算プログラムにおいて、例えば B 値を B2 から B12 に入力し、コメ中無機ヒ素濃度 (mg kg^{-1}) を C2 から C12 に入力し、B 値を X 軸にコメ中無機ヒ素濃度を Y 軸として、エクセルで散布図を描画する。図 9 に例を示した。
- (7) 散布図から四次または三次（両方作図してみても、決定係数 R^2 が 1 に近い方を使う）の多項式近似を用いて近似曲線を作成する。この際に数式及び R^2 も同時に表示させる。
- (8) Excel の場合だと、四次の多項式近似 ($y=ax^4 + bx^3 + cx^2 + dx + e$) における、各係数 (a, b, c, d, e) を適当な空いているセルに INDEX 及び LINEST 関数を用いて取得する。例えば D2 から D6 のセルに次の式を入力する。

=INDEX(LINEST(B2:B12,A2:A12^{1,2,3,4}),1,1) ……a を取得する入力式
 =INDEX(LINEST(B2:B12,A2:A12^{1,2,3,4}),1,2) ……b を取得する入力式
 =INDEX(LINEST(B2:B12,A2:A12^{1,2,3,4}),1,3) ……c を取得する入力式
 =INDEX(LINEST(B2:B12,A2:A12^{1,2,3,4}),1,4) ……d を取得する入力式
 =INDEX(LINEST(B2:B12,A2:A12^{1,2,3,4}),1,5) ……e を取得する入力式

