

ISSN 0914-9309

CODEN : OKHNDV

# 岡山県環境保健センター年報

第 39 号

(平成26年度)

Annual Report  
of  
Okayama Prefectural Institute for Environmental  
Science and Public Health

No. 39

2015



## ま え が き

当センターは、県民の生活環境の保全と健康の保持増進に資するため、昭和 51 年 4 月に設置され、環境保全及び保健衛生に関する「試験検査」、「調査研究」、「研修指導」及び「情報の収集・解析・提供」の役割を担う、総合的な試験研究機関として業務を実施しています。

一方、本県では、平成 20 年度から社会経済情勢の急激な変化の中、厳しい財政状況の下、試験研究部門における限られた行政資源を最も有効に活用し、試験研究を効率的・効果的に推進するため、外部評価制度を導入しております。

平成 26 年度は、3 年ごとの機関評価として、研究活動、研究体制、業務、運営、施設整備等、試験研究機関全般について、外部有識者の評価を受けました。その結果、センターが運営方針として掲げる「県民の安全・安心を科学的・技術的側面から保障する機関」として、限られた人材と予算の中で、的確に業務を推進し、職員の知恵を集めて努力している姿勢を評価いただいた一方で、センターの PR や、関係機関との連携等について課題を指摘されたところです。

今後は、指摘を踏まえながら、8 年ぶりに本県でも発生があった高病原性鳥インフルエンザや国内感染事例が 70 年ぶりに確認されたデング熱等、突発的かつ大規模な事案に対しても、当センターとして、適切に対応できる体制を整えていく所存です。

このたび、平成 26 年度に実施した調査研究等の成果について取りまとめました。ご高覧いただき忌憚のないご意見をお寄せいただきますとともに、なお一層のご支援、ご鞭撻を賜りますようお願いいたします。

平成 28 年 1 月

岡山県環境保健センター

所 長 岸 本 寿 男



# 目 次

## 調査研究・資料

### 環境科学部

#### 大気科

##### 【資 料】

- 1 岡山県下における微小粒子状物質の成分の実態について  
中野温朗, 間野遼太, 喜多真帆, 野村 茂, 信森達也, 鷹野 洋…………… 1
- 2 岡山県下における微小粒子状物質の成分の実態について(第2報)  
中野温朗, 間野遼太, 喜多真帆, 野村 茂, 信森達也, 鷹野 洋…………… 11
- 3 岡山県における平成26年度酸性雨調査結果  
間野遼太, 喜多真帆, 中野温朗, 野村 茂, 信森達也, 鷹野 洋…………… 21

#### 水質科

##### 【調査研究】

- 4 事故時等緊急時の化学物質の分析技術の開発に関する研究  
－動植物性油脂類の油種分析法の検討－  
浦山豊弘, 新 和大, 中野拓也, 山本 淳…………… 25
- 5 事故時等緊急時の化学物質の分析技術の開発に関する研究  
－動物用医薬品(サルファ剤)の水質分析法の検討－  
浦山豊弘, 新 和大, 中野拓也, 山本 淳…………… 31
- 6 事故時等緊急時の化学物質の分析技術の開発に関する研究  
－マクロライド系抗生物質の水質分析法の検討－  
新 和大, 浦山豊弘, 中野拓也, 山本 淳…………… 43
- 7 児島湖における水質汚濁メカニズムの解明  
－児島湖底泥からのリンの溶出速度について－  
藤田和男, 金子英史, 中野拓也, 山本 淳…………… 55
- 8 児島湖における水質汚濁メカニズムの解明  
－児島湖のリン物質収支の定量化－  
藤田和男, 金子英史, 中野拓也, 山本 淳…………… 65
- 9 児島湖における水質汚濁メカニズムの解明  
－都六区の水田群及び八浜町波知の水田における汚濁負荷量調査－  
藤田和男, 中野拓也, 金子英史, 山本 淳…………… 75

##### 【資 料】

- 10 児島湖底泥のユスリカ幼虫の出現状況に関する調査(2)  
藤田和男, 金子英史, 中野拓也, 山本 淳…………… 81

#### 放射能科

##### 【資 料】

- 11 岡山県内における環境放射能バックグラウンド調査(第3報)  
畑 陽介, 清水光郎, 木下浩行, 片岡敏夫, 小川 登…………… 87
- 12 鏡野町上齋原夜次地区における杉の樹葉中 Ra-226 濃度の個体差調査, 及び樹葉中放射能濃度等の地域差  
について  
畑 陽介, 清水光郎, 木下浩行, 片岡敏夫, 小川 登…………… 93

## 保健科学部

### 細菌科

#### 【調査研究】

- 13 感染予防対策に向けたヒト及び環境等における感染症起因菌の調査(平成 26 年度)  
①志賀毒素産生性大腸菌の疫学解析  
河合央博, 大畠律子, 檀上博子, 中嶋 洋, 井上 勝, 仲 克巳…………… 99
- 14 感染予防対策に向けたヒト及び環境等における感染症起因菌の調査(平成 26 年度)  
②県内の環境検体におけるレジオネラの検出状況  
檀上博子, 大畠律子, 河合央博, 中嶋 洋, 仲 克巳…………… 103
- 15 感染予防対策に向けたヒト及び環境等における感染症起因菌の調査(平成 26 年度)  
③小児科受診患者等のエルシニア抗体価調査について  
中嶋 洋, 大畠律子, 河合央博, 檀上博子…………… 109
- 16 結核疫学調査における結核菌 DNA 解析データベースの活用(7)  
大畠律子, 河合央博, 檀上博子, 中嶋 洋…………… 113

### ウイルス科

#### 【調査研究】

- 17 胃腸炎ウイルスの疫学的研究  
－岡山県の散発胃腸炎患者におけるロタウイルス A の流行状況(2013/2014 シーズン)－  
藤原香代子, 藤井理津志, 濱野雅子, 磯田美穂子, 松岡保博, 井上 勝, 濃野 信, 金谷誠久…………… 119
- 18 岡山県におけるマダニの生息状況と重症熱性血小板減少症候群(SFTS)ウイルス保有調査  
濱野雅子, 磯田美穂子, 藤原香代子, 松岡保博, 藤井理津志, 木田浩司, 島村琢自, 芦田顕彦,  
宇田晶彦, 森川 茂…………… 125
- 19 岡山県におけるインフルエンザ流行の疫学的解析(2013～2014年シーズン)  
松岡保博, 濱野雅子, 磯田美穂子, 藤原香代子, 藤井理津志, 筒井みちよ, 芦田顕彦…………… 131

#### 【資 料】

- 20 岡山県内の下水におけるノロウイルス遺伝子調査について  
磯田美穂子, 藤原香代子, 松岡保博, 濱野雅子, 藤井理津志…………… 137

### 衛生化学科

#### 【調査研究】

- 21 GC/MS/MS を用いた野菜類及び果実類中残留農薬の一斉分析法の妥当性評価(第 2 報)  
難波順子, 浅田幸男, 赤木正章, 北村雅美, 吉岡敏行…………… 143
- 22 食品と医薬品等に含まれる有害化学物質等の分析技術の開発に関する研究  
－ウリ科植物に含まれる苦味成分ククルピタシン分析法の検討－  
吉岡敏行, 赤木正章, 北村雅美, 浅田幸男, 難波順子…………… 153
- 23 指定薬物の分析法検討  
北村雅美, 浅田幸男, 難波順子, 赤木正章, 肥塚加奈江, 吉岡敏行, 花尻(木倉)瑠理, 合田幸広…………… 159

業務報告(岡山県感染症情報センター)…………… 171

他誌発表論文抄録…………… 180

報告書等…………… 183

学会発表…………… 188

【資 料】

## 岡山県下における微小粒子状物質の成分の実態について

### Component Analysis of PM2.5 in Okayama Prefecture

中野温朗, 間野遼太, 喜多真帆, 野村 茂, 信森達也, 鷹野 洋(大気科)

Atsurou Nakano, Ryouta Mano, Maho Kita, Shigeru Nomura,

Tatsuya Nobumori, Hiroshi Takano (Atmosphere Section)

#### 要 旨

環境大気中の微小粒子状物質(以下「PM2.5」という。)の質量濃度が1時間値 35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ を超過した期間に, PM2.5 構成成分の濃度や組成割合の推移を6時間ごとに追跡した。平成26年4月15日18時から19日18時までの観測結果を解析したところ, 分析対象とした成分の中ではイオン成分がPM2.5平均組成の55%を占め, 同成分のうち $\text{SO}_4^{2-}$ と $\text{NH}_4^+$ が主成分となってPM2.5と同様の濃度変動の傾向がみられ, PM2.5と同じ時間帯に最大濃度に達した。炭素成分, 無機元素成分は平均組成の20%, 5%を占め, PM2.5が期間中の最大濃度に達した時間帯では最大濃度にならず, PM2.5に反した濃度変動の傾向をもつ時間帯があった。無機元素成分のうち多くの元素にはPM2.5と最大濃度に達した時間帯に6~12時間の差がみられた。

[キーワード: 微小粒子状物質, 質量濃度, 成分分析]

[Key words: PM2.5, Mass Concentration, Component Analysis]

#### 1 はじめに

微小粒子状物質(以下「PM2.5」という。)については人の健康への影響が懸念されるため, 平成21年9月環境省告示により大気汚染に係る環境基準が設定された。岡山県では平成21年度に環境省試行事業で自動測定機を導入し, 順次測定地点を追加して平成23年度から総社局, 茂平局, 早鳥局及び長津局の計4測定局で環境大気中のPM2.5の質量濃度(以下「PM2.5濃度」という。)を監視している。

前報<sup>1)</sup>では, 自動測定機の観測結果に基づきPM2.5と浮遊粒子状物質(以下「SPM」という。)等大気汚染物質濃度の関係性を考察し, SPM質量濃度1時間値45 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 超過時の両者の質量濃度比(PM2.5/SPM)がいずれの測定局においても一定比(0.70~0.77)に収束したこと等を指摘した。また, 平成23年度の観測結果から, PM2.5濃度が環境基準の短期基準である日平均値35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ を超過した観測日には, 1時間値35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 超過を複数局にわたって数十時間継続した事例が複数日観測されたことも報告した<sup>2)</sup>。

本県は以前よりPM2.5成分の分析に着手し, イオン

成分, 無機元素成分, 炭素成分, 多環芳香族炭化水素類やレボグルコサンの実態を報告している<sup>3)~10)</sup>。本報では, 短期基準を超過した時のPM2.5の実態解明に資するため, 1時間値35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 超過を継続した期間のPM2.5成分の推移を「大気中微小粒子状物質成分測定マニュアル(環境省平成24年4月)」(以下「成分測定マニュアル」という。)に則った上で, 試料を成分測定マニュアルに定められる捕集時間(24時間)より短い6時間間隔で連続して集中的に観測(以下「集中観測」という。)した結果を報告する。

#### 2 調査方法

##### 2.1 地点

調査地点は県南部に位置する総社局とした。総社局は住宅地で囲まれた公園内に設置され, 約1km離れると住宅地を囲むように田園が広がっており, 県内のPM2.5のバックグラウンドとして常時監視が実施されている。図1は調査地点を示す。

##### 2.2 捕集

集中観測では総社局屋上に設置したThermo製シー

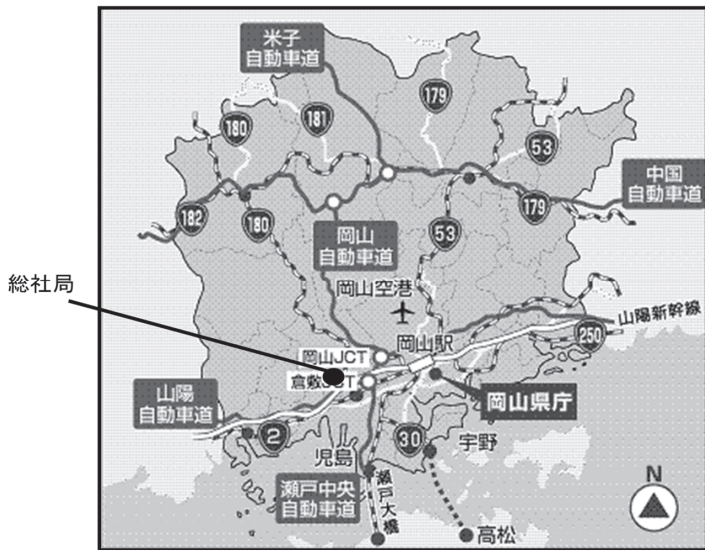


図1 調査地点

ケンシャルサンプラ FRM-2025 に石英繊維フィルタ (QRT-7000) を使用して、環境大気中の PM2.5 を 6 時間間隔で連続して捕集した。その他の捕集操作は成分測定マニュアルの捕集法に則った。集中観測は、国立環境研究所大気汚染予測システム (VENUS)<sup>11)</sup> 等により PM2.5 濃度の 1 時間値が継続して 35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$  を超過すると予測された期間に実施した。

### 2.3 成分分析

成分分析は試料を捕集した石英繊維フィルタを 4 等分し、分割したフィルタをそれぞれ別種類の分析に使用した。分析対象は成分測定マニュアルに示されたイオン成分 ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ )、炭素成分 (有機炭素 OC, 元素状炭素 EC) 及び無機元素成分 (Mn, Cr, Ni, Be, As, Al, Fe, Zn, Cu, V, Pb, Se, Cd) とし、分析方法は同マニュアルに則った。

イオン分析はフィルタを超純水 20mL に入れて 20 分間超音波で抽出した溶液をフィルタリングして Daionex 製 ICS-1600 で分析した。炭素分析はフィルタをポンチで 1 $\text{cm}^2$  にくり貫いて Sunset 製 Lab model で分析した。無機元素成分はフィルタに硝酸 (超高純度、関東化学製) 5mL, 過酸化水素水 (TAMAPURE-AA-100, 多摩化学工業製) 1mL, フッ化水素酸 (超微量分析用, 和光化学製) 1mL を加えてマイクロウェーブ分解装置で分解した溶液を加熱濃縮し、フィルタリング後に内部標準物質を加えて 1:100 硝酸で 10mL に定量したサンプルを Shimadzu 製 ICPM-8500 で分析した。

### 2.4 解析

2.2 により捕集した試料のうち平成 26 年 4 月 15 日 18 時から 19 日 18 時までの成分分析結果を解析した。集中観測期間の各時間帯の PM2.5 濃度は、総社局に設置された自動測定機 DKK 製 FPM-377 で観測された 1 時間値の 6 時間平均値を採用した。その他の大気汚染物質や風向、風速も同局の観測結果を利用した。分析結果の有効数字の取扱いは有効数字 2 桁とし、定量下限値未満の場合は濃度を考慮せずに解析した。

集中観測期間の地上天気図は気象庁「日々の天気図」<sup>12)</sup> で確認した。アメリカ海洋大気庁 NOAA HYSPLIT Trajectory Model<sup>13)</sup> で総社局の上空 1000m 等を起点に 72 時間前までの後方流跡線解析を行い、九州大学と国立環境研究所の運用する化学天気予報システム (CFORS) で大気汚染物質の推定分布を確認した。

## 3 結果及び考察

### 3.1 集中観測期間の PM2.5 濃度の推移

図 2 は PM2.5 濃度の 1 時間値推移及び日平均値を示す。PM2.5 濃度は 4 月 15 日 12 時に増加し、16 日 12 時に 35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$  を超過して 17 日 9 ~ 10 時に最高濃度 51 $\mu\text{g}/\text{m}^3$  となった。その後、PM2.5 濃度は増減を繰り返しながら概ね 35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$  超過を 17 日 21 時まで継続した。18 日 10 時頃から再度増加傾向になったが、継続せずに 19 日 0 時 38 $\mu\text{g}/\text{m}^3$  をピークにして 15 時 15 $\mu\text{g}/\text{m}^3$  まで減少した。日平均値は、4 月 16 日 32.4  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ , 17 日 38.7  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ , 18 日 27.6  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  であり、17 日のみ短期基準 35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$  を超過した。

### 3.2 集中観測期間の気象

図 3 は各日の天気図を示す。集中観測期間の気象は、4 月 15 ~ 17 日にかけて高気圧が西日本を通過して総社局で行っている風向、風速の観測では南方向の風向が卓越した。17 ~ 18 日にかけては低気圧が西から東へ通過し、南東方向の風が卓越した。なお、降雨が 17 日 23 時から 18 日 7 時まで岡山地方气象台 (総社局の東方約 16km に位置する) で観測された<sup>14)</sup> (図 2)。19 日は高気圧が西日本を覆い、東方海上に停滞前線が残った。18 日以降の風向は北方向が卓越した。期間中の平均風速は 1.5m/s だった。

### 3.3 PM2.5 成分の平均濃度と平均組成割合

図 4-1, 4-2 は集中観測期間及び平成 25 年度春期常時



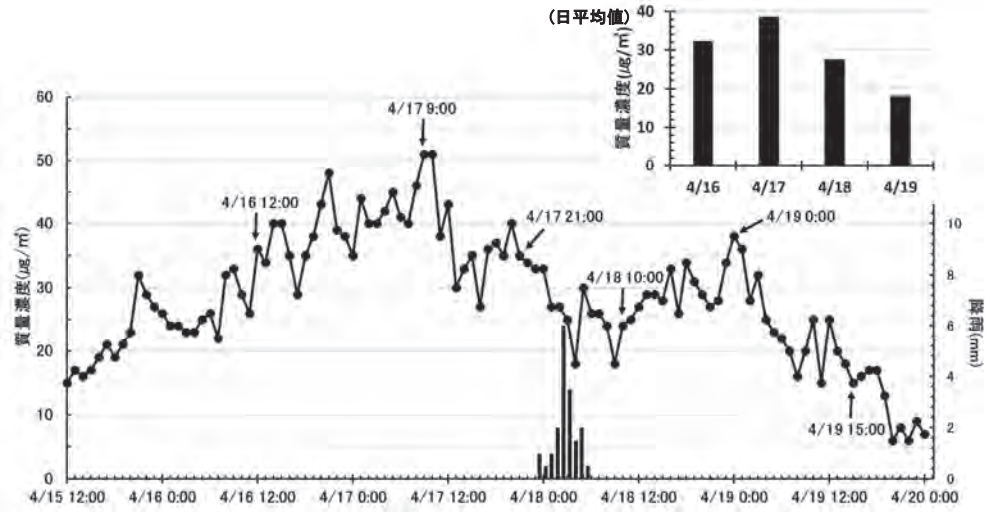


図2 PM2.5濃度の1時間値推移及び日平均値

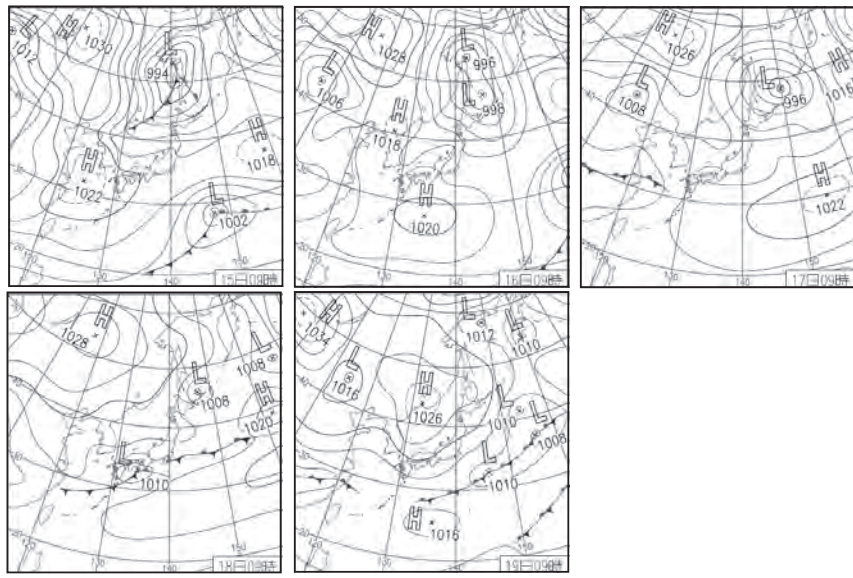


図3 天気図

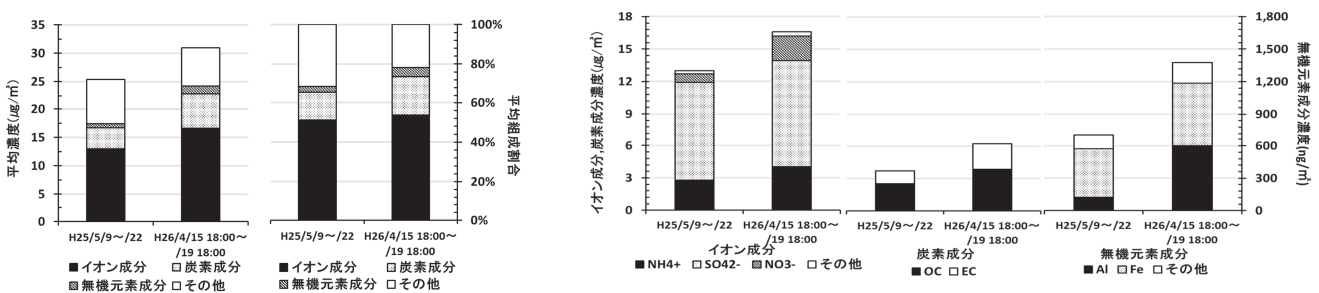


図4-1 平均濃度及び平均組成割合(全体)

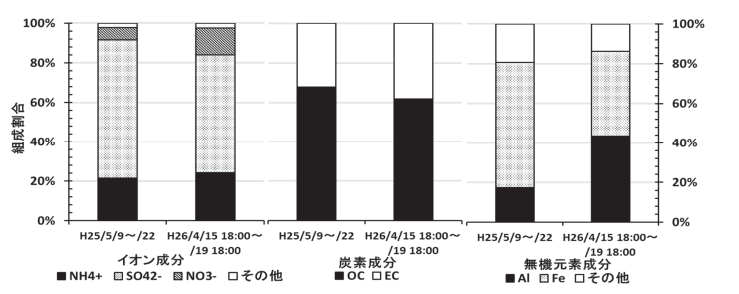


図4-2 平均濃度及び平均組成割合(成分)

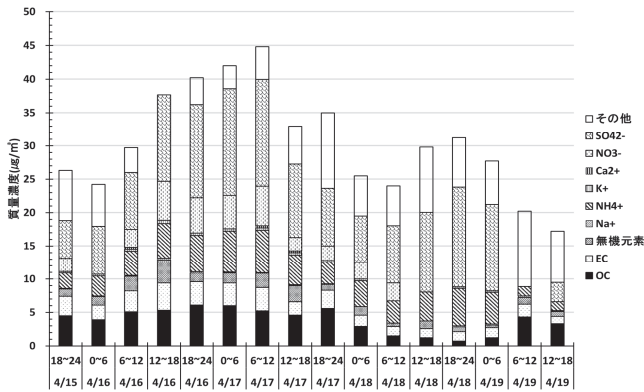


図 5-1 成分濃度の推移

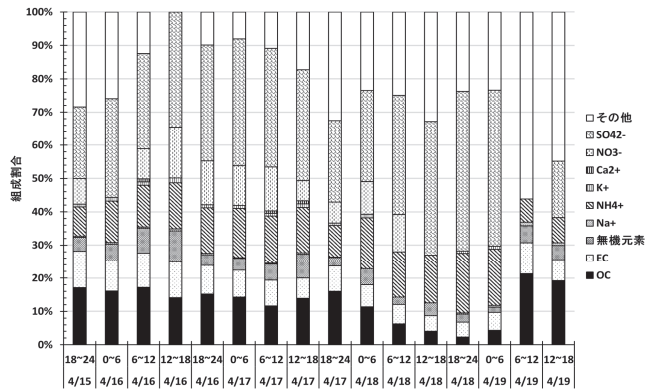


図 5-2 成分組成割合の推移

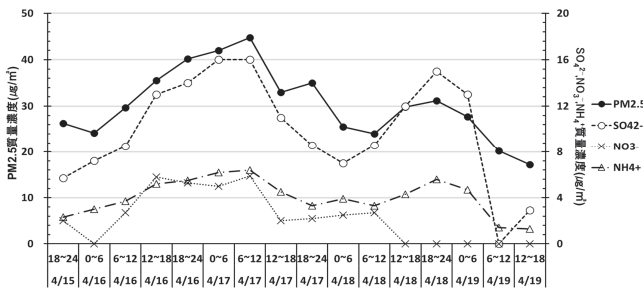


図 5-3 イオン成分濃度の推移

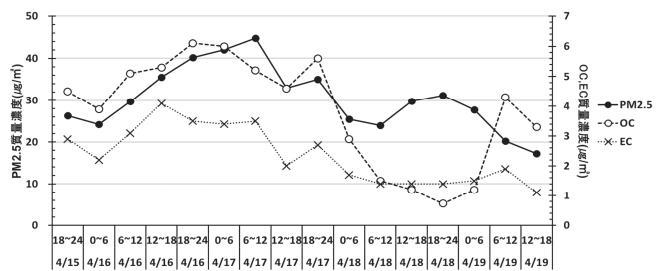


図 5-4 炭素成分濃度の推移

監視期間(平成 25 年 5 月 9～22 日,以下「常時監視期間」という。)の PM2.5 の平均濃度と平均組成割合を示す。常時監視期間は春期の大気環境を表す参考例に示した。集中観測期間の各時間帯の PM2.5 濃度の平均値は 30.9 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、イオン成分が濃度 17 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ で全体組成の 55%を占め、炭素成分 6.2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ , 20%, 無機元素成分 1.4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ , 5%, その他 6.3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ , 20%であった(その他は分析対象の 3 成分に分類されないもの等を含む)。

常時監視期間の各観測日の PM2.5 濃度の平均値は 25.4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、イオン成分 13 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (組成割合 51%), 炭素成分 3.7 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (同 15%), 無機元素成分 0.71 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (同 3%), その他 8.0 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (同 31%)であった。集中観測期間は常時監視期間より 3 成分とも濃度が増加していた。

集中観測期間のイオン成分のうち  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  の平均濃度の合計は 14 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、同成分の 82%を占めた。集中観測期間は常時監視期間(12 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ , 92%)より割合が低下したものの、イオン成分の大部分は  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  で占められていた。 $\text{NO}_3^-$  の平均濃度は 2.3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ でイオン成分の 14%を占め、常時監視期間(0.80 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ , 6%)と比較して増加していた。

炭素成分のうち OC, EC の平均濃度は 3.8 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ , 2.4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。常時監視期間の OC, EC の平均濃度(2.5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ , 1.2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )と比較して、OC, EC 濃度ともに増加し、

炭素成分に占める EC の割合(39%)が常時監視期間(32%)より増加した。

無機元素成分のうち Al の平均濃度は 0.60 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ で常時監視期間(0.12 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )の 5 倍増加し、Fe の平均濃度 0.59 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ と合計すると同成分の 86%を占めて常時監視期間(80%)より増加していた。集中観測期間はその他の元素の濃度も全体的に増加したが、Al, Fe の濃度増加が大きく、両元素が無機元素成分の大部分を占めた。Al, Fe は土壌や石炭燃焼との関連性が指摘されており<sup>15)</sup>, それらの影響が推察された。

### 3.4 集中観測期間の各成分の濃度, 組成割合の推移

図 5-1～5-4 は集中観測期間の成分濃度, 組成割合の推移及びイオン成分, 炭素成分濃度の推移, 図 6 は総社局の上空を起点とする後方流跡線を示す。なお, 4 月 16 日 12～18 時のみ各成分濃度の積み上げが PM2.5 濃度の 6 時間平均値を超過していた。

$\text{SO}_4^{2-}$  濃度は 0～16 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (組成割合 0～48%),  $\text{NO}_3^-$  濃度は 0～5.9 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (同 0～16%)の範囲で推移した。 $\text{SO}_4^{2-}$  濃度は 16 日 0 時以降 PM2.5 濃度と同様に変動する傾向を示し, PM2.5 が最大濃度(44.8 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )になった 17 日 6～12 時に最大まで上昇した。この時間帯に移流した大気の後方流跡線は大陸方面から朝鮮半島, 中国地方西部を経由しており, 大陸や西日本近辺の影響を受け

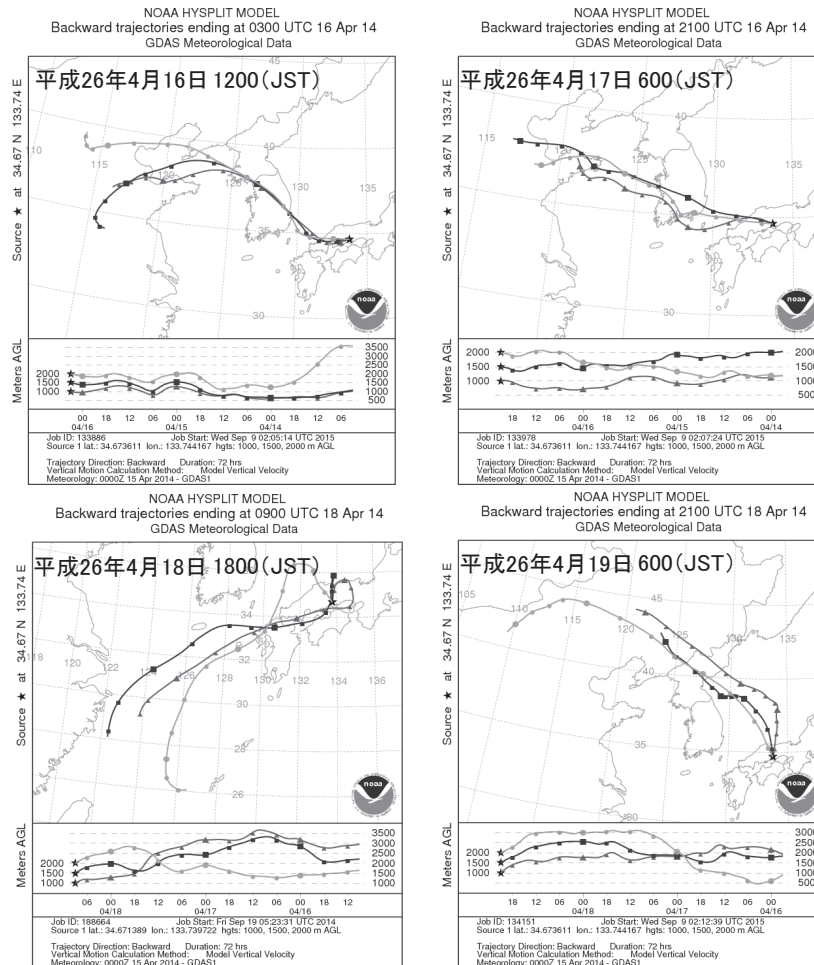


図6 後方流跡線

ていた可能性があった。NO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度は、16日6～12時から増加したものの、16日18時～17日6時の間で減少し、17日6～12時に再び増加して最大に達した。両イオンを併せた組成割合は16日12時～17日12時の間を50%程度で推移した。(図5-1, 5-2)

PM<sub>2.5</sub>濃度は18日6～12時を底に増加に転じて18日18～24時にピーク(31.2μg/m<sup>3</sup>)を示した。SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>濃度は17日12時～18日6時の間で減少し、18日6時以降増加してPM<sub>2.5</sub>と同様に18日18～24時にピーク(15μg/m<sup>3</sup>、最大組成割合48%)に達した。NO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度はSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>濃度と異なり18日18～24時にピークはみられず定量下限値未満で推移した。SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>濃度は19日6～12時に定量下限値未満まで低下したが、この時間帯に移流した大気の後方流跡線は大陸方面から朝鮮半島、中国地方北部を経由しており、16, 17日の後方流跡線との間に違いがみられた。

NH<sub>4</sub><sup>+</sup>濃度は1.3～6.4μg/m<sup>3</sup>(組成割合7～18%)、Na<sup>+</sup>濃度は0～0.23μg/m<sup>3</sup>(同0～1%)、K<sup>+</sup>濃度は0～0.52μg/m<sup>3</sup>(同0～1%)、Ca<sup>2+</sup>濃度は0～0.3μg/m<sup>3</sup>(同0～1%)の範囲で推移した。NH<sub>4</sub><sup>+</sup>はPM<sub>2.5</sub>と同様に濃度変動する傾向を示し、17日6～12時に最大濃度に達した。NH<sub>4</sub><sup>+</sup>濃度は18日6～12時を底に増加して18日18～24時にピーク(5.6μg/m<sup>3</sup>、最大組成割合18%)を示した。(図5-3)

SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>とNH<sub>4</sub><sup>+</sup>の濃度変動は同様の傾向を示した一方で、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>の濃度変動は両イオンに反した時間帯もみられた。OC濃度は0.73～6.1μg/m<sup>3</sup>(組成割合2～21%)の範囲で推移し、16日18～24時に最大となり、PM<sub>2.5</sub>濃度のピークがある17日6～12時や18日18～24時と異なる時間帯にピークを示した。OCの組成割合は、17日6～12時に12%を占めたものの、18日18～24時には2%まで減少した。(図5-1, 5-2)

EC濃度は1.1～4.1μg/m<sup>3</sup>(組成割合4～12%)の範囲で推移し、16日12～18時に最大となり、17日6～12時や18日18～24時に横ばい傾向で変動した。ECで

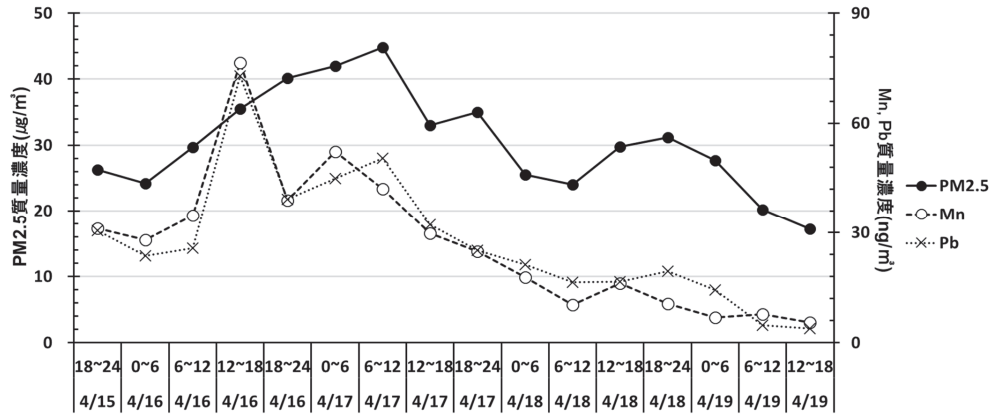


図7 無機元素成分濃度の推移

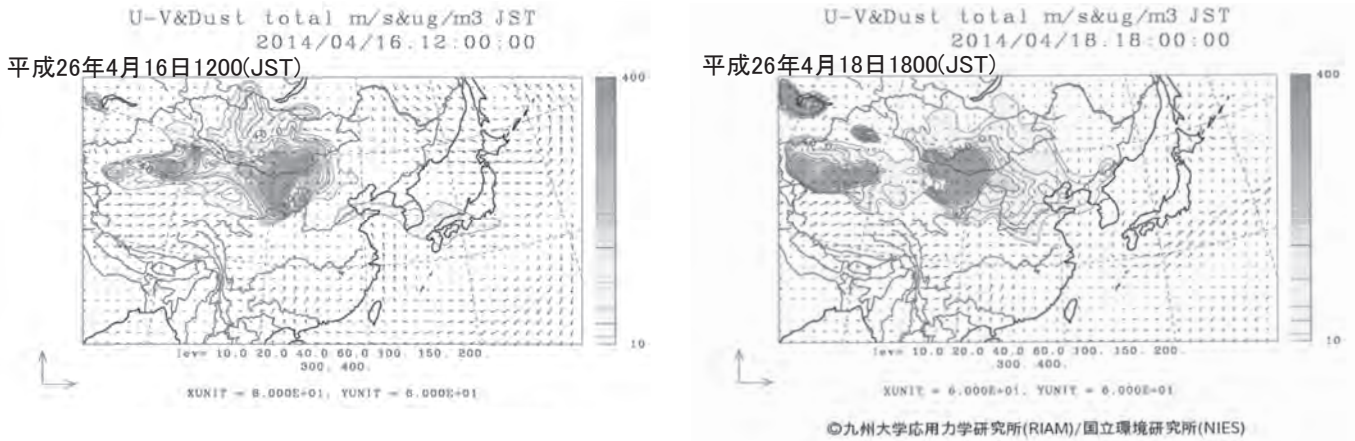


図8 土壌性ダスト推定分布

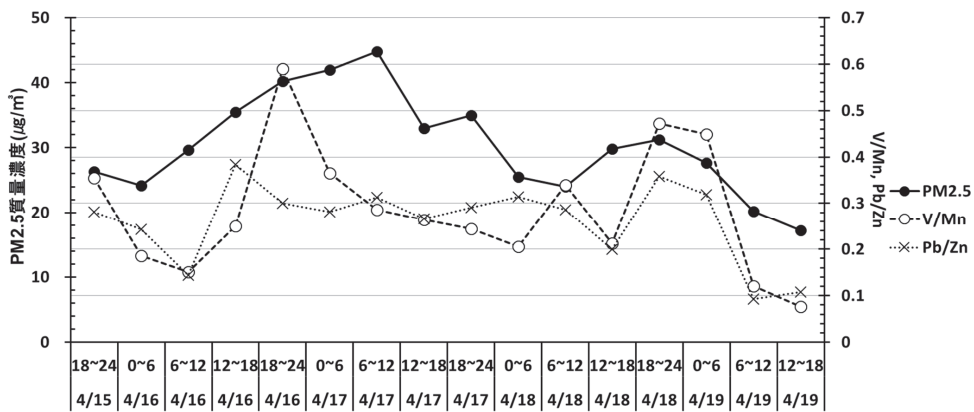


図9 無機元素成分濃度比の推移

も OC と同様に PM2.5 濃度の増減傾向に一致しない時間帯がみられた。EC と OC の間でも濃度変動の傾向が違う時間帯もあった。

総社局で観測していた NO<sub>x</sub> 濃度の 1 時間値は 16 日 6 時～17 日 12 時の間で 16 日 14 時や 20 時などにピーク(最大 34ppb)を示して平均 21ppb で推移し、17 日 12 時以降の平均濃度 4ppb と比較して高い濃度だった。EC は 16～17 日の間それ以降より高濃度で推移しており、NO<sub>x</sub> 排出を伴う化石燃料等の燃焼行為が 16～17 日の間の PM2.5 の挙動に影響した可能性が考えられた。また、NO<sub>x</sub> から硝酸塩粒子の形成が指摘されており<sup>16)</sup>、16 日 6 時～17 日 12 時の間 EC、NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 濃度変動に類似性がみられたことから両成分の排出源に関連性が考えられた。

OC、EC の濃度はともに 17 日 18～24 時に PM2.5 濃度に同期して増加した。岡山気象台では 17 日の日中は晴れて、同日 23 時から雨が降ったことが観測されており(図 2)、降雨が始まった時間帯で OC、EC 濃度は増加し、次の時間帯には PM2.5 濃度と同期して減少した。(図 5-4)

無機元素成分は濃度 0.41～3.5μg/m<sup>3</sup>(組成割合 1～10%)の範囲で推移した。無機元素成分の濃度、組成割合は 16 日 12～18 時に最大に達し、17 日 12～18 時に再度ピーク(2.4μg/m<sup>3</sup>)を示して以降、減少又は横ばい傾向で推移した。(図 5-1、5-2)

図 7 は無機元素成分の一例として Mn、Pb の濃度推移を示す。両元素は 16 日に PM2.5 濃度が増加傾向を示す時間帯(16 日 12～18 時)に最大濃度に上昇して PM2.5 が最大濃度になった時間帯(17 日 6～12 時)と 12 時間の差が生じた。Mn、Pb は最大濃度に上昇して以降 17 日 0～6 時や 6～12 時に濃度が再び増加した後減少傾向で推移した。その他の無機元素(Be は期間中定量下限値未満だった)も Mn、Pb と同様の濃度変動の傾向がみられた。V のみ 16 日 18～24 時に最大濃度を示し、17 日 0～6 時、6～12 時に濃度が減少した。16 日の各元素の平均濃度は 17 日と比較して 1.0～1.9 倍(組成割合では 1.2～2.3 倍)大きかった。後方流跡線は 16、17 日ともに大陸方面、朝鮮半島方面から中国地方を通った大気の流れを示したが、16 日の方が大陸の内陸、瀬戸内海沿岸に近い地域を経由していた。

これら無機元素の濃度は 18 日 18～24 時間前後の時間

帯で 17 日 6～12 時間前後より低くなり、18 日 18～24 時に PM2.5 に同期して濃度が増加した元素は V、Pb のみだった。18 日の PM2.5 濃度ピーク時の無機元素の挙動には 17 日までと差異がみられ、18 日の後方流跡線では東シナ海方面から九州北部、瀬戸内海沿岸などを通った大気の流れを示し、17、18 日の大気環境の違いが考えられた。

図 8 は CFORS で予測された土壌性ダストの推定分布を示す。16 日 12 時には西日本周辺に土壌性ダストの分布が予測された(16～17 日にかけて西日本周辺に分布予測)。先述のとおり無機元素成分は 16 日 12～18 時で最大濃度に達しており、土壌粒子に伴った無機元素成分の移流の可能性が考えられた。土壌性ダストの分布予測と 3.3 で示した Al や Fe の濃度、組成割合が増加した観測結果は整合した。

18 日 18 時に西日本周辺で土壌性ダストの分布は予測されず、無機元素は先述のとおり 18 日 18～24 時間前後を低濃度で推移した。ただし、V、Pb 濃度は土壌性ダストの影響が予測されない 18 日 18～24 時にも増加した。

### 3.5 無機元素成分の濃度比の推移

図 9 は無機元素成分の濃度比の推移を示す。いくつかの無機元素の濃度比が国内、国外起源の石油、石炭燃焼の指標として指摘される。そこで、石油燃焼の指標に V/Mn 比(国内 0.21～0.28、国外 0.054)、石炭燃焼の指標に Pb/Zn 比(国内 0.2～0.3、国外 0.5～0.6)を利用して、それぞれ濃度比の変動を調べた<sup>17、18)</sup>。

V/Mn 比は PM2.5 濃度のピークがある 17 日 6～12 時間前後に 0.26～0.37 の範囲で減少傾向で推移し、18 日 18～24 時間前後に 0.21～0.47 の範囲で変動した。PM2.5 濃度が最大になった 17 日 6～12 時より前の時間帯(大陸方面からの大気移流、土壌性ダストの影響が予測される)では、V/Mn 比は 16 日 6～12 時を底(0.15)に、16 日 18～24 時をピーク(0.59)とする変動がみられた。

一方、Pb/Zn 比は 17 日 6～12 時間前後に 0.27～0.31 の範囲で減少又は横ばい傾向で推移し、18 日 18～24 時間前後に 0.2～0.36 の範囲で変動した。17 日 6～12 時より前の時間帯では、Pb/Zn 比は 16 日 6～12 時を底(0.14)に、12～18 時をピーク(0.38)とする変動がみられた。

V/Mn 比、Pb/Zn 比は国外由来の影響が予測される時間帯で参照した指標のとおり推移せず、多くの時間帯

で概ね0.2～0.3の範囲にあり、集中観測期間に国内由来の影響を受けた可能性を示唆した。

#### 4. まとめ

4月15～19日の集中観測において、PM2.5濃度は概ね1時間値35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 超過を16日12時から17日21時まで1日以上継続した。PM2.5濃度の6時間平均値は17日6～12時に期間中の最大値(44.8 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )に達し、18日18～24時にもピーク(31.2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )がみられた。

この期間のPM2.5濃度に対してイオン成分は平均組成の55%を占め、そのうち $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{NH}_4^+$ が主成分となりPM2.5と同様の濃度変動を示す傾向がみられ、PM2.5と同じ時間帯(17日6～12時)に最大濃度に達した。炭素成分、無機元素成分は平均組成20%、5%を占め、PM2.5が最大濃度に達する前の時間帯(16日12～18時、18～24時)に最大濃度まで増加し、PM2.5に反した濃度変動の傾向をもつ時間帯があった。無機元素成分のうちMn、Cr、Ni、As、Al、Fe、Zn、Cu、V、Pb、Se、CdにはPM2.5と最大濃度に達した時間帯に6～12時間の差があった。

17、18日のPM2.5濃度のピーク時には成分の組成割合の状況に差異がみられた。

後方流跡線は16、17日に大気の外移流を示し、国外からの無機元素成分の濃度変動への影響が考えられるものの、無機元素成分の濃度比(V/Mn、Pb/Zn)の変動は集中観測期間の多くの時間帯で国内由来の影響があった可能性を示唆した。

#### 文 献

- 1) 喜多真帆, 中野温朗, 野村 茂, 信森達也, 鷹野洋: 自動測定機を用いたPM2.5とSPM及びその他の物質の相関について, 岡山県環境保健センター年報38, 1-5, 2014
- 2) 中野温朗, 深見武史, 喜多真帆, 野村 茂, 信森達也, 鷹野 洋: 岡山県におけるPM2.5に係る平成23年度の観測結果について, 岡山県環境保健センター年報37, 1-8, 2013
- 3) 杉山広和, 信森達也, 野村 茂, 前田 泉: 環境中の大気汚染物質に関する研究(微小粒子PM2.5による大気汚染)-第2報-, 岡山県環境保健センター年報32, 7-10, 2008
- 4) 杉山広和, 信森達也, 前田 泉: 環境中の大気汚染物質に関する研究(微小粒子PM2.5による大気汚染)-第3報-, 岡山県環境保健センター年報32, 11-16, 2008
- 5) 杉山広和, 石井尚志, 野村 茂, 門田 実, 前田 泉: 環境中の大気汚染物質に関する研究(微小粒子状物質PM2.5による大気汚染)-第4報-, 岡山県環境保健センター年報33, 1-5, 2009
- 6) 石井尚志, 野村 茂, 中桐未知代, 山辺真一: 環境中の大気汚染物質に関する研究(微小粒子PM2.5による大気汚染)-第5報-, 岡山県環境保健センター年報34, 7-10, 2010
- 7) 林 隆義, 中桐未知代, 野村 茂, 小川 登, 片岡敏夫, 中桐基晴: 環境中の大気汚染物質に関する研究(微小粒子PM2.5による大気汚染)-第6報-, 岡山県環境保健センター年報35, 1-7, 2011
- 8) 中桐未知代, 吉岡敏行, 林 隆義, 野村 茂, 中桐基晴: 環境中の大気汚染物質に関する研究(微小粒子PM2.5による大気汚染)-第7報-, 岡山県環境保健センター年報35, 9-18, 2011
- 9) 林 隆義, 中桐未知代, 野村 茂, 小川 登, 深見武史, 中桐基晴: 環境中の大気汚染物質に関する研究(微小粒子状物質PM2.5による大気汚染)-第8報-, 岡山県環境保健センター年報36, 1-8, 2012
- 10) 中桐未知代, 林 隆義, 野村 茂, 小川 登, 深見武史, 中桐基晴: 環境中の大気汚染物質に関する研究(微小粒子状物質PM2.5による大気汚染)-第9報-, 岡山県環境保健センター年報36, 9-16, 2012

