

感染性胃腸炎における病原体の季節的動向

Seasonal variation of pathogenic origin in Gastroenteritis

菊地奈穂子*¹ 田村 広子*² 植木 洋
沖村 容子 谷津 壽郎 秋山 和夫*³

Naoko KIKUCHI, Hiroko TAMURA, Yo UEKI,
Yoko OKIMURA, Juro YATHU, Kazuo AKIYAMA

感染性胃腸炎の患者数は全国で年間500万人以上と推計され、流行期には食中毒や感染症の集団発生も多発する傾向が見られる。しかし、流行の機序については不明な点が多く、防止対策を講じる上で問題となっている。そこで、病原体の季節的な浸淫状況の把握と、感染性胃腸炎の病原体として検出例の多いノロウイルス（NoV）について、流行期と非流行期に検出された遺伝子の分子疫学的改正を行い感染源について調査を実施した。その結果、本県においても様々な感染性胃腸炎の病原体が浸淫していることが明らかになった。また、従来、NoVの非流行期と考えられていた夏季に胃腸炎患者からNoV遺伝子を検出し、年間を通してNoVによる感染性胃腸炎が発生していることを確認した。一方、NoVの分子疫学的解析を行った結果、非流行期の胃腸炎患者や健康者から検出されたウイルスの遺伝子型と、流行期に検出された遺伝子型に高い相同性が確認され、非流行期と流行期のウイルスとの間に関連があることが強く示唆された。

キーワード：感染性胃腸炎、季節的動向、ノロウイルス

Keywords : gastroenteritis ; seasonal variation ; Norovirus

1 はじめに

感染性胃腸炎は、感染症発生動向調査における定点把握対象疾患の中で、最も多い患者数が報告されており、全国の患者数は年間500万人以上と推計されている。流行のピークは12月であり、感染性胃腸炎の流行期には食中毒や感染症の集団発生も多発する傾向が見られる。感染症発生動向調査病原体検索の全国の結果¹⁾では、晩秋から早春にかけてはウイルス性、夏季は細菌性の胃腸炎の流行が多いとされ、季節により病原因子の違いが認められているが、なぜ流行するのかについては不明な点が多く、流行防止対策を講じる上で問題となっている。

一般に、冬季に発生する感染性胃腸炎は、流行規模が大きく検体数も多いため詳細な調査が行われているが、冬季以外の非流行期では検体が少なくデータが乏しいため²⁾³⁾、年間を通じた感染性胃腸炎の実態は明らかにされていない。また、これまでの結果から、主に、冬季の病原体として多数検出されているノロウイルス（NoV）には多くの遺伝子型が存在するが、流行と遺伝子型の関連についても不明な点が多い。

このような背景を踏まえ、感染性胃腸炎の流行防止対策を講じるため、①年間を通じた病原体検索を行い、病原体の季節的な浸淫状況を把握する。②NoVについて分子疫学的解析を実施し、流行と遺伝子型の関連について解明する。以上の2点を目的とした調査を実施し、若干の知見を得たので報告する。

2 対象および検査方法

2.1 対象

平成17年4月から平成18年3月まで、県内の医療機関において感染性胃腸炎患者と診断された患者の糞便101件を対象とした。また、検体採取時に患者の臨床症状や発生状況等についても併せて調査した。

検査対象とした病原体は、細菌がカンピロバクター、赤痢菌、サルモネラ、ビブリオ、エルシニア、大腸菌の6項目、ウイルスは、NoV、ロタウイルス、サポウイルス、アストロウイルス、アデノウイルス、エンテロウイルスの6項目の計12項目とした。ただし、大腸菌は病原因子を保有するもののみ（腸管病原性大腸菌：EPEC、腸管組織侵入性大腸菌：EIEC、腸管毒素原生大腸菌：ETEC、腸管出血性大腸菌EHEC）を報告対象とした。

* 1 仙南・仙塩広域水道事務所

* 2 宮城県立循環器・呼吸器病センター

* 3 財団法人宮城県公衆衛生協会

2.2 方法

2.2.1 病原体検索

図1に検査の流れを示した。細菌の分離培養には7種類の培地(SS, DHL, CTS, CTR, スキロー, CIN, TCBS)を使用し、直接塗抹した。分離した細菌については定法に従い同定した。また、病原因子の特定にはPCR法を用いた。

ウイルスの分離には4種類の細胞(HEp-2, RD-18s, Vero, CaCo-2)を用いて、盲継代を3代実施した。分離したウイルスと、糞便抽出液について「ウイルス下痢症診断マニュアル」⁴⁾ および「病原体検出マニュアル」⁵⁾ に準じてPCR法を行った。得られた増幅産物は、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定後、相同性検索によりウイルス同定を行った。また、ロタウイルスについてはイムノクロマト法⁶⁾を実施した。

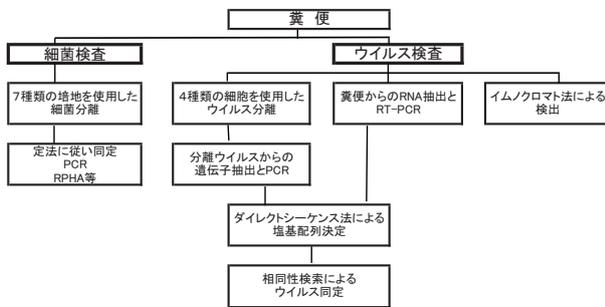


図1 検査の流れ

2.2.2 NoV遺伝子解析

年間を通した市中でのNoVの挙動の把握のため、今回、病原体検索を実施した感染性胃腸炎患者由来のNoV19件の他に、同期間に発生した食中毒由来3件、感染症集団発生由来4件、健常者由来1件の計27件について、NoVのCapsid領域のプライマーであるG1SKF/G1SKR, G2SKF/G2SKR領域の約250塩基について系統解析を実施

した。

3 結果および考察

3.1 病原体検索

月別の検査を実施した検体数と病原体検出数を表1に示した。検体101件中60件(検出率59.4%)より病原体を検出し、そのうち同一検体から複数の病原体が検出される例が10件あった。検出された病原体の内訳は、カンピロバクター3件、病原性大腸菌2件、サルモネラおよびエルシニアが各1件で、細菌が計7件、NoV44件、アデノウイルス9件、ロタウイルス6件、アストロウイルス3件等、ウイルスが計69件、合計76件であった。なお、複数の病原体が検出された10件については表2のとおりであり、全て8歳以下の小児の感染例であった。

細菌7件は7月、9月、11月と2月に検出され、サルモネラ感染症の原因となるSalmonella Derbyと本県の発生動向調査で、初めてYersinia enterocoliticaを検出した。表1に示すとおり通常、細菌性の胃腸炎が多発する8~10月に採取された検体数が少なかったことが、病原体検出数の少ない原因と考えられた。感染症胃腸炎の検体は主に糞便であるが、医療機関受診時に直ちに採取することが難しい場合が多く、とくに細菌検査に適した検体を集めることが困難であった。

病原体別の検出数ではNoVが44件と最も多く、遺伝子型別では、GII群が88.6%(39/44)を占めた。とくに、従来NoVによる感染性胃腸炎の非流行期と言われている夏季の7、8月にNoVを3件検出し、年間を通してNovによる感染性胃腸炎が発生していることを確認した。

また、これまで県の発生動向調査において報告例の認められなかったアデノウイルス41型を6件検出した。なお、2月に検出された3件については患者情報を加えて解析した結果、仙南地域で小流行があったことが確認され、感染症対策に有用なデータを得ることができた。

表1 月別検体数, 検出病原体数

月	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	計
検体数	20	11	5	9	3	0	1	20	21	4	5	2	101
<i>Campylobacter jejuni</i>				1		1					1		3
Enteropathogenic E.coli				1				1					2
<i>Salmonella Derby</i>								1					1
<i>Yersinia enterocolitica</i>								1					1
NoV(G I 群)		1	1						1		2		5
NoV(G II 群)	3	6		1	2			4	19	2	1	1	39
Rotavirus	3	2										1	6
Sapovirus								1	1				2
Astrovirus		2						1					3
Adenovirus			2					4			3		9
その他のウイルス		2					1	1	1				5

表2 複数の病原体が検出された例

年齢	性別	検出病原体
小児	男	NoV(G II)・Rotavirus
1才未満	男	NoV(G II)・Poliovirus(Sabin II)
1才未満	男	NoV(G II)・Poliovirus(Sabin III)
1才未満	女	NoV(G II)・Adenovirus2型
8才	女	EPEC・Salmonella Derby
1才	女	Adenovirus2型・CoxsackievirusA9
1才未満	男	NoV(G II)・Sapovirus
1才未満	女	NoV(G II)・Poliovirus(Sabin I)
5才	男	NoV(G II)・Adenovirus41型
1才	男	NoV(G I)・Adenovirus41型

EPEC: Enteropathogenic E.coli

3.2 NoV遺伝子解析

平成17年度に県内で検出されたNoVのG I 群は、図2に示すとおりG I /3, G I /4, G I /11の近縁株であった。G I /4は2月に利府町の小学校で発生した感染症集団発生由来(▲)で、G I /11は12月に採取した感染性胃腸炎患者由来(05150NV/0512)であった。G I /3では、4, 5月に塩釜地域で採取した感染性胃腸炎患者由来(05060NV/0505, 05021NV/0504), 10月に松島町で採取した健常者由来(◎), および12月に山元町で発生した食中毒由来(★)とが近縁であり、さらに健常者由来と食中毒由来は相同性が100%一致するという興味深い結果が得られた。

G II 群は図3のようにG II /4, G II /3, G II /6の3

つのクラスターに分類されたが、G II /4に属するものが最も多く、平成17年度の県内におけるNoV流行の主流はG II /4であったことが判明した。

G II /3では、流行期の11月、1月に仙南地域で採取された感染性胃腸炎患者由来(05123NV/0511, 05185NV/0601)と12月に福島県で発生した食中毒の患者(宮城県内在住)由来(★)とが近縁であり、県南部においてG II /3の流行があったことが推測された。

G II /6はNoVによる胃腸炎の非流行期と考えられている8月に塩釜地域で採取した感染性胃腸炎患者由来(05108NV/0508)と、流行期の12月に気仙沼地域で採取した感染性胃腸炎患者由来(05147NV/0512), および12月に仙南地域の老人保健施設において発生した感染症集団発生由来(▲)のウイルスに相同性(99%)が認められた。

G II /4は、検体採取時期と地域により若干異なるクラスターを作る傾向が認められた。また、非流行期の7月に採取した感染性胃腸炎患者由来(05078NV/0507)は、4~5月に採取されたウイルス(05014NV/0504他)よりも、流行期である12月に採取されたウイルス(05133NV/0512他)の遺伝子型に近縁な事が判明した。

このように、G I 群, G II 群ともに、流行期の感染性胃腸炎患者や食中毒患者から検出したウイルスと同じ遺伝子型のウイルスが、非流行期と考えられている夏季の感染性胃腸炎患者や健常者から検出されたことから、非流行期と流行期のウイルスの間に関連があることが強く示唆された。

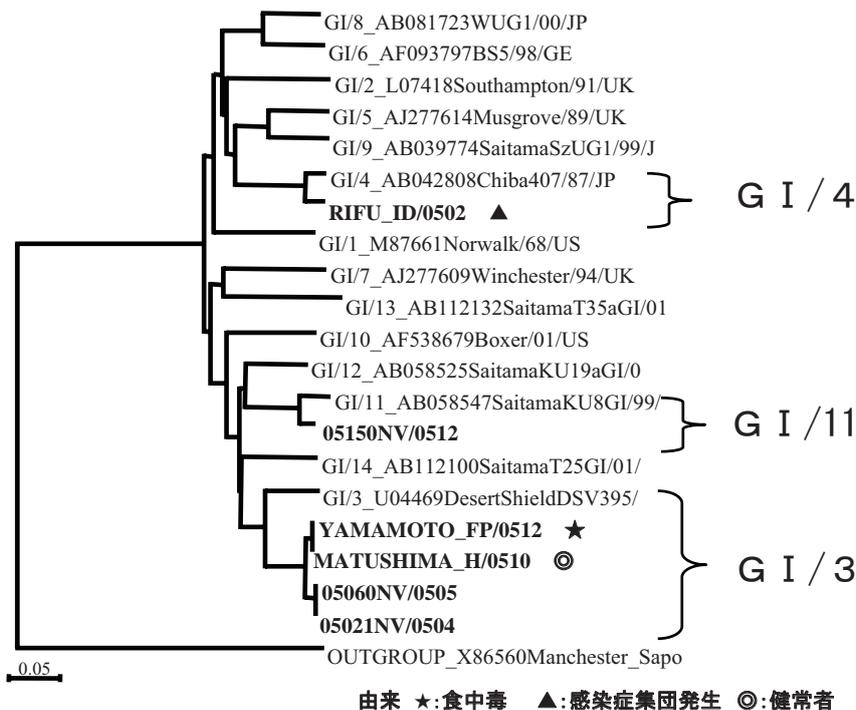


図2 NoV・G I 群による分子系統樹



図3 NoV・G2群による分子系統樹

4 まとめ

年間を通した感染性胃腸炎の病原体検索の結果、本県においても様々な病原体が浸淫していることが明らかとなった。とくに、NoVを原因とする感染性胃腸炎の非流行期である7、8月の感染性胃腸炎患者からNoV遺伝子を検出したことにより、年間を通し市中にNoVによる感染性胃腸炎が発生していることが推測された。

さらに、NoV遺伝子の分子疫学的解析を行った結果、非流行期の感染性胃腸炎患者や健常者から検出されたウイルスの遺伝子型と流行期に検出されたウイルスの遺伝子型には高い相同性が認められ、両者の間には関連があることが示唆された。

以上の結果より、非流行期における感染性胃腸炎の病原体の動向を把握することは、感染性胃腸炎の流行防止対策を検討する上で非常に重要である。

5 謝辞

感染症発生動向調査病原体検査にご協力いただいた医療機関の先生方をはじめ、関係者の皆様に感謝申し上げます。

6 参考文献

- 1) 国立感染症研究所感染症情報センター：感染症発生動向調査週報2003年11週号（2003）
- 2) 秋山和夫，佐々木美江，山木紀彦，後藤郁男，佐藤千鶴子，植木洋，渡邊節，畠山敬，斉藤紀行：宮城県保健環境センター年報，21，43（2003）
- 3) 沖村容子，田村広子，菊地奈穂子，佐々木美江，山口友美，山木紀彦，後藤郁男，植木洋，畠山敬，御代田恭子，秋山和夫：宮城県保健環境センター年報，22，141（2005）
- 4) 国立感染症研究所ウイルス2部，衛生微生物協議会レファレンス委員会：ウイルス下痢症診断マニュアル（平成11年8月）
- 5) 国立感染症研究所，地方衛生研究所全国衛生微生物協議会：病原体検出マニュアル（平成15年12月9日）
- 6) 田澤節子，中村久子，中村良子：臨床と微生物，27，128（2000）

ノロウイルスを用いたマガキへの取り込み試験の評価

Evaluation of the uptake of Noroviruses by *Crassostrea gigas*

庄司 美加 菊地奈穂子*¹ 山木 紀彦*²
後藤 郁男 植木 洋 沖村 容子
秋山 和夫*³ 須藤 篤史*⁴ 酒井 敬一*⁵

Mika SHOJI, Naoko KIKUCHI, Norihiko YAMAKI
Ikuo GOTO, You UEKI, Yoko OKIMURA
Kazuo AKIYAMA, Athushi SUTO, Keiichi SAKAI

ノロウイルス (Norovirus : NoV) の代替ウイルスとして一般的に用いられているネコカリシウイルス (Feline calicivirus F4 : FCV F4) と感染性胃腸炎患者便から調整したNoVを用いてマガキへの取り込み実験を行った。その結果、両ウイルスともマガキへの取り込みは48時間にピークが認められた。またマガキへのウイルス取り込み量と中腸線重量との間には、明らかな関係は認められなかった。

キーワード：ノロウイルス；ネコカリシウイルス；マガキ；取り込み試験

Keywords : Norovirus ; *Feline calicivirus F4* ; oysters ; investigation test

1 はじめに

NoVによる食中毒では、主に生カキなどの二枚貝が推定原因食品¹⁾²⁾になる事例が多い。全国有数のカキ生産県である本県は、安全なカキを提供するために、NoVの汚染防止やNoVによって汚染された養殖カキの浄化対策に取り組んでいる。しかしNoVは培養法が確立されていないために、NoVを用いてマガキへの取り込み試験および浄化試験を行うのは困難である。そこで我々はこれまでに同じカリシウイルス科に属し、培養可能で、しかも形態や紫外線、塩素等に対する抵抗性が類似しているFCV F4を用い、取り込みや浄化を検討してきた³⁾。しかし、NoVとFCV F4では宿主および臓器指向性に大きな違いがあるためにFCV F4での実験結果が直接NoVに反映されることは考えにくい。そこで感染性胃腸炎患者便由来のNoVを用いてのマガキへの取り込み試験を行い、FCV F4の取り込み試験との比較を行ったので報告する。

2 材料

2.1 供試ウイルス

FCV F4は、Crandall's feline kidney cells (CrFK) に接種後、37℃、48時間、CO₂インキュベーターで培養し、CPEが確認された細胞の培養液をプールし、-80℃に保

存した。

NoVは、感染性胃腸炎患者便を用いて約10%乳剤を作製し上清をウイルス液とした。ウイルス液は使用までに4℃に保存した。

2.2 マガキ及び海水

マガキは宮城県内のA湾内で2年間養殖されたものを用いた。マガキの飼育やウイルス取り込み試験には、砂ろ過海水を使用した。

2.3 植物プランクトン

植物プランクトンは*Chaetoceros gracilis* (Cg) を用いた。

3 取り込み試験

200Lのパンライト水槽に砂ろ過海水を入れ、植物プランクトンと供試ウイルスを添加した。一時間混和した後、県産マガキを投入した。供試ウイルス、Cg入り砂ろ過海水は24時間毎に交換した。なお、ウイルスの取り込みは72時間まで行った。また、マガキは24時間毎に10個ずつサンプリングした。海水温はカキの出荷時期で、かつNoVの汚染頻度が高くなる冬季の海水温に近い10℃で行った⁴⁾。なお、取り込み試験中はエアレーションを行った。

4 ウイルスの濃縮及び遺伝子定量

4.1 ウイルス濃縮

経時的に採取した海水及びマガキは、それぞれの方法でウイルスの濃縮、回収を行った。海水はPolyethylen

* 1 仙南・仙塩広域水道事務所
* 2 仙台保健福祉事務所黒川支所
* 3 財宮城県公衆衛生協会
* 4 宮城県水産研究開発センター
* 5 漁業振興課

Glycolを最終濃度10%になるように加え、4℃1晩攪拌後9,200×g 30分間遠心し、沈渣をDW 1mlで浮遊した検体を濃縮液とした。マガキは個々に中腸腺を取り出し、φ3.2mmのステンレスビーズ入りの5mlのアシストチューブに入れ、4,500rpm 60秒間破碎後、9,200×g 10分間遠心した上清をウイルス回収液とした。

4.2 ウイルス定量

ウイルスを濃縮、回収した検体からQIAamp Viral RNA mini kit (QIAGEN) により、RNAを抽出しDNase処理後、逆転写反応を行い、cDNAを作製し、定量PCRを実施した。FCV F4 遺伝子の定量PCRについて山木らの方法⁵⁾ に準じて行った。またNoVについては、景山らの方法⁶⁾ で実施した。

5 結果及び考察

5.1 ウイルスの取り込み状況

NoV及びFCV F4 のマガキ中腸腺 1 g あたりの平均取り込み量の経時的变化を図1に示した。NoVの取り込み量は24時間後 1.7×10^4 copies/g、48時間後 2.2×10^5 copies/g、72時間後 1.4×10^5 copies/gを示した。一方FCV F4 は取り込み24時間後 2.6×10^3 copies/g、48時間後 5.2×10^3 copies/g、72時間後 2.2×10^3 copies/gを示し両ウイルスとも48時間で取り込み量のピークが確認された。

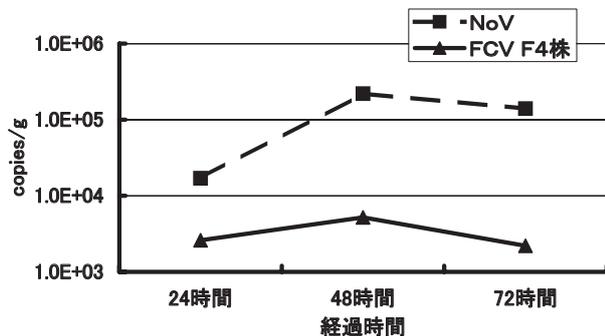


図1 マガキの経時的ウイルス取り込み状況

5.2 マガキのウイルス取り込み量と中腸腺重量の関係

マガキへのウイルスの取り込みと中腸腺の重量について調べた結果を図2 (NoV) 及び図3 (FCV F4) に示した。この二つグラフから明らかなように両ウイルスともマガキのウイルス取り込み量と中腸腺重量の間には、相関関係は確認されなかった。

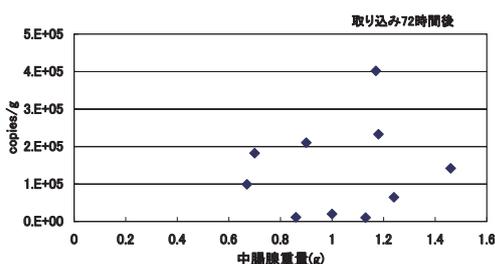


図2 マガキのNoV取り込み量と中腸腺重量

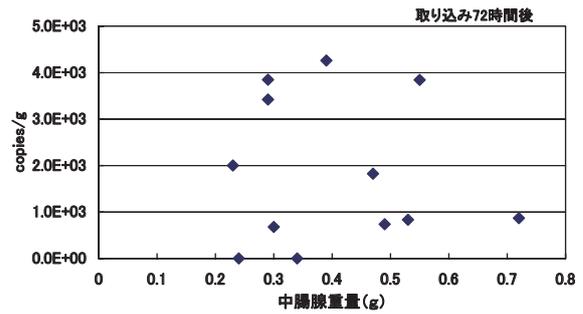


図3 マガキのFCV F4 取り込み量と中腸腺重量

5.3 ろ過海中のウイルス量とマガキの取り込みウイルス量の関係

ウイルスによるマガキへの取り込みの違いについて検討するため、ろ過海中のウイルス遺伝子量と経時的に採取したマガキ10個体のウイルス遺伝子の合計量の割合を比較した結果を図4に示す。割合は下式を用いて算出した。

$$\text{割合(\%)} = \frac{\text{マガキ取り込みウイルス量}}{\text{ろ過海水(カキ投入直前)ウイルス量}} \times 100$$

それぞれのウイルスで比較した結果、取り込み開始24時間では、NoVは0.2%、FCV F4は0.4%、取り込み開始48時間では、NoVは8.7%、FCV F4は2.4%、取り込み開始72時間では、NoVでは2.6%、FCV F4は2.4%となり、取り込み開始24時間と72時間では両ウイルスともほぼ同じ割合を示していたが、48時間ではNoVがFCV F4の3.6倍高い値を示した。ウイルスの違いがマガキの取り込みに及ぼす影響については浄化法を確立する上で非常に重要であるので、今後評価方法も含め検討する必要がある。

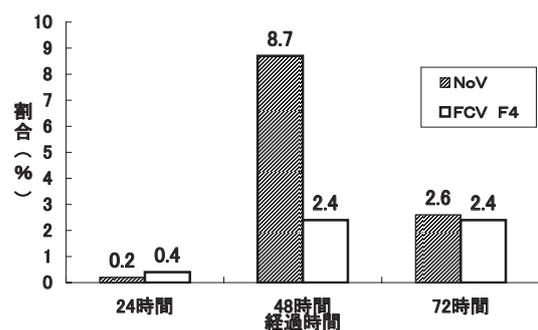


図4 ろ過海水とマガキ取り込みウイルス量の割合

6 まとめ

今回は、これまでに報告例のないNoVを用いてマガキへの取り込み試験を行い、FCV F4の取り込みと比較検討を行った。その結果、両者ともに取り込み量は中腸腺の重量に依存していないことが明らかになるとともに、NoVとFCV F4では取り込みに違いがあることが示唆された。今後その機序について検討する必要がある。

参考文献

- 1) 永安聖二, 千屋誠造, 小松照子, 上岡英和, 崎本祥仁, 阿倍淳介, 堀見雄三, 橋本節夫, 井上泰夫: Rep.Pub.Hlth.kochi, **47**, 41 (2001).
- 2) 西 香南子, 杉山 明, 中山 治, : 三重県保健環境研究部年報, **46**, 65 (2001).
- 3) 山木紀彦, 植木 洋, 伊藤大介, 文谷俊雄, 後藤郁男, 佐藤千鶴子, 渡辺 節, 秋山和夫: 宮城県保健環境センター年報, **21**, 63 (2003)
- 4) 秋山和夫, 野池道子, 佐々木美江, 山口友美, 有田富和, 佐藤千鶴子, 畠山 敬, 沖村容子, 斉藤紀行, 白石廣行: 宮城県保健環境センター年報, **18**, 49 (2000)
- 5) 山木紀彦, 植木洋, 伊藤大介, 文谷俊雄, 菊地奈穂子, 後藤郁男, 沖村容子, 秋山和夫: 宮城県保健環境センター年報, **22**, 50 (2004)
- 6) T. kageyama, S.Kojima, M.Shinohara, K.Uchida, S.Fukushi, F.B.Hoshino, N.Takeda, K.Katayama: Journal of Clinical Microbiology, **41**, 1548 (2003)

宮城県におけるインフルエンザ抗体保有状況

Distribution of influenza HI antibody prevalence in Miyagi Prefecture

沖村 容子 菊地奈穂子*¹ 庄司 美加
山木 紀彦*² 後藤 郁男 植木 洋
秋山 和夫*³

Yoko OKIMURA, Naoko KIKUCHI, Mika SHOJI
Norihiro YAMAKI, Ikuo GOTO, Yo UEKI
Kazuo AKIYAMA

平成17年度感染症流行予測調査事業・インフルエンザ感受性調査より、有効防御免疫が可能なHI抗体価40倍以上の保有状況をみると、Aソ連型、A香港型、B型（山形系統）は、9～19才の集団で生活する機会の多い年令群が、ウイルス感染を頻繁に受けるため抗体保有率が高かった。また、Aソ連型は2004/05シーズンはじめの集団発生より検出される等、県内での流行を反映して全体の平均抗体保有率は36.2%であった。A香港型は、過去の流行により抗体保有者の蓄積があり、全体の保有率が50.9%と、対象とした4抗原中、最も高かった。B型（山形系統）は7.8～68.2%と年令群によって抗体保有率は異なるが、全年令群で抗体を保有しており、2004/05シーズンの県内での流行が大規模であったことが推察された。一方、B型（ビクトリア系統）は全年令群で2.9%以下の極めて低い保有率であり、B型の動向によっては流行すると思われた。

キーワード：インフルエンザ；赤血球凝集抑制試験；抗体；ワクチン

Keywords : Influenza ; Hemagglutination inhibition test ; Antibodies ; Vaccine

1 はじめに

インフルエンザはインフルエンザウイルスを病原体とする呼吸器感染症であるが、他の呼吸器感染症とは異なり、脳炎や肺炎等の重篤な症状を起こす症例もあり、高齢者の場合は死亡することもある。そのため、個人や社会に対する影響は大きく流行状況には注意が必要である。インフルエンザウイルスのA型は生物学的性状から抗原変異を起こしやすいため、シーズン毎に流行する株の抗原性が大きく変わることが多く、その結果、毎年、流行を繰り返している。感染予防としてはワクチン（A型2株、B型1株の混合不活化HAワクチン）接種が有効であり、抗原変異に対応したワクチン株の選定が行われている。また、A型はヒト以外の鳥、豚等にも感染するため、平成9年、香港での高病原性鳥インフルエンザのヒトへの感染以降、ベトナム、タイ、中国等でも散発的な発生が報告されている。加えて、10～40年周期で起きる新型インフルエンザの発生も危惧されている現状では、県民の免疫度（抗体保有状況）を調査し情報提供することは、

個人にとっては感染予防ならびに重症化阻止の点で、公衆衛生上は流行の規模を推測し前もってワクチン接種等の対策を講じるうえで重要と考えられる。そこで、平成17年度感染症流行予測事業の一環として実施したインフルエンザ感受性調査結果について報告する。なお、平成16年度感染症発生動向調査でのインフルエンザウイルス検出状況とも比較した。

2 材料および方法

宮城県在住の健康住民0～59才、232名について、2004/05シーズンの流行が終息した8～9月に採血し、その血清を検体とした。年令群別の検体数を、表1に示した。抗原は2005/06シーズンのワクチン株であるA/New Caledonia/20/99（Aソ連型H1N1）、A/New York/55/04（A香港型H3N2）、B/Shanghai/361/02（B型山形系統）の3抗原とB/Hawaii/13/04（B型ビクトリア系統）の計4抗原で、B/Hawaii/13/04は国立感染症研究所より分与を受け、その他の抗原は市販品（デンカ生研製）を用いた。検査方法は図1に示すとおり、感染症流行予測調査事業検査術式¹⁾に従って赤血球凝集抑制（HI）試験を行い、血清中のHI抗体価を測定した。

* 1 仙南・仙塩広域水道事務所

* 2 仙台保健福祉事務所黒川支所

* 3 財宮城県公衆衛生協会

表1 年齢群別検体数

年齢群(才)	検体数
0~4	51
5~9	34
10~14	35
15~19	44
20~29	24
30~39	23
40~49	16
50~59	5
計	232

表2 年齢群別ワクチン接種率

年齢群(才)	ワクチン接種率	検体数	ワクチン接種歴		
			有り	無し	不明
0~4	38.9	51	14	32	5
5~9	31.0	34	9	20	5
10~14	44.8	35	13	16	6
15~19	54.1	44	20	17	7
20~29	21.4	24	3	11	10
30~39	20.0	23	3	12	8
40~49	0.0	16	0	9	7
50~59	0.0	5	0	3	2
計	34.1	232	62	120	50

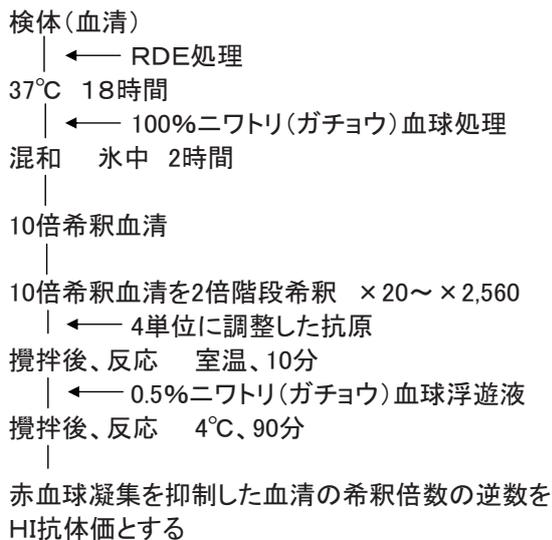


図1 検査方法

3 結果および考察

3.1 ワクチン接種率

調査票から2004/05シーズンのワクチン接種の有無が明らかな182名を対象とし、各年齢群のワクチン接種率を求め表2に示した。19才以下の各年齢群は30~50%の接種率であり、15~19才群が54.1%で最も高く、次いで10~14才群の44.8%、0~4才群の38.9%であった。20才以上の年齢群では接種率は20%代となり、40才以上では0%となっていた。全体としてのワクチン接種率は34.1%であった。全国と宮城県のワクチン接種率を比較し図2に示した。宮城県は平成10年度、11年度と17年度にインフルエンザ感受性調査を実施しており、その他の年度については調査票よりワクチン接種率を算出した。平成10年度、11年度調査時の4.3%、6.1%は全国のワクチン接種率の17.5%、18.1%と比較して低かったが、平成15年度は33.7%と全国の値に近づき、以降、平成17年度まで30%代であった。これは平成13年にインフルエンザワクチンが二類勧奨接種に指定され65才以上の高齢者への定期接種が導入されたことや、高病原性鳥インフルエンザの発生、新型インフルエンザの出現予想で関心が高まり、その結果、ワクチン接種率が上昇したものと考えられた。

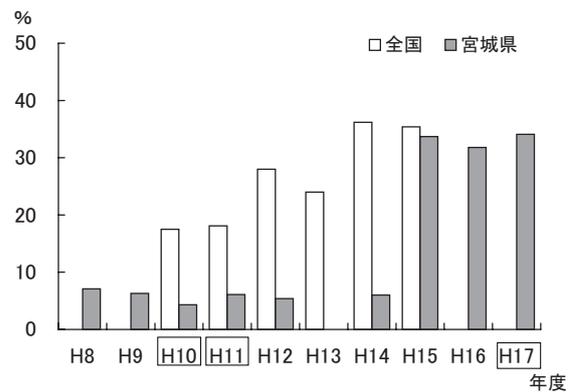


図2 ワクチン接種率の推移

3.2 抗体保有状況

3.2.1 A/New Caledonia/20/99 (Aソ連型H1N1)

Aソ連型に対する年齢群別の抗体保有率をワクチン接種率とともに図3に示した。ウイルスに対して感染防御が可能となる抗体価、いわゆる有効防御免疫の指標とされる抗体価は40倍以上²⁾とされており、全体の平均抗体保有率は、36.2%であった。年齢群別では5~19才の各年齢群が55.9%、51.4%、70.5%と比較的高く、15~19才群は全年齢群で最も高い保有率であった。これに対して0~4才群、30才以上の各年齢群は5.9%、8.7%と低く、40才以上の年齢群は0%であった。ワクチンの効果は5~6ヶ月程度とされているが、A/New Caledonia/20/99は、過去5シーズンのワクチン株であったため、毎年連続してワクチン接種を繰り返すことにより集団での抗体保有率はある程度維持されると考えられた。また、表3に平成16年度感染症発生動向調査の病原体検査によるインフルエンザウイルスの検出状況を月別に示したが、2004/05シーズンの検出ウイルスの36.6%をAソ連型が占め、シーズン初めの集団発生となった小学校からAソ連型が検出される等、県内での流行が確認されている。よって、5~19才までの年齢層はワクチン接種率も全年齢群の中では、比較的高いことに加えて、集団で生活する機会が多いため、ウイルス感染を頻繁に受けやすく高い保有率を維持していると考えられた。なお、15~19才

群は4抗原すべてに高い保有率であったが、とくに、2004/05シーズン感染したと考えられる160倍以上の高い値を示す保有者が40.9%（資料144頁）であり、地域流行があったと推測された。

3.2.2 A/New York/55/04 (A香港型H3N2)

A香港型に対する抗体保有率を図4に示した。有効防御免疫40倍以上の平均抗体保有率は50.9%であった。年齢群別では、やはり5～19才までの集団生活をおくる年齢群がAソ連型と同様に61.8%、77.1%、70.5%と高く、20～29才群は54.2%、0～4才群は29.4%、30～39才群、40～49才群は各々30.4%、25.0%であり、50～59才群は0%であった。A香港型のワクチン株は2004/05シーズン用からA/Wyoming/3/03となったが、流行後期に抗原性の変化した変異株が報告³⁾されたことから、2005/06シーズン用にはA/New York/55/04に変更となった。両株の間に抗体の交叉反応は低いとされているが、全体の平均抗体保有率は対象とした4抗原の中で最も高かった。その理由として、A香港型は流行の大小はあるものの毎シーズン確認されていることから、抗体保有者の蓄積があり集団としての免疫は維持されていると考えられた。また、表3に示したが、2004/05シーズンのA香港型の検出は流行後期の2～3月に集中しており、全国と同様に県内でも変異株の流行があった可能性が推測された。

3.2.3 B/Shanghai/361/02 (B型山形系統)

B型（山形系統）に対する抗体保有率を図5に示した。有効防御免疫40倍以上は、0～4才群で7.8%、15～19才群で68.2%と保有率に差はあるが、抗体を保有していない年齢群は無かった。とくに、他の抗原では抗体保有率の極めて低い40～49才群、50～59才群は31.3%、40.0%であり、全体の平均抗体保有率は34.1%であった。山形系統はビクトリア系統に変わって2004/05シーズンよりワクチン株となり、また、ワクチン接種率が0%の40才以上の年齢群でも抗体を保有していたこと、および、2004/05シーズンの県内における流行期に検出されたウイルスの41.6%をB型が占めていたことから、B型の侵淫は大規模だったと推測され、その影響により全年齢群が抗体を保有していたと考えられた。

3.2.4 B/Hawaii/13/04 (B型ビクトリア系統)

B型（ビクトリア系統）は、2004/05シーズン用のワクチン株に含まれていないので抗体保有率のみを図6に示した。40倍以上は全体の0.9%のみで、他の抗原に比べて低く、年齢群別は、5～9才群、10～14才群が2.9%となった以外は抗体を保有していなかった。ビクトリア系統は2シーズン前のワクチン株であり、ワクチン接種の効果が持続する5～6ヶ月の期間を経過していたこと、また2004/05シーズンの流行株でなかったことから抗体保有率が極めて低くなったと考えられた。

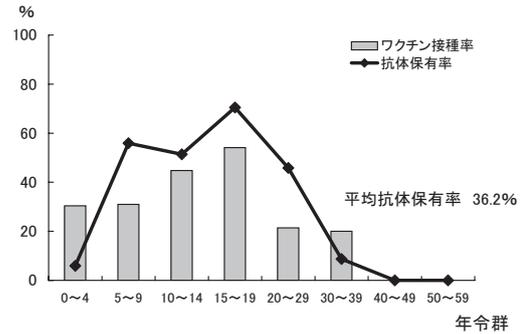


図3 年齢群別抗体保有状況 (Aソ連型H1N1)

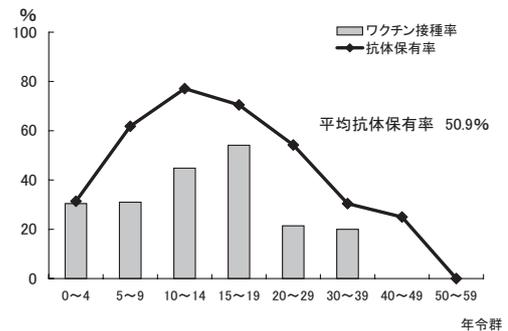


図4 年齢群別抗体保有状況 (A香港型H3N2)

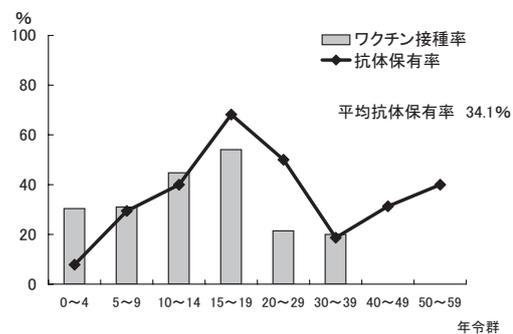


図5 年齢群別抗体保有状況 (B型山形系統)

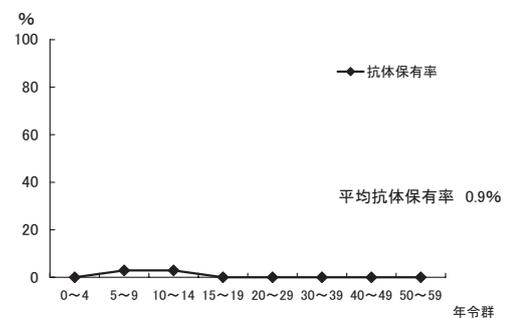


図6 年齢群別抗体保有状況 (B型ビクトリア系統)

表3 2004/05シーズンのインフルエンザウイルス検出状況

	11月	12月	1月	2月	3月	計	(%)
Aソ連型	3	23	16	23	9	74	(36.6)
A香港型			5	18	21	44	(21.8)
B型			14	39	31	84	(41.6)
合計	3	23	35	80	61	202	

4 まとめ

感染症流行予測調査事業の一環として行ったインフルエンザ感受性調査で、有効防御免疫の指標となるHI抗体価40倍以上について抗体保有率を求めた結果、Aソ連型、A香港型で、B型（山形系統）では、ワクチン接種率が全年令群のなかでは比較的高い10～19才の年令群で50～70%の高い保有率となった。この年令群は、集団で生活する機会が多いためウイルスの感染を頻繁に受けやすく高い抗体保有率を維持していると考えられた。Aソ連型は、シーズンはじめの集団発生より検出される等、県内での流行が確認されているが、その影響を受けて全体の平均抗体保有率は36.2%であった。A香港型では、2004/05シーズンのワクチン株との交叉反応が低いとされている2005/06シーズン用のワクチン株に対して、全体の平均抗体保有率が50.9%となり、過去の流行による

抗体保有者の蓄積もあって4抗原中、最も高くなった。B型（山形系統）では、他の抗原では抗体保有者の無い40才以上の年令群で30～40%の保有率を示す等、全年令群で抗体を保有しており、2004/05シーズンのB型の県内での流行が大規模であったことが推測された。B型（ビクトリア系統）は、2004/05シーズンの流行株でなかったことが影響して、ほとんどの年令群が抗体を保有しておらず、B型ウイルスの動向によっては流行すると推測された。今回の調査でも型や年令群によっては低い抗体保有率が確認され、インフルエンザ流行を最小限に抑えるためには、ワクチン接種勧奨が不可欠と考えられた。なお、この調査結果はワクチン接種の推進等、感染症対策に直結させるため、速報として国立感染症研究所感染症情報センターホームページで公開されている。

参考文献

- 1) 厚生労働省健康局結核感染症課，国立感染症研究所感染症流行予測調査事業委員会：感染症流行予測調査事業検査述式，18（平成14年6月）
- 2) 厚生労働省健康局結核感染症課，国立感染症研究所感染症情報センター：平成15年度感染症流行予測調査報告書，42（2004）
- 3) 国立感染症研究所，厚生労働省健康局結核感染症課：病原微生物検出情報，26（11），3（2005）

鳴瀬川水系における腸管出血性大腸菌の動態について

Environmental dynamics of Enterohemorrhagic *E.coli* in NARUSE river

畠山 敬 田村 広子*¹ 三品 道子
佐々木美江 谷津 壽郎 秋山 和夫*²

Takashi HATAKEYAMA, Hiroko TAMURA, Michiko MISHINA
Mie SASAKI, Juro YATSU, Kazuo AKIYAMA

平成16年度調査で鳴瀬川からSTX (Shiga toxin=Vero toxin) 遺伝子および毒素産生菌が検出されたが、その発生原因として酪農場の関与が示唆され、河川での菌の増減と降雨との間には関係があるものと推察された。また、7月のカキからは腸管出血性大腸菌の存在を示すSTX遺伝子が検出されることから、河口水の汚染が養殖カキの大腸菌汚染に深く関わりがあるものと考えられた。

キーワード：Shiga-Toxin；酪農場；降雨

Keywords：STX；dairy farm；rainfall

1 はじめに

平成16年度から実施しているプロジェクト研究（「微生物汚染と環境」）によって鳴瀬川中流域、河口水から病原因子を持つ大腸菌が検出されることが明らかとなった。さらに、同河川からはSTX遺伝子（以下、*stx*；毒素遺伝子）が検出されるばかりでなく、各種血清型の腸管出血性大腸菌（以下、EHEC）が分離されることが判明した。菌及び遺伝子は6月から8月の夏季間に集中的に観察され、上流である漆沢ダム湖水からは検出されなかった。

我々は過去にEHEC感染症と家畜との関連を数多く証明しているが¹⁾、鳴瀬川流域一帯は夏場にヒトのEHEC感染症が多発する地域であり家畜の飼養頭数も多いことから、この地域の支流河川が鳴瀬川中流域汚染の原因であることが疑われた。また、河口水から各種の病原因子や*stx*を保有する大腸菌が検出されたことは、河口付近あるいは沿岸海域に生息する魚貝類を汚染していることが十分考えられた。

そこで、調査の対象を「鳴瀬川中流域に流入する支流等を含めた、河川に存在するEHECの季節的変動」および「河口付近に生息する貝類からのEHECの検出」の2点とし、EHECの河川における挙動、ならびに河口付近を生息域とする食品（カキ）への汚染を明らかにすることを目的とした。

2 材料および方法

(1) 材料と採材地点

検査材料は河川水2Lとし、昨年度実施した鳴瀬川上流、中流、河口の他に、鳴瀬川の中流域に流れ込む3支流河川（花川・保野川・田川）を調査ポイントとして加えた計6定点で、5月から11月までの期間に毎月1回河川水を採取し、*stx*を指標としたMPN値の測定及びEHECの分離を行った（図1）。さらに、必要に応じて調査定点の追加を行った。

また、魚介類の調査はカキを対象として5・7・9・10・12月に松島湾付近の漁港から買い上げ、河川水と同様に*stx*の検出及び菌の分離を試みた。

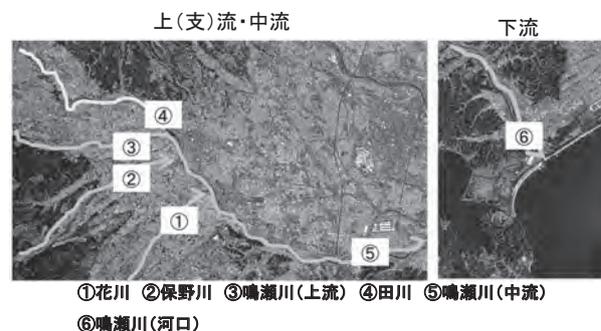


図1 調査定点

(2) 方法

河川水の菌数は*stx*を指標にしたMPN法（3管法）を用いて行い、遺伝子が検出された試験管の本数から

* 1 現 循環器・呼吸器病センター

* 2 現 宮城県公衆衛生協会

EHECの菌数を推定した。すなわち、河川水500・50・5mlの各3本に適量のmEC培地または粉末(栄研科学)を加えて37℃で18時間増菌培養した。その後、培養液1mlを採取してTaKaRa社製のVero毒素検出用プライマー(EVC-1・2)を用いPCRでstxを確認した。遺伝子が検出された検体は、DynaI社製anti-O157ビーズとO26抗血清(デンカ生研社製)を用いて自作したanti-O26ビーズにより集菌しDHL寒天培地及びCT-SMAC, CT-RMAC等の鑑別培地で分離を行い、その他の血清型菌の分離にはPCRによる絞込み法とコロニーハイブリダイゼーション法²⁾を併用した。

また、カキからの菌の分離は、E.coli MPN試験で大腸菌が陽性になった検体にPCRを実施し、以下、河川水と同様に分離を行った。分離された菌株はstxの他にもST(耐熱性毒素)、EAST1, eaeA³⁾などの病原因子を検索し、必要に応じてPFGE⁴⁾により過去に分離されたヒト感染症原因菌との遺伝子パターン比較を行った。

3 結果

(1) 河川水におけるstxの挙動

5月の調査時点では5定点からはstxは検出されな

かったものの、支流である田川では既にMPN0.9(／500ml)が検出された。6月の調査では全ての定点でMPN値が低くこの傾向は見られなかったが、7月には気温の上昇とともに各定点でMPN値が高度に上昇し、支流の保野川で110、花川及び鳴瀬川中流で46と全ての定点で6月の30から150倍以上の値を示した。しかし、8月から10月初旬までの調査ではいずれの定点もMPNが0.6以下と遺伝子はほとんど検出されず、調査月により検出率に大きく差があることが判明した。一方、10月中旬及び11月初旬の調査では9月までの採材時の気象条件とは異なり、比較的多量の降雨後に採材を行った結果、調査したほぼ全ての定点でMPNが前回より上昇した(図2)。また、これらの現象は冬季間の調査でも認められることから、stxの河川への出現は季節だけでなく河川の増水と関係があることが示された。

(2) 分離された大腸菌の血清型と保有する病原因子

河川から分離されたEHECの血清型はO1(VT1)1株、O26(VT1)13株、OUT(VT1)5株、OUT(VT2)2株であり、EHEC以外にもほぼ全ての調査期間を通じてEAST1, eaeA, ST等の病原因子を保有する大腸菌が分離された(表1)。

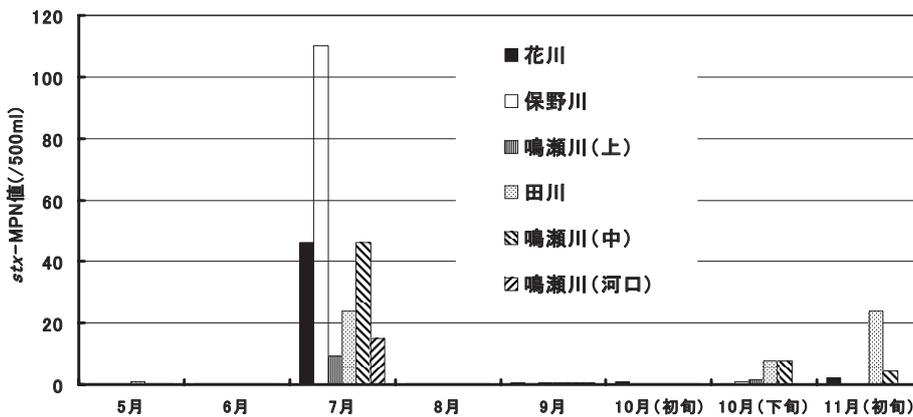


図2 各調査定点でのstxを指標にしたMPN値の季節的変動

表1 河川水由来大腸菌の保有するヒト病原因子

H16・H17	5月	6月	7月	8月	9月	10月(下)
鳴瀬川(中流)	063(EAST1)	0126(eaeA) 08(EAST1)		08(EAST1)		018(EAST1, ST)
鳴瀬川(河口)		OUT(V1) 0136(eaeA) OUT(eaeA)				063(eaeA)
花川			026(V1, eaeA)※			
保野川			01(V1)			
鳴瀬川(上流)					OUT(V1) OUT(V2, EAST1)	
田川	OUT(V1)		OUT(V1, eaeA)			026(V1, eaeA)

EAST1; Enteraggregative E.coli heat-stable enterotoxin gene保有株

eaeA; E.coli attaching and effecting gene保有株

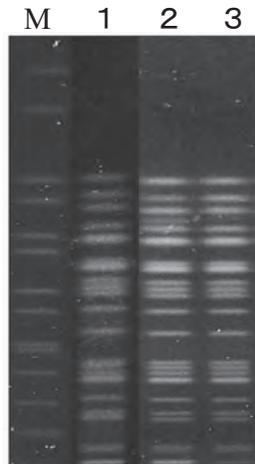
ST; heat-stable enterotoxin産生株

V1; STX1型毒素産生株

V2; STX2型毒素産生株

(3) 分離されたO26株のPFGE解析

河川から7月に分離されたO26株についてPFGE解析を行った結果、1株(O26:HNM)に一昨年度発生したヒト感染症株と遺伝子パターンが一致する株が存在することが判明した(図3)。



M : DNAマーカー
1 : 河川水由来株(O26:HNM)
2・3 : ヒト感染症由来株(O26:HNM)

図3 河川水由来EHECのPFGEパターン

(4) 支流における毒素遺伝子の検出

さらに、支流の汚染原因を探るため花川及び田川において通常の定点よりさらに上流に調査点を設けMPNの比較を行った。その結果、図4に示すように両河川ともに通常の定点から stx が検出されるにもかかわらず、上流域では遺伝子が全く検出されないこと。また、両調査地点間には家畜の集団飼育場が存在することから、これらが下流河川のEHEC汚染源である可能性が示唆された。

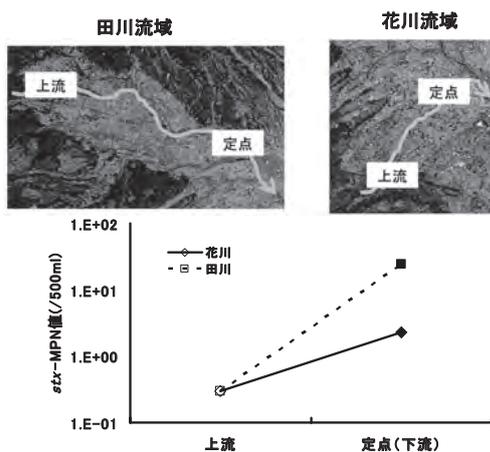


図4 支流域における stx の検出

(5) カキからの stx の検出

7月に採取したカキ2検体からPCRにより毒素遺伝子が検出されたが、検体から菌を分離することはできなかった(図5)。カキは大腸菌MPNが3500(／100g)お

よび330と調査期間中最も高かったが、7月は鳴瀬川河口における毒素遺伝子MPNも15(／500ml)と最も高く、カキから stx が検出された時期と一致した(図6)。

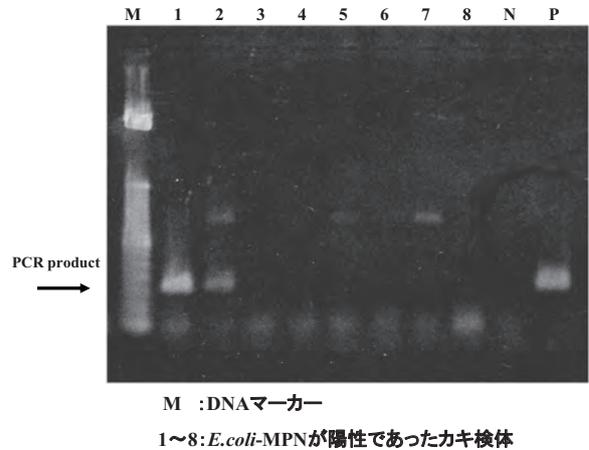


図5 7月の養殖カキから検出された stx

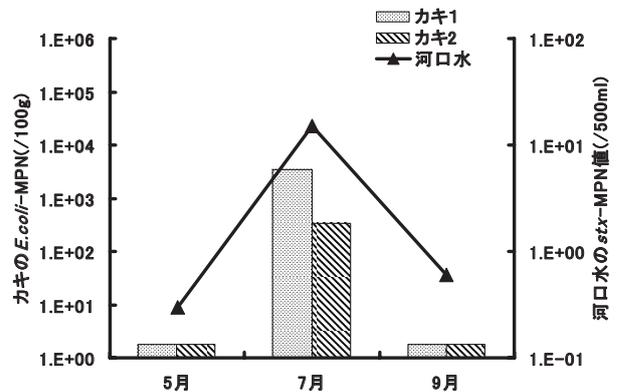


図6 カキの大腸菌数および河口水中の stx の推移

4 考察

河川水からのEHECの分離は他の地方衛生研究所でも試みられておりO157, O26, O111などの代表的なヒト感染症原因菌が存在するという報告がなされている⁵⁾。しかし、その報告の多くは比較的人口の密集する都市圏を流れる水系で行われたものであり、発生源に至る報告は少ない。我々も、昨年度の調査により鳴瀬川流域の河川水より多くの病原因子を保有する大腸菌およびEHECが分離されることを明らかにしたが、毒素遺伝子は比較的人口の少ない鳴瀬川の上流からも検出されることから追跡調査により原因を特定することが可能と思われた。また、鳴瀬川河口は代表的なカキの養殖地帯であり、河川の汚染は直接に食品の汚染に至る可能性がある。そこで、今回我々は、鳴瀬川の支流等を含めた河川でのEHECの季節による挙動と沿岸で養殖されるカキのEHEC汚染の2点に注目し調査を行った。

当初、我々は夏季に環境中でEHECが増殖し河川へ出現するという関係を想定していた。実際に、初期の調査では河川の毒素遺伝子は5月に最初に確認され、6月に

一時減少するものの7月には再び大きく上昇した。しかし、気温の最も高い8月・9月の調査では河川の毒素遺伝子のMPN値は低く、むしろ秋以降に上昇するという予想外の現象が観察された。そこで、夏から秋までの調査時の気象状況等を考察したところ、MPN値が上昇した時期の採材は7月を含め全て降雨後に行われていることが明らかとなった。7月に見られたような高いMPN値は示さないものの冬季の調査でも同様の結果であったことから、河川へのEHECの出現には気温や季節的なファクターだけでなく、降雨が深く関与していることが判明した。また、支流のさかのぼり調査によって河川でのEHECの出現には酪農場の存在が深く関連していることが示唆され、降雨による畜産雑排水の増加あるいは混入が河川を汚染する原因であることが推察された。

さらに、貝類の調査により7月のカキから毒素遺伝子が検出されたが、河口水から大量の毒素遺伝子が検出された時期とカキの大腸菌汚染が観察された時期は同じであり、降雨により支流河川に流れ込んだEHECが河口か

ら海岸域に拡散しこの時期の養殖ガキを汚染したことが考えられた。

5 参考文献

- 1) 畠山敬, 山口由美, 佐々木美江, 渡辺節, 齋藤紀行, 秋山和夫, 今野明日香, 小川今日子, 千葉文明, 川向和雄: 宮城県保健環境センター年報, 21, 52, (2003)
- 2) 畠山敬, 神尾好是: 宮城県獣医師会会報, 57, 138, (2004)
- 3) 坂崎利一編: 食水系感染症と細菌性食中毒, 210, (2000)
- 4) 渡辺治雄: 厚生労働科学研究新興・再興感染症研究事業 平成15年度総括・分担研究報告書「食品由来感染症の細菌学的疫学指標のデータベース化に関する研究」, 10, (2003)
- 5) 山内昌弘, 石津真理子, 菌輝久, 横田正春, 大中隆史, 田中智之: 堺市衛生研究所年報, 18, 47, (2000)

宮城県における腸管出血性大腸菌感染症の発生要因と予防対策の検証

Verification of Incident Preventions against Outbreak Incidences of Enterohemorrhagic *E.coli* Infection in Miyagi Prefecture

田村 広子*¹ 佐々木美江 畠山 敬
川野 みち 谷津 壽郎 秋山 和夫*²

Hiroko TAMURA, Mie SASAKI, Takashi HATAKEYAMA
Michi KAWANO, Juro YATSU, Kazuo AKIYAMA

平成11-16年度に発生した腸管出血性大腸菌（EHEC）感染症は、気温および肉牛の飼養農家戸数・飼養頭数と高い正の相関関係にあった。さらに、降水量と負の相関関係にあるにもかかわらず、夏季の降雨後にも多数発生し、発生要因の一つになっていることが推察された。平成17年度は、これらの発生要因を踏まえ、多発地域を重点に対策を講じるとともに検証を行った。その結果、EHEC O157の発生は予測値の範囲であったが、EHEC O26はその約40%に止まったことが判明した。これは対策が効を奏したものと考えられる。

キーワード：腸管出血性大腸菌感染症；気温；肉用牛；降雨量

Keywords : enterohemorrhagic *E.coli* infection ; temperature; cattle ; rain fall

1 はじめに

腸管出血性大腸菌感染症は、1996年に西日本で発生した集団事例を皮切りに、大規模食中毒の全国的な発生がみられた。その後も夏場を中心に全国で発生しており、毎年約3,500事例前後にのぼる。原因が特定された事例の中には、輸入牛肉による広域な散発事例¹⁾や焼肉店が原因の事例²⁾も多く見受けられる。また、牛はEHECを常在菌として保有していることから、牛糞や牛舎付近では多種類のEHECが検出され³⁾、汚染・感染源の一つであると考えられ、宮城県における牛の保菌率や三類感染症との関連も指摘されている^{4) 5)}。

平成16年度の宮城県（仙台市を除く）におけるEHECの感染事例数および感染者数はともに突出し、EHEC感染症事例と初発患者の発症日の気温および肉用牛の飼養戸数・飼養頭数が高い相関関係にあった^{9) 10)}。そこで、平成17年度は降水量との関連について追加検討するとともに、多発地域を重点に対策を講じ、その検証を行ったので報告する。

2 材料および方法

平成11-17年度に当センターで検査を行ったEHEC感染症213事例を検討対象とした。気温は、気象庁電子閲覧室の1日の平均気温を用いた。気温観測地点は駒の湯、

気仙沼、川渡、築館、米山、志津川、古川、大衡、鹿島台、石巻、新川、塩釜、江ノ島、仙台、川崎、白石、亘理、丸森の18地点である。発症日が明確な初発患者205事例について患者居住地に最も近い定点のデータの発症日の気温とし、1℃間隔で事例数をまとめた。また、降水量については同定点の発症日前10日間を合計して用いた。

牛の飼養実態は、平成16年2月「主要家畜の市町村別飼養戸数・飼養頭羽数」（宮城県畜産課）による。

なお、市・郡の区分は平成17年度3月31日現在を用いた。

検出された菌株は、血清型別とパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）による遺伝子型別について、国立感染症研究所で実施されている解析結果¹¹⁾と比較検討した。

3 対策

- (1) 5月の連休明けおよび発生時の県民への啓発：ホームページ、新聞、テレビを媒体として健康対策課主導で実施
- (2) 5月の連休前および発生時の多発地域に対する啓発：広報、チラシにより保健所で実施
- (3) 出前講座による感染予防知識の伝達：保健所、保健環境センター
- (4) 多発地域の環境（河川等）の細菌学的監視：保健環境センター