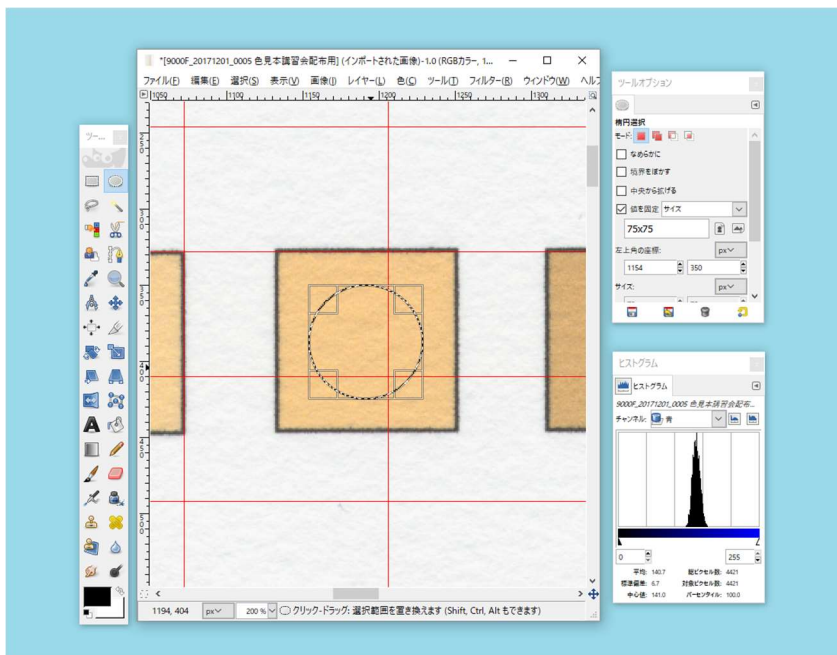


図 8. 色見本からの B 値の取得

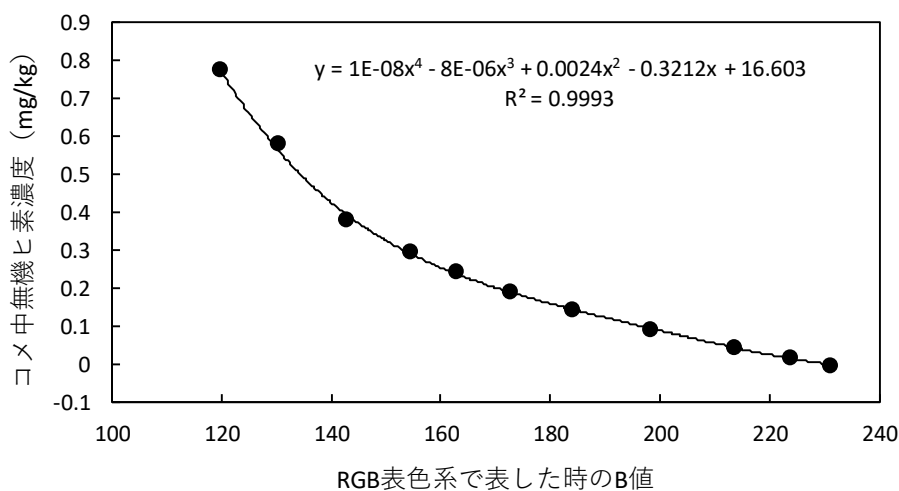


図 9. 色見本から作成された検量線例

6. 呈色用円形ろ紙の画像解析 (図 10 参照)

- (1) 保存した画像ファイルを読み込む。

- (2) 色見本と同様手順で直径 75 ピクセルの円で呈色用円形ろ紙中央部を選択する。
- (3) 選択部の平均 B 値を記録する。

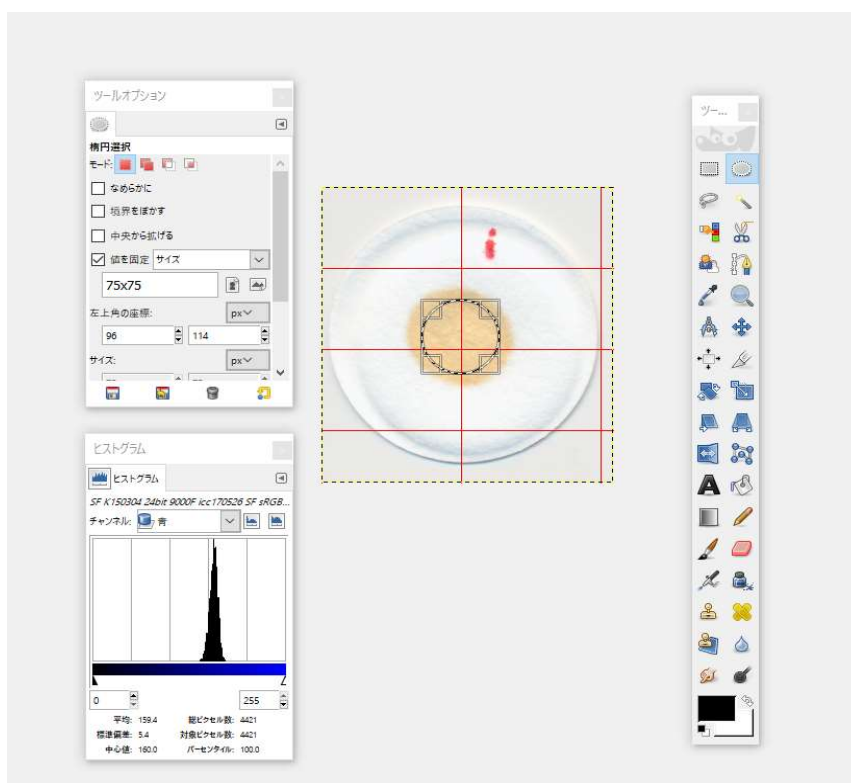


図 10. 画像解析画面

7. コメ中無機ヒ素含量の定量

コメ抽出液から得られた B 値と上で得られた多項式から抽出液中無機ヒ素含量を得る。

- (1) エクセルの適当な空のセルに任意の B 値を適当に入力する (例えば F2 セルに入力)。
- (2) エクセルの適当な空のセル例えば G2 に、5 (8) で得られた多項式と (1) で入力した B 値 (F2 セルに入力されているとする) から無機ヒ素含量を計算する。