- 11) 大気汚染予測システム (VENUS)  
<http://envgis6.nies.go.jp/osenyosoku/>
- 12) 気象庁ホームページ: 日々の天気図  
<http://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/hibiten/index.html>
- 13) HYSPLIT - Hybrid Single Particle Lagrangian Integrated Trajectory Model  
[http://ready.arl.noaa.gov/HYSPLIT\\_traj.php](http://ready.arl.noaa.gov/HYSPLIT_traj.php)
- 14) 気象庁ホームページ: 各種データ・資料  
<http://www.jma.go.jp/jma/menu/menureport.html>
- 15) 微小粒子状物質 (PM2.5) の成分分析ガイドライン:  
環境省 平成 23 年 7 月
- 16) 微小粒子状物質健康影響評価検討会報告書: 環境省  
平成 20 年 4 月
- 17) 日置正: 日中環境産業, 48, 10, 27-37, (2012)
- 18) 日置正, 紀本岳志, 長谷川就一, 向井人史, 大原利真, 若松伸司: 松山, 大阪, つくばで観測した浮遊粉じん中金属元素濃度比による長距離輸送と地域汚染特性の解析, 大気環境学会誌, 44, 2, 91-101, (2009)





【資 料】

## 岡山県下における微小粒子状物質の成分の実態について(第2報)

### Component Analysis of PM2.5 in Okayama Prefecture(No.2)

中野温朗, 間野遼太, 喜多真帆, 野村 茂, 信森達也, 鷹野 洋(大気科)

Atsurou Nakano, Ryouta Mano, Maho Kita, Shigeru Nomura,

Tatsuya Nobumori, Hiroshi Takano(Atmosphere Section)

### 要 旨

環境大気中の微小粒子状物質(以下「PM2.5」という。)の質量濃度が1時間値 35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 超過を継続した期間を含む平成26年5月27日から6月3日に捕集したPM2.5の成分分析結果を解析した。分析対象とした成分のうちイオン成分がPM2.5平均組成の45%を占め, 同成分のうち $\text{SO}_4^{2-}$ と $\text{NH}_4^+$ が主成分となりPM2.5と同様の濃度変動の傾向がみられ, PM2.5と同じ時間帯に最大濃度に達した。炭素成分, 無機元素成分は平均組成の5%, 8%を占め, PM2.5が期間中の最大濃度に達した時間帯には最大濃度にならず, PM2.5に反した濃度変動の傾向をもつ時間帯があった。無機元素成分間にも濃度変動に違いがみられ, PM2.5と最大濃度に達した時間帯に36~60時間の差があった。

[キーワード: 微小粒子状物質, 質量濃度, 成分分析]

[Key words: PM2.5, Mass Concentration, Component Analysis]

### 1 はじめに

第1報<sup>1)</sup>では, 環境基準の短期基準を超過した時の微小粒子状物質(以下「PM2.5」という。)の実態解明に資するため, 1時間値 35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 超過を継続した期間(平成26年4月15日~19日)のPM2.5成分の推移を「大気中微小粒子状物質成分測定マニュアル(環境省平成24年4月)」に定められる捕集時間(24時間)より短い6時間間隔で連続して集中的に観測(以下「集中観測」という。)した結果を報告した。本報では, 同様の集中観測を実施した平成26年5月27日18時から6月3日12時までの観測結果を報告する。

### 2 調査方法

本報の調査方法(地点, 捕集, 成分分析, 解析)はいずれも第1報と同様とした。

### 3 結果及び考察

#### 3.1 集中観測期間のPM2.5濃度の推移

図1は総社局の自動測定機DKK製FPM-377で観測された環境大気中のPM2.5の質量濃度(以下「PM2.5濃度」という。)の1時間値推移及び日平均値を示す。

PM2.5濃度は5月28日6時頃から増加して15時45 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ をピークに減少傾向になり, 29日5時前後を底に再度増加し始めて12時には35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ を超過した。その後PM2.5濃度は増減を繰り返しながら概ね35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 超過を6月2日22時まで約4.5日間継続し, 3日12時に10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ まで減少した。日平均値は, 28日29.6 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ , 29日35.2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ , 30日47.5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ , 31日47.6 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ , 1日41.0 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ , 2日41.2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ , 3日14.5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ だった。日平均値は29日から2日まで短期基準35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ を超過した。

#### 3.2 集中観測期間の気象

図2は各日の天気図を示す<sup>2)</sup>。集中観測期間は, 5月28~29日にかけて低気圧が西日本を覆い太平洋上に停滞前線が6月1日までとどまり, 30~1日にかけて移動性高気圧が西日本を通過して2~3日には前線を伴う低気圧が西日本に接近した。なお, 集中観測期間に岡山気象台では降雨は観測されず, 黄砂が28~2日まで6日間連続して観測された<sup>3)</sup>。

総社局で行っている風向, 風速の観測では27~2日にかけて類似した傾向が示された。風向は午前中(6~12時)に東北東, 日中(12~18時)に南や南南西, 夜中

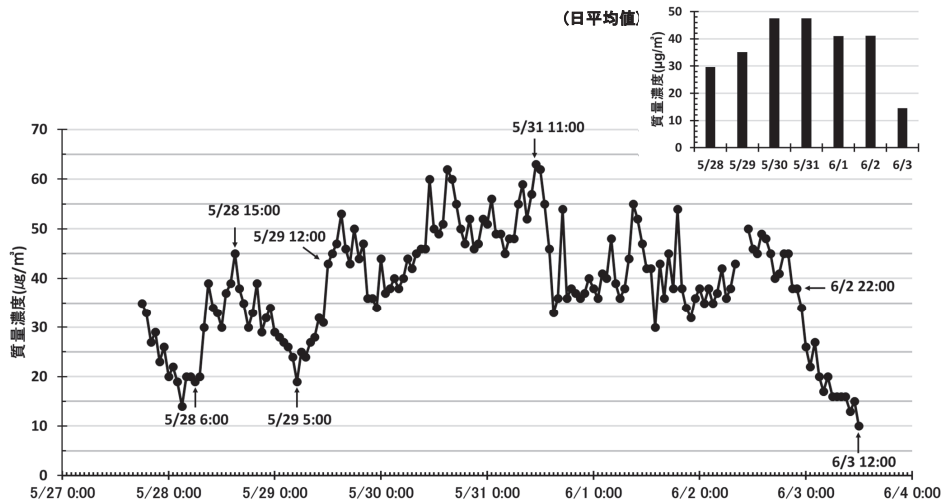


図1 PM2.5濃度の1時間値推移及び日平均値

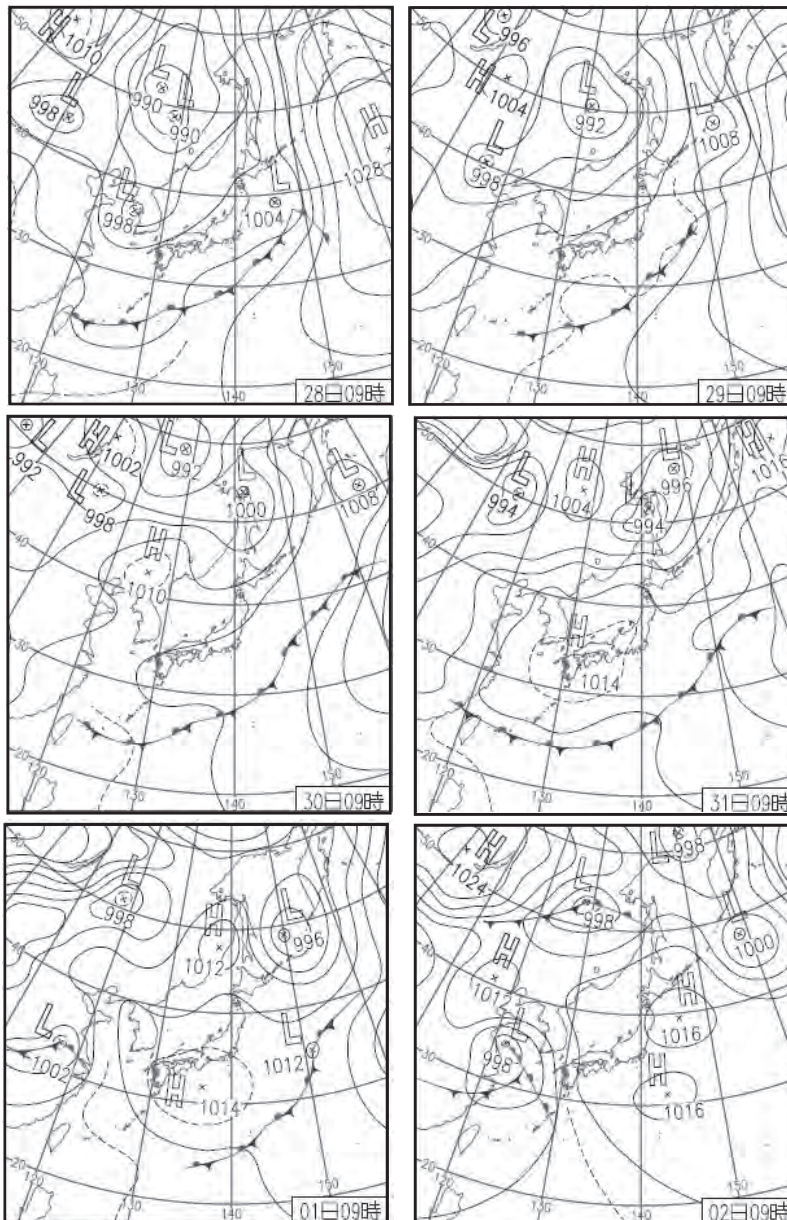


図2 天気図

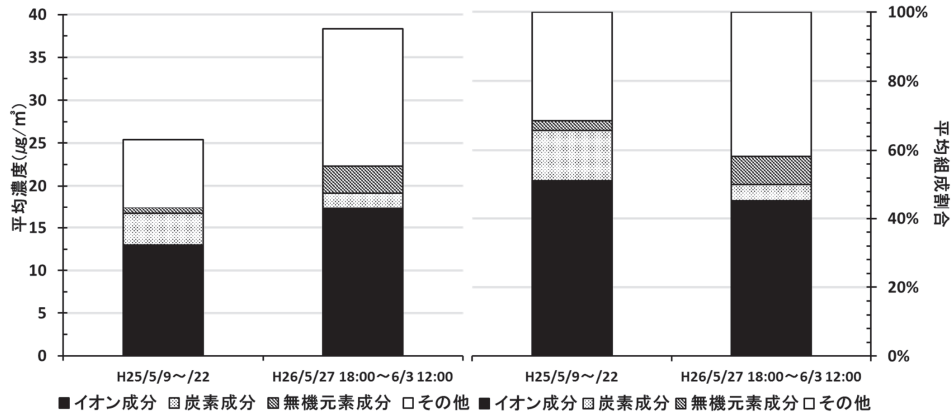


図 3-1 平均濃度及び平均組成割合(全体)

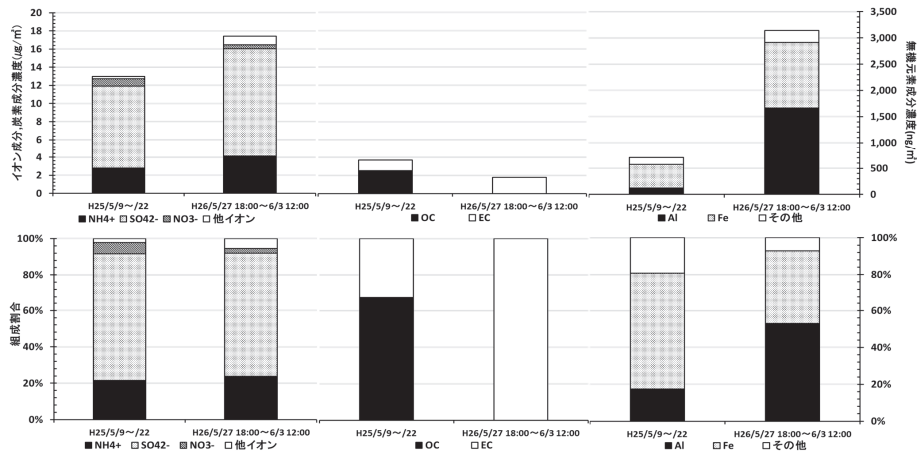


図 3-2 平均濃度及び平均組成割合(成分)

から早朝(18～6時)に西や北西が卓越していた。平均風速は日中(2.2m/s)で午前中、夜中や早朝(0.9～1.2m/s)より大きくなった。2日以降は東北東の風向が卓越した。

### 3.3 PM2.5 成分の平均濃度と平均組成割合

図 3-1、3-2 は集中観測期間及び平成 25 年度春期常時監視期間(平成 25 年 5 月 9～22 日、以下「常時監視期間」という。)の PM2.5 の平均濃度と平均組成割合を示す。常時監視期間は春期の大気環境を表す参考例に示した。集中観測期間の各時間帯の PM2.5 濃度の平均値は 37.9µg/m³であり、イオン成分が濃度 17µg/m³で全体組成の 45%を占め、炭素成分 1.8µg/m³、5%、無機元素成分 3.1µg/m³、8%、その他 16µg/m³、42%であった(その他は分析対象の 3 成分に分類されないもの等を含む)。

常時監視期間の各観測日の PM2.5 濃度の平均値は 25.4µg/m³であり、イオン成分 13µg/m³(組成割合 51%)、炭素成分 3.7µg/m³(同 15%)、無機元素成分 0.71µg/m³(同 3%)、その他 8.0µg/m³(同 31%)であった。集中観測期間は常時監視期間よりイオン成分の濃度は増加したもの

の割合が低下した一方で、無機元素成分の濃度は 4 倍以上、割合は 2 倍以上増加した。有機炭素(OC)が定量下限値未満だったため元素状炭素(EC)のみの観測結果となって、炭素成分の濃度、割合は減少した。

集中観測期間のイオン成分のうち SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、NH<sub>4</sub><sup>+</sup> の平均濃度の合計は 16µg/m³であり、同成分の 94%を占めた。SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、NH<sub>4</sub><sup>+</sup> は集中観測期間に常時監視期間(12µg/m³、92%)と比較して濃度は増加したが、イオン成分に占める割合は同程度の結果だった。NO<sub>3</sub><sup>-</sup> の平均濃度は 0.43µg/m³で、イオン成分の 3%を占めて常時監視期間(0.80µg/m³、6%)より低下した。

無機元素成分のうち Al の平均濃度は 1.7µg/m³で常時監視期間(0.12µg/m³)の 14 倍増加し、Fe の平均濃度 1.2µg/m³と合計すると同成分の 94%(常時監視期間 80%)を占めた。Fe は無機元素成分の 39%を占めて常時監視期間の同割合 63%から低下した一方で、Al の同割合は常時監視期間の 17%から 55%に増加した。集中観測期間は他の元素の濃度も全体的に増加したが、Al 濃度が

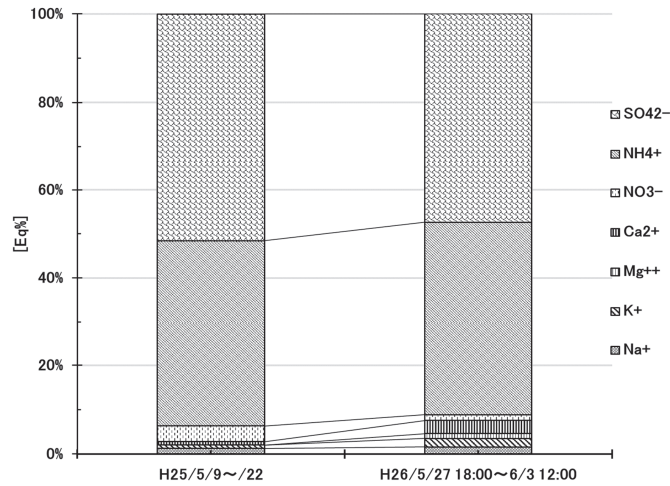


図4 イオン組成(当量比)

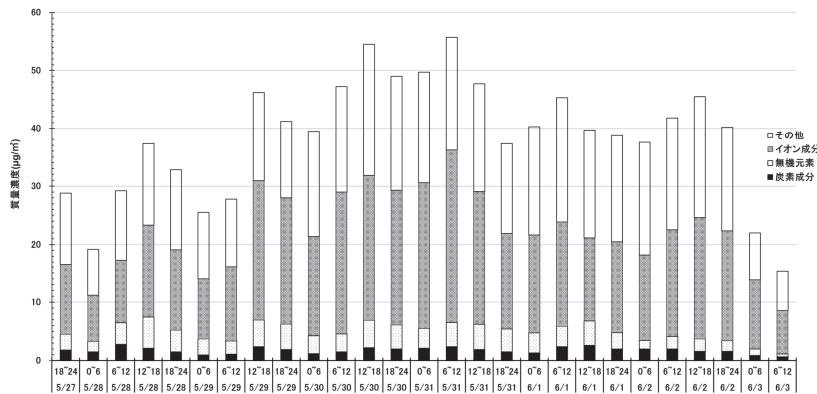


図5 成分濃度の推移

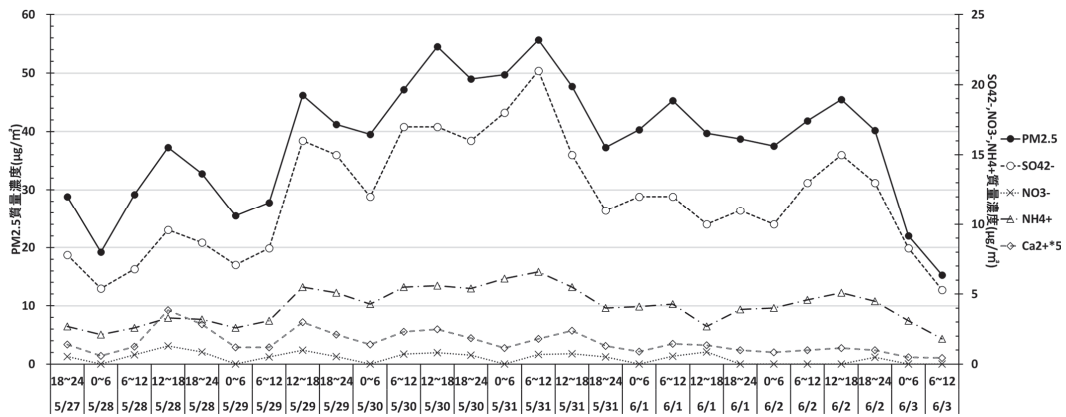


図6 イオン成分濃度の推移

他元素と比較して大幅に増加していた。Al 濃度増加については3.2で述べた黄砂移流との関連性が考えられた<sup>4)</sup>。

図4は集中観測期間と常時監視期間のイオン成分の平均当量比を示す。平均当量比は集中観測期間で常時監視期間よりSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>は低下し、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>は同程度だったのに対して、Ca<sup>2+</sup>やK<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>は2倍以上増加していた。集中観測期間には平均当量比の構成に変化はあったが、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>がイオン成分の平均濃度に占める割合は変わらず、Ca<sup>2+</sup>

やK<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>の影響は限定的だった。Ca<sup>2+</sup>当量の増加については土壌粒子との関連性が考えられた<sup>5、6)</sup>。

### 3.4 集中観測期間の各成分の濃度、組成割合の推移

図5は集中観測期間の成分濃度の推移、図6はイオン成分濃度の推移、図7はアメリカ海洋大気庁 NOAA HYSPLIT Trajectory Model<sup>7)</sup>による後方流跡線、図8は九州大学と国立環境研究所の運用する化学天気予報システム(CFORS)<sup>8)</sup>による硫酸塩エアロゾル推定分布を示す。

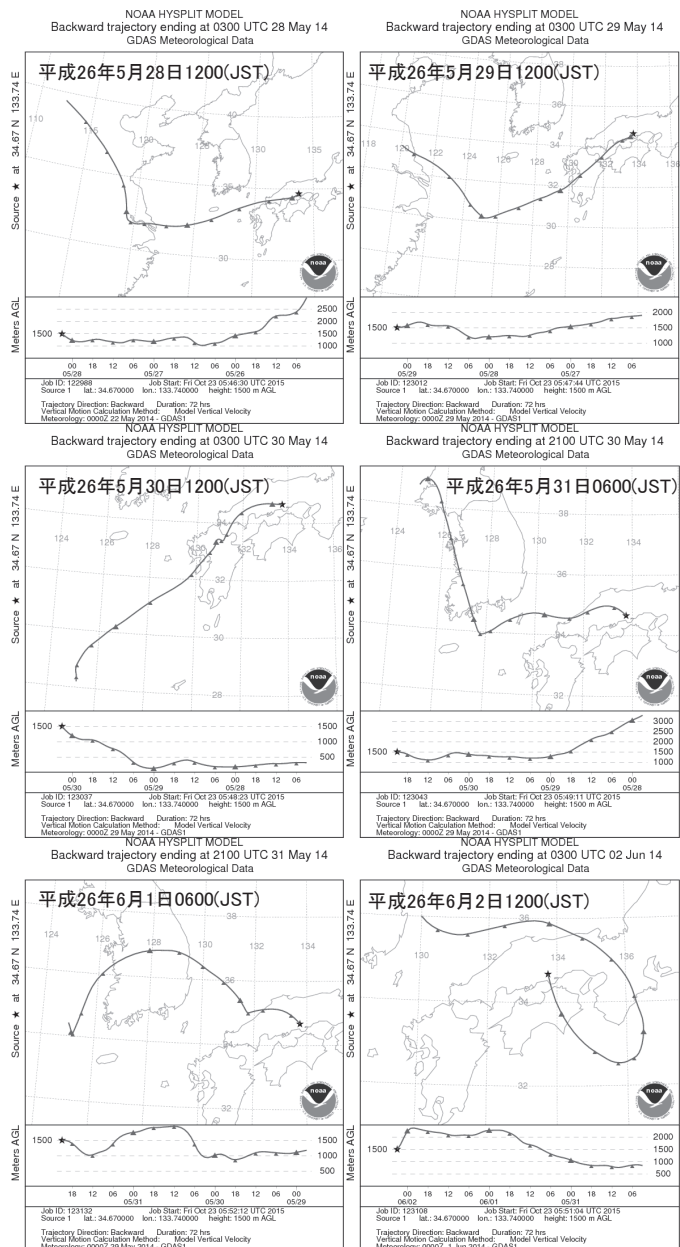
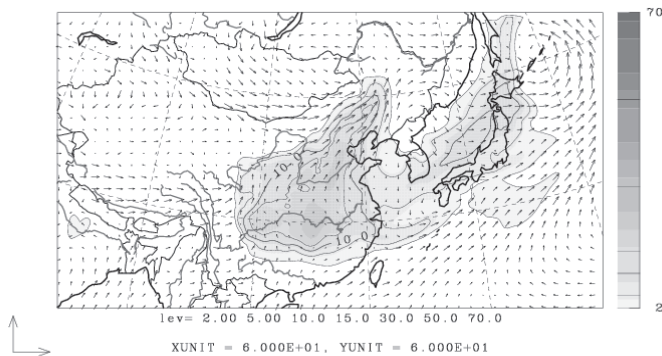


図7 後方流跡線

U-V&Sulfate m/s&ug/m<sup>3</sup> JST  
2015/05/31.06:00:00



©九州大学応用力学研究所(RIAM)/国立環境研究所(NIES)

図8 硫酸塩エアロゾル推定分布

SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>濃度は5.3～21μg/m<sup>3</sup>(組成割合23～38%), NO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度は0～1.3μg/m<sup>3</sup>(同0～3%)の範囲で推移した。SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>は5月27日18時以降PM2.5と同様の濃度変動の傾向をもってPM2.5が最大濃度(55.7μg/m<sup>3</sup>)になった31日6～12時に最大濃度21μg/m<sup>3</sup>(組成割合38%)まで増加した。31日12時以降, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>濃度は減少又は横ばい傾向で推移した後6月2日12～18時にもピーク(15μg/m<sup>3</sup>)を示した。NO<sub>3</sub><sup>-</sup>は28日12～18時に最大濃度1.3μg/m<sup>3</sup>(3%)まで増加したが, 別の時間帯では定量下限値未満に低下するなどSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>より低く狭い濃度範囲で変動した。(図5, 6)

NH<sub>4</sub><sup>+</sup>濃度は1.8～6.6μg/m<sup>3</sup>(組成割合7～14%)の範囲で推移した。NH<sub>4</sub><sup>+</sup>はPM2.5と同様の濃度変動の傾向をもって31日6～12時に最大濃度6.6μg/m<sup>3</sup>(組成割合12%)まで増加し, 同時間帯のSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>と併せるとPM2.5の組成割合50%を占めるに至った。なお, 集中観測期間の各時間帯で観測されたSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>の合計組成割合が30%を下回ることはなかった。31日12時以降, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>は減少又は横ばい傾向で推移した後SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>と同様に2日12～18時にもピーク(5.1μg/m<sup>3</sup>)を示した。その他にSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>には各日の6～12時や12～18時に濃度上昇する傾向がみられた。

NH<sub>4</sub><sup>+</sup>以外の陽イオンの中で高い平均濃度を示したCa<sup>2+</sup>は0.09～0.77μg/m<sup>3</sup>(組成割合0～2%)の範囲で推移した。Ca<sup>2+</sup>濃度は28日12～18時に最大に達し, 29, 30, 31日の12～18時にもそれぞれピークをもって増減した。

31日6時, 1日6時に総社局の上空に流入した大気の後方流跡線は朝鮮半島から中国地方を通過していた。(図7)30～1日の間は朝鮮半島や九州, 四国, 中国地方, 瀬戸内海を經由した後方流跡線が多くみられ, これらの地域の気象環境が観測結果に影響を及ぼした可能性があった。

CFORSでは集中観測期間に継続的な硫酸塩エアロゾルの分布が予測されており, その分布は大陸から日本にかけての地域を覆っていた。SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>濃度が最大になった時間帯の31日6時においても硫酸塩エアロゾルの影響下にあったことが予測されていた。(図8)

図9は炭素成分濃度の推移を示す(OCは定量下限値未満だったため表記せず)。EC濃度は0.66～2.8μg/m<sup>3</sup>(組成割合3～10%)の範囲で推移し, PM2.5と同様に29

日12～18時や31日6～12時にピークをもって変動した。ECは28日6～12時に最大濃度2.8μg/m<sup>3</sup>(10%)に達し, 2日12～18時前後を減少傾向で推移したなどPM2.5の濃度変動に一致しない時間帯もあった。ECの平均濃度1.8μg/m<sup>3</sup>(5%)は, 常時監視期間の平均濃度1.2μg/m<sup>3</sup>(5%)と同程度の結果だった。

無機元素成分濃度は0.49～5.4μg/m<sup>3</sup>(組成割合3～14%)の範囲で推移した(図5)。無機元素成分は28日12～18時に最大濃度5.4μg/m<sup>3</sup>(同14%)に達した以降増減を繰り返した。無機元素成分にはSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>と同様に各日の6～12時や12～18時に濃度上昇する傾向がみられた。

図10は無機元素成分の一例としてMn, Al, Vの濃度推移, 図11はCFORSで予測された土壌性ダストの推定分布を示す。

Mn, Alは28日12～18時に, Vは29日12～18時に最大濃度150, 2600, 14ng/m<sup>3</sup>にそれぞれ達した(最大組成割合に達したのはMn, Alが28日12～18時だったのに対して, Vは28日6～12時だった)。PM2.5濃度は28日12～18時や29日12～18時にピークを示したものの, 31日6～12時に最大に達しており, Mn, Al, VはPM2.5より36～60時間前に最大濃度に達していた。Mnは28, 29日の方が30日以降より濃度上昇したが, Al, Vは30日以降でも28, 29日と同程度に濃度上昇した時間帯がみられた。Mnについては28日12～18時の方が29日12～18時の約2倍高い濃度を示した。

28日12時に総社局の上空に流入した大気の後方流跡線は大陸内陸から東シナ海, 中国地方西部を經由していた。また, 29日12時の後方流跡線は大陸沿岸から東シナ海, 九州中部, 瀬戸内海を經由して, 28日12時のものより南方面の経路だった(図7)。CFORSでは両時間帯に土壌性ダストの分布が西日本に予測され, 經由した各地域の環境に影響された大気や土壌粒子が移流していた可能性があった。(図11)

PM2.5濃度にピークがみられた時間帯の30日12時, 31日6時や1日6時にもCFORSでは土壌性ダストの分布が西日本に予測されていた。30～1日にかけて, Mnは減少又は横ばい傾向, Alは12～18時に増加傾向, Vは6～12時に増加傾向で濃度が変動した。Alのピーク濃度は30日>31日>1日で推移したが, Vにはこの

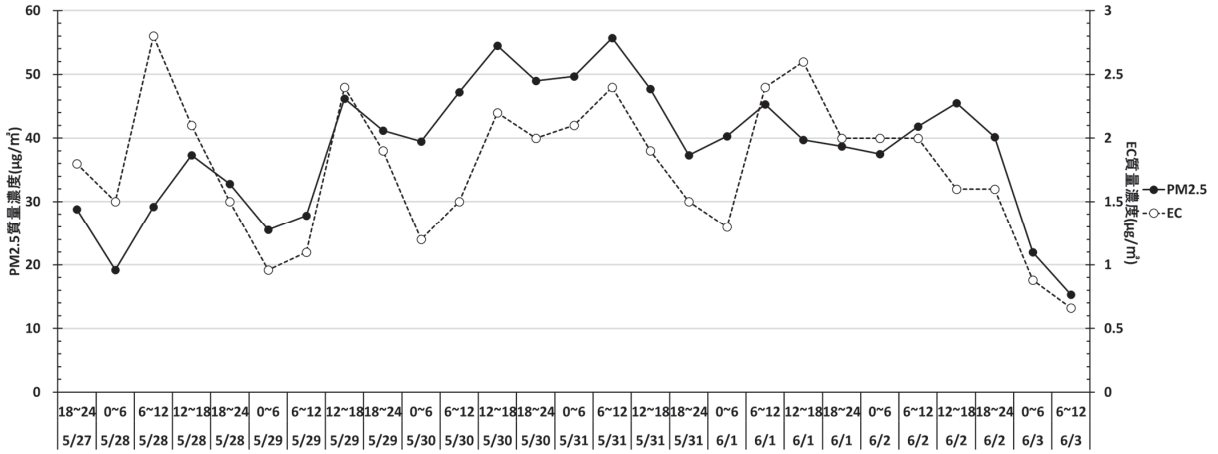


図9 炭素成分濃度の推移

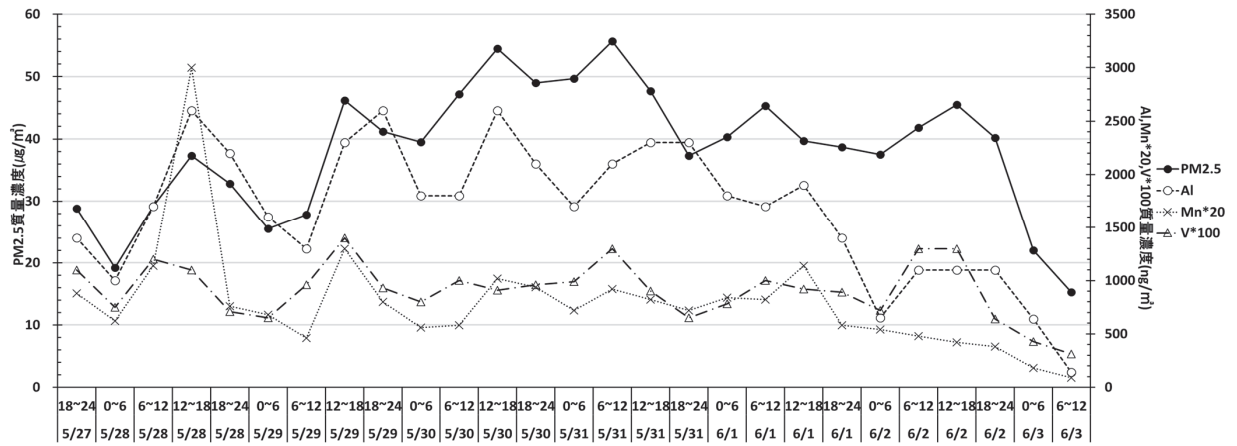


図10 無機元素成分濃度の推移

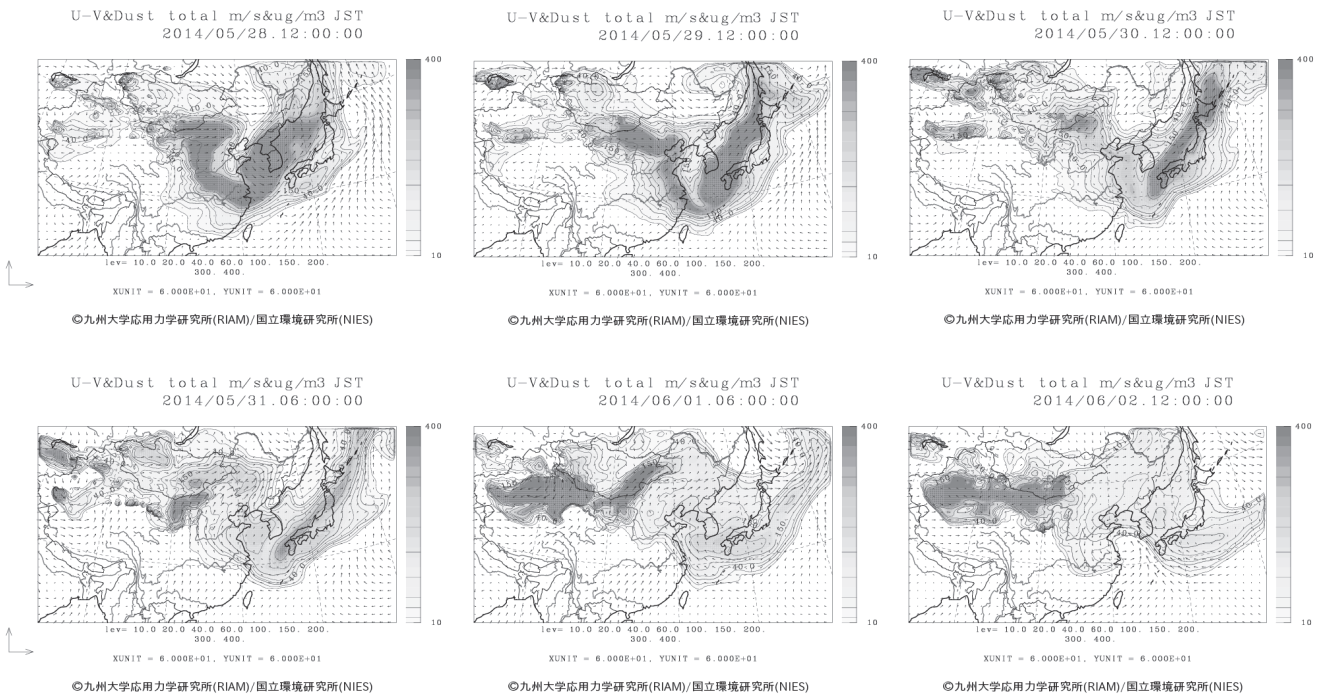


図11 土壌性ダスト推定分布

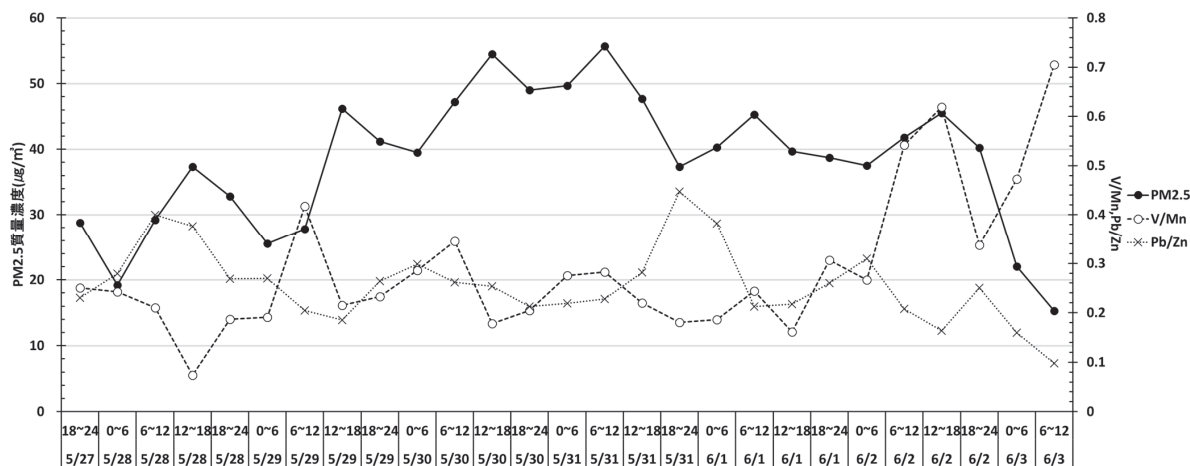


図 12 無機元素成分濃度比の推移

傾向はみられなかった。

PM2.5 が最も高濃度で推移していたのは、28、29日の大陸方面から大気に移流した時間帯ではなく、30、31日の朝鮮半島や九州、中国地方などを経由した大気に移流した時間帯だった。

PM2.5 濃度がピークをもって増減した2日0～24時の時間帯で、Mnは減少し、Alは増加又は横ばいで推移し、Vは29日12～18時と同程度まで濃度上昇していた。2日12時の後方流跡線は西日本を周回しており(図7)、2日のPM2.5の挙動は28、29日より国内の大気環境の影響を受けた可能性があった。

### 3.5 無機元素成分の濃度比の推移

図12は無機元素成分の濃度比の推移を示す。第1報と同様に石油燃焼の指標にV/Mn比(国内0.21～0.28, 国外0.054)、石炭燃焼の指標にPb/Zn比(国内0.2～0.3, 国外0.5～0.6)を利用して、それぞれ濃度比の変動を調べた。

PM2.5 濃度のピークがある5月28日12～18時前後にV/Mn比は0.07～0.24、Pb/Zn比は0.27～0.4の範囲で変動しており、28日に国外由来の影響を受けた可能性が示唆された。3.4で述べたように28日に流入した大気は国外の土壌粒子も含んでいた可能性が考えられ、石油燃焼や石炭燃焼に伴って発生した無機元素も同様に移流していた可能性があった。

PM2.5 濃度が35μg/m³を超過した29日12時～2日6時の多くの時間帯で、V/Mn比、Pb/Zn比はともに概ね0.2～0.3の範囲にあり、国内由来の影響を受けていた可能性があった。また、V/Mn比は2日12～18時をピークに0.34～0.62の範囲で増減して同時間帯の

PM2.5 濃度の増減に対応して推移したなど参照した指標と関連付けが困難な挙動もみられた。

## 4 まとめ

5月27日～6月3日の集中観測において、PM2.5濃度は概ね1時間値35μg/m³超過を29日12時から2日22時まで約45日間継続し、6時間平均濃度は31日6～12時に最大(55.7μg/m³)に達した。

この期間のPM2.5濃度に対してイオン成分は平均組成の45%を占め、そのうちSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>が主成分となりPM2.5と同様の濃度変動を示す傾向がみられ、PM2.5と同じ時間帯(31日6～12時)に最大濃度に達した。炭素成分は平均組成5%を占め、ECはPM2.5が最大濃度に達する前の時間帯(28日6～12時)に最大濃度まで増加し、PM2.5に反した濃度変動の傾向をもつ時間帯があった。無機元素成分は平均組成8%を占め、大陸方面からの大気の流れや土壌性ダストの分布が予測された28日12～18時に最大濃度5.4μg/m³(組成割合14%)まで増加した。Mn、Al、VはPM2.5より36～60時間前の時間帯(28日12～18時、29日12～18時)に最大濃度まで増加した。PM2.5が最も高濃度で推移した30～1日にかけて、Mnは横ばい又は減少傾向、Alは12～18時に増加傾向、Vは6～12時に増加傾向で濃度が変動したなど無機元素成分間にも濃度変動に違いがみられた。



## 文 献

- 1) 中野温朗, 間野遼太, 喜多真帆, 野村 茂, 信森達也, 鷹野 洋:岡山県下の微小粒子状物質の成分の実態について, 岡山県環境保健センター年報 39, 1-9, 2015
- 2) 気象庁ホームページ:日々の天気図  
<http://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/hibiten/index.html>
- 3) 気象庁ホームページ:各種データ・資料  
<http://www.jma.go.jp/jma/menu/menureport.html>
- 4) 黄砂実態解明調査報告書(平成 15 ~ 24 年度):環境省 平成 26 年 3 月
- 5) 杉山広和, 信森達也, 前田 泉:環境中の大気汚染物質に関する研究(微小粒子 PM2.5 による大気汚染)-第 3 報-, 岡山県環境保健センター年報 32, 11-16, 2008
- 6) 微小粒子状物質 (PM2.5) の成分分析ガイドライン:環境省 平成 23 年 7 月
- 7) HYSPLIT - Hybrid Single Particle Lagrangian Integrated Trajectory Model  
[http://ready.arl.noaa.gov/HYSPLIT\\_traj.php](http://ready.arl.noaa.gov/HYSPLIT_traj.php)
- 8) 東アジア域の黄砂・大気汚染物質分布予測:九州大学/国立環境研究所 化学天気予報システム  
<http://www-cfors.nies.go.jp/~cfors/index-j.html>



【資 料】

## 岡山県における平成 26 年度酸性雨調査結果

Acid rain survey result in Okayama Prefecture in 2014

間野遼太, 喜多真帆, 中野温朗, 野村 茂, 信森達也, 鷹野 洋(大気科)

Ryouta Mano, Maho Kita, Atsurou Nakano, Shigeru Nomura,

Tatsuya Nobumori, Hiroshi Takano(Atmosphere Section)

### 要 旨

岡山県では平成 2 年度から酸性雨に関する調査を実施しており、平成 26 年度の調査結果をまとめた。平成 26 年度における美作局の pH 年平均値は 4.62 であり、全国平均値と近い値であったが、井笠事務所の pH 年平均値は 5.19 であり、高い傾向にあった。また、pH 年平均値は美作局、井笠事務所ともに例年と同程度の値であり、大きな変化は見られなかった。イオン成分に関する検討から、井笠事務所における降水の pH が高い要因の 1 つとして、土壌粒子、道路粉じん及び工場排ガス等に由来する  $nss-Ca^{2+}$  濃度が高いことが考えられた。また、井笠事務所における降水には非海塩由来の  $Mg^{2+}$  が含まれていると考えられた。

[キーワード：酸性雨, バルク式捕集, イオン成分]

[Key words: Acid Rain, Bulk Sampling, Ion Component]

### 1 はじめに

酸性雨とは、化石燃料の燃焼等により発生した硫黄酸化物(SOx)や窒素酸化物(NOx)が大気中で酸化されて硫酸や硝酸となり、強い酸性を示す降雨又は乾いた粒子状物質として降下する現象をいい、一般的に pH5.6 以下のものを指す<sup>1, 2)</sup>。この酸性雨によって森林が枯れたり、湖にすむ生物が死んだり、また目や喉の刺激といった人体への影響が懸念されたりしている<sup>1), 3), 4)</sup>。日本では昭和 49 年頃に関東地方に酸性度の強い雨が降り、多くの人に目の痛みなどの健康被害が発生した<sup>1)~3)</sup>。その後、多くの自治体で酸性雨調査が行われてきた経緯がある<sup>1)</sup>。

本県においては、酸性雨の実態及び長期的影響を把握することを目的として、平成 2 年度から酸性雨に関する調査を実施しており、当センター年報(平成 23 年度)に平成 23 年度の酸性雨調査結果を報告している<sup>5)</sup>。本報では平成 26 年度の調査結果について報告する。

### 2 調査方法

#### 2.1 調査地点

調査地点を図 1 に示す。調査地点は 2 地点あり、美作県民局(以下「美作局」という。)は岡山県北部にある津山

盆地の中央付近(津山市山下 53)に位置し、井笠地域事務所(以下「井笠事務所」という。)は岡山県西部の広島県との県境付近(笠岡市六番町 2-5)に位置している。また、2 地点とも周辺は商業地域となっている。



図 1 調査地点

## 2.2 試料採取

美作局及び井笠事務所の屋上に常時開放型ろ過式バルクサンプラー（非冷蔵保存）を設置して、降水（降雪を含む。）の捕集を行った。常時開放型ろ過式バルクサンプラーに捕集された降水を月に2回、約2週間ごとに採取した。表1に平成26年度における採取期間を示す。

表1 平成26年度における採取期間

月	採取期間			
	美作局		井笠事務所	
	開始日	終了日	開始日	終了日
4	3/19	~ 4/10	3/19	~ 4/10
	4/10	~ 4/24	4/10	~ 4/22
5	4/24	~ 5/8	4/22	~ 5/8
	5/8	~ 5/22	5/8	~ 5/22
6	5/22	~ 6/5	5/22	~ 6/5
	6/5	~ 6/23	6/5	~ 6/19
7	6/23	~ 7/3	6/19	~ 7/3
	7/3	~ 7/18	7/3	~ 7/17
8	7/18	~ 8/7	7/17	~ 8/7
	8/7	~ 8/21	8/7	~ 8/21
9	8/21	~ 9/4	8/21	~ 9/4
	9/4	~ 9/18	9/4	~ 9/18
10	9/18	~ 10/2	9/18	~ 10/2
	10/2	~ 10/16	10/2	~ 10/16
11	10/16	~ 11/6	10/16	~ 11/6
	11/6	~ 11/21	11/6	~ 11/20
12	11/21	~ 12/4	11/20	~ 12/4
	12/4	~ 12/18	12/4	~ 12/18
1	12/18	~ 1/8	12/18	~ 1/8
	1/8	~ 1/22	1/8	~ 1/22
2	1/22	~ 2/5	1/22	~ 2/5
	2/5	~ 2/19	2/5	~ 2/19
3	2/19	~ 3/5	2/19	~ 3/5
	3/5	~ 3/19	3/5	~ 3/19

## 2.3 分析項目及び分析方法

分析項目はpH、電気伝導率（以下「EC」という。）、イオン成分濃度とし、分析方法を表2に示す。pH及びECの測定には採取した試料をそのまま使用したが、イオン成分濃度の測定には採取した試料をメンブレンフ

表2 分析方法

分析項目	分析方法
pH	ガラス電極法 (pH測定器:株式会社堀場製作所製F-71)
EC	電気伝導率計法 (東亜電気工業株式会社製CM-60S)
イオン成分濃度	Na <sup>+</sup>
	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>
	K <sup>+</sup>
	Mg <sup>2+</sup>
	Ca <sup>2+</sup>
	Cl <sup>-</sup>
	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	
	イオンクロマトグラフ法 (日本ダイオネクス株式会社製ICS-1600)

ルター（ADVANTEC製13HP045AN、孔径0.45μm）でろ過したものを使用した。なお、分析項目及び分析方法は環境省の「湿性沈着モニタリング手引き書（第2版）」<sup>6)</sup>に準拠した。

## 3 結果及び考察

平成26年度における各調査地点の調査結果（年間降水量、pH年平均値、EC年平均値及びイオン成分濃度年平均値）を表3に示す。各項目における平均値は、降水量で重み付けした加重平均値として算出した。なお、加重平均値は次式により求めた。

$$\text{pH加重平均値} = -\log \frac{\sum (10^{-pH_i} \times Q_i)}{\sum Q_i}$$

$$\text{EC加重平均値} = \frac{\sum (EC_i \times Q_i)}{\sum Q_i}$$

$$\text{イオン成分濃度加重平均値} = \frac{\sum (C_i \times Q_i)}{\sum Q_i}$$

\*  $pH_i$ : 各測定時のpH,  $EC_i$ : 各測定時のEC,  $C_i$ : 各測定時のイオン成分濃度,  $Q_i$ : 各測定時の降水量