* 1 現 宮城県立循環器・呼吸器病センター

* 2 現 財宮城県公衆衛生協会

4 結果

4.1 EHEC感染症事例数

平成11-17年度のEHEC感染症事例数と感染者数の年度別推移を図1に示した。事例数および感染者数は11年度41事例53人、12年度32事例53人、13年度29事例45人、14年度21事例62人、15年度15事例26人、16年度55事例159人、17年度20事例45人で、11年度以降減少傾向にあったが、16年度は突出した。11-16年度の血清型別事例数を平均値±標準偏差値でみると、EHECO157（以下O157）は13±6.0事例、EHECO26（以下O26）は17±9.4事例、その他は2±1.5事例であった。17年度はO157の13事例が予測値の範囲で、O26の7事例およびその他の0事例は予測値の範囲を大きく下回った。11-16年度の県内地域別事例数（平均値±標準偏差値）は表に示していないが、登米地域10±5.3事例、仙南地域6±2.5事例、栗原地域5±3.6事例、塩釜地域5±3.4事例、大崎地域4±1.4事例、石巻地域および気仙沼地域各1±1.1事例であった。17年度最も多かったのは仙南地域7事例で、ついで大崎地域5事例、登米地域、塩釜地域各3事例、栗原地域2事例、石巻地域、気仙沼地域各1事例で、玉造郡・牡鹿郡での発生はなかった。登米地域は発生予測値を大きく下回ったが、ほかの地域は予測値の範囲内であった。

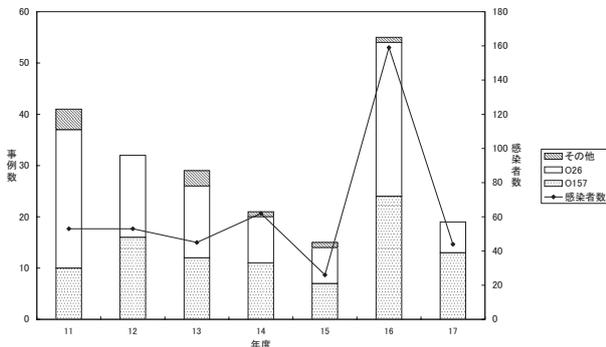


図1 EHEC感染症事例数と感染者数の年度別推移

4.2 気温とEHEC感染症事例数

気温とEHEC感染症発生との相関性を求めるため、11-16年度のEHEC感染症事例数総計を発症日気温（1℃間隔）ごとに分け図2に示した。その結果、気温と発生事例数には正の相関が認められた（ $Y=0.5275X-0.5601$, $R=0.7872$, $p<0.001$, 図2）。この算出された式に平成17年度の気温を入力した結果、0-5.0℃で0.6事例、5.1-10.0℃で2.8事例、10.1-15℃で5.0事例、15.1-20.0℃で7.2事例、20.1-25.0℃で9.4事例、25.0℃以上で11.6事例の発生が予測された。実際は、0-5.0℃で0事例、5.1-10.0℃で2事例、10.1-15℃で2事例、15.1-20.0℃で1事例、20.1-25.0℃で9事例、25.0℃以上で3事例の発生で、各階級で0.4~8.6事例下回った。同様の解析をO157について行った結果、 $Y=0.1931X+0.3201$, $R=0.6720$ ($p<0.001$) (図3) となった。これ

に平成17年度の気温を入力した結果、各階級で0.7-1.5-2.3-3.1-3.9-4.7事例と予測された。実際は2-1-1-0-6-2で0-5.0℃と20.1-25.0℃で予測値をそれぞれ1.3事例2.1事例上回った。ほかの階級は0.5-3.1事例下回った。いっぽう、O26では $Y=0.3039X-0.5306$, $R=0.7233$ ($p<0.001$) (図4) が得られ、平成17年度の気温を入力した結果、各階級で0.2-1.5-3.1-4.5-5.3-6.5と予測されたが、実際は1-1-0-1-2-2と高温で予測値を大きく下回った。

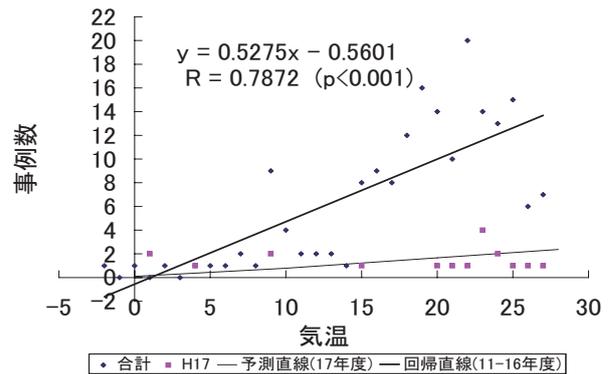


図2 発症日気温とEHEC感染症事例数

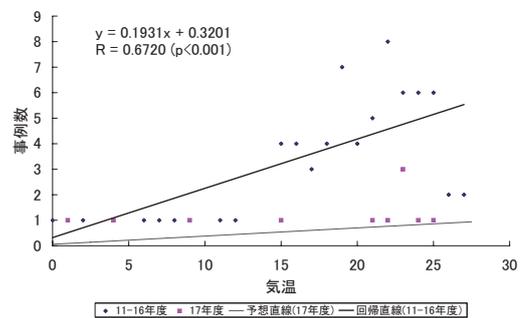


図3 発症日気温とO157感染症事例数

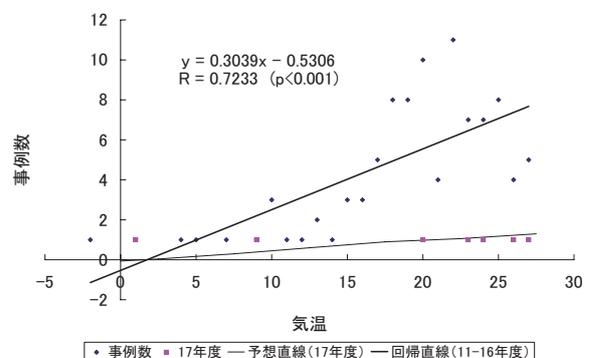


図4 発症日気温とO26感染症事例数

4.3 肉用牛の飼養実態とEHEC感染症事例数

11-16年度の市町村別の肉用牛飼養農家戸数とEHEC感染症事例数には、正の相関関係 $Y=0.020X+0.719$, $R=0.5378$ ($p<0.001$) が認められた (図5)。この式に平成17年度のEHEC感染症が発生した市町村ごとの肉用牛飼養戸数を入力し算出した結果、1-100戸で15事例、101-200戸で10事例、201-300戸で24事例、401-500戸で9事例の発生が予測された。実際は、1-100戸で11事例、101-200戸で3事例、201-300戸で4事例、401-500戸で1事例発生した。各階級で予測値を大きく下回り、階級が上がるほど大きく乖離した。

次に肉用牛飼養頭数との相関を求めた結果、正の相関関係 $Y=0.0016X+0.4835$, $R=0.6358$ ($p<0.001$) が認められた (図6)。この式に平成17年度のEHEC感染症が発生した市町村ごとの肉用牛飼養頭数を入力し算出したところ、1-1000頭で15.6事例、1001-2000頭で5.1事例、2001-3000頭で9.2事例、3001-4000頭で18.3事例、4001-5000頭で8.1事例および5001-6000頭で9.3事例の発生が予測された。実際は、それぞれ10-2-2-3-1-1事例が発生したが、各階級で予測値を大きく下回り、階級が上がるほど大きく乖離した (表1)。

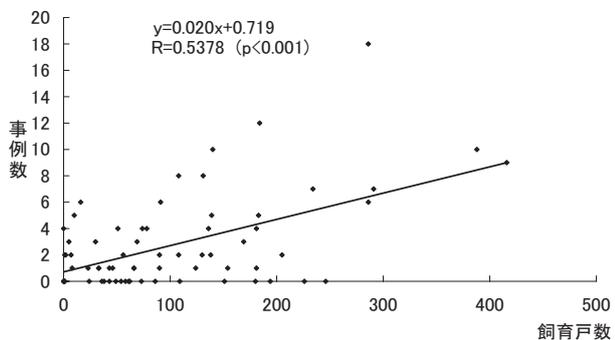


図5 11-16年度の市町村別肉用牛の飼養戸数とEHEC感染症事例数

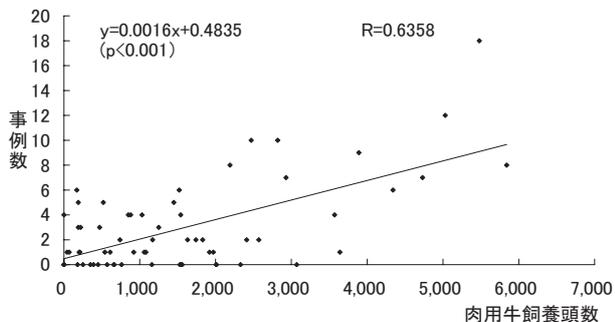


図6 11-16年度の市町村別肉用牛の飼養頭数とEHEC感染症事例数

表1 肉用牛の飼養実態とEHEC感染症発生予測値

戸数	予測値	実数	頭数	予測値	実数
1-100	15 事例	11 事例	1-1,000	15.6 事例	10 事例
101-200	10	3	1,001-2,000	5.1	2
201-300	24	4	2,001-3,000	9.2	2
301-400	0	0	3,001-4,000	18.3	3
401-500	9	1	4,001-5,000	8.1	1
			5,001-6,000	9.3	1

4.4 降雨とEHEC感染症事例数

EHEC感染症発生と降水量との相関を求めるため、11-17年度のEHEC感染症事例数を降水量 (10mm間隔) ごとに分け図7に示した。その結果、降水量と事例数には負の相関が認められた (図7a $Y=-0.0529X+7.5762$ $R=-0.4548$ $p<0.01$)。次にO157とO26それぞれについて解析した。O157事例数と降水量 (図7b $Y=-0.0233X+3.3483$ $R=-0.45185$ $p<0.01$)、O26事例数と降水量 (図7c $Y=-0.0296X+4.2279$ $R=-0.3954$ $p<0.01$) とともに負の相関を示し、降水量の少ないときに発生が集中していた。しかし、16年度については降水量が100mm以上で5事例発生した (図8)。

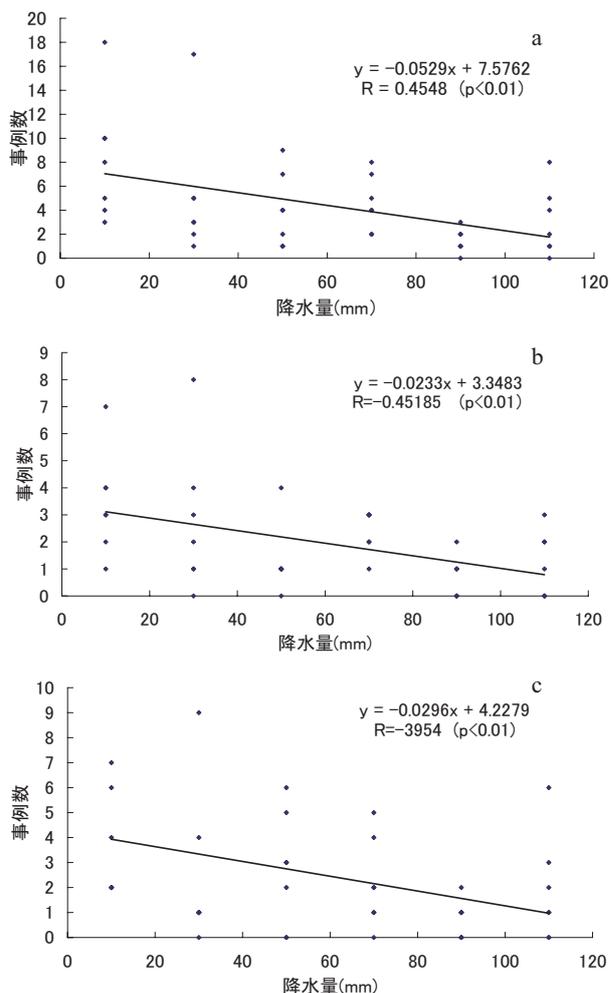


図7 降水量とEHEC感染症事例数

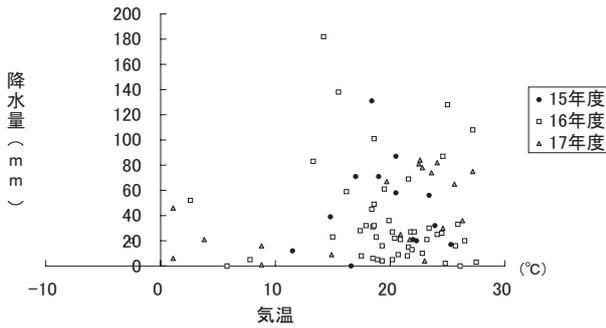


図8 事例ごとの気温と降水量

4.5 菌株の遺伝子パターン

17年度に検出されたEHEC菌株についてPFGE解析を行った結果、O157の13株中4株が他の県市で分離した菌株とPFGEパターンが一致し、このうちの1株は平成11年度から県内で度々検出される株と類似していた。また、他の2株は年度内の異なる事例で検出された株と一致した。一方、O26の7株はPFGEにより遺伝子パターンがすべて異なり、他の県市のものとも違っていった(表2)。

表2 PFGEによる遺伝子パターン

年度	O157:H7 VT1,2			O157:H7 VT2		
	Aタイプ	Bタイプ	その他	Cタイプ	Dタイプ	その他
11		①-1	1 1	①-3	②	
12	2	②	3 1 1 c1	①		c3
13	②	c1	1	②		c1
14	①	②		⑦-1		5 2 1 1
15	②	②	3 3 1 1	②		c1 1 1 1 1 4 1
16	c1	①		②		c4
17		①* 4	4 2 3 1 1			1* 1 1 ①*

注1) *: 17年度他県市で検出された株と同一
 注2) O157:H7 VT1,2: Aタイプ、Bタイプおよびその他に分類した。Aタイプは167.1-310.1kb間に6本、Bタイプは5本のバンドが特徴的であるが、他のバンドは一貫した。AおよびBタイプ以外はその他とした。表中の数字は菌株数で、○数字はAおよびBタイプの基本型とし、○の数字はサブタイプで167.1-310.1kb以外のバンドの相違を認めた。また、2以上の数字は同一事例の家族や保育園から検出された菌株数を表し、cは牛(cattle)由来株、ハイフンは同一事例での家族内および保育園内から検出された菌株の比較で1-2本のバンドが異なるサブタイプを表した。破線矢印はPFGEの同一パターンを示し、矢印のない破線は1-2本増減する類似パターンを意味する。
 注3) O157:H7 VT2: C、Dタイプおよびその他に分類した。Cタイプは310.1-668.9kb間に5本、Dタイプは同 3本のバンドが特徴的に確認され、CおよびDタイプ以外をその他とした。

年度	O157:H7 VT1	O157:HNM VT1,2	O157:HNM VT2
11	1		
12		2	2
13	c1		c1
14			
15		c1	
		②	
16		②	
		③	
17		1* 1 3	

注1) *: 17年度に他県市で検出された菌株と同一
 注2) 破線矢印: PFGEの同一パターンを示す。
 注3) c: 牛由来株

年度	O26:H11 VT1										O26:HNM VT1		O26:H11VT1,2				
	2	1	1	1	1	2	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1
11	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①
12	④	③	①	①	①	③	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①
13	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①
14	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①
15	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①
16	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①
17	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①	①

注1) 2以上の数字: 同一事例の家族内や保育園から検出された菌株数を表す。ハイフンは同一事例での家族内および保育園から検出された菌株の比較で1-2本のバンドの異なるサブタイプを表した。
 注2) c: 牛(cattle)由来株を表す。
 注3) 破線矢印: PFGEの同一パターンを示し、矢印のない破線は1-2本増減する類似パターンを意味する。

5 考察

県内でのEHEC感染症は、平成16年度に突出した発生が認められたことから、感染症発生防止対策の立案が求められた。はじめに感染症の発生要因を究明するために11~16年度に発生したそれぞれの事例を様々な要因との統計学的な解析を行った。その結果、発生には気温の上昇が大きく関係することが統計学的にも証明できた^{9,10)}。さらに、今回それぞれの結果から、17年度の発生予測値を求め、実際の発生件数との比較をそれぞれの要素について検討し、さらなる発生要因の究明を行った。

17年度の主な発生事例も気温と相関して発生していた。しかし、気温が10℃以下での発生が5事例認められたことから、気温以外の発生要因があるものと考えられ、それらが発生した前後の気象状況を気象庁のホームページから調べ降水量に着目した。そこで、EHEC感染症発生件数と降水量との相関性を求めると負の相関が認められ、降水量が少ないとき発生件数が多くなる傾向を示した。これは、O157およびO26発生事例別に解析しても同様な結果であった。すなわち、EHEC感染症の発生は気温が高く降水量の少ない時に集中して発生することが予測された。しかし、16年度には降水量が100mm以上での発生が5事例あり予測と矛盾する結果で、更なる発生要因があることが示唆された。

宮城県と仙台市、また16年度と17年度の気象には大差がないにも拘わらず、16年度の宮城県にEHEC感染症が多発した要因の一つと考えられる肉用牛飼養実態が重要な役割を果たしていたものと考えられる^{4,5,8,9)}。しかし、平成17年度は肉用牛の飼養頭数および飼養戸数ともに予測値を下回り、とくに飼養頭数が多い農家を抱える市町村でその乖離が大きかった。このことは平成16年11月から家畜排せつ物法が施行され、肉用牛の排せつ物の管理が強化されており、充実した監視態勢が影響したとも考えられる。

最後に、分離された菌株のPFGE解析から考察を行った。17年度のO157の発生は予測値の範囲であったが、発生事例から分離した菌株のうちの4株はPFGE解析の結果、全国各地で検出された菌株^{11,12)}と由来が同じと考えられた。広域で発生するO157の原因として、流通食

品が指摘されていることから、本県にもO157に汚染した食品が流通していた可能性が示唆された。一方、O26は他県分離株^{11,12)}と一致する菌株あるいは年度を越えて一致する菌株は確認されていないことから、O26の発生は単発で局所的な発生傾向にあると考えられた。しかも、17年度の発生は過去のデータを基に立てた発生予測値を大きく下回り、16年度の1/3で、過去6年間と比較しても冷夏であった15年度について少なく、とくに登米地区での減少が顕著であった。これは、17年度のEHEC感染症多発時季前から実施した感染症予防の啓発活動が功を奏した結果と思われる。

6 まとめ

- (1) 平成11-17年度のEHEC感染症事例数と降水量との間に負の相関が認められたが、平成16年度は高温多雨で5事例が発生した。
- (2) 平成11-16年度のEHEC感染症事例数と気温、肉用牛飼養実態との間に正の相関が認められたことを踏まえた対策を講じた結果、平成17年度のO157の発生は予測値の範囲の13事例であったが、O26はその約40%の7事例に止まった。

参考文献

- 1) 川本薫, 河辺充美, 笹本史, 轟いずみ, 高岸哲文, 小山田喬, 戸田秀一, 水谷純男, 平井茂: 食品衛生研究, 52, 73 (2002)
- 2) 丸住美都里, 新屋拓郎, 松岡由美子, 藤井幸三, 植川厚子, 中村 勉: 病原微生物検出情報, 26, 149 (2005)
- 3) Beutin L, Geier D, Steinruck H, Zimmermann S, Scheutz F: J Clin Microbiol., 31, 2483 (1993)
- 4) 畠山敬, 神尾好是: 宮城県獣医師会会報, 57, 138 (2004)
- 5) 山口友美, 田村広子, 佐々木美江, 畠山敬, 御代田恭子, 秋山和夫: 宮城県保健環境センター年報, 22, 42 (2004)
- 6) 病原体発生動向調査 週報, 7, 15 (2005)
- 7) 坂口浩章, 京塚明美, 児玉実, 佐伯幸三, 山岡弘二: 日本獣医師会雑誌, 56, 745 (2003)
- 8) 中澤宗生, 鮫島俊哉: 感染症学雑誌, 76, 76 (2002)
- 9) 田村広子, 三品道子, 菅原直子, 佐藤由美, 畠山敬, 谷津壽郎, 秋山和夫: 宮城県保健環境センター年報, 23, 47 (2005)
- 10) 谷津壽郎, 田村広子, 三品道子, 佐藤由美, 畠山敬, 秋山和夫: 宮城県獣医師会会報, 59, 20-23 (2006)
- 11) 寺嶋 淳, 泉谷秀昌, 伊豫田 淳, 三戸部治郎, 渡辺治雄: 病原微生物検出情報, 27, 144 (2006)
- 12) 寺嶋 淳: 食品由来感染症の細菌学的疫学指標のデータベース化に関する研究, 国立感染症研究所, 1-24 (2006)

掛け流し式温泉における微生物生息状況

Isolation of Microorganisms from Hot Spring Water in Miyagi Prefecture

佐々木美江 田村 広子*¹ 畠山 敬
谷津 壽郎 秋山 和夫*²

Mie SASAKI, Hiroko TAMURA, Takashi HATAKEYAMA
Juro YATSU, Kazuo AKIYAMA

微生物の生息状況が明らかになっていない掛け流し式温泉の実態調査を実施した。対象の22施設の浴槽水よりレジオネラ属菌が27%、抗酸菌が9%、アメーバが36%検出された。レジオネラ属菌は*L.pneumophila*, *L.londaniensis*, 抗酸菌は*M.avium*と*Mycobacterium sp.*と同定され、レジオネラ症、非結核性抗酸菌感染症の主な起因菌であった。このように、掛け流し式温泉の約3割で安全性が確保されていない実態が明らかになったことから、更に衛生管理を徹底して感染事故の防止に努める必要があることが推察された。

キーワード：温泉，レジオネラ属菌，アメーバ，抗酸菌

Keywords : hot spring ; *Legionella sp.* ; amoeba ; *Mycobacterium sp.*

1 はじめに

温泉には循環式および掛け流し式の2方式がある。循環式温泉では、ろ過器、ヘアキャッチャー、配管などの循環系統が主に微生物の温床となり、レジオネラ属菌を原因とするレジオネラ症の集団感染事例が多く報告されている¹⁾。厚生労働省では「循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策マニュアル」(平成13年9月11日)を通知し、衛生管理の徹底が指示されている。一方、掛け流し式は、感染事例の報告もなく、汚染源となる配管等も備えていないため安全と思われているが、その実態については明らかにされていない。そこで掛け流し式温泉の実態を明らかにするためレジオネラ属菌および浴槽施設において感染の可能性がある微生物(抗酸菌、アメーバなど)を調査して、その安全性について考察した。

2 方法

2.1 対象および材料

掛け流し式温泉22施設22ヶ所の浴槽水を試料とした。また、レジオネラ属菌の生活環よりぬめりにも生息していることが推測されたため、採取可能な注湯口、浴槽付近のぬめりについても拭き取り、試料とした。

2.2 検査項目

公衆浴場法および旅館業法施行細則の基準項目(レジオネラ属菌, 大腸菌群)とWHO「Guide lines for safe recreational

-water environments」に記載されている検査項目(大腸菌, アメーバ, 黄色ブドウ球菌, 緑膿菌, 抗酸菌)および汚染指標として従属栄養細菌, 一般細菌数を検査対象項目とした。

2.3 方法

浴槽水からのレジオネラ属菌, 大腸菌群, 大腸菌, アメーバ, 従属栄養細菌, 一般細菌数の検出および測定はそれぞれの検査法に従った。すなわち, レジオネラ属の検出では試料200mLを6500rpm30分間遠心した後, 上清を捨て滅菌蒸留水で1mLにしたものを検体とする。この検体を酸処理して100 μ LをGVPC培地などに塗布して10日間まで培養後, 分離された菌株の生化学性状の確認, PCR, 必要に応じてハイブリダイゼーションを行い, 同定した²⁾。抗酸菌の検出には遠心し200倍濃縮した試液をアルカリ処理後, 2%小川培地に100 μ L接種し37 $^{\circ}$ Cで8週間培養した。大腸菌, 大腸菌群はコリラートを使用し, 黄色ブドウ球菌, 緑膿菌の検出は食品衛生法に基づいてMPN値を求めた。検出したレジオネラ属菌は, 国立感染症研究所の検査マニュアルに準じたPFGE(パルスフィールド電気泳動法)で遺伝子解析を行った³⁾。

3 結果と考察

3.1 レジオネラ属菌の分離

22浴槽中6浴槽(27%)から検出され, 浴槽周辺のぬめりからは5件中2件(40%)検出され, このうち1件は浴槽水からもレジオネラ属菌が確認された(表1)。

* 1 現 宮城県立循環器・呼吸器病センター

* 2 現 (財)宮城県公衆衛生協会

ぬめりと浴槽水から分離した菌株（ぬめり3株、浴槽水13株）についてPFGEを行った結果（図1）、1株を除く15株が同一パターンを示した。このことは、ぬめりが浴槽汚染の一因となった可能性が示唆された。以前に実施した循環式温泉の調査⁴⁾では約40%の浴槽からレジオネラ属菌が検出されていたが、循環式に比較して低い検出率、少ない菌数（10~110cfu/100mL）ではあったが、掛け流し式温泉においても、レジオネラ属菌が検出され、レジオネラ症に感染する可能性もあることが明らかとなった。しかも掛け流し式温泉においても汚染源と考えられたぬめりの除去がレジオネラ属菌の汚染防止に有効であると思われた。

さらに、今回の調査で検出されレジオネラ属菌は *Legionella londanensis*, *L. pneumophila* の順に多く、循環式温泉では、約90%が *L. pneumophila* と分離菌種に差がみられた。これは、循環という環境が *L. pneumophila* の増殖する場として適していることが推測されたが、今後これについて検討することが重要であると思われた。

表1 レジオネラ属菌の分離状況

施設No.	浴槽水		拭き取り	
	菌数 (CFU/100ml)	種	検出	種
1	60	<i>Legionella sp.</i>		
2	<10			
3	<10			
4	<10			
5	<10			
6	<10			
7	20	<i>L.pneumophila</i> SG6 <i>Legionella sp.</i>		
8	<10			
9	10	<i>L.pneumophila</i> SG6 <i>L.londanensis</i>		
10	<10			
11	<10			
12	60	<i>L.pneumophila</i> SG1 <i>Legionella sp.</i>		
14	<10		-	
15	<10		-	
16	110	<i>Legionella sp.</i>	+	<i>Legionella sp.</i>
17	<10		+	<i>L.pneumophila</i>
18	<10		-	
19	<10			
20	<10			
21	<10			
22	<10			
23	10	<i>L.pneumophila</i> SG3 <i>Legionella sp.</i>		

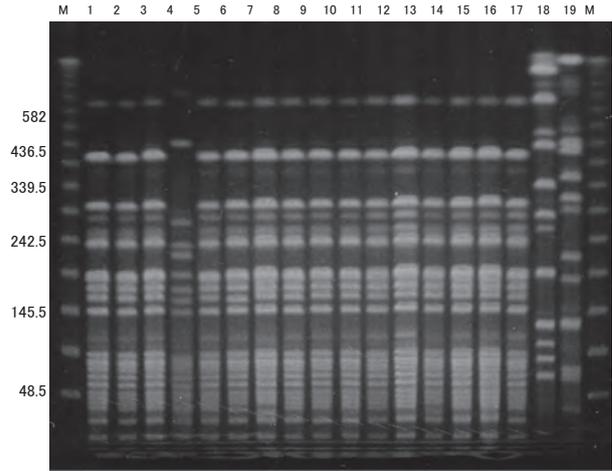


図1 PFGE解析

3.2 抗酸菌の分離

22浴槽中2浴槽（9%）から非結核性抗酸菌である *Mycobacterium scrofulaceum* および *M.avium* がそれぞれ検出された。いずれも檜の浴槽から分離され、同時にアメーバも検出された（表2）。抗酸菌はレジオネラ属菌と同様に細胞寄生性という特徴を有するためと考えられた（図3）。

近年、国内において24時間風呂から非結核性抗酸菌 *M.avium* に感染したとみられる事例も報告⁵⁾もあり、今回の成績から、県内の温泉でも注意が必要と考えられた。

3.3 アメーバ

22浴槽中8浴槽（36%）から3から110PFU/100mLのアメーバが分離された。分離されたアメーバはレジオネラ属菌の宿主となる *Hartmannella* や *Naegleria* が大半を占めていた。アメーバが検出された8浴槽の材質は、タイル2浴槽、コンクリート1、石1、檜4で、すべての檜の浴槽からはアメーバが分離された（表2）。檜の浴槽は、他の材質と比較して表面が粗く、またアメーバが定着しやすく、清掃も行き届かないためにアメーバの分離率が高くなったと推測された。

表2 抗酸菌とアメーバ分離状況

施設No.	レジオネラ属菌		宿主アメーバ		抗酸菌		浴槽の材質
	検出	菌数 (CFU/100ml)	種	菌数 (CFU/100ml)	種		
4	-	100	<i>Hartmannella</i>	0			檜
9	+	8	<i>Naegleria sp.</i> <i>Amoeba sp.</i>	0			コンクリート
10	-	50	<i>N.lovaniensis</i>	20	<i>M. scrofulaceum</i>		檜
12	+	150	<i>N.lovaniensis</i> <i>Platyamoeba</i>	0			石
15	+	4	<i>N.lovaniensis</i>	0			タイル
18	-	3	<i>Vexillifera</i>	0			タイル 天然石
21	-	50	<i>Hartmannella</i>	40	<i>M. avium</i> <i>M. scrofulaceum</i>		檜
22	+	100	<i>Amoeba sp.</i>	0			檜

3.4 その他の微生物検出状況

レジオネラ属菌、抗酸菌、アメーバ以外の微生物の検出状況を図2に示した。

浴槽水の水質基準は、大腸菌群が1個/mL未満、レ

ジオネラ属菌が検出されないことと定められている。今回、大腸菌群が基準値を超えた施設は7施設で、大腸菌は4施設から検出された。レジオネラ属菌と比較しても除菌しやすい菌であることから、衛生管理が徹底されていないことが疑われた。

また、食中毒の原因菌ともなる黄色ブドウ球菌が7施設、化膿した傷口から検出される緑膿菌が4施設から分離され、浴槽水からの感染も示唆された。このほか汚染指標として計測した一般細菌数は多いところで 10^4 CFU/mL、従属栄養細菌は 10^6 CFU/mL検出され、アメーバの餌となるこれらの細菌が増加するとレジオネラ属菌や抗酸菌が検出される傾向がみられたことから、これらの細菌を増殖させないようにすることが重要と考えられた。

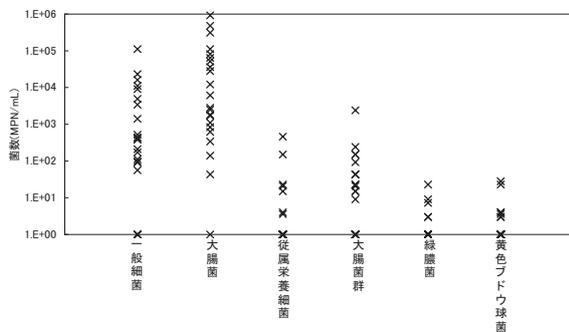


図2 微生物検出状況

4 まとめ

今回の調査で掛け流し式温泉においても様々な微生物が検出されることが確認され、浴槽周辺のぬめりが汚染の一因であることが再確認された。更に、循環式温泉と同様に感染の危険性はあると考えられるため、衛生管理を徹底して感染事故の防止に努める必要がある。

参考文献

- 1) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報，21，186 (2000)
- 2) 財団法人ビル管理教育センター発行：新版レジオネラ防止指針p.89 (1999)
- 3) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル p.844 (2003)
- 4) 佐々木美江，山口友美，畠山敬，齋藤紀行，白石広之：宮城県保健環境センター年報，19，62 (2001)
- 5) 鈿持 広知，本多 淳郎，馬場 智尚，松本 裕，志知 泉，江藤 尚，新井 一守：日本呼吸器学会雑誌，43，689 (2005)

改良型一斉分析法の追加農薬への適用とGC/MS/MS 分析による検出農薬の同定

Application of The Improved Multiresidue Pesticide Method
to Newly Added Pesticides and Identification of These Using GC/MS/MS

氏家 愛子 柳田 則明

Aiko UJIIE, Noriaki YANAGITA

昨年度報告¹⁾した残留農薬一斉分析法（以下改良型一斉分析法）を使用し、116農薬（異性体等含119）について、追加適用の可能性の検討を行った結果、109農薬（異性体等含112）の追加適用をすることができ、現行分析対象農薬と併せ290農薬（異性体等含314）の分析が可能となった。また、糖類及び有機酸を多く含有する果実類の分析については、カラム劣化及び分析機器の感度低下を改善するため、0.1M-NaHCO₃でpHを中性付近に調整した後、食塩を12g加え、改良型一斉分析法で試料調製することにより、標準添加回収率の向上と機器分析上の問題点を解決することができた。また、にんじん分析において検出された、アセフェート及びイソプロカルブの擬似ピークについて、GC/MS/MSによる同定・定量条件の検討を加えた結果、農薬の同定・定量を確実にするためには、プリカーサーイオン/プロダクトイオン対が2対以上必要であることが確認された。

キーワード：残留農薬多成分一斉分析法；GC/MS；LC/MS/MS；GC/MS/MS；精製

Keywords : Multiresidue Pesticide Method ; GC/MS ; LC/MS/MS ; GC/MS/MS ; Cleanup

1 はじめに

国民の健康保護最優先を目的とする、農薬、動物用医薬品及び飼料添加物についてのポジティブリスト制が平成18年5月29日から施行され、加工食品を含む全ての食品を対象として、799種類の農薬等の残留基準が設定された。また、基準設定のない農薬等については、一律基準の0.01ppmが適用されるため、農薬数の増加、検出下限値の低減及び農薬の正確な同定等、分析者にとっては技術面、精神面での負担増となっている。

Anastassiades.M²⁾らは、約40年間に各国で開発検討されてきた残留農薬の一斉分析法について概略を述べると共に、迅速・簡便な一斉分析法を報告しており、迅速、簡便、安価、安全、小型化、効率化³⁾が残留農薬一斉分析における現在のキーワードとなっている。

このような状況下、当所では、抽出液の精製に強陰イオン交換カラム及び弱陰イオン交換カラムを使用する方法^{4,5)}を基に、平成10年度からアセトニトリル抽出及びSAX/PSAカラム精製をベースとした種々の検討⁶⁻¹²⁾を行って来た。

今回、既報¹⁾の残留農薬一斉分析法を使用し、GC/MS対象96農薬（異性体等含98）、LC/MS/MS分析対象20農薬（異性体含21）について、追加適用の可能性の検討を行うと共に、りんご等、糖類及び有機酸を多く含有する果実等の分析については、カラム劣化及び分析機器の感

度低下を改善するため、更に分析方法に改良を加え、操作の簡便・迅速化と回収率の向上を図った。

また、一律基準適用により、農薬の同定を確実にすることが必要となるため、GC/MS/MSを使用した農薬疑似ピークの同定に検討を加えたので報告する。

2 方法

2.1 使用機器及び測定条件

標準添加回収試験に使用したGC/MS及びLC/MS/MSの測定条件等は、既報¹⁾のとおり。ただし、GC/MS注入量は2 μ l、LC/MS/MS注入量は5 μ lとした。

2.2 追加農薬の検討

改良型一斉分析法により、116農薬（異性体含119）の標準添加回収試験（n=3）を行った。対象農薬は、表2に示す111農薬（異性体含、GC/MS：98、LC/MS/MS：13）にベンズルタップ、クロリムロンエチル、フェルバム、ベンタゾン、フェンヘキサミド、フラザスルフロロン、トリクラミドのいずれもLC/MS/MS対象の7農薬である。対象品目は、にんじん、きゅうり、だいこん、冷凍いんげん、はくさい、ほうれん草、ブロッコリー、レタス、キウイフルーツ、グレープフルーツ、りんごの11品目で実施した。標準品の添加量は、一律基準を念頭に0.01ppm（試験品20gに各農薬200ng、ただし、きゅうり及びにんじん：0.02ppm、ブロッコリー及びレ

タス：0.02ppm～0.12ppm)とした。GC/MS測定では、SCAN分析での低感度農薬はSIM分析によった。結果の評価は、一斉分析で添加量が0.01ppmと低濃度であることを考慮し、回収率が60～140%、CVが20%以内であることを条件とした。

2.3 糖及び有機酸を多く含む果実類の分析法検討

ホモジナイズした試験品のpHを、0.1M-NaHCO₃ (10ml～30ml)と精製水(20ml～0ml：2液合計で30ml)で6～7に調整後、食塩を12g添加し、以下、改良型一斉分析法と同様に抽出・精製を行った。アセトニトリル抽出液を濃縮乾固する際、無水Na₂SO₄で15分脱水しても水が若干残るため、アセトニトリル3mlを加え共沸乾固した。

2.4 MS/MS分析による農薬の同定

にんじんのGC/MS分析において、アセフェート及びイソプロカルブの保持時間に、標準品とSCANスペクトルは異なるが、同じ定量イオン、確認イオン(3イオン)を持つ大きなピークが検出された。このピーク中に上記2農薬が含有されている場合、GC/MSでの定性・定量は不可能であったため、LC/MS/MS及びGC/MS/MSにより、表1に示す分析条件で検討を行った。

3 結果

3.1 追加農薬検討結果

標準添加回収試験結果を表2に示す。GC/MS-SCAN測定及び感度の低い農薬を対象としたGC/MS-SIM測定では、いずれかの品目で回収率が60%～140%の範囲を逸脱したものがあったものの、対象とした98農薬(異性体等含)全部で、良好な回収率が得られた。LC/MS/MS分析ではベンスルタップ、クロリムロンエチル、フェルバム、ベンタゾン、フェンヘキサミド、フラザスルフロロン、トリクラミドの7農薬が、対象とした全ての品目で回収率が低く適用できなかった。ベンタゾン及びフラザスルフロロンは、試料から抽出されるものの、最終溶解溶媒をメタノールにするため、この段階で溶解せずに回収率が低下したものと考えられた。

この結果、現行農薬を含めた290農薬(異性体等含314)をGC/MS-SCAN、GC/MS-SIM及びLC/MS/MS-MRMの3メソッドで測定することにより、290農薬全ての検出下限値を試料換算濃度で0.005ppmとすることが可能であった。

3.2 糖及び有機酸を多く含む果実類の分析法検討結果

糖分や有機酸含有量の多いりんご、キウイフルーツ、グレープフルーツは、改良型一斉分析法で試料調製をし、GC/MSで測定を行うと、抽出液中のマトリックスにより、カラム劣化や注入口の汚れによるGC/MS感度低下を引き起こす。また、クロマトグラム上でも、大きな妨害ピークがあるとその後のピークのリテンションタイムに遅れが生ずる場合もある。これらを改善するため、均一化した試料を20g分取後、0.1M-NaHCO₃を10ml～

30mlでpHを中性付近に調整し、0.1M-NaHCO₃と精製水の合計が30mlとなるように精製水を加えた後、食塩を12g入れて、アセトニトリル抽出以下の行程を、改良型一斉分析法により行った。この結果、液液分配による洗浄効果も得られ、キウイフルーツについて、図1のpH調整有無別トータルイオンクロマトグラム(以下TIC、GC/MS-SCAN)を比較すると、pH調整を行った方に、顕著な精製効果が認められた。この方法により、カラムの劣化やリテンションタイムの遅れ等、カラム分離での妨害を減少することができた。

また、図2に示すように、昨年度までの181農薬を対象に、pH調整後、改良型一斉分析法で標準添加回収試験を行った結果、特に、キウイフルーツでの回収率向上が顕著であった。追加農薬についても、このpH調整後の改良型一斉分析法で行った、グレープフルーツ、キウイフルーツ及びびりんごの標準添加回収試験結果は、表2に示すとおり良好な結果が得られた。

3.3 MS/MS分析による農薬の同定

にんじんのGC/MS-SCAN測定において、図3に示すとおり、アセフェート及びイソプロカルブと同じ保持時間に、同じ定量イオン及び確認イオン(3イオン)を持つ大きなピークが検出された(以下擬似ピークと略す)。定量イオンと確認イオンの比率が標準物質のそれとは違うが、このピークの中にアセフェート及びイソプロカルブが混在しているかどうか、GC条件の変更では確認することができなかった。検出されたピークについて、ライブラリ検索により、アセフェートの保持時間のピークはCaryophyllene、イソプロカルブの保持時間のピークはα-Caryophylleneと推定されたが、この成分により2農

表1 分析条件

装置	GC/MS/MS バリオン(株製 Varian-1200	LC/MS/MS アプライトバイオシステムズ(株製 API-3000
アセフェート m. w. 183	プロダクトイオンスキャン：m/z:40-150 プレカーサーイオンm/z=136 MRM：136/94(CE:-15V) 136/42(CE:-10V)	MRM： 184.1/143.0(CE:13V)
イソプロカルブ m. w. 193	プロダクトイオンスキャン：m/z:40-150 プレカーサーイオンm/z=136,121 MRM：121/77(CE:-20V) 121/93(CE:-10V) 136/93(CE:-15V) 136/121(CE:-15V)	MRM： 194.1/95.0(CE:23V)

注) pH調整なしとpH7に調整したものは、測定日時が異なるため、カラム(HP-5Ms, 30m×0.25mm, i. d. 0.25µm)のロット違いのためRTに若干のずれがある

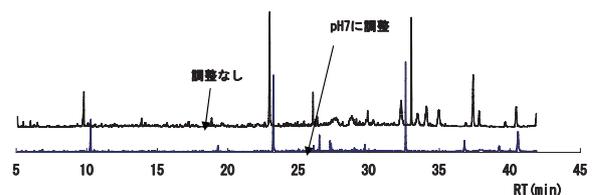


図1 pH調整の有無によるGC/MS-SCAN TIC (キウイフルーツ)

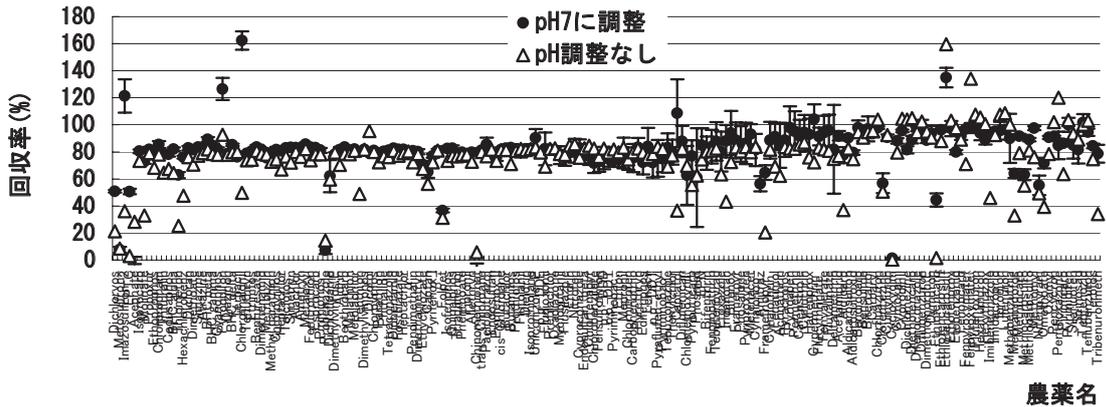


図2 pH調整の有無による標準添加回収率 (キウイフルーツ)

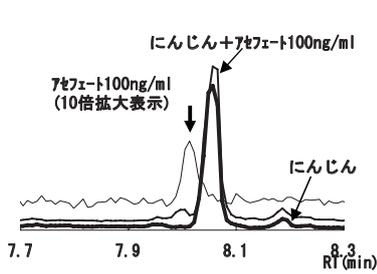


図4-1 プレカーサーイオン136のプロダクトイオンTIC(アセフェート)

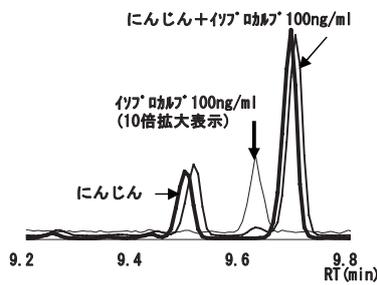


図4-2 プレカーサーイオン136のプロダクトイオンTIC(イソプロカルブ)

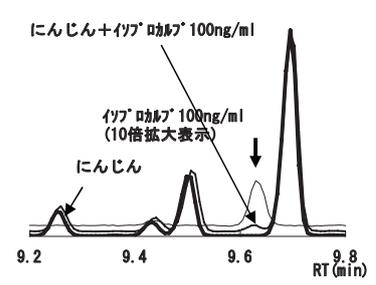


図4-3 プレカーサーイオン121のプロダクトイオンTIC(イソプロカルブ)

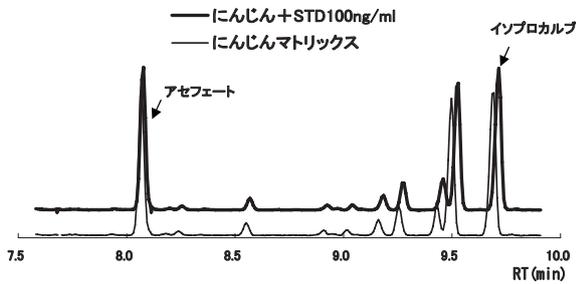


図3 GC/MS-SCAN TIC (にんじん)

薬の検出が妨害されるため、表1に示す条件で標準溶液100ng/ml、にんじん試料溶液、にんじん試料溶液に標準溶液を添加したもの(全体濃度として100ng/mlになるように添加)について、プロダクトイオンのSCAN分析を行った。この結果、アセフェート及びイソプロカルブとにんじん擬似ピークを分離することができ、擬似ピーク中にはアセフェート及びイソプロカルブは存在していないことがわかった(図4-1~図4-3)。

しかし、プロダクトイオンのSCAN分析でピークを分離できない場合、GC/MS/MS-MRM分析では、アセフェートの擬似ピークは、136→42には開裂せず136→94に開裂する組成であったため、同定するには136/94だけでは不十分であり、136/42と両方の確認が必要と考えられた。イソプロカルブの擬似ピークは121/77、121

/93、136/93、136/121の4つのイオン対全てが検出されており、アセフェートと同様、2つ以上の確認イオンとその比率が同定の条件と考えられた。また、LC/MS/MS分析では、ソフトイオン化により[M+H⁺]イオンをプレカーサーイオンとすることができるため、GC/MS/MSが、強度の高い開裂イオンをプレカーサーイオンとするのに比べ選択性が高い。アセフェートを目的とした184.1/143.0イオン対測定ではにんじん試料溶液にピークは出ず、イソプロカルブを目的とした194.1/95.0イオン対測定でも保持時間にはピークは検出されなかった。

4 まとめ

昨年度報告¹⁾した残留農薬一斉分析法(以下改良型一斉分析法)を使用し、GC/MS対象96農薬(異性体等含98)、LC/MS/MS分析対象20農薬(異性体含21)について、追加適用の可能性の検討を行った結果、109農薬(異性体等含112)の追加適用をすることができた。この結果、GC/MS-SCAN測定、GC/MS-SIM測定及びLC/MS/MS-MRM測定(2メソッド)の4メソッドを使用することで、現行分析農薬数と併せ290農薬(異性体等含314)について、一斉分析が可能となった。検出下限値は、全ての農薬で0.005ppmを確保することができた。また、糖類及び有機酸を多く含有する果実類の分析については、カラム劣化及び分析機器の感度低下を改善

するため、0.1M-NaHCO₃でpHを中性付近に調整した後、食塩を12g加え、改良型一斉分析法で試料調製することにより、標準添加回収率の向上と機器分析上の問題点を解決することができた。

また、にんじん分析において検出されたアセフェート及びイソプロカルブの擬似ピークについて、GC/MS-SCAN測定でのGC条件を変更しても擬似ピークが大きすぎて、アセフェート及びイソプロカルブを分離することができない状況であった。GC/MS/MSによる同定・定量条件の検討を加えた結果、プロダクトイオンのSCAN測定により、ピークの分離は可能であったが、直接GC/MS/MS-MRM測定をする場合、農薬の同定・定量を確実にするためには、プリカーサーイオン/プロダクトイオン対が2対以上必要であることが確認された。

参考文献

- 1) 氏家愛子, 佐藤信俊: 宮城県保健環境センター年報, 23, 55 (2005).
- 2) Anastassiades, M., Lehotay, S.J., Stajnbaher, D., & Schenck, F.S.: J.AOAC Int., 86, 412 (2003).
- 3) Lehotay, S.J., Mastovska, K., & Lightfield, A.R.: J.AOAC Int., 88, 615 (2005).
- 4) Cairns, T., Luke, M.A., Chiu, K.S., Navarro, D., & Siegmund E.G.: Rapid Communications in Mass Spectrometry, 7, 1070 (1993).
- 5) Luke, M.A.: 8th Int. Congr. Pestic. Chem. Options 2000, 174(1).
- 6) 菊地秀夫, 佐藤勤, 山口剛, 伊藤孝一: 宮城県保健環境センター年報, 17, 64 (1999).
- 7) 氏家愛子, 高橋紀世子, 細谷義隆, 伊藤孝一: 宮城県保健環境センター年報, 17, 70 (1999).
- 8) 菊地秀夫, 氏家愛子, 新目眞弓, 大江浩: 宮城県保健環境センター年報, 18, 70 (2000).
- 9) 菊地秀夫, 氏家愛子, 新目眞弓, 大江浩: 宮城県保健環境センター年報, 19, 173 (2001).
- 10) 長船達也, 氏家愛子, 曾根美千代, 大江浩: 宮城県保健環境センター年報, 20, 72 (2002).
- 11) 氏家愛子, 長船達也, 大江浩: 宮城県保健環境センター年報, 21, 126 (2003).
- 12) 氏家愛子, 佐藤信俊: 宮城県保健環境センター年報, 22, 55 (2004).

表2 追加農薬の標準添加回収試験結果 (-1)

品目	添加量: 0.01 μg/g (きゅうり、人参: 0.02 μg/g、プロポリー、レタ: 0.02 μg/g ~ 0.12 μg/g) (%)																					
	人参		きゅうり		大根		いんげん		白菜		ほうれん草		プロポリー		レタ		キウイ		グレープフルーツ		りんご	
農薬名	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD
XMC	95	2.4	97	2.2	93	1.6	92	1.1	99	1.1	84	3.4	93	2.3	92	0.9	90	1.6	78	14	100	0.4
アザconaゾール	91	7.6	99	0.6	85	8.2	90	10	100	1.5	100	7.7	89	4.7	100	4.8	82	4.6	75	6.0	99	7.6
アセトクロール	87	1.6	98	3.2	68	10	90	2.0	81	5.0	100	5.5	91	1.5	95	1.0	89	4.0	80	20	87	7.5
イサゾホス	83	12	93	2.7	74	2.6	88	6.2	99	5.9	88	2.5	89	3.1	96	4.0	97	3.1	85	10	99	4.8
イソキサチオン	85	4.1	97	0.9	91	7.8	87	5.6	99	1.9	92	7.9	81	3.8	120	0.4	78	7.0	110	6.6	100	4.2
イソキサチオンオキソン	86	0.8	88	3.5	88	2.4	86	4.5	110	5.5	99	3.1	90	4.7	300	1.7	90	5.9	77	8.2	110	3.1
イプロベンホス	85	1.2	98	7.2	92	1.8	89	1.3	98	0.9	89	2.9	94	3.3	94	0.6	90	3.2	84	12	97	4.3
イマザメタベンズメチルエステル	84	2.4	81	4.1	100	4.4	79	8.9	95	6.9	89	9.1	70	4.8	67	-	66	7.5	90	6.1	100	2.7
イミダクロプリド	94	5.2	89	11	89	6.1	96	2.9	-	-	-	-	95	1.5	89	2.9	90	5.0	-	-	-	-
エクロメゾール	63	7.4	83	5.8	52	11	50	13	78	8.3	80	5.1	97	7.0	100	6.2	72	7.0	62	0.2	68	4.4
エトフメート	82	1.7	95	2.3	90	1.7	98	4.3	96	10	91	6.2	-	-	660	120	100	11	84	7.2	96	3.4
オキサジキシル	100	3.7	110	6.8	110	6.3	89	8.1	89	8.7	96	6.8	96	0.6	100	2.5	100	5.1	0	-	-	-
オキシフルオフェン	89	3.6	99	3.9	98	3.6	80	2.7	100	3.9	95	6.8	93	4.1	100	2.4	82	1.1	79	3.9	110	4.6
カフエントラゾンエチル	80	4.6	94	4.7	100	6.5	94	5.8	100	1.2	93	2.7	85	5.5	100	0.5	82	11	79	6.3	110	2.4
カルボフラン	99	2.7	91	4.0	150	15	85	2.9	100	2.6	94	3.8	200	8.0	170	5.1	93	1.0	78	12	110	2.1
キノキシフェン	83	3.5	93	2.8	100	2.7	84	6.8	100	1.7	93	7.3	87	2.0	99	2.6	86	10	76	11	100	1.9
キノクラミン	100	7.3	100	2.8	97	6.5	87	5.2	100	3.2	87	4.3	110	3.0	123	1.0	88	4.3	95	4.1	97	2.9
キントゼン	87	4.3	93	5.1	82	5.0	80	4.4	100	3.4	83	7.9	90	3.0	90	2.2	79	5.4	79	4.4	88	6.8
クレソキシムメチル	90	1.2	94	2.2	57	12	86	4.9	97	0.3	94	5.0	100	3.2	130	1.4	79	11	96	24	99	11
クロタルジメチル	84	1.7	92	1.6	87	1.0	80	3.9	93	0.4	83	1.3	88	1.8	95	0.4	95	0.8	82	8.2	94	1.5
クロマゾン	87	1.9	94	1.5	82	2.4	87	3.1	95	0.7	90	6.4	92	3.5	97	1.1	93	1.0	81	9.4	93	7.5
クロルフェンソ	82	4.1	97	4.1	96	0.9	91	2.9	98	1.9	83	7.7	92	2.9	130	0.0	80	11	120	11	95	3.1
シアノフェンホス	84	2.2	95	3.9	100	1.8	96	1.3	99	1.7	92	7.1	89	5.2	120	1.2	69	19	84	7.0	95	3.3
ジクロホップメチル	87	2.2	94	5.3	100	15	78	11	97	6.8	87	10	87	4.1	100	1.5	83	7.1	82	8.3	92	5.6
ジチオピル	84	1.8	90	2.4	87	0.8	86	4.0	93	3.3	80	5.4	92	1.7	110	0.8	88	6.6	83	1.2	94	2.0
ジフェルアミン	79	1.9	79	1.3	51	35	84	2.7	88	3.0	88	3.6	110	0.3	110	0.5	89	5.9	85	3.8	74	1.5
ジメビペレート	83	3.6	96	1.8	88	3.4	87	3.6	100	4.7	90	5.9	90	3.1	98	0.9	90	0.6	87	9.3	110	0.9
シンメトリン	84	11	92	1.0	89	7.7	100	5.9	11	120	95	2.2	110	1.9	130	0.6	90	8.3	88	11	87	3.0
スウェーデン	91	2	99	3.3	93	1.3	99	2.5	96	3	100	3.7	110	1.1	130	0.1	86	6.1	90	0.8	98	3.0
テクナゼン	85	0	86	1.3	76	4.1	67	3.6	77	11	96	4.4	87	3.9	90	0.0	84	3.7	76	10	78	5.2
デスメデイファム	68	27	81	6.9	84	1.0	79	13	97	2.0	57	6.7	*	*	*	*	83	0.7	70	12	94	2.6
テトラコロルビンホス	86	0.8	97	1.5	85	10	85	4.6	97	3.0	91	5.4	100	2.0	120	0.5	84	4.7	77	1.7	100	1.8
テトラジホ	70	4.3	94	5.4	130	13	100	7.1	96	2.3	97	6.0	87	4.5	94	0.3	69	12	79	7.4	88	10
トリアジメホ	89	3.3	99	1.2	83	2.8	91	4.7	100	1.4	95	2.9	100	1.6	120	0.6	86	10	81	7.3	98	1.7
トリアゾホス	92	1.1	100	3.4	100	16	96	4.8	110	1.9	91	21	98	6.0	120	10.4	38	48	87	12	100	5.1
トリアレート	84	4.4	93	2.1	77	5.4	79	0.5	86	2.5	91	4.2	91	1.6	96	1.1	89	2.3	85	6.9	97	5.1
トリシクランゾール	100	2.8	110	3.9	110	1.4	100	13	100	3.3	100	10	120	6.1	190	2.8	62	12	99	10	103	8.5

表2 追加農薬の標準添加回収試験結果(一)