例えば 5 (8) の例のように多項式の各係数が D2 から D6 に取得されているとすると、

$$= \$D\$2 * F2^4 + \$D\$3 * F2^3 + \$D\$4 * F2^2 + \$D\$5 * F2 + \$D\$6$$

を計算し、コメ中無機ヒ素濃度を求めることができる。

8. 廃棄物の処理

処理の方法は利用者の所属する組織のきまりに従い処理することになるが、1 例として下のような処理になる。

- (1) 使用済み亜鉛粉末はバイアル内溶液と分離し、回収し 1 カ所に集めて保管する（ポリ瓶でもガラス瓶でも良い）。量がまとまったら産業廃棄物として処理する。
- (2) 硝酸銀を塗布したろ紙は 1 カ所に集めて保管し（厚手のポリ袋でもポリ瓶でもガラス瓶でも良い）、量がまとまったら産業廃棄物として処理する。
- (3) 廃液は亜鉛を高濃度に含む 1 mol/L 塩酸が主であり、微量の消泡剤（ポリエーテル系）とモリブデン、タングステンを含む。重金属（酸性）の廃液タンクにまとめて保管し、量がまとまったら産業廃棄物として処理する。

以上

付録. 分析法の妥当性確認データ

表 1. 添加試験*における回収率、併行標準偏差、室内標準偏差、定量下限

	無機ヒ素 添加濃度 (mg / kg)	回収率 (%)	相対併行 標準偏差 (%)	相対室内 標準偏差 (%)	検出限界 (mg / kg)**	定量下限 (mg / kg)**
玄米***	0.07	92	7.3	18.1	0.03	0.09
	0.175	97	4.3	3.5		
	0.35	91	3.3	9.4		
精米***	0.04	97	6.2	9.0	0.01	0.05
	0.1	91	1.6	3.1		
	0.2	93	2.6	2.4		

*各試験日において 2 併行、5 日間試験を行った。

**検出限界並びに定量下限は最低濃度の添加回収試験計 10 回の標準偏差の 3 倍、10 倍を与える濃度とした。

***添加試験には高速液体クロマトグラフ—誘導結合プラズマ質量分析法での定量下限 0.002 mg / kg を下まわる試料を用いた。

表 2. コメ認証標準物質の分析

認証標準物質	無機ヒ素認証値 (mg / kg)	簡易分析値 (mg / kg)	認証値に対する 比率(%)
NIST 1568b	0.092	0.092	101
NMIJ 7532a	0.298	0.279	94
NMIJ 7533a	0.530	0.511	96

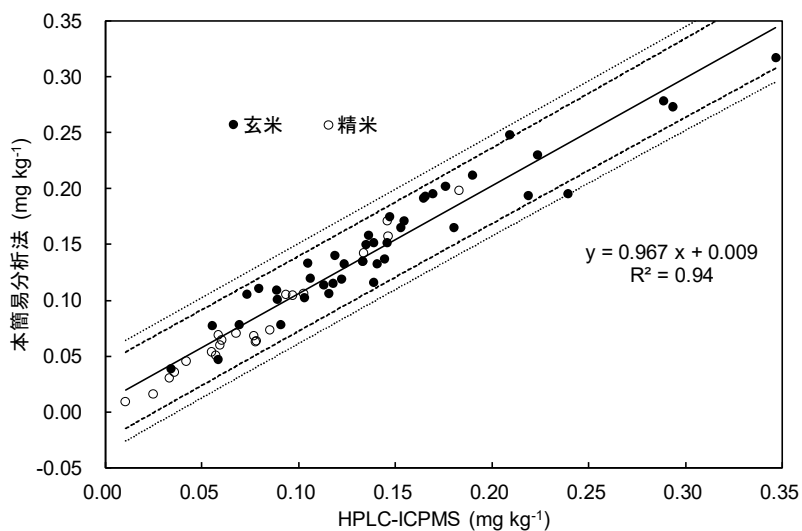


図 1. コメ中の無機ヒ素分析

破線：95%予測区間、点線 99%予測区間

本標準操作手順書は、農林水産省委託プロジェクト研究「食品の安全性と動物衛生の向上のためのプロジェクト」（平成25～29年度）の成果の一部を利用したものです。ただし、本標準操作手順書の内容は農林水産省の取りまとめ又は見解ではなく、農研機構・農業環境変動研究センター有害化学物質研究領域の責任において取りまとめたものです。