また、Ca<sup>2+</sup>及びSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>は海塩由来(ss)と非海塩由来(nss)のものが存在する。本報ではNa<sup>+</sup>を全て海塩由来のものと仮定した上で、海塩中におけるそれぞれのイオンの存在割合<sup>7)</sup>から海塩由来及び非海塩由来の濃度を算出し、海塩由来のものにss、非海塩由来のものにnssをつけて結果を示している<sup>8)</sup>。

### 3.1 降水量

平成26年度における各調査地点の降水量の経月変化を図2に示す。図2から、降水量は4月以外の月において、井笠事務所よりも美作局のほうが多かった。このことが影響し、表3に示した年間降水量は井笠事務所よりも美作局のほうが約1.5倍多かった。美作局については6、7、8月、井笠事務所については7、8、10月の降水量が多く、梅雨（平成26年6月2日～7月20日）<sup>9)</sup>及び台風（8号（7月）、11号（8月）、18号（10月）、19号（10月））<sup>9)</sup>の影響が大きいと考えられるが、井笠事務所については梅雨時にも関わらず6月の降雨日は少なかった。また、8月については2地点とも台風の影響だけでなく、他の月に比べて降雨日自体が多かったことも影響していたと考えられた<sup>9)</sup>。

表3 平成26年度調査結果

調査地点	年間降水量 (mm)	pH	EC (mS/m)	イオン成分濃度(μeq/L)										
				Na <sup>+</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	ss-Ca <sup>2+</sup>	nss-Ca <sup>2+</sup>	H <sup>+</sup>	Cl <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	ss-SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	nss-SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
美作局	1506.7	4.62	1.72	21.0	27.2	1.7	5.5	0.9	11.5	24.0	23.8	20.5	2.5	34.0
井笠事務所	1027.7	5.19	1.68	18.7	27.7	2.0	11.3	0.8	56.0	6.4	24.4	26.8	2.2	52.7

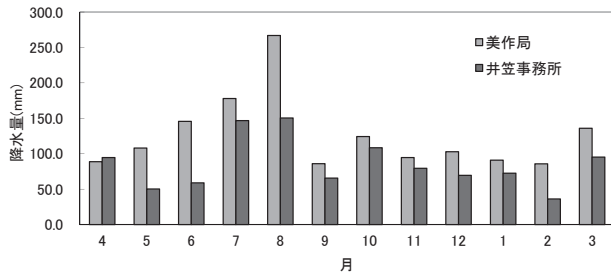


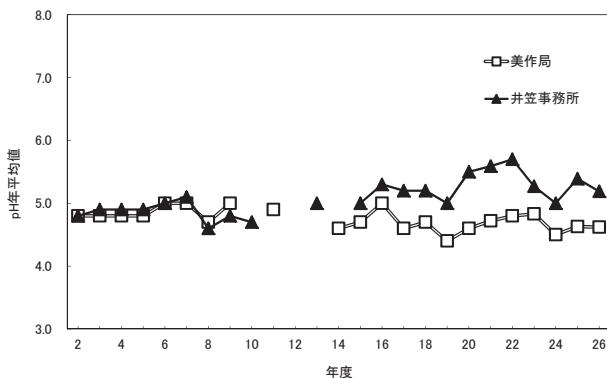
図2 降水量の経月変化

### 3.2 pH

表3から、平成26年度における美作局のpH年平均値は4.62であり、環境省越境大気汚染・酸性雨対策調査(平成20～24年度)<sup>8)</sup>での全国平均値4.72及び全国環境研協議会全国酸性雨調査(平成24年度)<sup>10)</sup>での全国平均値4.81と近い値であったが、井笠事務所のpH年平均値は5.19であり、これらよりも高い傾向にあった。

pH年平均値の経年変化を図3に示す。なお、平成10、12、13年度の美作局及び平成11、12、14年度の井笠事務所については測定を実施していない。美作局におけるpH年平均値は、測定を開始した平成2年度から4.7前後で、井笠事務所におけるpH年平均値は平成16年度以降、5.2前後で推移していた。平成26年度の結果も例年と同程度の値であり、大きな変化は見られなかった。

平成26年度における各調査地点のpH月平均値の経月変化を図4に示す。美作局におけるpH月平均値は1年の間、ほとんど変化は見られなかったが、井笠事務所におけるpH月平均値は下降傾向にあり、美作局との差が小さくなっていった。



\*平成10、12、13年度の美作局及び平成11、12、14年度の井笠事務所は未測定

図3 pH年平均値の経年変化

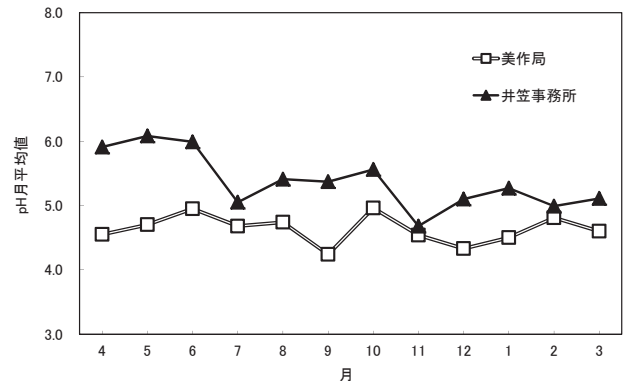


図4 pH月平均値の経月変化

### 3.3 イオン成分濃度

表3に平成26年度におけるイオン成分濃度の平均値を示したが、井笠事務所のnss-Ca<sup>2+</sup>濃度が美作局と比較して約5倍も高くなっており、当センター年報で報告した平成23年度と同様の傾向を示していた<sup>5)</sup>。nss-Ca<sup>2+</sup>は土壌粒子、道路粉じん及び工場排ガス等に由来する成分であり、酸性雨を中和する性質がある<sup>2)</sup>。よって、平成26年度の井笠事務所におけるpH年平均値が美作局に比べ、高い要因の1つとして、nss-Ca<sup>2+</sup>濃度が高いことが考えられた。

また、表4に各調査地点におけるCl<sup>-</sup>/Na<sup>+</sup>濃度比及びMg<sup>2+</sup>/Na<sup>+</sup>濃度比を示す。これらの濃度比を海水組成の濃度比<sup>7)</sup>と比較したところ、美作局におけるCl<sup>-</sup>/Na<sup>+</sup>濃度比、Mg<sup>2+</sup>/Na<sup>+</sup>濃度比及び井笠事務所におけるCl<sup>-</sup>/Na<sup>+</sup>濃度比は海水組成と近い値であったが、井笠事務所におけるMg<sup>2+</sup>/Na<sup>+</sup>濃度比は海水組成よりも2倍以上高い値であった。このことから、美作局におけるCl<sup>-</sup>、Mg<sup>2+</sup>及び井笠事務所におけるCl<sup>-</sup>は海塩由来であると示唆されたが、井笠事務所における降水には非海塩由来のMg<sup>2+</sup>が含まれていると考えられた。

表4 各調査地点におけるCl<sup>-</sup>/Na<sup>+</sup>濃度比及びMg<sup>2+</sup>/Na<sup>+</sup>濃度比

	Cl <sup>-</sup> /Na <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup> /Na <sup>+</sup>
美作局	1.14	0.26
井笠事務所	1.30	0.61
海水組成	1.18	0.23

## 文 献

- 1) 環境庁地球環境部監修：酸性雨－地球環境の行方－，中央法規出版株式会社，東京，1997
- 2) さいたま市：平成 26 年度酸性雨調査結果  
[http://www.city.saitama.jp/001/009/008/p000124\\_d/fil/H26acid.pdf](http://www.city.saitama.jp/001/009/008/p000124_d/fil/H26acid.pdf)
- 3) 環境庁大気保全局大気規制課監修：酸性雨の科学と対策，社団法人日本環境測定分析協会，東京，1994
- 4) 東アジア酸性雨モニタリングネットワーク：東アジア酸性雨モニタリングネットワークパンフレット  
[http://www.eanet.asia/jpn/publication/eanet\\_jpn.pdf](http://www.eanet.asia/jpn/publication/eanet_jpn.pdf)
- 5) 深見武史，小川登，林隆義，野村茂，中桐未知代，中桐基晴：2011 年度における酸性雨調査，岡山県環境保健センター年報，36，21-23，2012
- 6) 環境省：湿性沈着モニタリング手引き書(第 2 版)  
[http://www.env.go.jp/air/acidrain/man/wet\\_deposi/index.html](http://www.env.go.jp/air/acidrain/man/wet_deposi/index.html)
- 7) 日本海洋学会：海洋観測指針，145，1990
- 8) 環境省：越境大気汚染・酸性雨長期モニタリング報告書(平成 20～24 年度)  
<http://www.env.go.jp/air/acidrain/monitoring/rep3.html>
- 9) 岡山地方気象台：岡山県の気象年報 平成 26 年(2014 年)  
<http://www.jma-net.go.jp/okayama/guide/geppo/nenpo26.pdf>
- 10) 堀江洋佑，岩崎綾，木戸瑞佳，遠藤朋美，山口高志ら：第 5 次酸性雨全国調査報告書(平成 24 年度)，全国環境研会誌，39，100-146，2014

【調査研究】

## 事故時等緊急時の化学物質の分析技術の開発に関する研究

### －動植物性油脂類の油種分析法の検討－

Study on the development of analysis method of chemical substances at the time of  
water quality accidents

－ Study of oil type analysis method of animal and vegetable oils and fats －

浦山豊弘, 新 和大, 中野拓也, 山本 淳(水質科)

Toyohiro Urayama, Kazuhiro Atarashi, Takuya Nakano, Jun Yamamoto  
(Water Section)

### 要 旨

当センターではGC/MSを用いた油種分析を行っているが、種類を特定できる油は鉱物油に限られていたため、既報の脂肪酸メチルエステルの分析法を活用して動植物性油脂類の種類を特定するための検討を行い、GC/MSで測定される脂肪酸メチルエステルの構成比から動植物性油脂類の油種をある程度推定することが可能となった。

[キーワード：動植物性油脂類, 油種分析, 水質, GC/MS]

[Key words : Animal and vegetable oils and fats, Oil type analysis, Water quality, GC/MS]

## 1 はじめに

油流出による環境汚染が発生した際には、油の種類及び汚染源を特定し、流出防止対策及び浄化対策を実施するなど被害を最小限に抑える必要がある。当センターでは油流出事故が発生した場合、GC/MSを用いた油種分析<sup>1), 2)</sup>を行っているが、種類を特定できる油は燃料油又は潤滑油等の鉱物油に限られており、動植物性油脂類の場合、その種類を特定する方法が確立されていなかった。

今回、行政機関より動植物性油脂類の油種分析の依頼があり、既報<sup>3), 4)</sup>で報告されていた脂肪酸メチルエステルの分析法を活用して、動植物性油脂類の種類を特定するための基礎的検討を行ったので、報告する。

## 2 実験方法

### 2.1 標準品

#### ① 鉱物油

市販の各種鉱物油を用いて、油種特定用標準液(ヘキサン溶液)を作成した。念のため不純物を除く目的で、シリカゲルカートリッジカラムを用いてクリーンアップ操作を行ったものを使用した。

各種鉱物油類:ガソリン, 灯油, 軽油, A重油, B重油, C重油, ミッションオイル, エンジンオイル, 機械油

#### ② 動植物油

動植物性油脂類の定量分析用に調整された標準品(シグマアルドリッチ製脂肪酸メチルエステル混合品)をヘキサンで溶解及び希釈し、分析用溶液を作成し使用した。(組成は表1, 定量対象油脂は表2を参照)

標準品1: AOCS 動物性及び植物性油脂分析用

リファレンスミックス RM-1

標準品2: AOCS 動物性及び植物性油脂分析用

リファレンスミックス RM-2

標準品3: AOCS 動物性及び植物性油脂分析用

リファレンスミックス RM-3

標準品4: AOCS 動物性及び植物性油脂分析用

リファレンスミックス RM-4

標準品5: AOCS 動物性及び植物性油脂分析用

リファレンスミックス RM-5

標準品6: AOCS 動物性及び植物性油脂分析用

リファレンスミックス RM-6

表 1 各標準品の組成成(重量%)

	カプリル酸メチル	カプリン酸メチル	ラウリン酸メチル	ミリスチン酸メチル	パルミチン酸メチル	パルミトレイン酸メチル	ステアリン酸メチル	オレイン酸メチル	リノール酸メチル	リノレン酸メチル	アラキジン酸メチル	ベヘン酸メチル	エルカ酸メチル	リグノセリン酸メチル
標準品 1					6		3	35	50	3	3			
標準品 2					7		5	18	36	34				
標準品 3				1	4		3	45	15	3	3	3	20	3
標準品 4					11		3	80	6					
標準品 5	7	5	48	15	7		3	12	3					
標準品 6				2	30	3	14	41	7	3				

表 2 各標準品の定量対象油脂

標準品	定量対象油脂
標準品 1	コーン油、綿実油、カポック油、ケン油、米糠油、紅花油、ゴマ油、大豆油、ヒマワリ油、クルミ油
標準品 2	麻実油、アマニ油、えの油、ラバーシード脂
標準品 3	カラシ油、ピーナッツ油、菜種油
標準品 4	牛脚油、オリーブ油、茶実油分
標準品 5	パパス・ヤシ油、ココナッツ油、ouri-curi 油、パーム核油
標準品 6	ラード、牛脂、羊脂、パーム油

③市販の植物油等

キャノーラ油：日清オイリオ製  
オリーブ油：イタリア産輸入品

④メチル化試薬

脂肪酸メチル化キット(ナカライテスク製)

2.2 GC/MS の測定条件

測定装置 GC：アジレント社製(7890A)、  
MS：日本電子社製(JMS-Q1000GC Mk II)

カラム アジレント社製 DB-5MS+DG  
30m × 0.25mm × 0.25 μm

昇温条件 50℃(2min) - 7℃/min - 310℃(5min) (44min)

注入口温度 250℃

注入方法 スプリットレス

注入量 1 μL

キャリアガス ヘリウム 1mL/min(定流量)

インターフェース温度 240℃

イオン源温度 210℃

イオン化電圧 70eV

検出モード SCAN

2.3 前処理方法

当所で作成している油種分析に係る標準作業手順書に基づき、下記前処理法①又は②を適用した。

①ヘキサン希釈法(油のみ又は2層に完全分離している検体)

油層部分を約 10mg 分取し、ヘキサンを用いて 10mL に定容(約 1000 倍希釈液)した。この溶液の一部(100 μL)を分取し、ヘキサンを用いて希釈(10ml に定容、約 10 万倍希釈液)し、GC/MS 測定試料とした。

②ヘキサン抽出法(油層が確認できないか、油層のみを分取できない場合)

検体を均一に混合した後、一部(1 ~ 10mL)を試験管に分取し、ヘキサン 1mL を加えて振とう抽出し、GC/MS 測定試料とした。

なお、必要に応じ、ヘキサン抽出液の一部を分取しヘキサンで希釈したものを GC/MS 測定試料とした。

3 検討結果

3.1 検体と鉱物油(市販品)との比較結果

検体をヘキサンで約 10 万倍に希釈して GC/MS で測定した。燃料油・潤滑油等の鉱物油であれば、図 1 のとおり各油種に含まれる成分である直鎖炭化水素類の特徴的なクロマトグラムが検出されるが、検体のクロマトグラムはいずれの鉱物油が示すクロマトグラムとも一致しないため、鉱物油類ではないと判断された。

3.2 検体と動植物性油脂類との比較結果(GC/MS 分析)

3.1 で測定した検体のクロマトグラムを動植物性油脂類の定量分析用に調整された標準品(脂肪酸メチルエステル混合品：組成は表 1 参照)のクロマトグラムと比較した。図 2 のとおり検体の主要ピークはオレイン酸メチルであり、標準品 1 ~ 4 及び 6 のクロマトグラムとは類似しているが、標準品 5 のクロマトグラムとは明らかに組成比が異なっているため、標準品 5 の分析対象であるココナッツ油、ヤシ油等ではないと判断された。

なお、標準品 3 に含まれるエルカ酸メチルのピークが本検体のクロマトグラムでは確認されないが、品種改良された菜種を原材料として製造された植物油であるキャノーラ油にはこのエルカ酸が含まれないため、標準品 3 の分析対象である菜種油類でないとの判断はできなかった。



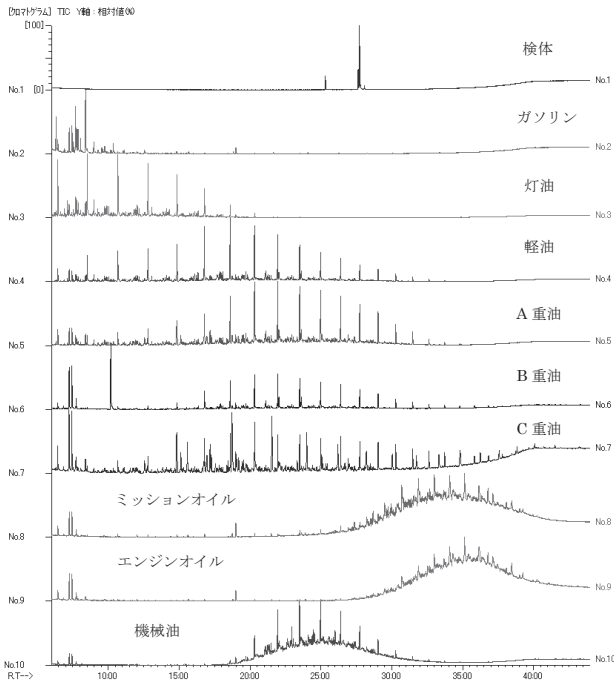


図1 検体と鉱物油(燃料油・潤滑油)とのGC/MSクロマトグラム比較

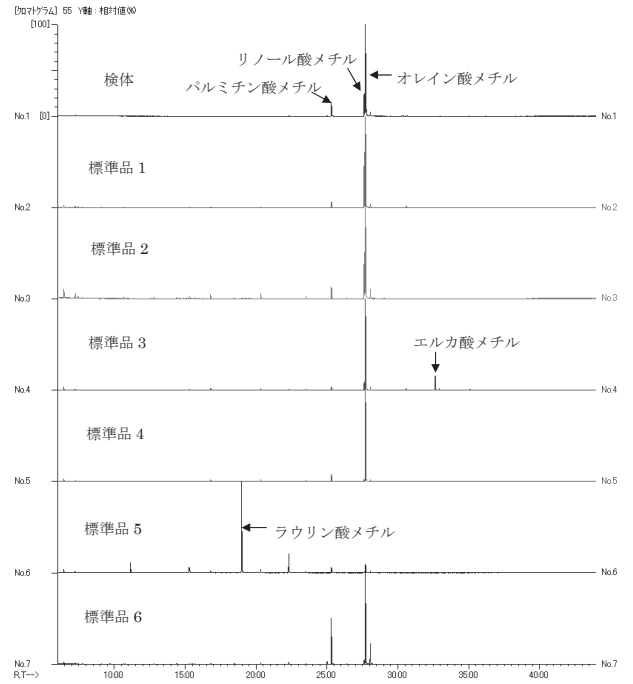


図2 検体と脂肪酸メチルエステル混合品とのGC/MSクロマトグラム比較

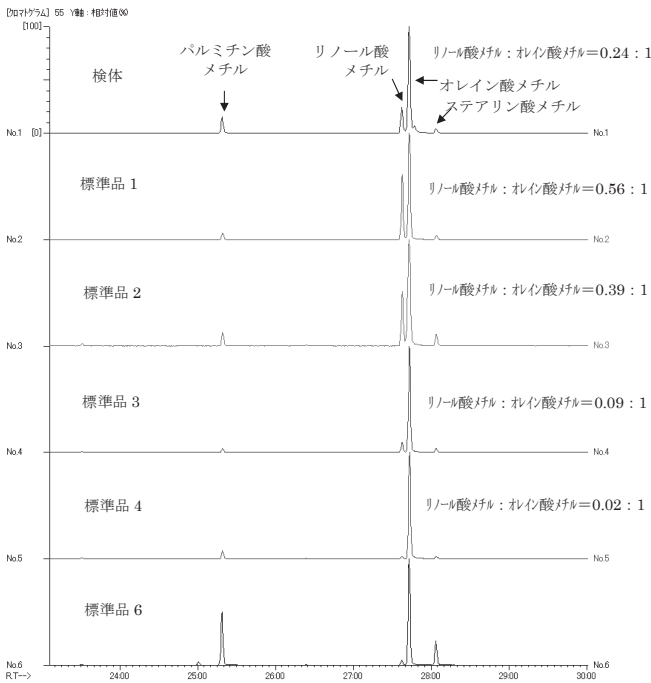


図3 検体と脂肪酸メチルエステル混合品とのGC/MSクロマトグラム詳細比較

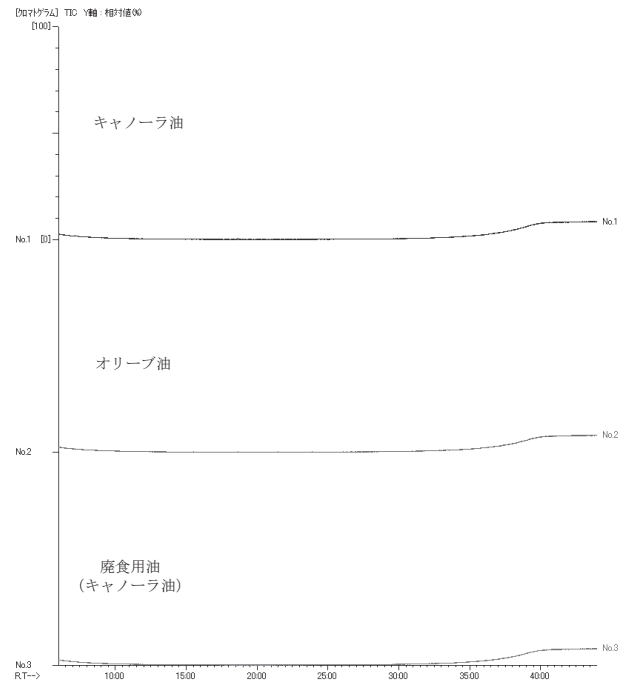


図4 市販植物油及び廃食用油のGC/MS測定結果

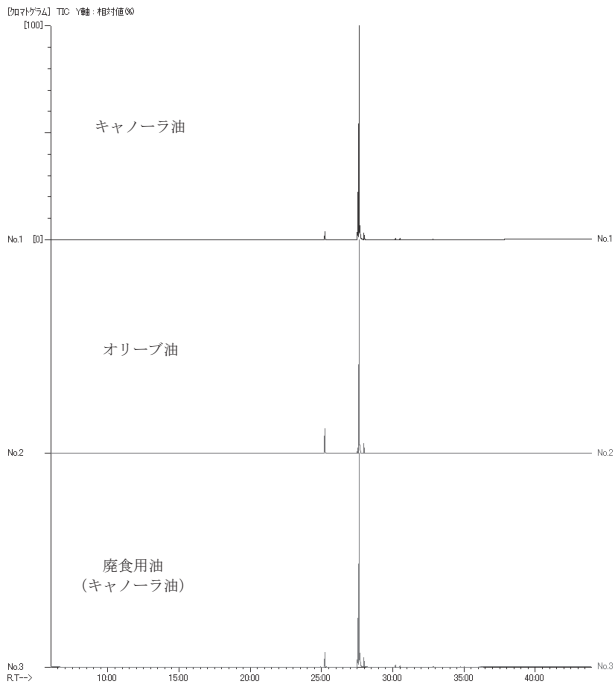


図5 市販植物油及び廃食用油をメチル化した後のGC/MS測定結果

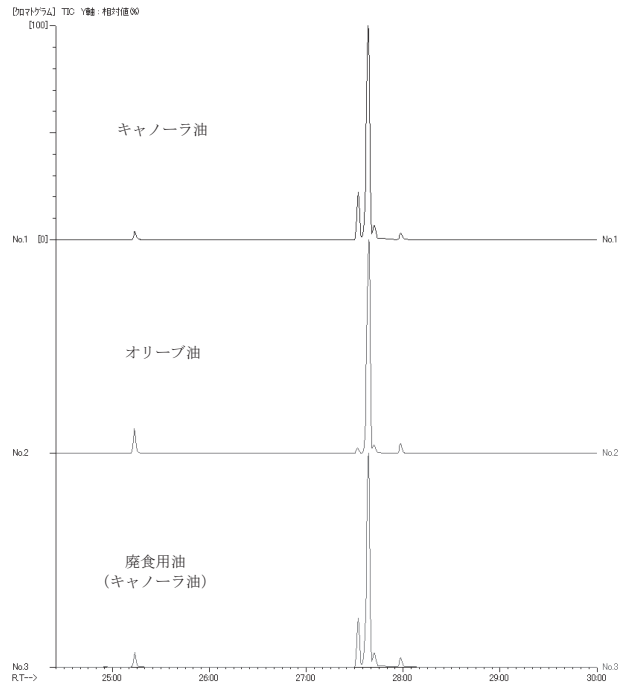


図6 市販植物油及び廃食用油をメチル化した後のGC/MS測定詳細結果

### 3.3 検体と動植物性油脂類とのクロマトグラム詳細比較結果

更に、動植物性油脂類の種類を推定するため、検体の主成分付近のクロマトグラムを拡大して詳細な比較を行ったところ、図3のとおり標準品6とはパルミチン酸メチル及びステアリン酸メチルの含有割合が大きく異なるため、標準品6の分析対象であるラード、牛脂等の動物性油脂ではないと判断された。

また、本検体のリノール酸メチルとオレイン酸メチルの比率は0.24:1であり、標準品1~4のいずれとも比率が一致しないため、各標準品の分析対象であるいずれの植物性油脂であるかは特定できなかった。

油脂の使用状況や複数の油脂の混合等により組成が変化していることが考えられるが、クロマトグラムの特徴から検体の主成分は植物性油脂であると推定できた。

### 3.4 市販植物油及び廃食用油のGC/MS測定結果

市販の植物油(キャノーラ油及びオリーブ油)及び廃食用油(キャノーラ油を揚げ物等に使用し廃棄予定だった油)をヘキサンで希釈し、GC/MSで測定した。

図4のとおりクロマトグラム上にピークは確認されず、食用油の通常の流通・使用の過程では、脂肪酸や脂肪酸エステルは生成しないと推定された。

### 3.5 市販植物油及び廃食用油のメチル化試験結果

3.4で用いた市販植物油及び廃食用油を市販メチル化キットでメチル化後、ヘキサンで希釈し、GC/MSで測定したところ、図5のとおりクロマトグラム上に検体と同様のピークが確認された。

3.4及びこのことから、脂肪酸メチルは、バイオディーゼル燃料製造等の人為的なメチル化処理をされた場合に検出されると考えられた。

### 3.6 市販植物油及び廃食用油のメチル化試験の詳細結果

3.5の主成分付近のクロマトグラムを拡大して詳細を確認したところ、図6のとおりリノール酸メチルとオレイン酸メチルの面積比が、キャノーラ油とオリーブオイルでは異なっており、キャノーラ油の未使用油と廃食用油で大きな差はなかった。

このことから、リノール酸メチルとオレイン酸メチルの面積比を用いて動植物油の種類が推定が可能であることが示唆された。

## 4 考察

今回の GC/MS による動植物性油脂類の油種分析を検討するきっかけとなった検体では、GC/MS クロマトグラムに脂肪酸メチルエステルが確認されたため、脂肪酸メチルエステル混合品との比較を行ったが、食用油の通常の流通・使用の過程では脂肪酸や脂肪酸エステルは生成せず、バイオディーゼル燃料製造等の人為的なメチル化処理をされた場合に GC/MS 分析において脂肪酸メチルエステルが検出されると判断された。

河川水等の環境水中に油膜が発生し、燃料油や潤滑油などの鉱物油の特徴的なクロマトグラムが検出されなかった場合、動植物性油脂類に由来することが疑われるが、通常動植物性油脂類を対象とした GC/MS による油種分析は行っていなかった。今回の検討の結果、今後は、検体をメチル化処理した後、脂肪酸メチルエステルが生成することを確認することで動植物性油脂類であることを確認すると共に、混合標準品と脂肪酸メチルエステルの構成比からメチル化前の動植物性油脂類の油種を推定することが可能と考えられる。

## 5 まとめ

動植物性油脂類の油種分析法を検討し、次の結果を得た。

- ①動植物性油脂類の GC/MS クロマトグラムは、燃料油や潤滑油などの鉱物油とは大きく異なる。
- ②動植物性油脂類の GC/MS 測定には、メチル化等のエステル化が必要であり、検体からメチルエステルが検出された場合は、人為的にメチル化処理されたものが流れたと推測される。
- ③リノール酸メチルとオレイン酸メチルの面積比など、測定される脂肪酸メチルエステルの構成比から動植物性油脂類の油種分析の可能性が示唆された。
- ④環境中に油膜等が発生し、分析後動植物性油脂類に由来すると推察された場合に、今回の分析法を採用して、動植物性油脂類の油種をある程度推定することが可能となった。

## 文 献

- 1) 藤原博一ら：不正軽油関連廃棄物中の鉱物油成分及びクマリンの分析，岡山県環境保健センター年報，28，53-56，2004
- 2) 藤原博一ら：油分析に影響する各種要因について，岡山県環境保健センター年報，32，67-74，2008
- 3) 吉岡敏行ら：GC/MS を用いた水質中脂肪酸メチルエステル (FAME) 等の多成分分析法の検討，岡山県環境保健センター年報，37，29-40，2013
- 4) 吉岡敏行ら：脂肪酸の水質分析法の検討，岡山県環境保健センター年報，38，7-13，2014



【調査研究】

## 事故時等緊急時の化学物質の分析技術の開発に関する研究

－動物用医薬品(サルファ剤)の水質分析法の検討－

Study on the development of analysis method of chemical substances at the time of  
water quality accidents

－ Study of water quality analysis method of Veterinary Drugs －

浦山豊弘, 新 和大, 中野拓也, 山本 淳(水質科)

Toyohiro Urayama, Kazuhiro Atarashi, Takuya Nakano, Jun Yamamoto  
(Water Section)

### 要 旨

動物用医薬品である合成抗菌剤のサルファ剤 27 物質について、水質試料の高感度同時分析法を検討した。ポリマー系逆相固相抽出した後メタノールで溶出し、対象物質のピーク形状ができるだけシャープとなる分析カラムを検討し、液体クロマトグラフタンデム質量分析計で分析することで、26 物質について検出下限値が 3.6 ~ 27 ng/L の高感度な分析法が開発できた。河川水及び海水を用いた添加回収試験の回収率は、それぞれ 73 ~ 107%, 58 ~ 103% であった。

[キーワード：動物用医薬品, サルファ剤, 水質, LC/MS]

[Key words : Veterinary Drugs, Sulfonamides, Water quality, LC/MS]

### 1 はじめに

動物用医薬品は、家きん等を病気や寄生虫から守るために用いられている医薬品であり、また、一部は人用に用いられている成分もあり、これらは排水路や下水道を通じて環境中に排出されていることが考えられる。

筆者らは既報<sup>1)~3)</sup>において畜水産物中の動物用医薬品の分析法を検討したが、それを応用して環境水中の動物用医薬品であるサルファ剤の 27 物質について分析法を検討し、26 物質の高感度同時分析法開発したので、報告する。

### 2 実験方法

#### 2.1 検討物質

検討物質を表 1 に示す。林純薬工業製、動物薬混合標準溶液 LC/MS Mix 1 に含まれる 27 物質について検討を行った。

#### 2.2 試薬

動物薬混合標準溶液 LC/MS Mix 1 :

林純薬工業製(各 20  $\mu$ g/mL)

スルファメトキサゾール-<sup>13</sup>C<sub>6</sub> :

SIGMA-ALDRICH (Fluka) 製(純度 99%)

スルファメトキサゾール-*d*<sub>4</sub> :

林純薬工業製(純度 97.4%)

スルファクロロピリダジン-<sup>13</sup>C<sub>6</sub> :

SIGMA-ALDRICH (Fluka) 製(純度 99%)

スルファジアジン-<sup>13</sup>C<sub>6</sub> :

SIGMA-ALDRICH (Fluka) 製(純度 99%)

スルファメサジン(スルファジミジン)-<sup>13</sup>C<sub>6</sub> :

CIL 社製(10  $\mu$ g/mL, 純度 90%)

スルファドキシシン-*d*<sub>3</sub> : 林純薬工業製(純度 99.9%)

トリメトプリム-*d*<sub>9</sub> :

SIGMA-ALDRICH (Fluka) 製(純度 98%)

スルファジメトキシシン-*d*<sub>6</sub> :

和光純薬工業製(環境分析用)(純度 98%)

アセトニトリル, メタノール :

LC/MS 用 和光純薬工業製

精製水 : ミリポア製 Milli-Q Gradient により調製

固相カートリッジ :

Waters 製 Oasis HLB Plus LP (225 mg)

表 1 検討物質一覧表

物質名	英名	分子式	CAS 番号	分子量	モアイト ピーク質量
スルファニルアミド	Sulfanilamide	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S	63-74-1	172.20	172.0307
スルファグアニジン	Sulfaguanidine	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	57-67-0	214.24	214.0524
スルファセトアミド	Sulfacetamide	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> S	144-80-9	214.24	214.0412
スルフィソゾール	Sulfisozole	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	73247-57-1	239.25	239.0365
ピリメタミン	Pyrimethamine	C <sub>12</sub> H <sub>13</sub> ClN <sub>4</sub>	58-14-0	248.71	248.0829
スルファピリジン	Sulfapyridine	C <sub>11</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S	144-83-2	249.29	249.0572
スルファジアジン	Sulfadiazine	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	68-35-9	250.28	250.0524
スルファメトキサゾール	Sulfamethoxazole	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	723-46-6	253.28	253.0521
スルファチアゾール	Sulfathiazole	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	72-14-0	255.32	255.0136
ジアベリジン	Diaveridine	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	5355-16-8	260.29	260.1273
スルファメラジン	Sulfamerazin	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	127-79-7	264.30	264.0681
スルファトロキサゾール	Sulfatroxazole	C <sub>11</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	23256-23-7	267.30	267.0678
スルフィソキサゾール	Sulfisoxazole	C <sub>11</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	127-69-5	267.30	267.0678
オルメトプリム	Ormetoprim	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	6981-18-6	274.32	274.1430
スルファベンザミド	Sulfabenzamide	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> S	127-71-9	276.31	276.0569
スルフィソミジン	Sulfisomidine	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	515-64-0	278.33	278.0837
スルファジミジン	Sulfadimidine	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	57-68-1	278.33	278.0837
スルファメキシピリダジン	Sulfamethoxypyridazine	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> S	80-35-3	280.30	280.0630
スルファモノメトキシ	Sulfamonomethoxine	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> S	1220-83-3	280.30	280.0630
スルファクロピリダジン	Sulfachloropyridazine	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> SCl	80-32-0	284.72	284.0135
トリメトプリム	Trimethoprim	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	738-70-5	290.32	290.1379
スルファエトキシピリダジン	Sulfaethoxypyridazine	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> S	963-14-4	294.33	294.0787
スルファキノキサリン	Sulfaquinoxaline	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	59-40-5	300.34	300.0681
スルファドキシ	Sulfadoxin	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> S	2447-57-6	310.33	310.0736
スルファジメトキシ	Sulfadimethoxin	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> S	122-11-2	310.33	310.0736
スルファニトラン	Sulfanitran	C <sub>14</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> S	122-16-7	335.34	335.0576
スルファブロメタジン	Sulfabromomethazine	C <sub>12</sub> H <sub>13</sub> BrN <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	116-45-0	357.23	355.9943

### 2.3 LC/MS の測定条件

35.1 ~ 48 min A : B = 97 : 3

LC/MS 機器 : Waters Alliance 2695/ Quattro micro API

カラム流量 : 0.2 mL/min

LC

カラム温度 : 40 °C

LC 機種 : Waters Alliance 2695

試料注入量 : 5 μL

カラム : Waters 製 Atlantis T3 2.1 mm × 150 mm, 3 μm

MS

移動相 : A : 0.1% ギ酸 / 10 mmol/L ギ酸アンモニウム  
水溶液 (99 : 1)

MS 機種 : Waters Quattro micro API

キャピラリー電圧 : 2.5 kV

B : 0.1% ギ酸 - アセトニトリル 溶液 / 10  
mmol/L ギ酸アンモニウム - アセトニトリル  
溶液 (99 : 1)

ソース温度 : 100 °C

デゾルベーション温度 : 450 °C

コーンガス量 : 60 L/Hr

0 ~ 1 min A : 97 → 85 B : 3 → 15 linear gradient

デゾルベーション流量 : 500 L/Hr

1 ~ 10 min A : 85 → 77 B : 15 → 23 linear gradient

イオン化法 : ESI-Positive (スルファニトラ  
ンは ESI-Negative)

10 ~ 21 min A : 77 → 25 B : 23 → 75 linear gradient

測定モード : SRM

21 ~ 22 min A : 25 → 0 B : 75 → 100 linear gradient

モニターイオン, コーン電圧及びコリジョン電圧 :

22 ~ 35 min A : B = 0 : 100

表 2 及び表 3 参照

35 ~ 35.1 min A : 0 → 97 B : 100 → 3 linear gradient

表2 対象物質のモニターイオン, コーン電圧及びコリジョン電圧

物質名	保持時間	モニターイオン	コーン電圧	コリジョン電圧
Sulfanilamide	4.81	173.1 > 156.0	18	6
Sulfaguanidine	3.91	215.0 > 156.0	24	13
Sulfacetamide	8.66			
Sulfisozole	13.75	240.1 > 156.1	20	11
Pyrimethamine	17.00	249.0 > 177.0	43	27
Sulfapyridine	10.65	250.0 > 92.0	27	23
Sulfadiazine	9.65	251.0 > 156.0	22	13
Sulfamethoxazole	17.53	254.06 > 156.0	26	13
Sulfathiazole	10.25	256.0 > 156.0	23	12
Diaveridine	9.51	261.2 > 245.1	37	23
Sulfamerazin	11.42	265.1 > 92.0	27	24
Sulfatroxazole	17.88			
Sulfisoxazole	18.50	268.2 > 156.1	22	12
Ormetoprim	11.16	275.0 > 123.0	38	23
Sulfabenzamide	19.57	277.0 > 156.1	20	10
Sulfisomidine	8.69			
Sulfadimidine	13.08	279.0 > 92.0	32	29
Sulfamethoxypyridazine	13.48			
Sulfamonomethoxine	15.31	281.0 > 156.0	27	15
Sulfachloropyridazine	16.21	285.0 > 156.0	21	13
Trimethoprim	10.26	291.1 > 230.1	36	21
Sulfaethoxypyridazine	17.90	295.0 > 156.0	28	17
Sulfaquinoxaline	20.03	301.0 > 156.0	27	15
Sulfadoxin	17.45			
Sulfadimethoxin	20.00	311.0 > 156.0	28	17
Sulfanitran (Negative)	22.03	334.0 > 136.0	22	25
Sulfabromomethazine	22.19	357.0 > 92.0	35	32

表3 サロゲート内標準のモニターイオン, コーン電圧及びコリジョン電圧

物質名	モニターイオン	コーン電圧	コリジョン電圧
Sulfamethoxazole- <sup>13</sup> C <sub>6</sub>	260.08 > 162.0	24	14
Sulfadiazine- <sup>13</sup> C <sub>6</sub>	257.08 > 162.0	24	14
Sulfadimidine- <sup>13</sup> C <sub>6</sub>	285.0 > 98.0	28	29
Sulfachloropyridazine- <sup>13</sup> C <sub>6</sub>	291.04 > 162.0	23	14
Trimethoprim- <i>d</i> <sub>9</sub>	300.2 > 234.0	38	21
Sulfadoxin- <i>d</i> <sub>3</sub>	314.1 > 159.0	28	19
Sulfadimethoxin- <i>d</i> <sub>6</sub>	317.12 > 162.0	32	21

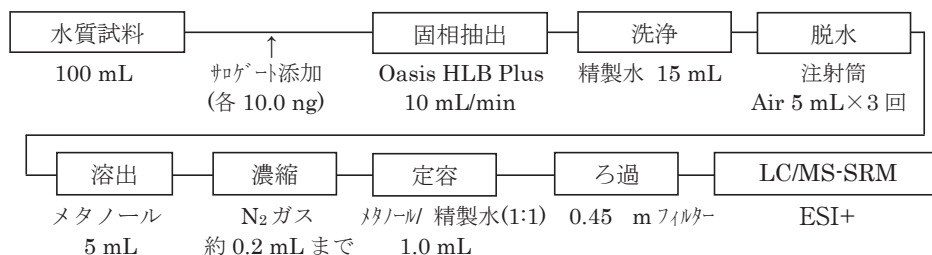


図1 分析法のフローチャート

## 2.4 前処理方法

水質試料 100 mL に 2.00 ng/μL のサロゲート内標準液を 5 μL 添加し、混合した。これをメタノール 10 mL、精製水 20 mL でコンディショニングした固相カートリッジ (Oasis HLB plus) に 10 mL/min の速さで通水した。固相カートリッジを精製水 15 mL で洗浄後、注

射筒で空気を 5 mL × 3 回通気して固相中の水分を除去した。これをメタノール 5 mL で溶出し、40 °C 以下の窒素気流下で約 0.2 mL まで濃縮し、メタノール / 精製水 (1:1) で 1.0 mL に定容し、0.45 μm フィルターでろ過を行い、試験液とした。分析法のフローチャートを図1に示す。

## 2.5 装置検出下限値及び分析法の検出下限値と定量下限値

装置検出下限値 (IDL) 及び分析方法の検出下限値 (MDL) と定量下限値 (MQL) の測定及び算出は、「化学物質環境実態調査実施の手引き (平成 20 年度版)」<sup>4)</sup> に従った。IDL は、検量線に用いる最低濃度付近の標準液を 7 回繰り返し測定し、得られた測定値の標準偏差を用いて算出した。MDL 及び MQL は、海水に IDL 試料換算値の 5 倍程度の標準物質を添加した試料を 7 個作成し、分析フローに従い前処理を実施した後、LC/MS で測定し、得られた測定値の標準偏差を用いて算出した。

$$IDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1,I} \times 2$$

$t(n-1, 0.05)$ : 危険率 5%, 自由度  $n-1$  の  $t$  値 (片側)

$\sigma_{n-1,I}$ : IDL 算出のための測定値の標本標準偏差

$$MDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1,M} \times 2$$

$$MQL = 10 \times \sigma_{n-1,M}$$

$t(n-1, 0.05)$ : 危険率 5%, 自由度  $n-1$  の  $t$  値 (片側)

$\sigma_{n-1,M}$ : MDL 算出のための測定値の標本標準偏差

## 3 検討結果及び考察

### 3.1 抽出用固相カートリッジの検討結果

過去の分析法開発<sup>5)~7)</sup>において高回収率であった Oasis HLB, Sep-Pak C18, InertSep PLS-3 の 3 種類の固相を検討した。

精製水 100 mL にスルファメトキサゾール標準物質 1.0  $\mu$ g を添加し、各固相に 10 mL/min で通水、メタノール 5 mL で溶出した後、アセトニトリル 5 mL で溶出した。

結果を図 2 に示す。シリカ系固相の Sep-Pak C18 は、酸性下での通水で極性物質でも高回収率が得られた事例<sup>5)</sup>もあったが、今回の検討では回収率が低かった。ポリマー系固相の Oasis HLB, InertSep PLS-3 では、いずれも高回収率であったが、Oasis HLB がメタノール 5 mL 溶出での回収率が高く、アセトニトリル画分への残留もなかったため、Oasis HLB を採用することとした。

### 3.2 溶出溶媒の検討結果

3.1 の検討から Oasis HLB を採用することとしたが、InertSep PLS-3 ではアセトニトリル画分への残留が確認されたためアセトニトリルでの溶出も検討することとし、サルファ剤 27 物質に対し、溶出溶媒の種類 (メタノールまたはアセトニトリル) と量 (5mL または 10mL) を検討した。

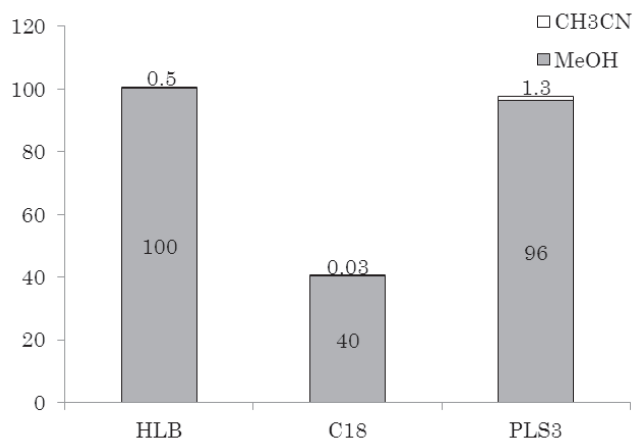


図 2 抽出用固相カートリッジの検討結果 (スルファメトキサゾール)

精製水 100 mL に標準物質各 100 ng を添加し、10 mL/min で通水、メタノール 5 mL で溶出後、更にメタノール 5 mL で溶出したもの及びアセトニトリル 5 mL で溶出後、更にアセトニトリル 5 mL で溶出したものを比較した。

結果を表 4 に示す。ピリメタミン、ジアベリジン、オルメトプリム、トリメトプリムの 4 物質はアセトニトリルでは回収率が低く、10mL でも溶出しきってないと考えられたため、メタノールを採用することとした。一般にメタノールよりアセトニトリルの方が溶出力が強いが、4 物質はスルホニル基を持たずアミノ基を 2 つ持つため、メタノールの持つプロトン親和性が溶出に寄与していると考えられた。

また、溶媒量については、メタノール 5mL で目的物質の 50% 以上が溶出し、メタノール 5 ~ 10 mL への残留が 2% 以下であったので、メタノール 5 mL での溶出とした。

### 3.3 試料通水時の pH の検討

試料通水時の pH 調整の必要の有無を確認するための検討を行った。海水 (水島沖) 100 mL に標準物質各 100 ng を添加し、pH をそれぞれ 3, 4, 5, 7, 9 に調整した後、10 mL/min で通水、メタノール 5 mL で溶出した。(測定溶媒はメタノール、pH8 は pH 未調整)。結果を表 5 に示す。多くの物質では pH9 で回収率が低くなることが確認されたが、通常の公共用水域の pH7 ~ 8 では pH 調整不要であると判断した。また、スルファセタミドは pH5 以下にしなければ回収できなかったが、多成分を簡易かつ一斉に分析することが目的であるため、スルファセタミドを除く 26 物質の同時分析法の確立を目標とした。



表4 溶出溶媒の検討試験結果(Oasis HLB)