農薬名	人参		きゅうり		大根		いんげん		白菜		ほうれん草		アロカシー		レタス		キウイ		グレープフルーツ		りんご	
	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD
トリフロス	88	1.3	89	0.2	84	3.8	80	4.2	94	1.9	92	8.2	94	2.1	99	1.8	91	6.0	85	8.7	95	7.8
トリフロキシストロピン	82	1.8	96	1.7	110	5.7	85	4.8	100	1.5	95	8.7	86	2.4	97	0.5	84	6.1	84	7.9	100	3.9
トリフルアニド	74	19	76	33	-	-	92	20	26	0.0	27	2.8	76	23	620	0.7	69	6.8	91	5.4	88	3.2
トルフェンピラド	93	7.6	72	17	49	7.7	44	20	100	2.0	85	8.5	88	8.7	90	26	87	4.6	90	5.7	91	6.4
ナプロバミド	96	1.0	92	1.0	87	7.3	88	5.6	98	1.4	96	4.8	94	1.3	99	2.9	97	3.1	81	8.4	96	4.9
ニトタールイソプロピル	86	3.1	97	4.2	92	1.3	84	0.5	110	2.0	94	4.6	95	3.1	97	5.0	75	6.8	78	14	100	4.2
ノルフルラゾン	90	4.2	100	4.1	90	8.9	101	4.0	110	3.1	100	6.6	120	7.4	130	1.4	79	11	82	1.5	92	7.1
ピベロホス	81	3.8	98	5.2	110	0.7	93	1.1	110	3.6	100	4.9	96	7.1	100	1.2	83	5.0	77	6.5	100	6.1
ピラゾホス	79	4.7	100	5.6	120	5.9	98	6.2	100	2.9	90	5.2	89	6.4	99	4.8	76	11	81	10	100	4.1
ピリダフェノチオン	85	2.5	100	2.7	110	8.4	98	2.6	100	2.1	83	6.3	95	6.1	60	0.6	84	13	86	7.6	92	5.8
ピンクロソリン	84	2.8	94	1.8	94	7.6	84	1.1	82	8.5	91	3.6	100	1.4	110	0.2	60	8.6	79	11	87	4.3
フェナミホス	84	1.5	80	4.4	94	2.1	84	5.6	99	3.7	96	7.5	100	3.0	94	1.5	73	3.4	86	7.6	93	1.9
2-フェニルフェノール	86	0.8	98	5.2	86	1.7	89	3.0	92	1.8	87	3.0	110	0.6	126	1.0	85	3.4	0	-	90	2.2
フェノキサニル	86	8.6	94	6.4	87	6.0	100	6.3	110	3.4	90	9.2	92	4.8	190	4.7	80	8.0	-	-	60	18
フェノキサプロップエチル	75	1.7	91	8.0	120	3.6	86	6.1	98	3.2	69	5.2	92	8.3	120	4.7	80	8.6	0	-	85	7.8
フェノキシカルブ	85	3.3	110	7.1	120	5.1	110	4.2	100	4.4	79	10	95	9.1	130	0.2	93	10	86	6.4	90	5.2
フェノチオカルブ	84	2.9	95	0.6	94	3.6	84	7.4	100	1.7	91	6.4	90	0.8	97	0.6	96	1.7	84	8.1	95	2.1
フェノトリン	89	4.6	99	11	110	4.0	100	5.1	100	2.6	99	6.6	100	0.0	96	15	76	3.3	94	9.5	99	5.2
フェンクローホス	83	1.4	91	2.5	85	2.7	84	1.6	94	3.0	77	2.8	96	1.7	120	0.3	84	6.6	78	1.8	90	3.6
フェンコナゾール	95	3.9	65	8.1	110	3.8	83	5.0	89	8.5	77	13	90	2.8	100	17	91	3.2	92	2.8	86	6.0
フェンロピモルフ	86	1.5	92	1.4	88	1.6	86	2.1	99	2.4	88	4.4	93	1.9	96	0.5	93	0.5	71	13	98	1.5
ズピリメート	80	2.6	87	1.4	92	2.8	78	10	95	2.1	94	8.2	87	2.4	93	0.4	91	3.3	78	14	100	3.3
ズプロフェジン	84	3.1	93	1.9	91	4.9	79	4.2	94	1.2	90	6.3	79	3.4	110	2.0	81	5.0	120	4.9	88	1.6
ズラチオカルブ	80	1.1	99	4.2	240	36	100	6.4	94	4.8	72	6.1	82	7.8	130	0.3	76	14	110	5.2	88	6.0
ズラムプロップエチル	81	3.4	95	6.5	100	3.5	90	2.8	98	4.1	94	4.6	91	0.8	100	0.7	96	2.8	79	8.4	110	4.1
フルアケルピリム	82	2.5	97	3.5	100	3.0	88	7.8	100	4.4	95	6.4	85	4.5	110	1.6	92	7.9	87	1.8	100	3.4
フルトリアホール	83	9.8	110	8.9	85	8.1	66	13	110	6.6	95	10	100	2.4	100	1.1	82	3.3	79	10	82	17
フルミオキサジン	88	7.3	60	16	86	4.1	77	11	100	2.4	76	9	100	19	92	21	84	8.4	78	9.4	90	6.0
フルミクロラックベンチル	84	6.1	64	18	81	3.0	65	5.2	100	2.4	73	6.9	92	23	88	10	83	6.5	90	5.3	87	7.2
プロシメドン	98	2.6	97	2.5	92	1.7	66	11	96	5.1	87	7.7	82	0.2	130	1.3	80	9.0	86	3.9	95	4.0
プロバクロー	90	1.4	91	1.6	90	0.5	86	1.4	97	7.4	84	5.6	95	1.8	91	0.4	92	1.2	83	10	97	1.2
プロバニル	90	1.8	99	1.8	88	2.0	85	3.5	100	0.5	93	6.3	110	0.8	120	1.1	80	8.3	91	7.9	95	5.7
プロバホス	87	1.2	81	2.0	91	2.1	83	6.4	86	3.9	89	9.0	97	1.0	100	0.6	75	12	81	8.6	96	5.4
プロバモカルブ	61	6.2	62	3.6	59	4.6	40	23	-	-	67	5.1	82	9.1	85	2.1	38	2	20	10	21	25
プロバルギット	83	1.9	94	1.0	95	2.5	82	6.8	97	2.9	94	8.1	88	6.2	100	2.4	86	4.9	82	4.3	500	40
プロビコナゾール	87	2.2	93	0.9	100	3.0	79	7.1	99	2.9	87	6.3	86	0.1	100	1.9	100	7.8	93	8.9	100	12
プロビザミド	88	2.1	95	1.1	91	1.9	88	1.7	96	3.5	85	1.7	110	0.3	120	0.5	99	5.9	96	7.5	92	1.6
プロフェノホス	80	2.4	95	1.1	89	1.8	85	4.4	90	2.7	78	1.9	90	1.5	99	7.4	86	14	82	6.8	94	3.0
プロマシル	95	1.7	100	1.9	-	-	82	7.6	100	1.6	100	7.9	110	3.0	120	0.5	82	12	74	15	110	5.4
プロメトリン	87	1.2	95	0.2	91	1.2	85	3.4	96	6.1	89	0.2	110	0.8	120	0.7	84	6.9	82	3.6	96	3.3
プロメトン	100	3.8	100	5.1	94	4.3	99	2.1	92	6.9	89	3.9	120	0.6	120	0.4	86	17	71	6.5	86	6.6
プロモブチド	87	5.4	93	2.3	86	1.7	82	3.2	79	4.3	85	9.3	92	4.0	99	0.4	90	0.4	83	7.8	98	1.7
プロモプロピレート	83	0.5	94	4.4	110	3.1	103	4.7	99	2.5	76	5.3	81	7.7	59	0.4	76	17	86	7.6	91	5.8
プロモホスメチル	85	2.9	93	3.2	84	4.0	80	3.3	91	5.1	87	5.4	89	2.1	94	3.4	94	0.1	82	6.9	86	7.9
ヘキサコナゾール	84	7.1	121	1.4	89	7.9	95	13	110	1.6	89	9.3	110	4.6	160	2.0	65	18	77	7.8	95	12
ヘキサジノン	94	3.7	99	4.1	110	2.8	105	2.5	100	4.8	97	9.5	100	3.7	110	0.8	79	11	73	15	99	2.9
ペナラキシル	83	2.2	95	1.2	98	0.3	88	5.5	95	2.4	94	7.2	88	3.9	98	2.2	91	4.8	80	10	100	1.0
ペノキサコール	86	3.4	92	1.9	80	6.0	87	2.4	96	1.0	99	4.3	96	3.5	98	2.9	93	1.7	83	9.0	98	2.7
ペンコナゾール	95	1.3	110	2.8	95	1.6	76	11	100	5.8	93	6.6	110	1.4	130	0.1	88	7.0	85	9.2	99	1.2
ペンフルカルブ	31	19	77	10	-	-	80	6.3	-	-	63	19	71	7.6	95	1.3	16	0.0	0	-	-	-
ペンフルラリン	86	3.4	94	1.6	80	1.8	81	1.3	93	1.3	90	1.7	87	5.3	95	1.1	79	4.7	82	6.7	93	2.9
ホスファミドン	94	4.1	97	4.0	85	7.5	81	6.5	110	7.9	100	8.1	100	1.2	100	1.5	90	0.4	86	6.7	110	6.9
ホノホス	88	5.1	97	9.0	88	4.6	79	2.4	66	10	88	4.2	92	2.2	120	0.2	82	5.2	90	1.3	92	4.4
ホレート	77	3.2	79	3.6	81	2.5	76	1.6	86	2.4	84	3.6	93	1.4	93	0.2	71	5.2	69	6.9	99	2.0
メタクリホス	79	2.6	89	2.8	75	4.5	69	6.9	88	2.2	72	9.1	110	0.9	121	3.0	81	5.6	100	4.7	100	20
メチダチオン	90	2.4	100	1.3	98	9.3	87	6.1	97	2.5	93	3.6	110	1.4	150	3.5	81	5.0	82	7.3	100	3.3
メトキシクロー	85	2.1	97	3.4	100	4.3	100	1.5	98	2.0	79	5.1	83	9.0	58	1.9	61	13	81	8.4	92	9.3
メトブレ	84	18	110	21	85	3.7	86	6.7	100	8.4	69	19	74	1.0	-	-	71	1.9	80	2.8	83	15
メトミノストロピン(E)	90																					

食肉中の残留動物用医薬品のLC/MSによる一斉分析

Simultaneous Determination of Residual Veterinary Drugs in Meat by Liquid Chromatography / Mass Spectrometry

遠藤美砂子 山内 一成*¹ 氏家 愛子
柳田 則明

Misako TAGIRI-ENDO, Kazushige YAMANOUCHI, Aiko UJIIE
Noriaki YANAGITA

平成18年度のポジティブリスト制導入に向けて、平成16年度までの検査対象動物用医薬品数18物質（HPLC分析）を41物質に増やし、LC/MSによる分析法の検討を行なった。前処理法にはアセトニトリル抽出法を採用し、カラムはODSおよびAmideカラムを用いた。一斉分析の評価基準として回収率が60～140%、相対標準偏差が20%以内であることを条件とした場合、本法により鶏肉中33、豚肉中36、牛肉中33物質の動物用医薬品の分析が可能となった。本分析法を利用して鶏肉・豚肉・牛肉合計16検体を検査した結果、いずれの検体からも動物用医薬品は検出されなかった。

キーワード：動物用医薬品;残留分析;高速液体クロマトグラフィー/質量分析;食肉

Keywords : veterinary drugs; residual analysis ; LC/MS ; meat

1 はじめに

国民の健康の保護を図ることを目的とした「食品衛生法等の一部を改正する法律」（平成15年5月30日公布）により、食品中に残留する農薬等に関し、いわゆるポジティブリスト制が平成18年5月29日から施行されるが、残留動物用医薬品については、新たに約200物質について残留基準が設定される（現行の残留基準は33物質）。これにより各都道府県では、迅速に多くの物質を検査することが必要になるとともに、多くの物質について定量値を求めることが要求される。

当部では、高速液体クロマトグラフ（HPLC）分析による残留動物用医薬品検査を担当しており、平成12年度からは前処理法にメタリン酸・有機溶媒混液による方法¹⁾を採用²⁾³⁾し、平成16年度には食肉を対象とした行政検査（モニタリング）において18物質の検査が可能となった。しかし、HPLC分析はマトリックスの影響を受けやすく、測定精度に問題があるため、HPLC分析で検出された場合は、高速液体クロマトグラフ/質量分析計（LC/MS）またはLC/MS/MSによる確認検査を行なうことが要求されている。当部においても、LC/MSによる分析に移行することにより、上記問題点を解決し、検査物質数の増加を図る必要がある。

一方、四重極LC/MSの選択イオンモニタリング（SIM）

モード分析は高感度かつ定量性に優れた分析法として、動物用医薬品の分析にも利用されている⁴⁾。しかし、SIM測定は極性が類似の物質を一斉分析する場合、感度が低下することがある。そこで、一般的に用いられているオクタデシルシリカゲル（ODS）カラムに加えて、カルバモイル基化学結合型シリカゲル（Amide）カラムを用いた一斉分析法の有効性を検討したので報告する。

2 方法

2.1 試料および試薬

試料は宮城県内で市販されている鶏肉・豚肉・牛肉を用いた。

標準品は合成抗菌剤27種、抗生物質2種、寄生虫駆除剤9種、ホルモン剤3種を使用した。

2.2 装置および測定条件

LC/MSは、Agilent製1100シリーズLC/MSDを使用し、LC/MS測定条件は表1、グラジエント条件は表2、物質毎のMS条件およびグループ化条件は表3に示した。

2.3 検量線の作成

各標準品の2、10、20、100、200および1000ng/ml混合溶液を調製し、さらに測定対象マトリックスで2倍希釈した標準混合溶液を用いて検量線を作成した。定量下限値は低濃度標準溶液（1～50ng/ml）による5回繰返し測定時の標準偏差の10倍から求めた。

* 1 現 仙南保健福祉事務所

表1 LC/MS測定条件

装置 : Agilent1100シリーズLC/MSD		LC条件	
MS条件		カラム	(1)東ソー TSKgel ODS-80Ts (150×2.0mm, 5μm) (2)東ソー TSKgel Amide-80 (150×2.0mm, 5μm)
イオン化モード	ESI (positive or negative)	移動相	A: 0.1%ギ酸 / B: アセトニトリルのグラジエント
Nebulizer gas	N2(50psi)	流速	0.2ml/min
Drying gas	N2(10L/min, 300℃)	温度	40℃
Capillary Voltage	±4000V	注入量	5μL
SIMイオン	[M+H] ⁺ [M+2H] ²⁺ (tilmicosin) [M-H] ⁻		

表2 グラジエント条件

(1)ODSカラム使用時			
時間(min)	0.1%ギ酸 (%)	アセトニトリル (%)	
0	95	5	
20	40	60	
35	40	60	
40	0	100	
55	0	100	
(2)Amideカラム使用時			
時間(min)	0.1%ギ酸 (%)	アセトニトリル (%)	
0	5	95	
20	55	45	
40	55	45	

表3 物質毎のMS条件およびグループ化条件

医薬品	カラム	SIMイオン (m/z)	モード	Fragmentor 電圧(V)	モニター時間 (min)
thiabendazole metabolite	ODS-80Ts	218.0	Pos	160	3.0-16.0
albendazole metabolite	ODS-80Ts	240.0	Pos	160	
thiabendazole	ODS-80Ts	202.0	Pos	160	
sulfamerazine	ODS-80Ts	265.0	Pos	140	
ofloxacin	ODS-80Ts	362.1	Pos	140	
ciprofloxacin	ODS-80Ts	332.1	Pos	140	
danofloxacin	ODS-80Ts	358.1	Pos	160	
sulfadimidine	ODS-80Ts	279.0	Pos	140	
enrofloxacin	ODS-80Ts	360.1	Pos	160	
sulfamethoxypridazine	ODS-80Ts	281.1	Pos	140	
furazolidone	ODS-80Ts	226.0	Pos	120	
sulfamonomethoxine	ODS-80Ts	281.1	Pos	140	
sulfamethoxazole	ODS-80Ts	254.0	Pos	120	
tilmicosin	ODS-80Ts	435.4	Pos	160	
oxolinic acid	ODS-80Ts	262.1	Pos	140	16.0-20.0
ceftiofur	ODS-80Ts	524.0	Pos	160	
difurazon	ODS-80Ts	361.1	Pos	140	
sulfadimethoxine	ODS-80Ts	311.1	Pos	140	
sulfaquinolaxaline	ODS-80Ts	301.0	Pos	120	
albendazole	ODS-80Ts	266.1	Pos	160	
nalidixic acid	ODS-80Ts	233.1	Pos	120	20.0-27.0
flubendazole	ODS-80Ts	314.0	Pos	160	
flumequine	ODS-80Ts	262.1	Pos	140	
β-trenbolone	ODS-80Ts	271.1	Pos	160	
α-trenbolone	ODS-80Ts	271.1	Pos	160	
piromidic acid	ODS-80Ts	289.1	Pos	140	
triclabendazole	ODS-80Ts	358.9	Pos	160	27.0-35.0
decoquinat	ODS-80Ts	418.2	Pos	160	35.0-43.0
thiamphenicol	ODS-80Ts	354.0	Neg	120	10.0-15.0
2-quinoloxalinecarboxylic acid	ODS-80Ts	173.0	Neg	100	
ethopasate	ODS-80Ts	236.1	Neg	160	15.0-40.0
zeranol	ODS-80Ts	321.1	Neg	160	
nicarbazin	ODS-80Ts	301.0	Neg	100	
closantel	ODS-80Ts	660.8	Neg	160	40.0-50.0
sulfadiazine	Amide-80	251.1	Pos	120	1.0-8.0
pyrantel	Amide-80	249.1	Pos	160	8.0-21.0
levamisole	Amide-80	205.0	Pos	140	
pyrimethamine	Amide-80	207.1	Pos	160	
ormethoprim	Amide-80	275.1	Pos	100	
trimethoprim	Amide-80	291.1	Pos	120	
clpidol	Amide-80	190.0	Neg	140	1.0-8.0

2.4 試験溶液の調製および標準添加

メタリン酸・有機溶媒混液法¹⁾は操作が複雑であることから、操作が簡便で除蛋白効果の高いアセトニトリル抽出法⁵⁾を採用した(図1)。標準添加試料は、試料換算で0.1ppm、溶液濃度として100ng/mlとなるように調製した。

2.5 平成17年度残留動物用医薬品検査

平成17年度に保健所で買上した食肉3種16検体について、本一斉分析法による残留実態調査を行った。

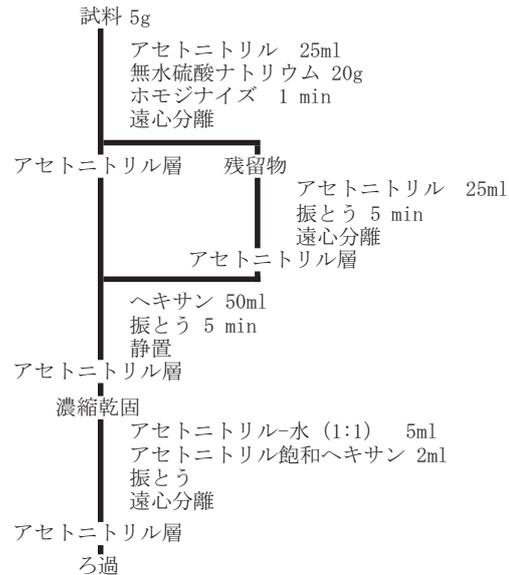


図1 試験溶液の調製方法

3 結果および考察

3.1 MS条件の検討

動物用医薬品41物質それぞれについて、フローイジェクション分析(FIA)によるスキャン測定により、SIMイオンの決定およびネブライザー圧力、乾燥ガス圧力・温度、キャピラリー電圧、フラグメンター電圧の検討を行った。移動相は水系溶媒としてギ酸、酢酸、ギ酸アンモニウム、酢酸アンモニウムを、有機溶媒としてアセトニトリル、メタノールを用いて検討し、流速は0.2ml、水系溶媒：有機溶媒=1：1とした。移動相として、0.02~0.2%ギ酸とアセトニトリルを用いると多くの物質で最も強いイオン強度が得られた。定量用SIMイオンは、[M+H]⁺でのモニタリングが33物質、[M+2H]²⁺が1物質、[M-H]⁻が7物質となった。このうち、LCの条件として最適であった0.1%ギ酸を用いた場合のMS条件を表1および表3に示した。

3.2 ODSカラムを用いたLC条件の検討

41物質をODSカラムにより分離検出する条件を検討した。移動相は0.02~0.2%ギ酸とアセトニトリルのグラジエントを用いて検討した。表1および表2の条件で、最も良好な分離が認められた。しかし、20物質が保持時間3~16分にまとまって溶出するため(表4)、定量下限値が大きくなる傾向が認められた。

表4 SIMのグループ化 (ODS)

モード	モニター 時間(min)	モニター イオン数
POS	3-16	20
	16-20	6
	20-27	6
	27-35	1
	35-43	1
NEG	5-10	1
	10-15	2
	15-40	3
	40-50	1

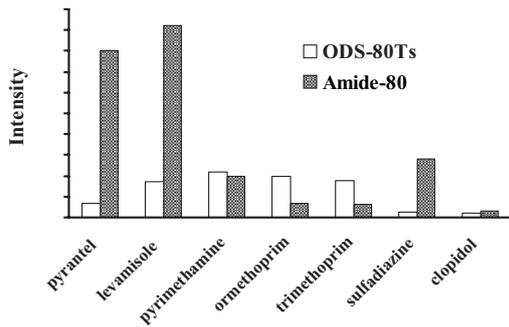


図2 ODSカラムおよびAmideカラム使用時の感度比較 (豚肉をマトリックスとした50ng/ml標準溶液)

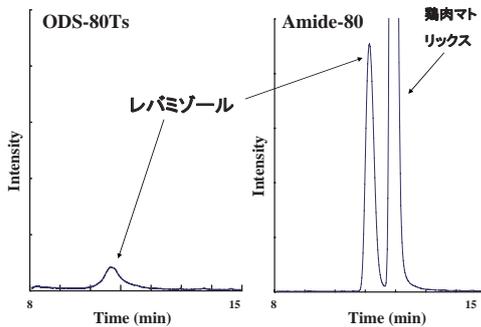


図3 鶏肉マトリックスを含む50ng/ml標準溶液のSIM (MW=205) クロマトグラム

3.3 Amideカラムを用いたLC条件の検討

次にODSカラムと同様に、ギ酸/アセトニトル系を用いて分析することが可能な順相分配系Amideカラムを使用した場合の分析条件を検討した。ODSカラムで保持時間3~16分に溶出する7物質をAmideカラムで分析したところ、4物質で感度の向上が認められた(図2)。特に現行の残留基準値が0.01ppm(牛, 豚, 鶏の筋肉等)であるレバミゾールで、試料換算0.005ppm(基準値の1/2)の定量下限値が得られるようになった。両カラムで分析したレバミゾールのSIMクロマトグラムを図3に示した。ピーク形状が改善されたため、マトリックスとの分離が可能となり、感度が大幅に増加した。定量下限値などを考慮し、7物質についてAmideカラムで分析することとした。測定条件は表1~3に示した。

表5 添加回収試験結果

医薬品	カラム	鶏肉		豚肉		牛肉	
		回収率 (%)	RSD (%)	回収率 (%)	RSD (%)	回収率 (%)	RSD (%)
thiabendazole metabolite	ODS	107	7.7	127	5.3	140	3.8
albendazole metabolite	ODS	84.8	3.0	99.1	3.7	115	2.9
thiabendazole	ODS	74.1	3.4	91.3	3.1	102	1.0
sulfamerazine	ODS	67.2	3.0	106	3.7	52.0	1.8
ofloxacin	ODS	89.0	1.4	93.3	3.4	105	3.5
ciprofloxacin	ODS	77.2	6.4	68.0	6.4	82.6	3.6
danofloxacin	ODS	76.1	4.7	73.6	6.6	107	5.3
sulfadimidine	ODS	136	13	97.5	3.9	63.8	3.5
enrofloxacin	ODS	86.6	1.8	89.0	5.2	110	3.5
sulfamethoxypridazine	ODS	98.9	7.9	106	5.3	69.5	12
furazolidone	ODS	31.7	15	82.6	8.4	56.8	1.7
sulfanonomethoxine	ODS	69.4	5.2	99.2	4.2	60.8	1.9
sulfamethoxazole	ODS	71.1	11	90.3	1.5	62.5	2.3
tilmicosin	ODS	90.5	3.8	90.9	2.5	113	3.6
oxolinic acid	ODS	82.4	5.6	97.6	6.5	127	1.9
ceftiofur	ODS	33.1	2.1	49.5	1.5	59.5	5.5
difurazone	ODS	39.6	13	63.5	3.2	64.3	5.1
sulfadimethoxine	ODS	67.1	8.6	93.6	0.4	64.8	3.6
sulfaquinoxaline	ODS	66.3	8.5	90.6	0.7	64.1	2.8
albendazole	ODS	65.4	8.3	92.5	5.4	93.8	2.1
nalidixic acid	ODS	73.7	7.1	89.5	4.5	117	1.5
flubendazole	ODS	69.9	9.9	102	2.3	132	2.5
flumequine	ODS	70.8	7.2	89.4	4.5	117	1.6
β-trenbolone	ODS	69.5	5.0	84.3	2.5	99.1	2.2
α-trenbolone	ODS	70.9	5.4	85.9	2.2	102	2.5
piromidic acid	ODS	76.6	7.5	87.4	5.0	116	2.1
triclabendazole	ODS	51.5	22	81.5	4.9	94.7	3.0
decoquinat	ODS	24.1	27	38.5	6.9	49.7	2.9
thiamphenicol	ODS	87.2	4.3	92.8	5.6	130	4.6
2-quinoxalinecarboxylic acid	ODS	44.5	4.3	46.3	3.9	54.6	13
ethopabate	ODS	89.0	4.3	87.8	3.9	110	1.2
zeranol	ODS	70.4	8.7	89.5	5.8	112	1.9
nicarbazin	ODS	55.3	27	92.9	6.1	81.4	2.7
closantel	ODS	21.8	65	43.8	6.4	81.3	1.4
sulfadiazine	Amide	71.1	3.3	93.4	9.8	35.3	15
pyrantel	Amide	83.7	4.8	72.5	6.4	70.7	4.8
levamisole	Amide	79.1	8.8	84.1	4.4	78.6	1.2
pyrimethamine	Amide	70.6	3.2	87.0	2.8	94.5	2.4
ormethoprim	Amide	91.9	3.4	97.8	1.3	99.0	0.4
trimethoprim	Amide	74.3	4.4	101	1.1	100	2.3
clopidol	Amide	65.4	11	56.9	13	40.6	1.4

注1) 回収率が60%未満か140%を超える、または相対標準偏差が20%を超えるもの

3.4 添加回収試験

鶏肉・豚肉・牛肉を試料とした場合の添加回収試験の結果を表5に示した。測定にあたり、絶対検量線法では一定の真度が得られなかったため、測定対象マトリックスで2倍希釈した標準溶液を用いて検量線を作成し、回収率を求めた。セフチオフル、デコキネート、2-キノキサリンカルボン酸の3物質については、いずれの品目でも回収率が60%未満であった。

3.5 試料マトリックスの影響

生産地・部位等の異なる鶏肉・豚肉・牛肉について、それぞれ5~6検体を本一斉分析法により分析した。本分析条件のみで判定不能な疑似ピークが表6に示す頻度で出現したため、1~2種の確認用SIMイオンを追加して再測定し、同定を試みた。その結果、全ての試料において定量限界値を超える動物用医薬品は検出されなかった。鶏肉ではスルファジアジンが、豚肉ではダノフロキサシンおよびオルメトプリムがすべての検体で疑似ピークを出現させた。動物試料はマトリックスの影響が大きく、LC/MS分析であってもその影響を完全に排除することはできなかったが、確認用SIMイオンで再分析して、SIMイオンの強度比を標準品と比較することで同定が可能であった。

表6 試料測定時における疑似ピークの出現頻度

医薬品	鶏肉(6)	豚肉(5)	牛肉(5)
ofloxacin	0	0	2
ciprofloxacin	1	0	0
danofloxacin	0	5	0
sulfadimidine	0	0	3
furazolidone	—	3	—
sulfadimethoxine	1	0	0
nalidixic acid	1	0	0
flubendazole	0	1	1
piromidic acid	1	0	0
thiamphenicol	0	4	1
sulfadiazine	6	0	—
levamisole	1	2	1
ormethoprim	0	5	2
trimethoprim	0	0	1

4 まとめ

- (1) ポジティブリスト制度導入に向け、平成16年度までの検査対象動物用医薬品数18物質を41物質に増やし、LC/MSによる分析法の検討を行なった。前処理法にはアセトニトリル抽出法を採用した。
- (2) 一般的に使用される逆相系ODSカラムの他に、順相系のカラムを併用して分析することで、感度が大幅に改善される物質があった。
- (3) MS分析では試料マトリックスの影響によりイオ

ン化が促進／妨害され、絶対検量線法では一定の真度が得られないため、標準添加法が有効であった。

- (4) スクリーニング分析の評価基準として回収率が60～140%、相対標準偏差が20%以内であることを条件とした場合、本法により鶏肉中33、豚肉中36、牛肉中33物質の動物用医薬品の一斉分析が可能となった。
- (5) 検出された場合の確認方法として1～2種の確認用SIMイオンを分析することで、同定が可能であった。

参考文献

- 1) 堀江正一, 吉田栄充, 斉藤貢一, 中澤裕之: 食品衛生学雑誌, **39**, 383 (1998).
- 2) 石川潔, 高橋紀世子, 赤間仁, 大江浩: 宮城県保健環境センター年報, **19**, 171 (2001).
- 3) 赤間仁, 高橋紀世子, 石川潔, 大江浩: 宮城県保健環境センター年報, **20**, 84 (2002).
- 4) S.Bogialli, R.Curini, A.D.Corcoa, M.Nazzari, M.L.Polci: J.Agric. Food Chem., **51**, 4225 (2003).
- 5) 村山三徳, 内山貞夫, 斎藤行生: 食品衛生学雑誌, **32**, 155 (1991).

アレルギー物質（小麦）を含む食品の検知法について

The Method of Detecting the Food Containing Allergen (Wheat)

曾根美千代 手代木年彦*¹ 柳田 則明

Michiyo SONE, Toshihiko TESHIROGI, Noriaki YANAGITA

平成17年10月に追加された改良法は、加熱加工品および加圧加熱加工品の検出に非常に有効であった。しかし、改良法で示されたFASPEKキットは混入量に比べ実測値が高値になる傾向があり、偽陽性検体が増加する可能性が示唆された。また、加圧加熱食品の定性PCRによる確認試験は、加工工程におけるDNAの分解によりDNAの検出が困難となりスクリーニング結果と一致しない場合がある。流通品の実態調査でスクリーニング陽性だった2食品は、改良法キット間の測定値が相違しており、確認試験での陰性結果からこれらは試料マトリックスによる偽陽性反応と思われた。その他19食品については表示と一致した。

キーワード：アレルギー食品；小麦；ELISA；改良法

Keywords : Allergy food ; Wheat ; ELISA ; Improved method

1 はじめに

平成13年4月より、厚生労働省は食物アレルギーによる健康危害を回避するため特定原材料5品目（卵、乳、小麦、そば、落花生）について食品への表示を義務づけ、検査法については、翌年11月に「アレルギー物質を含む食品の検査法について」¹⁾（以下従来法）を通知した。しかし、容器包装詰加圧加熱殺菌食品や焼菓子等加熱及び加圧加熱加工した食品は、タンパクの熱変性等により検出が困難であり、そのため偽陰性リストに挙げられている。平成16年度に当部で検討した結果²⁾も渡邊等の報告³⁾でも同様の結果であった。

平成17年10月に「アレルギー物質を含む食品の検査法について（一部改正）」⁴⁾が通知され、加熱加工品の抽出率が改善された改良法が加わった。

そこで、アレルゲンを小麦に想定し、模擬試料を作成し従来法と改良法について比較検討を行い若干の知見を得たので報告する。また、流通品について実態調査も行ったので併せて報告する。

2 方法

2.1 試料

1) 模擬試料Ⅰ

コーンフラワーに小麦粉を2%添加し、その後コーンフラワーで段階希釈し200, 125, 100, 50, 10 μ g/gとしたものを模擬試料Ⅰとした。

2) 模擬試料Ⅱ

小麦粉を1%加えたとうもろこし菓子の生地を作り、これを用い加熱温度を変え20分焼成し焼菓子を作成した。その後、オスターブレンダーで十分粉碎し、模擬試料Ⅱとした。

3) 模擬試料Ⅲ

マッシュポテト及びトマトピューレに小麦粉を1%添加しミキサー等で十分混和後、その一部をオートクレーブにより121 $^{\circ}$ C, 1.2kgf/cm², 20分加圧加熱したものを模擬試料Ⅲとした。

4) その他の試料

原材料に小麦表示のない加工食品20件、小麦表示のある加工食品1件合計21件について市販品を購入し、ミルサーで粉碎し均一にしたものを試料とした。

2.2 試薬

(ELISA用)

従来法

- ・FASTKITエライザシリーズ 小麦（日本ハム(株)）（以下FASTキット）
- ・特定原材料測定キット 小麦グリアジン（榎森永生科学研究所）（以下グリアジンキット）

改良法

- ・FASTKITエライザVer. IIシリーズ 小麦（日本ハム(株)）（以下FASTVer. IIキット）
- ・モリナガFASPEK特定原材料測定キット 小麦グリアジン（榎森永生科学研究所）（以下FASPEKキット）

* 1 現 仙台保健福祉事務所黒川支所

(定性PCR用)

- ・ Genomic-Tip 20/G (QIAGEN)
- ・ Genomic DNA buffer Set (QIAGEN)
- ・ α-アミラーゼ (SIGMA)
- ・ ProteinaseK (QIAGEN)
- ・ Ampli Taq Gold&10×buffer with dNTP (Applied Biosystems)
- ・ アレルゲンチェッカー小麦 (オリエンタル酵母工業株)

(その他)

- ・ 試薬特級

2.3 機器

- ・ ホモジナイザー：ミルサー，ミキサー，フードカッター，オスターブレンダー
- ・ マイクロプレートリーダー：モデル680 (BIO-RAD社製)
- ・ サーマルサイクラー：GeneAmp9700 (Applied Biosystems)

2.4 分析方法

スクリーニング試験における試料からの抽出，ELISA法については通知法⁴⁾に従い，2ウェル並行で行った。なお，模擬試料については1検体につき2点並行で抽出した。ELISA法で測定した小麦タンパク濃度に試料及び抽出液の希釈倍率を乗じ，食品採取重量当たりの小麦タンパク量を求めた。模擬試料IIについては，焼成前後の重量を測定し，それにより補正した値を小麦タンパク量とした。

確認試験の定性PCRは，DNA抽出にはイオン交換樹脂タイプキット (Genomic-tipキット) を用い，その他は通知法⁴⁾に従い行った。

3 結果及び考察

3.1 改良キットの特性

小麦粉を添加した模擬試料Iを用い，添加量と実際の測定値を比較し，キットの特性を確認した。小麦粉添加量と小麦タンパク量との相関を図1に実測値を表1に示す。

従来法と改良法とも小麦粉の添加量に比例し良好な相関が得られた。従来法の2キットは同様の測定値を示し，改良法のFASPEKキットの測定値はFASTVer. IIキットの約1.5倍であった。

使用した小麦粉の成分表示によるタンパク量は8g/100gであり，これをもとに小麦タンパク量を想定すると小麦粉100μg/g添加試料のタンパク量は8μg/gとなる。そこで，小麦粉100μg/g添加試料の回収率を求めると，従来法のFASTキットで64%，グリアジンキットで70%となった。改良法については，FASTVer. IIキットで130%，FASPEKキットで194%となり，FASPEKキットで高値となった。判定値の10μg/gとなる小麦粉125μg/g添加試料の測定値はFASTVer. IIで11.2μg/g (回

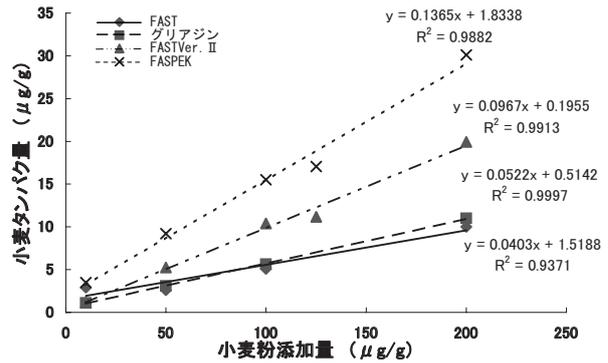


図1 小麦粉添加量と実測値の相関

表1 模擬試料Iによる小麦タンパク定量結果

(単位：測定値 μg/g 回収率 %)

小麦粉添加量 (μg/g)	想定タンパク量 (μg/g)	従来法				改良法			
		FAST		グリアジン		FASTVer. II		FASPEK	
		測定値	回収率	測定値	回収率	測定値	回収率	測定値	回収率
200	16	10.0	63	11.0	69	19.9	125	30.1	188
125	10					11.2	112	17.1	171
100	8	5.1	64	5.7	71	10.4	130	15.5	194
50	4	2.6	65	3.1	78	5.2	131	9.2	230
10	0.8	2.9	363	1.1	138	1.2	145	3.5	435

使用した小麦粉のタンパク量：8g/100g

表2 メーカーによる小麦タンパク測定例

商品名	GD	
	従来系	FASPEK
薄力粉	28469	177362
食パン	18373	175288
冷麺	18641	168149
そば (乾麺)	13642	139608
レトルトカレー	81	7484
カレールウ	6668	57642
固形スープ	19	205
パスタソース (レトルト)	69	19913
スープ (レトルト)	47	17365
ソース (缶詰)	15	16227
ウェハース	224	12174

単位：μg/g
 従来系；モリナガ特定原材料測定キット
 FASPEK；モリナガFASPEK特定原材料測定キット
 (森永生科学研究所ホームページより)

収率112%)，FASPEKキットで17.1μg/g (171%) となり，同様であった。(表1)

森永生科学研究所ホームページの測定データを表2に示す。日本食品標準成分表⁵⁾による薄力粉のタンパク量は1等で8.0g/100g (80,000μg/g)，2等で8.8g/100g (88,000μg/g) である。これをもとに表2のFASPEKキットの薄力粉の回収率を求めると1等で221%，2等で201%となり，模擬試料Iの測定結果はこれと同様である。このようにFASPEKキットは，添加量に対し高値になる傾向が見られ，判定値付近では注意が必要であり，同キットによる測定では偽陽性検体が増加するのではないかと思われた。

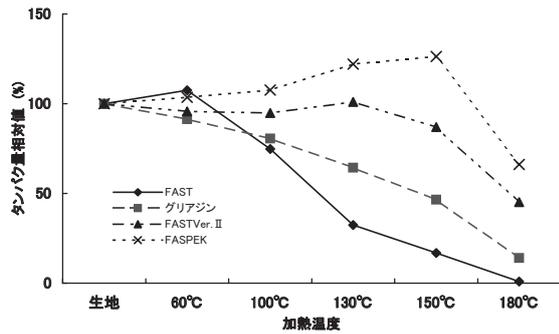


図2 加熱による測定値への影響

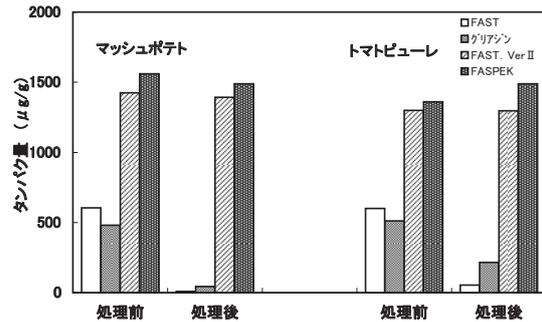


図3 加圧加熱による測定値への影響

表3 模擬試料Ⅱによる小麦タンパク定量結果

(単位 : 測定値 μg/g 相対値 %)

	従来法				改良法			
	FAST		グリアジン		FAST Ver. II		FASPEK	
	測定値	相対値	測定値	相対値	測定値	相対値	測定値	相対値
生地	518	100.0	514	100.0	1520	100.0	1396	100.0
60°C	557	107.5	470	91.4	1455	95.7	1446	103.6
100°C	387	74.8	414	80.6	1442	94.9	1503	107.7
130°C	168	32.3	331	64.3	1536	101.1	1705	122.1
150°C	87	16.8	239	46.5	1322	87.0	1763	126.3
180°C	4	0.8	72	14.0	686	45.1	924	66.2

3.2 加熱による影響

3.2.1 加熱温度による影響

焼菓子を想定した模擬試料Ⅱを用い、加熱温度を変え、加熱による測定値の影響について検討を行った。焼菓子生地の小麦タンパク量の実測値を100%としたときの測定値の変化を図2に実測値を表3に示した。

従来法のFASTキットは、加熱により減少し、180°Cで4 μg/gと生地の小麦タンパク量に対し0.8%まで減少し陰性判定となった。グリアジンキットは、FASTキットに比べ緩やかに減少している。これらは、タンパクの熱変性や他のタンパクとの結合により小麦タンパクが抽出液に可溶化せず、検出が困難になっているためと考えられる。

一方改良法のFASTVer. IIキットは、生地の小麦タンパク量に対し130°Cで101.1%、150°Cで87.0%と150°C付近までは大幅な減少は見られない。FASPEKキットは、130°Cで122.1%、150°Cで126.3%と逆に増加傾向にあった。

改良法の抽出液には、タンパクの可溶化のために界面活性剤のSDSと還元剤のβ-メルカプトエタノールが加わっており³⁾、それにより抽出率が改善されている。また、変性タンパクに対する抗体も加わったポリクロナール抗体用いたことも検出率を上昇させている。

3.2.2 加圧加熱による影響

図3にオートクレーブ処理前後の模擬試料Ⅲの小麦タンパク量の測定結果を示す。

従来法では、オートクレーブ処理により小麦タンパクが加熱変性し、測定値は著しく減少している。特にマッ



- レーン1 : 焼菓子生地
- レーン2 : 焼菓子150°C
- レーン3 : 焼菓子180°C
- レーン4 : マッシュポテト処理前
- レーン5 : マッシュポテト処理後
- レーン6 : トマトピューレ処理前
- レーン7 : トマトピューレ処理後
- レーン8 : トマトピューレ処理後(上清除去)
- レーン9 : 陰性コントロール
- レーン10 : 陽性コントロール
- レーン11 : マーカー(50ラダー)

図4 定性PCRによる確認試験結果(小麦)

ッシュポテトで顕著であった。

一方、改良法のFASTVer. IIキットでは、マッシュポテトで処理前の小麦タンパク量の97.8%、トマトピューレで99.7%、FASPEKキットでは、マッシュポテトで95.4%、トマトピューレで109.4%と測定値は処理前後で同等であり、加圧加熱加工による影響は認められなかった。

3.3 定性PCRによる確認試験

図4に模擬試料Ⅱ、Ⅲの定性PCR(小麦)の結果を示す。焼菓子である模擬試料Ⅱでは加熱温度150°C、180°Cにおいても小麦由来DNAは確認できた。レトルト食品を想定した模擬試料Ⅲについては、マッシュポテトは小麦由来を確認できたが、トマトピューレは小麦由来DNAは確認できず、また、植物由来DNAの検出バンドも非常に薄かった。水分含有量の多い試料ではオートクレーブ処理でDNAの分解がより進んでいることがわかる。

食品衛生法の容器包装詰加圧加熱殺菌食品の製造基準では、「中心部の温度を120°Cで4分間加熱する方法またはこれと同等以上の効力を有する方法であること」となっている。

また、改良法では抽出液の改良により加熱変性タンパクが検出可能となり、容器包装詰加圧加熱殺菌食品およびレトルトパウチ製品が偽陰性リストから除かれている。

前述のように、試料によってはオートクレーブ処理でDNAが分解され目的DNAが検出できないものがあり、

表4 実態調査結果

(単位 : $\mu\text{g/g}$)

No.	品名	FASPEK		FASTVer. II		スクリーニング試験	確認試験(定性PCR)	表示			形態
		含有量	判定	含有量	判定			原材料	注意喚起	その他(偽陽性食品)	
1	せんべい	13.6	+	0.8	-	陽性	陰性		あり		
2	クッキー	1.5	-	ND	-	陰性					
3	焼菓子	4.7	-	2.1	-	陰性				ひえ	
4	焼菓子(ポーロ)	0.7	-	0.7	-	陰性					
5	油菓子	ND	-	ND	-	陰性					
6	米菓	17.8	+	ND	-	陽性	陰性				
7	清涼菓子(ラムネ)	ND	-	ND	-	陰性					
8	野菜加工品(ベビーフード)	ND	-	ND	-	陰性					瓶詰め
9	野菜煮物(ベビーフード)	ND	-	ND	-	陰性					瓶詰め
10	米飯類(チャーハンがゆ)(ベビーフード)	ND	-	ND	-	陰性					瓶詰め
11	そうざい(ベビーフード)	ND	-	ND	-	陰性					レトルト
12	米飯類(魚野菜がゆ)(ベビーフード)	ND	-	ND	-	陰性					レトルト
13	米飯類(野菜がゆ)(ベビーフード)	ND	-	ND	-	陰性					フリーズドライ
14	そうざい(ベビーフード)	ND	-	ND	-	陰性					フリーズドライ
15	そうざい(ベビーフード)	ND	-	ND	-	陰性					レトルト
16	カレールウ	5.2	-	5.0	-	陰性				オーツ麦	
17	カレールウ	1.8	-	1.7	-	陰性					
18	ホワイトソースの素	ND	-	ND	-	陰性					フリーズドライ
19	トマトケチャップ	ND	-	ND	-	陰性					
20	カレー	ND	-	ND	-	陰性					レトルト
21	カレー	20	+	20	+	陽性		小麦粉			レトルト

実際に原材料を使用しているにもかかわらずスクリーニング試験と確認試験が不一致の場合があると推定される。これらの加工食品では製造記録確認が非常に重要となり最終判定には十分注意が必要である。

3.4 実態調査

表4は、試買検査における流通品の実態調査結果である。原材料に小麦表示のない加工食品20件(菓子7件、ベビーフード8件、調味料等5件)、小麦表示のある加工食品1件(レトルト食品)合計21件について改良法によりスクリーニング検査を実施した。

原材料表示のない試料で小麦タンパクを定量下限値 $0.64\mu\text{g/g}$ 以上検出したものは、FASTVer. IIキットでNo. 1, 3, 4の焼菓子類とNo.16, 17のカレールウであった。一方、FASPEKキットではNo. 1, 2, 3, 4, 6の焼菓子類とNo.16, 17のカレールウであった。

No. 3, 4, 16, 17の測定値は2キット間でほぼ同様の値を示した。No. 3には、偽陽性食品である“ひえ”が、同様にNo.16には“オーツ麦”が入っており、これらによる偽陽性反応であると思われた。同様にNo. 2, 4, 17についても、FASTVer. IIキットでND~ $1.7\mu\text{g/g}$ 、FASPEKキットで $0.7\sim 1.8\mu\text{g/g}$ と低濃度であり、非特異反応であると思われた。これらは、スクリーニング結

果は陰性であり、表示と一致した。

しかし、FASPEKキットでNo. 1が $13.6\mu\text{g/g}$ 、No. 6が $17.8\mu\text{g/g}$ と判定値の $10\mu\text{g/g}$ を超過しスクリーニング陽性となり、一方、FASTVer. IIキットでは $0.8\mu\text{g/g}$ 、NDと測定値は乖離した。原材料に表示がなくスクリーニング陽性だったNo. 1のせんべいとNo. 6の米菓について定性PCRを実施した結果、小麦由来DNAは検出しなかった。

改良法の抽出液は両キットとも同一組成であり、抽出法も同様であることから抽出効率に差はない。また、前述の模擬試料による検討結果から同一検体において2つの改良法の測定値に大きな相違は認められない。

今回のNo. 1とNo. 6については、スクリーニング検査の2キット間の値が相違しており、また、定性PCRの結果が陰性であることからこれらは試料マトリックスによる偽陽性反応であると思われた。これらは米を使った焼菓子であるが、FASPEKキットでは米は偽陽性食品に含まれていない。しかし、加熱加工することにより小麦タンパクと類似の活性点ができELISA法で偽陽性反応を引き起こしたのではないかと考えられた。原材料表示のあったNo.21は両キットとも $20\mu\text{g/g}$ 以上検出し陽性判定となり、表示と一致した。

4 まとめ

- 1) 改良法は抽出効率が上がり回収率も上昇したが、FASPEKキットは混入量に対し高値になる傾向が見られた。
- 2) 改良法は、加熱による測定値の減少は少なく加熱加工品および加圧加熱加工品の分析には有効であった。
- 3) 加圧加熱食品の定性PCRによる確認試験では、加工工程におけるDNAの分解によりDNAの検出は困難となり、確認試験結果とスクリーニング結果が一致しない場合がある。
- 4) 流通品の実態調査でスクリーニング陽性だった2食品は、キット間の測定値が相違しており、確認検査の陰性結果からこれらは試料マトリックスによる偽陽性反応と思われた。その他19食品についてはスクリーニング結果と表示は一致し、表示上問題はなかった。

参考文献

- 1) 厚生労働省医薬局食品保健部長通知“アレルギー物質を含む食品の検査法について”平成14年11月6日、食発第1106001号(2002)
- 2) 曾根美千代, 福原郁子, 佐藤信俊: 宮城県保健環境センター年報, 23, 60 (2005)
- 3) 渡邊裕子, 甲斐茂美, 三谷智雄, 横山洋司, 岸美智子: 食品衛生学雑誌, 46, 139 (2005)
- 4) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知“アレルギー物質を含む食品の検査法について(一部改正)”平成17年10月11日, 食安発第1011002号(2005)
- 5) 文部科学省科学技術・学術審議会資源調査分科会編: 五訂増補 日本食品標準成分表

宮城県河川中のアルキルフェノール類と排出追跡調査の一事例

Distribution and Follow-up Survey on Release of Alkylphenol in River Water at Miyagi Prefecture

高橋紀世子 吾妻 正道*¹ 斎藤 善則

Kiseko TAKAHASI, Masamichi AZUMA, Yoshinori SAITO

宮城県では、過去にノニルフェノールが魚類への内分泌攪乱作用の予測無影響濃度 (0.608 μ g/L) を超過した6河川を対象に、アルキルフェノール類の季節変動調査を実施している。分析方法において、前報に示したLC/MS法では妨害ピークで定量が困難な場合があったため、エチル化しGC/MS法で定量することを検討した。また、1河川(五間堀川)で4-tert-オクチルフェノールが微量ながら継続的に検出されたため、検出地点上流の河川詳細調査及び近傍工場の協力を得て追跡調査を実施した。一般的には河川で検出されるアルキルフェノールは、そのポリエトキシレートが好氣的、嫌氣的に生物分解されて生ずると言われているが、今回の調査結果では、ポリエトキシレートの生物分解物ではなく、工場の製造工程の原材料に含まれていた微量成分である4-tert-オクチルフェノールが高温高压条件下で溶出し排出されていたことに起因していた。

キーワード：ビスフェノールA；ノニルフェノール；4-tert-オクチルフェノール；GC/MS；ブラダーゴム

Keywords : bisphenolA ; nonylphenol ; 4-tert-octylphenol ; GC/MS ; bladder gum

1 はじめに

宮城県では平成11年度から内分泌攪乱物質として疑いのある物質について調査を実施している。平成15年度からは、ノニルフェノール(以下NPと略)が魚類への内分泌攪乱作用の予測無影響濃度(0.608 μ g/L)¹⁾を超えて検出された6河川について、当センターでアルキルフェノールとビスフェノールA(以下BPAと略)の季節的な変動調査を実施してきた。その調査の中で、前報²⁾に示したLC/MS法では試料により妨害ピークで定量が困難な場合があったこと、また、底質を測定するにはさらに妨害物質が予想されることから、エチル化後GC/MS法で定量することを検討した。また、6河川中1河川(五間堀川)で4-tert-オクチルフェノール(以下4-t-Octylと略)が微量ながら継続的に検出されたため、今回、検出地点上流の河川詳細調査及び近傍工場の協力を得て追跡調査を実施したので、その結果について報告する。

2 試料及び方法

2.1 試料

環境水及び製造工程水試料：宮城県内を流れる6河川水(大川館山大橋、吉田川二子屋橋、砂押川多賀城堰、白石川船岡大橋、増田川毘沙門橋、五間堀川矢ノ目橋)について、平成15~16年度は年4回、17年度は年2回採

水した。底質については平成17年春に測定を行った。調査地点を図1に示した。また、五間堀川の詳細調査地点については、平成17年8、9月に採水を行い、さらに近傍A工場の協力を得て製造工程水を平成18年1、2月に採水した。なお、水質試料には採水時にL-アスコルビン酸を添加(1Lにつき1g)した。

ゴム試料：A工場から提供された回収ゴムタイヤ(製造メーカー4社分)と加硫工程で使用しているブラダーゴスを溶出試験の試料とした。



図1 宮城県6河川調査地点

* 1 現 仙南保健福祉事務所

2.2 試薬等

標準試料としては、アルキルフェノール類混合標準液（7種）：関東化学㈱製（環境分析用）、BPA標準品：関東化学㈱製、サロゲート試薬：4-(1-Methyl) octylphenol-d5 溶液1000ppm林純薬工業㈱製、4-n-NP-d4 関東化学㈱製、BPA-d16 関東化学㈱製、内部標準試薬（スパイクシリンジ用）；アセナフテン-d10、フェナンスレン-d10、フルオランテン-d10：各関東化学㈱製を用いた。その他の試薬類として、アセトン、メタノール、ジクロロメタン、エタノール、ヘキサン：各関東化学㈱製（残留農薬・PCB試験用）、ジエチル硫酸：東京化成㈱製を用いた。

固相抽出ディスクは3MエムポアディスクSDB-XDを用い、SSが多い試料の場合はガラス繊維ろ紙ワットマン社製GMF-150を積層した。

2.3 装置及び分析条件

LC/MS：Agilent 1100 LC/MSD, カラム：ZORBAX Eclipse XDB-C18 (2.1x150mm 5μm), カラム温度：40℃, 移動相：水及びメタノールのグラジエント, 流速：0.2ml/min, 注入量：10μl, 測定モード：API-ES Negative SIM（モニターイオン表1）

GC/MS：(株)島津製作所GCMS-QP2010, カラム：HP-5 MS (i.d.0.25mm×30m, 0.25μm film), カラム温度：50℃ (1.5min) -30℃/min-150℃ (0 min) -6℃/min-250℃ (5min), 注入口温度：250℃, Heガス：1ml/min, 制御モード：線速度40cm/min, スプリットレス, 注入量：2μl, インターフェース温度：250℃, 測定モード：SIM（モニターイオン表1）及びSCAN

表1 GC/MS, LC/MSモニターイオン

化学物質名	略称	測定イオン		
		GC/MS		LC/MS
		定量用	確認用	定量用
4-t-ブチルフェノール	4-t-Butyl	163	178	149
4-n-ペンチルフェノール	4-n-Pentyl	135	192	163
4-n-ヘキシルフェノール	4-n-Hexyl	135	206	177
4-t-オクチルフェノール	4-t-Octyl	163	135	205
4-n-ヘプチルフェノール	4-n-Heptyl	135	220	191
4-n-オクチルフェノール	4-n-Octyl	135	234	205
ニルフェノール 1	NP1	163	135	219
ニルフェノール 2	NP2	177	135	
ニルフェノール 3	NP3	163	135	
ニルフェノール 4	NP4	163	135	
ニルフェノール 5	NP5	177	135	
ビスフェノールA	BPA	269	284	227
アセナフテン-d10		164		
フェナンスレン-d10		188		
フルオランテン-d10		212		
4-(1-メチル)オクチルフェノール-d5	4-MOP-d5	154	126	
ビスフェノールA-d16	BPA-d16	280		241
4-n-ニルフェノール-d4	4-NP-d4			223

2.4 試験溶液の調製

2.4.1 水質試料

試料（河川水は500ml）にサロゲート（4-MOP-d5, 4-NP-d4, BPA-d16各25ng）を添加し、ガラス繊維ろ紙を敷いたエムポアディスクSDB-XDに吸着後洗浄乾燥、ジクロロメタンで溶出、窒素パージ後環境省「外因性内分

泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル³⁾を参考にし、ジエチル硫酸でエチル化及びケン化処理し、ヘキサン1ml（内標準物質各50ngを含む）にて抽出脱水後GC/MSで測定した（平成16年8月まではエチル化せずにLC/MS法²⁾により測定した）。操作毎に空試験を実施し、ブランク値を補正した。また、検出下限値測定のために、超純水500mlに各標準物質5ng（NPは50ng）を添加し、上記と同様に6回平行測定して分析法の検出下限値MDL（標準偏差×t(n-1, 0.05)×2）を求めた。

2.4.2 底質試料

遠心分離処理し間隙水を除いた湿泥10gにサロゲートを添加、メタノール30mlで2回振とう及び超音波抽出後に遠心分離し、上澄み液を分取してMQ水を加え500mlとした。以降は水質試料と同様に操作し測定した（ガラス繊維ろ紙は積層しない）。

2.4.3 溶出試験

ゴム試料を細切（3~10mm）後重量の10倍量の水を加え、ゴムタイヤは常温及び50℃で6時間振とうし、ブラダーゴムは100℃及びオートクレーブ121℃で30分加熱した。溶出液をろ紙No.5Cでろ過後、水質試料と同様に操作して測定した。

3 結果と考察

3.1 検出下限濃度

内分泌攪乱物質については超微量測定が要求されることから、環境省「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル³⁾では目標検出限界値を示しており、水質試料では0.01μg/L（NPのみ0.1μg/L）、底質試料では1.0μg/Kg（NPのみ10μg/Kg）となっている。今回の分析方法ではLC/MS法、GC/MS法でもこれらの目標検出下限値を満足したが、河川水によってはLC/MS法にてBPAに妨害ピークが生じる場合があり、平成16年8月からはGC/MS法のみで分析した。表2にGC/MS法でのMDLを示した。BPAは超純水に微量含有しており検出下限値も0.01μg/L程度であった。ただし、今回の河川水のデータ解析においては、平成12年度からの継続性を考慮し、定量下限値を0.01μg/L（NPのみ0.02μg/L）とした。河川及び底質の添加回収試験結果を表3、4に示した。河川水の回収率はバインダーなしのガラス繊維ろ紙を積層しているため、乾燥工程でも完全には乾燥せずジクロロメタンでの溶出が不十分なためか、ガラス繊維ろ紙を積層しない底質の回収率よりやや低かった。

3.2 LC/MS法とGC/MS法の比較

前報²⁾でのLC/MS法による測定と、今回の誘導体化後のGC/MS法での測定によるBPA（SIM）でのスペクトル例を図2に示した。LC/MS法では砂押川で妨害ピークによりBPAスペクトルが検出されていないが、GC/MS法はその影響がなく、標準物質と同じスペクトルが得られている。

表2 GC/MS法での検出下限値濃度 (MDL)

化学物質名	MDL	
	河川 (500ml)	底質 (乾泥7g)
	μg/L	μg/Kg
4-t-Butyl	0.010	0.7
4-n-Pentyl	0.004	0.3
4-n-Hexyl	0.003	0.2
4-t-Octyl	0.003	0.2
4-n-Heptyl	0.002	0.2
4-n-Octyl	0.002	0.1
NP av	0.017	1.2
BPA	0.011	0.8

表3 河川水の標準添加回収試験

化学物質名	n=5			
	AV %	std	CV %	
4-t-Butyl	85	12.777	15	
4-n-Pentyl	86	2.630	3.1	
4-n-Hexyl	92	2.408	2.6	
4-t-Octyl	88	2.477	2.8	
4-n-Heptyl	96	8.532	8.9	
4-n-Octyl	94	7.117	7.6	
NP1	90	6.641	7.4	
NP2	88	6.494	7.3	
NP3	88	7.076	8.0	
NP4	88	7.249	8.2	
NP5	91	7.538	8.3	
NP av	89	6.995	7.8	
BPA	80	3.550	4.4	

河川水500mlに各物質を25ng (NPは250ng) 添加

表4 底質の標準添加回収試験

化学物質名	n=3			
	AV %	std	CV %	
4-t-Butyl	114	0.8148	0.7	
4-n-Pentyl	128	3.3236	2.6	
4-n-Hexyl	126	2.6164	2.1	
4-t-Octyl	115	4.4639	3.9	
4-n-Heptyl	113	0.9259	0.8	
4-n-Octyl	99	2.8394	2.9	
NP1	94	2.2141	2.4	
NP2	101	4.0240	4.0	
NP3	101	2.8209	2.8	
NP4	99	2.7911	2.8	
NP5	97	3.0404	3.1	
NP av	98	2.9781	3.0	
BPA	100	0.9278	0.9	

湿泥10gに各物質を25ng (NPは250ng) 添加

図3に両方法での6河川の濃度の比較を示したが、妨害がないGC/MS法で若干高濃度となっている。なお、GC/MS法によるNP濃度は、表1に示した5異性体のモニターイオンの各検量線から値の平均値を求め定量値とした。

3.3 宮城県河川のアルキルフェノール等濃度

平成12年から14年度までの3年間にNPが魚類への内分泌攪乱作用の予測無影響濃度¹⁾(0.608μg/L)を超過した6河川についてNPとBPAの濃度を図4に示した。なお、他のアルキルフェノールについては低濃度のため

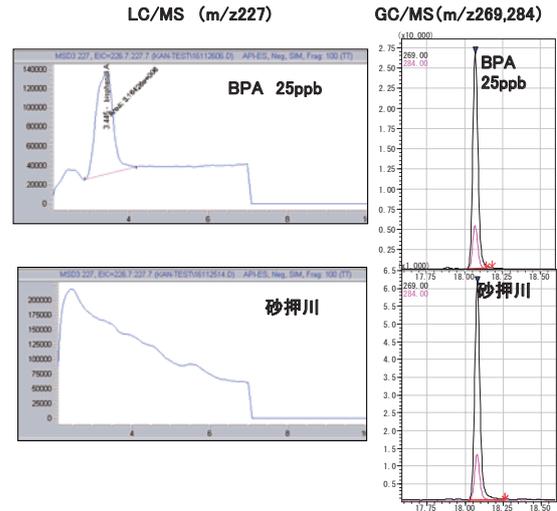


図2 LC/MS法とGC/MS法のBPA(SIM)スペクトル

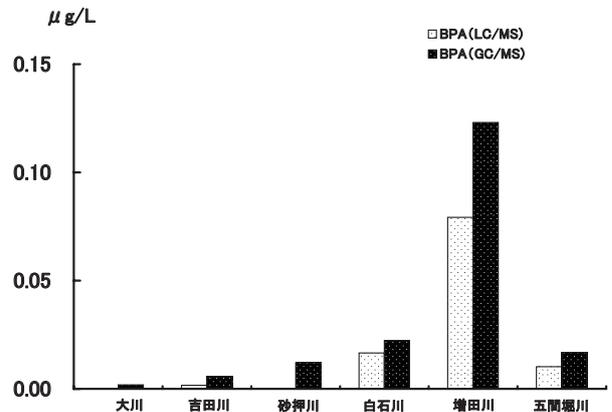


図3 BPA測定値の比較

省略した。平成13年8月に環境省からNPの魚類への影響についての発表があり、平成13年9月に日本界面活性剤工業会で第3次削減強化対策を決定したことによる自主規制の影響か⁴⁾、平成14年度にはNP濃度が減少していた。

これらの河川について平成15年度から季節変動調査を実施し、図5にその推移を示した。NPは業界の自主規制が浸透してきたこともあってか、さらに濃度が減少していた。日本界面活性剤工業会によるとアルキルフェノールエトキシレートの月次生産量は平成11年末に4500トンでピークに達した後減少し、前述の平成13年に第3次自主削減対策強化を図ってからは急速に減少し、平成16年10月には月次生産量約2000トンレベルまで半減したと報告⁴⁾している。BPA濃度の最高値は増田川毘沙門橋で0.31μg/Lであった。他のアルキルフェノールについてはt-Butylが微量(0.01~0.02μg/L)、4-t-Octylが五間堀川矢ノ目橋で0.01~0.08μg/L、増田川で0.01μg/Lが検出されたが、それ以外は検出されなかった。

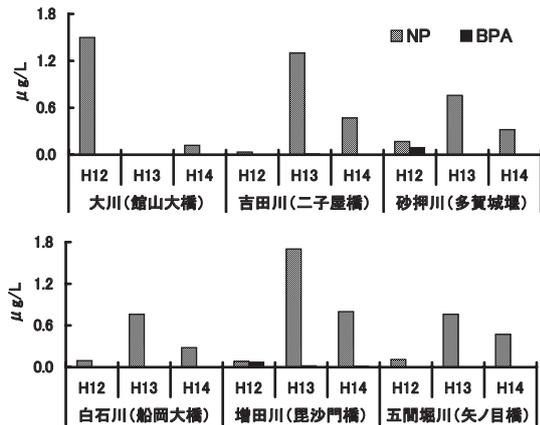


図4 平成12~14年度のNP及びBPA濃度

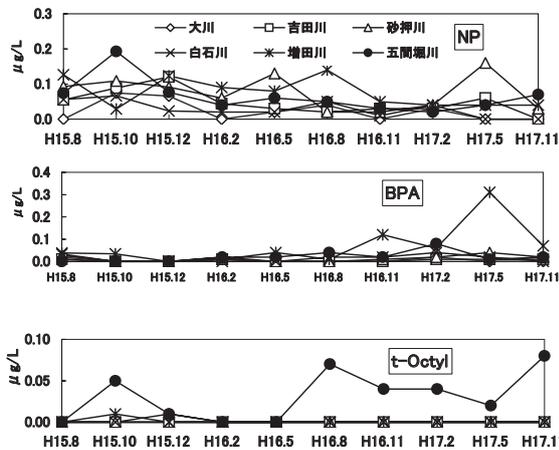


図5 平成15~17年度の各河川のNP, BPA, 4-t-Octyl濃度

平成17年5月に6河川の底質調査を実施した結果を図6に示す。大川の底質はヘドロ状であり、6河川中で強熱減量とNP濃度が最も高く、他の河川はすべて砂質であった。また、五間堀川では継続的に4-t-Octylが河川水中で検出されていることもあり、底質でも五間堀川が最高濃度の1.6 µg/kg (乾泥)であった。