プロジェクトリーダー：加藤直人（農研機構・農業環境変動研究センター有害化学物質研究領域）

研究担当：川崎晃（農研機構・中央農業研究センター）・阿部薫（農研機構・農業環境変動研究センター物質循環研究領域）・馬場浩司（農研機構・農業環境変動研究センター有害化学物質研究領域）

標準操作手順書執筆：馬場浩司（農研機構・農業環境変動研究センター有害化学物質研究領域）

【標準操作手順書】コメ中無機ヒ素の簡易分析法

Ver. 1.0（2019年3月）

編集・発行：農研機構・農業環境変動研究センター
有害化学物質研究領域

〒305-8604 茨城県つくば市観音台3-1-3

問い合わせ先：馬場浩司

Tel: 029-838-8191

<http://www.affrc.go.jp/index.html>

E-mail: kojibaba@affrc.go.jp

成果等の集計数

課題番号	学術論文		学会等発表(口頭またはポスター)		出版図書	国内特許権等		国際特許権等		報道件数	普及しうる成果	発表会の主催(シンポジウム・セミナー等)	アウトリーチ活動
	和文	欧文	国内	国際		出願	取得	出願	取得				
13406478	1	19	38	14	1	0	1	0	0	0	1	1	2

(1)学術論文

区分: ①原著論文、②その他論文

整理番号	区分	機関名	タイトル	著者	掲載誌	巻(号)	掲載ページ	発行年	発行月
1	①	農研機構(食品研究部門)	Detection of masked mycotoxins derived from type A trichothecenes in corn by high-resolution LC-Orbitrap mass spectrometer	H. Nakagawa	Food Additives & Contaminants: Part A	30(8)	1407-1414	2013	5
2	①	農研機構(食品研究部門)	Detection of Aflatoxins B1, B2, G1 and G2 in Nutmeg Extract Using Fluorescence Fingerprint	K. Fujita	Food Science and Technology Research	19(4)	539-545	2013	9
3	①	東京大学	Correlation of ATP citrate lyase and acetyl CoA levels with trichothecene production in <i>Fusarium graminearum</i>	N. Sakamoto	Toxins	5(11)	2258-2269	2013	11
4	①	農研機構(食品研究部門)	Extraction of a <i>Fusarium</i> mycotoxin zearalenone in edible oils	Y. Zheng	JSM Mycotoxins	64(1)	23-27	2014	1
5	①	岐阜大学	A single nucleotide polymorphism in the translation elongation factor 1 α gene correlates with the ability to produce fumonisin in Japanese <i>Fusarium fujikuroi</i>	H. Suga	Fungal Biology	118(4)	402-412	2014	4
6	①	農研機構(食品研究部門)	Effect of milling on the content of deoxynivalenol, nivalenol, and zearalenone in Japanese wheat	Y. Zheng	Food Control	40(6)	193-197	2014	6
7	①	農研機構(食品研究部門)	Retention of <i>Fusarium</i> mycotoxins zearalenone and deoxynivalenol during Japanese soft wheat milling	M. Kushiro	Japanese Journal of Food Chemistry and Safety	21(3)	173-178	2014	12
8	①	東京大学	Precocene II, a Trichothecene Production Inhibitor, Binds to Voltage-Dependent Anion Channel and Increases the Superoxide Level in Mitochondria of <i>Fusarium graminearum</i>	T. Furukawa	PLOS ONE	10(8)	e0135031-e0135031	2015	8
9	①	農研機構(食品研究部門)	Detection of N-(1-deoxy-d-fructos-1-yl) Fumonisin B2 and B3 in Corn by High-Resolution LC-Orbitrap MS	Y. Matsuo	Toxins(Basel)	7(8)	3700-3714	2015	9
10	①	東京大学	Search for aflatoxin and trichothecene production inhibitors and analysis of their modes of action	S. Sakuda	Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	80(1)	43-54	2016	1
11	①	東京大学	Inhibitory Activities of Alkyl Syringates and Related Compounds on Aflatoxin Production	T. Furukawa	Toxins(Basel)	8(6)	177-177	2016	6
12	①	農研機構(食品研究部門)	Retention of zearalenone during cooking of noodles made from a Japanese soft wheat	M. Kushiro	Japanese Journal of Food Chemistry and Safety	23(2)	107-112	2016	8