対象物質	回収率 (%)					
	メタノール			アセトニトリル		
	0-5 mL	5-10 mL	計	0-5 mL	5-10 mL	計
Sulfanilamide	62	0.4	62	59	0.1	59
Sulfaguanidine	51	0.2	51	48	0.2	49
Sulfacetamide	94	0.5	94	93	0.2	93
Sulfisozole	93	0.6	93	96	0.8	97
Pyrimethamine	100	0.7	101	3	25.9	29
Sulfapyridine	94	0.5	94	104	0.9	105
Sulfadiazine	96	0.7	97	105	0.9	106
Sulfamethoxazole	101	0.8	101	99	1.4	101
Sulfathiazole	91	1.1	92	85	15.7	101
Diaveridine	99	1.2	101	5	7.8	13
Sulfamerazin	92	0.4	93	110	0.9	111
Sulfatroxazole	102	0.7	103	105	0.9	106
Sulfisoxazole	97	0.7	98	102	0.8	102
Ormetoprim	101	0.9	102	5	7.1	12
Sulfabenzamide	100	0.6	101	85	11.9	97
Sulfisomidine	101	0.1	101	101	2.0	103
Sulfadimidine	98	0.4	99	103	0.6	103
Sulfamethoxy pyridazine	96	0.7	97	97	1.4	99
Sulfamonomethoxine	91	0.8	92	95	3.0	98
Sulfachloropyridazine	90	1.2	91	95	4.0	99
Trimethoprim	100	0.6	101	10	20.8	31
Sulfaethoxy pyridazine	102	0.9	102	103	1.4	104
Sulfaquinoxaline	103	2.0	105	91	21.0	112
Sulfadoxin	102	0.5	102	102	0.5	103
Sulfadimethoxin	103	0.6	103	103	1.5	105
Sulfanitran	85	0.0	85	84	0.0	84
Sulfabromomethazine	117	1.0	118	117	1.8	119

表5 通水時の pH の検討試験結果(Oasis HLB)

対象物質	回収率 (%)					
	pH3	pH4	pH5	pH7	pH8	pH9
Sulfanilamide	40	57	60	57	71	52
Sulfaguanidine	53	67	67	65	70	54
Sulfacetamide	89	87	91	7	0.9	0.5
Sulfisozole	88	88	92	83	61	10
Pyrimethamine	101	94	98	97	101	86
Sulfapyridine	86	87	90	91	91	82
Sulfadiazine	85	85	91	90	78	17
Sulfamethoxazole	99	98	101	98	100	73
Sulfathiazole	70	83	89	85	86	77
Diaveridine	96	93	94	94	99	86
Sulfamerazin	91	95	94	91	95	81
Sulfatroxazole	94	95	99	95	103	70
Sulfisoxazole	99	97	103	101	104	77
Ormetoprim	100	95	98	97	100	89
Sulfabenzamide	99	104	106	103	101	90
Sulfisomidine	83	86	94	91	95	82
Sulfadimidine	93	98	102	99	103	92
Sulfamethoxy pyridazi	97	100	104	100	102	94
Sulfamonomethoxine	88	93	96	92	97	83
Sulfachloropyridazine	78	85	86	86	97	78
Trimethoprim	99	94	96	95	97	87
Sulfaethoxy pyridazin	104	104	110	107	110	98
Sulfaquinoxaline	102	103	104	105	107	97
Sulfadoxin	104	102	106	104	101	94
Sulfadimethoxin	97	98	104	101	105	93
Sulfanitran	125	109	114	117	125	105
Sulfabromomethazine	101	106	111	114	128	103

### 3.4 逆相 - イオン交換ミックスモード固相の検討

3.2 及び 3.3 の検討で、保持時間が短く水溶性が高い物質の回収率が低い傾向であったため、イオン交換系固相を検討することとし、陰イオン交換系の Waters 製 Oasis MAX Plus 及び陽イオン交換系の Oasis MCX Plus の 2 種類の逆相 - イオン交換ミックスモード固相を検討した。河川水(旭川・乙井手堰)、海水(水島沖)100 mL に標準物質各 100 ng を添加し、10 mL/min で通水、MAX は濃アンモニア水 / 精製水 (5:95)、精製水で洗浄後、メタノール 5 mL で溶出し、更にギ酸 / メタノール (2:98) 5

mL で溶出、MCX は、2% ギ酸水溶液、精製水で洗浄後、メタノール 5 mL で溶出し、更に濃アンモニア水 / メタノール (5:95) で溶出した(測定溶媒はメタノール)。

結果は表6のとおりで、対象物質は3種類の溶出パターンに分かれた。溶出パターンを表7に示す。パターン①は、陽イオン性を示し、陰イオン性を示さない物質で、該当の6物質はアミノ基を2つ持つ物質であった。パターン②は、陰イオン性を示し、陽イオン性を示さない物質で、該当のスルファニトランは、ニトロ基の電子供与作用により2級アミンが陽イオンになりにくいと判断され

表6 逆相 - イオン交換ミックスモード固相の検討試験結果

対象物質	回収率 (%)											
	海水						河川水					
	MAX			MCX			MAX			MCX		
MeOH	ギ酸/ MeOH	計	MeOH	NH3/ MeOH	計	MeOH	ギ酸/ MeOH	計	MeOH	NH3/ MeOH	計	
Sulfanilamide	27	2	29	5	52	57	27	3	29	0	45	46
Sulfaguanidine	29	0	29	0	61	61	27	1	27	0	55	55
Sulfacetamide	1	6	7	0	1	1	0	67	67	3	53	56
Sulfisozole	0	59	59	7	22	29	0	66	66	1	58	58
Pyrimethamine	101	0	101	0	90	90	99	0	99	0	82	82
Sulfapyridine	0	62	62	0	71	72	0	67	67	0	66	66
Sulfadiazine	0	45	45	8	39	48	0	56	56	0	61	61
Sulfamethoxazole	0	74	74	15	59	74	0	78	78	1	71	72
Sulfathiazole	0	47	47	0	48	49	0	52	52	0	49	49
Diaveridine	90	0	90	0	89	89	93	0	93	0	81	81
Sulfamerazin	1	69	70	4	69	73	1	72	74	0	71	72
Sulfatroxazole	1	71	72	10	59	70	0	76	76	2	69	70
Sulfisoxazole	1	71	72	12	27	39	0	66	66	2	63	65
Ormetoprim	91	0	91	0	88	88	93	0	94	0	83	83
Sulfabenzamide	1	70	70	11	45	56	0	58	59	1	62	63
Sulfisomidine	0	71	72	0	67	67	0	67	67	0	64	64
Sulfadimidine	0	66	66	0	71	72	0	77	78	0	70	70
Sulfamethoxypyridazine	0	54	55	1	69	69	0	64	64	0	69	69
Sulfamonomethoxine	0	59	59	3	50	53	0	62	63	0	62	62
Sulfachloropyridazine	0	55	56	6	47	53	0	58	58	0	48	49
Trimethoprim	91	0	92	0	88	88	90	0	90	0	78	78
Sulfaethoxypyridazine	1	61	62	0	77	77	0	71	71	0	72	72
Sulfaquinoxaline	1	73	74	1	75	76	0	81	81	0	73	74
Sulfadoxin	0	71	72	8	67	74	0	81	81	1	73	73
Sulfadimethoxin	1	77	78	3	73	76	0	79	79	0	68	69
Sulfanitran	6	58	64	65	6	71	5	65	70	35	5	40
Sulfabromomethazine	1	77	78	1	62	63	0	91	91	1	64	64

表7 逆相 - イオン交換ミックスモード固相での溶出パターン

パターン 番号	溶出パターン				該当物質
	MAX		MCX		
	MeOH	ギ酸/ MeOH	MeOH	NH3/ MeOH	
①	○		○		Sulfanilamide, Sulfaguanidine, Pyrimethamine, Diaveridine, Ormetoprim, Trimethoprim
②		○	○		Sulfanitran
③		○	○		Others

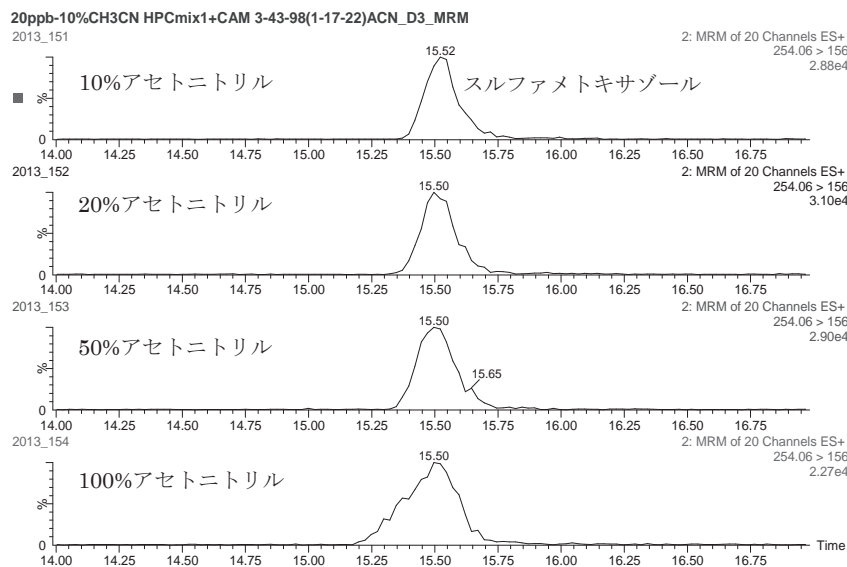


図3 試験液の溶媒組成を変えた場合のクロマトグラム-1(スルファメトキサゾール)

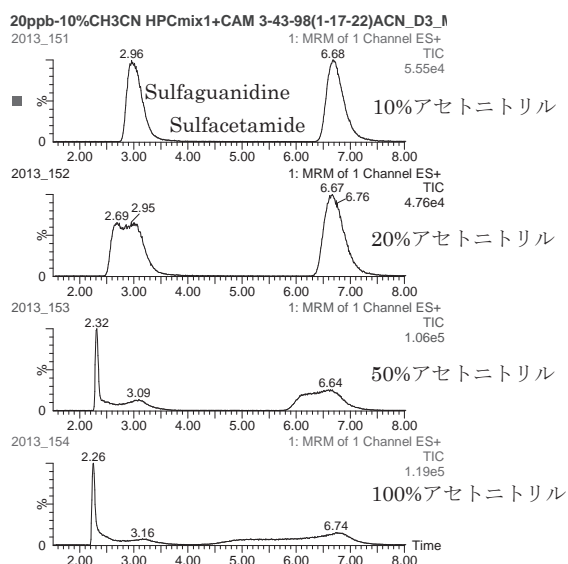


図4 試験液の溶媒組成を変えた場合のクロマトグラム-2(保持時間8分以下の物質)

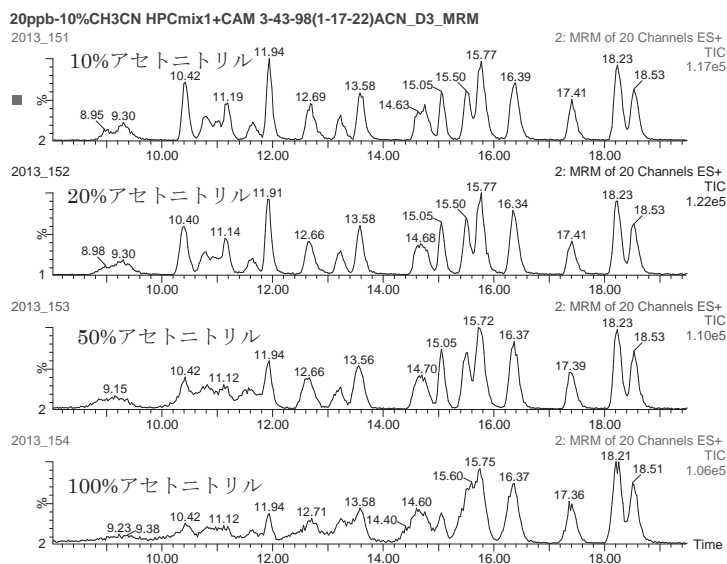


図5 試験液の溶媒組成を変えた場合のクロマトグラム-3(保持時間8~19分)

た。パターン③は、陽イオン性、陰イオン性共に示す物質であり、対象物質の多くが該当した。

Oasis MCX を用いれば、②に該当するスルファニトラン以外の物質はアンモニア/メタノール画分に溶出するが、スルファメトキサゾール、スルファトロキサゾール、スルフィソキサゾール、スルファベンズアミドでは10%以上がメタノール画分に溶出し、また、回収率も80%未満の物質が多かったため、採用しないこととした。

### 3.5 試験液の溶媒組成の検討結果

測定条件のうち、試験液の溶媒組成を検討することとした。測定カラムとして当初検討した XTerra カラムで

は、試験液をアセトニトリル 100% で調製すると、図3~5に示すとおりピークがリーディングすることが分かった。(使用カラム: Waters 製 XTerra MS C18 2.1 mm × 150 mm, 3.5 μm, 注入量: 10 μL)

### 3.6 注入量の検討結果

注入量を 5 μL にしたところ、図6に示すとおり 20% アセトニトリルでも問題なくなり、50% アセトニトリルでも保持時間が最も短いスルファグアニジンを除き問題なくなった。100% アセトニトリルでは、保持時間 15 分以下のものはピーク形状が崩れた(測定カラムは AtlantisT3 を使用)。

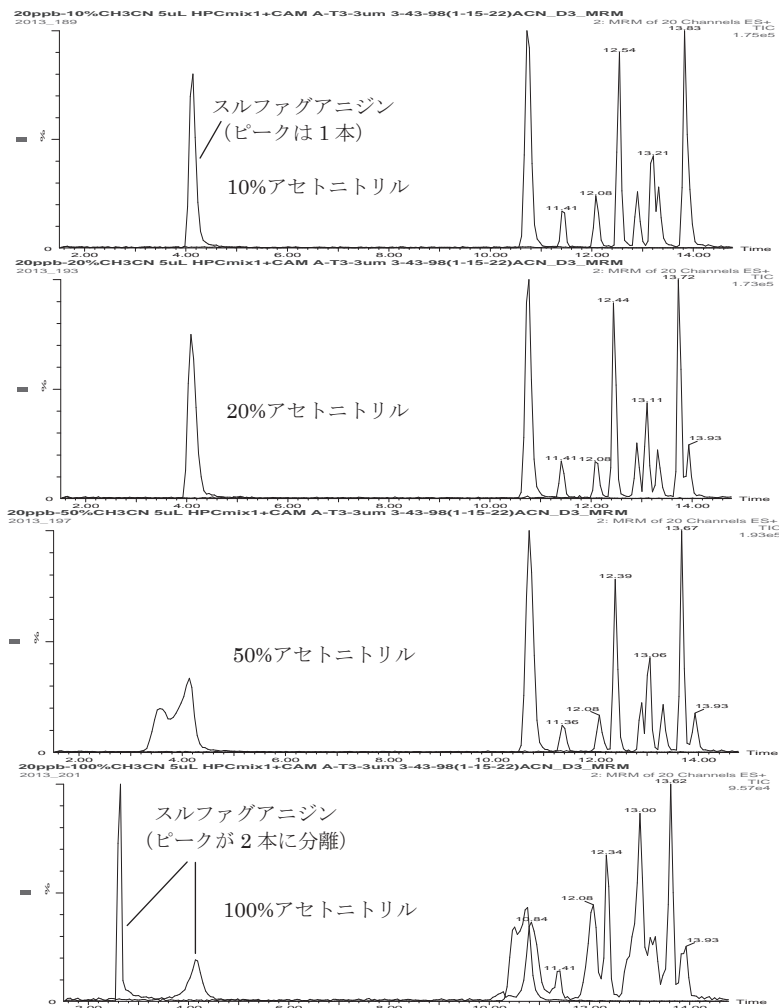


図6 注入量 5  $\mu$ L で測定したクロマトグラム

### 3.7 試験液の溶媒組成の検討結果

3.5 及び 3.6 の検討結果から、有機溶媒の割合を低くするか、注入量を少なくすれば保持時間が短い物質でもピーク形状が崩れないことがわかったので、注入量は感度とピーク形状を考慮して 5  $\mu$ L とし、有機溶媒の割合を減らしても測定物質が溶解しなくなる現象が現れないかを確認した。

河川水(旭川・乙井手堰)、海水(水島沖) 100 mL に標準物質各 100 ng を添加し、10 mL/min で通水、メタノール 5 mL で溶出したものを用い、試験液の溶媒をメタノール/精製水(1:4)、メタノール/精製水(1:1)、メタノールと変更し、同じ溶媒組成の標準品との面積値の比較を行った。

結果を表 8 に示す。有機溶媒の割合を変更しても明確な違いは現れず、有機溶媒の割合を下げても、測定物質が溶解しなくなる現象は確認されなかったため、試験液の溶媒をメタノールからメタノール/精製水(1:1)に変

更した。

### 3.8 移動相及びカラムの検討結果

移動相をギ酸/アセトニトリル系(図 7) からギ酸/メタノール系(図 8) に変更したところ、むしろテーリングしてピーク幅が広がり気味となった。

測定カラムを XBridge C18(図 9) 及び Atlantis T3(図 10) に変更したところ、いずれもピークがシャープとなり良好であったが、Atlantis T3の方がよりシャープであったため、Atlantis T3を採用することとした。

### 3.9 移動相条件の検討

カラムを XTerra から Atlantis T3 に変更することで個々のピーク形状はシャープになったが、目的物質同士の分離では 5 ~ 10 分に何も溶出せず、10 ~ 14 分に何物質か重なったピークがあった。(図 11)

そこで、10 ~ 14 分に溶出していた物質のピーク間隔が広がるよう 1 ~ 10 分で B: 15  $\rightarrow$  23% となるよう緩やかにグラジエントさせるよう変更した。

表 8 試験液の溶媒組成の検討試験結果

対象物質	河川水			海水		
	メタノール/ 精製水 (1:4)	メタノール/ 精製水 (1:1)	メタノール	メタノール/ 精製水 (1:4)	メタノール/ 精製水 (1:1)	メタノール
Sulfanilamide	62	66	70	65	68	66
Sulfaguanidine	71	71	60	71	66	56
Sulfacetamide	8	11	10	1	1	0
Sulfisozole	73	79	78	53	51	51
Pyrimethamine	88	100	96	99	101	99
Sulfapyridine	87	93	83	93	89	83
Sulfadiazine	86	90	84	83	79	73
Sulfamethoxazole	91	96	92	95	95	91
Sulfathiazole	72	87	84	92	87	82
Diaveridine	86	94	89	97	98	91
Sulfamerazin	87	90	84	94	91	86
Sulfatroxazole	90	101	99	105	99	101
Sulfisoxazole	87	84	82	93	84	81
Ormetoprim	88	95	93	98	99	93
Sulfabenzamide	88	91	93	102	93	92
Sulfisomidine	89	93	89	96	95	84
Sulfadimidine	90	97	94	105	100	91
Sulfamethoxy-pyridazine	89	98	95	101	101	94
Sulfamonomethoxine	79	84	78	87	85	74
Sulfachloropyridazine	67	75	74	86	79	77
Trimethoprim	89	92	93	100	97	93
Sulfaethoxy-pyridazine	103	104	103	109	106	102
Sulfaquinoxaline	88	96	97	104	98	93
Sulfadoxin	97	101	99	105	106	98
Sulfadimethoxin	97	102	101	108	103	100
Sulfanitran	79	61	75	96	64	86
Sulfabromomethazine	95	103	99	109	102	103
平均	82	87	85	91	86	83

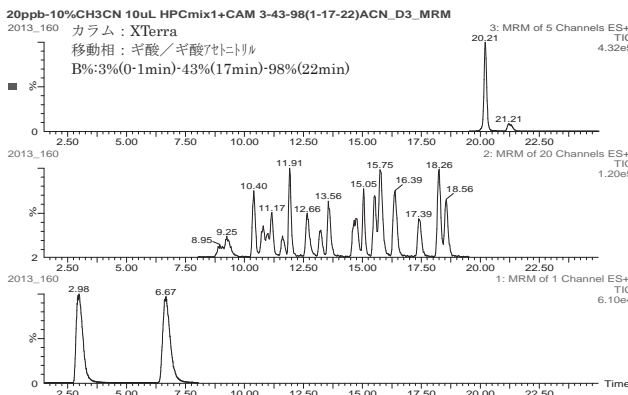


図 7 当初検討した条件で測定したクロマトグラム (基準とする)

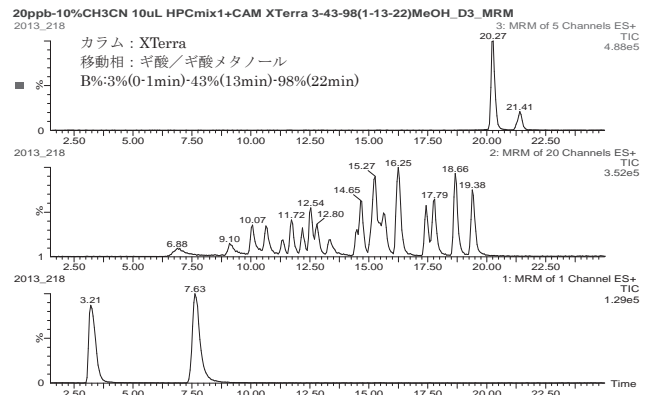


図 8 移動相をメタノール系に変更して測定したクロマトグラム

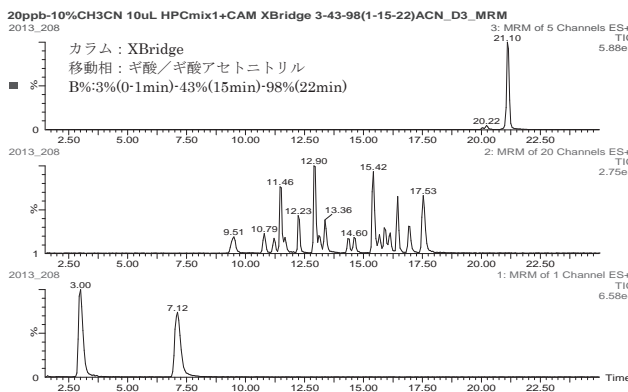


図 9 カラムを XBridge に変更して測定したクロマトグラム

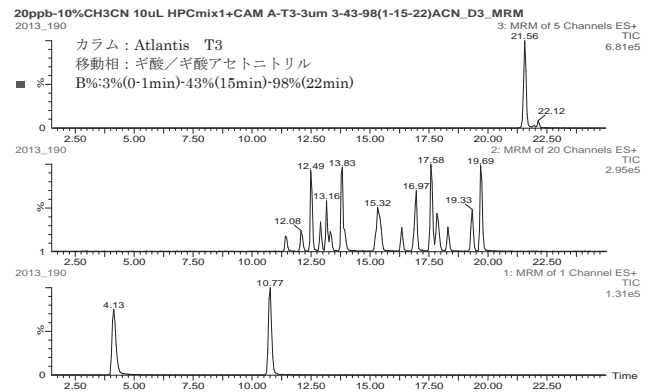


図 10 カラムを AtlantisT3 に変更して測定したクロマトグラム

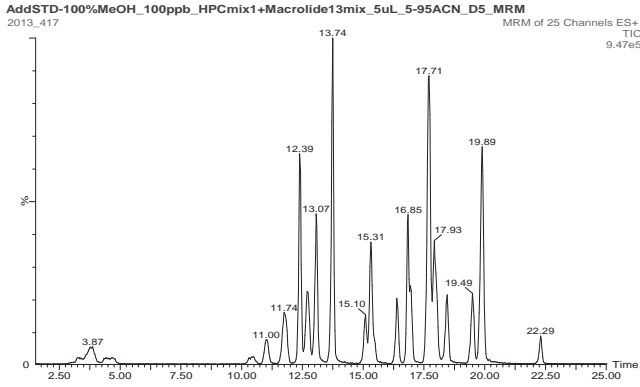


図 11 当初検討した移動相条件で測定したクロマトグラム

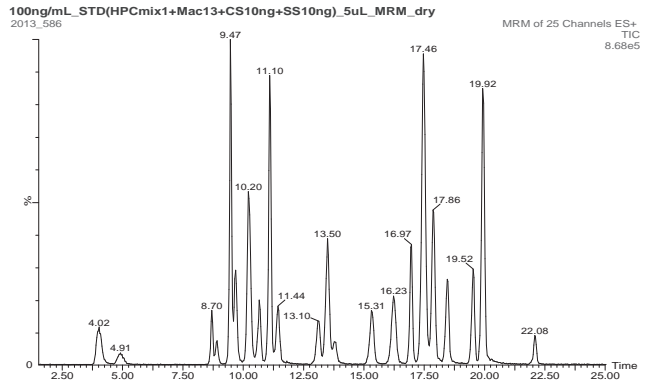


図 12 最終的な移動相条件で測定したクロマトグラム

表 9 装置検出下限(IDL)の算出結果

物質名	試料量 (mL)	最終液量 (mL)	注入液濃度 (ng/mL)	注入量 (L)	平均値 (ng/mL)	標準偏差 (ng/mL)	IDL* (ng/mL)	IDL 試料換算値 (ng/L)	S/N	CV (%)
Sulfanilamide	100	1	1.00	5.0	0.98	0.069	0.27	2.7	9.6	7.1
Sulfaguanidine	100	1	0.50	5.0	0.490	0.0259	0.10	1.0	10	5.3
Sulfacetamide	100	1	1.00	5.0	1.01	0.0611	0.24	2.4	9.5	6.1
Sulfisozole	100	1	0.50	5.0	0.506	0.0259	0.10	1.0	12	5.1
Pyrimethamine	100	1	1.00	5.0	1.06	0.084	0.33	3.3	8.0	7.9
Sulfapyridine	100	1	1.00	5.0	1.05	0.109	0.42	4.2	11	10
Sulfadiazine	100	1	1.00	5.0	1.17	0.112	0.44	4.4	9.4	9.6
Sulfamethoxazole	100	1	1.00	5.0	1.06	0.0959	0.37	3.7	9.9	9.1
Sulfathiazole	100	1	1.00	5.0	1.09	0.108	0.42	4.2	9.3	9.9
Diaveridine	100	1	1.00	5.0	1.12	0.0605	0.24	2.4	11	5.4
Sulfamerazin	100	1	1.00	5.0	1.05	0.103	0.40	4.0	11	9.8
Sulfatroxazole	100	1	1.00	5.0	1.06	0.0853	0.33	3.3	12	8.1
Sulfisoxazole	100	1	1.00	5.0	0.989	0.0982	0.38	3.8	13	9.9
Ormetoprim	100	1	1.00	5.0	1.03	0.0971	0.38	3.8	14	9.5
Sulfabenzamide	100	1	1.00	5.0	1.10	0.106	0.41	4.1	10	9.6
Sulfisomidine	100	1	1.00	5.0	1.04	0.103	0.40	4.0	13	9.8
Sulfadimidine	100	1	1.00	5.0	1.02	0.0526	0.20	2.0	9.0	5.1
Sulfamethoxyppyridazine	100	1	1.00	5.0	1.02	0.0996	0.39	3.9	10	9.8
Sulfamonomethoxine	100	1	1.00	5.0	1.04	0.103	0.40	4.0	11	9.9
Sulfachloropyridazine	100	1	1.00	5.0	1.07	0.0967	0.38	3.8	10	9.1
Trimethoprim	100	1	1.00	5.0	1.04	0.0607	0.24	2.4	11	5.8
Sulfaethoxyppyridazine	100	1	1.00	5.0	1.04	0.108	0.42	4.2	11	10
Sulfaquinoxaline	100	1	1.00	5.0	0.961	0.108	0.42	4.2	12	11
Sulfadoxin	100	1	1.00	5.0	1.05	0.104	0.40	4.0	9.5	9.9
Sulfadimethoxin	100	1	1.00	5.0	1.01	0.0921	0.36	3.6	14	9.1
Sulfanitran	100	1	5.00	5.0	4.97	0.480	1.9	19	9.7	9.7
Sulfabromomethazine	100	1	1.00	5.0	0.978	0.150	0.58	5.8	6.6	15

\*: IDL = t (n-1,0.05) ×  $\sigma_{n-1}$  × 2

最終条件における分離状況を図 12 に示す。

### 3.10 装置検出下限 (IDL) 及び検出下限 (MDL), 定量下限 (MQL)

IDL を表 9, MDL, MQL を表 10 に示す。

IDL は 0.10 (スルファグアニジン及びスルフィソゾール) ~ 1.9 ng/mL (スルファニトラン), MDL は 3.6 (スルファニルアミド) ~ 27 ng/L (スルファニトラン) であった。スルファニトランのみ感度が低く, これは食品分析に用いている装置でも同様の傾向であった。

### 3.11 添加回収試験結果

河川水への添加では, スルファセタミドとスルファニトランを除き, 70 ~ 120% の良好な回収率であった。(表 11)

海水への添加では, 酸性下で通水する必要があるスルファセタミドのほか, スルファグアニジンとスルフィソゾールで 70% 未満の回収率となった。(表 12)

表 10 検出下限(MDL)及び定量下限(MQL)の算出結果

対象物質	試料	標準添加量 (ng)	試料換算濃度 (ng/L)	操作ブランク平均 (ng/L)	無添加平均 (ng/L)	標準偏差 (ng/L)	MDL (ng/L)	MQL (ng/L)	CV (%)	ターゲット回収率 (%)	
Sulfanilamide	海水	2.00	20.0	ND	ND	13.8	0.92	3.6	9.2	6.6	-
Sulfaguanidine	海水	2.00	20.0	ND	ND	13.7	1.60	6.2	16	12	-
Sulfacetamide	海水	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sulfisozole	海水	2.00	20.0	ND	ND	12.9	1.32	5.1	13	10	-
Pyrimethamine	海水	2.00	20.0	ND	ND	17.2	0.98	3.8	9.8	5.7	-
Sulfapyridine	海水	2.00	20.0	ND	ND	18.2	1.80	7.0	18	9.9	-
Sulfadiazine	海水	2.00	20.0	ND	ND	17.6	1.25	4.9	13	7.1	85
Sulfamethoxazole	海水	2.00	20.0	ND	ND	18.8	1.79	7.0	18	11	93
Sulfathiazole	海水	2.00	20.0	ND	ND	15.9	1.64	6.4	16	10	-
Diaveridine	海水	2.00	20.0	ND	ND	20.0	3.24	13	32	16	-
Sulfamerazin	海水	2.00	20.0	ND	ND	17.5	1.89	7.3	19	11	-
Sulfatroxazole	海水	2.00	20.0	ND	ND	17.7	2.50	9.7	25	14	-
Sulfisoxazole	海水	2.00	20.0	ND	ND	19.4	1.85	7.2	19	9.5	-
Ormetoprim	海水	2.00	20.0	ND	ND	19.6	1.61	6.3	16	8.2	-
Sulfabenzamide	海水	2.00	20.0	ND	ND	16.5	2.63	10	26	16	-
Sulfisomidine	海水	2.00	20.0	ND	ND	17.8	1.59	6.2	16	8.9	-
Sulfadimidine	海水	2.00	20.0	ND	ND	19.0	1.34	5.2	13	7.0	98
Sulfamethoxyypyridazine	海水	2.00	20.0	ND	ND	17.6	1.98	7.7	20	11	-
Sulfamonomethoxine	海水	2.00	20.0	ND	ND	16.0	1.85	7.2	19	12	-
Sulfachloropyridazine	海水	2.00	20.0	ND	ND	18.7	1.65	6.4	17	8.8	93
Trimethoprim	海水	2.00	20.0	ND	ND	20.3	3.14	12	31	16	99
Sulfaethoxyypyridazine	海水	2.00	20.0	ND	ND	19.6	2.87	11	29	15	-
Sulfaquinoxaline	海水	2.00	20.0	ND	ND	14.6	2.16	8.4	22	15	-
Sulfadoxin	海水	2.00	20.0	ND	ND	18.2	1.88	7.3	19	10	102
Sulfadimethoxin	海水	2.00	20.0	ND	ND	18.7	2.13	8.3	21	11	99
Sulfantran	海水	10.0	100	ND	ND	116	7.00	27	70	6.1	-
Sulfabromomethazine	海水	2.00	20.0	ND	ND	19.3	2.15	8.3	22	11	-

(注) スルファセタミドは、酸性下で抽出する必要があるため、pHを調整しない他成分との同時分析ではMDLを求めることができなかった。

表 11 添加回収試験結果(河川水)

対象物質	試料名	試料量 (mL)	試験数	無添加			10 ng 添加			
				検出濃度 (ng/L)	ターゲット回収率 (%)	試験数	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)	ターゲット回収率 (%)
Sulfanilamide	河川水	100	2	ND	-	5	90	90	3.4	-
Sulfaguanidine	河川水	100	2	ND	-	5	79	79	3.1	-
Sulfacetamide	河川水	100	2	ND	-	5	6.3	20	-	-
Sulfisozole	河川水	100	2	ND	-	5	73	73	4.5	-
Pyrimethamine	河川水	100	2	ND	-	5	100	100	7.1	-
Sulfapyridine	河川水	100	2	11	-	5	100	89	3.2	-
Sulfadiazine	河川水	100	2	ND	81	5	103	103	2.7	78
Sulfathiazole	河川水	100	2	ND	-	5	80	80	4.7	-
Diaveridine	河川水	100	2	ND	-	5	99	97	4.5	-
Sulfamerazin	河川水	100	2	ND	-	5	94	94	1.1	-
Sulfatroxazole	河川水	100	2	ND	-	5	101	101	3.8	-
Sulfisoxazole	河川水	100	2	ND	-	5	73	73	3.3	-
Ormetoprim	河川水	100	2	ND	-	5	96	96	2.3	-
Sulfabenzamide	河川水	100	2	ND	-	5	79	79	9.3	-
Sulfisomidine	河川水	100	2	ND	-	5	83	83	4.6	-
Sulfadimidine	河川水	100	2	ND	95	5	97	97	2.3	98
Sulfamethoxyypyridazine	河川水	100	2	ND	-	5	90	90	2.2	-
Sulfamonomethoxine	河川水	100	2	ND	-	5	79	79	4.1	-
Sulfachloropyridazine	河川水	100	2	ND	79	5	100	100	3.5	78
Trimethoprim	河川水	100	2	ND	91	5	101	99	6.3	98
Sulfaethoxyypyridazine	河川水	100	2	ND	-	5	107	107	3.5	-
Sulfaquinoxaline	河川水	100	2	ND	-	5	77	77	4.0	-
Sulfadoxin	河川水	100	2	ND	89	5	93	93	9.4	115
Sulfadimethoxin	河川水	100	2	ND	97	5	102	102	3.4	100
Sulfantran	河川水	100	2	ND	-	5	133	133	1.8	-
Sulfabromomethazine	河川水	100	2	ND	-	5	95	95	5.4	-

(注) スルファセタミドは、酸性下で通水する必要があるため、pH未調整で通水した同時分析では回収率が低くなっている。スルファニトランは、ESI-Negative では高めに定量される傾向にあり、ESI-Positive では低め(回収率 44%)に定量される傾向にある。

表 12 添加回収試験結果(海水)

対象物質	試料名	試料量 (mL)	試験数	無添加			10 ng 添加			
				検出濃度 (ng/L)	ターゲット回収率 (%)	試験数	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)	ターゲット回収率 (%)
Sulfanilamide	海水	100	2	ND	-	7	78	78	6.9	-
Sulfaguanidine	海水	100	2	ND	-	7	58	58	7.5	-
Sulfacetamide	海水	100	2	-	-	7	-	-	-	-
Sulfisozole	海水	100	2	ND	-	7	65	65	4.7	-
Pyrimethamine	海水	100	2	ND	-	7	97	97	3.7	-
Sulfapyridine	海水	100	2	ND	-	7	87	87	1.5	-
Sulfadiazine	海水	100	2	ND	84	7	101	101	5.7	76
Sulfathiazole	海水	100	2	ND	-	7	81	81	3.9	-
Diaveridine	海水	100	2	ND	-	7	94	94	4.4	-
Sulfamerazin	海水	100	2	ND	-	7	88	88	3.2	-
Sulfatroxazole	海水	100	2	ND	-	7	98	98	4.1	-
Sulfisoxazole	海水	100	2	ND	-	7	81	81	3.4	-
Ormetoprim	海水	100	2	ND	-	7	94	94	3.2	-
Sulfabenzamide	海水	100	2	ND	-	7	95	95	2.6	-
Sulfisomidine	海水	100	2	ND	-	7	85	85	3.6	-
Sulfadimidine	海水	100	2	ND	98	7	103	103	5.8	96
Sulfamethoxyypyridazine	海水	100	2	ND	-	7	95	95	2.9	-
Sulfamonomethoxine	海水	100	2	ND	-	7	93	93	4.7	-
Sulfachloropyridazine	海水	100	2	ND	91	7	102	102	2.4	87
Trimethoprim	海水	100	2	ND	98	7	103	103	6.1	91
Sulfaethoxyypyridazine	海水	100	2	ND	-	7	102	102	1.7	-
Sulfaquinoxaline	海水	100	2	ND	-	7	90	90	3.2	-
Sulfadoxin	海水	100	2	ND	108	7	95	95	5.5	102
Sulfadimethoxin	海水	100	2	ND	103	7	96	96	5.9	112
Sulfantran	海水	100	2	ND	-	7	116	116	6.1	-
Sulfabromomethazine	海水	100	2	ND	-	7	100	100	2.4	-

(注) スルファセタミドは、酸性下で通水する必要があるため、pH未調整で通水した同時分析では、ほとんど回収できなかった。

#### 4 まとめ

合成抗菌剤であるサルファ剤等 27 物質の多成分同時分析法を検討し、次の結果を得た。

- ①対象物質は、逆相系固相カートリッジの Oasis HLB に通水し、メタノール 5mL で溶出する方法で抽出できることがわかった。
- ②スルファセタミドは酸性で通水する必要があったが、その他の物質は pH 調整不要であり、多成分を簡易かつ一斉に分析することが目的であるため、同物質を除く 26 物質の分析法とした。
- ③逆相 - イオン交換ミックスモード固相を検討したが、対象物質により挙動が異なり、回収率も低かったため採用しないこととした。
- ④保持時間が短い物質では、注入量を増加させるか、試験液の有機溶媒の割合を増加させると、ピークがリーディングして形状が崩れる傾向にあった。
- ⑤測定カラムは、Atlantis T3 がピーク幅が狭く、保持時間が短い物質でもリーディングが少なかった。
- ⑥開発した分析法は、水質試料中のサルファ剤等 26 物質の分析に適用でき、検出下限は、3.6 ~ 27 ng/L であった。
- ⑦河川水及び海水を用いた添加回収試験（河川水は 0.10  $\mu\text{g/L}$ 、海水は 0.02  $\mu\text{g/L}$  添加）の回収率は、それぞれ 73 ~ 107%、58 ~ 103% であった。

なお、本研究は環境省委託の平成 25 年度化学物質分析法開発調査（環境省環境安全課）と連携して実施した。

#### 文 献

- 1) 大月史彦, 肥塚加奈江, 前田大輔, 山本淳: 厚生労働省ガイドラインによる残留動物用医薬品一斉試験法の妥当性評価, 岡山県環境保健センター年報, 35, 109-113, 2011
- 2) 浦山豊弘, 肥塚加奈江, 赤木正章, 山本淳: 厚生労働省ガイドラインによる残留動物用医薬品一斉試験法の妥当性評価(第 2 報), 岡山県環境保健センター年報, 36, 109-114, 2012
- 3) 浦山豊弘, 肥塚加奈江, 赤木正章, 北村雅美: 厚生労働省ガイドラインによる残留動物用医薬品一斉試験法の妥当性評価(第 3 報), 岡山県環境保健センター年報, 37, 137-144, 2013
- 4) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課: 化学物質環境実態調査実施の手引き(平成 20 年度版), 平成 21 年 3 月, 2009
- 5) 浦山豊弘, 杉山広和, 剣持堅志, 藤原博一, 鷹野洋ら: LC/MS による農薬の多成分同時分析のための基礎的検討, 岡山県環境保健センター年報, 30, 57-62, 2006
- 6) 浦山豊弘, 剣持堅志, 吉岡敏行, 藤原博一, 中桐基晴: LC/MS による農薬の多成分同時分析のための基礎的検討(II), 岡山県環境保健センター年報, 31, 69-75, 2007
- 7) 浦山豊弘, 剣持堅志, 吉岡敏行, 藤原博一, 中桐基晴: LC/MS を用いた水質中モノハロゲン化フェノール類の分析法, 岡山県環境保健センター年報, 32, 59-65, 2008



【調査研究】

## 事故時等緊急時の化学物質の分析技術の開発に関する研究

－マクロライド系抗生物質の水質分析法の検討－

Study on the development of analysis method of chemical substances at the time of water quality accidents

－ Study on the development of analysis method of macrolide antibiotics －

新 和大, 浦山豊弘, 中野拓也, 山本 淳(水質科)

Kazuhiro Atarashi, Toyohiro Urayama, Takuya Nakano, Jun Yamamoto  
(Water Section)

### 要 旨

医薬品の1つであるマクロライド系抗生物質の多成分同時分析法を検討した。分析方法は、試料を固相カートリッジに通水後メタノールで溶出し、試験液をメタノール/精製水(1:1)に調整した後、LC/MS/MS(SRM法)で測定する方法とした。マクロライド系抗生物質11物質について、本分析法を用いた添加回収試験の回収率は、河川水で73～91%、海水で60～92%であった。また、検出下限値は0.8～6.9 ng/Lであり、本検討により高感度な同時分析法が開発できた。

[キーワード：医薬品, マクロライド系抗生物質, 水質, LC/MS]

[Key words : Drugs, Macrolide antibiotics, Water quality, LC/MS]

### 1 はじめに

近年、欧米諸国や日本で医薬品や化粧品などの医薬品類(Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs))の水環境中での挙動に注目が集まっている。医薬品類は生理活性をもつように設計されており、水環境に流出した際には生態系への影響や耐性菌の出現といった問題が懸念されている。

ヒト及び動物用の医薬品として幅広く用いられているマクロライド系抗生物質は、下水道や畜産排水を通じて環境中に広く排出されていることが考えられる。しかし、環境中におけるマクロライド系抗生物質の高感度の多成分同時分析法は確立されておらず、これらの分析法の開発や環境中の存在状況の把握は、環境・生態リスク等の観点から重要である。

今回、筆者らは環境水中のマクロライド系抗生物質11物質の高感度同時分析法を開発したので、報告する。

### 2 実験方法

#### 2.1 検討物質

検討物質を表1に示す。クラリスロマイシン等、マクロライド系抗生物質13物質について検討を行った。

#### 2.2 試薬・器具

クラリスロマイシン標準品：

和光純薬工業製 生化学用 純度95.0%

オレアンドマイシンりん酸塩標準液：

Dr.Ehrenstorfer 100 ng/ $\mu$ L(りん酸塩として)純度66.3%

エリスロマイシンA標準品：

和光純薬工業製 HPLC用 純度98.0%

エリスロマイシンB標準品：

United States Pharmacopeial Convention 製 純度99%

アジスロマイシン二水和物標準品：

Dr.Ehrenstorfer 製 純度97.0%

ロキシスロマイシン標準品：

Dr.Ehrenstorfer 製 純度97.0%

表1 検討物質一覧表

物質名	分子式	CAS 番号	分子量	モライトビッ質量
クラリスロマイシン	C <sub>38</sub> H <sub>69</sub> NO <sub>13</sub>	81103-11-9	747.95	747.4769
オレアンドマイシン	C <sub>35</sub> H <sub>61</sub> NO <sub>12</sub>	3922-90-5	687.86	687.4194
エリスロマイシン A	C <sub>37</sub> H <sub>67</sub> NO <sub>13</sub>	114-07-8	733.93	733.4612
エリスロマイシン B	C <sub>37</sub> H <sub>67</sub> NO <sub>12</sub>	527-75-3	717.93	717.4663
アジスロマイシン	C <sub>38</sub> H <sub>72</sub> N <sub>2</sub> O <sub>12</sub>	83905-01-5	749.00	748.5085
ロキシスロマイシン	C <sub>41</sub> H <sub>76</sub> N <sub>2</sub> O <sub>15</sub>	80214-83-1	837.05	836.5246
ロイコマイシン A5	C <sub>39</sub> H <sub>65</sub> NO <sub>14</sub>	18361-45-0	771.93	771.4405
ジョサマイシン	C <sub>42</sub> H <sub>69</sub> NO <sub>15</sub>	16846-24-5	827.99	827.4667
チルミコシン	C <sub>46</sub> H <sub>80</sub> N <sub>2</sub> O <sub>13</sub>	108050-54-0	869.13	868.5660
タイロシン	C <sub>46</sub> H <sub>77</sub> NO <sub>17</sub>	1401-69-0	916.10	915.5192
リンコマイシン	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> S	154-21-2	406.54	406.2138
クリンダマイシン	C <sub>18</sub> H <sub>33</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S	18323-44-9	424.98	424.1799
タクロリムス	C <sub>44</sub> H <sub>69</sub> NO <sub>12</sub>	104987-11-3	804.02	803.4820

表2 対象物質のモニターイオン, コーン電圧及びコリジョン電圧

物質名	保持時間 (min)	コーン電圧 (V)	モニターイオン (コリジョン電圧)	
			定量	定性
クラリスロマイシン	20.87	26	748.48>158.0 (27eV)	748.48>116.0 (40eV) 748.48>590.4 (20eV)
オレアンドマイシン	18.99	18	688.43>158.1 (24eV)	688.43>544.4 (16eV)
エリスロマイシン A	19.48	30	734.47>158.1 (24eV)	734.47>576.3 (21eV)
エリスロマイシン B	20.28	20	718.47>158.1 (27eV)	718.47>560.3 (22eV)
アジスロマイシン	16.14	35	749.52>158.1 (30eV)	749.52>591.3 (25eV)
ロキシスロマイシン	21.01	30	837.53>158.1 (30eV)	837.53>679.4 (25eV)
ロイコマイシン A5	20.48	45	772.45>174.1 (32eV)	772.45>558.1 (25eV)
ジョサマイシン	21.50	35	828.47>174.1 (30eV)	828.47>600.3 (30eV)
チルミコシン	18.16	50	869.57>174.1 (40eV)	869.57>696.5 (40eV)
タイロシン	19.91	50	916.53>174.1 (42eV)	916.53>772.6 (10eV)
リンコマイシン	9.09	32	407.22>126.1 (27eV)	407.22>359.2 (22eV)
クリンダマイシン	17.20	28	425.19>126.1 (20eV)	425.19>377.1 (18eV)
タクロリムス	28.89	28	821.52>768.6 (20eV)	821.52>576.2 (22eV)

ロイコマイシン A5 標準品:

和光純薬工業製 HPLC 用 純度 90.0%

ジョサマイシン標準液:

Dr.Ehrenstorfer 製 10 ng/μL 純度 98.0%

チルミコシン標準品(異性体混合物):

和光純薬工業製 HPLC 用 純度 98.0%

タイロシン標準品:

和光純薬工業製 HPLC 用 純度 97.0%

リンコマイシン塩酸塩一水和物標準:

和光純薬工業製 HPLC 用 純度 98.0%

クリンダマイシン塩酸塩標準品:

Dr.Ehrenstorfer 製 純度 98.0%

タクロリムス標準品:

LKT Laboratories 製 純度 96.0%

アセトニトリル, メタノール:

LC/MS用 和光純薬工業製

精製水:

ミリポア製 Milli-Q Gradient により調製

固相カートリッジ:

Waters 製 Oasis HLB Plus LP (225 mg)

1mol/L ギ酸アンモニウム溶液:

和光純薬工業製 HPLC用

### 2.3 LC/MSの測定条件

LC/MS 機器:

Waters Alliance 2695/ Quattro micro API

LC

LC 機種: Waters Alliance 2695

カラム: Waters 製 Atlantis T3 2.1 mm × 150 mm, 3 μm

移動相: A: 0.1% ギ酸 / 10 mmol/L ギ酸アンモニウム水溶液 (99:1)

B: 0.1% ギ酸-アセトニトリル溶液 / 10 mmol/L ギ酸アンモニウム-アセトニトリル溶液 (99:1)