平成10~15年度に環境省で実施した全国環境実態調査⁵⁾のNP検出濃度範囲、河川ND (<0.05-0.1)~21 µg/L、底質ND (<15-87)~12000 µg/kg、BPA検出濃度範囲、河川ND (<0.01)~19 µg/L、底質ND (<1-35)~550 µg/kg、4-t-Octyl検出濃度範囲、河川ND (<0.01)~13 µg/L、底質ND (<1-10.5)~170 µg/kgと比較すると、宮城県内の6河川の水質と底質中の濃度はかなり低濃度である。しかし、五間堀川矢ノ目橋の4-t-Octylは低濃度ではあるが、県内6河川中の1河川のみで継続して検出されていることと放流地点での河川水の4-t-Octyl濃度が予測無影響濃度 (0.992 µg/L) を超えている可能性もあることから、排出源の究明を実施することとした。

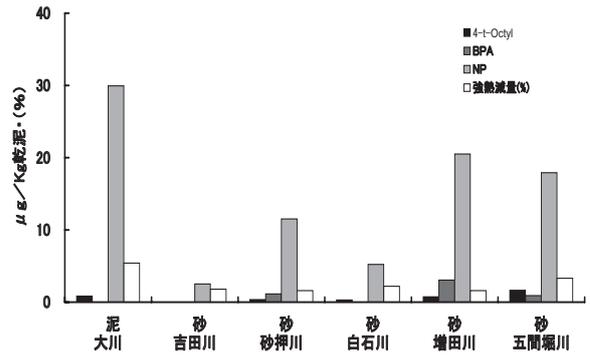


図6 6河川底質中の4-t-Octyl, BPA, NP濃度と強熱減量

3.4 五間堀川上流側詳細及び追跡調査

図7に示した五間堀川の定点である矢ノ目橋の上流側を平成17年8月に調査した結果を図8に示す。地点No.4の岩沼橋で4-t-Octyl濃度 (0.032 µg/L) が上昇していることが判明した。同9月に岩沼橋周辺のA工場の協力を得て工場排水を採水し、さらに図9に示した五間堀川の河川水及び古川堀側溝水についての追跡調査を実施した結果、図10に示すように工場排水から0.59 µg/L、古川堀側溝水⑤から0.80 µg/L、工場排水流入前の江戸橋①では0.01 µg/L未満、岩沼橋③では0.11 µg/L、定点④の矢ノ目橋では0.018 µg/Lであった。



図7 五間堀川上流側詳細調査地点

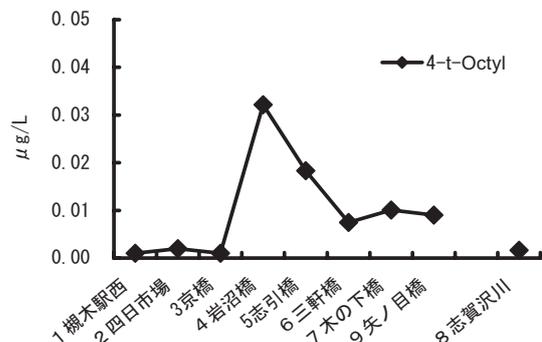


図8 五間堀川各採水地点の4-t-Octyl濃度

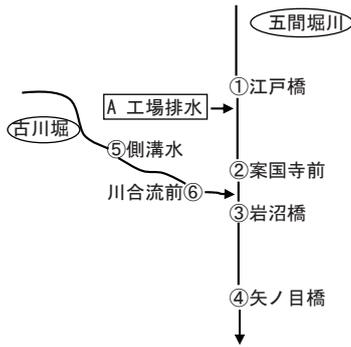


図9 五間堀川追跡調査地点

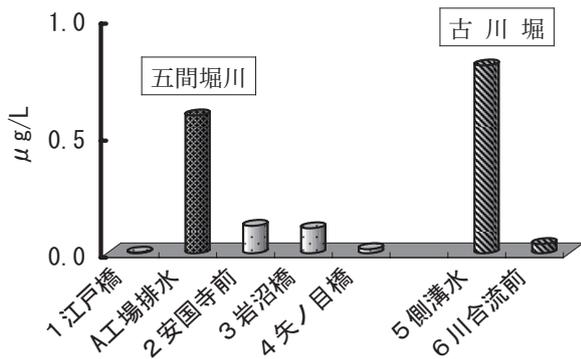


図10 追跡調査地点の4-t-Octyl濃度 (H17. 9)

4-t-Octylの負荷量は、工場排水量約2500トン/日から計算すると1.48g/日となる。また、古川堀側溝水⑤の流量約1300トン/日からの古川堀の負荷量は1.04g/日であり（川合流前⑥地点での流量は測定出来なかったため古川堀側溝水⑤でのデータを用いた）、五間堀川へ流入する負荷量は合計で2.52g/日となる。一方、岩沼橋の流量約27000トン/日と4-t-Octyl濃度0.11µg/Lから計算すると、岩沼橋での河川水の負荷量は2.97g/日となり、負荷量収支は概ね一致する。

3.5 ゴムタイヤの溶出試験

A工場はゴム関連品の製造をしており、PRTR及びMSDSからゴムに添加したフェノール樹脂に不純物として4-t-Octylが混在することが判明したが、工場側は工場排水は主にボイラー冷却水であるとの説明であった。

敷地内には回収品の間処理施設があり、切断し工場の燃料として再利用している。回収ゴムタイヤ（4社製品）を細切し溶出試験を実施したところ0.34~10µg/Lの4-t-Octylが溶出した。結果を図11に示したが、製造会社により溶出量は異なり、添加剤の配合割合や4-t-Octylの混在量の違いやタイヤの使用履歴等に起因するものと考えられた。また、溶出温度を高くすると溶出量は増加した。なお、今回の溶出試験方法については、回収タイヤが敷地内に野積みになっている現状から、降雨により溶出する可能性と夏場の高温時の溶出をも考慮し、産業廃棄物の検定方法⁶⁾に準じた方法で、常温と50℃の二つの条件で6時間振とう溶出を行った。この結果から、水

とゴムタイヤが接する場があれば4-t-Octylが溶出する可能性もあると考えられた。

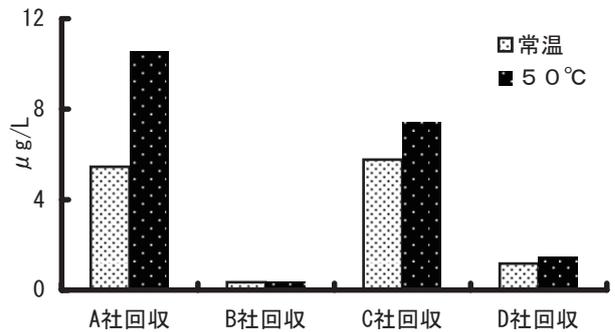


図11 回収タイヤの4-t-Octyl溶出試験結果

3.6 工場内工程水の調査

工場排水から4-t-Octylが検出される原因を解明するため、平成18年1月にA工場内の排水処理施設である油分離槽への流入水と終末排水を測定した。その結果を表5に示したが、第1、第2油分離槽の流入水から約2µg/L、終末排水から1.5µg/Lと、4-t-Octylの魚類への予測無影響濃度(0.992µg/L)⁷⁾を超える濃度が検出された。この値は平成17年8月の終末排水濃度の2.5倍の濃度であり、明らかに工程水に含まれていることが判明した。

表5 A工場の4-t-Octyl濃度 I

µg/L	
A工場工程水	4-t-Octyl
第1油分離槽流入水	2.1
第2油分離槽流入水	2.0
終末放流口	1.5

平成18年2月に、工場側の協力を得て工程毎の説明を受けると共に主な工程水を採取した。図12にA工場排水等処理系統図を、表6に採水箇所の4-t-Octyl濃度を示した。系統図中の水量は平成15年時のものであり現時点（前述放流量2500トン/日）とは多少異なるが、排水量の大体の目安と考えることとした。

「トレッド押しクーリング」はタイヤのトレッド部分の加熱加工後にシャワー水で冷却する工程で排水量は不明である。4-t-Octyl濃度は0.26µg/Lであるが「第1油分離槽」の2.3µg/Lと比較し低濃度であった。また、「オープン缶ドレイン」は製造後の不良タイヤを修正するスチーム缶からのドレイン水である。この工程は実際にタイヤと蒸気が接触していた箇所でもあり、高温の蒸気が接触（約200℃15分）するため4-t-Octyl濃度は62µg/Lと高濃度であったが、排水量全体に占める割合は0.02%以下と工場排水濃度に影響を与えるものではないと考えられた。

「C-1冷却水回収槽」は加硫工程の蒸気の冷却水槽であり、4-t-Octyl濃度は9.4μg/Lであった。この冷却水は工場内で循環しオーバーフロー分が排出され、排出量が全工場排水の3、4割を占めており、工場排水の4-t-Octyl濃度への負荷は大きいと考えられた。しかし、冷却水回収槽に排出される蒸気は直接タイヤに接しないとの工場側の説明であったため、加硫工程についてさらに詳しく調査をすることとした。なお、第1油分離槽の濃度は1月と同程度の濃度であり、終末排水は0.57μg/Lであった。

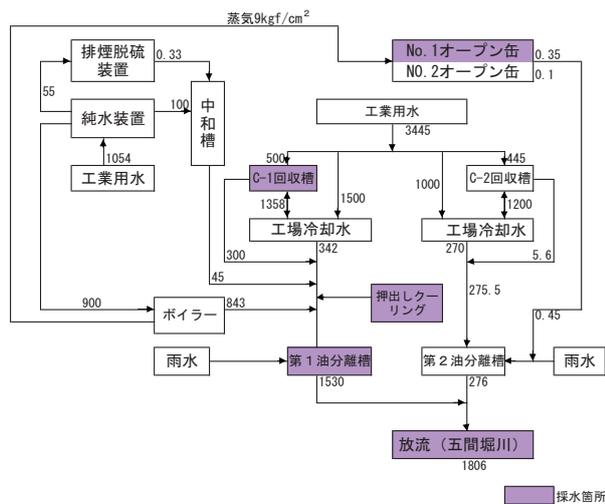


図12 A工場排水等処理系統図
(平成15年・単位：トン/日)

表6 A工場の4-t-Octyl濃度Ⅱ

	μg/L
A工場工程水	
トレッドゴム押しクレーン	0.26
オープン缶ドレイン	62
C-1冷却水回収槽	9.4
第1油分離槽流入水	2.3
終末放流口	0.57

加硫工程では、生タイヤを金型に入れブラダーというゴム風船状の圧縮装置で内側から金型に向け高温高圧の水蒸気(約160℃13分)で押しつける。この時の熱と圧力によりゴムの分子と硫黄の分子が結合し、生タイヤのゴムに弾力性と耐久性が生まれる。このブラダーゴムに接触した水蒸気が冷却されて工場内の循環水として利用されていた。従って、蒸気はタイヤには直接接しないがブラダーゴムには接しており、この過程で4-t-Octylが溶出したものと考えられた。

3.6 ブラダーゴムの溶出試験

使い古しのブラダーゴムの工場から貰い受け溶出試験を実施した。工場の加硫工程での加温条件は約160℃13分ではあるが、実験室内では再現が難しいため、常圧

100℃30分とオートクレーブ121℃30分の条件で溶出試験を行った。その結果を表7に示した。4-t-Octyl濃度は各々30、85μg/Lと、オートクレーブ121℃では常圧100℃の約3倍近い濃度であった。4-t-Octylの沸点は158℃⁸⁾であり、工場の加硫工程では160℃で加温されていることを考慮すると、実際にはより高濃度の4-t-Octylが溶出する可能性がある。また、加硫成型器は工場内に約500器あり、ブラダーゴムは2週間程度で交換しており、この加硫工程が4-t-Octylの主な発生源であることが判明した。

表7 ブラダーゴムの溶出試験結果

		μg/L
溶出条件	圧力	4-t-Octyl
100℃30分	常圧	30
121℃30分	オートクレーブ	85

4 まとめ

分析方法においては、BPA等に妨害ピークが認められたLC/MSと比較し、誘導体化後GC/MSで測定した場合は妨害ピークも少なく精度良く測定出来た。

一般的には河川で検出されるアルキルフェノールは、そのポリエトキシレートが好氣的、嫌氣的に生物分解されて生ずると言われており⁹⁾、また、岡崎¹⁰⁾はある工場排水中のNPとエトキシ類はノニルフェノールポリエトキシレート(NPE)が分解したのではなく、NPEに含まれているNPやエトキシ類である可能性が高いと報告している。今回の五間堀川で検出された4-t-Octylについても、そのポリエトキシレートの生物分解物ではなく、工場の製品や工程での原材料の含有成分に起因していた。原材料のMSDSには、含有量1wt%以上の物質についてのみ記載されることが多く、必ずしも微量成分までが表記されているわけではない。しかし、工業製品の製造には生態系を含めた環境に配慮した原材料の使用が望まれる。

今回協力頂いたA工場では、今回の調査結果をもとに原材料メーカーに4-t-Octyl freeの原材料の納入を依頼しているとのことである。

今後とも五間堀川の4-t-Octyl濃度を監視していくとともに、その結果に応じた追加調査を続けていきたい。

謝辞

今回の調査にあたり、A工場から製造工程水や工場排水の採取及び回収タイヤやブラダーゴムの試料提供等にご協力をいただいたことに深く感謝します。

文献

- 1) 環境省平成13年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料(2001)

- 2) 柳茂, 泉澤啓, 高橋正弘, 斎藤善則: 水中における低濃度レベルの環境ホルモンの分析方法の検討, 宮城県保健環境センター年報, **22**, 162 (2004)
- 3) 環境庁水質保全局水質管理課長通知“外国性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアルについて”平成10年10月8日, 環水管第278号 (1998)
- 4) 日本界面活性剤工業会ホームページ <http://www.jp-surfactant.jp/index.html>
- 5) 環境省平成16年度第3回内分泌攪乱化学物質問題検討会参考資料5“化学物質の内分泌攪乱作用に関する環境省の今後の対応方針について”(2005)
- 6) 環境庁告示第13号 (1973)“産業廃棄物に含まれる金属等の検定方法”昭和48年2月17日
- 7) 環境省平成14年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料 (2002)
- 8) 化学物質の環境リスク評価, 第2巻, p70 (2003), (環境省環境保健部環境リスク評価室).
- 9) 磯部友彦, 高田秀重: 水環境中におけるノニルフェノールの挙動と環境影響, 水環境学会誌, **21**, 203 (1998).
- 10) 岡崎幸司: 静岡市内の河川中におけるノニルフェノール等の実態と非イオン界面活性剤中の成分, 用水と廃水, **46**, 402 (2004).

一般廃棄物最終処分場浸出水及び一般廃棄物焼却灰の塩類調査

The Survey of Inorganic Salts in Seeping Water from Controlled Waste Landfills and Municipal Solid Waste Incineration Ashes

柳 茂 菅原 隆一 斎藤 善則

Shigeru YANAGI, Ryuiti SUGAWARA, Yoshinori SAITO

一般廃棄物最終処分場の浸出水発生模擬実験を行うとともに、一般廃棄物焼却炉の調査を行い、主灰と固化処理後の飛灰の溶出試験と金属類含有量試験を行った。その結果、最終処分場浸出水の塩類濃度が経年的に上昇することを確認し、塩化物イオンを指標とした安定化では、10年以上要することを模擬実験で明らかにした。また、溶出試験の塩化物イオンは、ストーカ炉では約90%、流動床炉では約100%が飛灰に存在したが、最終処分場の処理水を炉の冷却水に再利用している焼却施設では主灰中に50%を越えて存在していた。溶出試験の結果、主灰、飛灰からナトリウム等9元素を検出した。銅については、ガス化溶融炉を除き、いずれの施設も主灰からの溶出の方が多かった。含有量試験の結果、殆どの元素は飛灰の方が高かったが、鉄、マンガン、銅については主灰が高かった。処理水の再利用施設ではナトリウム、カリウムは塩化物イオンと同様に主灰に濃縮していた。ガス化溶融炉では殆どの有害金属は活性炭捕集飛灰に存在した。

キーワード：一般廃棄物；焼却灰；塩類；最終処分場；浸出水

Keywords : municipal solid waste ; incinerated ashes ; inorganic salts ; controlled waste landfills ; seeping water

1 はじめに

近年、一般廃棄物最終処分場で発生する浸出水の塩類濃度が上昇している。原因は埋立物中の焼却灰の比率が高まったこと、また、燃焼ガス中の塩化水素等酸性ガス除去工程で生成する塩化カルシウム等のフィルター捕集の脱塩残渣が埋立てられるためといわれている。宮城県においても公共用水域への浸出水放流の同意が得られず、やむなく、下水道に接続している施設や、処理水を焼却炉の冷却水として再利用して浸出水の塩類濃度が急激に増加し、施設管理に支障を生じている施設もある。浸出水の塩類濃度上昇の主要因である、各種焼却灰の塩類濃度を調査した事例¹⁾は少なく、本研究では、一般廃棄物最終処分場の浸出水発生模擬実験と、焼却施設内の塩類

発生プロセスを調査し、適正な維持管理及び処分方法、さらに資源化利用等の資料とするため、一般廃棄物焼却施設の実態調査を行ったので報告する。

2 方法

2.1 焼却灰の浸出水発生模擬実験

ガラスカラムに焼却灰を詰め、蒸留水を上部より散水し、焼却灰からの浸出水発生状況と水質を調べた。また、調査後、安定化（塩化物イオン濃度100mg/l以下）するまで洗い出し実験を継続して行った。

2.1.1 実験条件

実験条件を表1に示す。また、図1に実験装置概要を示す。

表1 実験条件

項目	内 容
焼却灰試料の調製	Aストーカ炉焼却灰(主灰、飛灰キレート処理物混合物)300gとB流動床炉焼却灰(飛灰キレート処理物)300gを、均等に混合し、143g毎に4試料を分包した。
ガラスカラム	口径27mm×長さ1200mm
充填試料量	1回目:143g(約250mm) 3回目:143g2回目の上部に積層(約750mm) 2回目:143g1回目の上部に積層(約500mm) 4回目:143g3回目の上部に積層(約1000mm)
散水量	26年間平均年間降雨量(1290mm)相当水量736ml
当初の散水速度	時間降水量21mm/時相当:2ml/分 (参考 2004年最大時間降水量25mm/時)
浸出水の採取方法	100mlポリ容器により約100ml毎に採取した。また、安定化洗い出し実験の際には、250及び500mlポリ容器により採取した。

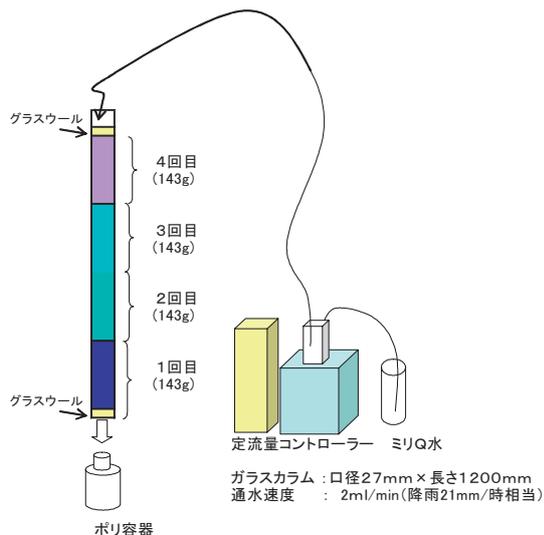


図1 浸出水模擬実験装置概要

2.1.2 測定項目

塩化物イオン, 硫酸イオン

2.2 焼却灰の発生状況調査及び溶出試験並びに金属類含有量試験

県内の7施設の一般廃棄物焼却炉から発生する焼却灰の発生状況について聞き取り調査を行うとともに、焼却灰の溶出試験と金属類含有量試験を行った。焼却灰のうち飛灰は、いずれも、埋立直前のキレート等処理後の形態で採取した。なお、主灰は0.5mm未満に粉碎し、飛灰は有姿のまま試料とした。溶出試験は昭和48年環境庁告示第13号(有害物質溶出試験, 固液比(S/L) 1/10, pH5.8~6.3に調製したミリQ水を添加, 6時間振とう溶出, 孔径1μmガラス繊維ろ過法)で行った。また、塩化物イオン及び硫酸イオンの溶出量については溶出試験の検液を測定することにより調べた。なお、十分に溶出したかどうかを確認するため、固液比(S/L) 1/100についても調べた。金属類の含有量試験は平成15年環境省告示第19号(土壌含有量試験, S/L=3/100, 1モル塩酸, 2時間振とう抽出, 孔径0.45μmメンブランろ過法)で行った。

2.2.1 測定項目

塩化物イオン, 硫酸イオン, カルシウム, マグネシウム, ナトリウム, カリウム, 鉄, マンガン, 銅, 亜鉛, クロム, 六価クロム, カドミウム, 鉛, 砒素, セレン, 総水銀, pH

2.2.2 測定方法

陰イオン: イオンクロマトグラフ法

金属類: 原子吸光光度法(フレーム法, フレームレス法, 水素化物発生法), 還元気化原子吸光法

3 結果と考察

3.1 浸出水発生模擬実験結果

焼却灰の浸出水発生模擬実験結果を図2に示す。塩化

物イオンの1回目の最大濃度は1本目で52,000mg/l, 2回目は2本目で39,000mg/l, 3回目は2本目で48,000mg/l, 4回目は3本目で45,000mg/lであった。また、塩化物イオンの流出量は1回目13.5g, 2回目12.5g, 3回目13.1g, 4回目13.8gとほぼ一定していた。回を追う毎に流出速度が遅くなったが流出量はあまり変わらなかった。このことから、浸出水の塩類濃度は経年的に上昇することを確認した。しかし、徐々に水頭圧が減少するため浸出パターンに変化が見られた。また、年間降雨量相当量を流した場合、全流出水の平均濃度は約18,000mg/lと高濃度になることが判った。

また、浸出水発生状況調査後、安定化するまで洗い出し実験(5~11回目)を行った。その結果を図3に示す。11回目の浸出水発生実験で採取した検体の塩化物イオン濃度が100mg/l以下となったことから、焼却灰だけを埋め立てた場合ではあるが、洗い出し水量からだけ推定すると、埋め立て終了直後から安定化するまでには7年間以上を要することになる。降水の浸出水流出率は蒸散などにより多くても70%程度と推定されることから、実際の処分場が安定化するまでには10年以上を要するものと考えられる。

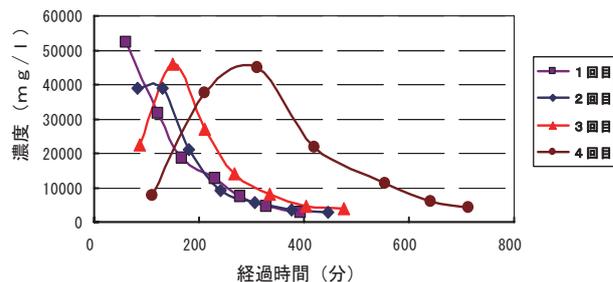


図2 流出水塩化物イオン濃度の変化

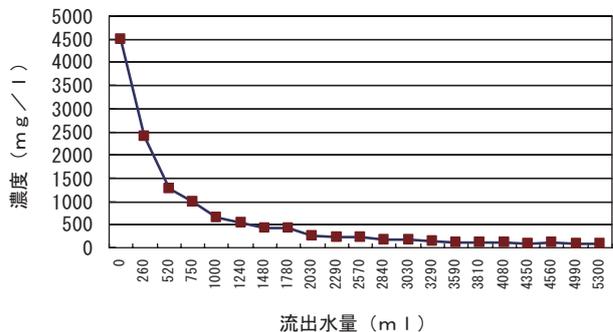


図3 塩化物イオン濃度の減少状況

3.2 焼却灰の発生状況調査結果

調査対象焼却炉の焼却灰の発生状況を表2, 図4, 図5に示した。

表2 調査施設の諸元

	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦
焼却炉型	ストーカ炉	ストーカ炉	ストーカ炉	ストーカ炉	ストーカ炉	流動床炉	流動床式ガス化溶融炉
ばいじん処理施設	電気集塵機	バグフィルタ	バグフィルタ	バグフィルタ	バグフィルタ	バグフィルタ	2段バグフィルタ
主灰発生量(トン/年)	1,520	4,336	2,520	1,668	3,809	648	1,403
飛灰発生量(トン/年)	520	1,675	1,260	1,116	760	1,020	2,741
スラグ発生量(トン/年)	0	0	0	0	0	0	1,875
一人当たり主灰発生量(kg/人・年)	25	33	37	31	34	10	6
一人当たり飛灰発生量(kg/人・年)	9	13	19	21	7	16	12
排ガス処理活性炭投入量(トン/月)	0	0.5	4.0	2.6	0.25	1.85	0.63
排ガス処理石灰投入量(トン/月)	0	10	40	25	2.5	9.25	27
飛灰固化剤	キレート剤	セメント	キレート剤	キレート剤	キレート剤	キレート剤	キレート剤 セメント併用

注) ⑥⑦の主灰はガレキ類、⑦の飛灰は活性炭捕集飛灰と石灰脱塩残渣の合計した値

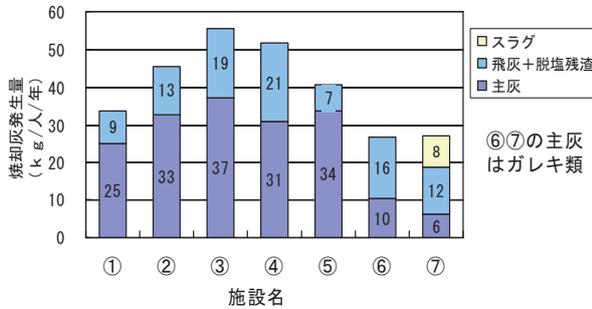


図4 収集人口一人当たりの年間焼却灰発生量

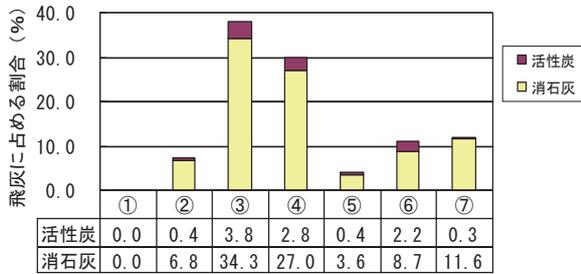


図5 消石灰と活性炭噴霧量

表3 焼却灰の溶出試験

	(mg/l)					
	Cl	SO ₄	Na	K	Ca	Mg
Aストーカ炉焼却灰(S/L=1/10)	8,800	100	3,100	1,800	1,500	0
B流動床炉焼却灰(S/L=1/10)	9,000	47	2,200	1,600	1,600	0
Cストーカ炉主灰(S/L=1/10)	920	5	570	250	150	0
Cストーカ炉飛灰キレート(S/L=1/10)	21,000	830	6,300	3,700	3,400	0
Aストーカ炉焼却灰(S/L=1/100)	890	12	-	-	-	-
B流動床炉焼却灰(S/L=1/100)	930	50	-	-	-	-
Cストーカ炉主灰(S/L=1/100)	80	9	-	-	-	-
Cストーカ炉飛灰キレート(S/L=1/100)	2,000	71	-	-	-	-

※環境省告示第13号による溶出試験と同様に実施(S/L=固液比)

ストーカ炉5施設、流動床炉1施設、流動床式ガス化溶融炉1施設、合計7施設を調査した。主灰の割合はストーカ炉が平均71.3%で、流動床炉が36.4%であった。一人当たりの焼却灰発生量(kg/人・年)はストーカ炉(平均主灰32kg/人・年、平均飛灰13kg/人・年)、流動床炉、ガス化溶融炉の順に減少した。排ガス処理については、焼却物中のプラスチックの減量化を図り、石灰(消石灰)・活性炭を噴霧していない施設①ではストーカ炉のうちで最も灰の発生量が少なく、処理水を冷却水に再利用している施設⑤では飛灰の発生量が比較的小なめであった。また、図5に示すとおり、石灰と活性炭の使用量に施設間のバラツキが見られた。流動床炉⑥⑦の主灰はすべて陶器等のガレキ類であり、外観上は破碎等で路盤材等に有効利用が可能なものと考えられた。

3.3 溶出試験結果

3.3.1 陰イオン

溶出試験によりAストーカ炉焼却灰(主灰、飛灰キレート混合物)とB流動床炉焼却灰(飛灰キレート)の塩化物イオン及び硫酸イオンの溶出量を調べた。同様に、処理水を冷却水に再利用している施設のCストーカ炉から発生する主灰及び飛灰キレートについても、それぞれ溶出試験により、塩化物イオン及び硫酸イオンの溶出量を調べた。その結果を表3、表4に示す。塩化物イオンについては、10倍比、100倍比は良く一致しており、10倍比の溶出試験条件で、ほぼ完全に溶解しているものと考えた。Cストーカ炉の飛灰の塩素組成は重量比で約20%の高濃度を示し、主灰では約1%程度であった。Cストーカ炉の2年合計の主灰量(126トン)及び飛灰キレート処理物量(50トン)から算出した結果、流出する塩化物イオンの約90%が飛灰由来であることが判明した。

表4 焼却灰の塩化物イオン含有量

	(%)	
	S/L=1/100	S/L=1/10
Aストーカ炉焼却灰	8.9	8.8
B流動床炉焼却灰	9.3	9.0
Cストーカ炉主灰	0.8	0.9
Cストーカ炉飛灰キレート	20	21

※環境省告示第13号による溶出試験と同様に実施(S/L=固液比)

表5 焼却灰の塩化物イオン・硫酸イオン溶出量

	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦
主灰のCl溶出量(トン/年)	11	10	14	7.8	90	0	0
飛灰のCl溶出量(トン/年)	36	150	90	72	81	57	258(内112は脱塩残渣)
飛灰の占める割合(%)	77	94	87	90	47	100	100
一人当たりCl発生量(kg/年)	0.8	1.2	1.5	1.5	1.5	0.9	1.2
主灰のSO ₄ 溶出量(トン/年)	2.5	0.5	4.9	0.6	11.5	0	0
飛灰の占める割合(%)	2.0	11.8	11.5	4.2	7.7	6.5	28.5(内1.0は脱塩残渣)
一人当たりSO ₄ 発生量(kg/年)	44	96	70	89	40	100	100
	0.1	0.1	0.2	0.1	0.2	0.1	0.1

※Cl量SO₄量は環境省告示第13号による溶出試験による値

注) ⑥⑦の主灰はガレキ類、⑦の飛灰は活性炭捕集飛灰と石灰脱塩残渣の合計した値

表6 金属類溶出試験結果

事業場名称 種類	①		②		③		④		⑤		⑥		⑦	
	①主灰	①飛灰	②主灰	②飛灰	③主灰	③飛灰	④主灰	④飛灰	⑤主灰	⑤飛灰	⑥飛灰	⑦スラグ	⑦活性炭 捕集飛灰	⑦石灰脱 塩残渣
溶出量	mg/l	mg/l												
Ca	180	230	190	3100	50	3000	130	3000	140	4400	2000	5	1500	10000
Mg	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Na	440	2900	330	2300	480	2000	400	2100	1400	7200	250	1	5100	460
K	210	3400	110	3100	200	2300	180	2600	590	5900	1900	0	4900	410
Fe	0	0	0	0	0	0	0	0	0.4	0.4	0	0.5	0	0.3
Mn	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1	0	0	0	0.1
Cu	0.5	0	0.9	0	0.4	0	1	0	2.2	0	0	0	0	0.2
Zn	0	0	0.1	0.4	0	0.2	0.1	0.2	0	1.3	0.1	0	0	0
Cr ⁶⁺	<0.01	<0.01	0.016	0.053	<0.01	0.021	0.011	0.038	<0.01	0.038	<0.01	<0.01	1.1	0.034
Cd	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03
Pb	<0.1	<0.1	0.2	2.0	<0.1	0.2	0.2	0.3	0.1	0.9	0.6	<0.1	<0.1	1.5
As	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03
Se	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03
Hg	<0.00005	<0.00005	<0.00005	<0.00005	<0.00005	<0.00005	<0.00005	<0.00005	<0.00005	<0.00005	<0.00005	<0.00005	<0.00005	<0.00005
pH	11.5	12.0	12.1	12.4	11.2	12.4	12.0	12.4	11.6	12.4	12.5	9.7	11.0	12.3

焼却灰発生状況調査対象7施設の塩化物イオン及び硫酸イオンの結果を表5に示す。塩化物イオン及び硫酸イオンの溶出量を算出すると、塩化物イオンの主灰と飛灰中の存在比は、ストーカ炉では飛灰の占める割合は概ね約90%であるが、石灰噴霧をしない施設ではガス状の塩化物イオンが回収されないため約80%とやや低かった。施設⑤では飛灰の占める割合は50%弱であった。これは炉内に噴霧される処理水の塩化ナトリウム等の塩類が主灰の塩分含有量を徐々に上昇させているものと考えられた。硫酸イオンも概ね同様の傾向を示した。また、流動床炉と流動床式ガス化溶融炉では塩化物イオンは殆どがガス化するため、飛灰にほぼ100%存在した。ガス化溶融炉の場合には、バグフィルターが2段になっており、塩化物イオンは前段の活性炭捕集飛灰に57%、後段の石灰捕集飛灰（脱塩残渣）に43%の割合で捕集されていた。飛灰中の塩化物イオン存在比（湿重量）は活性炭捕集飛灰で6.5%、石灰脱塩残渣で23%と、石灰脱塩残渣が飛灰中で最も高い値を示した。硫酸イオンは殆どが前段で捕集されていた。

3.3.2 金属類

金属類の溶出試験結果を表6に示す。

pHは9.7~12.5のアルカリ性を示し、主灰に比べ飛灰の方がやや高めであった。カルシウム、ナトリウム、カリウム、鉄、マンガン、銅、亜鉛、六価クロム、鉛の9元素の溶出を確認した。銅については、ガス化溶融炉を除き、いずれの施設も主灰からの溶出が多かった。その他の元素は全て飛灰の溶出の方が多かった。処理水を再利用している施設では主灰、飛灰ともにナトリウム、カリウムが他のストーカ炉に比較して高濃度を示した。一部の施設の飛灰は鉛が産業廃棄物に係る溶出試験の基準値を超過した。

3.4 焼却灰の金属類含有量試験結果

金属類の含有量試験結果を表7に示す。

殆どの元素は主灰に比較し、飛灰の方が高かったが、鉄、マンガン、銅は主灰の方に多く含有した。また、処理水を冷却水に再利用している施設⑤では浸出水の水処理工程で除去されないナトリウム、カリウムは塩化物イオンと同様に主灰に多量に含有した。図6に示すとおり、ガス化溶融炉では活性炭捕集飛灰に殆どの有害金属（カドミウム92%、鉛96%、ヒ素83%、セレン97%、水銀87%）が捕集された。鉄、ナトリウム、カリウム、マンガン、クロムはスラグに比較的多く存在した。

4 まとめ

今回の調査により以下のことが明らかになった。

- (1) 浸出水発生模擬実験を行った結果、塩化物イオンの流出については流出速度に関わらず、4回とも殆ど同量が流出していることから、流出速度より流出水量が大きく影響するものと考えられ、浸出水の塩類濃度は経年的に上昇することが確認された。また、年間降雨量相当量を流した場合、全流出水中の塩化物イオン濃度は約18,000mg/lと高濃度になることが判った。浸出水発生模擬実験後、安定化するまで洗い出し実験を行った。その結果、焼却灰だけを埋め立てた場合では、今回の実験から推定すると、埋め立て終了直後から安定化するまでには少なくとも10年以上を要することがわかった。
- (2) 焼却飛灰の塩素組成は重量比で約20%の高濃度を示し、焼却主灰では約1%程度であった。また、流出する塩化物イオンの約90%が焼却飛灰由来であることが判明した。
- (3) 一人当たりの焼却灰発生量 (kg/人・年) はストーカ炉、流動床炉、ガス化溶融炉の順に減少した。

表7 金属類含有量試験結果

事業場名称	①		②		③		④		⑤		⑥		⑦	
	①主灰	①飛灰	②主灰	②飛灰	③主灰	③飛灰	④主灰	④飛灰	⑤主灰	⑤飛灰	⑥飛灰	⑦スラグ	⑦活性炭捕集飛灰	⑦石灰脱塩残渣
含有量	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
Ca	69000	72000	58000	160000	67000	210000	58000	110000	54000	140000	88000	89000	52000	340000
Mg	7900	14000	8400	9000	8800	9200	8800	9700	7000	6900	19000	18000	13000	5600
Na	18000	46000	14000	26000	28000	18000	28000	25000	73000	23000	20000	53000	7400	32000
K	6300	38000	5200	29000	31000	5800	27000	7600	49000	6300	5700	42000	4500	37000
Fe	7300	6600	6900	5100	5400	2200	8600	3900	5500	1900	48000	44000	5800	1400
Mn	750	490	530	480	400	170	320	290	230	140	500	980	450	67
Zn	1200	3100	1900	4800	1300	3000	2400	2700	1300	2800	1200	980	5100	5900
Cu	940	110	1400	370	570	5.0	1100	64	820	4.3	1400	1100	1200	110
Cr	20	64	49	59	49	53	42	65	44	40	73	500	240	12
Cd	3.1	12	2.9	72	5.4	45	8.8	61	3.6	23	11	3.0	43	5.8
Pb	310	460	450	920	330	440	330	420	210	370	550	69	2700	300
As	3.2	12.3	2.3	8.5	2.8	5.8	3.0	7.9	2.3	3.8	6.2	1.6	9	2.6
Se	0.03	0.21	0.01	0.17	0.08	0.09	0.03	0.12	0.09	0.11	0.17	0.01	0.92	0.08
Hg	0.001	0.003	0.001	0.19	0.002	0	0	0.003	0	0	0.001	0	0.36	0.24

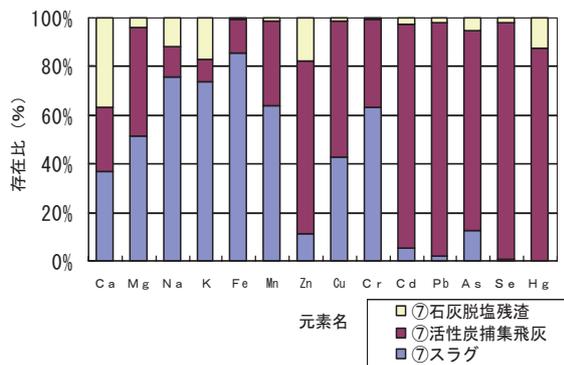


図6 流動床式ガス化溶融炉の焼却灰中の金属類存在比

(4) 焼却灰中の塩化物イオンはストーカ炉では飛灰が約90%を占めた。処理水を冷却水に再利用している施設⑤では、主灰の塩分存在比が高くなり、飛灰の占める割合は50%弱であった。また、流動床炉では塩化物イオンは殆どがガス化するため、飛灰にほぼ100%存在した。流動床式ガス化溶融炉の2段バグフィルターでは、塩化物イオンは前段の活性炭捕集飛灰に57%、後段の石灰捕集飛灰（脱塩残渣）に43%の割合で捕集された。

- (5) 溶出試験では、ナトリウム、カリウム、亜鉛、鉛、マンガン、六価クロム、カルシウム、鉄、銅の9元素が溶出した。銅については、ガス化溶融炉を除き、いずれの施設も主灰の溶出の方が多かった。
- (6) 金属類含有量試験では、殆どの元素は主灰に比較し、飛灰の方が高かったが、鉄、マンガン、銅は主灰に多く含有した。放流水を焼却炉に再利用する施設では浸出水の水処理工程で除去されないナトリウム、カリウムは塩化物イオンと同様に主灰に多量に含有した。ガス化溶融炉では、活性炭捕集飛灰に殆どの有害金属が捕集された。

最後に本調査の実施に当たり、試料を提供して頂いた各施設の皆様とご協力を頂いた関係保健所の皆様に感謝の意を表します。

参考文献

1) 花嶋等：廃棄物処理プロセスより発生する副生塩再利用の研究、第26回全国都市清掃研究・事例発表講演論文集、p.118 (2005)

酸性雨自動測定に基づく事例解析

The Case Study based on the Acid Rain Monitoring

仁平 明 高橋 正人*¹ 中村 栄一
北村 洋子 加賀谷秀樹

Akira NIDAIRA, Masato TAKAHASHI, Eiichi NAKAMURA
Yoko KITAMURA, Hideki KAGAYA

酸性雨自動測定結果について、汚染度及び中和度の指標であるECp及びrHを導入して事例解析を行ったところ、降水中に追加的な汚染が生じ低pHが出現した霧雨の事例では、SO₂は雲粒に捕集され大気中では検出されなかったのに対し、NO₂は雲粒に取り込まれずECpと連動した大気中の濃度変化を示した。また、台風通過の際に海塩粒子が海上から輸送されECpが特異的に増大した事例では、海塩粒子は降水中に取り込まれると同時に大気中のSPMとしても検出されていると推定された。

キーワード：酸性雨；汚染導電率；水素イオン比；海塩粒子

Keywords : acid rain ; electric conductivity by pollutants ; relative hydrogen ; sea salt particle

1 はじめに

0.5mm降水毎にpH、ECを連続測定する酸性雨自動測定は、国の第2次酸性雨対策調査（昭和63年度～）で採用され県内においては2ヵ所の国設局で測定を行ってきた。その後国設局における自動測定は廃止になったが、本県では測定値の信頼性に課題は残るものの酸性雨の動的状態を把握する上で必要であるとの認識から、県独自にも測定機を整備し現在まで測定を継続している。また、測定結果の評価に関しては、pHは地表付近でCa²⁺を主体としたアルカリダストの影響を受ける場合が多い¹⁾ことから、より積極的に降水の汚染度及び中和度を評価するものとして、汚染導電率ECpと水素イオン比rHを提案してきた^{2),3)}。本報ではこれらの指標を用いて、追加的な汚染が生じ低pHが出現した事例及び降水中に海塩粒子が海上から輸送されECpが特異的に増大した事例について解析する。

2 方法

2.1 解析対象データ

平成17年度酸性雨自動測定結果

なお、解析には宮城県大気常時監視データのほか、ホームページ等で公開・提供されている以下の気象データを用いた。

天気図等：気象庁 <http://www.jma.go.jp/jp/g3/>

エマグラム：気象庁月報2005年7月

* 1 現 原子力センター

2.2 酸性雨自動測定地点

図1に○印で示した保健環境センター局及び丸森局の2ヵ所である。なお、解析で参照した地点を●印で示している。



図1 酸性雨自動測定局

●はデータ参照局

2.3 ECpとrH

ECpとrHは、本測定のようにpHとECの情報しか得られない場合に、降水の性状に関してその汚染度及び中和度を推定評価するための指標として提案しているものである^{2),3)}。その定義式は

$$ECp = EC - \lambda_H [H^+] \tag{1}$$

$$rH = 2 \lambda_0 [H^+] / (ECp + \lambda_0 [H^+]) \tag{2}$$

である。ここで $[H^+]$ は水素イオン濃度、 λ_H 及び λ_0 はともに定数で、 $\lambda_H (=349.81Scm^2/eq)$ は H^+ の極限当量電導度、 $\lambda_0 (=67.19Scm^2/eq)$ は H^+ 以外のイオン成分極限当量電導度の代表値である。ECp, rHを導くに当たっては、イオンバランスの成立、EC計算値と実測値との整合を前提とするほか、現実的対応としてECは λ_H と λ_0 によって近似計算が可能であるとの仮定を行っている。即ち、 H^+ 以外のイオン成分極限当量電導度の値⁴⁾はほぼ同程度の大きさで λ_H に比べて約1/5と小さいことから、 H^+ 以外のイオン成分極限当量電導度を一定値 λ_0 と仮定し

$$EC \approx \lambda_H [H^+] + \lambda_0 \Sigma [M_i] \quad (3)$$

と近似する。ここで $[M_i]$ は H^+ 以外のイオン成分当量濃度である。図2は λ_0 として H^+ 以外のイオン成分極限当量電導度を単純平均した $67.19Scm^2/eq$ を与え、約300件の月平均値についてそれぞれ正規に求めたECと、(3)式で求めたECを比較したものである。両者は実用上一致しているとみなせるので、 λ_0 による近似は許容されることができると考えることができる。

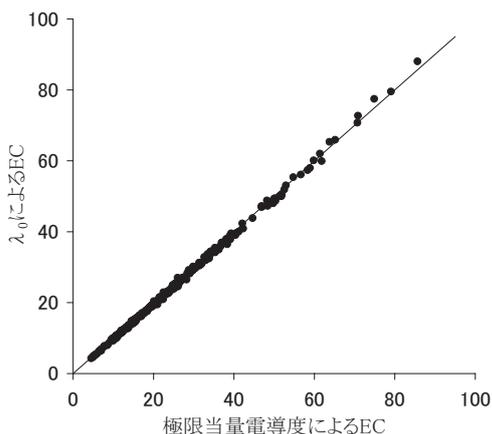
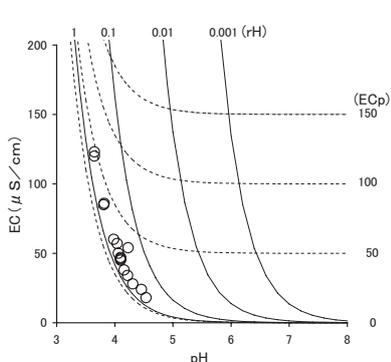
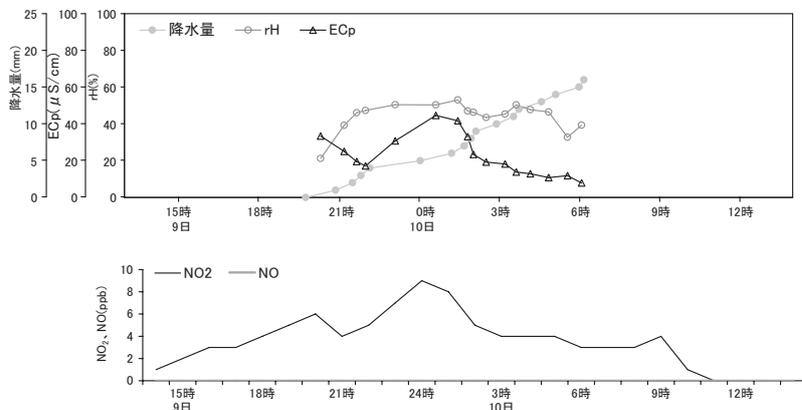


図2 EC計算値の比較

第1次酸性雨対策調査で自動採取装置により採水した全国7地点、4年分の月平均値



(a) pH-EC散布図



(b) 酸性雨及び大気常時監視変化図

図3 pH-EC散布図と酸性雨、大気常時監視変化図 (丸森局, 2005年7月9日~10日)

(1)式のECpはECから H^+ 分を除いたもので化学的に理解しやすいであろう。統計的には降水性状に係る主成分分析で通常得られる結果^{2),5)}等, 即ち H^+ を除くイオン成分の第1主成分固有値がほぼ同程度の大きさとなる場合には、ECpは第1主成分得点と理論上比例関係が成立するので²⁾, その指標性は高いと解釈される。

ところで、ECp及びrHは(1),(2)式のとおりpH, ECの関数であるため、図3及び図6に示したようなpH-EC散布図上に表現できる。この中で破線がECp, 実線がrHの等値線を表し、このように補助線を加えれば散布の状態により降水の特徴が概観できる。例えば図3の場合はrHが大きく同程度の大きさのところに散布しているの中和作用はあまり働いていない、また図6の場合はECpが増大したときのpHはほぼ一定であることから中性塩の影響によるECpの増加であることがわかる。中和作用が顕著なときは右上から左下に向うpH-EC散布となる⁶⁾。なお、理論上は $rH=1$ の曲線より左側に散布することはない。

3 結果と考察

3.1 追加的な汚染が生じた事例

図3は丸森局における2005年7月9~10日の降水で、月間pH最小値3.65を記録するなど汚染が進んでいた。pH-EC散布図では $rH=1$ 付近に集中しており、中和分量は少ない。同図(b)のECp及びrHの変化を見ると、2.0mm目まではECpは減少、rHは増加する降水初期の一般的な中和過程を示していた。2.5mm目以降からECpは増加し始め、3.0mm目に最大 $44.7\mu S/cm$ となっている。この間のrHは約0.5程度と大きくほぼ一定であったことから、質的には、少なくとも H^+ の比率には変化なく、同一の汚染現象であったとみられる。

図3(b)下段には大気中のNOx濃度の時系列を示した。このときSO₂は検出されていない。またNOxはすべて酸化されNO₂としては存在せず、大気中NO₂濃度変化は降水中ECpと酷似していた。なお、当時は図4(a)のよう

に温暖前線の前面に当たり霧雨であった。同図(b)の仙台管区気象台におけるエマグラムでは高度700~1500mの水蒸気圧は飽和状態であり、地表付近では南東寄りその上層では南寄りの風が吹いていた。

鶴田らはカイツーンを用いた立体調査⁷⁾により、雲粒によるエアロゾル、SO₂ガスの捕集率はほぼ100%であったのに対し、NO₂は雲粒に取り込まれず雲の中の大気中に存在していることが可能である事実を確認している。本事例の状況は鶴田らの結果と矛盾するところがなく、したがって酸化性エアロゾル、SO₂及びNO₂ガスを含む汚染源の影響により、降水中ECpと大気中NO₂濃度の追加的な汚染が生じたのではないかと推測される。

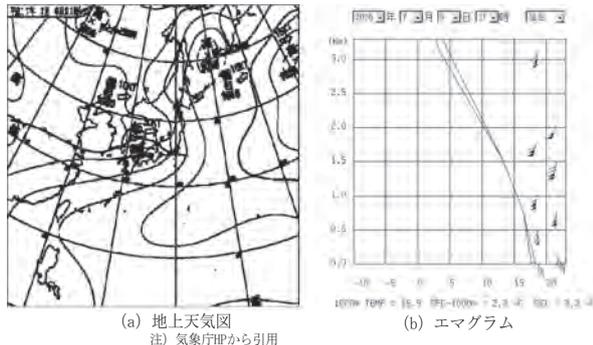


図4 地上天気図と仙台管区気象台におけるエマグラム (2005年7月9日21時)

3.2 海塩粒子の影響が顕著な事例

2005年7月26日~27日は、図5の天気図に示したように台風7号が房総半島に上陸した後三陸沖を北北東進したときで、台風の北側には前線があり台風の北上に伴って前線も北上していた。そのときの保健環境センター局における降水状況を図6に示した。図6(b)上段のpH、ECp変化図によれば、26日18~20時に降った降雨強度10mm/時以上の雨が弱まった20時10分~22時30分頃の

間にECpの急増が起きていた。このとき中段の図のとおり風向きはそれまでのNNE~NEから海寄りのSSE~ESEに転じている。ECp急増があったときは図6(a)のpH-EC散布図のようにpHの値は変化していない。中性塩の増加によるECp増大のパターンであり、当時のSSE~ESEの風によって海上から海塩粒子が輸送されたものと考えられる。

図6(b)下段は保健環境センター局東方の海岸沿いに位置する塩釜局と塩釜自排局におけるSPM濃度の変化である。一般局、自排局とも保健環境センター局のECpが増加したときに符合してSPM濃度は増加しており、その濃度は自排局で高いというものではなかった。図7はECpの急増が起きた21時~22時までの1時間平均SPM濃度の分布図である。海岸部では海寄りの風が吹走し、SPM濃度は全域的に海岸部で高く内陸部に向かって減少しているため、SPM濃度の増加は海塩粒子の進入によって生じたものとみられる。これらのことから、本事例の場合は海塩粒子は降水中に取り込まれると同時に、大気中のSPMとしても検出されていると推定された。

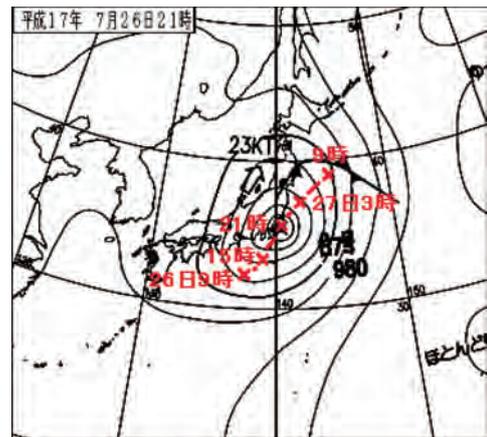


図5 台風7号の進路(2005年7月26日9時~27日9時) 注) 気象庁HPから引用したものを加工

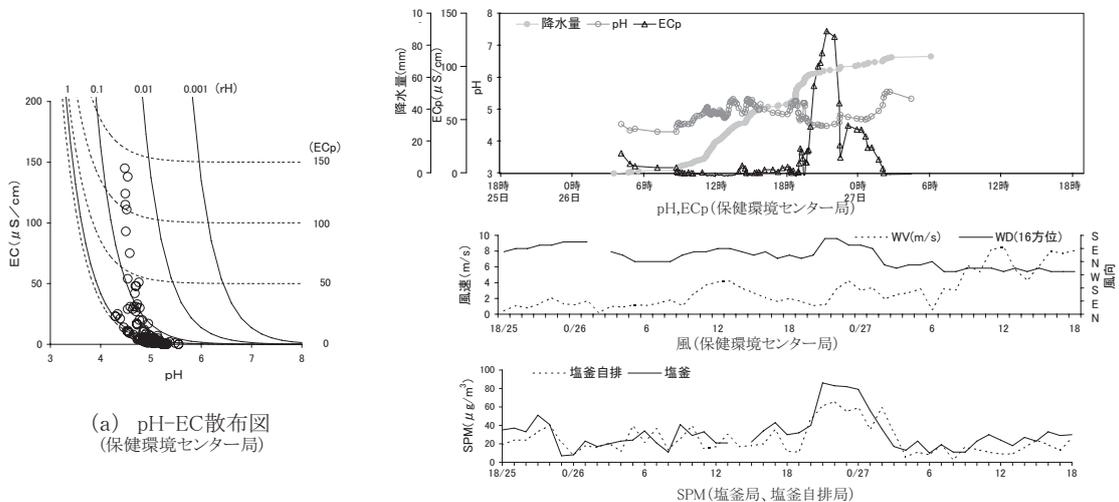


図6 pH-EC散布図と酸性雨、大気常時監視変化図 (2005年7月26日~27日)

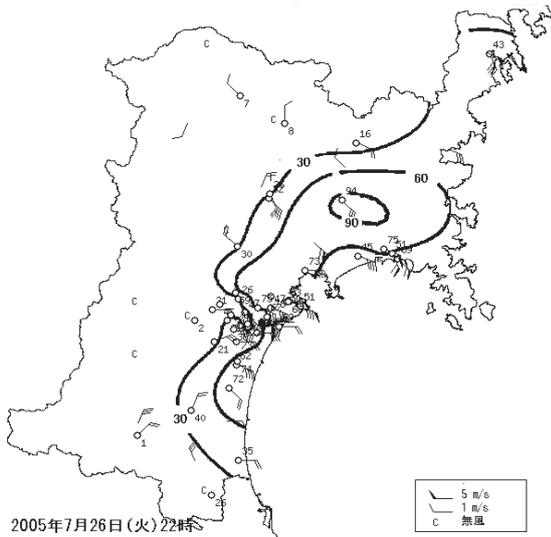


図7 SPM濃度分布 (2005年7月26日22時)

4 まとめ

酸性雨自動測定機のpH, EC測定結果に対してECp, rHを導入することによって, 大気常時監視データ等と関連付けた解析が可能となり, 評価に拡張性を持たせることができた。具体的には, 降水中に追加的な汚染が生じ低pHが出現した霧雨の事例では, SO₂はほぼ100%雲粒に捕集されるため大気中では検出されなかったのに対し, NO₂は雲粒に取り込まれずECpと連動した大気中の濃度変化を示していた。また, 海塩粒子が海上から輸送されECpが特異的に増大した事例では, 海塩粒子は降

水中に取り込まれると同時に, SPMとしても検出されたようであった。

ただし, 現在使用している測定機は様々な雨の降り方に対応できる性能は有しておらず, 特に降雨強度が大きいときやイオン強度の小さい雨に対するpH測定値の信頼性は低く, ECp, rHを正常に算出できない場合も多い。時々刻々変化する降水の状況を追跡できる限られた方法の一つなので今後の技術改良が望まれる。

参考文献

- 1) 加藤善徳, 矢本てるみ, 草野一: 酸性雨に関する調査研究報告書 (横浜市環境科学研究所), 1993, 51
- 2) 百川和子, 小島秀行, 仁平明, 氏家愛子, 斎藤達夫: 宮城県保健環境センター年報, 9, 81 (1991)
- 3) 仁平明, 榎野光永, 中村栄一, 佐久間隆, 木戸一博, 須藤幸藏: 宮城県保健環境センター年報, 16, 68 (1998)
- 4) 環境省地球環境局環境保全対策課酸性雨研究センター: 湿性沈着モニタリング手引書 (第2版), 平成13年3月, 54
- 5) 仁平明, 百川和子, 小島秀行, 氏家愛子, 斎藤達夫: 宮城県保健環境センター年報, 9, 87 (1991)
- 6) 仁平明, 榎野光永, 中村栄一, 佐久間隆, 木戸一博, 沢田和夫: 宮城県保健環境センター年報, 17, 90 (1999)
- 7) 鶴田治雄, 草野一, 加藤善徳, 大田正雄, 平野耕一郎: 酸性雨に関する調査研究報告書 (横浜市環境科学研究所), 1993, 119

宮城県における降水中の鉛安定同位体比について

Lead Isotope Ratios in Precipitation in Miyagi Prefecture

北村 洋子 高橋 正人*¹ 佐久間 隆
小泉 俊一 木戸 一博 中村 栄一
加賀谷秀樹

Yoko KITAMURA, Masato TAKAHASHI, Takashi SAKUMA
Syunichi KOIZUMI, Kazuhiro KIDO, Hideki KAGAYA

宮城県は東アジア大陸からの汚染物質の影響が最も少ないとされている東北北部の太平洋側に位置しているが、依然として酸性雨が観測されており、本県に酸性雨をもたらす汚染質の起源を明らかにする必要がある。周辺に大きな発生源がない涌谷町に設置されている国設大気環境測定所籠岳局で降水試料自動捕集装置により1日毎に採取された降水試料について発源地域に固有の値を取るとされている鉛安定同位体比を測定し汚染質の起源の推定を試みた。

キーワード：酸性雨；汚染質；起源；鉛安定同位体比

Keywords : acid rain ; pollutants ; origin ; lead isotope ratios

1 はじめに

宮城県は東アジア大陸からの汚染物質の影響がもっとも少ないとされている東北北部の太平洋側に位置しているが、依然として酸性雨が観測されており、宮城県に酸性雨をもたらす汚染質が大陸起源なのか地域汚染起源なのかを解明する必要がある。宮城県では環境省の酸性雨対策調査の一環として国設籠岳局で平成10年度から現在に至るまで降水試料自動捕集装置により1日毎の降水試料を採取し測定を行ってきた。当地には周辺に大きな発生源がない事から、発源地域に固有の値をとるとされている鉛安定同位体比を用いて降水中の汚染質の起源の推定を試みたので報告する。

2 調査方法

2.1 調査地点および調査箇所

調査地点：国設大気環境測定所籠岳局（国設籠岳局）、宮城県遠田郡涌谷町籠岳山（222m）中腹の標高165m、北緯38度33分10秒、東経141度10分31秒に位置し、周辺10km以内には大規模発生源はない。

2.2 採取装置及び方法

局舎屋上に設置した（株）小笠原計器製作所製降水試料自動捕集装置US-420型（分離型）を使用し、9：00を起点とする1日毎の降水試料を自動採取し、局舎内の冷蔵庫内のポリ容器に保存

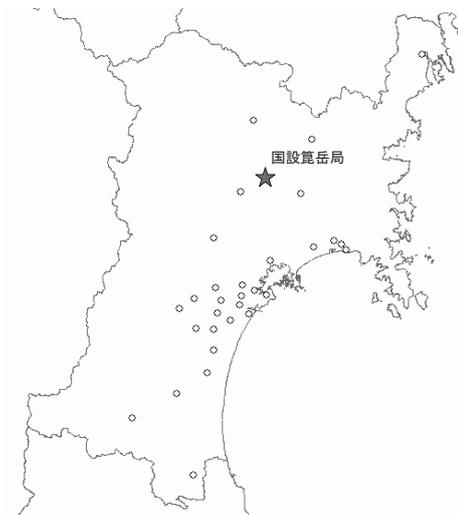


図1 調査地点

2.3 分析装置及び標準試料

分析装置：日立製P-5000 ICP三次元四重極質量分析計（3DQMS）（イオントラップ型）

鉛安定同位体比測定用標準試料：NIST（National Institute of Standards and Technology, 米国）のSRM981

2.4 分析条件の検討

感度、精度等が最適になる条件、特にスキャン回数とイオン取り込み時間について検討した。

2.5 測定試料

鉛濃度測定：平成16年度に捕集した降水試料を「湿性

* 1 現 原子力センター

沈着モニタリング手引き書（第2版）」に従い通常項目を測定した後、ポリ瓶中で冷蔵保存したものについて、鉛濃度および鉛安定同位体比の測定用に1%硝酸酸性雨試料を調整。