13	①	農研機構(食品研究部門)	Addition of Carbon to the Culture Medium Improves the Detection Efficiency of Aflatoxin Synthetic Fungi	T. Suzuki・Y. Iwahashi	Toxins(Basel)	8 (11)	338-338	2016	11
14	②	東京大学	食品添加物を用いたアフラトキシン汚染防除	作田庄平ら	BIO INDUSTRY	5	1	2017	5
15	①	東京大学	The mode of action of cyclo(L-Ala-L-Pro) in inhibiting aflatoxin production of <i>Aspergillus flavus</i>	K. Iimuraら	Toxins	9(7)	219.	2017	7
16	①	東京大学	Intracellular superoxide level controlled by manganese superoxide dismutases affects trichothecene production in <i>Fusarium graminearum</i>	T. Furukawaら	FEMS Microbiology	364 (21)	213.	2017	11
17	①	農研機構(食品研究部門)・福井工業大学	Isolation of minor aflatoxigenic fungi using dichlorvos-ammonia (DV-AM) method	M. Kushiroら	JSM Mycotoxins	68(1)	13-18	2018	1
18	①	農研機構(食品研究部門)	Detection of N-(1-deoxy-D-fructos-1-yl) fumonisin C1, C2 and C3 in corn powder by LC-Orbitrap MS	Y. Matsuoら	Journal of Environmental & Analytical Toxicology	7	DOI: 10.4172/ 2161- 0525.100 0536	2018	3
19	①	農研機構(食品研究部門)	Discrimination of aflatoxin contamination level in nutmeg by fluorescence fingerprint measurement	R. Aiyamaら	Food Control	85	113-118	2018	3
20	①	農研機構(食品研究部門)	Development of an LC-MS/MS Determination Method for T-2 Toxin and Its Glucoside and Acetyl Derivatives for Estimating the Contamination of Total T-2 Toxins in Staple Flours	H. Nakagawaら	Journal of AOAC International	101 (3)	658-666	2018	5

(2)学会等発表(口頭またはポスター)

整理番号	タイトル	発表者名	機関名	学会等名	発行年	発行月
1	トリコテセン生産阻害物質precocene II の結合タンパク質の同定	古川智宏ら	東京大学	日本マイコトキシン学会第74回学術講演会	2014	1
2	イネ種子から分離された小型分生孢子連鎖状形成Fusarium属菌の種とフモニシン産生能	須賀晴久ら	岐阜大学	日本菌学会第58回大会	2014	6
3	メタゲノム解析手法を用いた試料中の真菌類検出効率の比較	鈴木忠宏・岩橋由美子	農研機構(食品研究部門)	日本マイコトキシン学会第75回学術講演会	2014	9
4	高分解能LC-MSによるフザリウムトキシン由来新規配糖体の検出	松尾洋輔ら	農研機構(食品研究部門)	日本マイコトキシン学会第75回学術講演会	2014	9
5	2013年に北海道のコムギから分離されたT-2トキシンおよびHT-2トキシン産生菌について	相馬 潤	道総研中央農試	日本マイコトキシン学会第75回学術講演会	2014	9
6	農産物からの効率的な糸状菌検出に向けた研究	鈴木忠宏・岩橋由美子	農研機構(食品研究部門)	日本農芸化学会2015年度大会	2015	3