0~1 min A: 97→85 B: 3→15 linear gradient

1~10 min A: 85→77 B: 15→23 linear gradient

10~21 min A: 77→25 B: 23→75 linear gradient

21~22 min A: 25→0 B: 75→100 linear gradient

22~35 min A: B = 0:100

35~35.1 min A: 0→97 B: 100→3 linear gradient

35.1~48 min A: B=97:3

カラム流量: 0.2 mL/min

カラム温度: 40° C

試料注入量: 5 μL

MS

MS 機種: Waters Quattro micro API

キャピラリー電圧: 2.5 kV

ソース温度: 100° C

デゾルベーション温度: 450° C

コーンガス量: 60 L/Hr

デゾルベーション流量: 500 L/Hr

イオン化法: ESI-Positive

測定モード: SRM

モニターイオン, コーン電圧及びコリジョン電圧

: 表 2 参照

### 2.4 前処理方法

水質試料 100 mL を, メタノール 10 mL, 精製水 20 mL でコンディショニングした固相カートリッジ (Oasis HLB plus) に 10 mL/min の速さで通水した。固相カートリッジを精製水 15 mL で洗浄後, 注射筒で空気を 5 mL × 3 回通気して固相中の水分を除去した。これをメタノール 5 mL で溶出し, 40° C 以下の窒素気流下で約 0.2 mL まで濃縮し, メタノール / 精製水 (1:1) で 1 mL に定容し, 0.45 μm フィルターでろ過を行い, 試験液とした。

### 2.5 装置検出下限値及び分析法の検出下限値と定量下限値

装置検出下限値 (IDL) 及び分析方法の検出下限値 (MDL) と定量下限値 (MQL) の測定及び算出は, 「化学物質環境汚染実態調査の手引き (平成 20 年度版)」<sup>1)</sup> に従った。IDL は, 検量線に用いる最低濃度付近の標準液を 7 回繰り返し測定し, 得られた測定値の標準偏差を用いて算出した。MDL 試験には, 海水に IDL の 5 倍程度の標準物質を添加した試料を 7 個作成し, 分析フローに従い前処理を実施した後, LC/MS で測定し, 得られた測定値の標準偏差を用いて算出した。

$$IDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1, I} \times 2$$

t(n-1, 0.05): 危険率 5%, 自由度 n-1 の t 値 (片側)

$\sigma_{n-1, I}$ : IDL 算出のための測定値の標本標準偏差

$$MDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1, M} \times 2$$

$$MQL = 10 \times \sigma_{n-1, M}$$

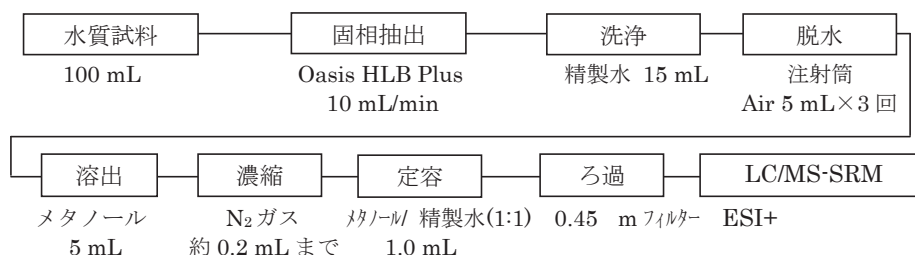


図 1 分析法のフローチャート

$t(n-1, 0.05)$ : 危険率 5%, 自由度  $n-1$  の  $t$  値(片側)  
 $\sigma_{n-1, M}$ : MDL 算出のための測定値の標本標準偏差

### 3 検討結果及び考察

#### 3.1 抽出用固相カートリッジの検討結果

逆相系の抽出用固相である InertSep C18, Oasis HLB, InertSep PLS-3 の 3 種類の固相の比較検討試験を実施した。精製水 100 mL にクラリスロマイシン標準物質 1.0  $\mu$ g を添加し、固相に 10 mL/min で通水、メタノール 5 mL で溶出した後、アセトニトリル 5 mL で溶出した。

それぞれの固相の回収率を比較した結果を図 2 に示す。InertSep C18 では回収率が 20 % を下回り対象物質の保持には適さなかった。対して、Oasis HLB と

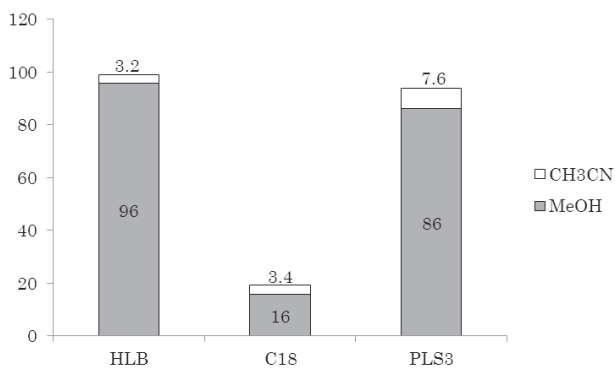


図 2 抽出用固相カートリッジの検討結果 (クラリスロマイシン)

InertSep PLS-3 では回収率が良好であり、このことから対象物質の保持にはシリカ系よりもポリマー系の固相が適していると考えられた。

Oasis HLB は InertSep PLS-3 に比べメタノール 5 mL 溶出での回収率が高く、アセトニトリル画分への残留も少なかったため、検討した 3 種類の固相では Oasis HLB が最も適していると判断した。

#### 3.2 溶出溶媒の検討結果

Oasis HLB について、マクロライド系抗生物質 13 成分に対する溶出溶媒を検討した。精製水 100 mL に標準物質各 100 ng を添加し、Oasis HLB に 10 mL/min で通水後、メタノール 5 mL で 2 回溶出したもの及びアセトニトリル 5 mL で 2 回溶出したものを比較した。

結果は表 3 のとおりであり、アセトニトリルとメタノールを比較すると、メタノールで溶出した方が回収率が高い物質が多いため、溶出溶媒はメタノールが適していると判断した。

溶媒溶出量について比較すると、チルミコシンを除きメタノール 1 回目での溶出で回収が可能であった。チルミコシンは後述の検討で同時分析できないことが分かったため、本分析法ではメタノール 5 mL での溶出とした。

#### 3.3 試料通水時の pH の検討

海水(水島沖) 100 mL に標準物質各 100 ng を添加し、

表 3 溶出溶媒の検討試験結果(Oasis HLB)

対象物質	回収率(%)					
	メタノール			アセトニトリル		
	0-5 mL	5-10 mL	計	0-5 mL	5-10 mL	計
クラリスロマイシン	95	0	95	64	11	75
オレアンドマイシン	105	0	105	81	8	89
エリスロマイシン A	94	0	94	58	14	72
エリスロマイシン B	90	0	90	61	11	72
アジスロマイシン	93	0	93	64	12	76
ロキシスロマイシン	94	0	94	62	11	73
ロイコマイシン A5	91	0	91	89	0	90
ジョサマイシン	89	0	89	87	0	87
チルミコシン	82	68	150	3	16	19
タイロシン	91	0	91	89	0	90
リンコマイシン	119	0	119	80	1	82
クリンダマイシン	89	0	89	96	1	97
タクロリムス	120	0	121	117	1	117

pHをそれぞれ3, 4, 5, 7, 8, 9としたものに、10 mL/minで通水、メタノール5 mLで溶出した。

クラリスロマイシンを含む多くの物質で、pH3で回収率が高い傾向が確認されたが、エリスロマイシンAがpH3で極端に回収率が低くなることが分かり、大きく酸性側に傾いた状態では固相で保持されない、あるいは分解する可能性が示唆された(表4)。通常環境試料のpHであるpH7~8では回収率に問題が無かったため、pHを調整する分析法にはしなかった。なお、試料のpHや対象物質によって、pH調整の必要の有無を確認することが望ましい。

### 3.4 逆相-イオン交換ミックスモード固相の検討

マクロライド系抗生物質について、構造式から陽イオン交換系の抽出固相が適用できる可能性が考えられたため、Waters製 Oasis MCXの検討試験を実施した。また、前段の試料通水時のpH検討結果からチルミコシンがマトリックス効果を強く受けている可能性が考えられたため、マトリックス成分の除去を目的としたWaters製 Oasis MAXの検討も併せて実施した。

河川水(旭川・乙井手堰)、海水(水島沖)100 mLに標準物質各100 ngを添加し、10 mL/minで通水、Oasis MCXは、2%ギ酸水溶液、精製水で洗浄後、メタノール5 mLで溶出し、更に濃アンモニア水 / メタノール

(5:95)で溶出、Oasis MAXは濃アンモニア水 / 精製水(5:95)、精製水で洗浄後、メタノール5 mLで溶出し、更にギ酸 / メタノール(2:98)5 mLで溶出した。(測定溶媒はメタノール)。

結果は表5のとおりであり、Oasis MCXではメタノール及び濃アンモニア水 / メタノールでの溶出では回収できない物質が多く、使用に適さなかった。また、Oasis MAXによるチルミコシンの回収率の改善は認められなかった。

以上から、本分析法では逆相-イオン交換ミックスモード固相は使用しないこととした。

### 3.5 試験液の溶媒組成の検討結果

河川水(旭川・乙井手堰)及び海水(水島沖)100 mLに標準物質各100 ngを添加し、10 mL/minで固相に通水後メタノール5 mLで溶出したものを試験液とした。試験液の溶媒組成をメタノール / 精製水(1:4)、メタノール / 精製水(1:1)、メタノールと変更し、同じ溶媒組成の標準品との面積値の比較を行った結果を表6に示す。

本分析法ではメタノール / 精製水(1:4)の組成の場合、回収率が低くなる傾向が確認され、特に保持時間が最も長いタクロリムスで顕著であった。メタノール / 精製水(1:1)、メタノールについては両者に明確な差は無かった。なお、当センターでは動物用医薬品の一つであるサ

表4 通水時のpHの検討試験結果(Oasis HLB)

対象物質	回収率 (%)					
	pH3	pH4	pH5	pH7	pH8	pH9
クラリスロマイシン	100	91	88	88	80	83
オレアンドマイシン	101	89	96	93	90	78
エリスロマイシンA	9	60	86	91	86	81
エリスロマイシンB	97	89	85	85	75	78
アジスロマイシン	99	91	88	91	82	82
ロキシスロマイシン	87	94	85	88	76	84
ロイコマイシンA5	100	89	97	80	81	67
ジョサマイシン	95	86	97	78	82	64
チルミコシン	164	116	47	152	100	139
タイロシン	93	89	93	84	81	69
リンコマイシン	98	96	103	87	91	88
クリンダマイシン	115	104	109	101	94	89
タクロリムス	105	95	100	78	85	57

表5 逆相-イオン交換ミックスモード固相の検討試験結果

対象物質	回収率 (%)											
	海水						河川水					
	MAX			MCX			MAX			MCX		
	MeOH	ギ酸/ MeOH	計	MeOH	NH3/ MeOH	計	MeOH	ギ酸/ MeOH	計	MeOH	NH3/ MeOH	計
クラリスロマイシン	84	0	84	0	0	0	90	0	90	0	0	0
オレアンドマイシン	62	10	73	0	33	33	83	5	89	0	26	26
エリスロマイシン A	85	0	85	0	0	0	87	0	87	0	0	0
エリスロマイシン B	84	0	84	0	1	1	94	0	94	0	1	1
アジスロマイシン	83	0	83	0	0	0	90	0	90	0	0	0
ロキシスロマイシン	83	0	83	0	0	0	87	0	87	0	0	0
ロイコマイシン A5	63	3	66	0	0	0	78	2	80	0	2	2
ジョサマイシン	60	1	61	0	0	0	80	1	80	0	0	0
チルミコシン	164	1	165	1	161	162	126	12	138	0	183	183
タイロシン	66	3	69	0	0	0	78	2	80	0	0	0
リンコマイシン	83	0	84	0	79	79	64	0	65	0	78	78
クリンダマイシン	79	0	79	0	80	80	78	0	79	0	82	82
タクロリムス	40	0	41	75	0	75	76	0	77	101	0	101

表6 試験液の溶媒組成の検討試験結果

対象物質	回収率 (%)								
	メタノール/精製水(1:4)			メタノール/精製水(1:1)			メタノール		
	川	海	平均	川	海	平均	川	海	平均
クラリスロマイシン	78	80	79	88	82	85	89	87	88
オレアンドマイシン	89	89	89	91	68	79	90	75	83
エリスロマイシン A	85	85	85	89	85	87	83	86	84
エリスロマイシン B	80	81	80	83	81	82	83	82	82
アジスロマイシン	78	84	81	92	87	90	91	89	90
ロキシスロマイシン	83	82	83	93	89	91	92	97	95
ロイコマイシン A5	86	66	76	90	63	76	89	61	75
ジョサマイシン	82	63	73	91	62	77	90	59	75
チルミコシン	93	165	129	92	116	104	100	104	102

ルファ剤 26 物質についても調査研究として分析法開発を実施しており、そのうちスルファゲアニン等水溶性の高い物質では試験液をメタノールにするとピーク形状の悪化が認められた(図3)。マクロライド系抗生物質とサルファ剤の同時分析の可能性も視野に入れ、試験液の溶媒をメタノール / 精製水(1:1)とした。

### 3.6 移動相及びカラムの検討結果

測定カラムとして当初は Waters 製 XTerra カラムの

使用を想定していたため、このカラムで移動相の比較検討を行った。各条件におけるクロマトグラムを図4に示す。

ギ酸/アセトニトリル系とギ酸/メタノール系の移動相でクラリスロマイシンを測定しクロマトグラムを比較したところ、ギ酸/アセトニトリル系の移動相とした方がピーク形状が良好であった。

次にギ酸/アセトニトリル系の移動相で3種類の測定カラム(Waters 製 XTerra, Xbridge 及び Atlantis T3)

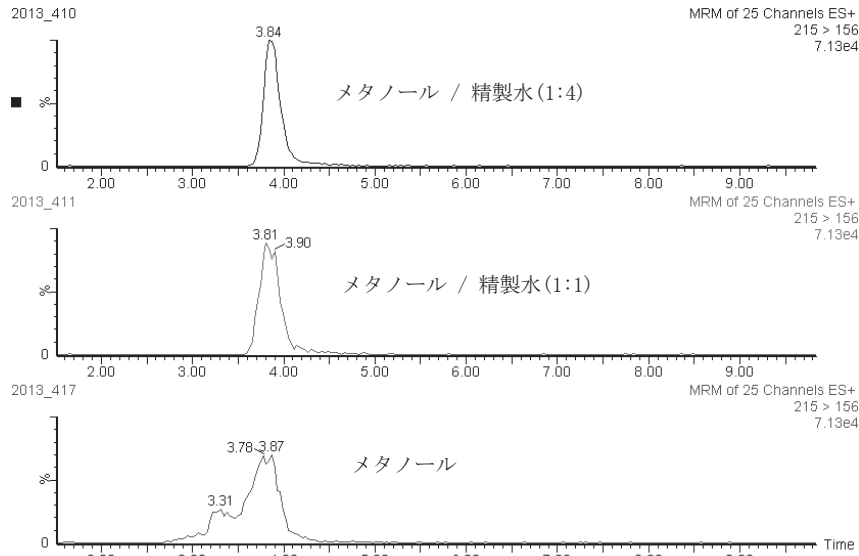


図3 スルファグアニジンの溶媒組成を変えたクロマトグラム

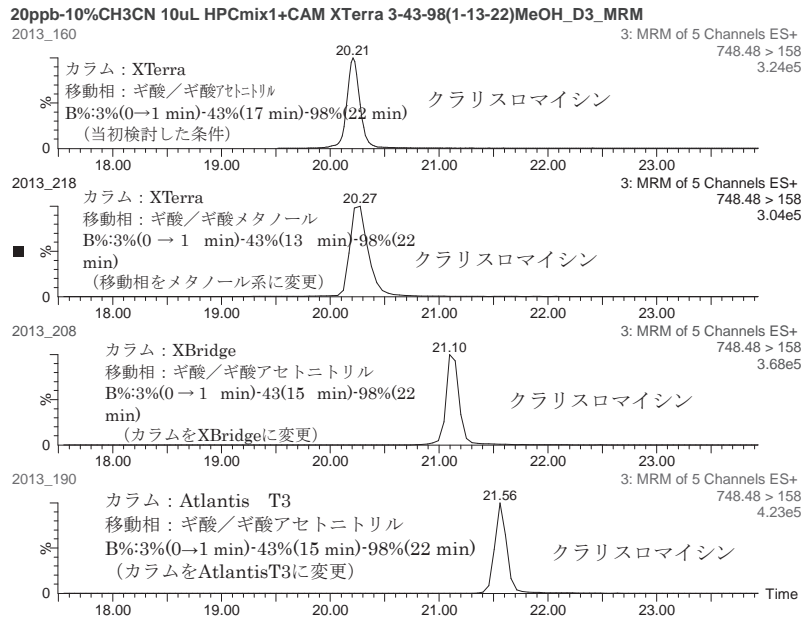


図4 移動相及びカラムを変更して測定したクロマトグラム

で測定したクロマトグラムを比較すると、Atlantis T3が最もピーク形状が良好であった。

よって、移動相はギ酸/アセトニトリル系とし、測定カラムには Atlantis T3 を採用することとした。

### 3.7 ロイコマイシンの測定イオンの検討

ロイコマイシンは、A1, A3 ~ A9 (A3 = ジョサマイシン) 等の多成分からなる混合物で、A5 (m.w 771.9) が有効成分である。インフュージョン分析によりマススペクトルを確認したところ最も大きいイオンは  $m/z$  804.6 で、そのプロダクトイオンにマクロライド系に特徴的なプロダクトイオンの1つの  $m/z$  174.1 があり、ロイコマ

イシン関連のイオンのようであった (図5及び図6)。なお、 $m/z$  804.6 のプロダクトイオンに  $m/z$  772.5 が生成することから、 $m/z$  804.6 は A5 の  $[M+H+32]^+$  と推測された ( $32 = \text{CH}_3\text{OH}$  と推測)。

そこで、有効成分であるロイコマイシン A5 の標準品を入手し、スペクトルを調べたところ、 $[M+H]^+$  に該当する  $m/z$  772 と、それより強い強度で  $m/z$  804 ( $[M+H+\text{CH}_3\text{OH}]^+$  と推測) が検出された (メタノール溶液をインフュージョン測定) (図7)。

このことから、Dr.Ehrenstorfer 製ロイコマイシン A5 標準品の試薬は、有効成分のロイコマイシン A5 (m.w.

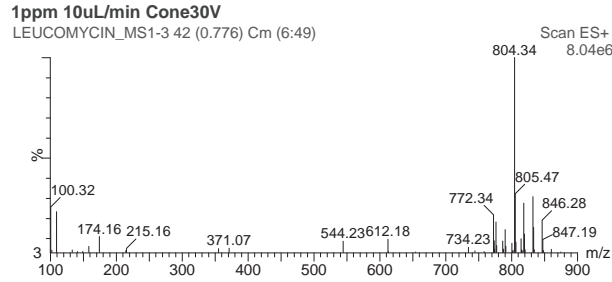


図5 ロイコマイシンのマススペクトル ( $m/z$  100-900)

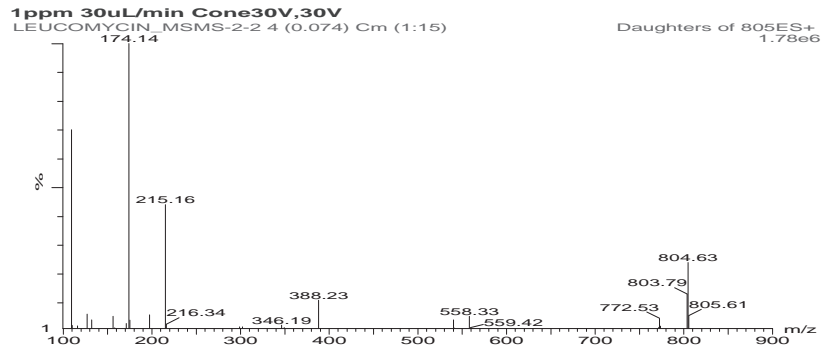


図6 プロダクトイオンのマススペクトル ( $m/z$  804.6)

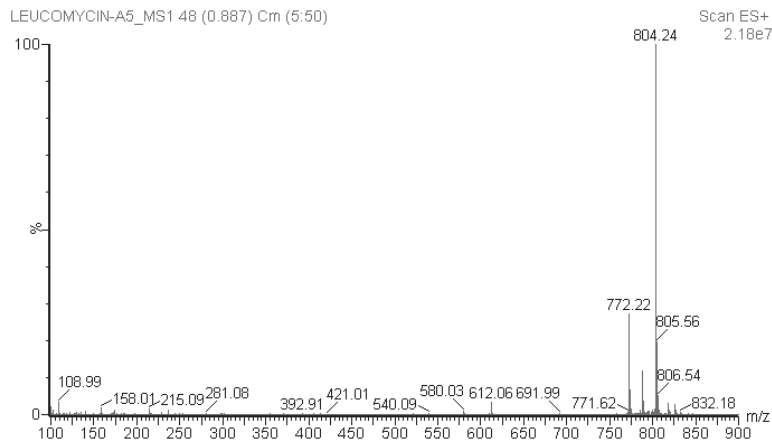


図7 ロイコマイシン A5 標準品のマススペクトル

771.9) を主成分とする A1, A3 ~ A9 等の混合物と判断された(図 8)。

なお、本分析法は、有効成分のロイコマイシン A5 を検討物質とした

### 3.8 オレアンドマイシンについて

本検討で使用したオレアンドマイシン標準品 (Dr. Ehrenstorfer) の純度は 66.3 % である。標準品を SRM で測定してみると異性体と考えられるピークが複数見られたため、使用した標準品は数種の異性体の混合物であることが推察された(図 9)。

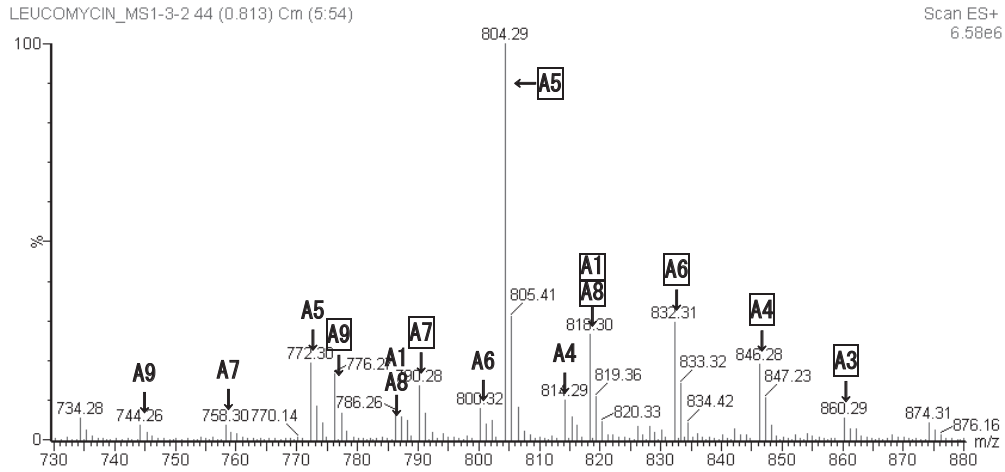
### 3.9 移動相条件の検討

クラリスロマイシンを含む同時分析物質 13 物質のうち、リンコマイシン (9.09 分) とタクロリムス (28.89 分) を除く 11 物質の保持時間が近接していたため、21 分に B : 75% となるよう緩やかにグラジエントさせるよう変更した。また、タクロリムスの保持時間が長いため、最終を B : 100% とし、洗いの時間をタクロリムスの溶出から 5 分後の 35 分まで延長した。最終条件における分離状況を図 10 に示す。

### 3.10 サロゲート物質の検討

クラリスロマイシンのサロゲート物質の市販は確認できなかったが、ロキシスロマイシンのサロゲート物質





無印は[M+H]<sup>+</sup>、□囲みは[M+H+CH<sub>3</sub>OH]<sup>+</sup>と考えられる 32amu 大きいイオンを表す。

図8 Dr.Ehrenstorfer 製ロイコマイシン標準品のマススペクトル

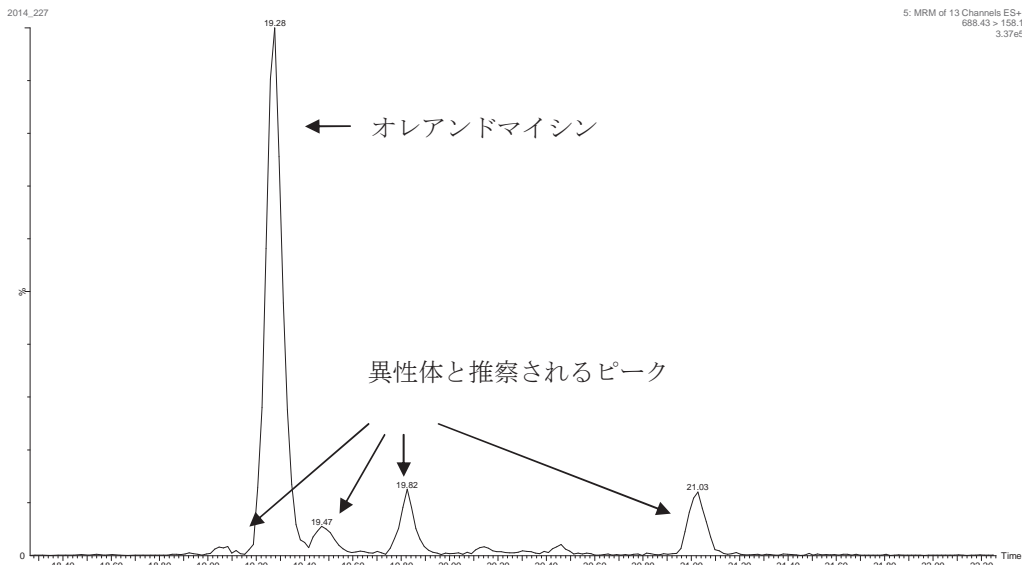


図9 オレアンドマイシン標準品のクロマトグラム(SRM)

(-d<sub>9</sub>) が市販されていたため、使用を検討した。

サロゲート物質 1 μg/mL を装置に注入し、ネイティブ物質の含有量を確認したところ、クラリスロマイシン及びオレアンドマイシンと同一の質量数にきょう雑ピークが確認された(図 11)。よって、本分析法にはサロゲート物質は使用しないこととした。

### 3.11 装置検出下限 (IDL) 及び検出下限 (MDL), 定量下限 (MQL)

IDL を表 7, MDL, MQL を表 8 に示す。

IDL は 0.045(タクロリムス) ~ 2.1 ng/mL(アジスロマイシン), MDL は 0.8(クラリスロマイシン) ~ 16 ng/L(アジスロマイシン) であった。アジスロマイシンとチルミ

コシンはきょう雑物質の影響により正のマトリックス効果が生じる傾向があり、定量性に問題があったため、同時分析はできないと判断した。

### 3.12 添加回収試験結果

河川水(旭川・乙井手堰), 海水(水島沖) 100 mL に標準物質各 30ng を添加し, 10 mL/min で通水, メタノール 5 mL で溶出した(測定溶媒はメタノール)。結果を表 9 に示す。

河川水では, 回収率は良好な結果であったが, 海水ではロイコマイシン A5, ジョサマイシン, タイロシン, タクロリムスが 70 % 未満, チルミコシンが 120 % 超となった。

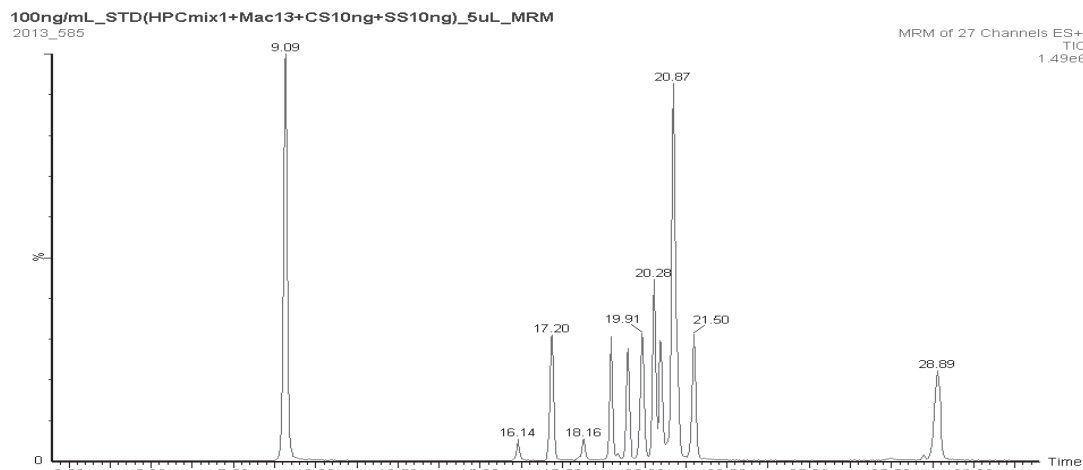


図10 最終的な移動相条件で測定したクロマトグラム

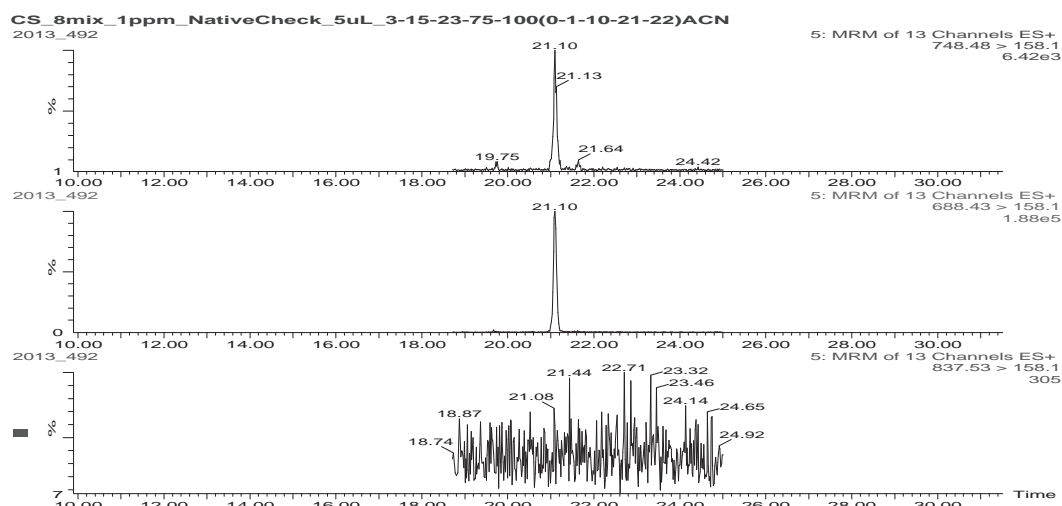


図11 ロキシシロマイシン-d9標準品のクロマトグラム

#### 4 まとめ

動物用医薬品の1つであるマクロライド系抗生物質13物質の多成分同時分析法を検討し、次の結果を得た。

- ① 本法は、試料100 mLを固相カートリッジに通水後、メタノールで溶出し、試験液をメタノール/精製水(1:1)に調整した後、LC/MS/MS(SRM法)で測定する方法であり、水質試料中のマクロライド系抗生物質13物質のうちアジシロマイシンとチルミコシンを除く11物質の同時分析に適用できた。
- ② 同時分析可能なマクロライド系抗生物質11物質について、河川水及び海水を用いた添加回収試験(河川水は300 ng/L、海水は20 ng/Lに調整)の回収率は、それぞれ73～91%、60～92%であった。
- ③ 本法の検出下限値は0.8～6.9 ng/Lであり、環境水中に存在するマクロライド系抗生物質を高感度に検出

できる分析法を開発できた。

なお、本研究は環境省委託の平成25年度化学物質分析開発調査及び平成26年度化学物質環境実態調査(環境省環境安全課)と連携して実施した。

#### 文 献

- 1) 環境省総合環境政策局環境保険部環境安全課：化学物質環境実態調査実施の手引き(平成20年度版)、平成21年3月、2009

表 7 装置検出下限(IDL)の算出結果

物質名	試料量 (mL)	最終液量 (mL)	注入液濃度 (ng/mL)	注入量 (L)	平均値 (ng/mL)	標準偏差 (ng/mL)	IDL (ng/mL)*	IDL 試料換算値 (ng/L)	S/N	CV (%)
クラリスロマイシン	100	1	0.200	5.0	0.207	0.0143	0.056	0.56	12	6.9
オレアンドマイシン	100	1	1.75	5.0	1.71	0.187	0.73	7.3	11	11
エリスロマイシン A	100	1	1.00	5.0	0.953	0.0648	0.25	2.5	11	6.8
エリスロマイシン B	100	1	1.00	5.0	1.11	0.0974	0.38	3.8	9.9	8.8
アジスロマイシン	100	1	10.0	5.0	9.97	0.541	2.1	21	8.8	5.4
ロキシスロマイシン	100	1	2.00	5.0	2.04	0.164	0.64	6.4	13	8.0
ロイコマイシン A5	100	1	1.00	5.0	1.00	0.114	0.44	4.4	8.0	11
ジョサマイシン	100	1	1.00	5.0	1.08	0.118	0.46	4.6	9.3	11
チルミコシン	100	1	5.00	5.0	4.97	0.396	1.5	15	13	8.0
タイロシン	100	1	1.00	5.0	1.08	0.0731	0.28	2.8	9.1	6.8
リンコマイシン	100	1	0.500	5.0	0.511	0.0418	0.16	1.6	8.8	8.2
クリンダマイシン	100	1	1.00	5.0	1.10	0.102	0.40	4.0	12	9.3
タクロリムス	100	1	0.200	5.0	0.198	0.0116	0.045	0.45	13	5.9

\*: IDL = t (n-1,0.05) × σ<sub>n-1</sub> × 2

表 8 検出下限 (MDL) 及び定量下限 (MQL) の算出結果

対象物質	試料	標準添加量 (ng)	試料換算濃度 (ng/L)	操作ブランク平均 (ng/L)	無添加平均 (ng/L)	平均値 (ng/L)	標準偏差 (ng/L)	MDL (ng/L)	MQL (ng/L)	S/N	CV(%)
クラリスロマイシン	海水	0.300	3.00	ND	0.93	3.83	0.206	0.80	2.1	23	5.4
オレアンドマイシン	海水	1.75	17.5	ND	ND	14.9	1.74	6.8	17	10	12
エリスロマイシン A	海水	2.00	20.0	ND	ND	18.1	1.26	4.9	13	13	7.0
エリスロマイシン B	海水	2.00	20.0	ND	ND	18.1	1.79	6.9	18	15	9.8
アジスロマイシン	海水	2.00	20.0	ND	ND	31.5	4.14	16	41	9.0	13
ロキシスロマイシン	海水	2.00	20.0	ND	ND	16.9	1.66	6.5	17	11	9.9
ロイコマイシン A5	海水	2.00	20.0	ND	ND	16.5	1.50	5.8	15	15	9.1
ジョサマイシン	海水	2.00	20.0	ND	ND	15.8	1.42	5.5	14	11	9.0
チルミコシン	海水	2.00	20.0	ND	ND	45.8	2.93	11	29	6.9	6.4
タイロシン	海水	2.00	20.0	ND	ND	16.9	1.43	5.6	14	7.1	8.4
リンコマイシン	海水	2.00	20.0	ND	ND	19.0	1.28	5.0	13	29	6.7
クリンダマイシン	海水	2.00	20.0	ND	ND	20.4	1.59	6.2	16	13	7.8
タクロリムス	海水	0.300	3.00	ND	ND	1.61	0.306	1.2	3.1	11	19

表 9 添加回収試験結果

対象物質	回収率(%)			
	河川水		海水	
	無添加	添加	無添加	添加
クラリスロマイシン	ND	82	ND	82
オレアンドマイシン	ND	90	ND	92
エリスロマイシン A	ND	86	ND	85
エリスロマイシン B	ND	75	ND	74
アジスロマイシン	ND	82	ND	85
ロキシスロマイシン	ND	76	ND	78
ロイコマイシン A5	ND	81	ND	66
ジョサマイシン	ND	82	ND	68
チルミコシン	ND	100	ND	148
タイロシン	ND	81	ND	69
リンコマイシン	ND	91	ND	91
クリンダマイシン	ND	94	ND	90
タクロリムス	ND	85	ND	60



【調査研究】

## 児島湖における水質汚濁メカニズムの解明

- 児島湖底泥からのリンの溶出速度について -

Elucidation of water pollution mechanism in Lake Kojima  
-Study on Phosphorus Elution Rate from the Sediment of Lake Kojima-

藤田和男, 金子英史, 中野拓也, 山本 淳(水質科)

Kazuo Fujita, Hidefumi Kaneko, Takuya Nakano, Jun Yamamoto (Water Section)

### 要 旨

笹ヶ瀬川河口, 倉敷川河口及び湖心底泥からのリン溶出速度について水温 7 ~ 30℃, 嫌気条件で室内実験を行ったところ, 水温が高く溶存酸素が低いほど溶出速度は大きく, 0 ~ 27 mg/m<sup>2</sup>/day の範囲にあった。底層の溶存酸素(月平均値)は夏期に低く冬期に高い傾向があり, 笹ヶ瀬川河口では 5.3 ~ 14 mg/L, 倉敷川河口では 5.7 ~ 13 mg/L, 湖心では 6.0 ~ 13 mg/L の範囲にあった。年間のリン溶出速度の変化を推算したところ, 笹ヶ瀬川河口では 0 ~ 9 mg/m<sup>2</sup>/day, 倉敷川河口では 0 ~ 13 mg/m<sup>2</sup>/day, 湖心では 0 ~ 11 mg/m<sup>2</sup>/day の範囲にあり, 河川及び湖内底泥からの年間のリン溶出量は 12,000 kg と推算された。

[キーワード: リン溶出, 底泥, 児島湖]

[Key words: Phosphorous release, Sediment, Lake Kojima]

### 1 はじめに

近年の児島湖の水質を昭和 50 年代と比較すると, COD, 全窒素については改善が見られるが, 全リンの値は一時期改善が見られたものの最近では横ばいで推移しており, 明らかな改善傾向は見られていない。ちなみに, 湖心の全窒素(T-N)は 1.1 (mg/L) (平成 25 年度平均値)<sup>1)</sup>と, 環境基準(1 mg/L)を上回っているものの減少傾向にある一方, 全リン(T-P)は 0.18 (mg/L) (平成 25 年度平均値)<sup>1)</sup>と, 環境基準(0.1 mg/L)の約 2 倍の値で推移<sup>2)</sup>している。この要因の一つとして, 底泥からの無機態リンの溶出や, 陸上部からの流入が考えられており, 「第 6 期湖沼水質保全計画」では児島湖の水質汚濁メカニズムの解明に向けて, 底泥からのリン溶出因子に関する調査が提言されている。

本研究では, 湖内及び流入河川における底泥からのリン溶出量の把握とその要因を解明するため, 湖心及び流入河川のリン溶出状況を把握することを目的とした。リン溶出速度が水温及び溶存酸素によりどの程度変化するかを調べるために, 流入河川 2 地点及び湖内 1 地点で底質の組成調査及びリン溶出実験(嫌気及び好気条件)を

行った。併せて, 水中の溶存酸素濃度の推移を把握するために, 湖内 2 地点で底層の溶存酸素の連続測定を行った。また, 湖内のリン溶出速度の面的な分布を調べるために, 湖内 22 地点で採泥し底質の組成を調査するとともに, 室内実験(水温 4 段階, 嫌気条件)によりリン溶出速度を測定した。また, 得られたリン溶出速度と溶存酸素との関係, そして湖内での底層溶存酸素測定結果から, 湖内 2 地点での年間のリン溶出速度の変化を推算し, 湖内の水質への影響を検討した。

### 2 材料および方法

底泥採取地点は, 笹ヶ瀬川河口, 倉敷川河口, 湖心(北緯 34 度 35 分 02 秒 東経 133 度 56 分 41 秒の地点, 以下「湖心 3」とする)(図 1)であり計 12 回(2013 年 4 月 ~ 2014 年 3 月)エックマン採泥器により採泥した。底層溶存酸素はウィンクラー・アジ化ナトリウム変法<sup>3)</sup>で測定し, 併せて倉敷川河口及び湖心に溶存酸素計(JFE アドバンテック製 RINKO W)を設置し底泥表層から 50cm 直上の溶存酸素濃度を連続測定した。

底泥の組成(乾燥減量, 強熱減量, COD, T-P)は,

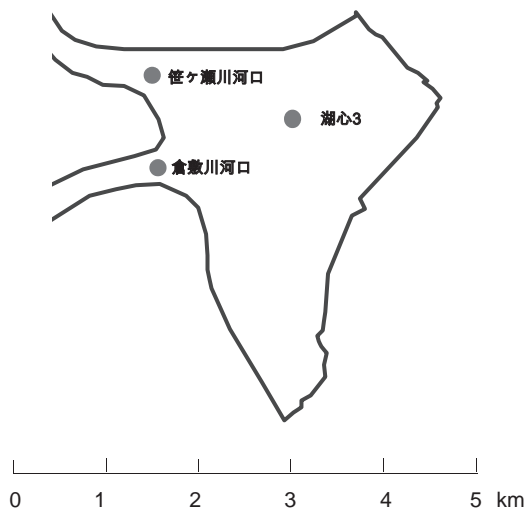


図1 調査地点



図2 溶出実験

底質調査法<sup>3)</sup>に準じて測定した。また、粒径はレーザー回折式粒子径分布測定装置(島津製作所製 SALD-3100)で測定した。

溶出実験は、1 L 容器に底泥を 200mL、蒸留水を 700mL 入れ、好気条件では、上層水を空気で曝気し好気状態(溶存酸素 > 6 mg/L)を維持した(図2)。また嫌気条件は溶存酸素濃度が概ね 1mg/L 以上となったとき窒素を曝気することにより溶存酸素濃度を約 0.5mg/L とした。なお、窒素は窒素ガス発生機(ジーエルサイエンス製 NM910)、または窒素ガスボンベ(純度 99.995% 以上)から通気した。溶出実験の水温については、恒温器を用いて3地点(笹ヶ瀬川河口、倉敷川河口、湖心)での採水時の水温を参考に4月は14℃、5月は20℃、6月は26℃、7月は27℃、8月は30℃、9月は27℃、10月は19℃、11月は16℃、12月は8℃、1月は6℃、2月は5℃、3月は14℃とした。溶出したリン(PO<sub>4</sub>-P)は、工場排水試験法 K0102<sup>4)</sup>に準じて測定し、溶存酸素は、溶存酸素計(横河電機製 YK-200PDO)で測定した。

### 3 結果および考察

#### 3.1 底質の性状調査

表1に3地点(笹ヶ瀬川河口、倉敷川河口、湖心3)での底泥測定結果を示す。底泥を目視で観察したところ、

表1 底泥調査結果(笹ヶ瀬川河口、倉敷川河口、湖心3)

	調査日	泥温 (°C)	含水率 (質量%)	強熱減量 (質量%)	ORP (mV)	T-P (mg/g)	
笹ヶ瀬川河口	H26	4.8	12.8	68.9	28.6	-207	3.35
		5.13	20.5	69.3	16.6	-215	2.36
		6.3	-	68.7	17.6	-	2.32
		7.14	27.0	63.2	29.4	-180	3.46
		8.5	28.2	72.1	16.4	-288	4.10
		9.11	26.2	65.2	17.7	-239	4.10
	10.27	18.5	53.5	9.4	-177	1.22	
倉敷川河口	H26	4.8	13.9	66.2	13.0	-201	3.2
		5.13	21.0	64.0	11.1	-205	1.8
		6.3	26.0	59.6	26.6	-267	1.0
		7.14	27.5	65.9	27.8	-270	2.3
		8.5	31.0	72.6	14.0	-281	3.3
		9.11	28.7	66.2	14.1	-237	1.1
	10.27	19.0	60.7	13.8	-187	0.5	
湖心3	H26	4.8	14.1	65.0	11.9	-163	1.93
		5.13	21.5	72.3	13.8	-189	1.23
		6.3	26.5	42.2	5.4	-120	3.37
		7.14	27.5	41.9	5.2	-265	0.94
		8.5	29.0	47.7	6.3	-316	2.09
		9.11	29.5	44.8	6.7	-243	0.44
	10.27	21.9	41.3	5.6	-290	0.4	

笹ヶ瀬川河口及び倉敷川河口は泥質、湖心3は概ね泥質で少量の砂質が混合した状態であった。土粒子を礫(2,000 $\mu$ m以上)、砂(62.5～2,000 $\mu$ m)、シルト(3.9～62.5 $\mu$ m)、粘土(3.9 $\mu$ m以下)の区分で分類すると、測定期間内での粒径の平均値は、笹ヶ瀬川河口が22 $\mu$ m、倉敷川河口が31 $\mu$ m、湖心3が20 $\mu$ mでいずれもシルトが多かった。また、底泥中のT-P(平均値)は、笹ヶ瀬川河口では2.9 mg/g、倉敷川河口は2.1 mg/g、湖心3は1.7 mg/gで、昨年度調査した4地点(笹ヶ瀬橋、倉敷川橋、湖心1、湖心2)の結果<sup>5)</sup>と比較すると泥質の倉敷川橋及び湖心2に近い値であった。

### 3.2 リン溶出実験

リン溶出実験について、各水温での実験結果を図3-1～図3-3に示す。いずれの地点でも、嫌気条件で好気条件よりも溶出速度が高かった。また水温が高いほど溶出速度が高い傾向があった。

溶出速度を水温に対してプロットしたものを図4に示す。リン溶出速度を表す式は、文献<sup>6)</sup>では、

$$Vp = E_{DP} \cdot \theta_{DP}^{-(T_{opt} - T)^n}$$

で表されている。溶存酸素濃度の影響及び最適水温との関係を考慮し、以下の式で近似した。

$$Vp = E_{DP} \cdot \theta_{DP}^{-(T_{opt} - T)^n}$$

$$E_{DP} = Ea(Eb - DO)$$

ただし、 $E_{DP}$ :リン溶出速度係数(mg/m<sup>2</sup>/day)、 $\theta_{DP}$ :1.00～1.06の係数(-)、 $T_{opt}$ :最適水温(°C)、 $T$ :水温(°C)、 $n$ :次数(-)、 $Ea$ :溶存酸素濃度に関する係数(L/m<sup>2</sup>/day)、 $Eb$ :溶存酸素濃度に関する係数(mg/L)、 $DO$ :溶存酸素濃度(mg/L)。ここで溶出速度に関する次数 $n$ を設定し、リン溶出係数 $E_{DP}$ を溶存酸素濃度の関数としている。式中の次数 $n$ を文献<sup>6)</sup>と同じく1とした場合は水温の増加に伴い溶出速度が一方向的に増加する曲線となるが、次数 $n$ が2とした場合は最適水温をピークとし水温の増加及び減少に伴い溶出速度が減少する曲線となる。ここでは $n$ を2と仮定した。溶存酸素の影響については、 $(Eb - DO)$ により $DO$ の低下に伴いリン溶出速度が増加する直線関係を仮定している。

今回の水温(5～30°C)及び嫌気条件の溶出速度は笹ヶ

瀬川河口の底泥では0～26 mg/m<sup>2</sup>/day、倉敷川河口の底泥では1～27 mg/m<sup>2</sup>/day、湖心3では0～27 mg/m<sup>2</sup>/dayの範囲にあった。