鉛安定同位体比：鉛濃度が2ppb以上の試料について鉛安定同位体4種類の内、206、207、208の測定を行い鉛安定同位体比を求める。

3 調査結果

3.1 鉛濃度測定結果

127試料中103試料について試料量が確保でき、鉛濃度測定用に供した。鉛の濃度はマイクロスキャン回数100回、イオン取り込み時間を100msの条件で測定。図2に鉛濃度測定結果の濃度別分布を示す。この結果、103試料中、鉛濃度が2ppb以上を示した24試料について鉛安定同位体比測定を行った。

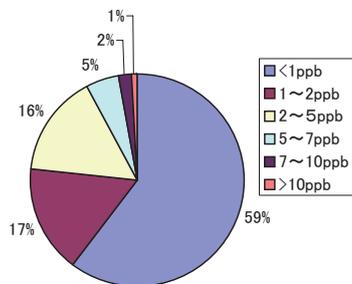


図2 降水中の鉛濃度分布

3.2 鉛安定同位体比測定結果

3.2.1 マイクロスキャン回数とイオン取り込み時間条件の検討

ICP/MSの機種が異なるため中込等¹⁾の測定条件が適用されないため、測定条件を検討した。マイクロスキャン回数とイオン取り込み時間はイオン強度に大きく影響するため最適な条件を検討した。この結果、スキャン回数を50回、イオン取り込み時間を800msで測定するのが試料量との関係で最適である事が分かった。

3.2.2 鉛安定同位体比測定結果

鉛安定同位体比は発生地域毎に固有の値をとるとされている事から、鉛安定同位体比の²⁰⁸Pb/²⁰⁶Pbと²⁰⁷Pb/²⁰⁶Pbとの関係を求め表1、図3に示す。この結果、鉛安定同位体比の²⁰⁸Pb/²⁰⁶Pbと²⁰⁷Pb/²⁰⁶Pbとも小さい値で、鉛成長曲線の新しい鉛の領域付近に分布しており、文献値²⁾の領域付近に入るものも少なく、全体的にバラツキも大きかった。

後方流跡線解析では大きく①ロシア・モンゴル等北アジア②韓国から③中国・韓国から④日本のみを通過してきたものの4つに分けられたが(表1および図4)、明確な起源の推定は困難であった。

表1 鉛安定同位体比測定結果

試料No	採取月日	²⁰⁸ Pb濃度 (ppb)	²⁰⁷ Pb/ ²⁰⁶ Pb	²⁰⁸ Pb/ ²⁰⁶ Pb
1	4月7日	9.5	0.95	2.45
2	4月19日	2.3	0.85	2.50
3	4月23日	2.6	0.80	2.29
4	4月25日	7.4	0.92	2.57
5	4月26日	4.1	0.91	2.40
6	5月9日	5.4	0.89	2.52
7	5月23日	3.3	0.89	2.42
8	5月24日	3.2	0.91	2.45
9	6月20日	4.6	0.92	2.38
10	6月25日	6.4	0.86	2.30
11	7月9日	2.2	1.00	2.57
12	7月10日	2.5	0.93	2.47
13	7月14日	2.7	0.95	2.54
14	7月15日	2.3	0.94	2.56
15	10月2日	5.9	0.94	2.39
16	10月22日	2.8	0.91	2.40
17	10月26日	2.8	0.91	2.49
18	12月19日	10.7	0.93	2.41
19	12月20日	2.4	0.97	2.54
20	2月23日	4.3	0.94	2.28
21	2月24日	2.2	0.95	2.52
22	3月17日	5.7	0.87	2.36
23	3月22日	6.2	0.93	2.29
24	3月23日	3.5	0.88	2.37

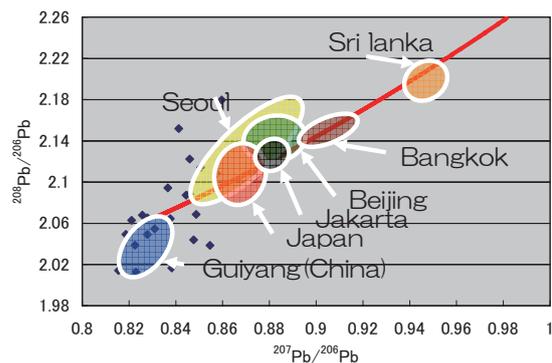


図3 鉛安定同位体比分布

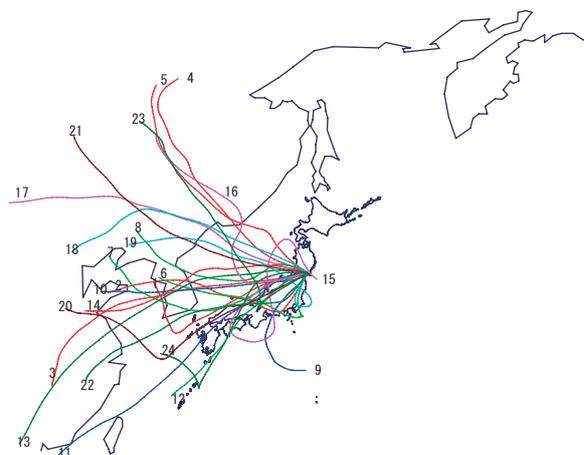


図4 後方流跡線解析結果

4 まとめ

今回の調査では、国設箕岳局で観測された鉛の濃度は1 ppb以下が59%と最も多く、次いで1～2 ppbの17%であった。鉛安定同位体比の測定が可能と思われた2 ppb以上は24試料で全試料の約19%であった。

鉛安定同位体比測定結果からは、鉛安定同位体比の $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ と $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ とも小さい値であり、鉛成長曲線の新しい鉛の領域に分布しており、文献値の領域に入るものも少なく、全体的にバラツキも大きかった。

国設箕岳局における汚染質の起源の明確な推定は困難

であった。

今後も引き続き、流跡線解析等と併せて国設箕岳局で観測される降水中の汚染質の起源を解明していきたい。

参考文献

- 1) 中込和徳等：誘導結合プラズマ質量分析法による降水中鉛安定同位体比の測定条件の検討，全国環境研会誌，Vol. 30(4)，227 (2005)
- 2) 向井人史等：降雪中の鉛同位体比と汚染の長距離輸送との関係，大気環境学会誌，Vol. 34(2)，86 (1999)

宮城県におけるPM2.5自動測定結果について(2)

Survey of PM2.5 in Miyagi Prefecture (2)

中村 栄一 菅原 隆一 高橋 正人*
加賀谷秀樹

Eiichi NAKAMURA, Ryuichi SUGAWARA, Masato TAKAHASHI
Hideki KAGAYA

県内の3ヶ所の大気汚染測定局でPM2.5の自動測定を実施した。月平均値は春から秋にかけて高く冬低くなる傾向が見られた。米国環境局(EPA)で定めた基準と比較したところ、沿道局2ヶ所で年平均値(15 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)を超えた。SPMに占めるPM2.5の割合(PM2.5/SPM比)は、特に低濃度測定局で冬季に1を超えるような高い値が頻繁に見られたが、これはSPM計の測定精度に原因があるものと考えられた。自動車交通の影響を受ける測定局ではPM2.5濃度は道路の風下側になった場合が高かったが、PM2.5/SPM比は逆に風上側の場合が10%ほど高い結果が得られた。また、黄砂ではSPMと共にPM2.5も濃度の増加が観測された。

キーワード：PM2.5；浮遊粒子状物質；連続測定；PM2.5/SPM比；BAM法；TEOM法

Keywords : PM2.5 ; suspended particulate matter ; continuous monitoring ; PM2.5/SPM ratio ; Beta-ray Absorption Method ; Tapered Element Oscillating Microbalance method

1 はじめに

PM2.5はその粒径の小ささから容易に肺深部に達し、気道炎症や呼吸器のアレルギー性障害などを増長するほか死亡率・罹患率の増加にも寄与しているといわれている。宮城県では2002年度から自動車交通影響調査の一環としてPM2.5の連続測定を実施しており、その調査結果について昨年度に引き続いて報告する。

2 測定地点及び測定方法

測定は周囲数キロにわたって工場や主要な道路など人為的な発生源がほとんどないバックグラウンド的な意味合いを持つ国設笹岳局、国道4号線沿道の名取自動車排出ガス測定局及び環境局ではあるが県道に臨んだ多賀城II局の3地点で行った。測定方法は国設笹岳はフィルター振動法(TEOM法：東京ダイレック製TEOM1419)、名取自排と多賀城IIは β 線吸収法(BAM法：柴田科学器械製BAM-1020)である。また、同時に測定を行ったSPMはすべてBAM法である。

3 測定結果と考察

3.1 月平均濃度の推移

国設笹岳は2002年4月から、名取自排は同年12月から、また多賀城IIは2004年4月からPM2.5の測定を開始した。

* 現 原子力センター

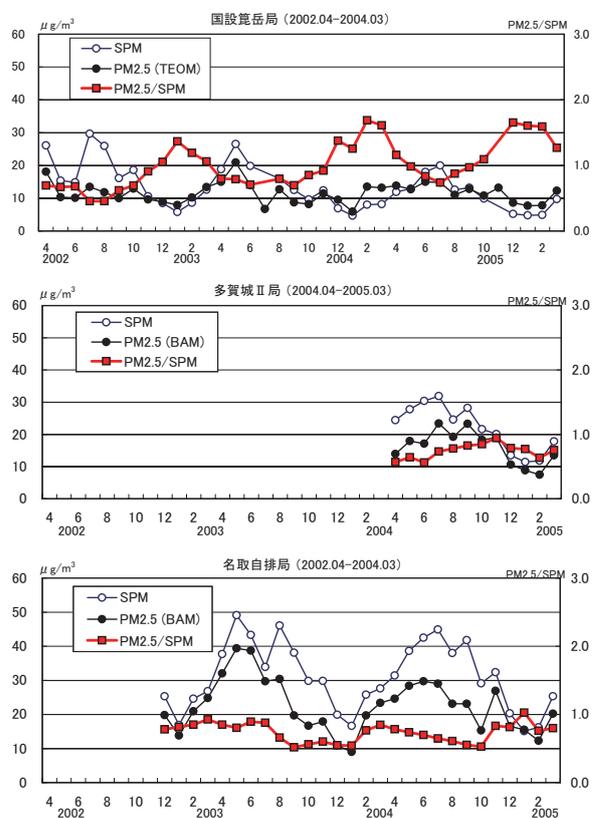


図1 月平均濃度の推移

各測定期間中の月平均濃度の推移を同時に測定したSPMとともに図1に示した。PM2.5はいずれの局も春から秋にかけて高く冬期に低い傾向がある。しかし、名取自排と多賀城IIは夏期は道路から見て風下側になることが多く、夏期の高濃度は自動車交通の影響も加わっていることも考えられる。

これまでの結果をEPA（米国環境保護庁）で定めたNAAQS（国家環境大気質基準）と比較した結果を表1に示す。3局とも24時間（日）平均値の98%値はクリアしているが年平均値は名取自排及び多賀城IIで基準を上回っていた。^{注)}

国設笹岳及び名取自排でのこの値は昨年度の報告値とほぼ同じであった。

注) 国設笹岳のみ3年間の平均、名取自排局は2年間、多賀城II局は1年間のデータによる値。NAAQSでは3年間の平均で評価するとしている。

表1 米国環境基準との比較

		単位 $\mu\text{g}/\text{m}^3$		
EPA NAAQS	国設笹岳	名取自排	多賀城II	
98%値 $65 \mu\text{g}/\text{m}^3$ *1)	31.7	56.0	43.0	
年平均値 $15 \mu\text{g}/\text{m}^3$ *2)	11.6	23.3	16.8	

*1) 1年間の24時間平均値の98%値の3年間の平均値

*2) 各モニターの年平均値を一定空間内の指定されたモニター間で平均した空間的年平均値の3年間の平均値

3.2 SPMとの比較

PM2.5とSPMの月平均濃度の比は国設笹岳では0.45~1.69、名取自排では0.52~1.03、多賀城IIでは0.56~0.94の範囲にあった（表2）。季節変化は国設笹岳を除き冬期に低くなる傾向が見られるが明確なものではない。国設笹岳ではPM2.5、SPMともに濃度が低くなる11月~2月ころ比の値が大きくなる傾向がはっきりしているとともに、この期間中はPM2.5濃度がSPM濃度を上回る月が頻出している。

調査期間をとおしての平均は名取自排及び多賀城IIはいずれも0.74で、これまでに報告されている値^{1),2)}とほぼ一致しているが、国設笹岳は1.00とやや異常な値となっている。

国設笹岳局は発生源となる工場や主要道路が周辺地域

表2 月平均値のPM2.5/SPM比

		単位 $\mu\text{g}/\text{m}^3$		
	国設笹岳	名取自排	多賀城II	
平均	1.00 (0.79)*	0.74	0.74	
最小	0.45	0.52	0.56	
最大	1.69	1.03	0.94	

* ()内の値はSPM $>10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ の条件で求めた値

にほとんどないため年間を通じてSPM濃度が低く、特に秋から冬にかけての期間は $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 以下となることが多い。使用したSPM計の精度は $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 以下の測定値に対しては $\pm 10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、月平均濃度が $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 程度の低濃度域では測定精度がかなり悪化していると考えられ、PM2.5/SPM比が異常な値となったものと考えられる。因みにSPM濃度が $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 以上の場合についてのみ比を求めると0.79となり、他の2局に近い値が得られた。

3.3 風向別PM2.5/SPM比

粒径 $2.5 \mu\text{m}$ 以下の粒子は主としてディーゼル自動車やボイラーなど人為起源の粒子群からなるといわれている。名取自排及び多賀城IIでの自動車交通の影響を見るため、測定局が道路に対して風上側（Windward）になる場合と風下側（Leeward）になる場合での違いを調べた。

PM2.5、SPMともいずれの測定局でも当然のことながら風下側(L)のほうが高く、増加分及び増加割合（L/W）は多賀城IIより名取自排のほうが高かった。これは交通量の違いによるものと考えられる。

PM2.5/SPM比は名取自排及び多賀城II局ともに自動車交通の影響が少ないと考えられる風上側(W)のほうが予想に反して高く、すなわちSPMに占めるPM2.5の割合が小さく、風の影響がより強く出るのであろう風速が $2.0 \text{m}/\text{s}$ 以上ある場合に限っても名取自排では同様の結果が得られた。この原因として、それぞれの測定機器の分粒性能を含めた精度の問題、自動車から排出される粒径スペクトルがバックグラウンドに対し $2.5 \mu\text{m}$ より上の領域にシフトしている可能性、などが考えられる。今後アンダーセンサンプラなどによる詳細な調査が必要であろう。

表3 風向別月平均濃度

	単位	名取自排			多賀城II			
		NE-SE 風下側 (L)	SW-NW 風上側 (W)	L/W	SE-SW 風下側 (L)	NW-NE 風上側 (W)	L/W	
全風速	PM2.5	$\mu\text{g}/\text{m}^3$	30.1	17.1	1.8	19.9	15.0	1.3
	SPM	$\mu\text{g}/\text{m}^3$	42.3	22.4	1.9	27.9	18.6	1.5
	NO	ppb	75.7	33.9	2.2	8.5	4.7	1.8
	PM2.5/SPM	—	0.71	0.76	0.93	0.71	0.80	0.89
2.0m/s以上	PM2.5	$\mu\text{g}/\text{m}^3$	27.8	12.5	2.2	15.0	10.0	1.5
	SPM	$\mu\text{g}/\text{m}^3$	38.5	15.6	2.5	18.6	13.2	1.4
	NO	ppb	62.5	13.0	4.8	4.7	1.0	4.8
	PM2.5/SPM	—	0.72	0.80	0.90	0.80	0.76	1.06

3.4 黄砂の影響

2002年3月から4月にかけて全国的に近年になく顕著な黄砂が観測された。図2に4月9日から11日にかけて観測された黄砂の国設箕岳での濃度推移を示した。PM2.5でもSPMと同様に9日午前中から濃度が上がり始め10日にピークに達した後11日まで高濃度で推移し、黄砂にもかなり細かい成分が含まれていることが分かる。PM2.5/SPM比は黄砂影響のあった期間中はあまり変化は無くほぼ一定であった。黄砂影響が比較的小さかったと考えられる同年5月の月間平均値と黄砂の影響のあった期間のPM2.5/SPMを比較すると、5月期の0.67に対し黄砂時は0.56とやや小さかった。

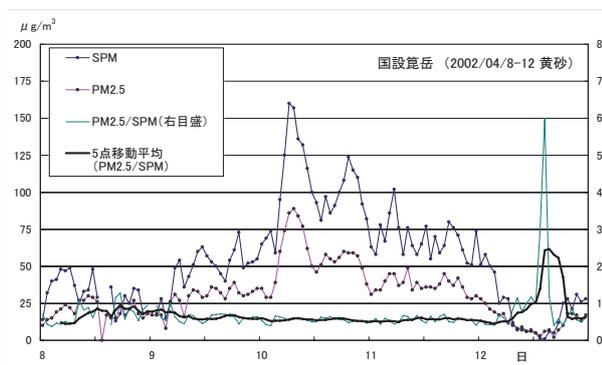


図2 黄砂時の粒子状物質濃度の推移

4 まとめ

宮城県内の3ヶ所の大気汚染測定局でTEOM法（1ヶ所）及びBAM法（2ヶ所）によりPM2.5の自動測定を1～3年間実施した。月平均値の推移では3局とも春から秋にかけて高く冬低くなる傾向が見られた。月平均PM2.5/SPM比はBAM法の局では0.52～1.03で期間を通しての平均は2局とも0.74であったが、国設箕岳局では0.45～1.69とばらつきが大きかつ期間平均も1.00と異常な値が得られ、低濃度域での測定精度に問題があるためと考えられた。次に、沿道測定局での自動車交通の影響を調べた結果、道路の風上側になった場合と風下側になった場合での濃度比は1.3～1.8で風下側の濃度が高かったが、PM2.5/SPM比は逆に風上側が10%ほど高い結果が得られた。また、2002年春の黄砂ではSPMと共にPM2.5も濃度の増加が観測され、黄砂期間中PM2.5/SPM比はほぼ一定で0.56であった。

参考文献

- 1) 若松伸司編：大気中微小粒子状物質・ディーゼル排気粒子に関する研究の動向と今後の課題，国環研報告 R-172-2002，pp 5，(2002)
- 2) 根津豊彦，坂本和彦：大気環境学会誌 37，A1-A12 (2002)

宮城県におけるPM2.5調査結果 — 粒径分布及び炭素成分について —

Study on Fine Particle Matter (PM2.5) in Miyagi Prefecture — Size Distribution and Seasonal Characteristics of Carbon Components —

木戸 一博 佐久間 隆 小泉 俊一
北村 洋子 中村 栄一 加賀谷秀樹

Kazuhiro KIDO, Takashi SAKUMA, Syun-ichi KOIZUMI
Yoko KITAMURA, Eiichi NAKAMURA, Hideki KAGAYA

環境大気測定局の国設籠岳局（田園地域）と自動車排ガス測定局の名取自排局（沿道）において、平成15年度から16年度にかけて年4回、ローボリウムアンダーセンエアサンプラーによるPM2.5の調査を実施した。名取、籠岳における粒子状物質の粒径分布は、ともに $0.5\mu\text{m}$ 及び $5\mu\text{m}$ 付近にピークを持つ2山型を示した。PM2.5の濃度は名取が平均で $18.7\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、籠岳は $12.1\mu\text{g}/\text{m}^3$ で浮遊粒子状物質（SPM）の55%（名取）及び60%（籠岳）を占めていた。PM2.5濃度の主要成分といわれる炭素成分（TC）は名取がPM2.5の約40%、籠岳が約20%を占めていた。また、名取のTCに占める元素状炭素（EC）と有機炭素（OC）の割合は、ほぼ同じであるのに対し、籠岳のTCは約30%がECでOCが約70%と田園地域と沿道で差がみられた。名取、籠岳ともにECの80%以上は $2.5\mu\text{m}$ 以下に含まれ粒径分布は $0.5\mu\text{m}$ 付近にピークをもつ著しく微小粒子側に偏ったパターンを示めた。

キーワード：PM2.5; 浮遊粒子状物質；元素状炭素；有機炭素

Keywords : PM2.5; suspended particle matter (SPM) ; elemental carbon (EC) ; organic carbon (OC)

1 はじめに

大気の子状物質がヒトの健康に与える影響として、近年欧米等の疫学調査でPM2.5と呼ばれる粒径 $2.5\mu\text{m}$ 以下の微小粒子状物質濃度が死亡率や疾病率との間に高い相関が認められ問題となっている。PM2.5は多種多様の物質からなり、その発生源も自然起源の他に、移動発生源（自動車排ガス）や固定発生源等の人為起源に由来するもの、さらにはガス状物質からの二次生成など複雑且つ多様である。従ってPM2.5の低減化対策を講ずるためにはその組成と発生源の特性を把握することが重要である。今回、PM2.5の主な成分である元素状炭素（以下ECと略）と有機炭素（以下OCと略）について自動車排ガス測定局と自動車排ガスの影響の少ない田園地域において、粒径分布や季節変動について調査を行い、PM2.5への自動車排ガスの影響等について考察を行ったので報告する。

について調査を行った。調査期間はおおむね2週間行った、詳細は下記のとおりである。



図1 調査地点の概要

2 調査方法

2.1 調査地点及び期間

国道4号線沿いの名取自排局（以下名取と略）と対象として田園地域の国設籠岳局（以下籠岳と略）の2地点

名取自排局

- ① 平成15年8月13日～8月27日
- ② 平成15年12月2日～12月16日
- ③ 平成16年1月21日～2月3日
- ④ 平成16年3月5日～3月19日

- ⑤ 平成16年 5月24日～6月7日
 - ⑥ 平成16年 8月24日～9月7日
 - ⑦ 平成16年11月22日～12月6日
 - ⑧ 平成17年 2月21日～3月7日
- 国設笹岳局
- ① 平成15年 8月13日～8月27日
 - ② 平成15年12月 2日～12月24日
 - ③ 平成16年 1月21日～2月 3日
 - ④ 平成16年 3月 5日～3月19日
 - ⑤ 平成16年 5月24日～6月 7日
 - ⑥ 平成16年 8月24日～9月 7日
 - ⑦ 平成16年11月22日～12月 6日
 - ⑧ 平成17年 2月21日～3月 7日

2.2 採取方法

浮遊粒子状物質の捕集は、ローボリウムアンダーセンエアサンプラー（柴田科学社製AN-200）を用いて行った。ろ紙捕集は石英ろ紙（Pallflex2500QAST）を用いて行った。

2.3 分析方法

炭素成分の分析はCHNコーダ（MT-5型柳本製作所製）で分析した。600℃のHe雰囲気中で加熱処理したときに揮発する炭素をOC、850℃のHe雰囲気中で燃焼した残りの炭素をECとした。

3 結果及び考察

3.1 浮遊粒子状物質濃度と粒径分布

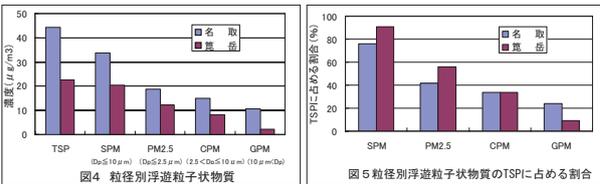
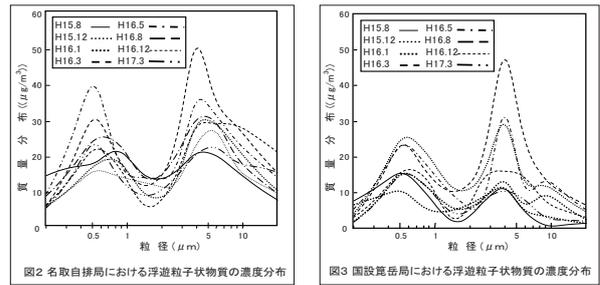
名取と笹岳においてローボリウムアンダーセンエアサンプラーで測定した粒子状物質濃度を表1に示した。表では総浮遊粒子状物質をTSP、粒径10μm以下の浮遊粒子状物質をSPM、粒径10μm以上の浮遊粒子状物質をGPMとして示した。更にSPMを粒径2.5μm以下の浮遊粒子状物質と粒径2.5μm以上10μm未満の浮遊粒子状物質に分け各々をPM2.5とCPMとして表した。

3.1.1 TSP濃度と粒径分布

名取のTSP濃度の平均は44.3μg/m³、笹岳は22.5μg/m³と道路沿道の名取が田園地域の笹岳の約2倍の値を示した。図2、図3に名取と笹岳のTSPの粒径分布を示した。名取、笹岳ともに、いずれの測定でも粒径0.5μm及び5μm付近にピークをもつ2山型の分布を示した。

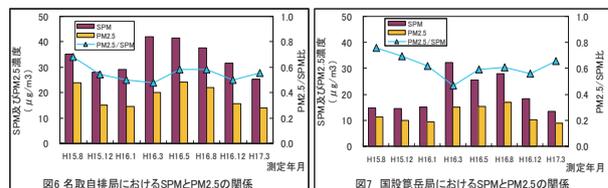
3.1.2 粒径濃度とTSPに占める割合

名取、笹岳の粒径別濃度を図4に、TSPに占める割合を図5に示した。PM2.5の平均濃度は名取が18.7μg/m³で笹岳は12.1μg/m³であった。TSPに占めるPM2.5の割合は、名取が42%、笹岳が56%と沿道より田園地域でTSPに占める割合が高くなった。



3.1.3 PM2.5とSPM濃度の季節変動及びPM2.5/SPM濃度比

図6、図7に名取と笹岳のPM2.5とSPM濃度及びPM2.5/SPM濃度比の関係を示した。名取、笹岳におけるPM2.5とSPM濃度は冬季に低く春季、夏季に高くなる傾向がみられた。PM2.5/SPM濃度比の平均は名取が0.55、笹岳は0.60と、沿道と田園地域で大きな差はみられなかった。また濃度比は名取、笹岳とほぼ同じ変動を示しており冬季に比べ夏季が高い傾向を示した。標準法（ろ紙捕集-質量測定）により日本各地で季節別に測定した結果ではPM2.5/SPM濃度比は0.6～0.9で冬季に比べ夏季に高いという報告¹⁾がなされており、今回の調査でもほぼ同様の結果が得られた。



3.1.4 SPMとPM2.5の関係

SPMとPM2.5には良い相関がみられるとの報告がある。名取と笹岳におけるSPMとPM2.5の関係を散布図にして図8、図9に示した。名取、笹岳ともに良好な正の相関が得られた。

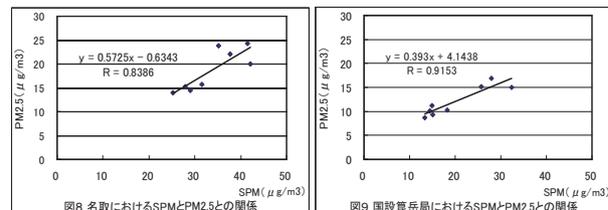


表1 粒子状物質濃度測定結果

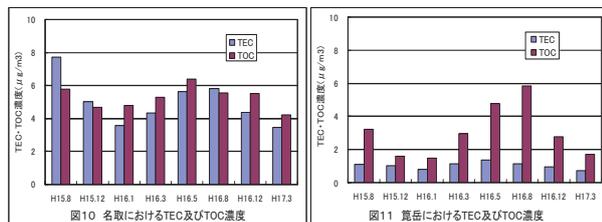
採取地点	TSP	SPM(Dp ≤ 10 μm)		PM2.5(Dp ≤ 2.5 μm)		CPM(2.5 μm < Dp ≤ 10 μm)		GPM(10 μm < Dp)	
	μg/m ³	μg/m ³	(%)	μg/m ³	(%)	μg/m ³	(%)	μg/m ³	(%)
名取自排局	44.3	33.8	76	18.7	42	15.1	34	10.5	24
国設笹岳局	22.5	20.3	91	12.1	56	8.2	34	2.2	9

3.2 炭素成分の測定結果

名取と箕岳のECとOCの粒径別濃度、及びTPM、SPM、PM2.5、CPM、GPMそれぞれの粒子中のEC、OCの濃度割合を表2及び表3に示した。また表4にTCに占めるEC、OCの割合を示した。表では全ECをTEC、粒径10 μ m以下のECをSEC、粒径2.5 μ m以下のECをFEC、粒径2.5 μ m以上10 μ m以下のECをCEC、粒径10 μ m以上のECをGECとして示した。OCも同様に全OCをTOC、粒径10 μ m以下のOCをSOC、粒径2.5 μ m以下のOCをFOC、粒径2.5 μ m以上10 μ m以下のOCをCOC、粒径10 μ m以上のOCをGOCとして示した。

3.2.1 名取及び箕岳におけるEC濃度とOC濃度の季節変動

図10、図11に名取と箕岳のECとOC濃度の測定結果を示した。名取のEC濃度の平均は5.0 μ g/m³でOC濃度の平均は5.3 μ g/m³とほぼ同じであった。また、ECとOCの濃度変動もほぼ同じで冬季に低く春季から夏季にかけて高くなる傾向がみられた。箕岳のEC濃度の平均は1.0 μ g/m³でOC濃度の平均は3.0 μ g/m³とOCがECの約3倍であった。また、濃度変動はECの濃度変動はほとんどなくほぼ一定であるのに対し、OCは冬季に低く、春季から夏季にかけて高くなる傾向が見られた。



3.2.2 EC及びOCの粒径分布と粒径別濃度

名取及び箕岳におけるEC及びOCの粒度分布を図12、図13に示した。更に名取及び箕岳における粒度別ECのTECに占める割合と粒度別OCのTOCに占める割合を図14、図15に示した。名取、箕岳ともにECの80%以上は粒径2.5 μ m以下微小粒子に含まれ、微小粒子側に著しく偏った粒径分布を示した。ガソリン車やディーゼル車からの排出される粒子の粒径は80%以上が0.5 μ m以下であり、その主成分はECであるとの報告^{2~4)}がある。名取、箕岳で観測されたECの粒径分布は自動車排気粒子の特徴を反映しており、微小粒子中のECは主にディーゼル車等の排気粒子に由来するものと思われた。一方OCは2.5 μ m以下の微小粒子側に含まれるOCは名取が約50%、箕岳が約60%と微小粒子と2.5 μ m以上の粗大粒子に含まれる割合とがほぼ同程度となった。粒径分布は0.5 μ mと5 μ m付近にピークをもつ2山型を示した。

3.3.3 PM2.5中の炭素成分

図16に名取、箕岳におけるFECの濃度変動とPM2.5に占める割合を、図17にFOCの濃度変動とPM2.5に占める割合を示した。FECは名取が4.2 μ g/m³で箕岳は0.8 μ g/m³で沿道が田園地域より5倍高濃度であった。PM2.5に占める割合は名取が22%で箕岳は7%で沿道が田園地域の3倍高い値を示した。濃度の変動は箕岳では大きな変動が見られないが、名取は夏期に高く、冬季に低くなる傾向がみられた。一方FOCは名取が2.6 μ g/m³で箕岳が1.7 μ g/m³で沿道が田園地域の1.5倍であった。PM2.5に占める割合は名取が15%、箕岳が14%とほぼ同じであった。濃度の変動は名取では大きな変動はないが、箕岳では夏季に高くなる傾向が見られた。

表2 ECの測定結果

地点	TSP		SPM(Dp \leq 10 μ m)			PM2.5(Dp \leq 2.5 μ m)			GPM(10 μ m<Dp)		
	TEC	TEC/TPM	SEC	SEC/TEC	SEC/SPM	FEC	FEC/TEC	FEC/PM2.5	GEC	GEC/TEC	GEC/GPM
	(μ g/m ³)	(%)	(μ g/m ³)	(%)	(%)	(μ g/m ³)	(%)	(%)	(μ g/m ³)	(%)	(%)
名取自排局	5.0	11	4.7	93	14	4.2	82	22	0.3	7	3
国設箕岳局	1.0	5	1.0	95	5	0.8	83	7	0.1	5	2

表3 OCの測定結果

地点	TSP		SPM(Dp \leq 10 μ m)			PM2.5(Dp \leq 2.5 μ m)			GPM(10 μ m<Dp)		
	TOC	TOC/TPM	SOC	SOC/TEC	SOC/SPM	FOC	FOC/TEC	FOC/PM2.5	GOC	GOC/TEC	GOC/GPM
	(μ g/m ³)	(%)	(μ g/m ³)	(%)	(%)	(μ g/m ³)	(%)	(%)	(μ g/m ³)	(%)	(%)
名取自排局	5.3	12	4.5	86	14	2.6	50	15	0.8	14	8
国設箕岳局	3.0	14	2.7	89	13	1.7	60	14	0.4	11	17

表4 TC濃度とEC、OCの含有率

	TC	(μ g/m ³)	H15.8	H15.12	H16.1	H16.3	H16.5	H16.8	H16.12	H17.3	平均
			名取	EC/TC (%)	57	52	43	45	47	51	44
	OC/TC (%)	43	48	57	55	53	49	56	55	52	
箕岳	TC	(μ g/m ³)	4	3	2	4	6	7	4	2	4
	EC/TC (%)	25	39	35	28	22	16	25	29	28	
	OC/TC (%)	75	61	65	72	78	84	75	71	72	

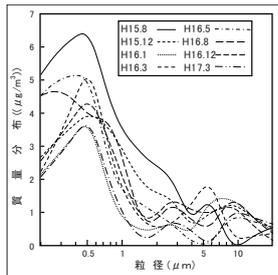


図12-1 名取自排局におけるECの濃度分布

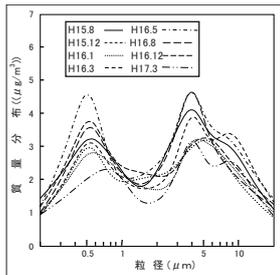


図12-2 名取自排局におけるOCの濃度分布

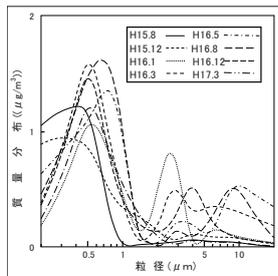


図13-1 国設箕岳局におけるECの濃度分布

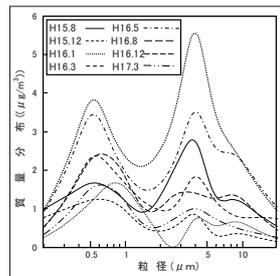


図13-2 国設箕岳局におけるOCの濃度分布

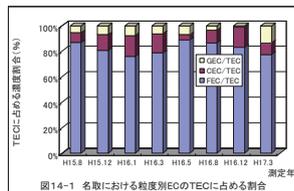


図14-1 名取における粒種別ECのTECに占める割合

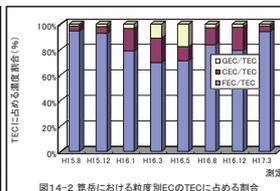


図14-2 箕岳における粒種別ECのTECに占める割合

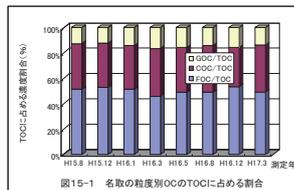


図15-1 名取の粒種別OCのTOCに占める割合

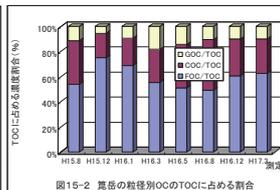


図15-2 箕岳の粒種別OCのTOCに占める割合

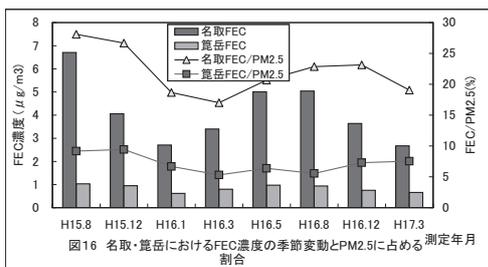


図16 名取・箕岳におけるFEC濃度の季節変動とPM2.5に占める割合

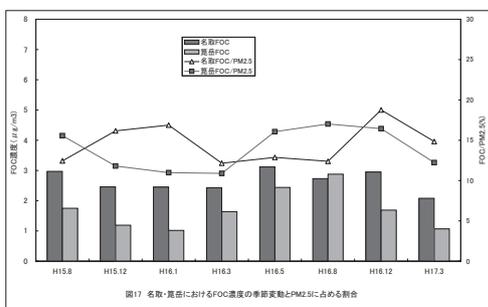


図17 名取・箕岳におけるFOC濃度の季節変動とPM2.5に占める割合

3.3.4 PM2.5とFECとの関係

図18に名取のFECとPM2.5との関係を、図19に箕岳のFECとPM2.5との関係を示した。また、図20に名取のFOCとPM2.5の関係を、図21に箕岳のFOCとPM2.5との

関係を示した。名取のFECとPM2.5には正の相関がみられるが、箕岳ではFECとPM2.5に相関が認められなかった。一方FOCは名取では相関は認められないが、箕岳では正の相関が認められた。

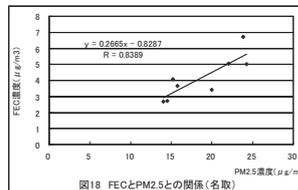


図18 FECとPM2.5との関係(名取)

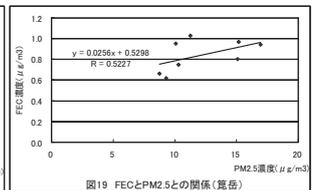


図19 FECとPM2.5との関係(箕岳)

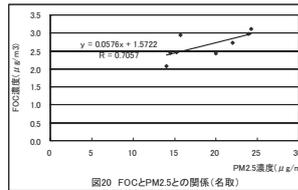


図20 FOCとPM2.5との関係(名取)

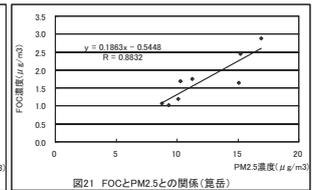


図21 FOCとPM2.5との関係(箕岳)

4 まとめ

名取(沿道)、箕岳(田園地域)における粒子状物質の粒径分布は、ともに0.5 μm及び5 μm付近にピークを持つ2山型を示した。PM2.5の濃度は名取が平均で18.7 μg/m³、箕岳は12.1 μg/m³でSPMの55% (名取)及び60% (箕岳)を占めていた。PM2.5濃度の主要成分といわれるTCは名取がPM2.5の約40%、箕岳が約20%を占めていた。また、名取のTCに占めるECと有機炭素OCの割合は、ほぼ同じであるのに対し、箕岳のTCは約30%がECでOCが約70%と田園地域と沿道で差がみられた。名取、箕岳ともにECの80%以上は2.5 μm以下に含まれ粒径分布は0.5 μm付近にピークをもつ著しく微小粒子側に偏ったパターンを示めた。

5 参考文献

- 1) 根津豊彦 等：大気微小粒子 (PM2.5) 質量濃度の測定, 大気環境学会誌 37, A1-A12 (2002)
- 2) 溝畑 朗他：大気環境学会誌35(2), 77-102 (2000)
- 3) 秋山 薫他：東京都環境科学研究所年報, 182-184 (2001)
- 4) 独立行政法人国立環境研究所：国立環境研究所特別研究報告, 大気中微小粒子状物質 (PM2.5)・ディーゼル排気粒子 (DEP) 等の大気中粒子状物質の動態解明と影響評価プロジェクト (中間報告)(2003)

松島湾における藻場の生態系調査結果について

Ecological Survey on Algal-bed in Matsushima Bay

佐々木久雄 小山 孝昭 牧 滋
嵯峨 京時 久保田龍二*

Hisao SASAKI, Takaaki KOYAMA, Shigeru MAKI
Kyoji SAGA, Ryuji KUBOTA

松島湾において実施されている海藻を利用した水質浄化事業調査の一環として、アカモクを主とするガラ藻場の生態系の構成・季節変化について調査した。その結果、アカモク藻場内では常に30~40種の植物種と70種程度の動物種が認められた。特に餌料生物となるヨコエビは一時的に爆発的な増殖が確認され、食物連鎖の重要な起点となることがわかった。アカモクの成長は水温の低い2月までは緩やかで、水温の上昇が認められる3月から急速な成長を始めるが、湾内奥部では低水温期の冬期にも急激な成長をする群が確認された。アカモクを中心とする藻場は、栄養塩の固定により水質浄化に寄与するのみならず、生態系を保持する重要な位置を占めていることが確認された。

キーワード：藻場，生物生産量，アカモク

Keywords : algal-bed, biomass, Sargassum horneri

1 はじめに

松島湾において、現在進められている大型海藻アカモクを利用した水質浄化事業では、これまで窒素やリンの栄養塩固定能の定量化について明らかにされてきたが、生態学的な位置づけについては未解明な部分が多く、藻場を創設したあとの、将来予測についても手つかずであった。今回、松島湾の桂島および寒風沢島周辺藻場において、その生態系構造と変遷を明らかにするため、潜水坪刈り調査を実施した。

2 調査方法

2.1 調査地点

図1に調査地点を示した。

桂島 (ST. 1) と寒風沢島 (ST. 2) の他に在城島付近 (ST. 3) を補足的な調査地点とした。

桂島地点は、沖合約300mの砂地上に設置された幅50m、長さ400mの離岸堤(潜堤)である。海底基質は直径約1m前後の被覆石(法面)およびコンクリートブロック(天端)であり、水深は天端部分で2m、在来地盤となる潜堤裾の付近は5mであった。

寒風沢地点は、粗い砂が堆積した天然岩礁地帯で、水深は岸側で2m、沖側では岩棚の落ち込みがあり、約5mとなっている。



図1 調査地点図

2.2 調査時期

アカモクの生育ステージに合わせて、成熟期(6月)、伸長期(11月)、繁茂期(2月)に実施した。なお、繁茂期の調査は、当初1月に予定したが、荒天のため桂島地点のみの調査となり、2月に再度調査日を設定した。

2.3 調査方法

現地での潜水調査は、写真撮影を含む目視調査、および坪刈り調査を実施した。特に坪刈り調査では葉上生物を可能な限り、逃散させずに採捕するため、方形枠上に大きなネットをかぶせ、全量採捕した。坪刈りで採取した動・植物の検体は、実験室に持ち帰り同定・計量作業

* 三国屋建設コンサルタント株式会社

を実施し、種の構成を解析した。なお、種類数の計測は目視観察と坪刈り採集の合計とし、植物の優占種は目視による被度の高い種、動物の優占種は坪刈りによる個体数の上位3種とした。

3 調査結果および考察

3.1 各地点における藻場生物の生息状況

桂島地点の藻場内生物の出現状況を表1に、寒風沢島地点を表2に示した。

桂島地点の植物出現種数は全体で33種寒風沢島地点では43種であった。代表種は両地点ともアラメ (*Eisenia bicyclis*)、アカモク (*Sargassum horneri*) などの大型海藻であった。アラメは多年生であり、年を通じて常に優占しているが、一年生のアカモクは成長段階により違いが見られた。分類群的には紅藻類の種数が多く、湿重量はアラメ、アカモクなどの褐藻類が大半を占めていた。

寒風沢島地点の植物出現数が桂島地点より多様なものになっているのは桂島地点が、被覆石およびブロックという比較的単調な環境であるのに対し、寒風沢島は砂地や岩礁帯など海底地形の多様性に富み、その分多様な海藻類が生育に適しているものと考えられる。

表1 桂島調査地点における出現生物相

	6月	11月	1月	2月	
植物	種類数(合計33種)	21	29	29	26
	湿重量(g/m ²)	3,195	903	4,233	5,182
	優占種	アラメ アカモク	アラメ アカモク	ワカメ アラメ	アラメ アカモク
	コンブ属	ユカリ	アカモク	ユカリ	
動物	種類数(合計76種)	41	49	54	44
	個体数(個体/m ²)	18,698	256	119,489	647
	湿重量(g/m ²)	57.41	4.23	219.92	7.52
	優占種 個体/m ²	ヨコエビ 亜目の一様種2 (カサヨコエビ科)	ヨコエビ 亜目の一様種2 (カサヨコエビ科)	ヨコエビ 亜目の一様種16 (カサヨコエビ科)	ヨコエビ 亜目の一様種2 (カサヨコエビ科)
	ワカメ下目の数種	ワカメ科の一様種2	ヨコエビ 亜目の一様種1 (カサヨコエビ科)	ヨコエビ 亜目の一様種9 (カサヨコエビ科)	ヨコエビ 亜目の一様種9 (カサヨコエビ科)
	多毛綱の数種	ヨコエビ 亜目の一様種9 (カサヨコエビ科)	ワカメ科の一様種2	ヨコエビ 亜目の一様種16	
	1,762 (9.4%)	20 (7.8%)	32 (0.1%)	44 (6.8%)	

注1) 種類数は、目視観察、坪刈り採集の合計。
注2) 植物の優占種は目視による被度の高い種、動物の優占種は坪刈りによる個体数上位3種とした。

表2 寒風沢島調査地点における生物相

	6月	11月	2月	
植物	種類数 合計43種	34	39	33
	湿重量(g/m ²)	4,945	1,031	4,299
	優占種	アラメ アカモク	アラメ アカモク	ワカメ アラメ アカモク
		ユカリ	ユカリ	ユカリ
動物	種類数 合計56種	34	42	37
	個体数(個体/m ²)	7,040	403	116
	湿重量(g/m ²)	35.15	2.96	3.56
	優占種 個体/m ²	ワカメ下目の数種	ヨコエビ 亜目の一様種2 (カサヨコエビ科)	ワカメ科の一様種
		5,342 (75.9%)	89 (22.1%)	34 (29.3%)
		ヨコエビ 亜目の一様種1 (カサヨコエビ科)	ワカメ科の一様種1	ワカメ下目の数種
	353 (5.0%)	89 (22.1%)	19 (16.4%)	
	多毛綱の数種	ヨコエビ 亜目の一様種1 (カサヨコエビ科)	ヨコエビ 亜目の一様種9 (カサヨコエビ科)	
	337 (4.8%)	49 (12.1%)	12 (10.3%)	

注1) 種類数は、目視観察、坪刈り採集の合計。
注2) 植物の優占種は目視による被度の高い種、動物の優占種は坪刈りによる個体数上位3種とした。

植物湿重量の傾向には、地点間で明瞭な差は見られない。これは大型海藻であるアカモクやアラメなどの出現状況により、全体の湿重量が左右されることが多いためである。

出現動物の種類数は、桂島が76、寒風沢島が56種と、桂島の方が多くなっており、植物の種類とは逆の傾向を示した。分類群的に見ると桂島では軟体動物が、寒風沢島節足動物の種数が多く認められた。これは寒風沢島が桂島に比べて比較的外海に面し、波浪の影響を直接受ける地点であったことによるものと考えられるが、両調査地点とも季節による種数の大きな違いはなく、常におおむね40種前後の出現種数となっている。出現個体数は季節によって大きく変動する。特に桂島で1月の調査でヨコエビ類の一種が一平方メートルあたり12万個、湿重量で約200gと爆発的に出現したが、このときのヨコエビ類は藻場内全体に均一に分布しているものではなく、その分布場所は同一藻場内でも変動があることがわかった。アカモク群落に蟻集するこれら小動物は、魚類の餌料となるものと考えられ、食物連鎖の起点となっていることが示された。

3.2 アカモクの繁茂状況と成長度合い

表3にアカモクの全長、湿重量、株数の推移を表した。また、図2にはアカモクの全長の測定結果を示した。

アカモクの全長は11月に40cm、1月及び2月に100cm、6月の300cmとなっており、3月から6月にかけて急成長することが確認された。また、株によりその成長度合いにばらつきが認められ、各季節ともに数cmから10数cmの幼株や若株が確認されており、発芽時期や成長速度に大きな差のあることがわかった。このことは11月より2月の株数が増加していることから示唆されるが、遅れて発芽したものや成長の遅いものは、藻場内の大きいアカモクの成長に伴い光条件が得られず、ますます成長が遅れるものと考えられるが、嵐や波浪などによって大きく成長した周りのアカモクが除去されたときには、速やかに成長する可能性を秘めているものと考えられる。アラメなど多年生の藻場ではこのような生育の不揃いは認められず、一年生海藻の種の保存戦略の一つと考えられる。

桂島地点では、6月の湿重量が2月より小さくなっているが、これは調査年度がアカモクの生育ステージに合わせられなかったことによるものであり、アカモク群落

表3 アカモクの生育の推移

全長 (cm)	平均			最大			最小			株数		
	桂島	寒風沢島	在城島	桂島	寒風沢島	在城島	桂島	寒風沢島	在城島	桂島	寒風沢島	在城島
6月	361	225	—	500	310	—	49	120	—	6	11	—
11月	36	39	299	87	79	395	5	3	118	85	27	15
1月	105	—	—	205	—	—	7	—	—	125	—	—
2月	126	124	—	224	169	—	3	1	—	111	51	—
湿重量 (g/m ²)	平均			最大			最小			合計		
	桂島	寒風沢島	在城島	桂島	寒風沢島	在城島	桂島	寒風沢島	在城島	桂島	寒風沢島	在城島
6月	397	389	—	750	770	—	4	20	—	2,384	4,280	—
11月	10	14	691	34	36	2,190	0.2	0.1	50	818	385	10,372
1月	33	—	—	139	—	—	0.3	—	—	4,106	—	—
2月	45	72	—	251	402	—	0.5	1.0	—	5,028	3,685	—

が6月下旬の調査日には衰退していたものと考えられる。谷口らは松島湾のアカモク藻場における最大湿重量を一平方メートルあたり22Kgと報告¹⁾をしており、今回の調査で得られた桂島で3.9Kg、寒風沢島で4.9Kgであったことから考えても、調査した時期が最大繁茂期からずれていたものと考えられる。

また特筆すべき状況として湾奥部の在城島周辺では、11月に全長4mに達するアカモク群落を確認されている。(図3)五十嵐らはこれらを冬季成熟群と報告²⁾しているが、成長過程、環境要因など不明な部分が多く、今後解明していく必要のある事項である。

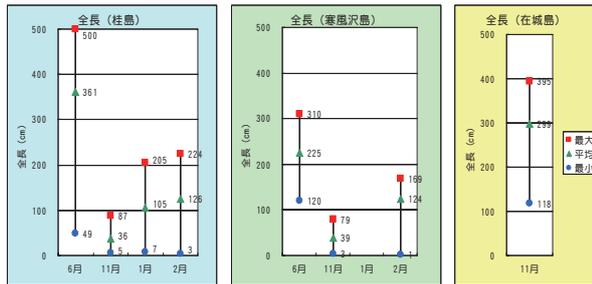


図2 各調査地点のアカモクの全長

4 まとめ

松島湾におけるアカモクを中心とした藻場内の生態系構成について調査した。

その結果、藻場を形成するアカモクは3月頃から急激に成長するが、季節を問わず多様な生態系構成の中心的役割を果たしていることがわかった。その象徴的現象は蝟集する葉上生物、特にヨコエビやワレカラによって示され、これら餌料生物が食物連鎖の起点となっていることが推察された。さらに目視観察の結果、メバルやアイナメ、ボラ、アナハゼといった沿岸性の魚類ばかりではなく、それらによって生み付けられた魚卵も多数確認され、魚類の産卵・生育の場としても重要な位置を占めていることが確認された。今後は、このような生態学的な重要性について定量的に比較・評価できる手法を検討して行く必要がある。

本調査は、宮城県環境生活部環境対策課の「海藻活用水質浄化事業」の一環として実施した。関係者に御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 谷口和也, 山田秀秋: 松島湾におけるアカモク群落の周年変化と生産力, 東北水研報, No. 50, 59-65, (1988).
- 2) 五十嵐輝夫, 薮太郎: 松島湾で見られたアカモクの冬季成熟群, 宮城水セ研報, 14, 11-15, (1995).