7	高分解能LC-MSによる二糖結合型フモニシンの検出	松尾洋輔ら	農研機構(食品研究部門)	日本マイコトキシン学会第77回学術講演会	2015	9
8	プレート培養によるアフラトキシン産生菌の検出効率改善に向けた研究	鈴木忠宏・岩橋由美子	農研機構(食品研究部門)	日本マイコトキシン学会第77回学術講演会	2015	9
9	国内収穫イネ種子からのフモニシン産生Fusariumの分離頻度	須賀晴久ら	岐阜大学	日本マイコトキシン学会第77回学術講演会	2015	9
10	食用油およびうどんゆで汁に含まれるゼアラレノンの分析法の検討	久城真代ら	農研機構(食品研究部門)	日本マイコトキシン学会第77回学術講演会	2015	9
11	precocene IIIによるトリコテセン生産阻害とヒストンアセチル化レベルの関係	古川智宏ら	東京大学	日本マイコトキシン学会第77回学術講演会	2015	9
12	マイコトキシンの加工調理での減衰について	久城真代	農研機構(食品研究部門)	マイコトキシン研修会	2015	9
13	コムギにおけるゼアラレノン蓄積検定のための赤かび病菌の選抜	川上顕ら	農研機構(九州沖縄農業研究センター)	九州病害虫研究会第89回研究発表会	2015	11
14	収穫適期前後の散水が圃場栽培コムギのゼアラレノン蓄積に与える影響	宮坂篤ら	農研機構(九州沖縄農業研究センター)	九州病害虫研究会第89回研究発表会	2015	11
15	Detection of novel trichothecene mycotoxin glucosides (masked mycotoxins) by high-resolution liquid chromatography-Orbitrap mass spectrometry	H. Nakagawaら	農研機構(食品研究部門)	2015環太平洋国際化学会議	2015	12
16	アフラトキシン、トリコテセン生産阻害物質の作用機構	作田庄平ら	東京大学	第38回日本分子生物学会年会	2015	12
17	高分解能LC-MSを用いたフモニシンと二糖類の反応物の検出	松尾洋輔ら	農研機構(食品研究部門)	日本農芸化学会2016年度大会	2016	3
18	<i>Aspergillus</i> 属のアフラトキシン生産を阻害するdioctatinの作用機構に関する研究	古川智宏ら	東京大学	日本農芸化学会2016年度大会	2016	3
19	Search for mycotoxin production inhibitors and their modes of action	作田庄平	東京大学	中国マイコトキシン学会	2016	6
20	蛍光指紋によるマイコトキシン汚染の推定	蔦瑞樹	農研機構(食品研究部門)	日本マイコトキシン学会第79回学術講演会	2016	7
21	シリング酸アルキルおよび類縁化合物によるアフラトキシン生産阻害	古川智宏ら	東京大学	日本マイコトキシン学会第79回学術講演会	2016	7
22	アフラトキシン生産阻害物質cyclo(L-Ala-L-Pro)の標的分子の同定	飯村九林ら	東京大学	日本マイコトキシン学会第79回学術講演会	2016	7
23	<i>Fusarium fujikuroi</i> G系統に見られるFUM21遺伝子のフモニシン産生能喪失変異の頻度	須賀晴久ら	岐阜大学	日本マイコトキシン学会第79回学術講演会	2016	7