児島湖底泥のリン量と溶出速度(夏期)の関係を図5に示す。データは今回調査(3地点:笹ヶ瀬川河口、倉敷川河口、湖心3)、前回調査(4地点:笹ヶ瀬橋、倉敷川橋、湖心1、湖心2)<sup>5)</sup>及び文献値(笹ヶ瀬川5地点、倉敷川5地点、湖内5地点、27°C)<sup>7)</sup>を用い、以下の反応速度式<sup>8)</sup>で近似した。

$$Vp = Vmax \cdot P / (K + P)$$

ただし $V_p$ :リン溶出速度(mg/m<sup>2</sup>/day)、 $V_{max}$ :最大溶出速度(mg/m<sup>2</sup>/day)、 $P$ :底泥中のT-P量(g/kg)、 $K$ :基質飽和定数(g/kg)。底泥中のT-P量が少ないと溶出速度は小さく、T-P量が大きくなるに伴い溶出速度は大きくなる傾向が伺われ、嫌気状態における最大の溶出速度は文献値の47 mg/m<sup>2</sup>/dayであった。

### 3.3 底層溶存酸素及びリン溶出速度の推算

底層の溶存酸素濃度を図6(a)に示す。溶存酸素濃度は夏期に低く冬期に高く、月毎の平均値は笹ヶ瀬川河口では5.3～14 mg/L、倉敷川河口では5.7～13 mg/L、湖心3では6.0～13 mg/Lの範囲にあった。

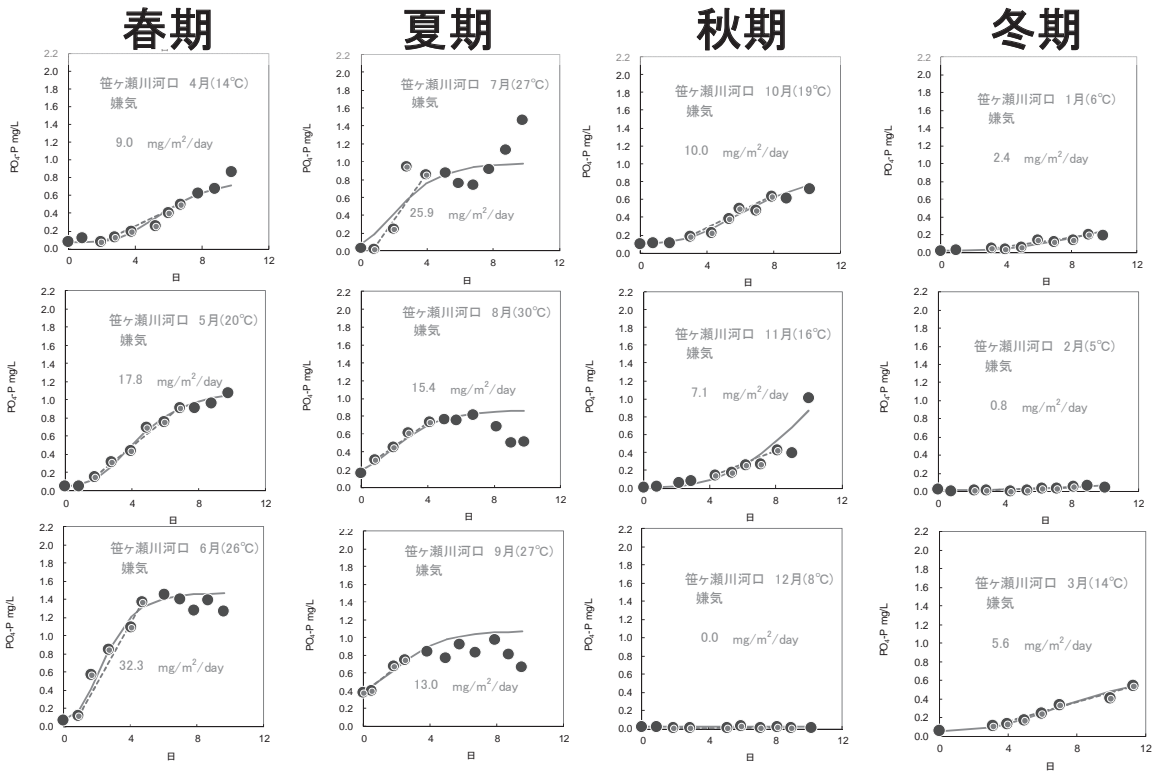
室内実験で得られたリン溶出速度と溶存酸素濃度及び水温の関係、そして笹ヶ瀬川河口、倉敷川河口及び湖心3地点の底層の溶存酸素濃度及び水温の推移から、年間のリン溶出量の推移を推算した(図6(b))。リン溶出速度(月平均値)は笹ヶ瀬川河口で0～9 mg/m<sup>2</sup>/dayの範囲で変化し、年間の平均値は1.4 mg/m<sup>2</sup>/dayと計算された。倉敷川河口では0～13 mg/m<sup>2</sup>/dayの範囲で変化し、年間の平均値は2.5 mg/m<sup>2</sup>/dayと計算された。湖心3では0～11 mg/m<sup>2</sup>/dayの範囲で変化し、年間の平均値は2.0 mg/m<sup>2</sup>/dayと計算された。

$$Vp = E_{DP} \cdot \theta_{DP}^{-(T_{opt} - T)^n}$$

年間のリン溶出量は笹ヶ瀬川河口で0.5 g/m<sup>2</sup>/year、倉敷川河口で0.9 g/m<sup>2</sup>/year、湖心3で0.7 g/m<sup>2</sup>/yearと計算された。

これまでに、児島湖について室内の溶出試験で報告された値<sup>5), 9)～11)</sup>は0～47 mg/m<sup>2</sup>/dayの範囲であった。米国Shagawa湖では夏期に3.1～4.2 mg/m<sup>2</sup>/day、湯乃湖では0～5 mg/m<sup>2</sup>/day<sup>12)</sup>であった。また手賀沼の

# 笹ヶ瀬川河口 嫌気



# 好気

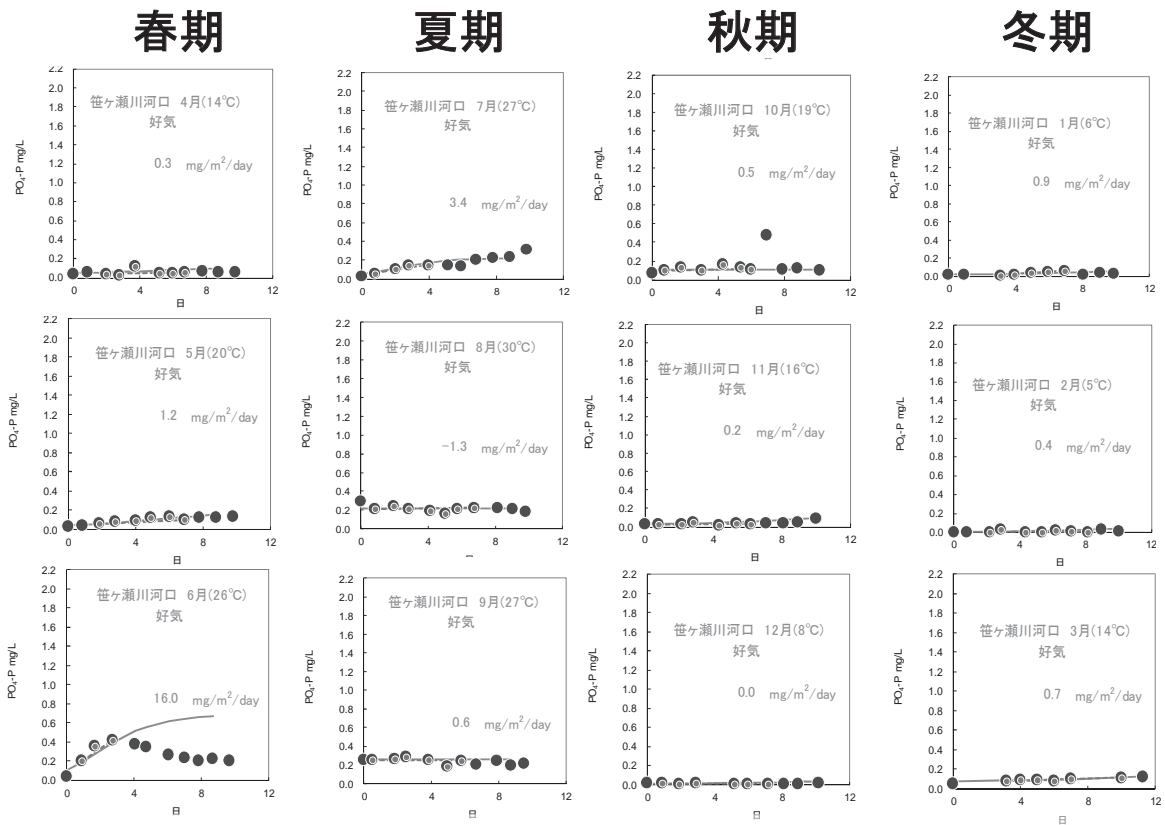


図3-1 溶出実験結果(笹ヶ瀬川河口)



# 倉敷川河口

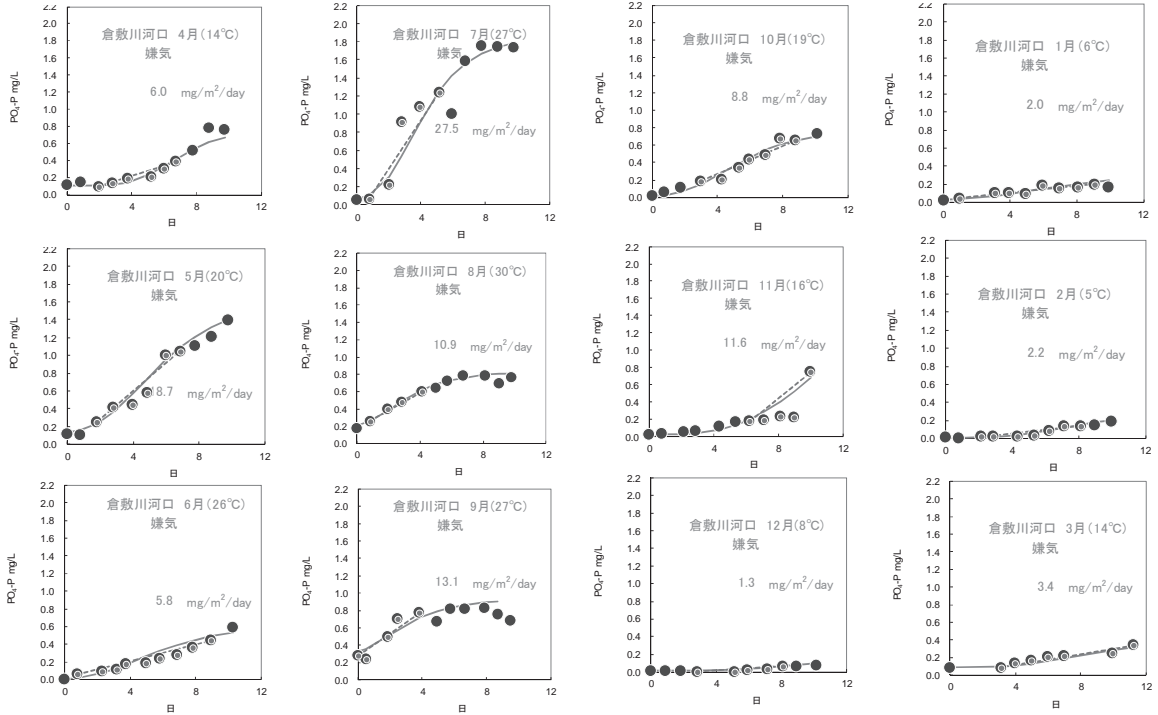
## 嫌気

### 春期

### 夏期

### 秋期

### 冬期



## 好気

### 春期

### 夏期

### 秋期

### 冬期

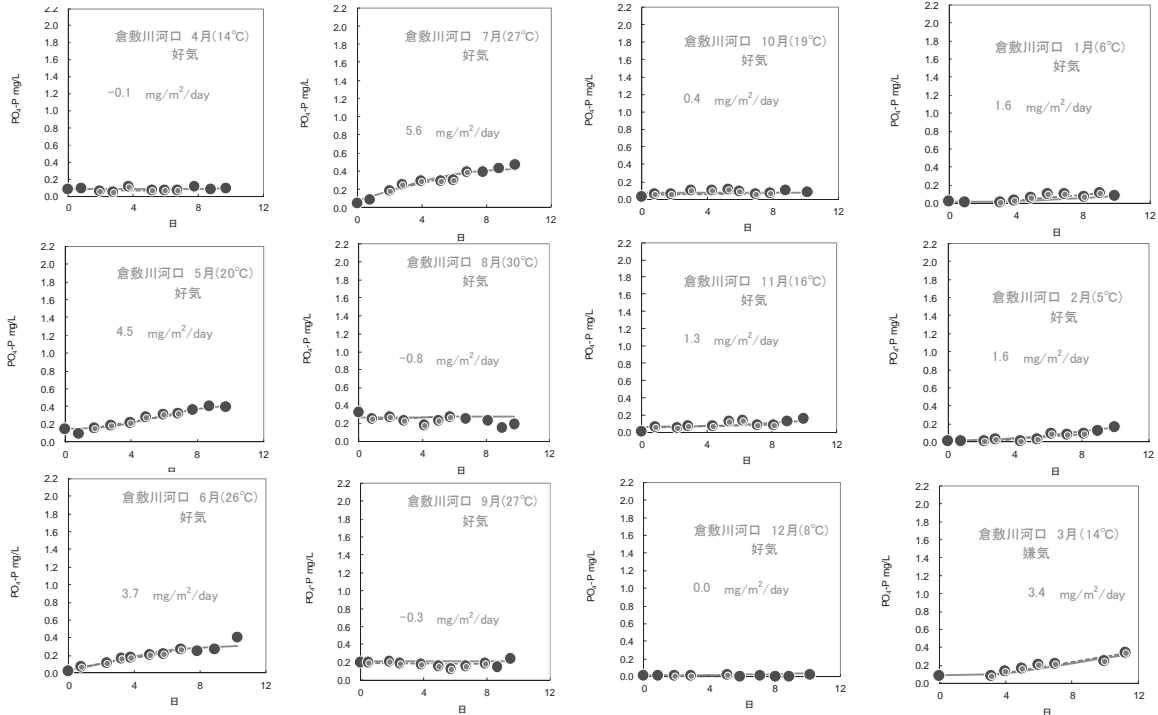
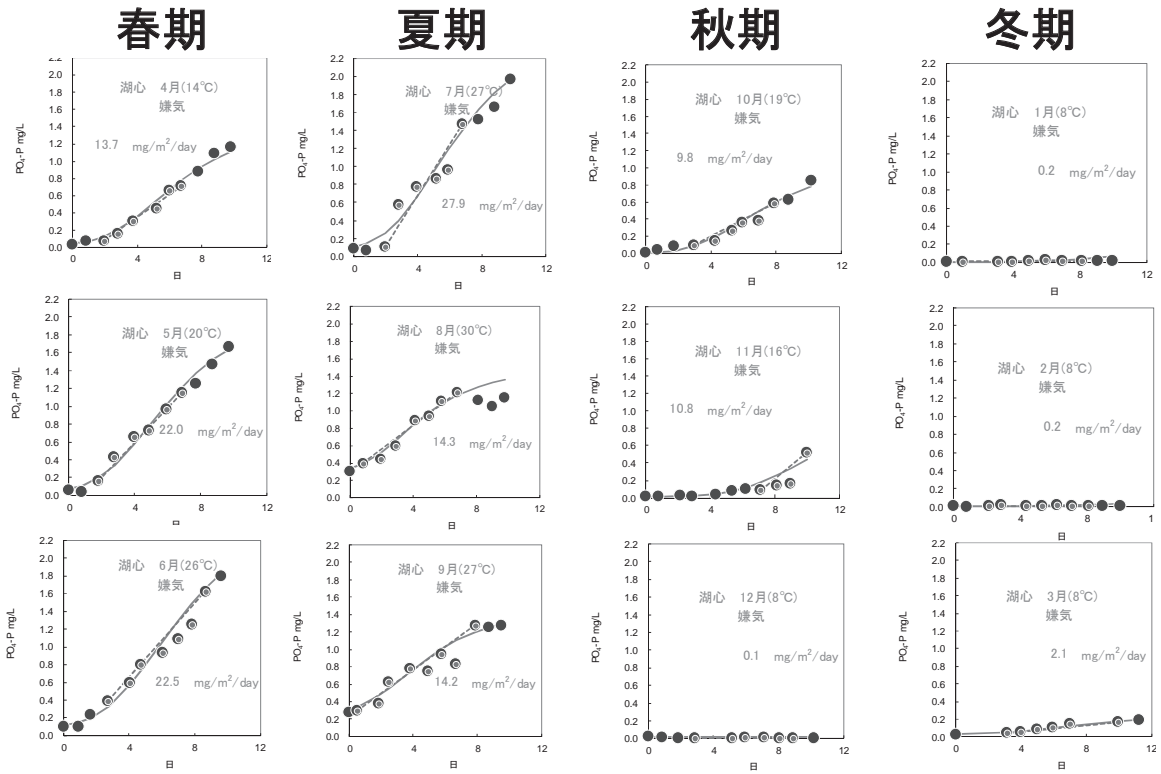


図3-2 溶出実験結果(倉敷川河口)

# 湖心3 嫌気



# 好気

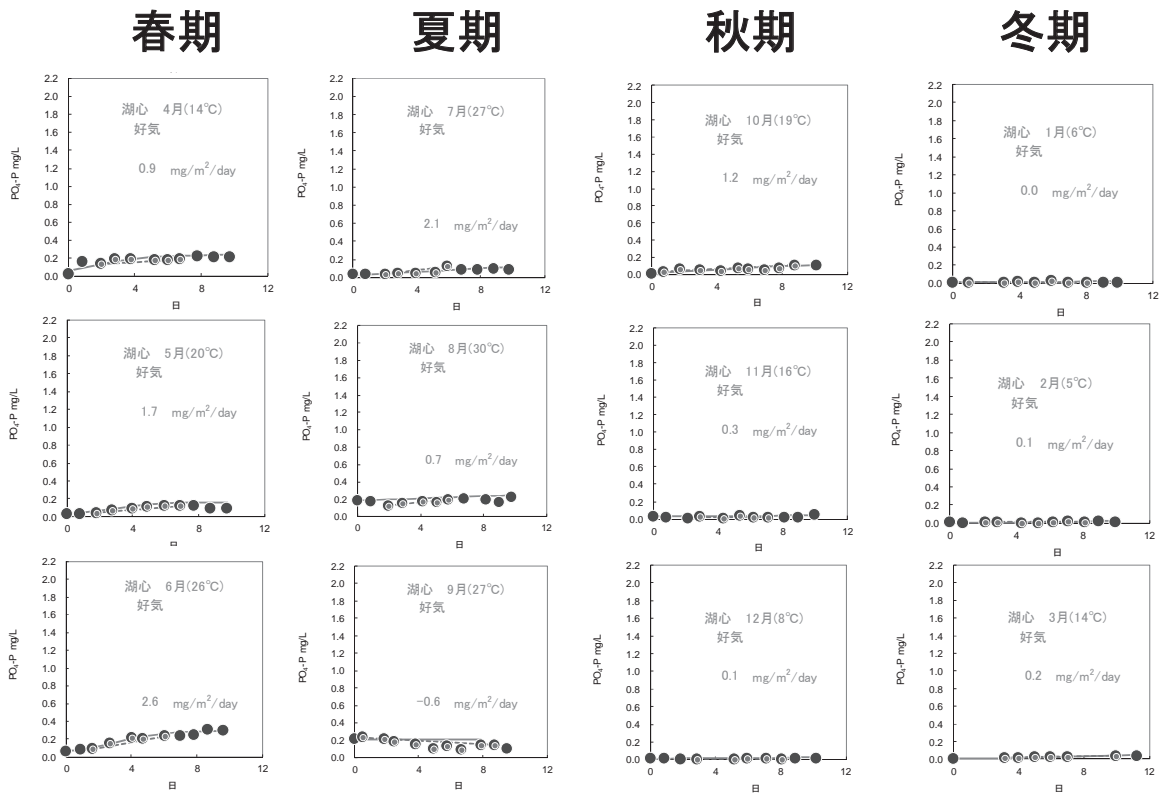


図3-3 溶出実験結果(湖心3)

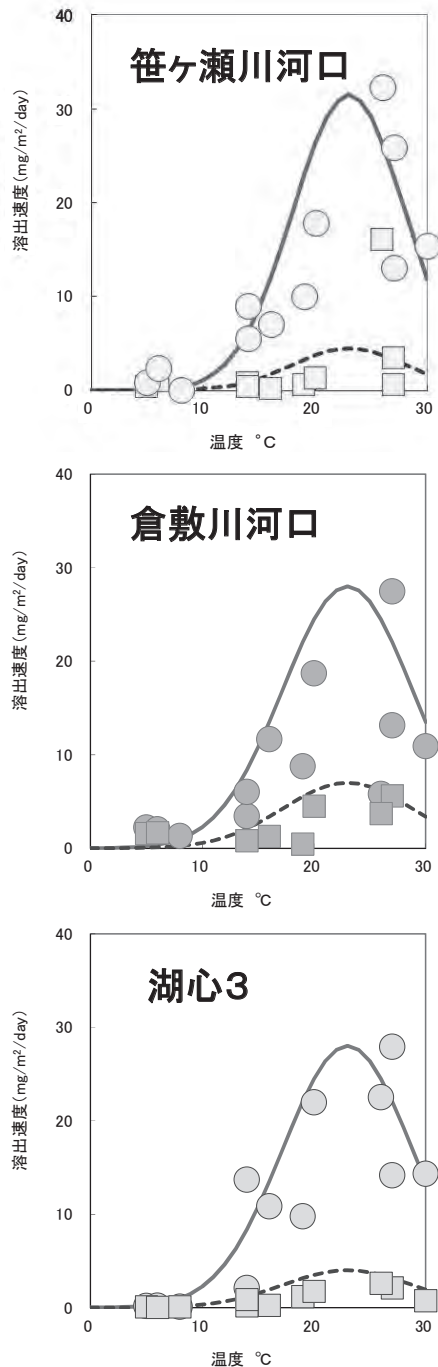


図4 溶出実験結果(水温と溶出速度の関係)  
 -○- : 嫌気条件  
 --□-- : 好気条件

沼内2カ所(手賀沼中央及び根戸下)では、夏期に10 mg/m<sup>2</sup>/day(手賀沼中央)及び30 mg/m<sup>2</sup>/day(根戸下)が報告されている。本報の値も含め、概ねリン溶出速度は0~40 mg/m<sup>2</sup>/dayの範囲内にあると考えられる。

得られた溶出実験結果から、河川及び湖内からの溶出量を推算した。過去の報告<sup>7)</sup>では笹ヶ瀬川(0.88 km<sup>2</sup>)、倉敷川(1.24 km<sup>2</sup>)及び湖内(7.01 km<sup>2</sup>)の6ヶ月間(27℃ :

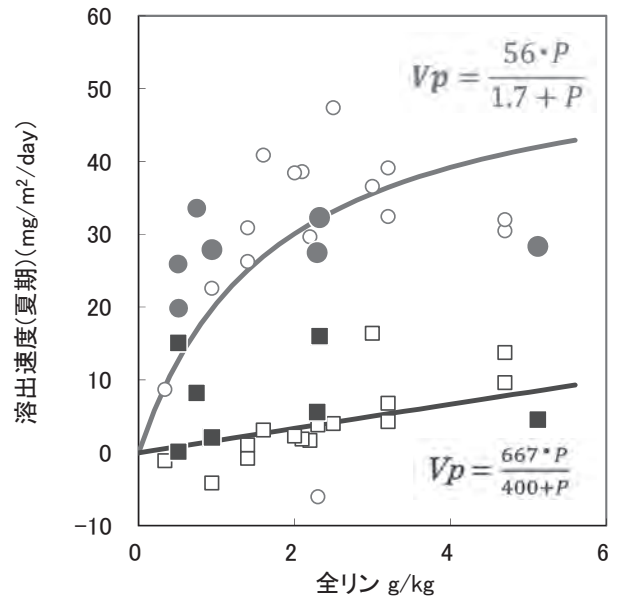


図5 底泥リン量と夏期の溶出速度の関係  
 ● : 嫌気条件(今回の3地点及び前回の4地点<sup>5)</sup>)  
 ○ : 嫌気条件(文献値<sup>11)</sup>)  
 ■ : 好気条件(今回の3地点及び前回の4地点<sup>5)</sup>)  
 □ : 好気条件(文献値<sup>11)</sup>)

3ヶ月間及び5℃:3ヶ月間)のリン溶出量はそれぞれ425 kg, 1,916 kg及び5,789 kgと試算されている。前回(笹ヶ瀬川橋, 倉敷川橋, 湖心1, 湖心2)<sup>5)</sup>及び今回(笹ヶ瀬川河口, 倉敷川河口, 湖心3)の調査結果及び河川及び湖内の面積(笹ヶ瀬川:0.88 km<sup>2</sup>, 倉敷川:1.24 km<sup>2</sup>, 湖内:10.88 km<sup>2</sup>)<sup>7)</sup>からリン溶出量を推算すると河川3,300 kg/year(笹ヶ瀬川1,300 kg/year, 倉敷川1,900 kg/year, 数値は四捨五入のため内訳の合計が総数に合わない), 湖内8,800 kg/year, 河川と湖内の合計は12,000 kg/yearであった。

今回の計算結果は限られたデータに基づいた推算値であり、計算の基礎データとなる流域内の調査を加え、より長期的な期間に当てはめて検討する必要があると考えられ、次年度は湖南部及び水深が深いと予想される樋門付近で新たな地点を選定し継続調査を行う予定である。また今回は過去の報告<sup>7)</sup>と同様に嫌気及び好気条件を設定し室内実験を行っているが、実際の現場の状況に近い結果を得るためには現場の溶存酸素濃度に設定して溶出実験を行うことが望ましいと考えられ、機器の追加等も含め今後の検討課題とする。

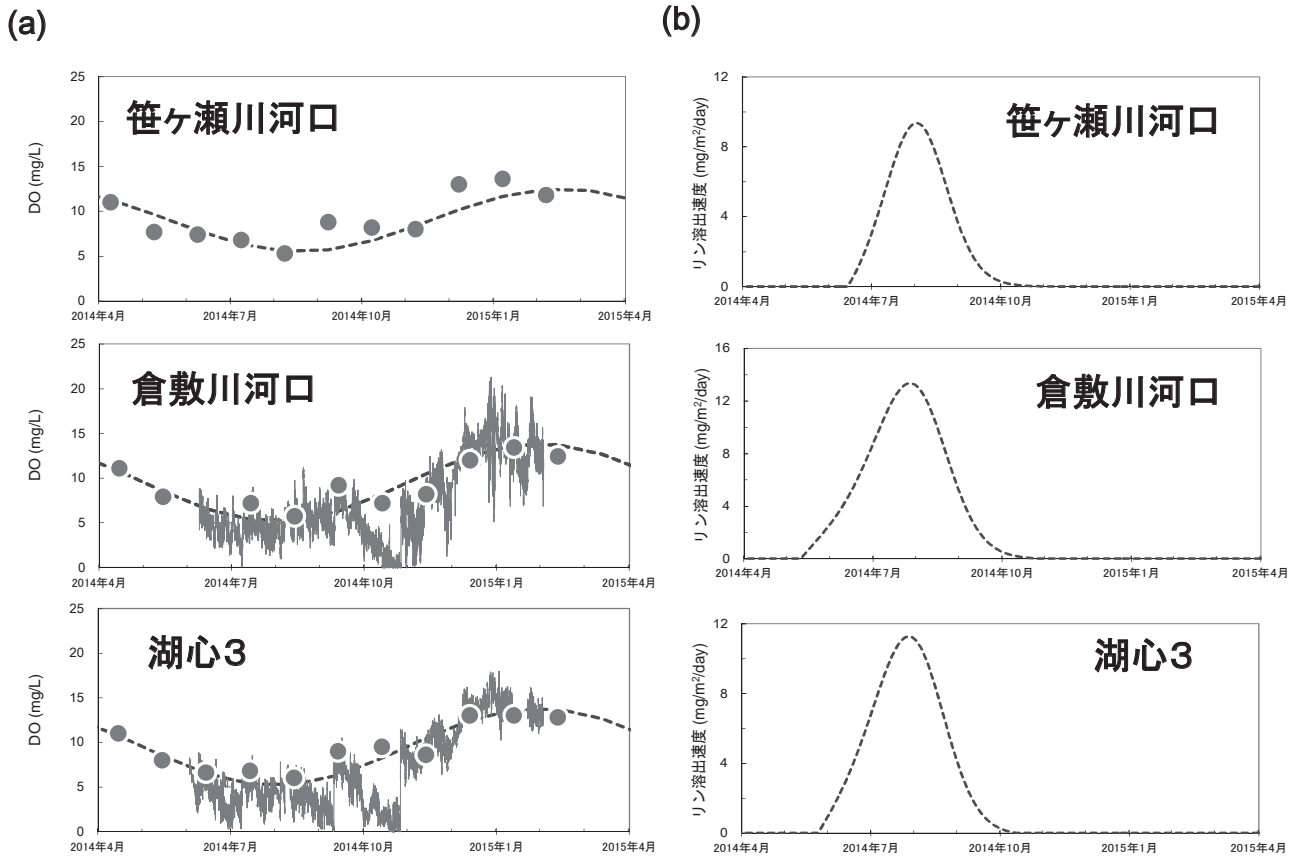


図6 底層の溶存酸素濃度及びリン溶出速度推算値

(a) 底層8の溶存酸素

—：測定値(DO計)、●：測定値(ウィンクラー-アジ化ナトリウム変法)、  
----：予想値

(b) リン溶出速度推算値

----：予想値

#### 4 まとめ

笹ヶ瀬川河口、倉敷川河口及び湖心底泥のリン溶出速度を室内実験で調査し、水温5～30℃、嫌気条件において0～27 mg/m<sup>2</sup>/dayの範囲にあった。

底層溶存酸素(月平均値)は笹ヶ瀬川河口では5.3～14 mg/L、倉敷川河口では5.7～13 mg/L、湖心では6.0～13 mg/Lの範囲にあり、夏期に低く冬期に高かった。

底層中のリン量が多いとリン溶出速度が大きい傾向が見られた。

年間のリン溶出速度は笹ヶ瀬川河口で0～9 mg/m<sup>2</sup>/day、倉敷川河口で0～13 mg/m<sup>2</sup>/day、湖心で0～11 mg/m<sup>2</sup>/dayと推算された。両河川及び湖内からの年間のリン溶出量は12,000 kgと推算された。

#### 文 献

- 1) 岡山県環境文化環境管理課：平成25年度公共用水域及び地下水の水質測定結果，2014
- 2) 岡山県：児島湖ハンドブック，18-19，2015
- 3) 環境省水・大気環境局編：底質調査法，2012
- 4) 平河喜美男編：工場排水試験法 JIS-K0102，日本規格協会，東京，2010
- 5) 藤田和男，難波あゆみ，河野裕明，中野拓也，山本淳：児島湖及び流入河川底泥からのリンの溶出速度について，岡山県環境保健センター年報，38，15-27，2014
- 6) 岡山県：平成23年度指定湖沼汚濁負荷量削減状況調査，148，2012
- 7) 岡山県，(株)エクスラン・テクニカル・センター：平成22年度児島湖環境負荷影響調査業務調査結果報告書，43，2011

- 8) Eric E. Cornn, Paul K. Stumpf, George Bruening, Roy H.Doi(1988)コーン スタンプ生化学 第5版(田宮信雄, 八木達彦訳), 東京化学同人, p.108
- 9) 岡山県, (株)ウェスコ:平成3年度児島湖水質保全計画基礎調査業務報告書, 83, 1992
- 10) 山本弘捷, 熊城一男, 清水光郎, 畑宏:底質中の栄養塩類の挙動に関する調査研究 第7報 児島湖底泥からの栄養塩の溶出について, 岡山県環境保健センター年報, 8, 155-158, 1984
- 11) 熊城一男, 山本淳, 吉村広:児島湖底質からの窒素・リンの溶出について, 岡山県環境保健センター年報, 10, 173-175, 1986
- 12) 細見正明:底質からの窒素およびリンの溶出とその制御, 水環境学会誌, 16, 91-95, 1993



【調査研究】

## 児島湖における水質汚濁メカニズムの解明

－児島湖のリン物質収支の定量化－

Elucidation of water pollution mechanism in Lake Kojima

－Quantification of Phosphorus Mass Balance of Lake Kojima－

藤田和男, 金子英史, 中野拓也, 山本 淳(水質科)

Kazuo Fujita, Hidefumi Kaneko, Takuya Nakano, Jun Yamamoto (Water Section)

### 要 旨

過去 31 年間(昭和 57 年度から平成 24 年度まで)の水質データから児島湖内のリン物質収支を検討した。湖内での年間のリン蓄積量は流入負荷量の 10～40%で、20～30 年前と比較して近年では減少してきていると考えられた。31 年間分のデータから、流入水の懸濁態リン沈降率は 70～100%の範囲内にあると考えられ、沈降量は 48～72 t/年と推定された。このときリン溶出量は 1～25 t/年の範囲内にあり、リン溶出の水質への影響は 1～22%と推算された。

[キーワード：リン, 沈降, 溶出, 児島湖]

[Key words : Phosphorus, Sedimentation, Elution, Lake Kojima]

### 1 はじめに

児島湖の水質汚濁についてはいまだ環境基準は達成されておらず、引き続き水質改善に取り組む必要がある。また、効果的な水質改善施策の策定に向けて、児島湖の水質汚濁メカニズムの解明や、行政施策の効果の定量的な把握が必要である。長期的な流入水の負荷量の変遷と行政施策との関連について検討するためには、湖内を通過するときの負荷量への影響(浄化または汚濁)の把握が必要と考えられる。本研究では公共用水域の常時監視で取得している昭和 57 年度から平成 24 年度までの過去 31 年間の水質データと水量データ等を元に湖内での水質変化を表すモデル(因子として沈降、溶出、藻類への吸収を含む)中の各因子を設定し、計算結果を行うことによりリン濃度が下がらない要因を湖内でのリンの物質収支から推定する。

### 2 材料および方法

31 年間(昭和 57～平成 24 年度:1982～2012 年度)の児島湖流域の 5 ブロック(笹ヶ瀬川ブロック, 倉敷川ブロック, 鴨川ブロック, 直接ブロック, 児島湖流域下水道)(図 1)の水質と水量を設定し、各ブロックからの流入負荷量を計算した。水質(全リン)データについては

笹ヶ瀬川, 倉敷川及び児島湖は公共用水域の常時監視で取得している昭和 57 年度から平成 24 年度までの測定結果(笹ヶ瀬川:笹ヶ瀬川橋, 倉敷川:倉敷川橋, 児島湖:樋門)<sup>1)～31)</sup>, 鴨川は昭和 63 年～平成 2 年度の文献値<sup>32)</sup>(岡山県)及び平成 20 年度の岡山県環境保健センターでの測定値, 児島湖流域下水道放流水については下水道管理報告書データ<sup>33)～56)</sup>, 直接流域(笹ヶ瀬川及び倉敷川より下流)については、平成 19～24 年度は直接流域の総面積の 22%(9.9 km<sup>2</sup>)を占める区域(西・北七区)での調査結果<sup>57)</sup>, 平成 18 年度以前は平成 19～24 年度の平均値により設定した。なお、鴨川の昭和 57～62 年度, 平成 3～19 年度, 平成 21～24 年度はデータが無いため昭和 62 年度以前は昭和 63 年度, 平成 3～19 年度は昭和 63 年～平成 2 年度の平均値, 平成 21 年度以降は平成 20 年度のデータを使用した。

水量データについては、児島湖への各流入量は昭和 63 年～平成 24 年度は湖の平均滞留時間から求めた全流入水量<sup>58)</sup>から児島湖流域下水道<sup>33)～56)</sup>及び直接ブロック<sup>59)～61)</sup>を差し引き、各ブロック(笹ヶ瀬川 4 ブロック, 倉敷川 2 ブロック, 鴨川 1 ブロック)毎の流量比率<sup>62)～64)</sup>で案分し算出した。昭和 57～62 年度の全流入量は降水量と流量の関係式<sup>65)</sup>

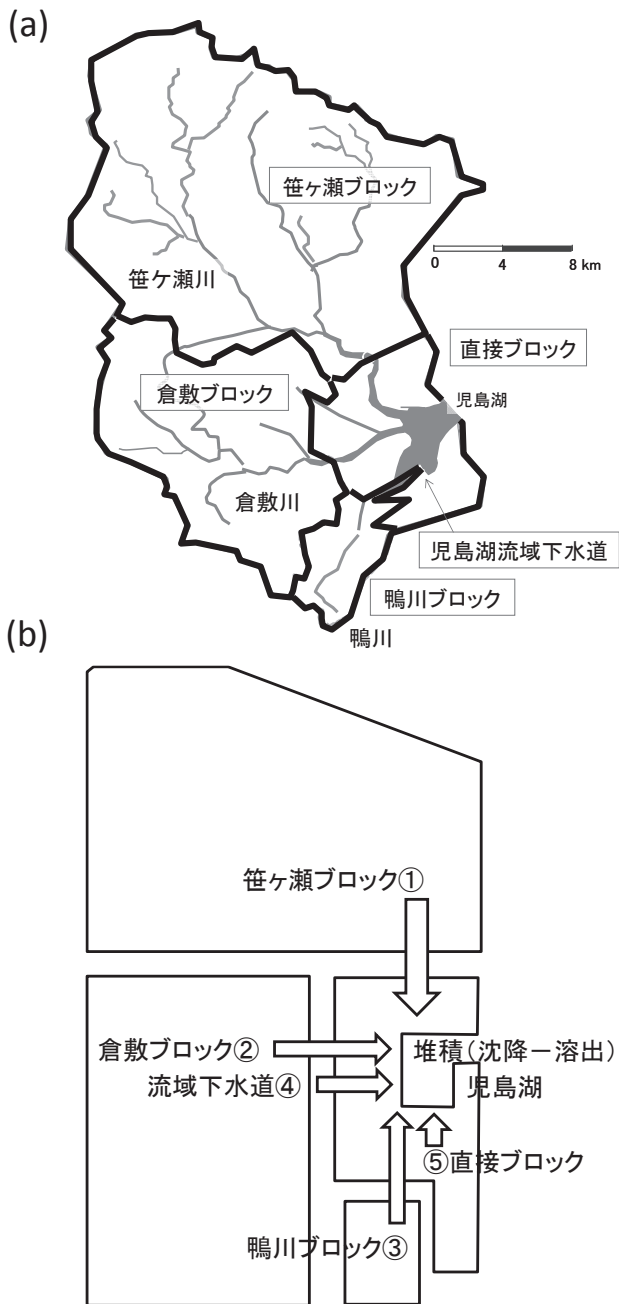


図1 児島湖流域

(a): 地図, (b): 概念図

$Q = 8.99 \times \exp(0.0055 \times R)$  (ただし  $Q$ : 流量  $m^3/s$ ,  $R$ : 降水量  $mm/日$ )

から求めた。児島湖流域下水道放流量は管理報告書データ<sup>33)~56)</sup>, 直接流域は平成18~24年度は報告書データ<sup>57)</sup>, 昭和57年~平成17年度は平成18年度以降のデータ<sup>57)</sup>の平均値を用いた。

### 3 結果および考察

#### 3.1 水質及び負荷量

昭和57年度から平成24年度までの31年間の児島湖及び2大流入河川の水質(全リン)及び水量の変遷を図2に示す。全リンは夏期に高く冬期に低い傾向があった。31年間(昭和57~平成24年度)の平均値は、笹ヶ瀬橋は0.20 mg/L, 倉敷川橋は0.31 mg/Lで倉敷川橋の方が高く、緩やかな減少傾向があった。笹ヶ瀬川, 倉敷川, 鴨川, 直接流域及び児島湖流域下水道の各全リン濃度と各水量を掛けた流入負荷量と、児島湖の水質(樋門)<sup>1)~31)</sup>と水量<sup>58)</sup>から求めた流出負荷量を図3(a)に示す。過去31年間の児島湖のリン負荷の流入量と流出量を比較すると、いずれの年度でも流出量の方が小さかった。流入負荷量と流出負荷量の差は湖内の懸濁態リンや藻類へ吸収されたリンの沈降による蓄積と考えられる。また、この差は近年小さくなってきている傾向が見られる。この要因としては、時間の経過とともに沈降量の減少(流入水の懸濁態リンの割合が減少)や底泥からの溶出量の増加が考えられた。

#### 3.2 湖内への蓄積

児島湖の物質収支を再現(流入量, 流出量からの湖内での蓄積量を計算)することを目的として、まず年間の見かけ上の湖内への蓄積量 $\Delta P$ (年間の沈降量-年間の溶出量)を検討した。図3(b)に流入水のリン負荷量に対する見かけ上の湖内への蓄積量 $\Delta P$ の比率を示す。20~30年前(昭和57年度~平成4年度)は見かけ上30%程度蓄積していたが、近年は10%以下まで減少してきていると考えられた。

#### 3.3 湖内での沈降, 溶出, 藻類への吸収及びモデル計算

流入したリンが湖内で受ける作用として(1)沈降, (2)溶出及び(3)藻類への吸収が考えられる。見かけ上の蓄積量を $\Delta P$ , 沈降量を $S$ , 溶出量を $E$ とすると,

$$\Delta P = S - E$$

であり、31年間の平均値では沈降量 $S$ は溶出量 $E$ よりも $\Delta P$ 大きい値になった。

また物質収支を検討する際には質的な変化についても考慮する必要がある。(1)沈降により懸濁態リンが減少する。(2)底泥からの溶出により溶存態リンが増加する。(3)藻類への吸収により溶存態リンが減少し懸濁態リンが増加する。これらの作用のうち、(1)沈降及び(2)溶出によ



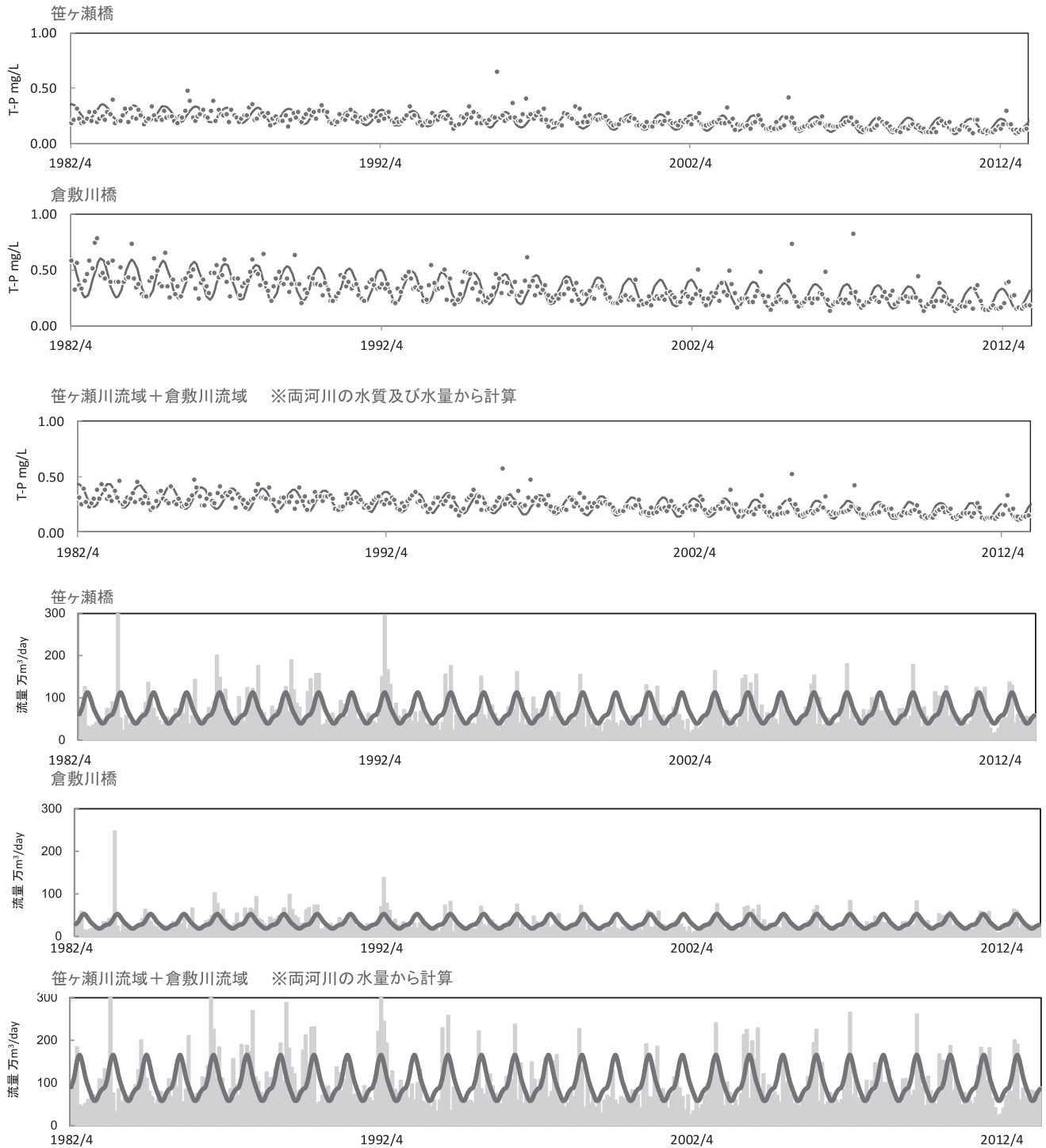


図2 水質及び水量(笹ヶ瀬川及び倉敷川)

り水中のリンの量に変化する。また(3)藻類への吸収により溶存態から懸濁態へと質的に変化し、沈降が促進される。これらの影響により、湖内の水中のリンの各成分(懸濁態リン及び溶存態リン)は変化し、流出水の水質は流入水とは異なったものとなり、湖外へ排出される。

水中のリンの動態を再現するためにはこれらの作用の影響を定量的に設定し、その結果実際の流入水と流出水

の各態リン(懸濁態及び溶存態)の量が再現されなければならない。流入水のリンの量(いずれも31年間の平均値)は実測値等から157 t/年、また流入水の懸濁態リンと溶存態リンの割合は懸濁態CODと懸濁態リンの関係<sup>66)</sup>に基づき80 t/年及び77 t/年であった。この計算モデルを図4に示す。またモデルに基づく計算結果を図5に示す。なお以下で(1)沈降量について、流入する懸濁態