宮城県東松島市(旧鳴瀬町)野蒜地区における砒素汚染地下水の解析事例

Case-Study of Assessment of Groundwater Contaminated by Arsenic Compounds in Nobiru District, Higashimatushima City (Naruse), Miyagi Prefecture

清野 茂 阿部 公恵*¹ 栗野 健
大庭 和彦*² 嵯峨 京時

Shigeru SEINO, Kimie ABE, Takeshi AWANO
Kazuhiko OHBA, Kyoji SAGA

県内で環境基準の超過率が最も多い砒素汚染地下水の起源と汚染の評価を実施した。この際、地形・地質などの地盤資料や土地開発資料の収集・解析は必要であり、地下水の性状調査から得られた水質から作成したパターンダイヤグラムやトリリニアダイヤグラムにより水質組成を解析して、濃度相関マトリックスにより砒素と水質成分相互関係を検討し、クラスター分析による分類化は汚染地下水の起源を推定するには有効である。また、汚染地下水の自然由来か人為由来かの判定には土壌溶出試験と含有量試験を行うことは不可欠である。

キーワード：砒素汚染地下水；土壌溶出試験・含有量試験；多変量解析

Keywords : groundwater contaminated by arsenic compounds ; soil leaching & content test ; multivariate analysis

1 はじめに

本県における地下水汚染状況の推移を定期モニタリング調査結果（平成2年度～平成16年度）¹⁾でみると（図1）、環境基準の超過率は砒素が最も多く、次いで有機塩素化合物（VOC）、3番目に硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素（NO₂+NO₃）の順となっている。環境基準の超過率が最も高い砒素汚染地下水について、その起源と解析・評価を行い汚染原因を明確にして行くことは重要である。

東松島市（旧鳴瀬町）野蒜地区では、平成11年度地下水概況調査において、砒素の最高値が環境基準（0.01mg/1）の2.9倍検出され、汚染井戸周辺調査においても3.4倍検出された。それ以降の定期モニタリング調査では環境基準を超過していたが、平成14年度以後は環境基準を超過していない。

このことから、砒素汚染地下水の水質性状調査や土壌溶出試験・含有量試験を実施し、これらの結果を解析することにより、地下水汚染の起源を明らかにし、砒素汚染地下水の評価を行ったので報告する。

2 方法

2.1 調査時期

地下水性状調査は平成15年10月2日、7日、24日の3

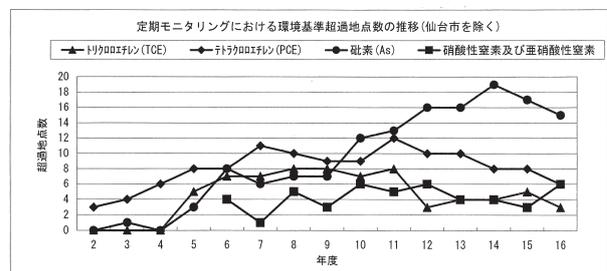


図1 宮城県における地下水汚染状況

回実施し、土壌採取調査は平成15年7月15日、10月2日の2回実施した。

2.2 調査地区及び調査地点

調査地区と調査地点は図2、3に示した。調査地区は東松島市（旧鳴瀬町）野蒜地区であり、地下水性状調査は14地点、土壌調査は7地点である。

2.3 調査項目

水質及び土壌中の砒素の他に、水質に関しては水温、pH、EC、ORP、SS、陽イオン（Na⁺、K⁺、Mg²⁺、Ca²⁺）、陰イオン（F⁻、Cl⁻、NO₂⁻、NO₃⁻、PO₄³⁻、HCO₃⁻、SO₄²⁻）、SiO₂、Pb、Cd、Hgである。なお、HCO₃⁻はアルカリ度から計算して求めた。

2.4 分析方法

土壌中の砒素は環境庁告示第59号（平成16年12月28日付け）、水質項目はJIS.K.0102及び上水試験方法に準じた。

* 1 現 仙台保健福祉事務所塩釜総合支所

* 2 現 栗原保健福祉事務所



図2 地下水性状調査地点とパターンダイアグラム



図3 地下水性状調査地点及び土壌調査地点とパターンダイアグラム

2.5 水質解析法

水質の主要成分について、パターンダイアグラムとトリリニアダイアグラムにより水質組成を解析した。砒素と14成分相互間の関係は濃度相関マトリックスにより検討した。さらに、砒素と14成分を用いてクラスター分析(標準化ユークリッド平方距離法、ウォード法)²⁾により地下水の分類化を行った。

3 結果と考察

3.1 地形・地質の概観

調査地区は本県中部に位置し、仙台平野の南東縁かつ石巻平野南端の野蒜丘陵地に当たり、石巻湾に面する。地質は基盤岩類の先新第三系を覆う中新世松島層群のうちの松島層で、塊状の軽石凝灰岩を主としたシルト岩・凝灰岩質砂岩からなり、その上を砂・礫などの沖積層が覆う。松島層は浅海部に堆積した火砕流堆積物(海成層)で、さらに海進を蒙っていると考えられ、地質構造はNNW-SSE方向の褶曲構造及び断層で特徴づけられる³⁾⁴⁾。このような地質や地質構造から、当該地区は浅い帯水層が存在していると推定される。1987年6月の宮城県沖地震及び2003年7月の宮城県北部地震では、崖崩れや道路陥没、噴砂現象などの災害が発生した地域でもある。

3.2 地下水の性状

地下水性状調査結果は表1に示した。砒素が検出された地点(0.005mg/L以上)は4地点あり、調査地区の西側に認められた。このうち1地点が環境基準を超過し(0.034mg/L)、その水質はpH8.5のアルカリ性であり、ORP432mVで、Na⁺(160mg/L)とCl⁻(124mg/L)の含有量が高く、HCO₃⁻は4.26meq/Lと高い。一方SiO₂は17.42mg/Lと低い。砒素以外の項目(NO₂+NO₃, F⁻, Pb, Cd, Hg)では環境基準を満足していた。

表1 地下水性状調査結果

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
調査地点	二子橋付近	上下堤	A宅	B宅	C宅	D宅	S整備工場	ソリンスタン	F宅	G宅	H宅	I宅	J宅	亀岡橋
種類	鳴瀬川	吉田川	地下水	海水										
調査年月日	H15.10.7	H15.10.2	H15.10.2	H15.10.2	H15.10.24									
気温	18.6	18.5	16.3	16	16.5	20.1	16.2	16.4	18.9	17.4	22.6	22.6	22.6	—
水温	16.8	16.5	14.4	14.3	15.1	16.8	14.2	15.3	14.8	16.8	17.3	17.1	18.3	14.5
As	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.007*	0.034	0.003	0.003*	<0.001*	0.005	0.008	<0.001	0.001
pH	7.17	7.11	6.82	6.78	6.57	8.37	8.54	8.04	7.40	7.30	8.44	8.67	8.10	6.91
EC	12.8	24.3	14.2	37.3	28.3	58.7	74.3	20.4	35.1	25.6	38.1	23.7	57.2	—
ORP	532	526	567	555	560	485	432	474	519	528	—	—	—	—
Na ⁺	14.39	23.07	10.96	23.94	39.17	81.15	160.3	35.15	57.18	10.43	52.24	40.88	50.47	11300
K ⁺	1.83	3.89	1.48	8.25	2.84	10.34	14.26	4.02	3.95	3.65	7.14	6.24	13.99	83.0
Ca ²⁺	9.06	19.56	10.00	39.82	16.95	26.47	10.46	10.56	11.95	20.64	14.81	4.42	4.61	69.6
Mg ²⁺	2.63	4.13	1.61	5.61	5.38	7.50	9.55	5.99	5.94	16.88	21.87	7.6	27.92	348
F ⁻	0.07	0.07	0.05	0.08	0.15	0.11	0.10	0.07	0.09	0.12	0.08	0.10	0.07	0.12
Br ⁻	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.30	0.33	<0.01	0.18	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	—
NO ₂ ⁻	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.02	0.19	—
NO ₃ ⁻	1.64	2.66	7.32	4.98	24.73	11.8	0.26	0.28	36.84	21.36	0.00	3.38	37.17	—
PO ₄ ³⁻	<0.01	<0.01	<0.01	3.68	0.92	0.40	1.00	0.56	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.83	—
CL ⁻	12.62	27.45	8.21	22.21	17.11	81.83	124.00	10.53	53.21	19.76	21.07	22.35	22.24	19300
SO ₄ ²⁻	12.86	19.58	6.90	39.70	29.46	33.05	29.88	5.38	25.07	20.31	28.70	14.60	80.66	1090
HCO ₃	30.40	50.84	26.10	66.00	62.00	108.80	213.20	84.00	45.60	69.50	112.98	71.28	144.76	73.60
SiO ₂	29.20	29.58	40.28	45.73	44.66	27.80	17.42	31.06	36.02	21.86	26.55	24.03	26.66	0.43

(注) - : 未測定
* : H15.10.2測定

3.3 水質解析

3.3.1 パターンダイヤグラム

パターンダイヤグラムは図2、図3に示した。野蒜地区の地下水は河川水（鳴瀬川、吉田川）と比べると、陽イオンでは Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、陰イオンでは Cl^- 、 HCO_3^- が高い。特に砒素の環境基準超過地点においては、 Na^+ 、 K^+ 、 HCO_3^- が高いことから、地下水流動によりイオン交換反応が進み、また Cl^- が高いことから海水の影響を受けていると考えられる。

3.3.2 トリリニアダイヤグラム

トリリニアダイヤグラムは図4に示した。キーダイヤグラムによれば、砒素検出地点はアルカリ非炭酸塩Ⅳ型と中間Ⅴ型であり、 Na^+ と Cl^- に富む海水やその混合した浅層地下水であることが分かる。しかし、Ⅳ型とⅤ型に分類された地下水でも必ずしも砒素が高濃度を示している訳ではなかった。

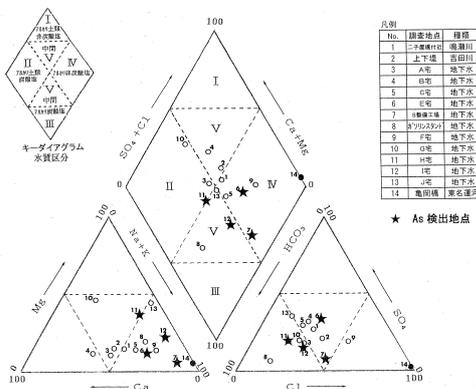


図4 地下水等のトリリニアダイヤグラム

3.3.3 濃度相関マトリックス

濃度相関マトリックスは図5に示した。砒素と正相関の成分は、 Na^+ 、 Cl^- 、 HCO_3^- 、 pH 、 K^+ 、一方負相関の成分は SiO_2 である。砒素と正相関を示した成分： Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- は海水の主成分であり、また pH は海水で8.2程度であることから、砒素と海水の関係を示唆している。 HCO_3^- は地下水流動を示す成分と考えられることから、砒素と地下水流動の関係が推定される。 SiO_2 は水と岩

	As	pH	Na^+	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	F^-	Br^-	NO_2^-	NO_3^-	PO_4^{3-}	Cl^-	SO_4^{2-}	HCO_3^-	SiO_2
As	1	0.584*	0.924**	0.602*	-0.187	0.020	0.167	-0.065	-0.138	-0.310	0.047	0.860**	0.001	0.788**	-0.561*
pH		1	0.609*	0.629*	-0.386	0.457	-0.018	-0.007	0.231	-0.207	-0.270	0.473	0.163	0.687**	-0.765**
Na^+			1	0.742**	-0.128	0.151	0.243	0.128	0.029	-0.064	0.076	0.929**	0.253	0.861**	-0.473
K^+				1	0.029	0.563*	0.049	-0.018	0.539	0.094	0.328	0.649*	0.735**	0.899**	-0.445
Ca^{2+}					1	-0.192	0.208	0.231	-0.368	-0.121	0.693**	0.065	0.074	-0.133	0.428
Mg^{2+}						1	0.037	-0.212	0.698**	0.374	-0.091	-0.011	0.709**	0.543	-0.452
F^-							1	0.552	-0.205	0.305	0.056	0.265	0.068	0.160	-0.018
Br^-								1	-0.169	0.092	0.041	0.130	-0.030	0.026	0.252
NO_2^-									1	0.540	0.006	-0.117	0.829**	0.351	-0.172
NO_3^-										1	-0.088	-0.039	0.568*	-0.040	0.185
PO_4^{3-}											1	0.072	0.338	0.151	0.483
Cl^-												1	0.166	0.712**	-0.449
SO_4^{2-}													1	0.510	-0.047
HCO_3^-														1	-0.595*
SiO_2															1

N=13
*: 5%有意 (>0.553)
**: 1%有意 (>0.684)
(ただし、地点14は除く)

図5 地下水等の濃度相関マトリックス

石や土壌の相互作用による溶出成分だが、海水中には低濃度である。海水の主成分 Cl^- により SiO_2 が凝集されたと考えられる。

3.3.4 クラスタ分析

15変数の相関係数を用いたクラスタ分析結果として得られたデンドログラムによれば（図6）、13調査地点（海水と推定される調査地点14を除く）は3グループに分類され、砒素の環境基準超過地点は2つのグループとは明らかに異なることが分った。このことから、砒素汚染の範囲は極めて限定されていると示唆される。

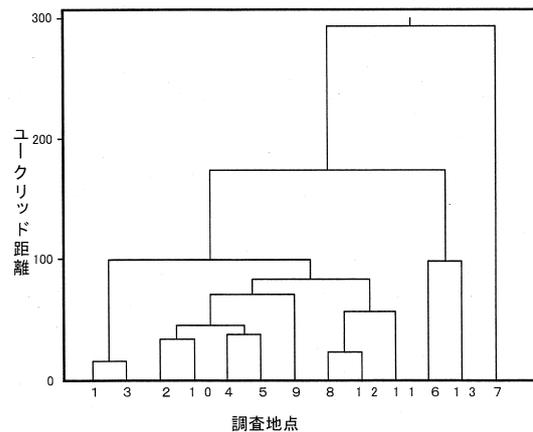


図6 地下水等のデンドログラム

3.4 土壌溶出試験・含有量試験

土壌溶出試験及び含有量試験結果は表2に示した。土壌溶出試験では0.001未満～0.003mg/L、含有量試験では0.049～0.85mg/kgであった。人為的汚染は土壌溶出量基準（0.01mg/L）の10倍を超え、かつ自然的要因による含有量の上限値の目安（39mg/kg）を超えた場合疑われるとされている⁵⁾。定期モニタリング調査で砒素汚染が確認されていた地点では、周辺井戸の土壌や岩石の砒素は土壌溶出量基準の1/10以下、かつ自然的要因による含有量の上限値の1/100以下であった。また、調査地区には砒素汚染と考えられる工場・事業場や鉱山等は確認されなかった。このことから、野蒜地区における砒素汚染地下水の原因は自然由来と推定された。

表2 土壌溶出試験及び含有量試験結果

No.	地点	土質	採取年月日	土壌溶出試験 (mg/L)	含有量試験 (mg/kg)
①	A保育所	砂質	H15. 7. 15	0.002	0.80
②	Sマンション	砂質	H15. 7. 15	<0.001	0.17
③	不老山	堆積岩	H15. 7. 15	<0.001	0.049
④	H宅	砂質	H15. 10. 2	0.002	0.85
⑤	I宅	砂質	H15. 10. 2	0.001	0.68
⑥	G宅	砂質	H15. 10. 2	0.001	0.58
⑦	簡保裏山	堆積岩	H15. 10. 2	0.002	0.72

3.5 汚染の起源と評価

一般に砒素の起源は硫砒鉄鉱などの砒素硫化鉱物、火山活動に関連した熱水などと考えられ、地層中の砒素硫化鉱物が酸化作用を受けて砒素が水に溶出したり、土壌や粘土に吸着・集積されていた砒素が水に溶出するという現象が考えられている⁶⁾。調査地区の地質は浅海部に堆積した火砕流堆積物で軽石凝灰岩を主としたシルト岩・凝灰岩質砂岩であることから⁴⁾、堆積物中に砒素が含有されている可能性は高い。砒素の地下水への溶出の誘因は①pHの変化②塩分濃度の変化③酸化還元環境④地下水の流動などがある。本調査地域における砒素汚染の機構を考えると、天水由来の地下水が帯水層を流動する過程でイオン交換反応によりNa⁺が増加するとともにpHやアルカリ度を上昇させながら、松島層中を流動する。この層は海成層であることから、層中に含まれている塩水（主成分Na⁺、Mg⁺、Cl⁻）と砒素を溶出し、これらが地下水に付加され、さらにpHやECも高くなる。一方SiO₂はCl⁻との凝集反応により地下水から取り除かれると考えられる。このことから、砒素が検出された地点の水質性状はpHが高く、Na⁺とCl⁻に富む海水型やその混合型となる。また、調査地区は近年人工的に埋め立てられた新興地である。砒素汚染地下水が汲み上げられる一方、周辺から砒素に汚染されていない地下水が砒素や塩水を包含する帯水層へ浸入し希釈されたと考えられる。このことから、平成11年度において地下水概況調査

では環境基準超過地点が見出されたものの、平成14年度以後は確認されなくなったと推定される。今回環境基準を超過していた地下水は新規の浅井戸（深度3m）によるものであった。

以上のことから、東松島市（旧鳴瀬町）野蒜地区における砒素汚染地下水の起源は自然由来であり、その範囲は極めて限定されていると判定される。

4 まとめ

県内で環境基準の超過率が最も多い砒素汚染地下水の起源と評価を行うため、東松島市（旧鳴瀬町）野蒜地区において調査を実施した結果、次のことが分かった。

- (1) 砒素汚染地下水の起源を評価するに当たり、地形・地質などの地盤資料や土地開発資料の収集・解析は必要である。
- (2) 地下水の性状調査から得られた水質について、パターンダイヤグラムやトリリニアダイヤグラムにより、水質組成を解析して、濃度相関マトリックスにより砒素と水質成分相互関係を検討し、クラスター分析手法を用いた分類化は汚染地下水の起源を推定するには有効である。
- (3) 汚染地下水の自然由来かどうかの判定には土壌溶出試験と含有量試験を行うことは非常に重要である。

参考文献

- 1) 宮城県：公共用水域及び地下水水質測定結果書、（平成2年度～16年度）。
- 2) 早狩 進：“Excelアドイン”，（2003）。
- 3) 建設省計画局・宮城県編（1965）：仙台湾臨海地帯の地盤（都市地盤調査報告書第10巻），1-26，（1965）。
- 4) 石井武政，柳沢幸夫，山口昇一，寒川旭，松野久也：松島地域の地質。地域地質研究報告（5万分の1図幅）秋田(6)第89号，地質調査所，（1982）。
- 5) 環境省環境管理局水環境部長通知：“土壌中の特定有害物が自然的要因によるものかどうかの判定方法”平成15年2月4日，環水土第20号，（2003）。
- 6) 吉村尚久，赤井純治：土壌および堆積物中のひ素の挙動と地下水，地球科学57巻，137-154，（2003）。

鉛川湧水調査結果（第2報）

Assessment of Groundwater in the Namari River(2)

清野 茂 小山 孝昭 佐藤健一*¹
 牧 滋 佐藤 勤 大庭和彦*²
 嵯峨 京時

Shigeru SEINO, Takaaki KOYAMA, Kenichi SATO
 Shigeru MAKI, Tsutomu SATO, Kazuhiko OHBA
 Kyoji SAGA

鉛川の湧水中のPbやCdなど重金属と一般水質の調査を4年間にわたり実施した結果、湧水は河川水と混合した河床湧水及び河川水との混合がない側壁湧水の2種類に大別され、その分布は前者が二迫川合流点から向原橋まで、後者が西角橋から向原橋まで及び佐野橋上流に多く存在することが明らかとなった。湧水の16水質成分のクラスター分析により、湧水は河床間隙水（ハイポレックゾーン水；HZ水と略す）と露頭湧水の2つに大分され、さらにHZ水は河川水由来と浅い地下水由来の2種類に区分された。Pbは浅い地下水由来のHZ水と露頭湧水に、CdやZnは河川水由来のHZ水にそれぞれ高濃度であり、Fは露頭湧水に高濃度であった。河床堆積物浸漬実験結果から粒度別では細粒ほど重金属の溶出量が多く、脈石の種類により重金属の溶出量が異なることを示唆していた。脈石の粉末X線回折では石英と黄鉄鉱が主成分であることが確認された。

キーワード：湧水；河床間隙水；重金属；多変量解析；鉛川

Keywords : groundwaters ; hyporheic zone waters ; heavymetals ; multivariate analysis ; Namari river

1 はじめに

鉛川では、河川中のPbやCdなど重金属が環境基準を超過している。この原因は、これまでの調査^{1)~3)}から「河床・河岸に鉛を高濃度に含む湧水があるなど地質構造由来の自然汚濁による⁴⁾」とされている。

そこで、「地質構造由来の自然汚濁」とされてきた環境基準超過の原因を精査するため鉛川水質監視調査の一環として、平成14年度から鉛川湧水調査を実施している。前報⁵⁾では平成14年度からの3カ年間の調査結果を報告した。本報では平成17年度調査結果を加えて、湧水の湧出機構及び多変量解析手法を用いて水質特性を解析するとともに、河床堆積物浸漬実験を粒径別に30日間までを行い、河床堆積物を粉末X線回折法により鉱物の確認を行ったので報告する。

2 方法

2.1 調査時期及び調査地点

調査は平成17年8月29・30日に、鉛川との二迫川合流点から向原橋までにおいて実施した（図1）。

* 1 現 仙台保健福祉事務所塩釜総合支所
 * 2 現 栗原保健福祉事務所

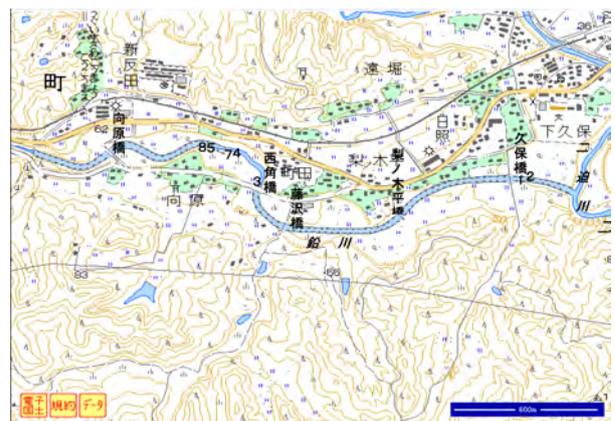


図1 平成17年鉛川湧水調査地点図

2.2 調査方法

湧水調査は、前報と同じ方法により実施した。なお、今回は河床湧水部の上流地点において径50mm・長さ970mmステンレス製で先尖部が孔径3.5mm10個を有する有孔管を河床堆積中に埋め込み湧水を採水した。

2.3 調査項目及び測定方法

前報と同様である。

2.4 河床堆積物の浸漬実験

試料は向原橋及び藤沢橋付近で採取（平成16年8月31日）した河床堆積物で、1年間室温で放置乾燥させたものである。前者は粒径別3種類（2mm以下、2～40mm、40mm以上、それぞれ2kg）と脈石(0.54kg)、後者は脈石(0.385kg)の計5種類である。各堆積物を超純水500～1000mlでポリエチレン製容器に完全に水没させ、6時間・24時間（1日）・62時間（3日）・144時間（6日）・288時間（12日）・576時間（24日）・720時間（30日間）の7回浸漬した。1回ごとに浸漬水を全量回収した。原液はpH・R-pH・アルカリ度・EC・ORP・Pb・Cd・Zn・As・Feを測定し、遠心分離後ろ過した試料はカチオン・アニオン・Pb・Cd・Zn・As・Fe・F・SiO₂・Alを測定した。

2.5 粉末X線回折（XRD）法測定

粉末X線回折装置は東北大学大学院理学研究科（理学電機機軸製RU300）により、脈石の構成鉱物同定を行った。測定条件は管電圧・電流が35kV、管電流15mA（Cu-Kα線）である。走査条件は、走査間隔0.01°、走査速度1°/分とし、走査範囲2θ = 3～65°とした。

3 結果

今回の湧水調査結果は表1に示した。

4 考察

4.1 鉛川形成史

鉛川は古来の名称ではないと考えられる。鉛川が括弧書きとして「中の沢」との名称がみられるからであり⁶⁾、近年になってからの名称と推定される。このような鉛川

が河川形成された経過について年代的に考察しておくことは、河床の堆積物環境や河川構造などを解析する上で有意義である。そこで、鉛川を次の4つの形成期に分類した。すなわち、①古鉛川期〔1万年以前〕：現鉛川において一部露出する岩盤まで侵食作用を受けて下刻された。寒冷期ではさらに下刻された。鉛川溪谷の形成。②旧鉛川期〔1万年～8千年前〕：海水面が最上昇し、侵食・運搬作用よりも堆積作用が卓越し、沖積層が形成された。この頃に細倉層の露頭鉱石が偏在的に沖積層へ混入した。③新鉛川期〔8千年～河川改修以前（平成2年頃）〕：沖積層堆積流域での蛇行化。鉱山活動で掘出された鉱石の一部・ズリ・カラムシそして捨て石堆積場の堆積物の決壊物などが顕在的に堆積した。④現鉛川期〔河川改修終了後（平成2年頃）～〕：土木工事による沖積層の攪乱・河道の直線化。

4.2 14～16年調査における湧水の水質特性

前報で報告した46湧水の水質特性を詳細に検討するために、水温、pH、Pb、Cd、Zn、Fの6項目について流程順に河床湧水及び河川水との混合がない側壁湧水の2種類に区分し、さらに河川表流水（河川水と略す）とともに図示した（図2）。河床湧水の分布は鉛川と二迫川合流点～あきのり橋の広範囲に及んでおり、側壁湧水は西角橋～向原橋、森下橋付近、あきのり橋上流に限定されていることが分かった。さらに、項目ごとに分布特性をみた。水温とpHは細倉中央橋上流で側壁湧水の一部が河川水よりも高いもののその他は低い。高濃度Pb、Cd、Znの分布は河床湧水及び側壁湧水ともに同様な傾向を示しており、西角橋～向原橋と佐野橋上流で存在し、高濃度Fの分布は河床湧水が二迫川合流点～向原橋、側

表1 平成17年鉛川湧水調査結果

検体NO.		H17湧-1	H17湧-2	H17湧-3	H17湧-4	H17湧-5	H17孔管-7	H17湧-8		
調査年度		H17	H17	H17	H17	H17	H17	H17	H17	H17
左岸右岸中央		右岸	左岸	右岸	右岸	右岸	右岸	右岸	中央	中央
流程距離	m	240	230	1490	1640	1690	1640	1690	260	1640
河道内位置		河床	河床	河床	河床	河床	河床	河床	河床	河床
湧水場所基質		砂礫	砂礫	砂礫	砂礫	砂礫	砂礫	砂礫	砂礫	砂礫
年月日		H17.8.29	H17.8.29	H17.8.29	H17.8.29	H17.8.29	H17.8.30	H17.8.30	H17.8.29	H17.8.29
時刻		14:20	14:30	15:35	15:45	16:07	11:05	11:46	10:10	10:35
地点種類		久保橋下流湧水	久保橋下流湧水	西角橋上流湧水	西角橋上流湧水	西角橋上流湧水	H17-4の上流有孔管水	H17-8の上流素堀孔水	久保橋河川水	西角橋上流河川水
水温(表流水)	°C	25.0	25.8	24.5	24.3	24.2	24.3	24.4	22.7	24.3
水温(湧水)	°C	20.9	21.8	20.3	19.1	14.4	19.8	14.6	-	-
pH		6.46	6.53	6.31	6.10	4.58	6.12	4.98	7.15	7.07
EC	mS/m	80.8	84.7	54.1	42.0	39.6	52.2	21.7	80.6	71.6
HCO ₃	mg/l	16.52	15.90	12.46	7.58	6.89	7.54	<0.01	16.7	18.35
N _a	mg/l	19.13	20.17	13.92	12.74	14.35	14.74	10.82	26.70	17.60
K	mg/l	3.06	3.02	2.51	2.40	1.87	2.82	1.45	2.96	2.67
Mg	mg/l	18.03	18.79	11.33	7.84	7.08	9.41	2.82	18.66	17.32
Ca	mg/l	157.37	163.87	93.49	67.18	57.29	72.53	83.31	154.31	127.3
NH ₄	mg/l	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.01	<0.01
Pb	mg/l	0.002	0.003	0.02	0.033	0.104	0.27	0.23	0.015	0.006
Cd	mg/l	0.004	0.004	0.010	0.011	0.014	0.015	0.019	0.004	0.005
Zn	mg/l	0.386	0.379	1.16	1.33	1.71	1.56	2.51	0.46	0.69
Al	mg/l	<0.01	<0.01	0.04	0.06	0.34	0.06	0.34	0.01	0.03
NO ₃	mg/l	1.67	1.77	1.76	2.23	1.51	2.14	2.03	1.65	1.56
NO ₂	mg/l	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
Cl	mg/l	6.44	6.62	6.46	6.13	6.39	7.14	6.43	6.25	7.02
SO ₄	mg/l	399.45	436.58	278.34	206.24	172.96	211.88	265.58	427.57	369.59
F	mg/l	1.94	2.01	1.00	0.71	0.74	0.83	0.29	1.94	1.53
SiO ₂	mg/l	19.95	19.19	22.76	25.40	26.28	21.88	28.09	18.88	21.95
Li	mg/l	0.014	0.011	0.006	0.003	0.003	0.003	0.004	0.010	0.010
Br	mg/l	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

注：流程距離は鉛川と二迫川合流地点からの距離を示す

壁湧水が細倉中央橋上流に2極化している。河床湧水と側壁湧水の存在や水質特性の分布の相違は鉛川の河川環境、すなわち兩岸の斜面地形、河道・河床・河岸の形態そして堆積物の構造や存在量などの違いとともに河川水と周囲の地下水流動との関わりの違いも考えられる。

4.3 17年調査における湧水の水質特性

湧水は5カ所存在し、河床湧水であった。その内2カ所(H17湧-4, 5)においてはその湧水部位の直上流で、前者は有孔管により(H17孔管-7)、後者は素堀り孔により(H17湧-8)それぞれ採水した。

H17湧-1, 2は久保橋における河川水水質組成とほぼ同じであることから河川水由来のHZ水、H17湧-3, 4, 5は西角橋における河川水水質組成と比べると

Pb, Cd, Znが高濃度で、一方陽イオンや陰イオンが低濃度であることから、浅い地下水由来の脈石と反応したHZ水であると考えられる。この3湧水のPb, Cdは環境基準を超過している(表1)。H17湧-4及びH17湧-5の直上部位における湧水H17孔管-7及びH17湧-8では、これらの成分濃度が下部位に比べてほぼ同程度もしくは高いと推定された。HCO₃は流下に従って上昇することから、上部位のH17湧-7及びH17湧-8では低い。しかし、H17湧-5とその上部位のH17湧-8ではMg, Na, KそしてFが上部位でありながら低濃度であった。このことは酸性の浅い地下水が河床堆積物中にFを高濃度に含有する鉱物からF成分を溶脱していると考えられる。

H17湧-3, 4, 5の湧水が存在する区域すなわち向

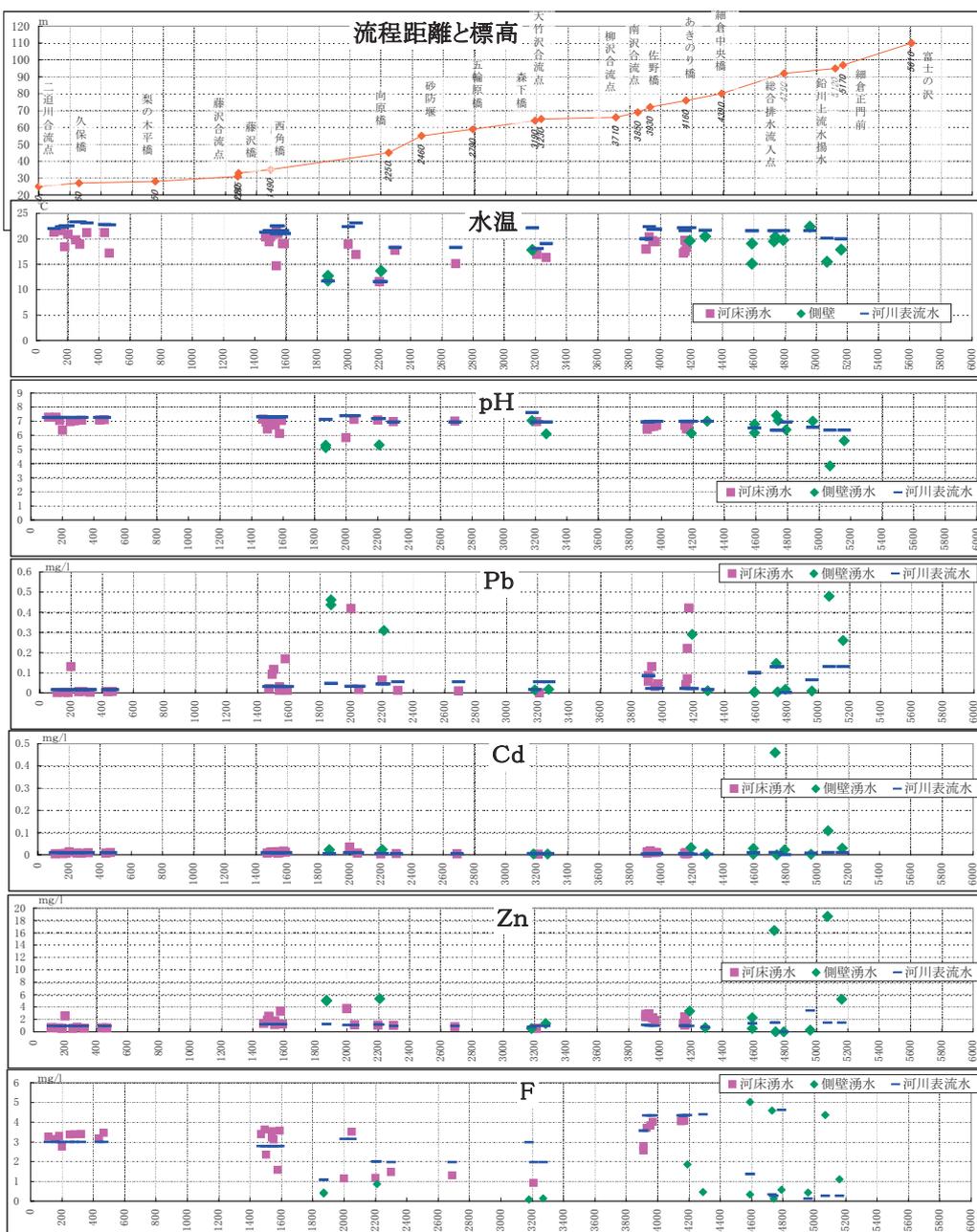


図2 調査地点の流程距離・標高とpH・水質成分の分布

原橋から西角橋の流域の地形は、鉛川溪谷出口の拡幅部にあたり、中位段丘面でもある⁷⁾。河床には基盤岩の小野田層が一部露出している。現河床から段丘堆積物の厚さは3m～5mと推定され、鉛川流域では河床堆積物が最も大量に堆積している状況にあり、また瀬-淵構造も数多く存在している。堆積物は中礫から細礫、一部には巨礫そして亜炭もみられ、表面が褐色変色した脈石が混在している。このように相当量の河床堆積物が埋積するHZが存在し、一方原橋から二迫川合流点までは河道勾配約9/1000と緩く、氾濫原に埋積した間隙に富む旧河道のHZからの流入水(HZ水)があることは想定できる。河床堆積物中にPb, Cd, ZnそしてFを高濃度に含有する硫化鉱物が存在するとSO₄に酸化されて、これらの成分が河川近傍の浅い地下水や河床に高濃度で溶出してくることは十二分に考えられる。従来の調査^{1)~3)}からも、向原橋から西角橋の流域においては高濃度のPb, Cd, Znを含有する湧水が存在することが報告されており、今回の湧水地点は従来の地点にほぼ近くであり、高濃度に重金属を含有する湧水の湧出が継続していることが明らかとなった。

4.4 湧水の変量解析

前報において16水質成分(pH, EC, HCO₃, Na, K, Mg, Ca, Pb, Cd, Zn, Al, NO₃, Cl, SO₄, F, SiO₂)が測定された46湧水に今回の7湧水を加えた53湧水について、主成分分析⁸⁾を行った(表2)。

その結果、第4成分までで累積寄与率は約80%に達し、鉛川の湧水の特性は次のような少数の主成分で集約された。第1主成分は正の値がSiO₂, NO₃, Al, Zn, Pb, Cd, HCO₃の順で高く、負の値はCa, SO₄, EC, Na, Mg, K, F, pHの順で高い。このことから、HZからの重金属・SiO₂の溶出などの湧水水質への影響を示す総合的な指標と考えられる。第2主成分は正の値でZn, Al, Pb, Cd, F, Mg, Kの順で高く、負の値を示したのはpH, HCO₃, NO₃であることから、pH, HCO₃によりHZから溶出した成分と解釈される。第3主成分は正の値でPb, SO₄, Ca, Fの順で高く、負の値でHCO₃, NO₃, Cd, Clの順で負の値が正の値よりも大きいことからあること

から、浅い地下水による溶出成分を強く反映する湧水で、第4主成分は正の値でCd, pH, Fの順で高く、負の値ではCl, Pbが高いことから酸性湧水によるCd, Fの溶出した成分といえる。鉛川の湧水水質は、HZからの溶出成分、浅い地下水由来成分、酸性湧水由来成分を含有することで説明できると考えられる。

さらに、主成分のスコアを用いたクラスター分析⁸⁾により、湧水の水質を区分した(図3)。なお、図中の調査地点番号は前報に従っている。非類似度を示すデータ間の距離の計算には標準化ユークリッド平方距離を用い、クラスター間の結合にはワード法を使用した。類似度の高いクラスターを結合させた結果、HZ水と露頭湧水の2つの大別され、さらにHZ水は河川表流水由来と浅い地下水由来の2区分に分類された。河床湧水の分布は鉛川と二迫川合流点～あきのり橋の広範囲に及んでおり、側壁湧水は西角橋～向原橋、森下橋付近、あきのり橋上流に限定されている。これらの分布は前述したように、河床湧水の分布は鉛川と二迫川合流点からあきのり橋の広範囲に、一方側壁湧水は西角橋～向原橋、森下橋付近、あきのり橋上流に限定されて存在している。

表2 湧水の主成分分析結果

変数名	主成分 1	主成分 2	主成分 3	主成分 4
pH	-0.443	-0.594	-0.165	0.516
EC	-0.946	0.053	0.023	-0.122
HCO ₃	0.081	-0.326	-0.892	0.046
Na	-0.785	0.187	-0.249	-0.095
K	-0.772	0.213	-0.167	-0.224
Mg	-0.780	0.231	-0.225	-0.086
Ca	-0.959	0.070	0.066	-0.061
Pb	0.231	0.720	0.149	-0.452
Cd	0.122	0.570	-0.372	0.533
Zn	0.235	0.918	-0.197	0.214
Al	0.265	0.760	0.00	0.114
NO ₃	0.349	-0.171	-0.636	-0.361
Cl	0.078	0.114	-0.307	-0.613
SO ₄	-0.952	0.222	0.075	0.010
F	-0.726	0.334	-0.101	0.362
SiO ₂	0.881	0.254	-0.128	0.160
寄与率(%)	39.81	19.55	10.61	9.78
累積寄与率	39.81	59.36	69.97	79.75

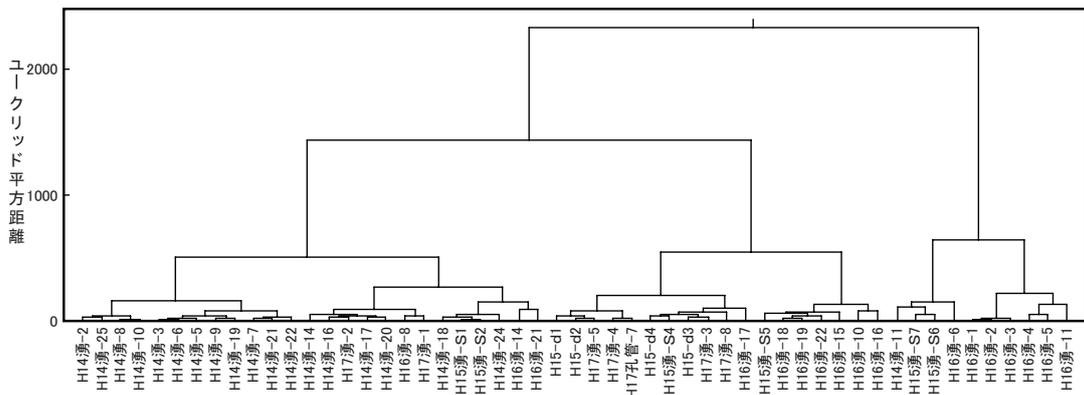
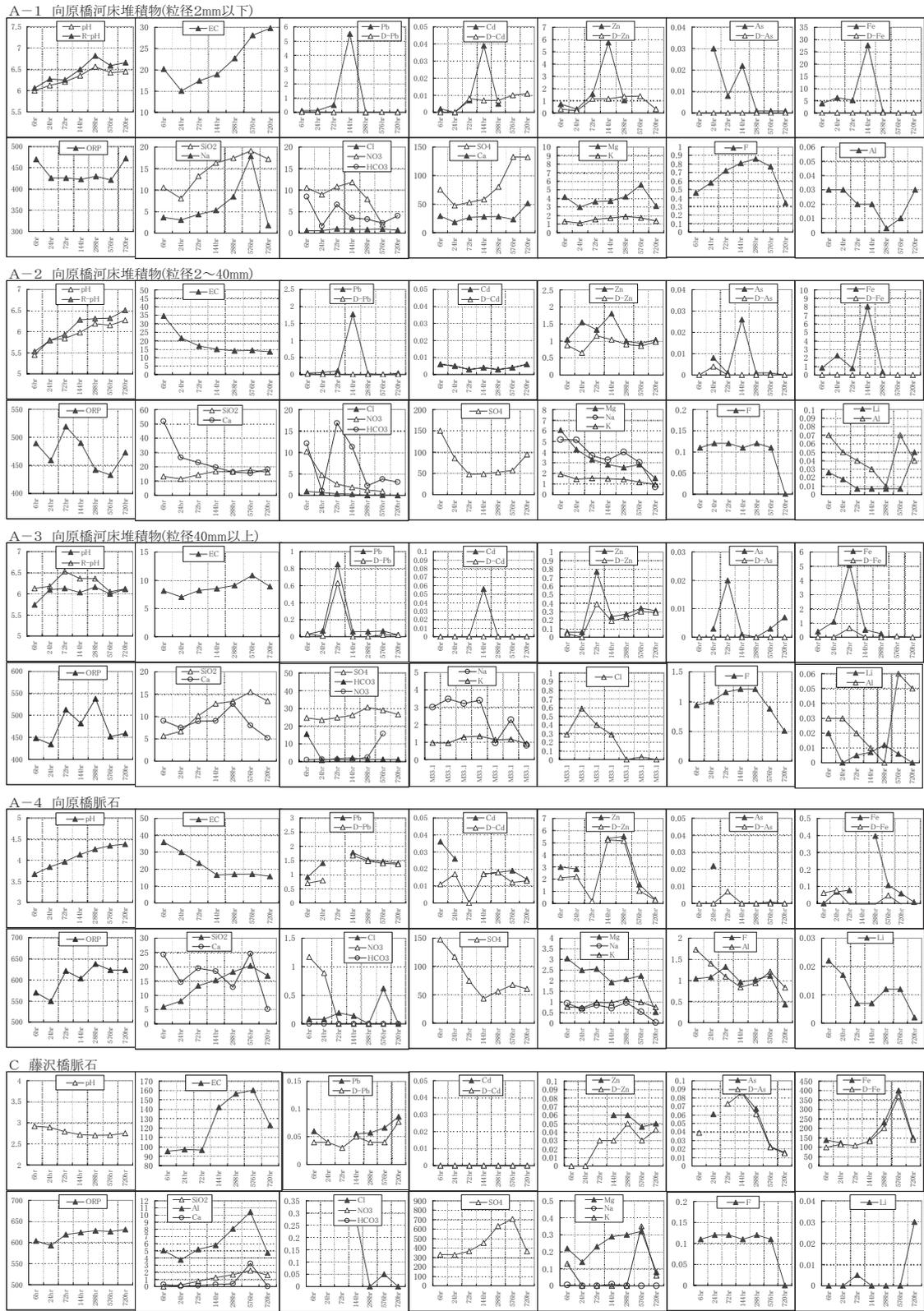


図3 湧水のデンドログラム

4.5 河床堆積物の浸漬実験

前報では5日目までの浸漬実験だったが、河床堆積物はその場に長期間にわたり堆積し、地下水などとの接触期間は相当長いことが考えられるので、今回は720時間

(30日目)まで浸漬期間を延長して実施するとともに、堆積物の粒径や脈石の違いの有無も併せて検討した。その結果を図4に示した。まず、粒径別でみると、粒径が小さい程重金属(Pb, Cd, Zn, As, Fe)濃度レベルが



単位;EC:mS/m,ORP:mV,その他:mg/L

図4 河床堆積物浸漬実験結果

高い。粒径が小さいほど水との接触面が多いことから、多く溶脱したと考えられる。また、高濃度Feの出現時にはこれら重金属の濃度も高くなっていた。黄鉄鉱が酸化されて重金属が溶出したと推察される。この現象は2種類の脈石においても同様にみられた。FとSiO₂は浸漬期間を延長すると濃度上昇が継続したが、Fは576hr(24日目)から濃度が低下し720hr(30日目)には激減し、この現象は2種類の脈石においても同様であった。F濃度激減時にはMg濃度も低下していることから、MgF₂となり共沈した可能性が大きい。Al濃度は時間経過とともに低下したが、高濃度Feの出現後に上昇に転じており、特異的な溶出を示した。2種類の脈石についてみると、重金属の溶出濃度レベルが異なっていた。A-4向原橋脈石はPb, Cd, Znが高濃度で、一方B藤沢橋脈石はAs, Feが高濃度であり、含有鉱物の種類が異なっていることが示唆された。脈石からはこれらの重金属が高濃度で長期間継続して溶出していることが判明した。また、2種類の脈石の粉末X線回折によると(図5, 6), 主成分は石英と黄鉄鉱であることが明らかとなった。

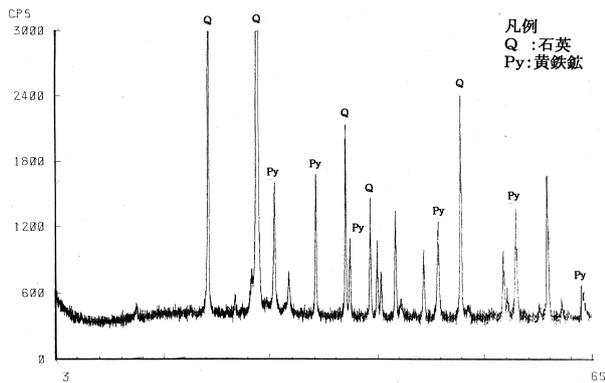


図5 脈石(向原橋)の粉末X線回折結果

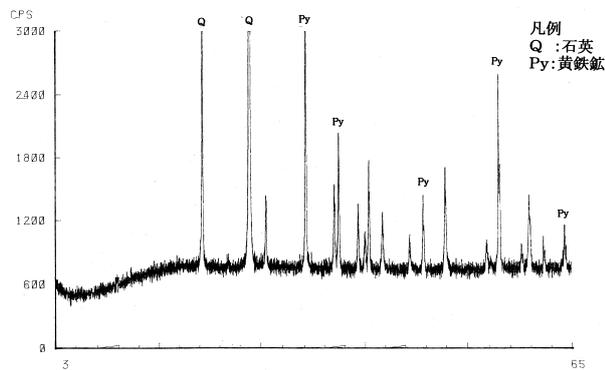


図6 脈石(藤沢橋)の粉末X線回折結果

5 まとめ

鉛川の湧水中のPbなど重金属と一般水質の調査を4年間にわたり実施した結果は次のとおりであった。

- (1) 湧水は河川水と混合した河床湧水及び河川水との混合がない側壁湧水の2種類に大別され、その分布は前者が鉛川と二迫川合流点から向原橋まで、後者が西角橋から向原橋まで及び佐野橋上流に多く存在することが明らかとなった。
- (2) 湧水の16水質成分のクラスター分析により、湧水はHZ水と露頭湧水の2つに大分され、さらにHZ水は河川水由来と浅い地下水由来の3種類に区分された。Pbは浅い地下水由来のHZ水と露頭湧水に、CdやZnは河川水由来のHZ水にそれぞれ高濃度であり、Fは露頭湧水に高濃度であった。
- (3) 河床堆積物浸漬実験結果から粒度別では細粒ほど重金属の溶出量が多く、脈石の種類により重金属の溶出量が異なることを示唆していた。
- (4) 脈石の粉末X線回折法よると石英と黄鉄鉱が主成分であることが確認された。

謝辞

本調査を進めるにあたり、ご協力をいただいた栗原市職員各位、宮城県栗原保健福祉事務所環境衛生部職員各位、細倉金属鉱業株の関係各位に心よりお礼申し上げます。また、多変量解析処理には青森県の早狩氏、粉末X線回折では、東北大学大学院理学研究科須田氏にご助言、ご協力いただき深く感謝します。

参考文献

- 1) 宮城県生活環境部：宮城県における公害事例集，(1977)。
- 2) 宮城県公害規制課：鉛川の精密調査結果について，(1979)。
- 3) 宮城県保健環境部環境管理課：鉛川環境汚染調査，(1990)。
- 4) 宮城県：宮城県環境白書，(1976~2004)。
- 5) 清野 茂，小山孝昭，佐藤健一，牧 滋，佐藤 勤，大庭和彦：鉛川湧水調査結果，Vol. 35，宮城県保健環境センター年報，(2005)。
- 6) 佐藤典正：細倉鉱山史，細倉鉱業所，(1964)。
- 7) 土谷信之，伊藤順一，関 陽児，巖谷敏光：地域地質研究報告 5万分の1地質図幅秋田(6)第68号「岩ヶ崎地域の地質」，地質調査所，(1997)。
- 8) 早狩 進：Excelアドイン工房，(2003)。

伊豆沼・内沼の水生植物の栄養塩吸収試験

The Experiment on Nutrient Absorption by Aquatic Plants in Izunuma & Uchinuma

渡部 正弘 大金 仁一 小山 孝昭
佐々木久雄 嵯峨 京時

Masahiro WATANABE, Jinichi OGANE, Takaaki KOYAMA
Hisao SASAKI, Kyoji SAGA

宮城県北部に位置する伊豆沼・内沼はラムサール条約の登録湿地になっている。沼は面積約3.9km²であるが最大水深が約1.4mと浅い。これまで浄化対策はいくつか提案されているが、環境省が公表した「CODでみた湖沼の水質下位水域」において平成15、16年度連続で全国ワースト2位となっている。汚濁負荷のうち約25%は内部負荷であるという報告もあり、沼に生息する水生植物に着目し、容器内における水生植物の栄養塩吸収特性を試験し、その浄化効果について検討を行った。

キーワード：伊豆沼・内沼；湖沼；水生植物；栄養塩吸収；水質浄化

Keywords : Izunuma&Uchinuma ; lake&marshes ; aquatic plant ; nutrient absorption ; water pollution control

1 はじめに

伊豆沼・内沼は宮城県北部に位置する低地湖沼で、ガンやハクチョウ等の冬鳥の渡来地として国内でも極めて価値の高い自然環境を有し、昭和60年（1985年）に、ラムサール条約（特に水鳥の生息地として世界的に重要な湿地に関する条約）の登録湿地に日本では2番目に指定されている。

沼は迫川流域の農業用水、洪水時の遊水池としての役割も担っており、漁業も行われ、夏季はハスの花、冬季はハクチョウをはじめとする冬鳥を対象とした観光も盛んである。

沼の面積は、伊豆沼・内沼あわせて約3.9km²と広いが最大水深が約1.4mと非常に浅い沼である。沼から流出する荒川は約7km流下し迫川に合流する。

しかし、沼は水田地帯に位置しており、迫川との水位差がほとんどないので、沼の水がなかなか流出せず泥が堆積しやすく、また、浅いため風が吹くと泥が巻き上がりなかなか沈まないという特徴がある。そのため、沼は浅底化と同時に、水質汚濁という事態を招き、好ましくない環境になっている。

そこで、県は周辺市町村と共にこの沼を保全するため調査を実施し、対策を講じることとした。この地域の極めて貴重な環境を将来にわたって保全するために、県は平成5年（1993年）伊豆沼・内沼環境保全対策基本計画¹⁾を策定した。この計画に基づきこれまで水質改善・浅底化防止対策として、マコモの植栽、浄化用水の導入、

下水道の整備等が進められている。

それにもかかわらず、水質においては環境基準点である伊豆沼出口での、湖沼の汚濁の度合いを示す指標である化学的酸素要求量CODの約20年間の値は、おおよそ8から11mg/lと環境基準値（B類型：COD 5 mg/l）を満たしていない。特に、環境省が公表した「CODでみた湖沼の水質下位水域」においては平成15、16年度連続で全国ワースト2位となっている。

この沼の特徴として、流入水量が沼の大きさに比べ非常に少なく水が滞留し、泥が堆積する。底泥からの栄養塩の溶出もあり、プランクトンが増殖しやすい。また、水深が非常に浅いので底泥が風ですぐ巻き上げられ、なかなか濁りがとれないことである。これらプランクトンや濁りがCODの上昇につながっていると考えられており、水中の栄養塩を減らしプランクトンの増殖を抑制し、濁りを減らすことができればCODが下がると期待される。伊豆沼・内沼はラムサール指定湖沼でもあり、水質浄化対策としては、浚渫などの手段はとりにくく、生態系に配慮した方法で行う必要がある。そこで、沼に生育する水生植物、特に大型の浮葉植物の栄養塩の吸収能に着目して、容器内における水生植物の水中からの栄養塩吸収特性を試験し、その浄化効果について検討した。

2 方法

2.1 試験対象水生植物（浮葉植物）

ヒシ、アサザ

2.2 試験方法

水生植物の水中からの窒素・リンの吸収を調べるために、試験装置から定期的に試験水を探取し、溶存態無機窒素(DIN)・溶存態無機リン(DIP)の濃度を測定した。

- ① 試験期間：平成17年5月から8月まで
試験は植物の成長に従い概ね1ヶ月に1回の割合で行った。それぞれの試験期間は概ね1週間とした。
- ② 場所：直射日光の当たらない当センターの軒下
- ③ 試験水：濁りを沈殿により除いた伊豆沼の水41に栄養塩として窒素とリンを添加した。

窒素源としては硝酸ナトリウム、塩化アンモニウム、リン源としてはリン酸水素二ナトリウムを用いた。

- ④ 試験装置：下部にゴム栓をした直径11cm、長さ50cmの亚克力製透明パイプに試験水を入れ、1本のパイプにつき1種類の試験植物を2本ずつ入れ、プラスチック箱に立てて試験した。
- ⑤ 測定：TRAACS800を用い溶存態無機窒素(DIN)・溶存態無機リン(DIP)の濃度を測定し、試験植物の水中からの窒素・リンの吸収を調べた。溶存態無機窒素(DIN)は硝酸態窒素、亜硝酸態窒素、アンモニウム態窒素の和とし、溶存態無機リン(DIP)はリン酸態リンとした。

3 結果と考察

図1は、窒素源をアンモニウム態で添加した時の6月の吸収試験結果である。試験水に初期濃度が窒素5mg/l、リン0.5mg/lとなるように栄養塩を添加し、試験水中の溶存態無機窒素・リン濃度の変化を測定した。ヒシ、アサザとも5mg/lの窒素が、1日に1mg/l程度減少していき、約100時間4日程でほとんど水中から無くなる程の良い吸収を示した。リンについても良い吸収を示していた。試験の前後で懸濁態窒素・リン濃度の変化があまりないことから、プランクトン等の影響は少ないものと考えられた。また、試験前後で亜硝酸態窒素、硝酸態窒素の濃度に変化がなかったことから脱窒による窒素減少もほとんどないと考えられた。

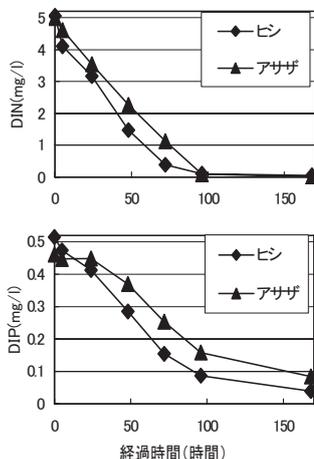


図1 水生植物による窒素・リンの吸収

図2に、窒素源として、アンモニウム態、硝酸態で添加した時の違いによるDIN吸収速度の比較を示す。時間当たりの吸収速度は、試験水中の溶存態無機窒素・リン濃度の変化を試験植物の湿重量で除して求めた。ヒシ・アサザ共に、アンモニウム態の方が硝酸態より吸収速度が大きいことがわかった。一般的に植物は窒素を硝酸態で吸収することが多いが、沼では底泥は還元雰囲気であり、窒素はアンモニウム態で溶出すると考えられ、沼に生息するヒシ・アサザはアンモニウム態での吸収に適応していると考えられる。

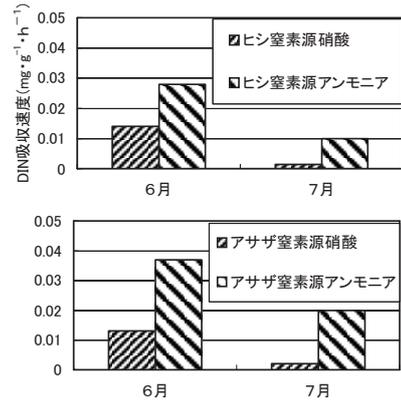


図2 窒素源の違いによるDIN吸収速度

図3に、月別のヒシによる水中からのDIN・DIPの栄養塩吸収速度を示す。窒素源はアンモニウム態にて添加した。今回のヒシのDINの吸収速度結果では10⁻²mg·g⁻¹·h⁻¹のオーダーとなり海草アマモ²⁾と同程度となっている。ヒシは1年生の植物であるが、この地域では、4月に種から芽を出し、5月に水面に葉を出し、6、7月と成長し、8月に花が咲き、9月に実をつけるという生活史を持つ。この吸収試験において、5月から8月までの窒素・リンの吸収速度はほぼ同オーダーで推移しているので、沼のヒシはその成長期間を通じほぼ同じ吸収速度を維持しているものと考えられる。

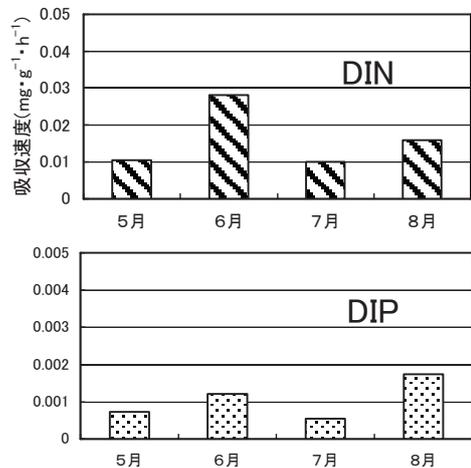


図3 ヒシの月別吸収速度

伊豆沼・内沼では、春から夏にかけてこれら水生植物によって水中から栄養塩類が効率的に吸収されることが示唆される。沼の大きさに比べて入ってくる川の水の量が少ないので、水の流れが遅く、入ってきた濁りが底に堆積する。その底泥が分解し溶出し、プランクトンが発生しやすくなる。また、水深が浅いため風が吹くと泥が巻き上がりその濁りはいつまでも続くことになる。このようなメカニズムによって流入する川よりも沼の水の濁りや汚れが大きいものとなっている。

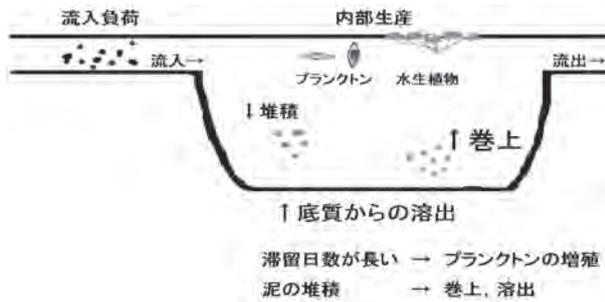


図4 沼の水質汚濁について

このプランクトンの増殖や濁りの発生をできるだけ少なくしようとして、着目したのが沼の水生植物である。春から夏にかけて水生植物は盛んに栄養塩を吸収して成長し、水面にいっぱい葉を広げて光を遮る。水生植物が繁茂すると、増殖するのに必要な水中の栄養分と光が少なくなると、プランクトンはあまり増殖できなくなる。また、水生植物の葉や茎によって少々風が吹いても波立たず泥の巻き上げも防止される。これら水生植物は、春から夏にかけてプランクトンや巻き上げを減らし、CODを抑制すると考えられる。

これらの水生植物の特性を良く考察し、その水質浄化の能力を十分発揮できるよう適正に配置する等の取り組みが、伊豆沼・内沼の水環境改善につながっていくものと考えられる。

ヒシ、アサザは水中の小動物等の隠れ場所ともなり、その群落の増加は生物多様性にも寄与するものと思われる。

水生植物においては、抽水植物のヨシやマコモは水深の浅い所でしか生育できないが、この沼の最大水深は約1.4mであり、沼のほとんどは1m前後の水深で、広い沼の大部分はヒシ、アサザ等の浮葉植物の生育に適している。中でもヒシは茎の長さが3m以上にもなるので、この沼でしばしば起こる増水時の水位変動にも対応できる構造となっている。図5に繁茂しているヒシの写真を示す。

また、ヒシの実は大昔から人々の重要な食料であった。図6に伊豆沼・内沼のヒシの実を示す。左のトゲ4本の実がオニヒシで、右のトゲ2本の実がヒシであり、この沼では両方見られる。環境負荷の低減の観点からヒ

シの実の収穫が肝要であり、食材としての活用も期待される。



図5 伊豆沼・内沼のヒシ



図6 伊豆沼・内沼のヒシの実

4 まとめ

伊豆沼・内沼の水質浄化について、水生植物に着目してその栄養塩吸収能を測定したところ、ヒシ、アサザとも窒素・リンの良い吸収を示した。

沼の水生植物は、春から夏にかけて、水面にいち早く葉を広げ、水中から栄養塩をさかんに吸収し、光も遮断し、プランクトンの増殖を抑制し、一面に繁茂することで、風が吹いても水面が波立たず、巻き上げも防止し、プランクトンや濁りによるCODを抑制すると考えられる。

伊豆沼・内沼では、沼及び沼周辺の水環境を含めて自然環境全体の保全のあり方を考えていかなければ、この貴重な湿地帯のサンクチュアリーは守れない。

そこで、流入負荷低減対策とともに湖沼内対策の推進が重要である。すなわち、自然の力、沼の中の水生植物の浄化力を活用して、適度に人間が関わりを持った適正な管理を行うことで、人間と自然が共存でき、良好な水環境が保全されていくことと思われる。

参考文献

- 1) 宮城県：“伊豆沼・内沼環境保全対策基本計画書”，(1993).
- 2) 井上公人ら：第33回日本水環境学会年会講演集，p.311 (1999).