24	北海道のコムギにおけるT-2トキシン、HT-2トキシン産生菌の分布実態	小澤徹ら	道総研中央農試	日本マイコトキシン学会第79回学術講演会	2016	7
25	G系統に見られるFUM21遺伝子のフモニシン産生能喪失変異の頻度	須賀晴久ら	岐阜大学	日本マイコトキシン学会第79回学術講演会	2016	7
26	北海道の小麦におけるT-2トキシン、HT-2トキシン産生菌の分布実態	小澤徹ら	道総研中央農試	日本マイコトキシン学会第79回学術講演会	2016	7
27	高分解能LC-MSによるトウモロコシ中に含まれるフモニシンC群の検出	松尾洋輔ら	農研機構(食品研究部門)	日本マイコトキシン学会第79回学術講演会	2016	7
28	活性炭添加培地によるアフラトキシン産生菌の検出手法改良	鈴木忠宏	農研機構(食品研究部門)	日本マイコトキシン学会第79回学術講演会	2016	7
29	コムギにおけるゼアラレノンの蓄積と収穫適期前後の散水との関係	宮坂篤ら	農研機構(九州沖縄農業研究センター)	平成28年度日本植物病理学会大会	2016	8
30	Studies on The mode of action of Ddioctatin that inhibits Aflatoxin production fo Aspergillus species	T. Furukawaら	東京大学	International Symposium of Mycotoxicology	2016	12
31	Study on the target molecule of cyclo(L-Ala-L-Pro),a specific aflatoxin produciton inhibitor	K. Iimuraら	東京大学	International Symposium of Mycotoxicology	2016	12
32	Retention of major Fusarium mycotoxins during Japanese soft wheat processing	M. Kushiro	農研機構(食品研究部門)	International Symposium of Mycotoxicology	2016	12
33	Screening for modified mycotoxins by high-resolution LC-MS	H. Nakagawa	農研機構(食品研究部門)	International Symposium of Mycotoxicology	2016	12
34	Multiple detection of sugar derivatives of fumonisins in corn by LC-Orbitrap MS	Y. Matsuoら	農研機構(食品研究部門)	International Symposium of Mycotoxicology	2016	12
35	The gene polymorphisms involving fumonisin producibility in <i>Fusarium fujikuroi</i>	H. Suga	岐阜大学	International Symposium of Mycotoxicology	2016	12
36	Fumonisin production recovery in a <i>Fusarium fujikuroi</i> strain by complementation of three FUM genes	S. Sultanaら	岐阜大学	International Symposium of Mycotoxicology	2016	12
37	diocstatinによるClpプロテアーゼ機能異常を介したアフラトキシン生産阻害機構	古川智宏ら	東京大学	日本農芸化学会2017年度大会	2017	3
38	LC-MSによるフモニシンC群の検出	中川博之	農研機構(食品研究部門)	第51回日米合同部会(UNJR有毒微生物部会)同時開催第12回国際シンポジウム(招待講演)	2017	5

39	話題のカビ毒とカビ毒汚染防除のはなし	作田庄平	東京大学	カビ相談センター創立10周年記念講演(招待講演)	2017	6
40	Mn SODIによる細胞内スーパーオキシドレベルの調節とトリコテセン生産の関係	古川智宏ら	東京大学	日本マイコトキシン学会第30回学術講演会	2017	7
41	カビ毒糖誘導体の生成機構とその体内動態	中川博之	農研機構(食品研究部門)	第44回日本毒性学会学術年会(招待講演)	2017	7
42	Researches on mycotoxins and mycotoxigenic fungi in NFRI	久城真代	農研機構(食品研究部門)	Joint Meeting of Section on Agricultural Science of Russian Academy of Science and NARO	2017	7
43	Analysis of Fusarium mycotoxins by liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS)	中川博之	農研機構(食品研究部門)	Joint Meeting of Section on Agricultural Science of Russian Academy of Science and NARO	2017	7
44	Analysis of Fusarium mycotoxins by liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS)	中川博之	農研機構(食品研究部門)	タイ農業局(DOA)視察対応	2017	9
45	高速液体クロマトグラフィー質量分析法(LC-MS)によるフモニシンC群の検出	中川博之	農研機構(食品研究部門)	第11回フザリウム研究会	2017	10
46	ジクロルポス-アンモニア(DV-AM)法によるマイナーなアフラトキシン産生菌の同定	久城真代ら	農研機構(食品研究部門)	日本マイコトキシン学会第31回学術講演会	2018	1
47	T-2トキシンとその誘導体の定量分析法の開発と主要穀類粉末における汚染濃度の推定	中川博之ら	農研機構(食品研究部門)	日本マイコトキシン学会第81回学術講演会	2018	1
48	マイコトキシン生産阻害物質から探る二次代謝の制御機構	古川智宏	東京大学	日本マイコトキシン学会第81回学術講演会	2018	1
49	Analysis of Fusarium mycotoxins by liquid chromatography-mass spectrometry	中川博之	農研機構(食品研究部門)	国際カビ毒学会(ICM 2018)(招待講演)	2018	2
50	アフラトキシン生産阻害物質 diocatin の引き起こす Clp プロテアーゼの異常活性	古川智宏ら	東京大学	2018年度日本農芸化学会大会	2018	3
51	cyclo(L-Ala-L-Pro)のアフラトキシン生産阻害機構の解明	飯村 九林ら	東京大学	2018年度日本農芸化学会大会	2018	3
52	Fumonisin production recovery in a <i>Fusarium fujikuroi</i> strain by complementation of <i>FUM21</i> , <i>FUM6</i> and <i>FUM7</i>	須賀晴久	岐阜大学	International Symposium 2018 on Innovative Crop Protection for Sustainable Agriculture	2018	3