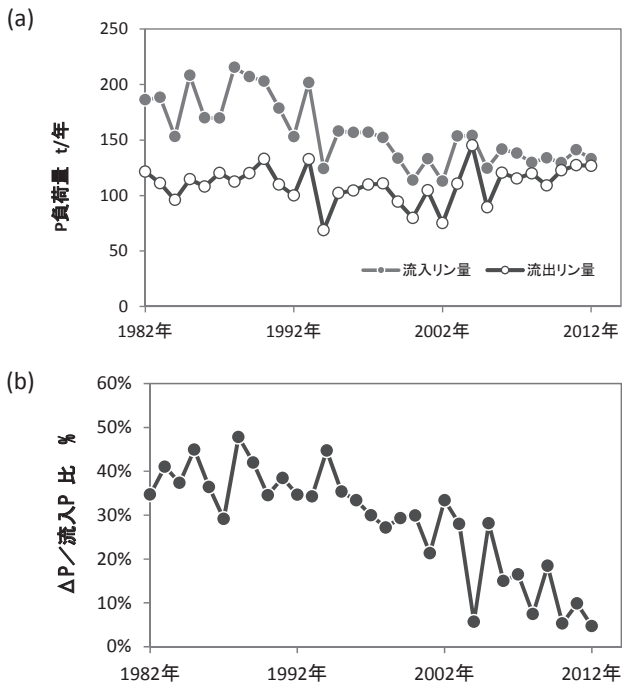


図3 リン負荷量

(a) 流入水及び流出水のリン量

(b)  $\Delta P$  (流入水と流出水のリン量の差)の流入水リン量に対する比率

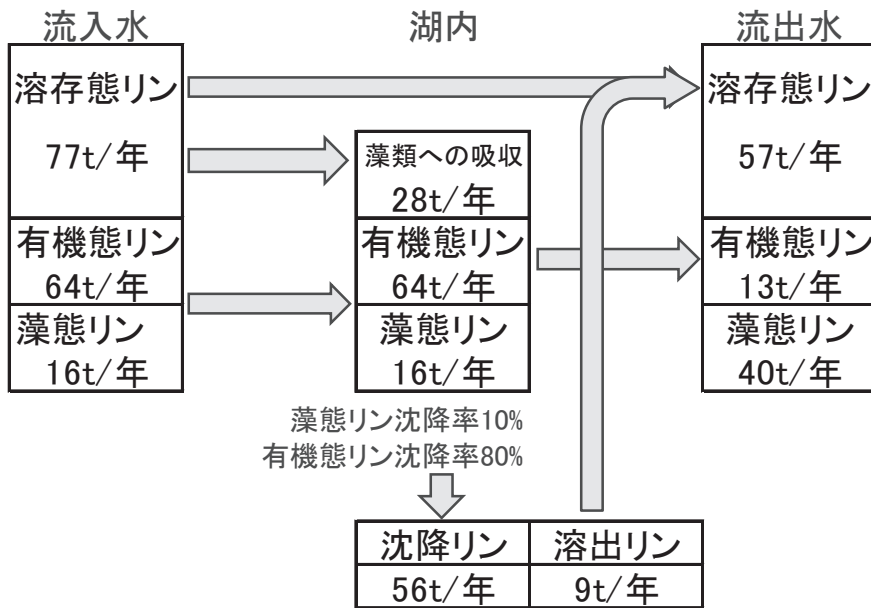
リン量に対する沈降量の割合を沈降率, (2) 溶出量について, 1年間に沈降するリン量に対する溶出量の割合を溶出率, (3) 藻類への吸収量について, 流入する溶存態リン量に対する藻類への吸収量の割合を吸収率とする。

モデルでは湖内での(1)沈降率, (2)溶出率, (3)藻類への吸収率の3つの定数を, 実際の測定値に沿うように設定する必要がある。物質収支から, まず(1)とり得る沈降率の最小値と最大値が決定され, この範囲内での沈降率を仮定し設定する。(2)沈降率の設定値と物質収支からリンの溶出率が決定される。(3)流出水の懸濁態リンと溶存態リンの実測値から, 藻類への吸収率が決定される。流入水のリン量が157 t/年, 流出水のリン量が110 t/年(31年間の平均値)でその差 $\Delta P$ は47 t/年であることから, この条件を満たす為(1)沈降率の取り得る値は70%(溶出率が1%の場合)~100%(懸濁態リンが全て沈降する場合)の範囲にあり, 懸濁態リン沈降量は48~72 t/年の範囲と考えられた。なお懸濁態リンのうち有機態リンの沈降速度は藻態リンの8倍<sup>67)</sup>とした。次に沈降率を任意の値に設定した上で, 流出水のリン量が110 t/年(31年間の平均値)となるように(2)溶出率を設定する。この沈降率と溶出率の値の組み合わせは一意に決まり, 例えば沈降率を80%と設定した場合, 流出水

のリン量が110 t/年(31年間の平均値)となるために溶出率は0.8%と決定される。なお沈降する懸濁態リンのうち溶出し得る易溶性のリンは66%<sup>68)</sup>とした。また過去(平成9~23年度)の調査結果では流出水の溶存態リンの比率は平均52%あり, 計算結果はこれと大きく異なるものであってはならない。藻類への吸収により溶存態リンの比率が変化(減少)するが, この結果流出水の溶存態リン比率が52%程度となるように, (3)藻類への吸収率が設定され, 沈降率と溶出率が設定された場合藻類への吸収率もまた一意に決定される。例えば沈降率80%, 溶出率0.8%と設定した場合, 流出水の溶存態リン比率が52%となるために藻類への吸収率は37%に決定される。なお藻類への吸収による沈降の影響も同時に考慮する必要がある。これらの条件を満たすようにまず(1)沈降率を設定し, これに基づき(2)溶出率及び(3)藻類への吸収率を決定して行った流出水のシミュレーション計算の例を図5の計算1~4に示す。(1)沈降率は70~100%の範囲にあることから4段階(70%, 80%, 90%, 100%)に設定した(表1)。計算結果はいずれも流出水のリン量が110 t/年(31年間の平均値), 流出水の溶存態リン/全リン比が52%であり, 計算値と実測値の相関係数は57~64%であった。リン溶出速度は1~25 t/年の範囲にあり, 流出水のリン量を110 t/年とすると溶出による水質への影響は1~22%の範囲にあると推算された。

計算結果は流出水の負荷量の経時変化を概ね再現していたと考えられるが, 経時変化を実測値と比較したときの相関係数(表1)は57~64%と低く, さらなる検討が必要である。今回の沈降量, 溶出量及び藻類への吸収量の値はあくまで観測値の流入水と流出水の差に基づく推算結果であり, 実際の値の目安とはなるものの実測値ではないことに留意する必要がある。また今後の課題として今回の計算は昭和57年度以降を対象としたが昭和56年以前の基礎的なデータが必ずしも十分ではない時期(笹ヶ瀬橋及び倉敷川橋の昭和51年度は年5回, 昭和52~56年度は年4回, 樋門の昭和52~56年度は年4回)について評価方法の検討, 児島湖流域を小ブロック単位に分けての評価が必要と思われる。

(a)



(b)

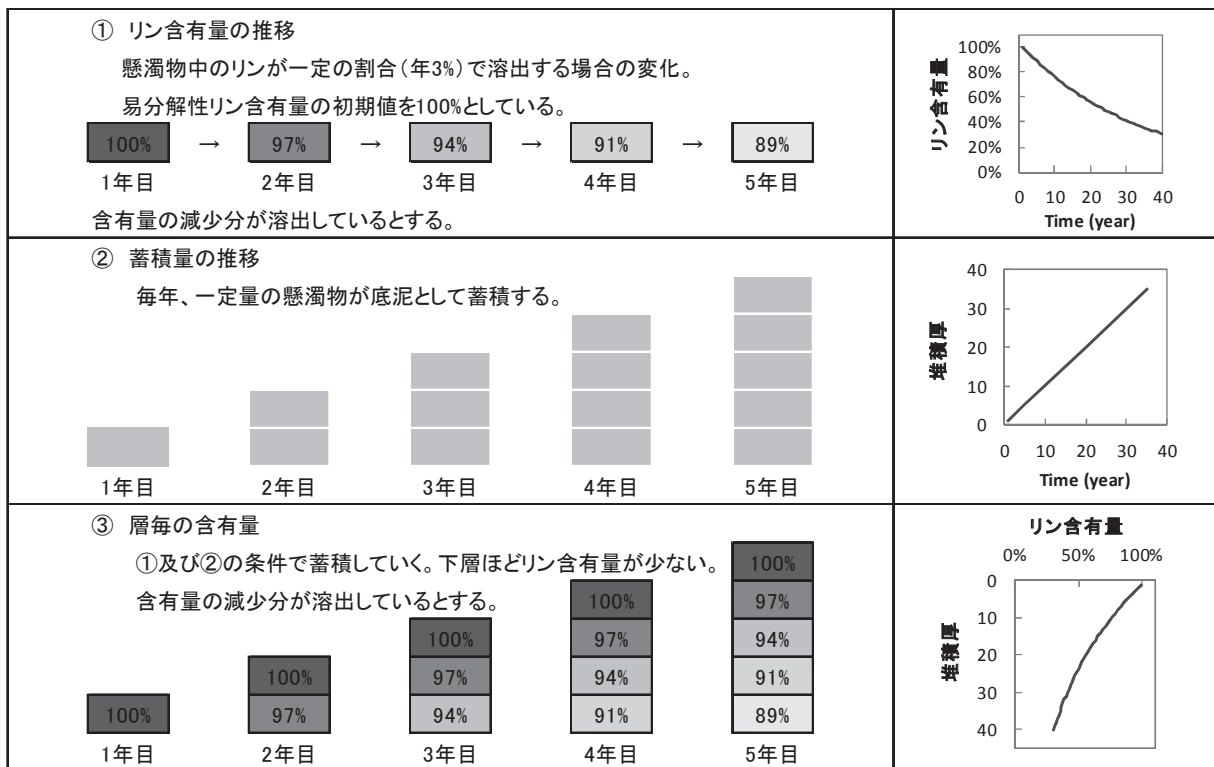


図4 計算モデル

(a) 物質収支(図中の数値は沈降率80%としたときの31年間分の平均値)

(b) 底泥の蓄積(沈降と溶出)概念図

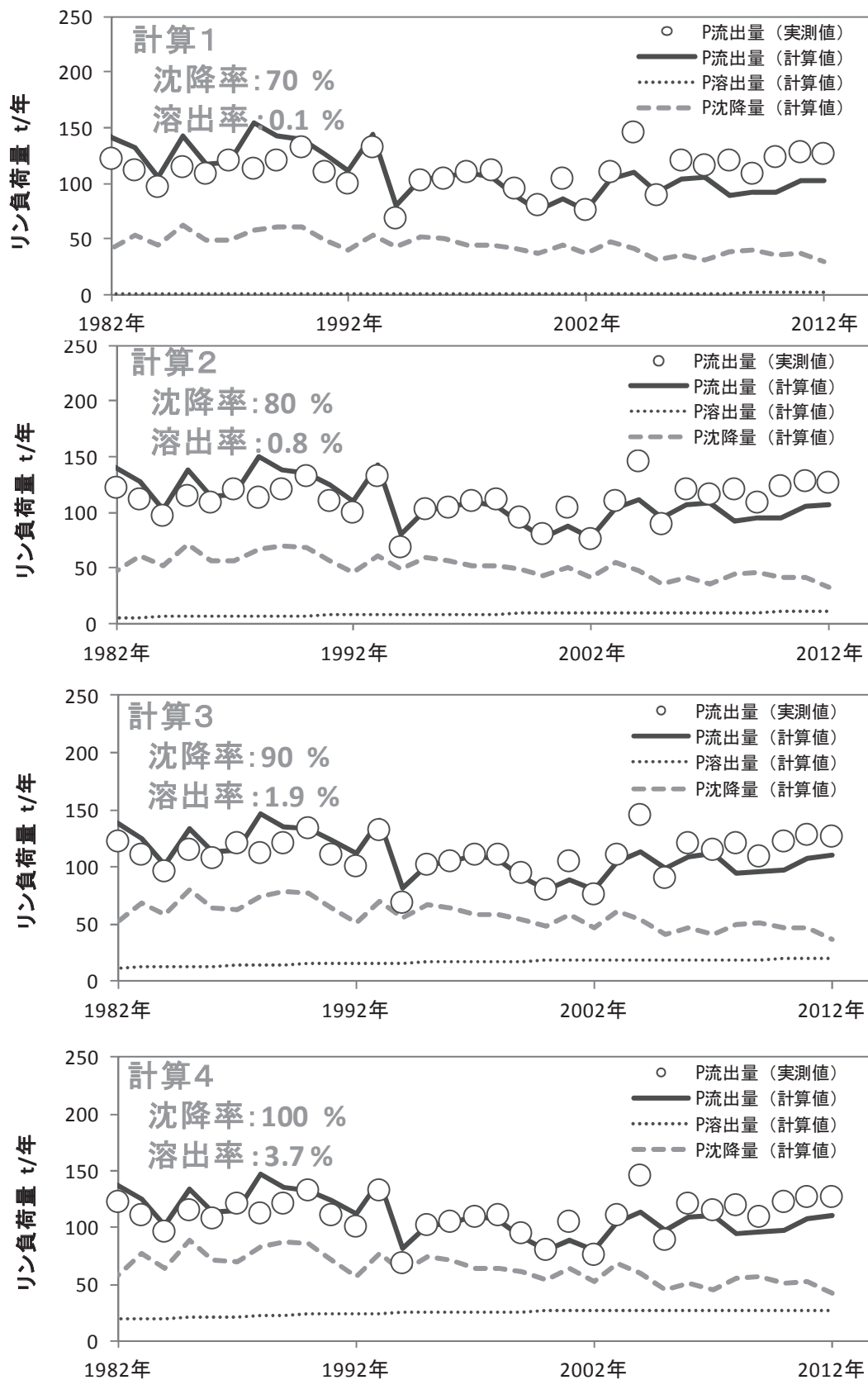


図5 シミュレーション計算結果

表1 計算の設定値(沈降率、溶出率及び藻類への吸収率)及び計算結果

	設定値			計算結果					
	①沈降率	②リン溶出率	③藻類への吸収率	沈降量 t/年	リン溶出量 t/年	藻類への吸収量 t/年	DP/TP比	相関係数	リン溶出の流出水水質への影響(※)
計算1	70%	0.1%	27%	48	1	19	52%	57%	1%
計算2	80%	0.8%	37%	56	9	21	52%	61%	8%
計算3	90%	1.9%	47%	64	17	28	52%	64%	15%
計算4	100%	3.7%	57%	72	25	36	52%	64%	22%

(※) 流出水のリン量を110 t/年(31年間の平均値)として計算。

#### 4 まとめ

過去31年間のデータから児島湖のリン物質収支を検討した。

湖内へのリン蓄積量は流入負荷の10～40%で、近年は10%以下に減少してきていると考えられた。

流出水のリン負荷量が110 t/年(31年間の平均値)であることから、流入水の懸濁態リン沈降量は48～72 t/年の範囲と考えられた。

リン溶出速度は1～25 t/年、水質への影響は1～22%の範囲にあると推算された。

藻類への吸収量は19～36 t/年の範囲と考えられた。

#### 文 献

- 1) 岡山県：昭和57年度公共用水域水質測定結果, 1983
- 2) 岡山県：昭和58年度公共用水域水質測定結果, 1984
- 3) 岡山県：昭和59年度公共用水域水質測定結果, 1985
- 4) 岡山県：昭和60年度公共用水域水質測定結果, 1986
- 5) 岡山県：昭和61年度公共用水域水質測定結果, 1987
- 6) 岡山県：昭和62年度公共用水域水質測定結果, 1988
- 7) 岡山県：昭和63年度公共用水域水質測定結果, 1989
- 8) 岡山県：平成元年度公共用水域及び地下水の水質測定結果, 1990
- 9) 岡山県：平成2元年度公共用水域及び地下水の水質測定結果, 1991
- 10) 岡山県：平成3年度公共用水域及び地下水の水質測定結果, 1992
- 11) 岡山県：平成4年度公共用水域及び地下水の水質測定結果, 1993
- 12) 岡山県：平成5年度公共用水域及び地下水の水質測定結果, 1994
- 13) 岡山県：平成6年度公共用水域及び地下水の水質測定結果, 1995
- 14) 岡山県：平成7年度公共用水域及び地下水の水質測定結果, 1996
- 15) 岡山県：平成8年度公共用水域及び地下水の水質測定結果, 1997

- 16) 岡山県：平成 9 年度公共用水域及び地下水の水質測定結果, 1998
- 17) 岡山県：平成 10 年度公共用水域及び地下水の水質測定結果, 1999
- 18) 岡山県：平成 11 年度公共用水域及び地下水の水質測定結果, 2000
- 19) 岡山県：平成 12 年度公共用水域及び地下水の水質測定結果, 2001
- 20) 岡山県：平成 13 年度公共用水域及び地下水の水質測定結果, 2002
- 21) 岡山県：平成 14 年度公共用水域及び地下水の水質測定結果, 2003
- 22) 岡山県：平成 15 年度公共用水域及び地下水の水質測定結果, 2004
- 23) 岡山県：平成 16 年度公共用水域及び地下水の水質測定結果, 2005
- 24) 岡山県：平成 17 年度公共用水域及び地下水の水質測定結果, 2006
- 25) 岡山県：平成 18 年度公共用水域及び地下水の水質測定結果, 2007
- 26) 岡山県：平成 19 年度公共用水域及び地下水の水質測定結果, 2008
- 27) 岡山県：平成 20 年度公共用水域及び地下水の水質測定結果, 2009
- 28) 岡山県：平成 21 年度公共用水域及び地下水の水質測定結果, 2010
- 29) 岡山県：平成 22 年度公共用水域及び地下水の水質測定結果, 2011
- 30) 岡山県：平成 23 年度公共用水域及び地下水の水質測定結果, 2012
- 31) 岡山県：平成 24 年度公共用水域及び地下水の水質測定結果, 2013
- 32) 岡山県：平成 3 年度児島湖水質保全計画基礎調査業務報告書, 66, 1992
- 33) 岡山県下水道公社：平成元年度児島湖流域下水道維持管理年報, 1990
- 34) 岡山県下水道公社：平成 2 年度児島湖流域下水道維持管理年報, 1991
- 35) 岡山県下水道公社：平成 3 年度児島湖流域下水道維持管理年報, 1992
- 36) 岡山県下水道公社：平成 4 年度児島湖流域下水道維持管理年報, 1993
- 37) 岡山県下水道公社：平成 5 年度児島湖流域下水道維持管理年報, 1994
- 38) 岡山県下水道公社：平成 6 年度児島湖流域下水道維持管理年報, 1995
- 39) 岡山県下水道公社：平成 7 年度児島湖流域下水道維持管理年報, 1996
- 40) 岡山県下水道公社：平成 8 年度児島湖流域下水道維持管理年報, 1997
- 41) 岡山県下水道公社：平成 9 年度児島湖流域下水道維持管理年報, 1998
- 42) 岡山県下水道公社：平成 10 年度児島湖流域下水道維持管理年報, 1999
- 43) 岡山県下水道公社：平成 11 年度児島湖流域下水道維持管理年報, 2000
- 44) 岡山県下水道公社：平成 12 年度児島湖流域下水道維持管理年報, 2001
- 45) 岡山県下水道公社：平成 13 年度児島湖流域下水道維持管理年報, 2002
- 46) 岡山県下水道公社：平成 14 年度児島湖流域下水道維持管理年報, 2003
- 47) 岡山県下水道公社：平成 15 年度児島湖流域下水道維持管理年報, 2004
- 48) 岡山県下水道公社：平成 16 年度児島湖流域下水道維持管理年報, 2005
- 49) 岡山県下水道公社：平成 17 年度児島湖流域下水道維持管理年報, 2006
- 50) 岡山県下水道公社：平成 18 年度児島湖流域下水道維持管理年報, 2007
- 51) 岡山県下水道公社：平成 19 年度児島湖流域下水道維持管理年報, 2008
- 52) 岡山県下水道公社：平成 20 年度児島湖流域下水道維持管理年報, 2009
- 53) 岡山県下水道公社：平成 21 年度児島湖流域下水道維持管理年報, 2010
- 54) 岡山県下水道公社：平成 22 年度児島湖流域下水道維持管理年報, 2011
- 55) 岡山県下水道公社：平成 23 年度児島湖流域下水道維持管理年報, 2012
- 56) 岡山県下水道公社：平成 24 年度児島湖流域下水道維持管理年報, 2013

- 57) 岡山県：平成 26 年度指定湖沼汚濁負荷量削減状況調査報告書, 127, 2015
- 58) 岡山県：平成 25 年度指定湖沼汚濁負荷量削減状況調査報告書, 59, 2014
- 59) 岡山県：平成 20 年度指定湖沼汚濁負荷量削減状況調査報告書, 61, 2009
- 60) 岡山県：平成 21 年度指定湖沼汚濁負荷量削減状況調査報告書, 61, 2010
- 61) 岡山県：平成 22 年度指定湖沼汚濁負荷量削減状況調査報告書, 61, 2011
- 62) 岡山県：平成 3 年度児島湖水質保全計画基礎調査業務報告書, 62, 1992
- 63) 岡山県：平成 16 年度指定湖沼汚濁負荷量削減状況調査報告書, 57, 2005
- 64) 岡山県：平成 17 年度指定湖沼汚濁負荷量削減状況調査報告書, 57, 2006
- 65) (独)農研機構近畿中国四国農業研究センター：備讃地域陸海域の水・栄養塩動態解明と農業への再利用技術の開発, 22, 2010
- 66) 藤田和男, 鷹野洋, 坂本祐基, 板谷勉, 劔持堅志：児島湖におけるクロロフィル a および COD と栄養塩(窒素・リン)の関係(2), 岡山県環境保健センター年報, 34, 17-24, 2010
- 67) 岡山県：平成 26 年度指定湖沼汚濁負荷量削減状況調査報告書, 231, 2015
- 68) 清水光郎, 熊城一男, 山本弘捷, 大西昇, 畑宏：底質中の栄養塩の挙動に関する調査研究 第 6 報 水中懸濁物質及び表層泥におけるリンの形態別の挙動, 岡山県環境保健センター年報, 8, 150, 1984





【調査研究】

## 児島湖における水質汚濁メカニズムの解明

—都六区の水田群及び八浜町波知の水田における汚濁負荷量調査—

Elucidation of water pollution mechanism in Lake Kojima

—Estimation of Pollution Load from Paddy fields of Miyakorokku and a Paddy field of Hachi, Hachihama—

藤田和男, 中野拓也, 金子英史, 山本 淳(水質科)

Kazuo Fujita, Takuya Nakano, Hidefumi Kaneko, Jun Yamamoto (Water Section)

### 要 旨

水田群(都六区:岡山市南区藤田)及び一筆の水田(玉野市八浜町波知)から流出する汚濁負荷量を調査した。負荷量は夏期に高く冬期に低い傾向があった。都六区の水田群の負荷量はCODが220 kg/ha/年, T-Nが14 kg/ha/年, T-Pが14 kg/ha/年であった。他の水田群の調査事例と比較してCOD及びT-P負荷量が大きく, 主な要因は流出水量が大きいことと考えられた。またT-N負荷量が比較的小さく, その主な要因は流出水と流入水の濃度差が小さいことと考えられた。八浜町波知の水田の負荷量はCODが20 kg/ha/年, T-Nが1.7 kg/ha/年, T-Pが1.2 g/ha/年であった。他の一筆の水田での調査事例と比較してT-N負荷量及びT-P負荷量が小さく, その主な要因は水量が小さいことと考えられた。

[キーワード: COD, 窒素, リン, 水田, 汚濁負荷量]

[Key words: COD, Nitrogen, Phosphorus, Paddy field, Pollution load]

### 1 はじめに

児島湖の水質汚濁については, 湖沼水質保全計画等に基づき, 過去25年間にわたり様々な水質保全施策を実施してきたが, いまだ環境基準は達成されていないため, 更なる水質改善が課題となっている。

本県では, 平成24年3月に「児島湖に係る第6期水質保全計画」を策定し, その中で水質汚濁メカニズムの解明に向けた様々な調査を推進することとしており, 依然として水質汚濁が問題となっている児島湖の環境基準の達成に向けて, 水質汚濁メカニズムの解明が必要となっている。

平成19年から現在まで, 岡山市南区西・北七区で, 主に流出水対策を目的として, 農地からの負荷量の流出状況を調査しているが, 複数の地点での調査が望ましいため, 児島湖流域の都六区(岡山市南区藤田)の水田群(300 ha)及び玉野市八浜町波知の水田(0.10ha)で調査を行い基礎資料を得た。玉野市八浜の水田は上部ため池からの取水を行うことから, 間断灌漑を行う西・北七区や都六区の水田群よりも排水量が少ない傾向であった。

### 2 材料および方法

都六区の水田群及び八浜町波知の水田で調査を行った(図1)。都六区(面積440ha, うち水田300ha)では3地点で平成25年4月から平成26年3月まで, 灌漑期に11回(6月は月3回, 7~10月は月2回)非灌漑期に7回(4~5月及び11~3月に月1回), 合計18回, 現地測定及び採水を行った。採水時に現地水温, 水深を測定し, 排水の流量を妹尾川排水機場前の遊水池で流量計(ワイエスアイ・ナノテック製 SonTek-IQ 超音波流量計)により測定した。また室内でpH, COD, T-N, T-P, ECを測定した。水量について, 降水量は文献値<sup>1)</sup>, 蒸発散量は以下の式<sup>1)</sup>で求めた。

$$E_p(\text{蒸発散量})(\text{mm}/\text{H})=0.14 \times (\text{日照時間}/12)^2 \cdot qt$$

ただし  $qt=5.047 \cdot e^{0.0606 \cdot \text{Temp}}$

八浜町波知では水田内(面積1,030m<sup>2</sup>)及び用水を取水している上流のため池(砂山池)で平成26年4月から平成27年3月まで, 灌漑期に8回(6月及び10月は月1回, 7~9月は月2回)非灌漑期(4月)に1回, 合計9回, また降水時に6回(7月に2回, 8月に3回, 9月に1回)

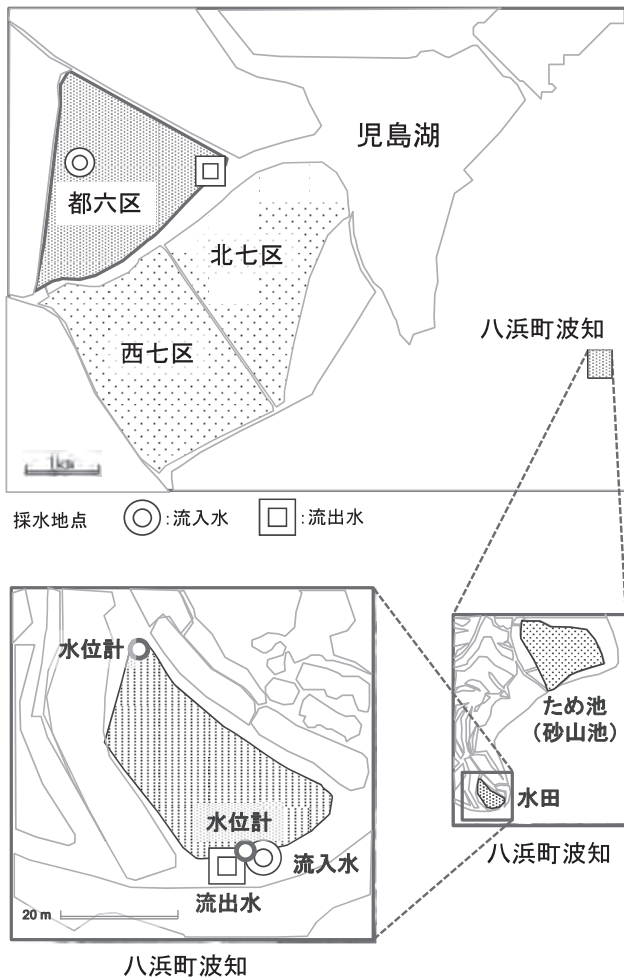
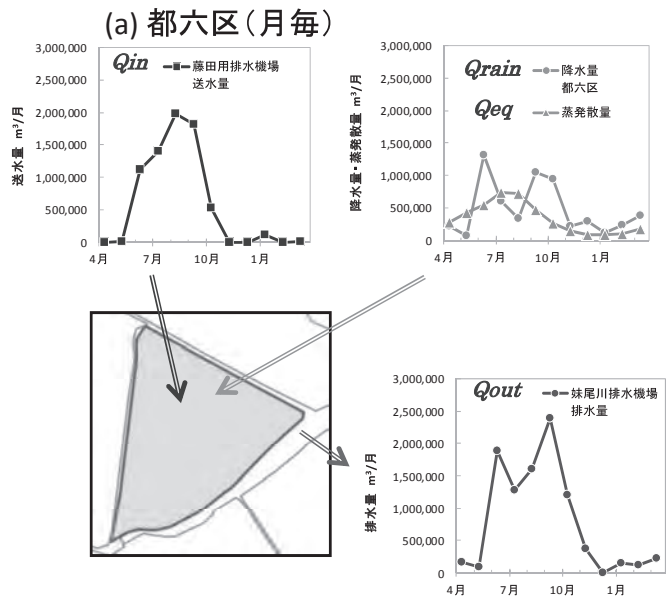
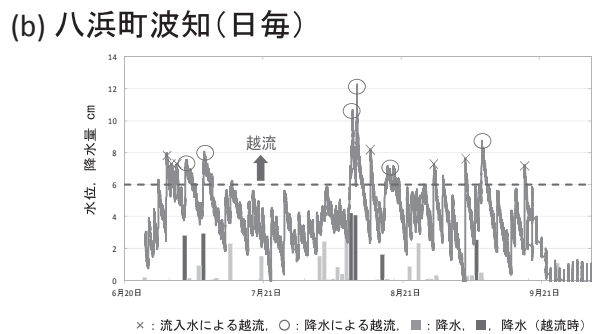


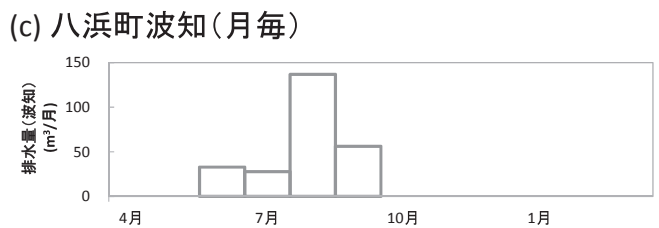
図1 調査地点



(a) 都六区(月毎)



(b) 八浜町波知(日毎)



(c) 八浜町波知(月毎)

図2 水量(都六区及び八浜町波知)

現地測定及び採水を行った。採水時に現地で水温及び水田内の水深を測定し、室内でpH, COD, T-N及びT-Pを測定した。また水田の2地点で水位計(大起理化学製DIK-611A-A1)により水深を連続測定した。別途降雨を環境保健センター屋上で本年度29回(7月~1月)採水し、水質(COD, T-N及びT-P)を測定した。

水質について、pHはpH計(堀場製作所製F-51)、ECはEC計(横河電機製IWC-5)、全窒素(T-N)は全窒素計(アナテック・ヤナコ製TN-308P)、COD、全リン(T-P)は工場排水試験法K0102<sup>2)</sup>に準じて測定した。

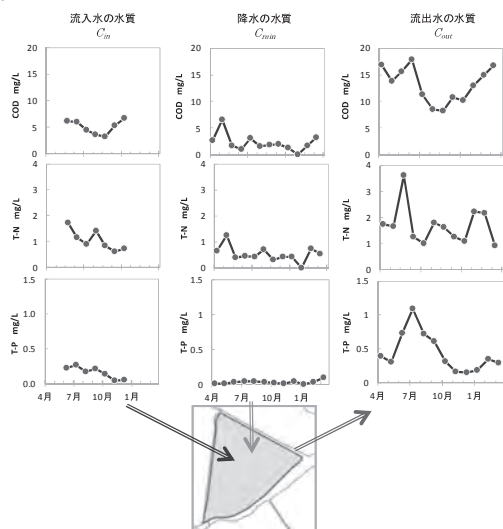
### 3 結果および考察

#### 3.1 都六区の水量、水質および負荷量

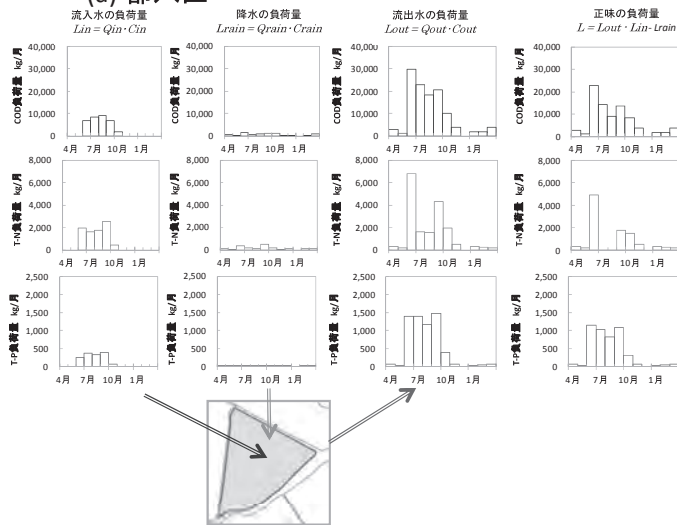
各水量の月毎の経時変化を図2aに示す。都六区の水収支の計算に必要な排水量、用水量、降水量及び蒸発散量について、 $Q_{out}$ :妹尾川排水機場(機場稼働時間)、(2)  $Q_{in}$ :藤田用排水機場(機場送水量)、 $Q_{rain}$ :降水量(樋門降水量)、 $Q_{ep}$ :蒸発散量(気温及び日照時間からの計算値)を示す。

妹尾川排水機場からの排水量( $Q_{out}$ )は流速計による測定値及び排水機場の聞き取り調査から $4.0 \text{ m}^3/\text{s}$ とした。降水量( $Q_{rain}$ )は水田(300ha)を含む都六区の区域440haへの降水量とした。藤田用排水機場からの流入水量( $Q_{in}$ )

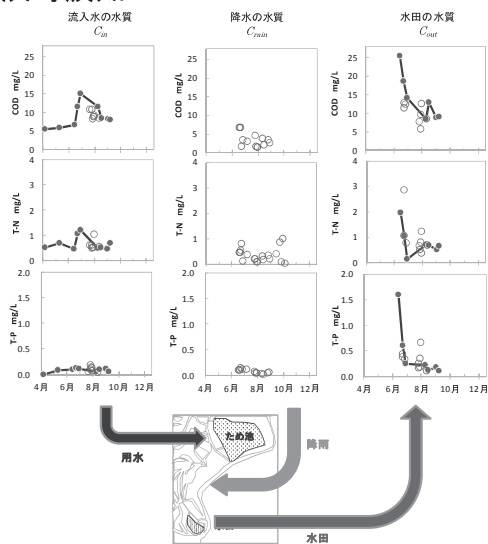
(a) 都六区



(a) 都六区



(b) 八浜町波知



(b) 八浜町波知

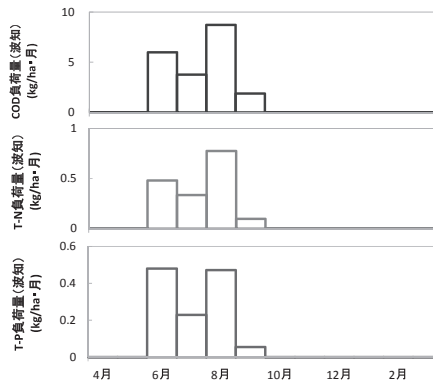


図3 水質

—●—: 平水時, ○: 降水時

図4 負荷量

は排水量，降水量及び蒸発散量から  $Q_{out} = (Q_{rain} - Q_{ep})$  で計算した。

流入水(自動給水栓)及び流出水(妹尾川排水機場)の水質(COD, T-N及びT-P)を図3aに示す。流出水の値は流入水や降水の値に比べて高かった。次に水質及び水量から負荷量を計算した(図4a)。水田以外の区域(140ha)からの負荷量について，生活排水は処理方法(下水道，合併処理浄化槽，単独処理浄化槽，くみ取り)毎の人口，土地利用方法(水田，畑，市街地)毎の面積及び工場・事業場の数量と各原単位から計算した。

水質について，流入水(自動給水栓からの用水)，流出水(妹尾川排水機場)及び降水の水質(COD, T-N及び

T-P)を図3aに示す。流出水の値は流入水や降水の値に比べて高かった。負荷量を水質と水量から試算した結果(図4a)，CODが220 kg/ha/年，T-Nが14 kg/ha/年，T-Pが14 kg/ha/年であった(表1)。

今回の結果と文献値の14事例(一筆での調査7事例，水田群での調査7事例)を表1に記載した。またこれらの岡山県の事例と今回の結果について，流出水量と負荷量の関係をプロットし，直線近似線及び近似線からのばらつき(残差の $\pm 1\sigma$ )を示した(図5)。流出水量の増加に伴い各負荷量が増加する傾向が見られた。近似線に対する縦軸方向の各負荷量のばらつき(残差の $\pm 1\sigma$ )の範囲はCOD負荷量では $\pm 80$  kg/ha/年，T-N負荷量では

表1 各地点の水量及び負荷量

	調査年度	調査地点	調査水田の形態	水田面積 ha	流出水量 m <sup>3</sup> /ha/年	濃度差 流出水(表流水) - 流入水(用水、降水)			負荷量		
						COD mg/L	T-N mg/L	T-P mg/L	COD kg/ha/年	T-N kg/ha/年	T-P kg/ha/年
都六区(H25)		岡山県岡山市	水田群	300	27,300	10	0.9	0.33	220	14	14
八浜町波知(H26)		岡山県玉野市	単一水田(1筆)	0.10	2,460	9.5	0.8	0.52	20	1.7	1.2
参考											
文献 1(1) <sup>3)</sup>	平成15年度	香川県綾歌郡	単一水田(1筆)	0.12	9,510	9.9	1.2	0.38	77	6.6	3.2
文献 1(2) <sup>3)</sup>	平成15年度	香川県綾歌郡	単一水田(1筆)	0.16	8,210	13	0.7	0.40	95	1.6	3.1
文献 2(1) <sup>4)</sup>	平成19年度	岡山県総社市	単一水田(1筆)	0.24	3,300	-	0.8	1.82	-	-1.2	3.4
文献 3(1) <sup>5)</sup>	平成18年度	岡山県総社市	単一水田(1筆)	0.25	14,090	-	2.2	1.93	-	9.4	13
文献 4 <sup>6)</sup>	平成6~7年度	滋賀県守山市	単一水田(1筆)	0.29	6,663	-	1.5	0.20	-	5.6	1.0
文献 2(2) <sup>4)</sup>	平成19年度	岡山県岡山市	単一水田(1筆)	0.44	18,940	-	0.1	0.95	-	-7.7	-0.7
文献 3(2) <sup>5)</sup>	平成18年度	岡山県岡山市	単一水田(1筆)	0.50	31,710	-	-0.2	0.11	-	-7.8	0.5
文献 5(1) <sup>7)</sup>	平成23年度	滋賀県守山市	水田群(9筆)	0.84	10,980	-	0.0	1.09	-	-6.9	11
文献 5(2) <sup>7)</sup>	平成23年度	滋賀県守山市	水田群(7筆)	1.0	15,006	-	0.6	0.90	-	1.2	13
文献 6(1) <sup>8)</sup>	平成20年度	滋賀県守山市	水田群(18筆)	5.6	12,530	-	1.1	0.39	-	6.0	3.9
文献 6(2) <sup>8)</sup>	平成21年度	滋賀県守山市	水田群(18筆)	5.1	13,350	-	1.6	0.34	-	15	3.8
文献 7 <sup>9)</sup>	昭和63~平成元年度	滋賀県甲賀郡	水田群(44筆)	12	40,750	2.0	0.1	0.19	59	13	7.3
文献 8 <sup>10)</sup>	昭和60年	新潟県西蒲原郡	水田群(50筆)	14	19,030	-	0.6	0.11	-	0	1.6
文献 9 <sup>11)</sup>	平成26年度	岡山県岡山市	水田群	337	30,000	4.5	0.8	0.14	116	16	4.9
文献 10 <sup>12)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	187	29	3.9

± 9.3 kg/ha/年、T-P 負荷量では± 5.5 kg/ha/年に相当した。この縦軸方向のばらつきは流出水と流入水の濃度差が個々の事例により異なることに起因し、濃度に換算(流出水量を 20,000 m<sup>3</sup>/ha/年と仮定)すると COD は ± 4.0 mg/L、T-N は ± 0.47 mg/L、T-P は ± 0.28 mg/L に相当した。

都六区での負荷量を近隣の同規模の広さの水田群(岡山市南区の北七区、面積 464ha、うち水田 337ha)での結果(表1の文献9)<sup>11)</sup>と比較すると、COD 負荷量は 1.2 倍、T-N 負荷量は 0.9 倍、T-P 負荷量は 2.9 倍で、COD 負荷量及び T-N 負荷量は概ね同等の値で T-P 負荷量が大きかった。負荷量を文献値(表1の文献10:水田群及び一筆水田の 479 事例から、降雨を考慮した慣行農法の水田として COD 負荷量 2 件、T-N 負荷量 6 件、T-P 負荷量 6 件をまとめたもの)<sup>12)</sup>と比較すると、COD 負荷量は 1.2 倍、T-N 負荷量は 0.5 倍、T-P 負荷量は 3.6 倍で、特に T-N 負荷量が小さく T-P 負荷量が大きいと考えられた。また COD 負荷量を水田群での調査結果(2 事例、表1の文献7<sup>9)</sup>及び9<sup>11)</sup>)と比較すると 3 事例中で最も大きかったが、この主要因は 3 事例中において流出水量は最も小さいが、流入水(用水及び降水)と流出水の濃度差(年平均 10 mg/L)が 3 事例中最も大きい為であった。T-N 負荷量を水田群での調査結果(7 事例、表1の文献5~9<sup>7)~11)</sup>)と比較すると 8 事例中 3 番目に大きい値であったが、この要因は流出水量が 8 事例中 3 番目に大きく、水質(流入水と流出水の濃度差)が年平均 0.9 mg/L

で 3 番目に大きいことによる。T-P 負荷量は水田群での調査結果(7 事例、表1の文献5~9<sup>7)~11)</sup>)と比較すると 8 事例中で最も大きかったが、この主要因は流出水量が 8 事例中において 3 番目に大きいことであり、水質(流入水と流出水の濃度差)は 8 事例中 5 番目(年平均 0.33 mg/L)であった。一般に地区によって水田からの負荷量が異なる主要因は施肥の量や方法とかんがい水量<sup>4)</sup>であるが、特に都六区の水田群の負荷量が T-N を除き他の水田群と比較して大きい主要因は水量が多いことと考えられた。また T-N 負荷量について、白谷等は 91 事例を解析し、かんがい水の窒素濃度が 0.15 mg/L 以上するとき流出負荷量は流入負荷量より小さくなる<sup>13)</sup>としている。今回の都六区の流入水の T-N は 1.0 mg/L(平均値)とやや高く、これにより流入水と流出水の濃度差が小さかったことが、T-N 負荷量が小さい要因と考えられた。

### 3.2 八浜町波知の水量、水質および負荷量

用水は上流部のため池から供給され、児島湖に流入する庄田川の支流に排出される。日毎の水位の変化を図 2b、月毎の流出水量を図 2c に示す。用水量は 11,100 m<sup>3</sup>/ha/年と推算され、一般的な値(19,200 m<sup>3</sup>/ha/年)<sup>3)</sup>と比較すると少なかった。また流出水が殆ど出ないよう水管理が行われており、降雨または流入水により水位が 6cm(畦の高さ)以上に上昇したときの越流が主な流出水と考えられた。流出水量は堰からの越流量が 2,460 m<sup>3</sup>/ha/年で文献値(水田面積 11.6ha)<sup>4)</sup>の流出量 21,700 m<sup>3</sup>/

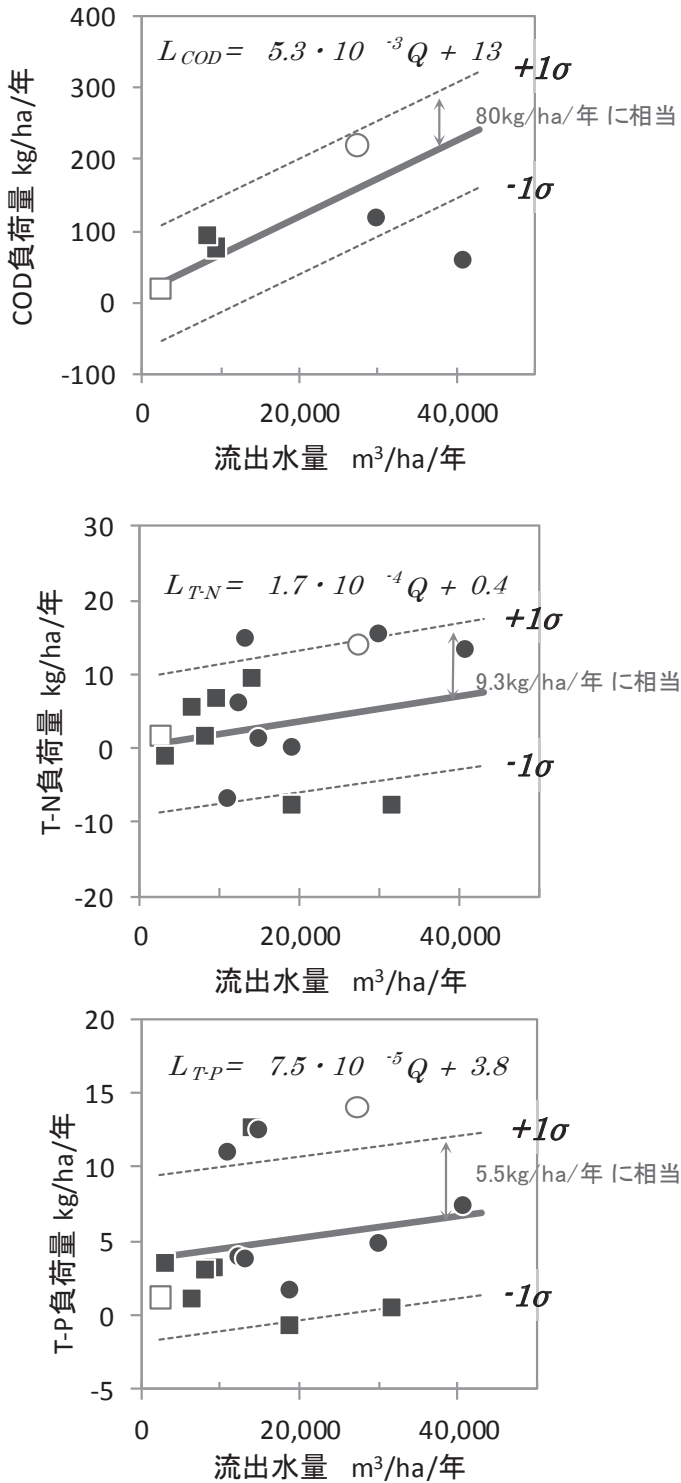


図5 流出水量と負荷量の関係

○: 都六区(平成25年度), □: 八浜町波知(平成26年度),  
 ●: 文献値(水田群での調査)<sup>7~11)</sup>, ■: 文献値(一筆の水田での調査)<sup>3~6)</sup>,  
 直線: 近似値(平均値), 破線: 近似値(平均値)から $\pm 1\sigma$ の値。

ha/年<sup>4)</sup>と比較すると9分の1と少なかった。

流入水、流出水及び降水の水質を図3bに示す。流出水の水質は流入水や降水より高かった。水質及び水量から負荷量の推移を試算した結果(図4b), COD 20 kg/ha/年, T-N 1.7 kg/ha/年, T-P 1.2 kg/ha/年であった(表1)。負荷量を先述の文献値(水田群及び一筆水田の479事例から降雨を考慮した慣行農法の水田としてCOD負荷量2件, T-N負荷量6件, T-P負荷量6件をまとめたもの)<sup>12)</sup>と比較すると, COD負荷量は9分の1, T-N負荷量は17分の1, T-P負荷量は3分の1といずれの値も小さかった。またCOD負荷量を一筆の水田での調査結果(2事例, 表1の文献<sup>13)</sup>)と比較すると, 流出水量は3事例中最も小さく, 流入水(用水及び降水)と流出水の濃度差が3事例中最も小さく, 結果としてCOD負荷量が3事例中最も小さかった。T-N負荷量を一筆の水田での調査結果(7事例, 表1の文献1~4<sup>3)~6)</sup>)と比較すると, 8事例中4番目の値であった。当該水田の流出水量は8事例中において最も小さい一方, 水質(流入水と流出水の差)は0.7 mg/Lで8事例の平均値(0.9 mg/L)と同等の値であることから, T-N負荷量が小さい理由は流出水量が小さいことと考えられた。またT-P負荷量を一筆の水田での調査結果(7事例, 表1の文献1~4<sup>3)~6)</sup>)と比較すると, T-P負荷量は4番目に小さい値であった。当該水田の流出水量は8事例中において最も小さく, 一方水質(流入水と流出水の差)は0.52 mg/Lで8事例の平均値(0.83 mg/L)と同等の値であり, T-P負荷量が小さい理由は流出水量が小さいことと考えられた。