カンピロバクターに対する消毒薬の効果

Effect of Disinfectant on *Campylobacter*

小林 妙子 菅原 直子 渡邊 節
山田 わか 齋藤 紀行 廣重 憲生

Taeko KOBAYASHI, Naoko SUGAWARA, Setsu WATANABE
Waka YAMADA, Noriyuki SAITO, Norio HIROSHIGE

カンピロバクターの二次汚染防止に主点をおき、菌の消毒効果と除菌方法による検討を行った。4種類の消毒薬を用いた殺菌効果の検討結果、*Campylobacter*は次亜塩素酸ナトリウム200ppm濃度で30秒以内、過酢酸10ppm濃度30秒以内で菌は死滅した。また、湿潤条件あるいは乾燥条件下の時間経過によるカンピロバクター生存性は、湿潤条件下で4℃、25℃とも7時間後まで菌は生存し、乾燥条件下では4℃保存で7時間後に、25℃保存で3時間後に菌は死滅した。さらに*Campylobacter jejuni*で表面を汚染した各材質まな板からの除菌モデル実験の結果、各材質とも70%アルコールおよび30ppm過酢酸溶液で除菌された。除菌率でみると、各材質のうちステンレス製まな板は全ての処理方法において高い除菌率を示したが、特に木製まな板では70℃温水処理や次亜塩素酸ナトリウム処理においてカンピロバクターの除菌が困難であった。

キーワード :カンピロバクター ; 汚染防止 ; 消毒薬 ; 過酢酸

Keywords : *Campylobacter* ; pollution control ; disinfectant ; peroxyacetic acid

1 はじめに

カンピロバクターによる食中毒は増加傾向を示し、学校などの大規模食中毒事例が減少し飲食店などを原因とした小規模事例が増加してきている¹⁾。食中毒としては鶏肉が原因となる事例が多く、しかも菌で汚染された鶏肉の加熱調理不足や、器具を介した二次汚染により発生していると推察される¹⁾²⁾。そこで営業施設あるいは家庭での食品の取り扱いによる二次汚染防止に主点をおき、具体的な食中毒予防対策の構築を目的とするため、4種類の消毒薬を用いカンピロバクターに対する消毒効果と、調理器具からのカンピロバクター除菌方法について検討を行ったので報告する。

2 方法

2.1 供試菌株と培養法

食中毒分離株の*Campylobacter jejuni* C19株 (以下*C. jejuni*) を用い、Bolton培地で42℃、24時間好気培養した菌液を被検菌液とした。対照として、*Escherichia coli* ATCC 25922株 (以下*E. coli*)、*Staphylococcus aureus* ATCC25923株 (以下*S. aureus*) をハートインヒュージョンブイヨンで37℃、24時間培養し用いた。

2.1 湿潤条件あるいは乾燥条件における生存性

滅菌済み抗菌物質検査用ろ紙 (ADVANTEC : 直径

10mm) に、被検菌液および対照菌液50μlをそれぞれ接種し、35℃で10分乾燥させこれを乾燥条件検体とした。また各菌液100μlをそれぞれ接種し湿潤箱に入れ保存、これを湿潤条件検体とした³⁾。それぞれを4℃および25℃条件下に保存し、2、3、5、7、24、72時間後ろ紙を1mlのPBSに浸し、*C. jejuni*はCCDA培地 (Oxoid) 2枚に100μl塗布し42℃、48時間培養、*E. coli*はBTB乳糖寒天培地 (日水)、*S. aureus*はマンニット食塩培地 (日水) にそれぞれ100μl塗布し37℃、24時間培養後に菌数を測定した (図1)。

C. jejuni, *E. coli*および*S. aureus*の一定菌量をろ紙に接種

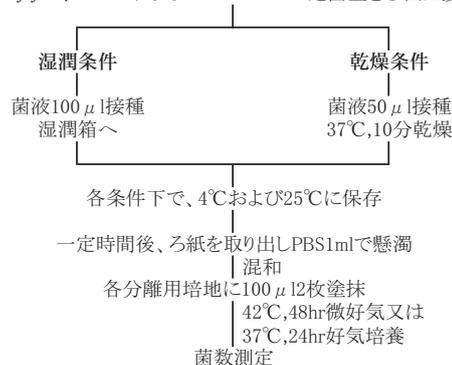


図1 湿潤・乾燥条件下における*Campylobacter*生存試験

2.3 使用消毒薬

アルコール (70% : 岩城製薬), 次亜塩素酸ナトリウム (6% : オーヤラックス)⁴⁾, 塩化ベンザルコニウム (10% : 岩城製薬), 過酢酸 (32wt.% : SIGMA) を対象消毒薬とし, 消毒薬の希釈は滅菌蒸留水を用いた。

2.4 消毒薬の殺菌効果

それぞれの濃度に希釈した消毒液を作製し, これに 10^6 個/ml相当の菌液を $100 \mu\text{l}$ ずつ添加した。混和後, それぞれから $100 \mu\text{l}$ をミューラーヒントン培地に接種し, 各発育条件下で18~24時間培養後, 菌の発育の有無より, 最小発育阻止濃度 (MIC) を求めた。さらに次亜塩素酸ナトリウムおよび過酢酸について, 短時間処理 (30秒, 1分, 2分) の殺菌効果を確認した。

2.5 菌汚染まな板の作成と除菌法

まな板の代替えとして, 9cm^2 にカットした, 木製, 合成樹脂製, ステンレス製板それぞれ20枚に, *C. jejuni* を添加した鶏肉乳剤菌液を $100 \mu\text{l}$ 塗布し乾燥させ, これを汚染まな板とした⁵⁾。除菌は, 汚染まな板各2枚を滅菌シャーレに入れ, 水道水 (20秒), 中性洗剤 (20秒), 70°C 温水 (1分), 70%アルコール噴霧, 次亜塩素酸ナトリウム100ppm, 200ppm (30秒, 1分, 2分), 過酢酸10ppm, 20ppm, 30ppm (30秒, 1分, 2分) で処理した後, 各板の表面を滅菌綿棒でよく拭き取り, カンピロバクターの生残菌数 (2枚の平均値) を測定した (図2)。

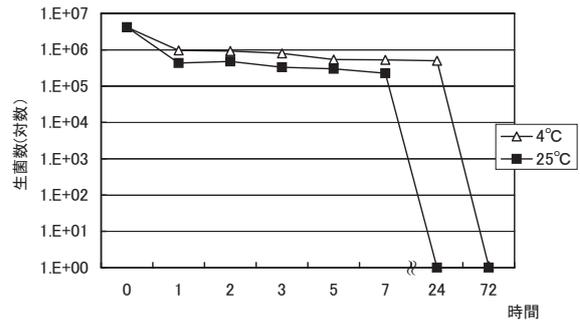


図3 湿潤条件下の*Campylobacter*生存性

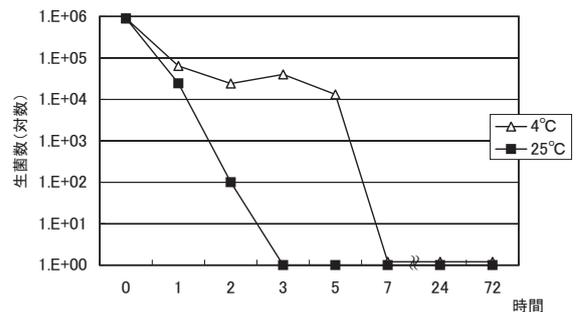


図4 乾燥条件下の*Campylobacter*生存性

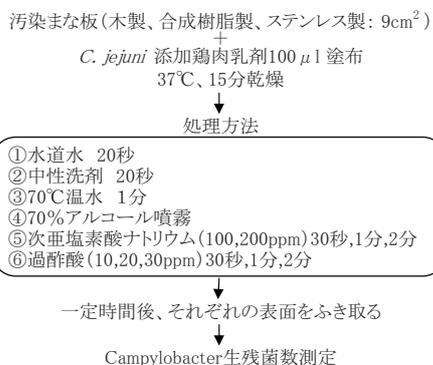


図2 まな板表面からの*Campylobacter*除菌効果試験

3 結果

3.1 湿潤条件, 乾燥条件下の時間経過によるカンピロバクター生存性

C. jejuni を湿潤条件下で 4°C あるいは 25°C で保存し, 生残菌数を測定した結果を図3に示した。 4°C 保存では, 10^6 個/mlの菌数が24時間後まで 10^5 個生存し, 25°C 保存では7時間後まで生存したが, 24時間後に急激に菌は死滅した。一方乾燥条件下の 4°C 保存では, 菌は徐々に減少し7時間後には死滅し, 25°C 保存では, 1時間後から菌数の減少がみられ3時間後には菌は死滅した (図4)。また結果を示さないが, *E. coli* および *S. aureus* は湿潤条件下は 4°C , 25°C とも3日日後から14日後まで菌は生存したが, 乾燥条件下は1日後に菌は死滅した。

3.2 消毒薬の殺菌効果

4種類の消毒薬の *C. jejuni*, *E. coli* および *S. aureus* に対する MIC の結果を表1に示した。 *C. jejuni* は *E. coli*, *S. aureus* に比べ各消毒薬に対するMIC値が低かった。さらに表には示さないが, 2種類の消毒薬の短時間処理 (30秒, 1分, 2分) による殺菌効果の結果, *C. jejuni* は次亜塩素酸ナトリウム200ppm濃度で30秒以内, 過酢酸は10ppm濃度30秒以内で死滅した。 *E. coli* は過酢酸20ppm 30秒以内, *S. aureus* は過酢酸1分以内で菌は死滅したが, 次亜塩素酸ナトリウムは100, 200ppm1分まで菌は死滅しなかった。

表1 消毒薬の最小発育阻止濃度 (MIC)

	MIC値			
	アルコール (%)	次亜塩素酸ナトリウム (ppm)	塩化ベンザルコニウム (ppm)	過酢酸 (ppm)
<i>C. jejuni</i>	4.4	180	1.6	5
<i>E. coli</i>	35	370	40	25
<i>S. aureus</i>	70	370	8	25

3.3 まな板表面からのカンピロバクター除菌効果

C. jejuni で汚染した各材質のまな板から各処理方法による除菌試験の結果を表2に示した。各材質を用い, 水道水20秒処理した後の菌数を無処理と比較すると, 菌数が木製では6.4%, 合成樹脂製では3.1%, ステンレス製

では0.1%に減少した。他の処理方法でも比較すると、ステンレス製が明らかに菌数減少が認められた。一方、木製を各処理方法で行った場合の菌数減少を比較すると、70%アルコールおよび過酢酸30ppm、30秒、1分、2分では菌検出0となり100%の菌減少が認められた(表2)。中性洗剤でも98%の除菌が認められたが、次亜塩素酸ナトリウム100および200ppm 2分処理、過酢酸20ppm 2分処理では、水道水と同程度あるいはそれ以下の除菌効果であった(図5)。

表2 カンピロバクター汚染まな板表面からの除菌

処理方法	処理時間	生残菌数(cfu/ml)		
		木製	合成樹脂製	ステンレス製
次亜塩素酸ナトリウム 100ppm	30秒	8.0×10^2	3.2×10^3	3.5×10^2
	1分	2.4×10^3	3.4×10^3	1.0×10^2
	2分	1.9×10^3	4.0×10^3	1.4×10^2
次亜塩素酸ナトリウム 200ppm	30秒	1.5×10^2	9.3×10^2	2.8×10^3
	1分	3.5×10^2	5.3×10^2	9.3×10^2
	2分	1.5×10^2	2.0×10^2	7.0×10^1
過酢酸 20ppm	30秒	1.8×10^3	5.4×10^3	7.5×10^2
	1分	2.4×10^3	2.3×10^3	1.0×10^1
	2分	2.4×10^2	2.6×10^3	9.0×10^1
過酢酸 30ppm	30秒	0	0	0
	1分	0	0	0
	2分	0	0	0
水道水	20秒	1.4×10^2	3.0×10^3	1.3×10^2
中性洗剤	20秒	3.0×10^1	2.1×10^3	1.0×10^1
70℃温水	1分	5.5×10^2	1.4×10^2	0
70%アルコール		0	0	0
無処理(対照)		2.2×10^8	9.6×10^1	9.7×10^1

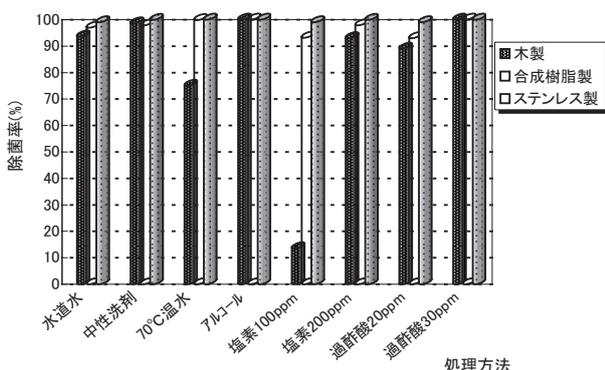


図5 カンピロバクター汚染まな板における除菌率

4 考察

カンピロバクター食中毒発生の原因の1つとして、鶏肉などの肉類を調理した後に起きる二次汚染があげられている。そこで我々は、二次汚染防止対策に主点をおき、本研究を実施した。はじめにカンピロバクターで汚染した環境中で、どれくらい菌が生残していられるかについて温度、湿度を変えて検討した。その結果、カンピロバクターの生存性には温度、湿度条件が大きく影響することが示された。次に消毒薬に対する効果を直接と間接的方法で調べた。直接方法として各菌に対する消毒薬のMIC測定を行った結果、どの消毒薬においても*C. jejuni*は*E. coli*および*S. aureus*に比較して低い濃度で有効であった。今回使用した次亜塩素酸ナトリウムは力価が低い可能性があり、実際の有効塩素濃度より高い値となってしまう。また間接的方法として、菌汚染まな板に対する

除菌効果を行った。その結果、過酢酸がカンピロバクターに対し、ほかの消毒薬と同様に有効であることが明らかになった。さらに、各種処理による除菌試験により木製まな板からの除菌が困難であることが判明した。わが国では次亜塩素酸ナトリウムによる消毒薬が推奨されているが、今回のモデル実験において、次亜塩素酸ナトリウムの短時間処理ではカンピロバクターを完全に除菌することができなかつたため、器具表面の付着菌量と薬剤濃度の関係についてはなお検討が必要である。また過酢酸溶液による消毒は外国での使用や下水道分野では許可されているが、わが国では医療分野の殺菌消毒剤としての使用のみであり知られていない。しかし、過酢酸は毒物が残留せず、最終的には水、酸素、酢酸に分解されるため安全性も高い。このことから過酢酸は、カンピロバクターに対しては除菌効果が高く効果的な消毒方法であり、二次汚染防止に有効であることから今後食品分野での使用が期待される。

5 まとめ

二次汚染によるカンピロバクター食中毒防止対策の資料作成を目指し、モデル実験を組み菌の除菌法を検討した。その結果、カンピロバクターは乾燥、消毒薬に弱いことが確かめられたことから、二次汚染防止対策としてまず食品にカンピロバクターを付着させないこと、次亜塩素酸ナトリウムや過酢酸溶液による消毒を徹底させることが第一であると考えられる。特に鶏肉ではカンピロバクターの汚染率が高いことから、調理施設の衛生管理において、適切な調理方法と肉類使用後の器具器材の消毒・殺菌・乾燥の必要性を十分指導することが大切と考える。食中毒予防には、食中毒原因菌としてカンピロバクターを周知させるとともに、食品業者や消費者の食品に対する衛生意識の向上を目指すことが食中毒防止につながる。

参考文献

- 1) 小野一晃, 辻りえ, 安藤陽子, 大塚佳代子, 柴田讓, 齋藤章暢, 増谷寿彦: 日本獣医師会雑誌, 56, 103 (2003)
- 2) 小野一晃, 安藤陽子, 土井りえ, 藤原由紀子, 濱田佳子, 大塚佳代子, 柴田讓, 佐藤秀美, 増谷寿彦, 小林留美子, 柳川敬子: 日本食品微生物学会雑誌, 20, 86 (2003)
- 3) 伊藤武, 斉藤香彦, 高橋正樹, 柳川義勢, 甲斐明美, 稲葉美佐子: 東京都衛研年報, 37, 119 (1986)
- 4) 渡辺昭宣: 食品と微生物, 7, 33 (1990)
- 5) ALESSANDRA DE CESARE, BRIAN W.SHELDON, KATIE S. SMITH, AND LEE-ANN JAYKUS: Journal of Food Protection, 66, 1587 (2003)

鶏肉からの効率的なカンピロバクターの分離の検討と分離菌の性状

Effective Isolation of *Campylobacter* from Chicken meats and the Characteristics of Isolates

渡邊 節 菅原 直子 小林 妙子
山田 わか 齋藤 紀行 廣重 憲生

Setsu WATANABE, Naoko SUGAWARA, Taeko KOBAYASHI
Waka YAMADA, Noriyuki SAITO, Norio HIROSHIGE

市販鶏肉からカンピロバクター検出を従来法、リンス法およびドリップ法の3方法で試みた結果、リンス法は従来法に比べ有効であった。また、ドリップ法も菌検出が可能で、検体が入手できない場合でもドリップ液が検査に利用できることがわかった。培養にポルトン培地を用いると好気条件でも良好に菌が分離でき効率的な菌検出が可能であった。分離菌株の薬剤感受性試験の結果ニューキノロン系薬剤に加えテトラサイクリン系薬剤でも耐性菌の出現が認められた。分離菌株の病原遺伝子は毒素産生遺伝子*virB11*が食中毒患者由来菌株では高い保有率を示し、カンピロバクターの病原性との関連が示唆された。

キーワード：カンピロバクター；培養条件；薬剤感受性試験；*virB11*

Keywords : *Campylobacter* ; culture condition ; drug susceptibility test ; *virB11*

1 はじめに

カンピロバクター食中毒は近年増加傾向がみられ、原因食品として食肉、特に鶏肉が重要視されている。食中毒発生防止のために、市販食肉のカンピロバクター汚染の現状を把握することが重要と考え、2004年6月から12月に県内の市販鶏肉汚染実態調査を実施した結果、少量菌量ではあるが、鶏肉の55%、鶏レバーの91%、牛レバー25%から、また、同時に実施した牛胆汁では20%から*Campylobacter jejuni*が検出され、食中毒のリスクが大きいことが明らかになった¹⁾。一方、食中毒事件等で原因と推定された食品から菌が検出された例は少ない。この理由として汚染菌量が少量であること、食中毒の潜伏期間が長く対象食品が残っていないこと、食品中で菌が死滅、減少していることなどが考えられる。さらに本菌は微好気培養が必要なため食品検体からの菌検出はジャーやCO₂発生装置等を必要とする煩雑な検査手順となっている。そこで、検体の処理方法を検討するとともに、ピルビン酸等が含まれる培地を用いた好気増菌培養を検討した。また、分離菌の薬剤感受性、特異遺伝子保有状況を調査したので併せて報告する。

2 材料および方法

2.1 供試材料

2005年3月から4月に県内の小売店で購入した国産市

販鶏肉（モモ肉32検体、ムネ肉13検体、ササミ4検体、手羽肉1検体）合計50検体を用いた。

2.2 検体の調製と菌検出

各検体25gにリン酸緩衝生理食塩水（PBS）100mlを加え、1分間ストマッカー処理し、5倍乳剤試料とした。また、各検体の25gをPBS10ml入ったシャーレ内で1分間振り洗いを行い、これをリンス液試料とした。食肉包装内の肉浸出液や浸出液の付着した敷紙も菌検出対象検体とし、これらをPBSで洗い、ドリップ液試料とした。

各試料をCCDA培地に100 μ lずつ塗抹し、さらにプレストン培地、ポルトン培地の増菌培地に接種して42 $^{\circ}$ C微好気培養した。培養20時間後、両増菌培地からCCDA培地へ塗抹し菌分離を行った。分離培地上の疑わしい集落は常法²⁾に従ってカンピロバクターの同定を行った。5倍乳剤試料を用いて行った菌検出を従来法、リンス液試料を用いて行った場合をリンス法、ドリップ液試料を用いた場合をドリップ法とした。

2.3 MPN法によるカンピロバクターの定量検査

各検体の5倍乳剤試料を10ml空試験管3本に分注し、さらに乳剤試料1ml、0.1mlをプレストン培地10ml入りの試験管3本にそれぞれ接種し、42 $^{\circ}$ C20時間微好気培養した。培養後、各々1白金耳をCCDA培地に塗抹し42 $^{\circ}$ C48時間微好気培養した。培地上の疑わしい集落について、常法に従ってカンピロバクターの同定を行い、各段階希

積のカンピロバクター陽性試験管本数を最確数表にあてはめ、g当たりのMPN値を求めた。

2.4 培養条件と菌検出

カンピロバクターが検出された市販鶏肉のドリップ液11検体（モモ肉4検体、ムネ肉4検体、ササミ2検体、手羽肉1検体）を試料とし、次の①～⑤の各条件で菌分離を行った。①直接CCDA培地に100 μ l塗抹し42 $^{\circ}$ Cの微好気培養、②ボルトン培地に試料を接種し42 $^{\circ}$ Cで20時間微好気培養後、CCDA培地に1白金耳塗抹し、42 $^{\circ}$ C48時間微好気培養、③ボルトン培地に試料を接種し42 $^{\circ}$ Cで20時間好気培養後、CCDA培地に1白金耳塗抹し、42 $^{\circ}$ C48時間微好気培養、④ボルトン培地に試料を接種し37 $^{\circ}$ Cで20時間好気培養後、CCDA培地に1白金耳塗抹し42 $^{\circ}$ C48時間微好気培養、⑤ボルトン培地に試料を接種し37 $^{\circ}$ C4時間、42 $^{\circ}$ C20時間微好気培養後CCDA培地に1白金耳塗抹し42 $^{\circ}$ C48時間微好気培養する方法。

2.5 薬剤感受性試験

鶏由来34菌株（2004年～2005年度検出菌株）、牛由来13菌株（2004年度検出菌株）および食中毒患者由来18菌株（2002年～2005年検出菌株）合計65菌株をプレストン培地に接種し20時間微好気培養後、菌液を約1マクファーランド濃度に調整し25 μ lを12mlのミューラーヒントンブイヨンに添加し、ドライプレート（栄研化学）を用いた微量液体希釈法で17薬剤に対する感受性試験を行った。

2.6 特異遺伝子保有状況試験

鶏由来32菌株（2004～2005年度検出菌株）、牛由来7菌株（2004年度検出菌株）および食中毒患者由来28菌株（2002～2005年度検出菌株）合計67菌株のカンピロバクター特異遺伝子の保有についてPCR法を用いて確認した。対象遺伝子は鞭毛遺伝子*flaA*、侵入遺伝子*cadF*および毒

素産生遺伝子*virB11*とした。

3 結果

3.1 鶏肉から従来法によるカンピロバクター分離とリンス法、ドリップ法との比較

それぞれの種類の鶏肉50検体からのカンピロバクター分離を従来法、リンス法およびドリップ法で、直接培養、プレストン培地あるいはボルトン培地による増菌培養を行った。菌の検出件数と検出率の結果を表1に示した。いずれかの方法で菌が検出された鶏肉はムネ肉で13検体中5（38%）、モモ肉32検体中8（25%）、ササミ4検体中2（50%）、手羽肉1検体中1（100%）であったので、検出率は16検体に対する割合で現した。リンス法およびドリップ法と従来法とを比較すると、従来法の直接培養では菌が検出されなかったが、リンス法およびドリップ法の直接培養ではそれぞれ6%、19%の検出率であった。従来法のプレストン培地の増菌培養での菌検出率は25%であったがリンス法およびドリップ法でのプレストン培地による増菌培養ではそれぞれ56%、31%であった。従来法のボルトン培地培養による菌検出率は44%であったが、リンス法およびドリップ法での菌検出率はそれぞれ50%、44%であった。いずれの方法でも16検体全てから菌が検出できるものはなかった。

3.2 鶏肉中のカンピロバクターの菌数

カンピロバクターが検出された鶏肉16検体中12検体について菌数をMPN法で求めた。g当たり10オーダーが2検体、100のオーダーが2検体、1未満が8検体であった。

3.3 培養条件によるカンピロバクターの菌分離率

3.1に示したカンピロバクターが検出された市販鶏肉11検体から採取したドリップ液について、ボルトン培地

表1 検体の処理別増菌培地別検出結果

検体名	検体数	従来法			リンス法			ドリップ法			*いずれかの方法で陽性となった件数
		直接培養	Preston培養	Bolton培養	直接培養	Preston培養	Bolton培養	直接培養	Preston培養	Bolton培養	
ムネ肉	13	0	2 (40%)	2 (40%)	0	4 (80%)	2 (40%)	2 (40%)	1 (20%)	3 (60%)	5
モモ肉	32	0	1 (13%)	4 (50%)	1 (13%)	3 (38%)	4 (50%)	1 (13%)	3 (38%)	3 (38%)	8
ササミ	4	0	1 (50%)	1 (50%)	0	1 (50%)	2 (100%)	0	0	1 (50%)	2
手羽肉	1	0	0	0	0	1 (100%)	0	0	1 (100%)	0	1
Total	50	0	4 (25%)	7 (44%)	1 (6%)	9 (56%)	8 (50%)	3 (19%)	5 (31%)	7 (44%)	16

()内は、いずれかの方法で陽性となった件数のうちの各条件の検出率

表2 ドリップ検体の培養条件別検出状況

検体名	直接培養	増菌培養(Bolton培地)			
		42 $^{\circ}$ C微好気	42 $^{\circ}$ C好気	37 $^{\circ}$ C好気	37 $^{\circ}$ C4hrs+42 $^{\circ}$ C24hrs微好気
ムネ肉	2	3	3	2	2
モモ肉	1	3	2	1	2
ササミ	0	1	1	1	2
手羽肉	0	0	0	0	0
Total	3	7	6	4	6

表3 C.jejuni分離株の薬剤感受性試験結果

薬剤	MIC(μ g/ml)								MIC* ブレイクポイント	耐性菌株数 (%)
	≤ 0.5	1	2	4	8	16	32	≥ 64		
ABPC	0	0	9	19	15	9	13	0	32	13(20)
PIPC	0	0	0	0	0	2	21	42	64	42(64)
CEZ	0	0	0	0	0	1	64	0	32	64(99)
CAZ	0	0	2	0	38	19	6	0	32	6(9)
AZT	0	0	0	0	0	2	63	0	32	63(97)
IPM	54	10	0	0	1	0	0	0	16	0
GM	52	10	2	0	1	0	0	0	16	0
AMK	7	2	51	1	2	2	0	0	32	0
MINO	30	6	7	4	3	15	0	0	16	15(23)
LIFX	42	8	2	2	11	0	0	0	8	11(17)

* : 栄研化学ドライプレートの腸内細菌の感受性カテゴリー

で増菌する培養条件を好気、微好気あるいは37℃、42℃に設定して菌分離を行い、菌を検出した検体数の結果を表2に示した。通常実施される培養条件②(42℃微好気培養)では7検体からカンピロバクターが検出されたが、③の条件では6検体、④条件では4検体が検出された。⑤の培養温度をシフトアップする条件では6検体が検出された。

3.4 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験の最小発育阻止濃度(μ g/ml)のブレイクポイントは栄研化学ドライプレートの腸内細菌の感受性カテゴリーに拠り、ニューキノロン系LIFXは8 μ g/ml以上、MINOは16 μ g/ml以上とした。カンピロバクターは β -ラクタム系薬剤に抵抗性を示すが、これ以外にキノロン系薬剤およびテトラサイクリン系薬剤に耐性を示す菌がみられた。供試菌65菌株中LIFXに耐性を示したのは鶏由来35菌株中8株(24%)、牛由来13菌株中1株(8%)、食中毒由来18菌株中2株(11%)で、全体では17%の株が耐性を示した。一方、MINOは鶏由来株15株(44%)全体で25%が耐性であった。食中毒由来株、牛由来株に耐性を示すものはなかった。

3.5 特異遺伝子保有状況

分離菌株の由来別に*Campylobacter jejuni*の特異遺伝子*flaA*、*cadF*および*virBII*の保有状況を比較した結果を表4に示した。鞭毛遺伝子*flaA*は鶏由来株、牛由来株の100%が保有し、食中毒由来株では93%の保有率であった。侵入遺伝子*cadF*は由来に関係なくすべての菌株が保有していた。毒素産生遺伝子の*virBII*は鶏由来株の13%、牛由来株の29%が保有していたが、食中毒由来株では54%と高い保有率であった。

表4 分離菌株の特異遺伝子保有状況

由来	菌株数	特異遺伝子保有数		
		<i>flaA</i>	<i>cadF</i>	<i>virBII</i>
鶏	32	32	32	4
(%)		(100)	(100)	(13)
牛	7	7	7	2
(%)		(100)	(100)	(29)
食中毒患者	28	26	28	15
(%)		(93)	(100)	(54)
計	67	65	67	21
(%)		(97)	(100)	(31)

4 考察

カンピロバクター食中毒事件において、食品からの菌検出は困難である。その理由として潜伏時間が長いこと、対象食品が残されていないこと、食品が残っていても汚染菌量は比較的少ないことが考えられる。食品からの菌検出は食中毒の原因究明のために重要で食中毒防止対策につながる。そこで、食品からの菌検出率を高めるために検体の処理方法の工夫と処理検体の培養条件について最良の方法について検討した。

はじめに、検体の処理方法の工夫として、鶏肉検体をストマッカー処理し5倍乳剤を作製する方法、鶏肉検体をPBSでリンスする方法および鶏肉検体の包装内液等採取するドリップ法で鶏肉50検体について検討した。その結果、鶏肉50検体のうち、いずれかの方法で菌が検出された陽性件数は16件であったが、一つの方法で16件がカバーできるものはなかった。菌が検出された16検体のうち12検体についてMPN法で菌数を求めた。結果は示していないが、10のオーダーが2検体、10⁰オーダーのものが2検体、1未満が8検体と、検査対象とした検体中の菌数は極めて少量であったため、一つの方法で16検体全てから菌が検出されなかったと考える。すなわち3方法のうちいずれかの方法で菌検出を比較すると、5倍乳剤を用いる従来の方法に比べて、同じ試料量を10mlのPBSの入ったシャーレ内で振り洗いするリンス法は、10倍量が処理できるので10倍濃縮試料となり、また、ストマッキングによる試料の肉油脂成分による混濁もなく検出率が高くなる方法であると思われた。また、ドリップ法でも菌検出が可能で、食肉検体が入手できない場合でもドリップ液を利用できることがわかった。

近年環境水からのカンピロバクター検出にピルビン酸やメタ重亜硫酸ナトリウムを含む培地であれば好気条件で増菌培養が可能との報告³⁾がある。そこで従来から用いていたプレストン培地を指標に、ピルビン酸、メタ重亜硫酸ナトリウムがプレストン培地より4倍含有されるボルトン培地の2培地を用い、食肉検体から好気増菌培養での検出状況を微好気培養法の場合と比較した。その結果、好気増菌培養は従来の微好気増菌培養や37℃4時間後42℃24時間微好気培養する欧米方式の培養方法と比較して遜色なく菌検出ができた。微好気条件を設定しな

くても、ボルトン培地に接種して検体を搬入すればカンピロバクターが効率的に培養でき、食品からの検出率が向上する可能性を示した。

また、カンピロバクターのニューキノロン系薬剤に対する耐性菌の増加が世界的な問題となっている。伊藤らの調査によると1989年ころより薬剤耐性菌が出現し、現在では約30%が本薬剤に対して耐性となっている⁴⁾。今回の調査でも牛や食中毒患者由来菌の耐性菌出現は10%前後と低いが、鶏由来菌の耐性が24%と高かった。また、テトラサイクリン系薬剤MINOにも鶏由来株の44%が耐性を示し、横山ら⁵⁾のテトラサイクリン耐性試験と同等の結果を示した。テトラサイクリン系薬剤は鶏用飼料に添加が認められており⁶⁾ニューキノロン系薬剤とともに今後も継続した調査を行い動向をみる必要があるものと考えられる。

一方、*C.jejuni*の病原性について腸内病原細菌と同様、細胞侵入性、毒素産生性などの遺伝子について報告がされているが、病原性との関連については不明である^{7)~9)}。今回、特異遺伝子を調査した結果、鞭毛遺伝子*flaA*や侵入遺伝子*cadF*は鶏、牛、食中毒患者の由来による区別なく、各菌株で保有が認められた。むしろカンピロバクターであることを証明する鑑別用に利用できる遺伝子になりえると思われた。しかし毒素産生遺伝子*virB11*は食中毒患者由来菌株では54%となり、鶏由来が13%、牛由来が29%と比較的高い保有率を示し、病原性との関連が強く示唆された。今後、検査データの蓄積が病原性発現の解明につながっていくと思われる。

参考文献

1) 渡邊節, 川野みち, 小林妙子, 山田わか, 齋藤紀行, 川向和雄: 宮城県保健環境センター年報, 23, 98 (2005)

- 2) 坂崎利一: 食水系感染症と細菌性食中毒, 中央法規出版 (2000) p 351
- 3) A.D.Sails, F.J.Bolton, A.J.Fox, D.R.A.Wareing, and D.L.A.Greenway : Detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in Environment Water by PCR Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, 5 2002, p1319-1324
- 4) 伊藤武, 甲斐明美: モダンメディア, 50, 6 (2004)
- 5) 横山敬子, 柳川義勢, 齊藤香彦, 新垣正夫, 甲斐明美, 鎌田有希, 五十嵐英夫, 伊藤武: 鶏および鶏肉由来*Campylobacter*属菌のニューキノロン剤に対する薬剤感受性. 東京衛研年報, 48, 3 (1997)
- 6) 農林水産省消費・安全局衛生管理課 (2003) “畜産用飼料の使用について—畜産農家の皆様へ—” 平成15年12月
- 7) David J.Bacon, Richard A.Alm, Don H.Burr, Lan Hu, Dennis J.Kopecko, Cheryl P.Ewing, Trevor J.Trust, and Patricia Guerry : Involvement of a Plasmid in Virulence of *Campylobacter jejuni* 81-176, American Society for Microbiology. 8, 4384 (2000)
- 8) Suvamoy Datta, Hidekazu Niwa and Kikuji Itoh : Prevalence of 11 Pathogenic genes of *Campylobacter jejuni* by PCR in strains isolated from humans, poultry meat and broiler and bovine faeces. Journal of Medical Microbiology, 52, 345 (2003)
- 9) Dang Duong Bang, Birgitte Borck, Eva Moller Nielsen, Flemming Scheutz, Karl Pedersen and Mogens Madsen : Detection of Seven Virulence and Toxin Genes of *Campylobacter jejuni* Isoletes from Danish Turkeys by PCR and Cytolethal Toxin Production of the Isolates, Journal of Food Protection, 67, 2171 (2004)

Salmonella Montevideoが検出された食中毒事例について

A Case of Food poisoning Caused by *Salmonella* Montevideo

渡邊 節 菅原 直子 小林 妙子
山田 わか 齋藤 紀行 谷津 壽郎
廣重 憲生

Setsu WATANABE, Naoko SUGAWARA, Taeko KOBAYASHI
Waka YAMADA, Noriyuki SAITO, Juro YATSU
Norio HIROSHIGE

2005年8月に発生した介護老人保健施設の生野菜（カイワレ大根）を原因食品とする食中毒は、*Salmonella* Montevideoが原因菌であった。その後の関連調査により、同時期に発生した散発サルモネラ感染菌株および市販のカイワレ大根から同一血清型の菌が検出され、パルスフィールドゲル電気泳動法による遺伝子解析と薬剤感受性試験の結果これらが同一菌由来であることが判明した。一方、食品からの菌分離には増菌培地としてmECあるいはEEMを用いる分離方法が有効であると確認された。

キーワード：サルモネラ・モンテビデオ；カイワレ大根；パルスフィールドゲル電気泳動法；増菌培地

Keywords : *Salmonella* Montevideo ; Daikon sprouts ; Pulsed-Field Gel Electrophoresis ; Enrichment medium

1 はじめに

サルモネラ菌による食中毒は1999年をピークに減少傾向を示すが、現在でも発生件数、患者数ともわが国の細菌性食中毒の重要なものの一つである¹⁾。サルモネラは、ヒトや動物、河川、下水、土壌などの環境から分離され、畜産物、農産物にまで汚染が及んでいる。サルモネラ属菌は2300以上の血清型があるが、近年の食中毒事例では半数以上が*S. Enteritidis*によるもので、原因食品の多くは鶏卵、鶏肉や豚肉などの畜産食品およびその加工品である。しかし、諸外国ではこれらの食品の他、トマト、アルファルファ、メロンなどの生食用野菜や果物が原因食品となった食中毒の例が報告され²⁾、生食用野菜・果物のサルモネラ・リスクの対応が求められている状況である。

2005年8月、介護老人保健施設で生野菜を原因とする食中毒事例が発生し、患者、調理従事者、グリーンサラダとその食材のカイワレ大根から*S. Montevideo*が分離された。また、同時期に発生した散発サルモネラ感染者および市販のカイワレ大根からも同一血清型の菌が分離された。それぞれの菌株についてパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）法で遺伝子切断パターンの解析を行い、相同性について検討した。

また、今回の事例では、通常食中毒検査で用いているラパポート（RV）培地では食品からの菌分離が困難で

あった。そこで、本菌の食品からの検出率を高める目的で培地の検出比較を行ったので併せて報告する。

2 材料および方法

2.1 食中毒検査

介護老人保健施設で発生した食中毒の原因菌検査として、施設入所者61名、調理従事者11名、職員56名、計128名の便、食品29検体、拭き取り5検体、合計162検体の原因菌検査を赤痢、サルモネラ、病原大腸菌、カンピロバクター、腸炎ビブリオ、黄色ブドウ球菌、ウェルシュ菌、セレウス菌、エルシニアを対象として常法³⁾⁴⁾に従って実施した。さらに、サルモネラが検出されたグリーンサラダとカイワレ大根のサルモネラ菌量をMPN 5本法で求めた。

2.2 サルモネラ検出法の検討

市販カイワレ大根の可食部を無菌的に採り、等量のリン酸緩衝生理食塩水（PBS）を加え15秒間ストマッキングし2倍乳剤とした。BHIブイヨンで37℃ 1晩培養した*S. Montevideo*（食中毒由来株Sal-41）、*S. Enteritidis*（散発患者由来株Sal-94）の10⁸倍希釈液をカイワレ大根乳剤の10⁴倍希釈液10mlの中に1mlずつ添加混和し、ラパポート（RV）培地、ラパポートバシリアディス（RVS）培地、mEC培地、EEM培地、ハーナテトラチオン酸塩（TT）培地、緩衝ペプトン水（BPW）の入った各中試験

管10mlに1mlずつ接種した。

RVSは42°C20時間, RV, mEC, EEM, TT, BPWは37°Cで20時間培養し, DHL培地, SS培地, クロモアガーサルモネラ培地に1白金耳ずつ塗抹し24時間後の発育性を比較した。

2.3 市販カイワレ大根からのサルモネラ属菌検索と一般細菌数測定

2005年8月から9月にかけてカイワレ大根を量販店より22検体購入し, 1パックを1検体とし, 無菌的に可食部と根部分に分けて計量し, 等量のPBSを加えストマッキングし2倍, 10倍, 100倍希釈液を調製した。2倍乳剤はDHL, SS培地に直接塗抹しサルモネラ属菌検索を行った。さらにmEC10ml各5本に2倍乳剤2ml, 10倍希釈液を1ml, 100倍希釈液1mlずつ接種しMPN5本法でサルモネラ菌を定量した。また, 原液を段階希釈し標準平板菌数測定法による細菌数の測定を行った。

2.4 散発サルモネラ感染者由来菌株

2005年8月の1ヶ月間に宮城県医師会健康検診センターで散発下痢症患者から分離し, 当センターに分与されたサルモネラ属菌23株のH血清型別試験を市販血清(デンカ生研)を用いて実施した。

2.5 パルスフィールド・ゲル電気泳動(PFGE)解析

食中毒事件由来8株, 散発感染者由来2株, 市販カイワレ大根由来1株のS.Monteideo11菌株を寺嶋ら⁵⁾の方法に準じてPFGEを行った。すなわち, 各菌株のDNAを制限酵素Bln IおよびXba Iで切断後, パルスフィールド・ゲル電気泳動装置(BIO-RAD社CHEF Mapper)を用い5~50秒, 19時間の泳動条件で泳動した。

2.6 薬剤感受性試験

食中毒事件由来8株, 散発感染者由来2株および市販カイワレ大根由来1株, S.Monteideo11菌株のアンピシリン, ピペラシン, セファゾリン, セフォチアム, セフトジジム, セファクロル, フロムキセフ, セフポドキシム, アズトレオナム, イミピネム, メロペネム, ゲンタマイシン, アミカシン, ミノサイクリン, ホスホマイシン, スルファメトキシゾール, リメトプリム, レボフロキサシン17薬剤に対する感受性試験をドライプレートDP21(栄研化学)を用い微量液体希釈法で実施した。

3 結果

3.1 食中毒発生の概要

2005年8月19日, 介護老人保健施設から入所者96名中12名が18日0時から19日1時にかけて食中毒様症状を呈し, 内3名は入院した旨, 所轄の保健所に連絡があった。主な症状は下痢(12名:100%), 発熱(38.1~38.8°C10名:83.3%), 嘔吐(3名:25%)であった(表1)。共通食品は同施設で調理した食事であったことから, 施設の食事を原因食品とする食中毒と推定し, 疫学調査ならびに原因物質調査を実施した。調査のため, 入所者61名(発症者9名, 非発症者52名), 施設職員67名(調理従

事者11名, 介護従事者等56名), 8月15日から17日に提供した食品および食材29検体, 施設の調理場の拭き取り5検体, 合計162検体の微生物検査を行った。

検査の結果, 入所者24名, 調理従事者2名および16日夕食に提供したグリーンサラダとその食材のカイワレ大根からS.Monteideoが検出された。患者と食品から菌が分離され, 患者の症状がサルモネラ菌による症状と一致したことから, グリーンサラダ(カイワレ大根)を原因食品とする食中毒と断定された。

表1 食中毒の概要

発生年月日	平成17年8月18日
原因施設	介護老人保健施設 (施設内調理施設)
入所者	96名
発症者	12名
主な症状	下痢、発熱、嘔吐
原因食品	16日夕食 (カイワレ大根)
原因物質	<i>Salmonella</i> Monteideo

3.2 食中毒の原因物質調査

入所者61名, 調理従事者11名, 介護従事者等56名, 食品および食材29検体, 施設の調理場の拭き取り5検体, 合計162検体の微生物検査を行った結果, 入所者のうち発症者9名中8名, 非発症者52名中16名計24名, 調理従事者11名中2名の便および16日夕食に提供されたグリーンサラダとその食材のカイワレ大根からS.Monteideoが検出された。グリーンサラダはキュウリ, コーン, レタスおよびカイワレ大根をフレンチドレッシングで和えたものであった。介護従事者等からは菌が検出されなかった(表2)。なお, 菌が検出された調理従事者は味見としてグリーンサラダを喫食していた。

3.3 摂取菌量

食中毒事例でS.Monteideoが検出されたグリーンサラダおよびカイワレ大根のサルモネラ菌量をmECMPN5本法で求めた。グリーンサラダは6.6/g, カイワレ大根は960/gであった。当該施設の献立表から1人当たりのグリーンサラダは55gうちカイワレ大根は10gであったことから一人当たりの摂取菌量はMPN値で363~9600と推定された(表3)。

3.4 市販芽物野菜の検査

食中毒事例で使用されていたカイワレ大根は県外A業者の生産したものであった。そこで2005年8月から9月にかけて販売店からカイワレ大根22検体を購入し, 可食部と根部分に分けてサルモネラ属菌の検索および細菌数の測定を行った結果, 検体番号17の可食部と根部分からS.Monteideoが検出され, MPN値は可食部2.1/g, 根部分5.2/gであった。また, カイワレ大根の一般細菌数はすべて10⁶cfu/g以上で大半が10⁷~10⁸cfu/gと高い値であった(表4)。

3.5 散発サルモネラ感染者由来菌株

2005年8月の1ヶ月間に宮城県医師会健康センターで

受付されたサルモネラ属菌は23株あり、H血清型別試験の結果、8月6日および19日に同センターに検査依頼され菌検出された2株がS.Montevideoと同定された(表5)。

3.6 分離菌株のDNA解析

食中毒患者由来株として入所者由来4株(Sal-38, Sal-39, Sal-51, Sal-52: レーン1~4), 調理従事者由来2株(Sal-48, Sal-49: レーン5, 6), グリーンサラダ(Sal-41: レーン7) および食材のカイワレ大根(Sal-50: レーン8)を、市販カイワレ大根由来株として検体17の可食部(Sal-105: レーン9)と根部分(Sal-106: レーン10), 散発サルモネラ感染者由来株としてSal-73株(レーン11)とSal-98株(レーン12)のS.MontevideoについてPFGE解析をBln I, Xba Iの2種類の制限酵素を用いて行った。Bln Iの切断パターンを図1-Aに、Xba Iの切断パターンを図1-Bに示した。食中毒患者由来の8株と市販カイワレ大根2株および散発サルモネラ感染者Sal-98株はバンド切断パターンがすべて一致したが、散発サルモネラ感染者Sal-73株は600bp, 250bp領域付近にバンドが1本多く、680bp領域付近のバンドの消失が観察された。また、Xba IによるRFGE切断ではすべての菌株で切断パターンが一致した。このことから、食中毒患者由来株、市販カイワレ大根株および散発サルモネラ感染者株のSal-98は同一菌由来であることが判明した。また、散発サルモネラ感染者Sal-73は前述の菌株群と由来が近似していると思われる。

3.7 薬剤感受性

食中毒由来株、市販カイワレ大根由来株、散発サルモネラ感染者由来株について17薬剤に対する薬剤感受性試験を行った結果、すべての菌株はストマイ合剤に対し耐性を示したが、ほか16薬剤に対しては感受性を示した。

表2 食中毒におけるSalmonella Montevideo検出状況

検体の種類	便				食品	ふきとり
	入所者 発症者	非発症者	施設職員 調理従事者	介護職員		
検体数	9	52	11	56	29	5
菌検出数	8	16	2	0	2	0

表3 食品中のSalmonella MPN値

食品	菌量 (MPN/g)	提供量 (g/人)	一人当たりの摂取菌量 (MPN)
グリーンサラダ	6.6	55	363
カイワレ大根	960	10	9600

表5 散発サルモネラ感染者菌株同定結果

検体	受付日	サルモネラの同定	検体	受付日	サルモネラの同定
1	8/1	Enteritidis	13	8/23	Istanbul
2	8/6	Montevideo	14	8/24	Istanbul
3	8/8	Potsdam	15	8/25	Braenderup
4	8/12	London	16	8/27	Istanbul
5	8/15	Typhimurium	17	8/27	Istanbul
6	8/15	London	18	8/29	Enteritidis
7	8/16	Typhimurium	19	8/30	Istanbul
8	8/18	Infantis	20	8/30	Istanbul
9	8/18	Agona	21	8/31	Istanbul
10	8/18	Bonn	22	8/31	Istanbul
11	8/19	Montevideo	23	8/31	Istanbul
12	8/22	Chomedey			

3.8 サルモネラ検出法の検討

RV, RVS, TT, mEC, EEM, BPWの6種類の増菌培地、SS, DHL, クロモアガーサルモネラの3種類の分離培地の組合せでサルモネラ検出を比較した。サルモネラの発育を3段階に分け、1~50個発育したものを「I」、51~100個発育したものを「II」、101個以上発育したものを「III」と表し、発育しなかったものを「0」

表4 市販カイワレ大根のサルモネラ属菌検索および一般細菌数

検体 番号	購入日	可食部		根部分	検体 番号	購入日	可食部		根部分
		一般細菌数 (cfu/g)	サルモネラ (MPN値/g)	サルモネラ (MPN値/g)			一般細菌数 (cfu/g)	サルモネラ (MPN値/g)	サルモネラ (MPN値/g)
1	8/30	>10 ⁶	—	—	12	9/10	1.8×10 ⁸	—	—
2	8/30	>10 ⁶	—	—	13	9/10	6.5×10 ⁸	—	—
3	8/30	>10 ⁶	—	—	14	9/12	1.9×10 ⁸	—	—
4	9/10	1.5×10 ⁸	—	—	15	9/12	4.2×10 ⁷	—	—
5	9/10	1.9×10 ⁸	—	—	16	9/12	3.2×10 ⁷	—	—
6	9/10	2.9×10 ⁸	—	—	17	9/12	5.4×10 ⁷	—	—
7	9/10	3.4×10 ⁷	—	—	18	9/12	1.7×10 ⁷	—	—
8	9/10	1.8×10 ⁷	—	—	19	9/12	1.4×10 ⁸	—	—
9	9/10	1.8×10 ⁸	—	—	20	9/12	2.0×10 ⁸	2.1	5.2
10	9/10	1.7×10 ⁸	—	—	21	9/12	2.3×10 ⁸	—	—
11	9/10	2.3×10 ⁸	—	—	22	9/12	2.3×10 ⁸	—	—

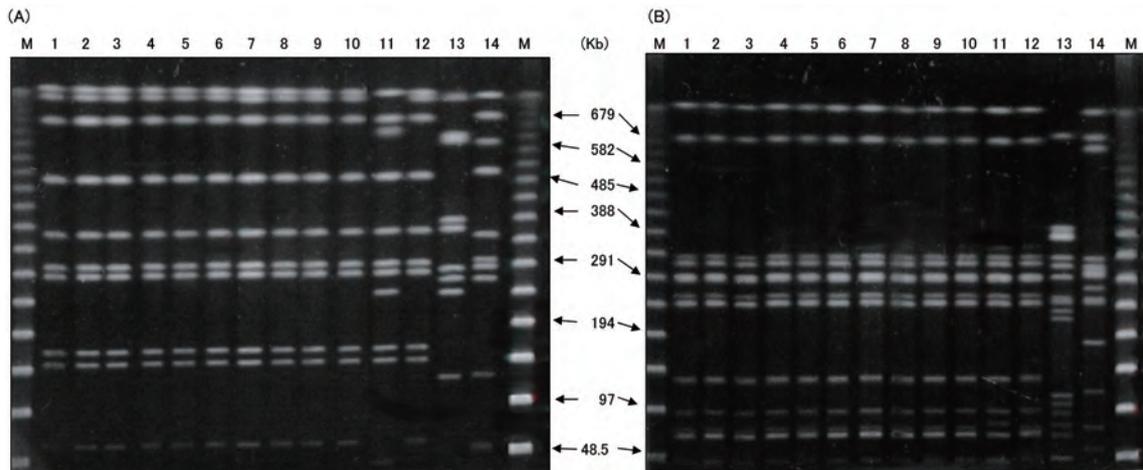


図1-A, 1-B レーン1~4: 食中毒患者由来*S.Montevideo*株, レーン5~6: 調理従事者由来*S.Montevideo*株, レーン7: グリーンサラダ由来*S.Montevideo*株, レーン8: カイワレ大根由来*S.Montevideo*株, レーン9~10: 市販カイワレ大根可食部由来*S.Montevideo*株および根部分由来*S.Montevideo*株, レーン11~12: 散発感染症患者由来*S.Montevideo*株, レーン13: 感染症患者由来*S.Barcelly*株, レーン14: 感染症患者由来*S.Enteritidis*株

とした。また、同時に発育した共雑菌を()内に概数で示した。その結果、サルモネラの検出は分離培地ではなく、増菌培地により差が現れた。SS培地上の菌の検出状況を表6に示した。選択性の強いRV, RVS, TTによる増菌培養では、共雑菌の発育が抑制され、サルモネラ菌以外の菌の検出はなかったが、分離されたサルモネラ菌数も少ない傾向を示した。選択性のないBPWは試料中の共雑菌の発育も促進するため、分離培地からの釣菌が困難であった。mECやEEMはBPWの場合ほど共雑菌は発育せず分離培地からの釣菌は容易であった。mECやEEMでの増菌が良好な結果を示した。これら培地には胆汁末が含まれ、これが芽胞菌や腸球菌を抑制し、BPWの場合ほど共雑菌は発育しないため分離培地からのサルモネラの釣菌は容易であった。これらを踏まえ、今回のサルモネラ属菌の検索やMPN値測定にはmECを用いた。

表6 各培地における*Salmonella*の発育状況

培地	菌種	<i>S.Montevideo</i>	<i>S.Enteritidis</i>
RV		I	0
RVS		II	I
TT		0	0
mEC		II (20)	III
EEM		I	III
BPW		II (20)	III(300)

0:発育なし I:1~50個 II:51~100個

III:101個以上 ()内は共雑菌発育数

4 考 察

わが国ではカイワレ大根, レタスサラダ, おかかサラダなどの野菜を含む食材により腸管出血性大腸菌O157食中毒が発生している⁶⁾。また、欧米でもレタスやメロ

ン, アップルジュースなど農産物を原因食品とするO157やサルモネラによる食中毒発生が知られている²⁾が、その汚染実態や感染経路は不明な点が多い。

今回の介護老人福祉施設の事例は、*S.Montevideo*に汚染されたカイワレ大根を摂取したことによる食中毒であった。食中毒患者や調理従事者、グリーンサラダとその食材のカイワレ大根から*S.Montevideo*が検出された。菌が検出された入所者はすべてグリーンサラダ(カイワレ大根)を喫食しており、調理従事者も味見のため喫食していた。患者の症状がサルモネラ菌による症状と一致したことから、グリーンサラダ(カイワレ大根)を原因食品とする食中毒と断定された貴重な事例であった。

当該カイワレ大根は県外のA業者が生産し販売している広域流通品で、施設では市場を介して購入していた。A業者のカイワレ大根を県内の量販店から購入しサルモネラ検索を行った結果、22検体中1検体から食中毒原因菌と同じ*S.Montevideo*が検出された。

食中毒事件での1人当たりのサルモネラ摂取菌量はMPN値363~9600であった。サルモネラ食中毒は通常 10^6 オーダー以上が発症菌量と言われているが³⁾、この事例では*S.Montevideo*は $10^2 \sim 10^3$ cfu/gの菌量であった。病院、療養所、老人養護施設、保育施設、小学校の学校給食などは一般社会と異なり基礎疾患あるいは年齢などの要因からサルモネラに対する感受性が高く、同菌による感染が発生しやすい環境にある。今回の事例でも対象者が高齢者グループであったことから、少ない菌量で発生したと考えられた。

また、カイワレ大根の微生物汚染を一般細菌数測定で計った結果、すべて1g当たり 10^6 オーダーであり、中には 10^8 オーダーに達したものもみられた。小沼は野菜の一般細菌数を調査し、野菜の多くが $10^3 \sim 10^7$ /gの細菌数を示し「弁当及びそうざいの衛生規範」⁷⁾の検体1g当

たり1,000,000以下というガイドラインを超えるものが30%、 10^7 /g以上のものが9%、*E.coli*汚染が1.3%の野菜にみらることを報告している⁸⁾。今回のカイワレ大根の調査では小沼の調査以上に一般細菌数が多く 10^7 /g以上のものは86%であった。*E.coli*検索は行っていないが、*E.coli*を病原性腸内細菌としてサルモネラ菌と同等に考えると、今回検出したサルモネラは検出率が4.5%でカイワレ大根が、一般的な露地野菜と比較しても高い微生物汚染があることが判明した。

同時期医師会健康センターから分与された散発サルモネラ感染者由来菌株23菌株中2株が*S.Montevideo*と同定され、今回検出された菌株はPFGE法による遺伝子解析等の結果、同一菌由来であることが推察された。

市販カイワレ大根から*S.Montevideo*が検出されたので、新たな感染のリスクが生じたことから県食品衛生行政担当課（食と暮らしの安全推進課）に直ちに報告した。県では食中毒の再発、拡大防止の観点から、集団給食施設における生野菜の衛生的な取扱いを関係者に通知し食中毒発生防止を図った。A業者を所轄する保健所のカイワレ大根栽培農場への立入検査では同菌による汚染は確認されず、散発感染症患者のカイワレ大根の摂食状況は不明であった。今回は行政と検査機関が連携をとって危害防止を行ったよい事例となった。

今回の介護老人保健施設の*S.Montevideo*食中毒はこれらのリスクが集積して発生した生野菜を原因とした特異な事例であった。

芽物野菜は、必要量を手頃な価格で利用でき通年供給されていることから近年需要が伸びている。自然界で栽培される野菜は土壌や水から微生物汚染があり、 10^6 ～ 10^8 /g程度細菌が検出される⁸⁾が、芽物野菜も同等以上に微生物汚染があり、さらにサルモネラによる汚染もあった。サラダや和え物等生で食べる機会が多い芽物野菜は薬剤による過度の滅菌消毒はできず、加熱し摂食す

る食品よりも食品衛生上のリスクが高いと言える。種子がいったん細菌汚染を受けると、栽培初期にはサルモネラ等の汚染菌量が少量でも食用に供するまでには相当な期間栽培することになり、菌の増殖を完全に抑制することはできないと推察される。生食を好む食文化をもつ我が国にとって、食品関係業者だけではなく消費者に対しても芽物野菜などの生食用野菜の長所と短所をよく啓発していくとともに、特に集団給食施設等では衛生的な取扱いが必要であることを周知していくことが重要であると思われた。

謝 辞

食中毒の調査を行った仙台保健福祉事務所塩釜総合支所ならびに菌株を分与していただいた宮城県医師会健康検診センターの関係各位に感謝いたします。

参考文献

- 1) 厚生労働省 (2004) “食中毒統計”
- 2) 金子賢一: 食品衛生学雑誌, 40, 418 (1999)
- 3) 坂崎利一編集 食水系感染症と細菌性食中毒 中央法規出版 P109 (2000)
- 4) 厚生労働省: 食品衛生検査指針微生物編 2004, 社団法人日本食品衛生協会, 2004
- 5) 寺嶋淳, 渡邊治雄, 中村明子: バルスフィールド・ゲル電気泳動法 *Salmonella Enteritidis*, 臨床と微生物, 23, No.6 (1996)
- 6) 甲斐明美: 腸管出血性大腸菌0157食中毒とその発生要因 日本食品微生物学会雑誌, 15, 91 (1998)
- 7) 厚生省環境衛生局食品衛生課長通知 “弁当およびそうぎいの衛生規範について” 平成7年10月12日, 衛食第188号, 衛乳第211号, 衛化第119号 (1995)
- 8) 小沼博隆: 市販カット野菜の微生物汚染状況 食品衛生研究, 45, 25 (1995)

食品からの黄色ブドウ球菌検査における発色酵素基質培地の評価

Evaluation of Chromogenic Mediums for Isolation *Staphylococcus aureus* from Food Samples

渡邊 節 菅原 直子 小林 妙子
山田 わか 齋藤 紀行 廣重 憲生

Setsu WATANABE, Naoko SUGAWARA, Taeko KOBAYASHI
Waka YAMADA, Noriyuki SAITO, Norio HIROSHIGE

黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) は食中毒原因菌の一つとして重要な細菌である。食中毒事例では潜伏時間が短く、食中毒の症状が食品摂取後短時間で発現するため、原因食品の推定あるいは検査検体の入手は容易であるが、食品等から黄色ブドウ球菌を定法により分離し同定するのに数日を要することが原因究明の遅れにつながっている。検査の迅速性、鑑別性を目的に近年販売された発色酵素基質培地X-SA寒天 (XSA) 培地、クロモアガースタッフアウレウス (CSA) 培地をフォーゲルジョンソン (VJ) 培地および従来から用いている卵黄加マンニット食塩 (MSEY) 培地とを比較した結果、XSA培地およびCSA培地の発色酵素基質培地は特徴的な色調で他の菌と容易に区別ができ、迅速性、鑑別性に優れていた。同時に、他属菌の培地発育性、エンテロトキシン型別による発育性、調理済み食品を用いての検出性および食品添加物の影響について比較検討し、黄色ブドウ球菌検出にはXSAやCSA培地の発色酵素基質培地が有用であることが確認された。

キーワード : 黄色ブドウ球菌 ; 発色酵素基質培地 ; 食品 ; 迅速鑑別

Keywords : *Staphylococcus aureus* ; chromogenic medium ; food samples ; rapid identification

1 はじめに

黄色ブドウ球菌は、ヒトや動物、環境中に広く分布しているだけではなく、食品の製造・調理環境からも比較的高率に分離され、わが国における食中毒起因菌として重要な細菌の一つである。黄色ブドウ球菌による食中毒は摂食後比較的短時間で吐き気、嘔吐、腹痛および下痢等を主徴とする特異的な症状を呈するため、推定原因食品および患者の吐物や便の入手は容易である。反面、検体からの黄色ブドウ球菌の分離には時間がかかる。これは黄色ブドウ球菌分離用選択培地としてMSEY培地を用い、その後非選択性の培地を経由して生化学性状試験等を行っているためである。黄色ブドウ球菌はMSEY培地で黄色集落周囲に白濁環の卵黄反応を呈し、その他のコアグラゼ陰性ブドウ球菌等と明確に区別される。しかしMSEY培地は調整時の煩雑さ、陽性菌の判定に経験が必要なこと、判定までの時間が48~72時間かかること、直ちに生化学性状試験に用いることができないなどが問題となっている。近年、20~24時間で菌分離が可能とされるXSA培地、CSA培地およびVJ培地が開発されている。XSA培地とCSA培地はともに発色酵素基質培地で、発育集落の色調で他の菌との鑑別が容易である。これらの培地が黄色ブドウ球菌分離の迅速化に寄与できるかを

MSEY培地と比較したので報告する。

2 方法と材料

2.1 使用培地と黄色ブドウ球菌の発育性

MSEY培地 (日水製薬) : マンニット食塩寒天培地を滅菌後無菌卵黄液 (極東製薬工業) を10%の割合に加えた培地で、黄色ブドウ球菌はマンニットを分解し黄色集落となり集落周囲は卵黄反応で不透明な光沢輪を形成する。

X-SA培地 (日水製薬) : 発色酵素基質培地で黄色ブドウ球菌は約20時間培養で青色から明るい青色集落を形成する。

CSA培地 (CHROM) : 発色酵素基質培地で約20時間培養すると黄色ブドウ球菌は藤色から明るい藤色の集落を形成する。

VJ培地 (OXOID) : フォーゲルジョンソン培地を溶解、滅菌後、亜テルル酸カリウムを添加した培地で、黄色ブドウ球菌は亜テルル酸カリウムを還元して集落周囲にやや黄色を帯びた黒色から黒灰色の集落を形成する。

ブレインハートインヒュージョンブイヨン (BHI : 日水製薬) : 黄色ブドウ球菌およびその他の菌の増菌用として使用した。

2.2 分離培地の発育性比較に使用した菌株

黄色ブドウ球菌 (CPSA) として20株, その他のブドウ球菌として *Staphylococcus epidermidis* 3株, コアグララーゼ陰性ブドウ球菌 (CNS) 10株, グラム陽性球菌6株 (*Micrococcus luteus* 1株, *Enterococcus faecium* 3株, *Enterococcus casseli* 1株, *Lactococcus garviaea* 1株), グラム陰性桿菌15株 (*Escherichia coli* 1株, *Citrobacter freundii* 1株, *Enterobacter cloacae* 1株, *Klebsiella pneumoniae* 1株, *Serratia marcescens* 1株, *Serratia fonticola* 1株, *Aeromonas hydrophila* 1株, *Aeromonas sobria* 1株, *Morganella morganii* 1株, *Alcaligenes faecalis* 1株, *Proteus mirabilis* 1株, *Proteus vulgaris* 1株, *Providencia rettgeri* 1株, *Bacillus cereus* 2株, *Bacillus subtilis* 1株, *Vibrio parahaemolyticus* 3株,) の22菌種58株を供試菌株とし, それぞれの菌株をBHIブイヨンに接種し37°C で20時間培養し, これを被検菌液として用いた。

なお, 食品添加実験には黄色ブドウ球菌A255株(CPSA)を用いた。

2.3 分離培地の発育性比較に用いたエンテロトキシン産生黄色ブドウ球菌

黄色ブドウ球菌の産生エンテロトキシンの型別に分離培地での発育性比較を行うため, エンテロトキシンA産生黄色ブドウ球菌 (SEA) 18株, エンテロトキシンB産生黄色ブドウ球菌 (SEB) 15株, エンテロトキシンC産生黄色ブドウ球菌 (SEC) 15株, エンテロトキシンD産生黄色ブドウ球菌 (SED) 5株およびエンテロトキシン非産生黄色ブドウ球菌 (SEN) 8株を用いた。

2.4 発育性比較方法

各被検菌液をリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) で約2,000cfu/mlとなるよう希釈し, 4種類の分離培地2枚ずつに100 μ l接種しコンラージ棒で培地全面に塗布後37°Cで培養後24時間および48時間後に各菌の発育の有無と集落の色調・大きさを観察した。XSA, CSAおよびVJ各培地の発育性はMSEY培地48時間培養後の出現集落数を100とし, 各培地の発育集落数との比率で表した。

2.5 黄色ブドウ球菌添加食品からの菌分離

市販食品および自家調理食品50検体は20gを無菌的にストマッカー袋に秤量しPBSを20ml加え, 2倍乳剤とした。この乳剤に約1000cfu/gになるよう黄色ブドウ球菌A255株菌液を添加し30秒間ホモジナイズし, その100 μ lをMSEY, XSA, CSAおよびVJ培地2枚ずつに接種し37°C24時間および48時間培養後の黄色ブドウ球菌の発育確認と標準平板菌数測定法により集落数を測定した。それぞれの培地の菌出現数を求め, MSEYの平均を100とし, これに対する割合で他の培地の発育性を比較した。

2.6 食品添加物影響下の黄色ブドウ球菌の発育性

無菌マッシュポテトを疑似食品とし, これに砂糖 (新三井製糖) を5, 10, 30%, 食塩 (関東化学) を5, 10, 20%, 食用油 (日清) を5, 10, 20%の割合に添加して食品試料を調製した。これらには約500cfu/gになるよう黄色ブ

ドウ球菌A255株菌液を添加した。また, 滅菌PBSにソルビン酸 (関東化学)0.5, 5, 50, 500 μ g/ml, エリソルビン酸ナトリウム (関東化学) 0.5, 5, 50, 500 μ g/mlおよび食用赤色3号 (関東化学) 1mg/mlを添加した。さらに滅菌PBSをpH 3, 5, 7に設定した試料とした。これらには約20,000cfu/mlになるように黄色ブドウ球菌A255株菌液を添加し, 4°C24時間保存後, 各試料の100 μ lをMSEY, XSA, CSA培地に接種し24時間および48時間後に発育確認と出現集落数を測定した。

2.7 発色酵素基質培地からの直接迅速診断法

XSAとCSA培地上の集落から直接エンテロトキシン判定およびコアグララーゼ試験を実施するとともに, 菌量を測定を行う迅速診断を試みた。食中毒由来のSEA, SEB, SEC, SEDおよびエンテロトキシンA/B型産生 (SEA/B) 株をBHIブイヨンで37°C24時間培養しXSA培地に塗抹し37°C24時間培養した。培地上の集落から1.5mlのBHIブイヨン6本に1白金線菌量を接種し37°Cで振盪培養した。0, 2, 4, 6, 8および20時間後にBHIブイヨンを3,000rpm20分遠心しその上清を逆受身ラテックス凝集反応 (SET-RPLA: デンカ生研) を用いて各培養時間のエンテロトキシン量を測定した。同時に採取したBHIブイヨンを1ml採り, 希釈を行い, 普通寒天培地に塗抹し標準平板菌数測定法により菌数を求めた。また, 直接結合型コアグララーゼ試験は, 滅菌整理食塩水を1滴のせたスライド上に直接XSAまたはCSA培地上の集落を釣菌して混和した後, ウサギプラズマを滴下し両者を混合して行った。

2.8 菌の同定

菌の同定は, グラム染色により形態を確認するとともに, カタラーゼ試験, コアグララーゼ試験, Vp試験, スライド凝集試験の他, BBL CRYSTAL GP Gram-Positive およびGram-Negative ID Systemを用いて菌の同定を行った。