(3) 出版図書

区分: ①出版著書、②雑誌、③年報、④広報誌、⑤その他

整理番号	区分	著書名(タイトル)	著者名	機関名	出版社	発行年	発行月
1	②	かび毒の制御技術の開発 - ポストハーベストでのかび毒除去 -	久城真代	農研機構(食品研究部門)	株式会社食品資材研究会	9	2015

(4) 国内特許権等

整理番号	特許権等の名称	発明者	権利者(出願人等)	機関名	特許権等の種類	番号	出願年月日	取得年月日
1	アフラトキシン産生阻害剤、及びアフラトキシン汚染防除方法	作田庄平 高城景子 ジャン フェブリ プラポオ	作田庄平 高城景子 ジャン フェブリ プラポオ	東京大学	登録	特開2016-166131	2013年11月1日	2016年9月1日

(5)普及に移しうる成果

区分:①普及に移されたもの、製品化して普及できるもの、②普及のめどがたったもの、製品化して普及のめどがたったもの、③主要成果として外部評価を受けたもの

区分	成果の名称	機関名	普及(製品化)年月		主な利用場面	普及状況
			年	月		
①	麦類のかび毒汚染低減のための生産工程管理マニュアル改訂版	農研機構	2016	3	小麦作	ホームページにて公表。

(6)発表会の主催の状況

(シンポジウム・セミナー等を記載する。)

整理番号	発表会の名称	年月日			開催場所	参加者数	機関名	備考
1	研究成果展示会	2017	11	2	つくば国際会議場	300	農研機構食品研究部門	

(7)アウトリーチ活動の状況

区分: ①一般市民向けのシンポジウム、講演会及び公開講座、サイエンスカフェ等、②展示会及びフェアへの出展、大学及び研究所等の一般公開への参画、③その他(子供向け出前授業等)

整理番号	区分	アウトリーチ活動	年月日			開催場所	参加者数	主な参加者	機関名	備考
1	①	東京大学食の安全研究センター創立10周年記念シンポジウム「食科学の現在と近未来」～カビ毒産生阻害物質を用いたカビ毒産生機構の解明と汚染防除への実用化	2017	2	22～23	東京大学農学部弥生講堂	250	社会人、研究者、学生、行政等	東京大学食の安全研究センター	
2	①	ISMYCO 2016 (日本マイコトキシ学会国際シンポジウム)「カビ毒問題の相互理解とアジアネットワークの強化に向けて」	2016	12	1～2	東京大学農学部弥生講堂	240	会社員、研究者、学生、行政等	日本マイコトキシ学会	後援 農林水産省、厚生労働省、食品安全委員会