3 結果

3.1 菌種による培地の発育性

表1に菌種による各培地での発育性を示した。MSEY, XSA, CSAおよびVJの4種類の分離培地に22菌種58菌株を接種し菌の発育性を観察した結果, 14菌種16菌株のグラム陰性桿菌は4種類の分離培地に全く発育しなかった。MSEY培地はブドウ球菌, *Lactococcus garviaea*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*が発育したが, 卵黄反応やマンニト分解能を示したのは黄色ブドウ球菌と*B.subtilis*であった。しかし, 黄色ブドウ球菌の一部に卵黄反応陰性を示す菌株が7株認められた。XSA培地は, 黄色ブドウ球菌, *S.epidermidis*, *L.garviaea*, *M.luteus*, *Bacillus*属, *Bacillus cereus* 1株が発育したが, 青色集落を形成したのはコアグララーゼ陽性黄色ブドウ球菌のみで, コアグララーゼ陰性黄色ブドウ球菌, 他の発育菌は白色, 水色, 緑色の集落であった。CSA培地では, 黄色ブドウ

球菌のほか、*L.garviaea*, *M.luteus*, *Enterococcus*属および*Bacillus cereus*が発育した。コアグラールゼ陽性黄色ブドウ球菌は藤色集落を形成したが、コアグラールゼ陰性黄色ブドウ球菌、*L.garviaea*や*B.cereus*は紺色、青色、薄い藤色集落であった。また、*M.luteus*はオレンジ色集落を示した。VJ培地では黄色ブドウ球菌の大部分は発育し

黒色集落を形成した。さらに*Lactococcus garviaea*と*Micrococcus luteus*も発育し黒色集落となった。エンテロコッカス属の2株も発育したが透明微小集落であった。ほかの*Enterococcus*属、*S.epidermidis*, グラム陰性桿菌、グラム陽性桿菌は発育しなかった。

表1 菌株による発育評価

供試菌株種	菌株	対象培地				備考 ^{a)}	
		MSEY 色調	卵黄反応	XSA 色調	CSA 色調		VJ 色調
1 Staphylococcus aureus	4FP10	黄	+	青	藤	黒	CPSA
2 Staphylococcus aureus	SSA7	黄	+	青	藤	黒	CPSA
3 Staphylococcus aureus	A177	黄	+	青	藤	黒	CPSA
4 Staphylococcus aureus	A220	黄	+	青	藤	黒	CPSA
5 Staphylococcus aureus	B115	黄	+	青	藤	黒	CPSA
6 Staphylococcus aureus	B259	黄	+	青	藤	黒	CPSA
7 Staphylococcus aureus	C391	黄	+	青	藤	黒	CPSA
8 Staphylococcus aureus	C362	黄	+	青	藤	黒	CPSA
9 Staphylococcus aureus	D111	黄	+	青	藤	黒	CPSA
10 Staphylococcus aureus	D143	黄	+	青	藤	黒	CPSA
11 Staphylococcus aureus	C274	黄	-	青	藤	黒	CPSA/MRSA
12 Staphylococcus aureus	C275	黄	-	青	藤	黒	CPSA/MRSA
13 Staphylococcus aureus	C276	黄	-	青	藤	黒	CPSA/MRSA
14 Staphylococcus aureus	C277	黄	-	青	藤	黒	CPSA/MRSA
15 Staphylococcus aureus	C285	黄	-	青	藤	黒	CPSA/MRSA
16 Staphylococcus aureus	C266	黄	-	青	藤	黒	CPSA/MRSA
17 Staphylococcus aureus	C267	黄	-	青	藤	黒	CPSA/MRSA
18 Staphylococcus aureus	C268	黄	+	青	藤	黒	CPSA/MRSA
19 Staphylococcus aureus	C269	黄	+	青	藤	黒	CPSA/MRSA
20 Staphylococcus aureus	C290	黄	+	青	藤	黒	CPSA/MRSA
21 Staphylococcus	4FP17	黄	-	-	紺	黒	CNS
22 Staphylococcus	4FP172	黄	-	-	紺	黒	CNS
23 Staphylococcus	4FP21	黄	-	-	紺	黒	CNS
24 Staphylococcus	SI014	黄	-	水色	水色	黒	CNS
25 Staphylococcus	SI142	黄	-	-	青	黒	CNS
26 Staphylococcus	5FP12	黄	-	-	青	-	CNS
27 Staphylococcus	SO001	黄	-	薄緑	薄青	黒	CNS
28 Staphylococcus	SKU004	黄	-	白	薄緑	黒	CNS
29 Staphylococcus	SKU005	黄	-	白	薄藤	黒	CNS
30 Staphylococcus	SSE2610	黄	-	白	薄藤	黒	CNS
31 Staphylococcus epidermidis	SS1	黄	-	-	-	-	-
32 Staphylococcus epidermidis	FS1	黄	-	青	-	-	-
33 Staphylococcus epidermidis	C273	白	-	青	-	-	-
34 Lactococcus garviaea	SX16	黄	+	青緑	薄青	黒	-
35 Micrococcus luteus	SX18	黄	+	緑	オレンジ	黒	-
36 Enterococcus easseli	Sent13	-	-	-	青	-	-
37 Enterococcus faecium	Fent1	-	-	-	薄青	-	-
38 Enterococcus faecium	Sent14	-	-	-	青	透明	-
39 Enterococcus faecium	Sent15	-	-	-	青	透明	-
40 Escherihia coli	ATCC25922	-	-	-	-	-	-
41 Citrobacter freundii	SP001	-	-	-	-	-	-
42 Enterobacter cloacae	SI001	-	-	-	-	-	-
43 Klebsiella pneumoniae	SS001	-	-	-	-	-	-
44 Seratia marcescens	SX10	-	-	-	-	-	-
45 Seratia foticola	SX11	-	-	-	-	-	-
46 Aeromonas hydrophila	SA1	-	-	-	-	-	-
47 Aeromonas sobia	SA2	-	-	-	-	-	-
48 Morganella morgani	JCM1672	-	-	-	-	-	-
49 Alcaligenes faecalis	SX12	-	-	-	-	-	-
50 Proteus mirabilis	SX13	-	-	-	-	-	-
51 Proteus vulgaris	SX3	-	-	-	-	-	-
52 Providencia rettgeri	SX4	-	-	-	-	-	-
53 Bacillus cereus	5FP5	-	-	-	青	-	-
54 Bacillus cereus	FO013	-	-	薄黄緑	薄藤	-	-
55 Bacillus subtilis	LK1000	黄	+	-	-	-	-
56 Vibrio parahaemolyticus	SV11	-	-	-	-	-	-
57 Vibrio parahaemolyticus	5FP10	-	-	-	-	-	-
58 Vibrio parahaemolyticus	SV20	-	-	-	-	-	-

a)CPSA:コアグラールゼ陽性ブドウ球菌、MRSA:メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 CNS:コアグラールゼ陰性ブドウ球菌

3.2 エンテロトキシン型別菌株の発育性

エンテロトキシン産生性の異なる黄色ブドウ球菌をMSEY, XSA, CSAおよびVJの4種の分離培地に等量ずつ接種して、24時間および48時間後の菌数を算出し発育性を比較した結果を表2に示した。XSA, CSAおよびVJ培地は24時間で特徴的な集落が確認できたが、MSEY培地では菌特有の卵黄反応を確認するには48時間かかった。各エンテロトキシン型別のMSEY培地の平均出現菌数を100とした場合、各分離培地での集落発現率はCSA培地が65, VJ培地が56とMSEY培地に比べ発育が抑制されたが、XSA培地では119で発育性に優れていた。エンテロトキシン陽性菌株のうちSEDではXSA培地の発育がMSEY培地の84と抑制されたが、CSA培地の54やVJ培地の51より発育性はよかった。SED以外の菌発育は同様の傾向を示し、エンテロトキシン型別の違いによる差は認められなかった。

3.3 黄色ブドウ球菌添加食品からの菌分離

黄色ブドウ球菌を添加した市販食品および調理済食品からの菌の検出結果を表3に示した。食品に黄色ブドウ球菌を1,000cfu/gになるよう接種したが、検出された菌量は少なかった。検出率が低いものはブルーベリーケーキ, トマトジュース, イタリアンドレッシング, 野菜いため, 味付けたこなどであったが、分離培地別の菌の発育性はMSEY培地での発育性を100とした時、XSA培地は207, CSA培地は84, VJ培地は73でXSA培地での発育性が優れていた。

3.4 各添加物質影響下の黄色ブドウ球菌の培地発育性

無菌マッシュポテトを疑似食品とし、これに5, 10, 30%砂糖, 5, 10, 20%食塩, 5, 10, 20%食用油を添加した試料を調整した。また滅菌PBSに各0.5, 5, 50, 500μg/mlのソルビン酸とエリソルビン酸, 1mg/mlの食用赤色3号を調製した。また、pHを3, 5, 7に調製したPBSを用い、各分離培地での黄色ブドウ球菌の発育性を比較した結果、食塩20%, ソルビン酸500μg/mlおよび食用赤色3号1mg/mlを添加した条件下では、24時間後黄色ブドウ球菌は発育しなかったが、ソルビン酸50μl/ml, 5μl/ml, 0.5μl/ml, エリソルビン酸50μl/ml, 5μl/ml, 0.5μl/ml, pHを3, 5, 7の試料では添加割合あるいはpHに関係なく検出できた。なお、砂糖5%, 10%, 30%, 食塩5%, 10%, 食用油5%, 10%, 20%も検出できたが、出現集落数は少なかった。分離培地の比較ではMSEY培地の発育集落数を100とした場合、XSA培地での発育集落数は124, CSA培地は93であった(表4)。

3.5 発色酵素基質培地からの直接迅速診断法

BHIで培養したSEA, SEB, SEC, SEDおよびエンテロトキシンA・B(SEA・B)の菌株を、XSA, CSA培地に塗抹し37℃24時間培養し、各培地に発育した集落を用い、エンテロトキシン産生性およびコアグラゼ試験を実施した。XSA培地とSEAを用いた場合の結果を図1に

示した。集落をBHIで培養して4時間目からエンテロトキシンが確認された。また、培地の集落から直接結合型コアグラゼを実施したところ、菌液は生理食塩水とスムーズに混和し、凝集反応が確認できた。

表2 エンテロトキシン型別の発育性

型	供試株数	対象培地			
		MSEY(48h)	XSA	CSA	VJ
SEA	18	100	109	78	45
SEB	15	100	120	68	46
SEC	15	100	135	42	57
SED	5	100	84	54	51
ET(-)	8	100	148	84	79
検出割合		100	119	65	56

表3 食品からの黄色ブドウ球菌の分離

食品名	使用培地			
	MSEY(48h)	XSA	CSA	VJ
白飯	9	29	8	2
ごはん	11	32	5	14
はらこ飯	19	33	9	16
おにぎり(鮭)	15	37	14	15
みそおにぎり	20	21	18	4
そば	19	40	14	16
サンドイッチ	25	45	14	12
煮物	10	25	8	5
煮大根	12	25	12	4
かぼちゃ煮物	4	26	14	5
煮豆	14	15	6	10
五目煮	11	41	11	16
ほうれん草おひたし	9	32	10	5
春菊ごま和え	26	23	33	43
カレー和え	13	18	23	1
カレー	15	25	5	13
メンチカツ	9	42	11	1
鶏唐揚げ	15	32	10	2
野菜炒め	2	14	7	2
きんぴら	13	38	21	36
酢豚	8	21	6	4
味付けたこ	4	16	6	2
竜田揚げ	10	37	20	3
ハンバーグ	9	21	12	11
揚げギョーザ	24	29	10	17
ロールキャベツ	7	27	6	5
天ぷら	20	39	9	11
オムレツ	12	36	16	8
卵焼き	11	16	10	14
クリーム煮	14	12	6	2
豆腐	11	19	5	15
揚げ豆腐	10	12	7	0
ロールケーキ	5	17	9	11
チーズケーキ①	12	35	13	16
チーズケーキ②	15	27	14	14
チーズケーキ③	15	39	19	10
チョコレートケーキ	3	31	7	12
ビスケット	13	35	7	12
シュークリーム	17	26	11	5
ブルーベリーケーキ	7	8	3	1
まんじゅう	13	22	12	4
プリン	6	29	13	15
豚肉	25	19	12	4
ウインナーソーセージ	13	31	15	3
ピザ	33	48	11	15
牛乳	9	11	4	6
クリームチーズ	24	36	11	12
トマトジュース	7	7	5	4
イタリアンドレッシング	9	11	1	3
ごまドレッシング	7	24	5	10
平均出現菌数	12.9	26.7	10.8	9.4
発育性	100	207	84	73

表4 各種添加物のSAの発育性に及ぼす影響(出現菌数)

材料 (接種菌量)	添加物	濃度等	使用培地		
			MSEY	XSA	CSA
マッシュポテト (500cfu/g)	砂糖	5%	127	173	109
		10%	126	170	113
		30%	132	114	91
	食塩	5%	47	56	50
		10%	22	38	14
		20%	0	0	0
	油	5%	150	325	90
		10%	190	255	160
		20%	175	195	195
検出割合			100	137	85
PBS (20000cfu/ml)	ソルビン酸	0.5 μg/ml	780	850	810
		5 μg/ml	1190	1350	1490
		50 μg/ml	820	1060	820
		500 μg/ml	0	0	0
	エリソルビン酸	0.5 μg/ml	820	900	480
		5 μg/ml	720	910	790
		50 μg/ml	1250	1190	650
		500 μg/ml	380	550	470
	食用赤色3号 pH	1mg/ml	0	0	0
3		330	330	260	
5		650	1130	790	
	7	120	390	120	
検出割合			100	119	92

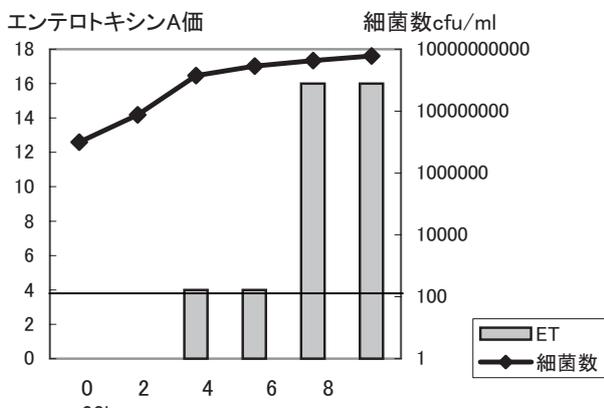


図1 エンテロトキシンA産生性

4 考察

黄色ブドウ球菌は臨床や環境からよく検出される細菌であり、化膿性疾患の原因菌であるだけでなく、敗血症および院内感染の原因菌としても重要で、近年はメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) が病院内に広く蔓延し医療上の大きな問題となっている。一方、本菌は食品中で増殖するとエンテロトキシンを産生し、嘔吐を主徴とする食中毒を引き起こす食品衛生上重要視される細菌でもある。黄色ブドウ球菌による食中毒は吐き気、嘔吐、腹痛、下痢等の症状が食品摂取後短時間で発現するため、原因推定食品や検査検体の入手は容易である。しかし、黄色ブドウ球菌の場合は健康なヒトでもふん便中にかなりの割合で黄色ブドウ球菌を保有し市販食品でも10%前後に汚染が認められることから¹⁾ 食中毒の原因物質として特定するためには推定原因食品および患者材料から高率かつ多数の黄色ブドウ球菌が検出され、エンテロトキシンが検出されることが必須である。エンテロトキシン自体の毒性検査は煩雑で時間がかかるため、エンテロトキシンの証明の検査は通常遺伝子解析手法により検査の迅速化が進められている。それゆえ黄色ブドウ球菌検査における更なる迅速化は菌分離の短縮化と言える。通常黄色ブドウ球菌の検査にはMSEY培地が用いられ、培地

上で黄色集落を形成し、周囲に卵黄反応による白濁環を示すことで、コアグララーゼ陰性の他のブドウ球菌等と区別される。しかしMSEY培地での黄色ブドウ球菌分離には48時間の培養を必要とする。さらにはラテックス凝集反応やコアグララーゼテストなどにより当該菌であることを確認するため、MSEY培地から非選択培地へ継代が必要で、検査に時間を要する。近年、20~24時間で菌分離が可能とされるXSA培地、CSA培地およびVJ培地が開発されている。XSAとCSA培地はともに発色酵素基質培地で、発育集落の色調で他の菌との鑑別が容易である。また、VJ培地は亜テルル酸カリウムを添加した、コアグララーゼ陽性菌のみ発育する培地とされている。本研究では、菌分離の迅速化を目的とし各培地の有用性を22菌種について比較検討した。黄色ブドウ球菌以外の28菌株の発育は、腸内細菌科10菌種13菌株、*Vibrio parahaemolyticus* 3株がいずれの培地でも発育が抑制された。発育した集落が黄色ブドウ球菌と鑑別できないものはMSEY培地では*Lactococcus*属、*Micrococcus*属、*Bacillus cereus*各1株ずつ、XSA培地では*Lactococcus*属1株のみ、VJ培地では*Lactococcus*属1株と*Micrococcus*属1株でCSA培地ではすべて鑑別が可能であった。黄色ブドウ球菌20株をみると、MSEY培地が鑑別困難であるのに対し、XSA培地とCSA培地の発色酵素基質培地ではCNSは発育しないか発色が別の色で容易に区別でき、VJ培地は集落周囲の黄色のハローが微妙で鑑別が困難であった。また、近年問題となっているMRSAの分離ではXSA培地、CSA培地、VJ培地で黄色ブドウ球菌として分離できるが、MSEY培地で卵黄反応を示さず、分離対象集落の特徴を示さない株があった。

黄色ブドウ球菌の産生するエンテロトキシンにはいくつかの型がある。今回SEA, SEB, SEC, SEDのエンテロトキシン産生菌株および非産生菌株SENについて各培地での発育性の相違を検討したが、型別で差違は認められなかった。

実際の市販食品あるいは調理食品での発育性に及ぼす影響を各培地での発育性ととも検討した。その結果、栄養、水分活性、食塩や糖類、pH、混在する細菌やガス分圧など各因子が複雑に影響すると思われる、食品からの黄色ブドウ球菌の分離率は全般に低かったが、MSEY培地での分離を100とした場合、検出率が上回ったのはXSA培地の207、CSA培地は84、VJ培地は73であった。また、食塩と糖類、油分、食品保存料としてソルビン酸、酸化防止剤としてエリソルビン酸、着色料として食用赤色3号を添加した場合および各pHでの菌分離について比較した。20%食塩や赤色3号1mg/mlといった通常の食品の添加量を超えた条件では黄色ブドウ球菌はいずれの培地でも発育しなかった。しかし、それ以外の条件では菌は発育し、XSA、CSA培地はともにMSEY培地と同等またはそれ以上に発育した。CSA培地は咽頭ぬぐい液や痰等の臨床検体からの菌分離に優れているとの報告

はあるが²⁾、雑菌で汚染された食品や菌の増殖を抑制する添加物を含む食品でもMSEYと同等に検査できることが分かった。

黄色ブドウ球菌検査で迅速化を図るためには、MSEYなどの分離培地上の集落から直接コアグラゼ試験等が実施できることが1つにあるが、MSEY培地上の集落を直接用いると粘着性を有するため菌が均一にならず、凝集試験が不明瞭となる。普通寒天培地などの非選択性の培地に継代が必要となる。しかし、XSA、CSA培地の発色酵素基質培地上集落を直接用いてラテックス凝集テストやコアグラゼテストを行った結果、これらは直接スライド凝集反応ができ、更に集落を釣菌し、BHIで4時間以上の振盪培養でエンテロトキシン型別試験が可能であった。

結果をまとめると、発色酵素基質培地のXSA培地やCSA培地は約20時間培養で従来用いてきた48時間培養の

MSEY培地と比較して菌の分離に優れ、現在問題となっているMRSAも分離できた。調理食品や添加物を含む食品からの検出比較もMSEYより優れた。さらに培地上の集落を直接性状試験等に用いることができ、トータルでMSEY培地の従来法より2日程度検査時間を短縮することができ、判定の迅速性が高かった。今後は、実際の食中毒検査や食品収去検査にこれらの培地を併用して効果を検証していきたい。

参考文献

- 1) 坂崎利一：食中毒 中央法規出版株式会社 p334 (1981)
- 2) Diane Flayhart, Clara Lema, Anita Borek, Karen C.Carroll : Journal of Clinical Microbiology, 42 3566 (2004)

環境水の潜在的な細菌増殖能の新規測定法

A New Detection Method for Ability of Bacterial Growth in Environmental Water

齋藤 紀行 菅原 直子 小林 妙子
渡邊 節 山田 わか

Noriyuki SAITO, Naoko SUGAWARA, Taeko KOBAYASHI
Setsu WATANABE, Waka YAMADA

環境水が感染症の原因となることがあり、環境水の感染症発生リスクを把握することは重要で、感染症の発生源、感染経路の究明あるいは感染症の発生防止対策の資質となる。リスク評価法として環境水の潜在的な細菌増殖能を測定する新規方法、ABG法、を考案し、河川水および海水について検討した結果、本方法がリスク評価に有用であることが示唆された。

キーワード：環境水、細菌増殖能

Keywords : environmental water, ability of bacterial growth

1 はじめに

環境中には多くの種類の微生物が生息している。微生物に汚染された河川水、湖沼水などの環境水が原因で発生する感染事例が度々報告されている¹⁾。実際に、多くの河川水・海水からサルモネラ、カンピロバクターあるいはノロウイルスなどの病原微生物が検出され^{2, 3, 4)}、これらが感染症の感染源となる危険性が指摘されている。しかし、環境水の感染リスクを科学的に検証した報告はない。

一般的に環境水の病原微生物汚染は、病原体保有動物の排泄物流入が原因で引き起こされる。しかし、病原微生物の多くは紫外線に弱く、また真水では発育できないなどから環境水中に流入した多くの病原微生物は容易に死滅あるいは不活化されるが、環境水中には細菌の栄養源となる多量の有機物が混入していることから一部の細菌は増殖して生息する。その結果、細菌が発育した環境水は感染リスクが高まり、感染源となりうる。すなわち、環境水の持つ潜在的細菌増殖能の高低が環境水の微生物リスクの高低につながる。潜在的細菌増殖能は環境水中に含まれる細菌の栄養源量に左右されるので、環境水中に細菌の栄養源となる溶存有機物量の測定が可能であれば微生物リスクの評価もできることになるが、環境水中に含まれる全ての有機物を科学的に分析することは困難である。もし、環境水が持つ潜在的細菌増殖能を直接測定できれば、環境水での病原細菌が繁殖する危険性、すなわち微生物リスクの評価が可能となり、食中毒あるいは感染症発生の原因究明あるいは予測に繋がり、発生予防に有効な資料になると思われる。

現在、水道水中の有機物質は細菌の二次増殖の原因となり水道水の細菌汚染を引き起こすとされていることから、水道水の細菌汚染防止に水道水の細菌二次増殖能(増殖ポテンシャル)を測定して判定する方法が利用されている。細菌の二次増殖は水道水に含まれる細菌の栄養源量、すなわち有機物質量と相関するとの考えから、生物分解性有機炭素(BDOC: Biodegradable organic carbon)あるいは同化性有機炭素(AOC: assimilable organic carbon)測定法が細菌汚染のリスク評価法として利用されている⁵⁾。AOC測定法は、特定の有機物を栄養源とする2種類の細菌(*Pseudomonas* sp., *Spirillum* sp.)を用い水道水中のAOC量を客観的に測定し、潜在的な細菌増殖能の評価に用いられることから、水道水以外の環境水の微生物リスクについても評価できる手法として近年注目され、応用されている。しかし、AOC測定法は使用器具あるいは操作による微量の有機物混入が検査結果に影響するため使用器材の厳密な管理及び手技が求められるなど煩雑な検査法である。また、検査対象となる河川水あるいは湖沼水は水道水と異なり大量の有機物の混入があることから、AOC測定に用いる2種類の細菌が適切とは思われない。

そこで、環境水の微生物リスクを簡便に測定できる方法の開発に取り組んだ。鳴瀬川と松島湾に採水定点を定め、定期的に採水しこれを環境水とし、これに大腸菌及び黄色ブドウ球菌を被検菌として添加し、環境水の菌発育能を調べた。この試験を菌の発育能(ability of bacterial growth: ABG)試験とした。同時にそれぞれの被検水について大腸菌・大腸菌群数を測定し、菌発育能と比較し、

ABG試験が環境水の潜在的細菌増殖能の簡易測定法として応用できるかについて考察した。

1 材料と方法

1) 使用細菌

黄色ブドウ球菌ATCC25923 (*Staphylococcus aureus*: SAと略)、大腸菌ATCC25922 (*E. coli*: ECと略)をハート・インフュージョンブイヨン(HI)に接種し、37℃で20時間培養後、HIで1/1,000倍に希釈した液を使用菌液とした。

2) 培地

SAの菌数測定用培地としてはマンニット食塩培地(日水)、EC用としてはBTB乳糖寒天培地(日水)を使用した。

3) 採水時期および地点

採水定点：鳴瀬川上流は漆沢ダム(上流)、鳴瀬川中流は大崎市三本木北町地区(中流)、鳴瀬川下流東松島市樋場地区(下流)、松島湾はP1、P2、P3、P4、P5、P6の6ポイントを採水定点とした。

採水期間：鳴瀬川については平成16年4月から平成18年3月に、松島湾は平成17年8月と10月に実施した。

4) 菌発育能(ABG)試験と生菌数測定

各採水200mlを6,000rpmで30分間遠心、上清をメンブランフィルター(0.22μm)でろ過し、ろ液を70℃の水浴で30分間加温、これを被検水とした。

被検水を滅菌フラスコ2個に各50ml分注し、それぞれにSAあるいはECの菌液を1ml添加し、25℃で培養した。培養後0、1、4および7日目に各フラスコから被検水を採り10倍段階希釈、その25μlを増菌培地に塗布し、37℃で培養後発育した集落を数え、被検水の1ml当たりの生菌数(発育集落数: cfu)を算定した。菌添加試験の対照として、滅菌精製水(DW)およびリン酸緩衝生理食塩水(pH7.4: PBS)を用いた。

5) 大腸菌数と大腸菌群数

各採水100mlを滅菌容器にとり、これにコリラート(アスカ純薬)1包装を添加し混合して溶解させた。これを、97個のウエルがあるQTトレイに注入・封入し、35℃で18時間培養し、大腸菌群数は黄色となったウエル数で、大腸菌数はUVランプ照射で蛍光色となったウエル数を判定表に従ってMPN値(/100ml)を求めた。

2 結果

1) DWおよびPBSでの菌発育性

最終濃度が 6.6×10^3 cfu/mlになるように調整したSA菌液と、 3.1×10^4 cfu/mlに調整したEC菌液をDWあるいはPBSに添加し、35℃で培養し、1、4、7日目にそれぞれについて菌数を測定し、結果を図1に示した。DWではSA、ECとも漸次減少し、7日目にはECは 5×10^2 cfu/mlと添加菌量の60分の1以下に、SAは5 cfu/mlとなった。PBSでは、ECは 6.1×10^4 cfu/mlと減少は認められなかったが、SAはDWでの動態と同じ傾向を示した。

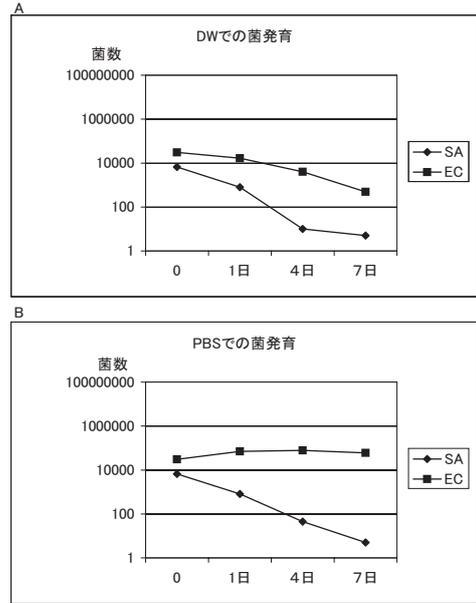


図1 DWおよびPBSでの菌発育性

2) 環境水でのABG試験

鳴瀬川の上流(4月から12月)、中流(4月から3月)、下流(4月から3月)で採取した河川水についてSAおよびECを用いて実施したABG試験の結果を図2に示した。採水したほとんどの河川水で、ECは培養7日目まで増殖する傾向を示し、SAは全体的に減少する傾向を示した。しかし、12月の河川水は上流、中流、下流ともECを旺盛に増殖させ、更にSAでも増殖傾向を示した。同様の傾向が1月の下流水でも観察された。

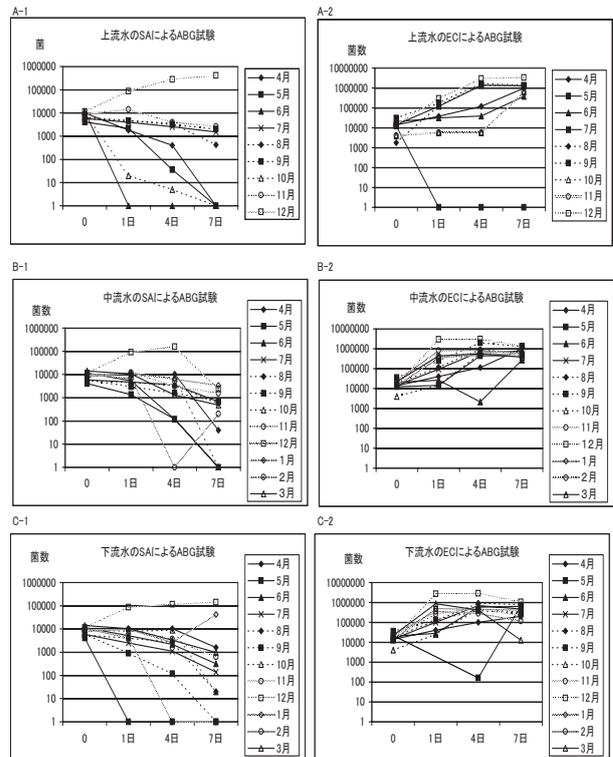


図2 河川水でのABG試験

松島湾の6定点について8月及び10月に採取した海水について実施したABGの結果を図3に示した。8月の海水では採水ポイントの違いによる菌数変化に差異は認められず、SAは菌の減少が、ECは菌の増殖が認められた。一方、10月の海水ではSAは8月の場合と同様に菌減少が認められたが、ECは採水ポイントによって異なった挙動を示した。すなわち、P5では8月と同様に菌の増殖が認められたが、それ以外のポイントでは菌の減少が認められた。

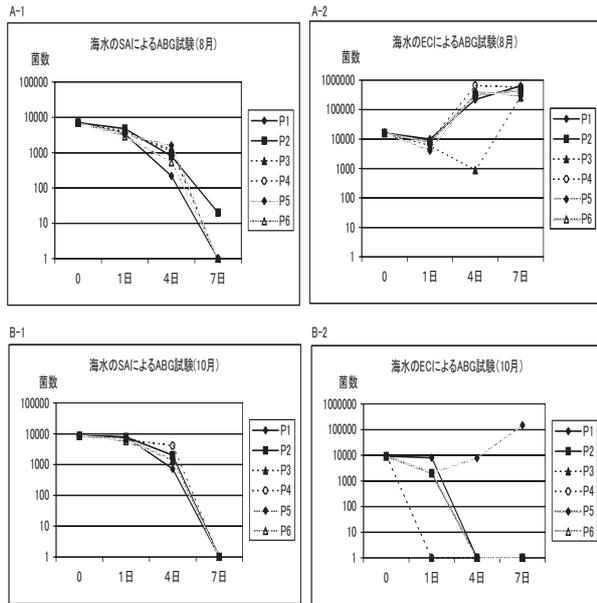


図3 海水でのABG試験

3) 大腸菌数と大腸菌群数

鳴瀬川の上流、中流、下流で採取した月毎の河川水の大腸菌および大腸菌群MPN値の結果を図4に示した。

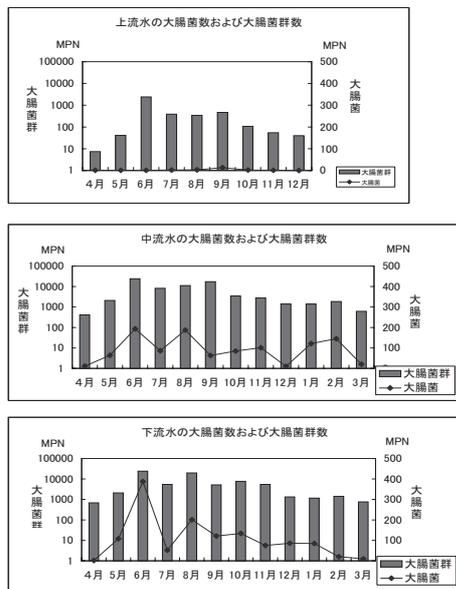


図4 河川水中の大腸菌数および大腸菌群数

大腸菌群のMPN値が1,000を超えるのは、上流では6月の1ヶ月であったが、中流および下流では6月から2月までの10ヶ月間であった。大腸菌数は、上流では9月に3.0MPNが検出されただけであったが、中流、下流では5月から2月まで100MPN前後の値を示した。特に6月は下流で400MPNと高値を示した。

松島湾の6ポイントについて8月、10月に測定した大腸菌および大腸菌群MPN値の結果を図5に示した。P5の大腸菌・大腸菌群MPN値は他のポイントより高値を示しそれぞれ100, 3,500以上であった。

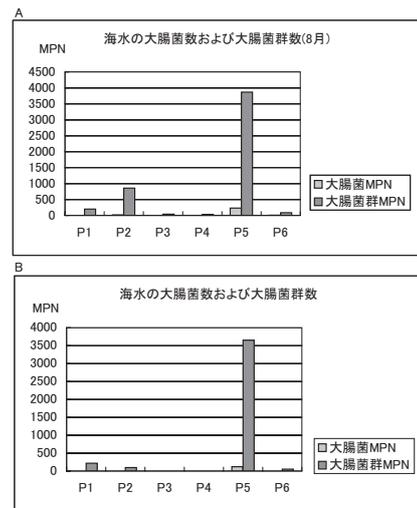


図5 松島湾の各ポイントにおける大腸菌数および大腸菌群数

考察

大腸菌、黄色ブドウ球菌は発育に炭素源、窒素源等の栄養分および無機物を要求する従属栄養細菌である。大腸菌は無機窒素、脂肪酸を栄養源とし発育できるが、黄色ブドウ球菌は無機窒素だけでは発育できず、アミノ酸を栄養源として要求する⁶⁾。食中毒原因菌である腸炎ビブリオ、赤痢菌、サルモネラ属菌、腸管出血性大腸菌あるいはエロモナスは大腸菌と、感染症の原因となる連鎖球菌、腸球菌は黄色ブドウ球菌と同じ栄養要求性である。河川、湖沼あるいは海などの環境水には植物あるいは動物由来の様々な化学物質が流入するので、細菌が増殖できる栄養分が混入している可能性は十分考えられる。

本研究では、環境水に溶存する栄養分を細菌学的に測定する方法として、ECおよびSAを用いたABG測定を考案し、環境水として河川水および海水を検査対象として実施した。同時に、大腸菌数および大腸菌群数も測定し相関性を比較した。河川水は鳴瀬川の上流、中流、下流を、海水は松島湾内6ポイントから採取し被検水とし、DWおよびPBSを対照とした。その結果、DWおよびPBSでは両菌とも増殖せず、PBSでは7日目まで生存し続けたが、DWでは急激な菌減少が認められた。河川水およ

び海水では、ECは対照と異なりいずれの河川水および海水において菌数が100倍から1000倍の増殖が認められたが、SAはほとんど河川水および海水では増殖できず、DWと同じように菌減少が認められた。すなわち、ほとんどの河川水および海水にはECが増殖するための栄養分が溶存するがSAが増殖するアミノ酸等の栄養分は溶存しないことが示唆された。

しかし、鳴瀬川でのABG測定の結果において、12月に採取した上流、中流、下流の河川水ではECと同様にSAも菌数の増加が認められ、他の月とは異なった挙動を示した。大腸菌数および大腸菌群数を比較すると、上流の河川水は中流および下流に比べ両菌数とも少ないものの、12月のそれらの値は他の月と比較しても明確な差異があるとは思われなかった。

一方、松島湾の各ポイントについて8月と10月のSAおよびECのABG測定の結果を比較した。8月の両者のABGは河川水の挙動と同じであった。10月は、SAのABGの挙動は8月と同様であったが、ポイントP1、P2、P3、P4およびP6でのECは菌添加7日目に菌が検出されなくなり、8月の結果と異なる挙動を示した。ポイントP5のECは8月の結果と同じであった。大腸菌数・大腸菌群数も、P5では大腸菌群数はMPN3,500以上の高値を示し、大腸菌数も低値であるが2ヶ月間検出されている。ポイントP5は高城川が流入する沿岸部に近い場所で、河川水の影響が直接反映される場所であるが、他の5カ所のポイントは比較的河川の流入水の影響の少ない場所で海藻が繁茂する場所であった。すなわち、10月のポイントP5以外で採水した海水がECの増殖を明確に抑制していることが確認された。これは、海水中にECの栄養分がないか、あるいはECの発育を抑制する物

質があると考えられる。8月の海水が通常の状態とすると、10月の海水にはECの増殖を抑制する物質が存在すると考えられた。

以上のように、河川水および海水について潜在的細菌増殖能をSA、ECを用いたABG法で測定した結果、ABG法が河川水、海水の定常の状態と変動した状態を区別できることが示され、ABG法は環境水の質を細菌学的に判定できる有用な測定法であると思われる。しかも、検査法に使用する物品等の準備および判定法は容易であることから、更にデータの積み重ね、使用菌の検討、化学的水質検査との比較、客観的な判定法の工夫を行うことで、環境水をはじめ様々な水の細菌学的検査法として広く利用できると思う。

参考文献

- 1) 平田強, 大村達男, 石橋良信, 下原悦子, 廣谷博史: 水環境学会誌, 20, 124 (1997)
- 2) 平田強, 保坂三継, 矢野一好, 八木田健司, 泉山真司, 遠藤卓朗: 水環境学会誌, 26, 1 (2003)
- 3) 齋藤紀行, 名村真由美, 渡邊節, 川野みち, 田村広子, 佐々木美江, 山口友美, 畠山敬, 御代田恭子, 秋山和夫, 鈴木隆志: 宮城県保健環境センター年報 平成15年度, 22, 130 (2004)
- 4) 植木洋, 菊地菜穂子, 山木紀彦, 後藤郁男, 沖村容子, 秋山和夫: 宮城県保健環境センター年報 平成15年度, 22, 54 (2004)
- 5) 上水試験方法 解説編, 日本水道協会, 935 (2001)
- 6) 工藤肇, 中村正夫, 菅野治重編: 微生物学/臨床微生物学, 19 (1989)

カルボニル価（ブタノール法）による油脂食品の酸化劣化評価

Estimation of the Deterioration of Fried Food by the Carbonyl Value using 1-Butanol as a Solvent

佐藤 由紀 千葉 美子 葛岡 勝悦
遠藤美砂子 清野 陽子 佐々木多栄子*¹

Yuki SATO, Yoshiko CHIBA, Syoetu KUZUOKA
Misako TAGIRI-ENDO, Yoko KIYONO, Taeko SASAKI

フライ調理は優れた調理法である一方、油脂は酸化劣化により変敗臭を生じやすい。油脂劣化指標のうち、カルボニル価は変敗臭の発生と相関があるとされ、加熱油脂の評価に最も適していると考えられるが、従来のカルボニル価測定法（ベンゼン法）は使用する溶剤の毒性が高いため、あまり利用されていない。しかし、新しくブタノール法が開発されたことで、カルボニル価を安全確実に測定できるようになった。そこで今回は、ブタノール法が油脂食品の評価に適用されていないことから、各種市販油脂食品の酸化劣化度をブタノール法で評価するとともに、酸価・過酸化物価との相関を検証した。その結果、ブタノール法は測定試料が少なく済み、試料の色が測定値に影響を与えないことから、油脂食品の評価に有効な手法と思われた。

キーワード：カルボニル化合物；カルボニル価；2,4-ジニトロフェニルヒドラジン；油脂食品

Keywords : carbonyl compound ; carbonyl value ; 2,4-dinitrophenylhydrazine ; fried food

1 はじめに

油脂によるフライ調理は、短時間で確実・大量に食品を加熱することができるため、食品製造現場において頻繁に利用される。一方、油脂は空気や熱・光などにより劣化しやすく、その流通・保存には注意を要する。事実、昭和39年には即席めんの劣化油脂が原因となった大規模な食中毒事件も発生している。近年の包装技術の進歩により劣化油脂に関する食中毒は大幅に減少しているが、食品製造現場においては依然として油脂を含む食品に対する苦情（特に劣化臭）は多い。

油脂の劣化度を判断する基準としては、加水分解により生成する遊離脂肪酸の量を示す酸価（AV）、油脂の二重結合に付加した酸素の量を示す過酸化物価（POV）、油脂が酸化した後さらに分解してできる低分子化合物の量を示すカルボニル価（CV）などがある。厚生労働省では、油脂食品の安全性を確保するために、即席めん類については食品衛生法の規格基準によりAV3以下、POV30以下とする基準を定めている。また、「弁当及びそうざいの衛生規範」においては、AVが2.5、CVが50を超えたフライ油は新しいものと交換することが奨励されている。フライ油やフライ調理した食品は、高温で加熱された結果、油脂の酸化劣化が進行して低分子化合物（カルボニル化合物）が増加する傾向があり、これが変

敗臭の原因となっている。そのため、CVは高温加熱調理された油脂食品の劣化度を判定する指標として最も適しているとされている。しかし、従来のCV（ベンゼン法）測定法は、操作が繁雑で有害な試薬（発がん性）を用いることからあまり利用されていない。

このような背景から、宮城県では東北大学と共同で新しいCV測定法の開発に着手し、2-プロパノール^{1,2)}および1-ブタノール^{3,4)}を溶剤に用いた方法を開発した。これらの方法はベンゼン法と比較して、使用する溶剤の毒性も低く、操作も簡便である。ブタノール法は現在、基準油脂分析法の暫定法および食品衛生検査指針⁵⁾の参考法として採用されている。しかし、ブタノール法はフライ油を対象とした測定法であり、食品から抽出した油脂への適用が検討されていない。そこで、各種食品のCV（ブタノール法）、POV、AVを測定することで、食品抽出油脂へのブタノール法の適用性を検討するとともに、市販食品の酸化劣化度を調査した。

2 方法

2.1 試料および油脂の抽出方法

試料は、市販の油脂食品12種22検体を用いた。試料からの油脂の抽出は、エーテル抽出法を用いた⁵⁾。

* 1 現 栗原保健福祉事務所

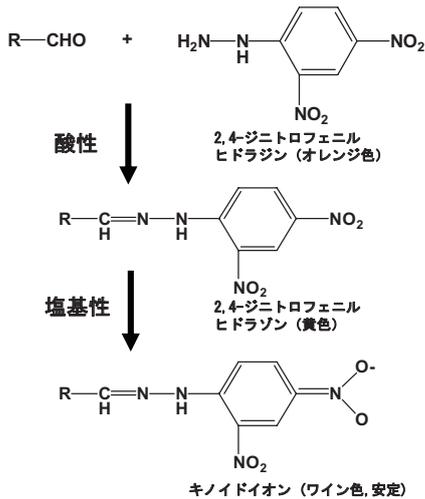


図1 カルボニル化合物と2,4-ジニトロフェニルヒドラジンの反応

2.2 測定方法

CVは、既報³⁾に従い測定した。すなわち、試料油5~50mgを含むブタノール溶液1mlを、塩酸酸性にした0.05%の2,4-ジニトロフェニルヒドラジン溶液1mlと、40℃で20分反応させた。反応終了後、8% KOHの1-ブタノール溶液8mlを加えてアルカリとした。遠心分離後、上層を採取し、カルボニル化合物と2,4-ジニトロフェニルヒドラジンの反応で生成した2,4-ジニトロフェニルヒドラゾン(図1)に基づく420nmの吸光度を測定した。カルボニル化合物量は2-デセナールを標品として作成した検量線から算出し、CVは、試料油脂1gあたりのカルボニル化合物量(μmol)で表した。

AV, POVは、食品衛生検査指針⁵⁾に準じて測定した。

2.3 自動酸化したポテトチップスの調製

ポテトチップスを開封し、40℃の暗所に放置することで、自動酸化させた。POVが大幅に上昇した場合(POV>50)は、正確なカルボニル価を測定することができないため、暗所放置とした。

3 結果および考察

3.1 食品抽出油脂へのカルボニル価(ブタノール法)の適用性

各種食品(27検体)のエーテル抽出油脂のCV(ブタノール法)を3回測定した結果、変動係数(%RSD)はいずれも10%以下であった(表1)。前報²⁾のフライ油を試料としたCV測定においても、ベンゼン法を用いた場合の変動係数が10~20%であるのに対して、改良法では10%以内であった。ベンゼン法では、反応最終溶液中の色素が経時的に退色するが、ブタノール法では色素の退色が少ない(1時間程度安定)ため測定精度が高いと考えられる。このように、本CV(ブタノール法)測定法は、精度の高い測定法であり、食品抽出油脂のCV測定にも十分適用可能なことがわかった。

表1 食品抽出油脂の油脂劣化指標値

食品	過酸化物質価 (meq/kg)	酸価	カルボニル価 (μmol/g) [n=3]		
			平均値	標準偏差	%RSD
ポテトチップスA	1.4	0.56	6.73	0.13	2.0
ポテトチップスB	3.0	0.48	6.96	0.055	0.79
ポテトチップスC	3.3	0.87	7.44	0.63	8.5
ポテトチップスD	7.7	0.48	7.81	0.59	7.6
ポテトチップスE	10	0.62	8.36	0.55	6.6
ポテトチップスF	34	0.38	9.52	0.093	1.0
即席麺A	5.8	0.25	8.34	0.22	2.7
即席麺B	4.9	0.32	7.55	0.19	2.5
即席麺C	7.3	0.34	9.41	0.22	2.3
即席麺D	5.3	0.39	7.56	0.28	3.7
油麩A	2.5	0.88	12.7	0.23	1.8
油麩B	4.5	0.74	20.9	0.18	0.84
油麩C	3.6	0.31	16.7	0.28	1.7
油麩D	4.3	0.73	17.2	0.69	4.0
油麩E	4.7	1.2	23.9	0.24	1.0
油麩F	8.0	3.0	24.4	0.38	1.6
油麩G	4.3	0.36	19.8	0.17	0.84
油麩H	6.5	2.0	23.5	0.83	3.5
フライドチキン	5.3	0.66	12.0	0.23	1.9
さつまあげ	15	1.4	43.4	0.70	1.6
油揚げ	7.5	1.5	10.9	0.47	4.3
カレーパン	4.1	0.73	20.4	0.45	2.2
ドーナツ	1.3	0.70	6.19	0.27	4.3
揚げせんべい	4.2	0.59	11.7	0.58	5.0
ピーナッツ	2.6	0.60	3.18	0.094	3.0
ゆば	*1	*1	5.17	0.073	1.4
きなこ	*2	*2	7.72	0.11	1.5

*1 油脂量が少ないため、測定不可
*2 試料の着色のため、滴定終点の判定不可

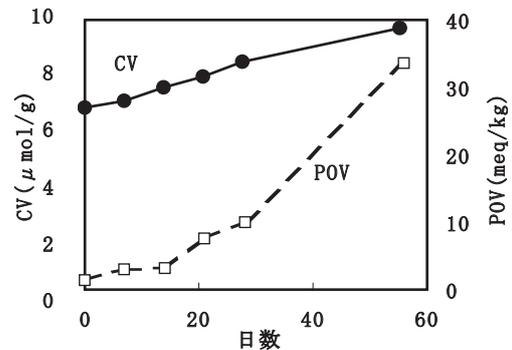


図2 ポテトチップスの自動酸化による過酸化物質価とカルボニル価の経時変化

3.2 自動酸化したポテトチップスの評価

ポテトチップスを経時的に自動酸化させ、エーテル抽出物のCV, POV, AVを測定した。本条件で酸化させてもAVは上昇しなかったが、POV, CVは経時的に上昇した(図2)。このように本法は、酸化初期の微量なカルボニル化合物の増加量も測定することが可能であった。以上のことから、CVはPOVと同様に油脂食品の自動酸化による劣化の程度を評価できることがわかった。

3.3 各種市販食品の酸化劣化度

市販の即席麺(4検体)、油麩(8検体)、その他の油脂食品(9検体)のエーテル抽出物のCV, POV, AVを測定した(表1)。POVやAVは滴定法で測定する必要があるため、一回の分析に多量の試料が必要(POVで0.5~5g, AVで0.1~20g)であり、ゆばのように油脂量が少ない食品の分析が困難であった。また、きなこのように試料が着色(緑色)している場合には、滴定終点の判定が困難であり、測定することができなかった。一方、これらのような試料であっても、CVは問題なく測定することができた。

POVとCVの関係およびAVとCVの関係を図2および図3に示した。POVが高いとCVも高くなる傾向がみられた ($R^2=0.490$) が, AVとCVは必ずしも一致せず ($R^2=0.263$), AVが低いにもかかわらずCVが高い場合があった。油で揚げた食品でCVが高い傾向があり, 使用している揚げ油が加熱劣化していて, カルボニル化合物が増加している可能性が考えられた。油麩は全体的にCVが高く, かつAVが2.0を超える検体があったが, これらは揚げ油の管理に注意が必要なることを示していると思われる。

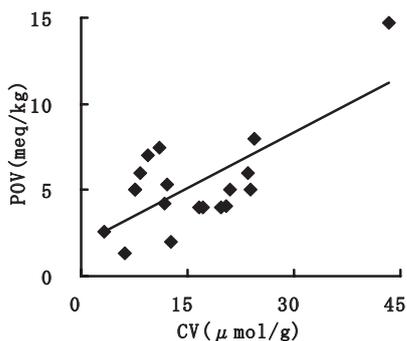


図3 各種市販食品の過酸化価とカルボニル価の関係

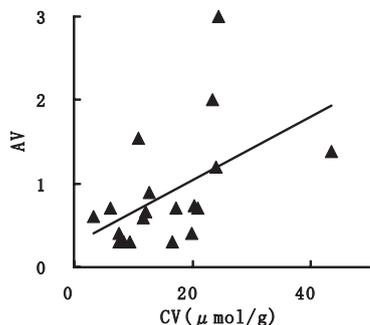


図4 各種市販食品の酸価とカルボニル価の関係

4 まとめ

新しいCV測定法であるブタノール法を食品油脂の測定にはじめて応用した。この方法は, 操作が簡便で精度が高く, かつ測定用溶剤の毒性が低く使用量も少なくてよい。特に食品抽出油脂の測定においては, 抽出油脂量が不十分であったり, 試料が着色している場合があるが, 本法によれば, 試料量が少なくても測定でき, サンプルの色が測定値に影響を与えない。このようなことから, 本法は食品製造現場での測定にも適しており, 食品の酸化劣化度を評価するために有効な方法であると考えられる。

本CV測定法を用いて市販食品の酸化劣化度を評価した結果, CVの増加した食品が認められた。いずれも注意すべき値ではないが, 食品製造現場では揚げ油の管理が重要と思われる。

参考文献

- 1) Y.Endo, C.M.Li, M.Tagiri-Endo, K.Fujimoto : J.Am.Oil Chem.Soc., 78, 1021 (2001).
- 2) 遠藤泰志, 李昌模, 藤本健四郎, 遠藤美砂子, 遠山かおり, 薄木理一郎: 日本水産学会誌, 69, 80 (2003).
- 3) Y.Endo, Y.M.Tominaga, M.Tagiri-Endo, K.Kumozaki, H.Kouzui, H.Siramasa, K.Miyakoshi : J.Oleo Sci., 52, 353 (2003).
- 4) 宮城県: 公開特許公報, 特開2002-365274 (2002.12.18).
- 5) 厚生労働省監修: ”食品衛生検査指針 理化学編”, (2005), (日本食品衛生協会).

タンクモデルによる白石川河川流量の推定

Application of Tank-model in the Shiroishi River Basin

小室 健一 浦山 清 仁平 明
鈴木 康民 小葉松 英行*¹

Kenichi KOMURO, Kiyoshi URAYAMA, Akira NIDAIRA,
Yasutami SUZUKI, Hideyuki KOBAMATU

キーワード：タンクモデル；流域；河川流量

Keyword ; tank-model ; river basin ; river discharge

1. はじめに

県内の公共用水域において定期的に水質測定が実施されているが、河川流量の計測には困難が伴うため、十分になされていない。そこで、白石川流域を対象に河川流量の推定を試みた。

2. 方法

2.1 対象水域及び対象期間

阿武隈川水系白石川は、宮城県南西部の蔵王山系を源に、県南部を北東方向に流れる川で、流域面積796.4km²である。対象期間は、2001.04.01から2002.12.31である。

対象水域を図1に示す。

2.2 使用データ

- ・河川流量
流量年表（日本河川協会）
- ・アメダス雨量・気温
気象庁電子閲覧室
- ・メッシュ雨量
メッシュ気候値2000年（気象庁）
- ・セヶ宿ダム流入・放流量
ダム諸量データベース（国土交通省）
- ・流域界
環境動態モデル用河道構造データベース（国立環境研究所）

2.3 雨量の設定

1kmメッシュ雨量データ（'71-'00の資料を基にした平年値を1km²メッシュで推定したもの）から、アメダス観測点白石と各水域の月ごとの平均雨量と比を求め、対象期間のアメダス観測点白石の日雨量に、メッシュデータから得た比を乗じて、各水域の日雨量を設定した。

メッシュデータによる年平均雨量分布を図2に示す。

2.4 損失量（蒸発散量等）の設定

ソーンスウエイト法により可能蒸発散量を計算し、さらにその値に緯度による日長補正值を乗じて、月別可能蒸発散量を求めた。その後、損失量を、流域内総雨量と

河川流量（ダムで取水後流域外に於ける流量を補正）の差と等しくなるように、月別可能蒸発散量に比率を乗じて設定した。

白石川流域の月別可能蒸発散量を図3に示す。

2.5 タンクモデルによる河川流量の推定

以上の水域毎の雨量、損失量、及び積雪融雪量の推定のための気温、セヶ宿ダムの流入・放流量、ダムからの取水量（広域水道による）を入力データとし、白石川全域に対してタンクモデルを適用した。また、同じ方法で入力データを作成し白石川全域で設定したパラメータを用いて、支川等に対しても適用し、公共用水域水質測定時に計測された河川流量と比較した。

タンクの構造及びパラメータは、図4に示す。

3. 結果

白石川全域については図5に、支川等については図6に示す。

白石川全域については、流量のピーク値に対しては追従できなかったが、概ね良好な結果が得られた。支川についても、荒川葦神橋を除けばオーダー的には概ね良好な結果が得られたと思うが、実測流量と推定流量の回帰線をみた場合、松川宮大橋等3水域では回帰係数は1からはずれたものであった。

4. まとめ

全体的には概ね推定できたと考えているが、精度を上げるためには2.5km間隔で日雨量データが得られるレーダー・アメダス解析雨量の利用の検討が必要と考えられた。

参考文献

- 1) 菅原正巳, 水文学講座7 流出解析法, (1978)
- 2) 新井 正, 地域分析のための熱・水収支水文学, 古今書院, (2004)
- 3) 宮城県仙南・仙塩広域水道事務所, 平成16年度水道事業年報, (2005)

* 1 退職



図1 対象水域

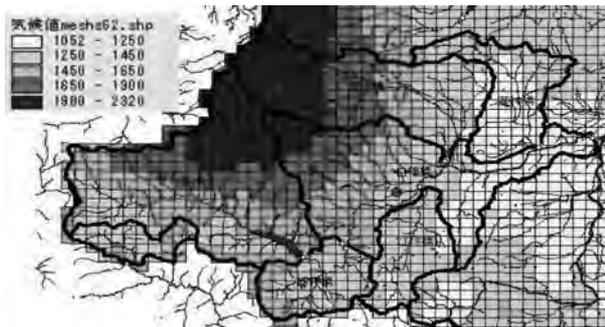


図2 メッシュ気候値2000年による雨量分布

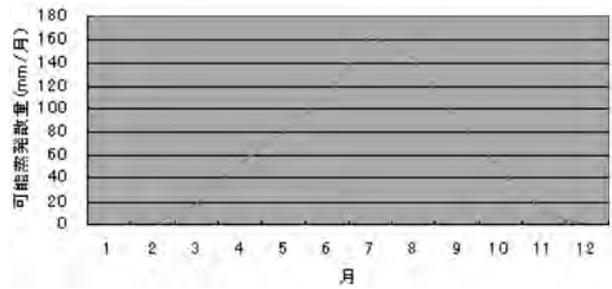


図3 月別可能蒸発散量（白石川全域）

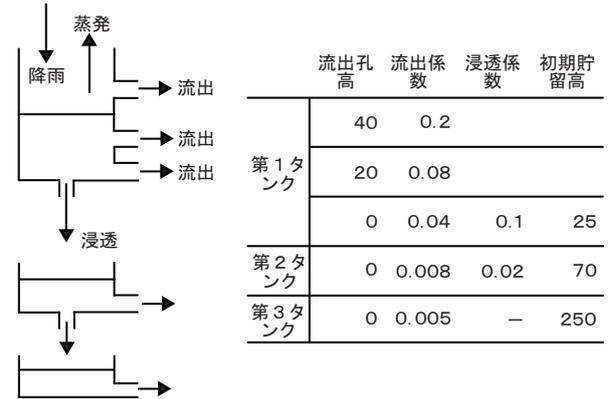


図4 タンクモデル構造とパラメータ

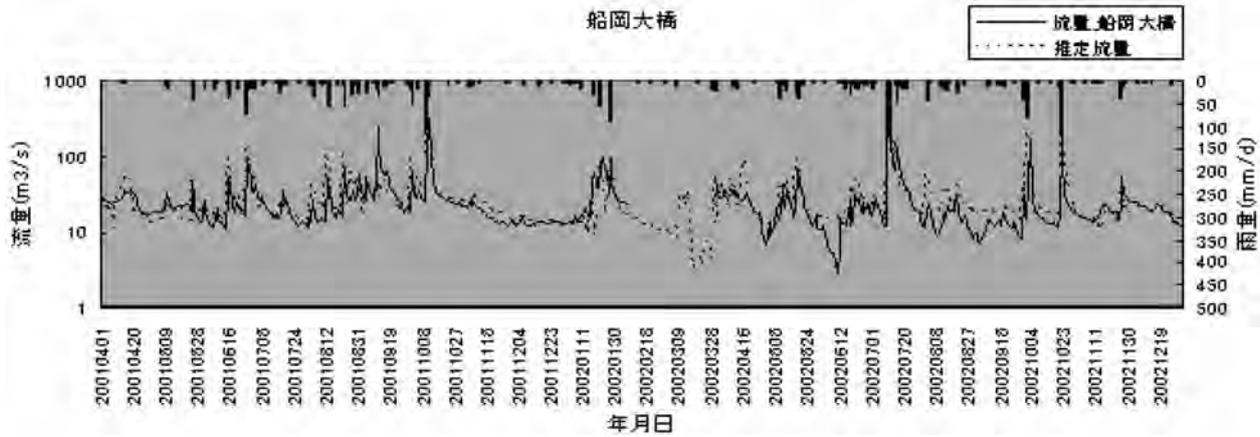


図5 流量推定結果（白石川全体）

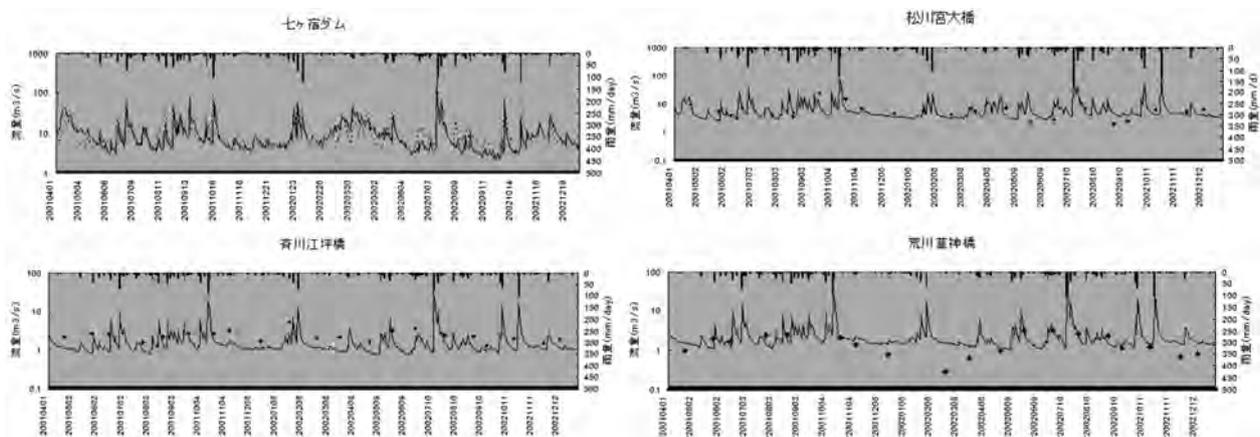


図6 流量推定結果（支川等）