様々な水田の事例を比較した結果(図5及び表1)から, 負荷量は水量(図5の横軸)の影響が大きく, 水田からの汚濁負荷量を削減する方法として営農方法を変えることは困難と思われるが, 用水量の低減が重要と考えられた。

#### 4 まとめ

都六区(岡山市南区藤田)の水田群及び八浜町波知の一筆の水田から流出する汚濁負荷量の調査を行った。

都六区の水田群の負荷量はCODが220 kg/ha/年、T-Nが14 kg/ha/年、T-Pが14 kg/ha/年であった。流出水量が27,300 m<sup>3</sup>/ha/年と大きく汚濁負荷量が大きかった。他の水田群の事例と比較してCOD及びT-P負荷量が大きい主な要因は水量が大きいこと、T-N負荷量が小さい主な要因は流入水のT-N濃度が高く流入水と流出水の濃度差が小さいことであった。

八浜町波知の水田の負荷量はCODが20 kg/ha/年、T-Nが1.7 kg/ha/年、T-Pが1.2 g/ha/年であった。流出水量が2,460 m<sup>3</sup>/ha/年と小さく汚濁負荷量が小さかった。他の一筆の水田の事例と比較してT-N及びT-P負荷量が小さく、主な要因は水量が小さいことであった。

#### 文 献

- 1) 岡山県：平成26年度指定湖沼汚濁負荷量削減状況調査報告書，2015
- 2) 島弘志編：工場排水試験法 JIS-K0102，日本規格協会，東京，2010
- 3) 笹田康子，石原暁，岡井隆：水田からの汚濁負荷の流出特性，香川県環境保健研究センター所報，3，49-57，2004
- 4) 中国四国農政局農村計画部資源課：湖沼流域水環境保全手法確立調査(笹ヶ瀬川流域地区・児島湖直接流域地区)平成19年度調査計画と実施状況，55-65，2008
- 5) 中国四国農政局農村計画部資源課：湖沼流域水環境保全手法確立調査(笹ヶ瀬川流域・児島湖直接流域地区)平成18年度調査結果報告書，69-88，2007
- 6) 宇土顯彦，竺文彦，大久保卓也，中村正久：灌漑期の水田における水量収支と栄養収支，水環境学会誌，23(5)，298-304，2000
- 7) 大久保卓也，佐藤祐一，東善広：栄養塩濃度の高い用水を反復利用する水田群での窒素・リンの動態，水環境学会誌，37(5)，177-187，2014
- 8) 大久保卓也，佐藤祐一，東善広：灌漑期における降雨時を含めた水田群からの排出汚濁負荷量，水環境学会誌，37(6)，229-237，2014
- 9) 武田育郎，国松孝男，小林慎太郎，丸山利輔：水系における水田群からの汚濁物質の収支と流出負荷量 - 水田群からの汚濁負荷流出に関する研究(Ⅱ) -，農業土木学会論文集，153，63-72，1991
- 10) 近藤正，三沢真一，豊田勝：北陸地方の沖積低平地水田におけるN，P負荷量の流出特性 - 新潟平野での測定結果とその特徴 -，農業土木学会論文集，159，17-27，1992
- 11) 岡山県：平成26年度指定湖沼汚濁負荷量削減状況調査報告書，100-130，2015
- 12) 社団法人日本水環境学会：非特定汚染源からの流出負荷量の推計手法に関する研究，12-15，2012
- 13) 白谷栄作，吉永育生，馮延文，人見忠良：代替法による農地の窒素除去/付加機能の経済評価の試み，水環境学会誌，27(7)，491-494，2004

【資 料】

## 児島湖底泥のユスリカ幼虫の出現状況に関する調査(2)

Study on *Chironomidae* in Sediment of Lake Kojima (2)

藤田和男, 金子英史, 中野拓也, 山本 淳(水質科)

Kazuo Fujita, Hidefumi Kaneko, Takuya Nakano, Jun Yamamoto (Water Section)

### 要 旨

平成 22～23 年度に児島湖内の 22 地点, 平成 25～26 年度に児島湖内の 3 地点において底泥中のユスリカ幼虫個体数及び底泥の組成を調査した。ユスリカ幼虫個体数は夏期に多く冬期に少なく, 笹ヶ瀬川河口部, 倉敷川河口部及び湖南部で多かった。また笹ヶ瀬川河口部, 倉敷川河口部及び湖南部でシルトの割合が高かった。平成 25～26 年度の調査結果においてユスリカ幼虫個体数の平均値は笹ヶ瀬川河口で 406 個体/m<sup>2</sup>, 倉敷川河口で 609 個体/m<sup>2</sup>, 湖南で 1,109 個体/m<sup>2</sup>であった。ユスリカ幼虫個体数の年平均値が 1,000 個/m<sup>2</sup>以上の地点はシルトの割合が 50% 以上と高かった。

[キーワード: ユスリカ, 児島湖]

[Key words: *Chironomidae*, Lake Kojima]

### 1 はじめに

児島湖においてユスリカの大量発生が, 住宅内への侵入や洗濯物への付着など地域における生活環境の問題となっている。児島湖では締切り工事完成(昭和 32 年 2 月)直後からユスリカの大発生(昭和 32 年 5 月, オオユスリカ)が記録されている。その後, 昭和 60 年 10 月下旬～11 月下旬頃に再び大発生し, このときの被害は主にアカムシユスリカによるものでオオユスリカは確認されなかったといわれている。ユスリカによる被害は一般に不快害虫(外壁・洗濯物, 商店の商品への付着等)としてのものであるが, 一方で, 底泥に蓄積された有機物を羽化により系外に取り出す浄化作用があること, また生態系においては, 魚などの高次捕食者の餌となっている<sup>1)</sup>と考えられる。これらの側面から, ユスリカへの対策を検討するためにユスリカの実態を知りその影響を考察することが必要と思われる。しかしながら児島湖におけるユスリカ幼虫の分布は一部での調査を除き明らかになっていない。

本調査はユスリカ幼虫および生息環境の知見を得, 不快害虫であるユスリカ対策を検討する際の一助とすること, 及び生態系内の物質循環の面からの考察につなげることを目的とする。児島湖内におけるユスリカ幼虫の面的な分布状況, 及び時間的な増減等の実態把握のため,

湖内の 22 地点で平成 22 年度に底泥中のユスリカ幼虫個体数を調査し, この結果ユスリカ幼虫個体数が多かった 3 地点(笹ヶ瀬川河口部, 倉敷川河口部, 湖南部)について平成 25 年度以降継続調査を行った。また底泥の有機物の分解が進み酸素濃度の低下や硫化物の生成<sup>2) 3)</sup>による底質の悪化に伴い多くの生物が棲息困難となるが, ユスリカ, 特にアカムシユスリカは棲息可能であり有機物含有量の高い泥質の湖底に高密度に棲息する<sup>4)</sup>ことから, 底質との関係を検討し, これらの結果をとりまとめ

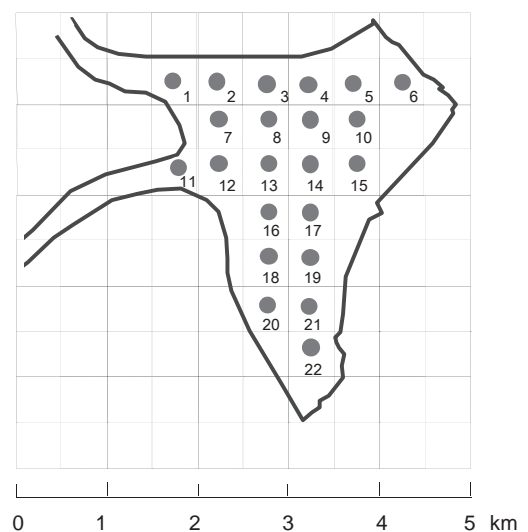


図 1 調査地点

たので、報告する。

## 2 材料及び方法

### 2.1 調査時期及び地点

平成 22 年度に 4 回(5 月, 8 月, 11 月, 2 月)及び平成 23 年度に 6 回(5 月, 7 月, 9 月, 11 月, 1 月, 3 月)図 1 に示す児島湖の 22 地点で調査(以下「採泥調査」という。)を行った。また, 平成 25 年度に 9 回(7 月～3 月まで月 1 回), 平成 26 年度に 12 回(月 1 回), 笹ヶ瀬川河口(地点 1), 倉敷川河口(地点 11), 湖南(地点 19)の 3 地点で

採泥調査を行った。

### 2.2 調査方法

底泥の採取はエックマンバージ式採泥器(15cm × 15cm)により行った。その際, 水温及び泥温を測定した。採取した検体は 6℃で冷蔵し, 順次ふるい(口径 1mm 及び 0.5mm の 2 段階)でろ過し, ユスリカ幼虫の個体数を計測した。底泥の組成(COD, 強熱減量)は, 底質調査法<sup>5)</sup>に準じて測定した。また, 粒径はレーザ回折式粒子径分布測定装置(島津製作所製 SALD-3100)で測定した。

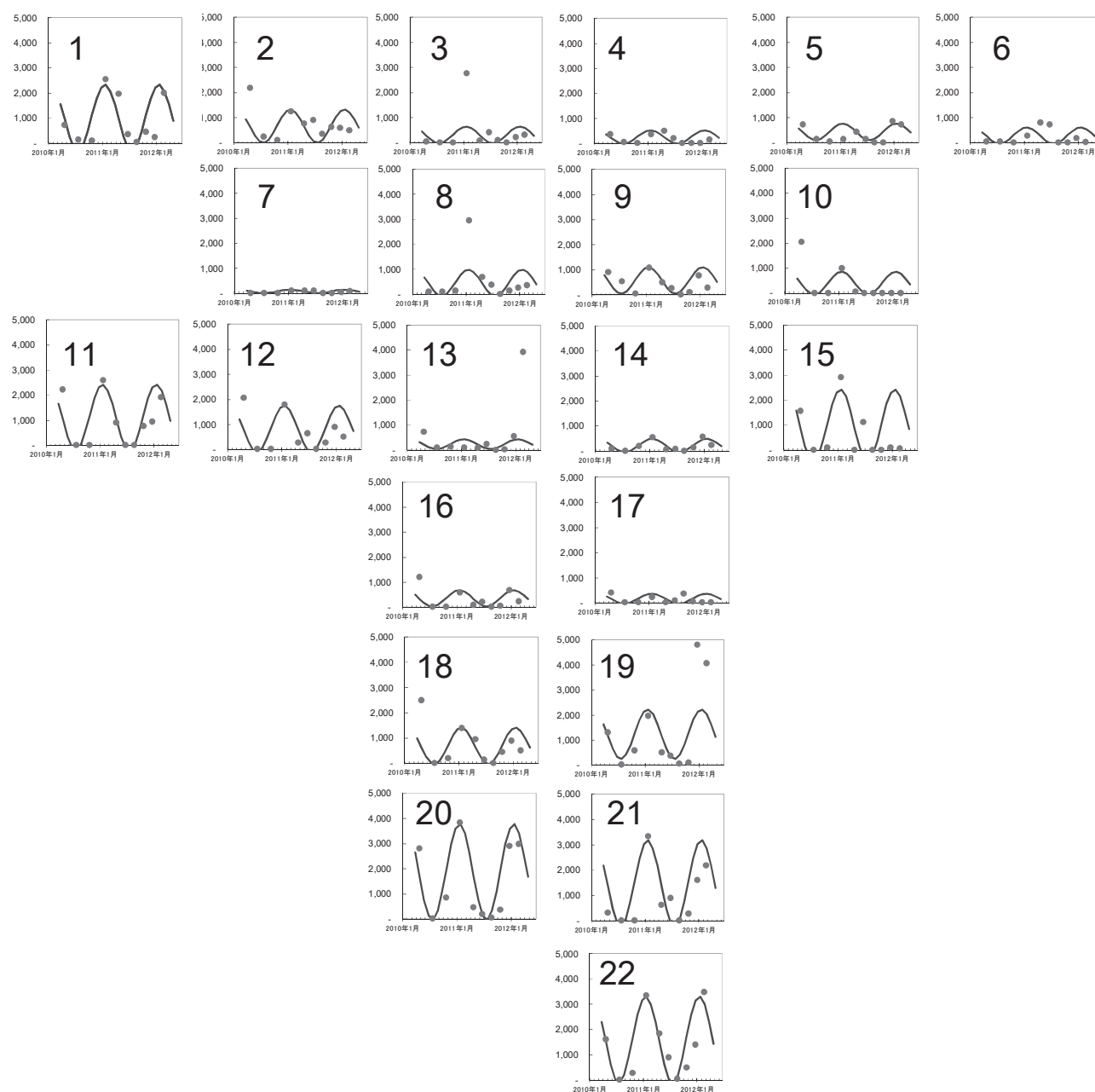


図 2 ユスリカ幼虫個体数(22 地点, 平成 22～23 年度)



### 3 結果及び考察

#### 3.1 ユスリカ幼虫個体数

##### 3.1.1 平成 22 ～ 23 年度調査結果

採泥調査におけるユスリカ幼虫個体数の結果を図 2 及び図 3 に示す。平成 22 ～ 23 年度の湖内 22 地点の調査(図 2)ではユスリカ幼虫は湖の概ね全域に棲息し、個体数は冬期に多く夏期に少ない周期的なパターンが示された。この理由は春期から秋期にかけての泥温の高い時期に幼虫が羽化し成虫となり、泥中の幼虫個体数が減少し、その後産卵された卵が泥中に入り冬期に幼虫まで成長するためではないかと推測された。全地点の平均値は 776 個体/m<sup>2</sup>であったが、地点によって幼虫個体数は異なり、多い地点は笹ヶ瀬川河口部、倉敷川河口部、湖南部の 3 箇所であり、ユスリカ幼虫個体数の平均値は笹ヶ瀬川河口(地点 1)で 711 個体/m<sup>2</sup>、倉敷川河口(地点 11)で 929 個体/m<sup>2</sup>、湖南(地点 19)で 1,364 個体/m<sup>2</sup>であった。

##### 3.1.2 平成 25 ～ 26 年度調査結果

平成 25 ～ 26 年度の調査結果(図 3)においては幼虫個体数の平均値は笹ヶ瀬川河口(地点 1)で 406 個体/m<sup>2</sup>、倉敷川河口(地点 11)で 609 個体/m<sup>2</sup>、湖南(地点 19)で 1,109 個体/m<sup>2</sup>であった。また最大値は笹ヶ瀬川河口(地点 1)で 1,867 個体/m<sup>2</sup>(6 月)、倉敷川河口(地点 11)で 3,244 個体/m<sup>2</sup>(2 月)、湖南(地点 19)で 4,756 個体/m<sup>2</sup>(2 月)であった。

平成 25 ～ 26 年度は平成 22 ～ 23 年度と比較すると笹ヶ瀬川河口(地点 1)で 0.6 倍、倉敷川河口(地点 11)で 0.7 倍、湖南(地点 19)で 0.8 倍となっており全て減少が見られたが、特に笹ヶ瀬川河口(地点 1)で減少傾向が強かった。幼虫個体数の低減の要因として長期的には富栄養化の改善による減少、短期的には種内競争(ある世代の個体密度が増加すると次の世代では利用可能な資源量が低下し個体密度が減少)、種間競争(魚類による捕食)<sup>6)</sup>が考え

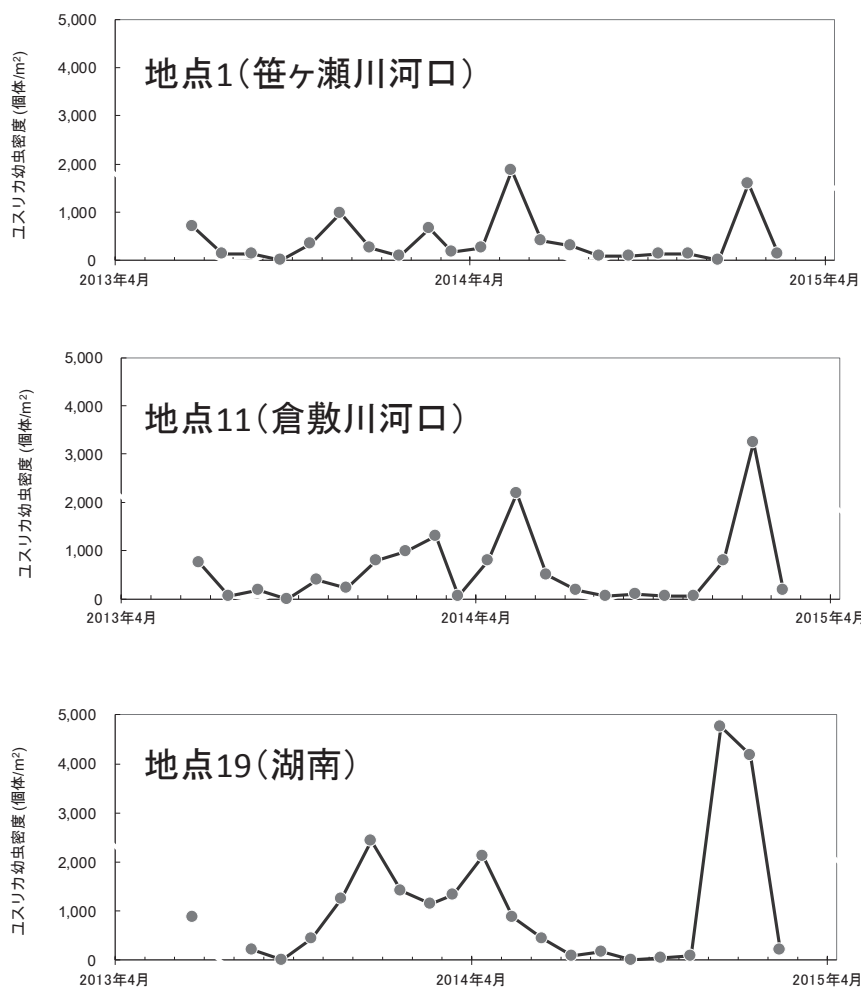


図 3 ユスリカ幼虫個体数(3 地点, 平成 25 ～ 26 年度継続調査)  
地点 1 (笹ヶ瀬川河口), 地点 11 (倉敷川河口) 及び地点 19 (湖南)

られるものの要因の定量的な解明には至っていないが、この3地点での変遷については引き続き幼虫個体数の変遷を調査していく予定である。

### 3.2 底質

ユスリカの生息環境となる底泥の粒度組成の分布を図4に示す。3分類(砂:62.5 $\mu$ m以上, シルト:3.9~62.5 $\mu$ m, 粘土:3.9 $\mu$ m以下)での中程度の大きさ(粒径)であるシルトの割合が、笹ヶ瀬川河口部、倉敷川河

口部及び湖南部で大きく、ユスリカ幼虫個体数の大きい領域と同様の傾向であった。

各成分とユスリカ幼虫個体数との関係(図5)は、含泥率の増加に伴いユスリカ幼虫個体数が増加(相関係数17%)し、逆に砂の増加に伴いユスリカ幼虫個体数が減少した(相関係数41%)。泥成分では、シルトの増加に伴いユスリカ幼虫個体数が増加した(相関係数45%)が、粘土の増加に伴いユスリカ幼虫個体数が減少した(相関

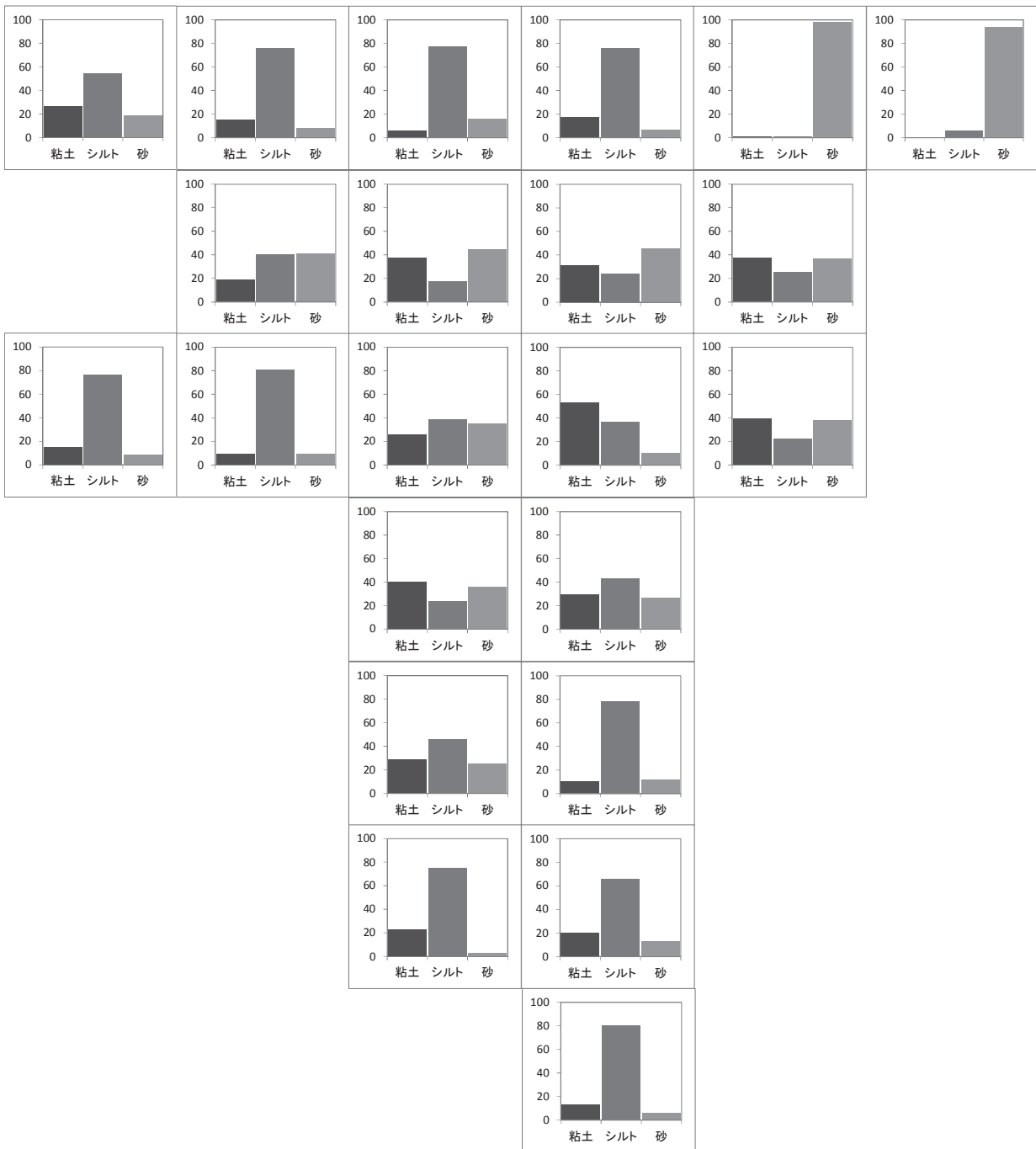


図4 粒度組成

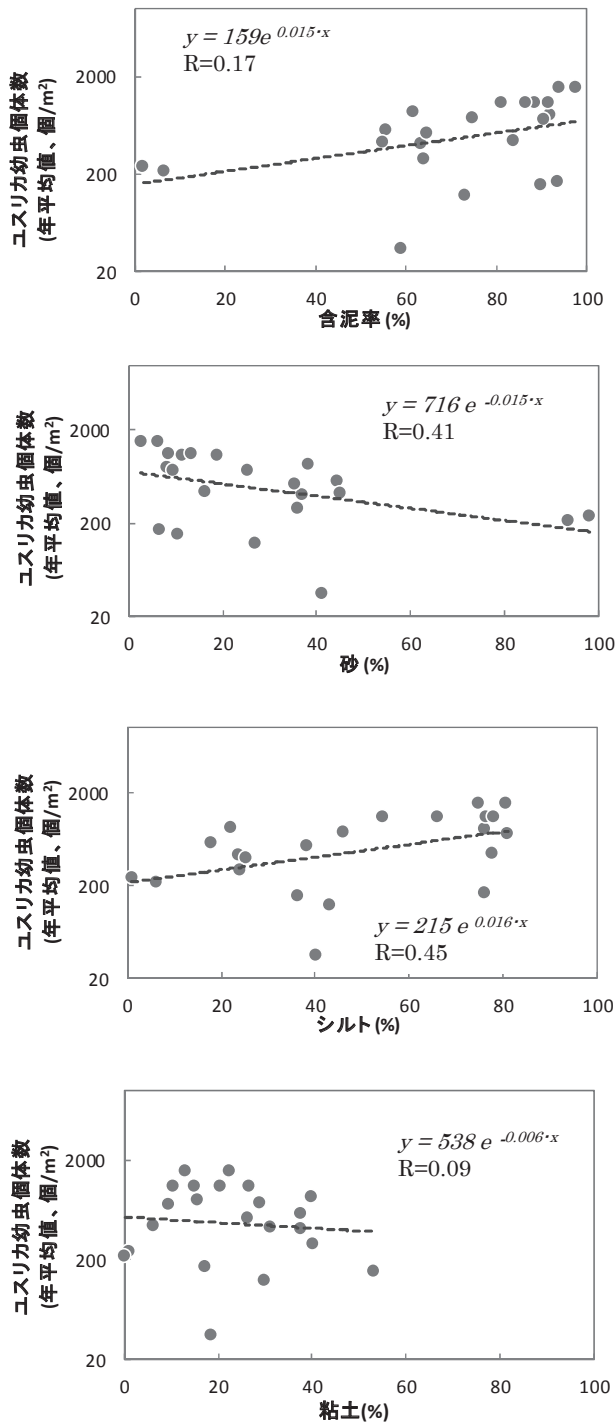


図5 粒度組成とユスリカ幼虫個体数

係数9%)。底泥のCOD及び強熱減量を図6に示す。これらの値もまた笹ヶ瀬川河口部、倉敷川河口部及び湖南部で高く、COD及び強熱減量は有機物に関連すると考えられることから、泥中のシルトの由来として水中の有機物が考えられた。

平成22～23年度の22地点の平均値は776個体/m<sup>2</sup>、平成25～26年度の3地点の平均値は708個体/m<sup>2</sup>であっ

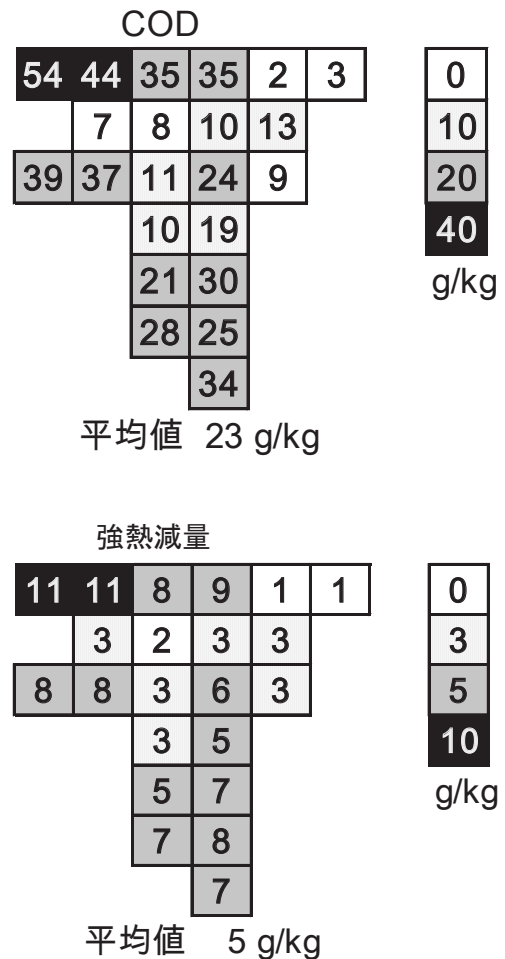


図6 底泥のCOD及び強熱減量

た。過去のデータと比較すると、昭和62～63年度に4地点(笹ヶ瀬川河口、倉敷川河口、湖心、湖南)で8回実施した調査では平均値791個体/m<sup>2</sup>(笹ヶ瀬川河口441個体/m<sup>2</sup>、倉敷川河口1531個体/m<sup>2</sup>、湖心719個体/m<sup>2</sup>、湖南474個体/m<sup>2</sup>)<sup>7)</sup>であった。他の湖(河口湖、霞ヶ浦、諏訪湖、琵琶湖及び木崎湖)のユスリカ幼虫個体数の報告値は数100から最大数1,000個体/m<sup>2</sup>程度の値<sup>8)</sup>であり、児島湖は同様の値と考えられた。ユスリカ幼虫は琵琶湖や諏訪湖においては有機物含量の高い泥質の湖底に高密度に棲息すること、手賀沼のようにさらに過栄養な湖では有機物の分解に伴い湖底が無酸素状態となり幼虫密度は激減する<sup>4)</sup>ことが知られている。ユスリカ幼虫は児島湖全域で棲息しており、その分布状況は有機物(COD)やシルトの多い河口部や湖南部で生息密度が高かった。このことから児島湖では河口部や湖南部で底質に有機物の蓄積があり、底質の改善がユスリカ幼虫個体数の低減につながる可能性が考えられた。

#### 4 まとめ

平成 22～26 年度に児島湖底泥のユスリカ幼虫個体数及び底質を調査した。結果は次のとおりである。

平成 25～26 年度の調査結果ユスリカ幼虫個体数の平均値は笹ヶ瀬川河口で 406 個体/m<sup>2</sup>、倉敷川河口で 609 個体/m<sup>2</sup>、湖南 19 で 1,109 個体/m<sup>2</sup>であった。

ユスリカ幼虫個体数が多い地点ではシルトの割合が大きく、砂が少ない傾向があった。また粘土は 20% を超えるとユスリカ幼虫個体数が少なくなる傾向が見られた。

シルトの多い場所では COD の割合が高く、シルトの由来として水中の有機物が考えられた。

#### 文 献

- 1) 近藤繁生, 平林公男, 岩熊敏夫, 上野隆平編: ユスリカの世界, 74-75, 培風館, 東京, 2001
- 2) 瀬戸内海環境保全協会: 瀬戸内海環境情報基本調査 - 播磨灘・燧灘 - (解析編), 15, 1983
- 3) 奥畑博史, 杉野伸義, 宮坂均, 森川博代, 竹野健次, 佐々木健: ビタミン類添加による底泥の有機質の浄化, 環境技術, 40, 12, 737-743, 2011
- 4) 近藤繁生等, 前掲, 8-9
- 5) 環境省水・大気環境局編: 底質調査法, 2012
- 6) 近藤繁生等, 前掲, 10-11
- 7) 岡山県: 平成 7 年版児島湖環境白書, 17-18, 1995
- 8) 藤田和男, 難波勉, 難波あゆみ, 鷹野洋, 板谷勉: 児島湖底泥のユスリカ調査, 岡山県環境保健センター年報, 36, 57-60, 2012

【資 料】

# 岡山県内における環境放射能バックグラウンド調査(第3報)

## Survey of Environmental Radiation Background Level in Okayama Prefecture(3)

畑 陽介, 清水光郎, 木下浩行, 片岡敏夫, 小川 登(放射能科)

Yousuke Hata, Mitsuo Shimizu, Hiroyuki Kinoshita, Toshio Kataoka, Noboru Ogawa  
(Environmental Radiation Section)

### 要 旨

国立研究開発法人日本原子力研究開発機構人形峠環境技術センター周辺の環境放射線等測定結果を補完することを目的として、岡山県内の環境放射能のバックグラウンドレベルを調査したところ、平成 26 年度の測定結果は平成 24, 25 年度の測定結果と同レベルであり、環境放射線等のレベルに大きな変化は認められなかった。サーベイメータ法による空間 $\gamma$ 線線量率については平成 3 年度～平成 8 年度に当センターが実施した調査結果の範囲内であった。空間 $\gamma$ 線線量率及び河川水中の放射性核種等の濃度については 3 年間の調査結果からバックグラウンドレベルの把握ができたと考えられるが、土壌については採取場所を変更した調査地点があるため、平成 27 年度に追加調査を行う。

[キーワード：環境放射能, バックグラウンド, 原子力事故]

[Key words : Environmental Radiation, Background, Nuclear Accident]

### 1 はじめに

岡山県では国立研究開発法人日本原子力研究開発機構人形峠環境技術センター(以下「人形峠センター」という。)周辺の環境放射線等の監視測定を昭和 54 年以降継続して行っているが、東京電力(株)福島第一原子力発電所(以下「福島第一原発」という。)の事故を契機として、原子力施設からの放射性物質または放射線による周辺環境への影響の適切な評価に資する観点から、平常時における環境放射能レベルを把握しておくことが重要となっている。福島第一原発事故後、環境放射能水準調査(原子力規制庁委託)においてモニタリングが強化されているが、岡山県においては福島第一原発事故の影響は認められていない。

そこで、人形峠センター周辺の環境放射線等測定結果の評価を補完することを目的として、平成 24, 25 年度の調査<sup>1), 2)</sup>に引き続き平成 26 年度においても、県内の環境放射線等のバックグラウンドレベルを把握するため、調査を実施したので報告する。

### 2 調査内容

岡山県を図 1 に示すように 16 メッシュに区切り、このうち当センターが人形峠センター周辺の環境放射線等の監視測定を行っている地域を含め 4 つのメッシュを除く、12 メッシュを対象とし、表 1 に示す各メッシュ内

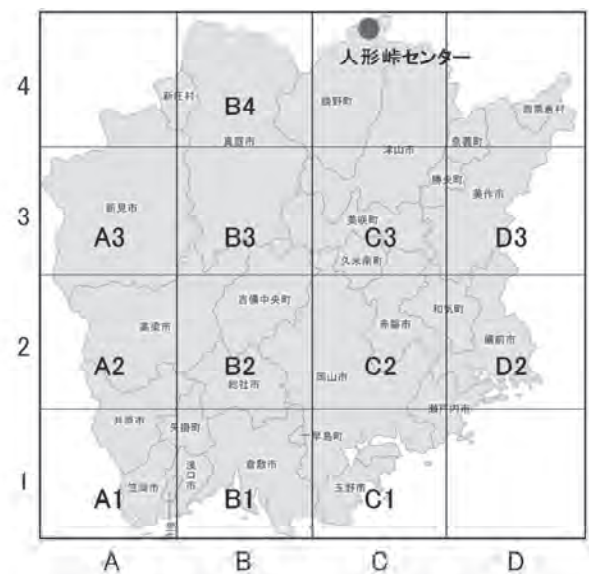


図 1 県内メッシュ調査図

表 1 調査地点一覧

測定エリア	空間γ線線量率, 土壌調査地点		河川水調査地点	
A1	笠岡市	岡山県笠岡地域事務所内	里見川	鴨方川合流点付近
A2	高梁市	岡山県高梁地域事務所内	高梁川中流	中井橋付近
A3	新見市	岡山県新見地域事務所内	高梁川上流	一中橋付近
B1	倉敷市	岡山県備中県民局内	小田川下流	福松橋付近
B2	吉備中央町	岡山県農林水産総合センター生物科学研究所内	宇甘川	箕地橋付近
B3	真庭市	岡山県真庭地域事務所内	新庄川	大久奈橋付近
B4	真庭市	岡山県農林水産総合センター農業研究所高冷地研究室内	旭川上流	野田橋付近
C1	岡山市	岡山県環境保健センター内	倉敷川	倉敷川橋付近
C2	岡山市	岡山県備前県民局内	旭川下流	桜橋付近
C3	津山市	岡山県美作県民局内	吉井川上流	嵯峨堰付近
D2	和気町	岡山県東備地域事務所内	金剛川	宮橋付近
D3	美作市	岡山県勝英地域事務所内	滝川	三星橋付近

の地点において、サンプリング測定を行った。各調査対象メッシュにおける調査地点の選定では、河川水は岡山県が実施している公共用水域の水質測定の環境基準点<sup>3)</sup>から、その他の項目については長期にわたり周辺環境の変化が比較的少ないと考えられる公共施設から選定した。

測定項目は空間γ線線量率、土壌及び河川水中の放射性核種及びふっ素(以下「F」という。)濃度とした。空間γ線線量率は四半期毎、土壌及び河川水中の放射性核種及びF濃度は年1回の頻度で測定を行った。なお、試料の採取、前処理及び測定等については文部科学省放射能測定法シリーズに準拠して行った。

## 2.1 空間γ線線量率

### 2.1.1 積算線量計法

地上高1mに蛍光ガラス線量計を各地点に5個ずつ設置し、四半期毎に蛍光ガラス線量計測定装置(AGCテクノグラス株式会社製FGD-201)を用いて測定した。なお、5検体測定した平均値を測定値とした。

### 2.1.2 サーベイメータ法

四半期毎にNaIシンチレーション式サーベイメータ(日立アロカメディカル株式会社製TCS-171)を用い、地上高1mで測定した。なお、測定は時定数を30秒とし、90秒待ってから30秒毎に5回指示値を読み取り、平均値を測定値とした。

## 2.2 放射性核種及びふっ素濃度

河川水及び土壌(表土0~5cm)試料を採取し、それぞれの測定項目に応じて前処理及び試料調製等を行った。

ウラン238(以下「U-238」という。)測定については、土壌はα線波高分析装置(CANBERRA社製α-Analyst)を用い、河川水はICP-MS分析装置(サーモフィッシャー

サイエンティフィック株式会社製iCAPQc)を用いて測定した。

ラジウム226(以下「Ra-226」という。)測定については、2πガスフロー自動測定装置(日立アロカメディカル株式会社製LBC-4311-R及びLBC-4311-B)を用いて測定した。

ラドン222(以下「Rn-222」という。)測定については、液体シンチレーションカウンタによるラドンの放射能測定法<sup>4)</sup>に準じて行い、液体シンチレーションカウンタ(日立アロカメディカル株式会社製LSC-7400)を用いて測定した。

F測定については、Fイオン電極法(JIS K0101-1979)に準じて行い、Fイオンメーター(サーモエレクトロン社製920AQ)を用いて測定した。

セシウム134及びセシウム137(以下「Cs-134」及び「Cs-137」という。)測定については、ゲルマニウム半導体検出器(CANBERRA社製GC-1520/GR-3019)を用い、土壌はU-8容器に、河川水は直接2Lマリネリ容器に詰めてそれぞれ80,000秒測定した。

なお、放射線計測による測定結果については、計数誤差の3倍を超えた場合を有意値とし、それ以下の場合是不検出(ND)とした。

## 3 結果

### 3.1 空間γ線線量率

#### 3.1.1 積算線量計法

積算線量計法の測定結果を表2に示す。平成26年度の測定範囲は48~108nGy/hであり、平成24、25年度の測定結果と同様の傾向であった。

#### 3.1.2 サーベイメータ法

サーベイメータ法の測定結果を表3に示す。平成26

年度の測定範囲は30～98nGy/hであり、平成24、25年度の測定結果と同様の傾向であった。また、平成3年度～平成8年度に当センターが調査を行った県内の空間γ線線量率(29.9～167.8nGy/h)<sup>5)</sup>の範囲内であった。

### 3.2 放射性核種及びF濃度

#### 3.2.1 土壌

平成24、25年度の調査において、B4のCs-137の濃度が県内他地点と比較して高かったため、その原因について検討した。B4における土壌採取場所はブナ科植物の林の端に位置しており、過去の核実験由来の放射性セシウムが樹冠に吸収され落葉等により林床に至る循環を繰り返すことにより、林床の土壌上部にセシウムが蓄積しやすい状態となったのではないかと考えられた<sup>6)、7)</sup>。よって、メッシュを代表する採取場所として適切でないと考えられるため、B4については林から離れた場所の土壌を採取し、測定した。

土壌の各種測定項目濃度について、平成26年度の測定結果を表4に、平成24、25年度の測定結果を表5、6

に示す。平成26年度の測定結果について、U-238濃度は0.009～0.029Bq/g乾、Ra-226濃度は0.022～0.084Bq/g乾、F濃度は160～380mg/kg乾であった。Cs-134は全ての検体で検出されず、Cs-137濃度はND～7.4Bq/kg乾であった。また、土壌採取場所を変更したB4の測定結果はいずれも県内他地点と同レベルであった。B4を除いて平成24、25年度と同様の傾向であり、大きな変化は認められなかった。

#### 3.2.2 河川水

河川水の各種測定項目濃度について、平成26年度の測定結果を表7に、平成24、25年度の測定結果を表8、9に示す。平成26年度の測定結果について、全ての検体でU-238、Ra-226、Cs-134及びCs-137は検出されなかった。F濃度はND～0.24mg/L、Rn-222濃度はND～1.06Bq/Lであり、平成24、25年度と同様の傾向であり、大きな変化は認められなかった。また、F濃度は全ての地点において公共用水域の環境基準(0.8mg/L)を下回っており、県内の公共用水域の調査結果<sup>3)</sup>とほぼ

表2 積算線量計法による空間γ線線量率の測定結果(H26年度)

単位：nGy/h

測定エリア	第1四半期	第2四半期	第3四半期	第4四半期	H26年度 測定範囲	H25年度 測定範囲	H24年度 測定範囲
A1	108	106	102	107	102～108	102～107	101～109
A2	104	102	95	103	95～104	96～102	90～103
A3	75	72	68	74	68～75	69～77	68～71
B1	74	70	67	69	67～74	67～70	69～70
B2	99	98	91	95	91～99	89～96	90～96
B3	78	76	74	77	74～78	77～82	75～80
B4	54	52	49	48	48～54	48～53	46～52
C1	99	90	88	90	88～99	85～99	86～89
C2	94	93	90	90	90～94	82～96	85～89
C3	85	79	77	81	77～85	77～91	74～79
D2	87	84	78	81	78～87	78～96	76～80
D3	98	93	88	95	88～98	78～97	87～93

表3 サーベイメータ法による空間γ線線量率の測定結果(H26年度)

単位：nGy/h

測定エリア	第1四半期		第2四半期		第3四半期		第4四半期		H26年度 測定範囲	H25年度 測定範囲	H24年度 測定範囲
	測定年月日	線量率	測定年月日	線量率	測定年月日	線量率	測定年月日	線量率			
A1	H26.6.16	96	H26.9.17	98	H26.12.10	94	H27.3.17	98	94～98	92～96	86～96
A2	H26.6.18	86	H26.9.17	86	H26.12.10	80	H27.3.5	88	80～88	80～88	80～106
A3	H26.6.16	51	H26.9.25	51	H26.12.17	58	H27.3.18	53	51～58	49～54	44～50
B1	H26.6.16	61	H26.9.17	63	H26.12.10	55	H27.3.17	53	53～63	56～67	54～58
B2	H26.6.18	82	H26.9.17	84	H26.12.10	88	H27.3.5	84	82～88	76～86	74～100
B3	H26.6.12	61	H26.9.25	69	H26.12.15	68	H27.3.17	67	61～69	62～68	66～92
B4	H26.6.18	37	H26.9.17	33	H26.12.15	30	H27.3.5	37	30～37	30～53	22～36
C1	H26.6.17	86	H26.9.24	84	H26.12.11	78	H27.3.18	78	78～86	72～100	72～100
C2	H26.6.17	90	H26.9.18	75	H26.12.11	71	H27.3.6	71	71～90	72～82	70～84
C3	H26.6.12	67	H26.9.18	65	H26.12.17	70	H27.3.18	67	65～70	65～74	68～73
D2	H26.6.17	69	H26.9.18	67	H26.12.11	64	H27.3.6	63	63～69	62～64	65～70
D3	H26.6.12	75	H26.9.17	78	H26.12.11	74	H27.3.6	69	69～78	66～78	71～80

同等の結果であった。

#### 4 まとめ・今後の展開

平成26年度に実施した県内における環境放射能バックグラウンド調査結果は、平成24、25年度の測定結果と同様の傾向であり、環境放射線等のレベルに大きな変

化は認められなかった。空間γ線線量率(サーベイメータ法)については平成3年度～平成8年度に当センターが行った県内の調査結果の範囲内であった。

空間γ線線量率及び河川水の放射性核種濃度等については3年間の測定結果から県内の環境放射線等のバックグラウンドレベルを把握できたと考えられる。土壤の放

表4 土壤の放射性核種及びF濃度測定結果(H26年度)

測定エリア	採取年月日	U-238 (Bq/g乾)	Ra-226 (Bq/g乾)	F (mg/kg乾)	Cs-134 (Bq/kg乾)	Cs-137 (Bq/kg乾)
A1	H26.9.17	0.028±0.002	0.084±0.007	310	ND	ND
A2	H26.9.17	0.022±0.002	0.061±0.006	170	ND	1.1±0.2
A3	H26.9.25	0.016±0.001	0.051±0.005	160	ND	2.1±0.2
B1	H26.9.17	0.009±0.001	0.022±0.003	200	ND	2.4±0.2
B2	H26.9.17	0.029±0.002	0.073±0.006	220	ND	ND
B3	H26.8.12	0.023±0.002	0.043±0.005	200	ND	1.6±0.3
B4	H26.8.12	0.018±0.001	0.034±0.003	210	ND	7.4±0.4
C1	H26.9.24	0.025±0.002	0.060±0.006	260	ND	ND
C2	H26.9.18	0.017±0.001	0.047±0.005	380	ND	ND
C3	H26.9.18	0.019±0.001	0.034±0.004	230	ND	4.0±0.3
D2	H26.9.18	0.010±0.001	0.035±0.004	310	ND	1.0±0.2
D3	H26.9.18	0.016±0.001	0.043±0.005	180	ND	1.2±0.2

ND:不検出の略(計数誤差の3倍未満)

表5 土壤の放射性核種及びF濃度測定結果(H24年度)

測定エリア	採取年月日	U-238 (Bq/g乾)	Ra-226 (Bq/g乾)	F (mg/kg乾)	Cs-134 (Bq/kg乾)	Cs-137 (Bq/kg乾)
A1	H24.8.27	0.028±0.002	0.074±0.009	310	ND	ND
A2	H24.8.29	0.029±0.002	0.052±0.006	230	ND	2.2±0.3
A3	H24.8.27	0.016±0.001	0.034±0.004	180	ND	5.9±0.4
B1	H24.8.27	0.009±0.001	0.027±0.004	210	ND	2.6±0.3
B2	H24.8.29	0.036±0.002	0.078±0.009	280	ND	ND
B3	H24.8.29	0.024±0.002	0.044±0.005	290	ND	3.0±0.3
B4	H24.8.29	0.008±0.001	0.024±0.003	150	ND	54 ±1
C1	H24.8.28	0.029±0.002	0.056±0.007	300	ND	ND
C2	H24.8.29	0.017±0.001	0.027±0.004	310	ND	1.9±0.2
C3	H24.8.27	0.013±0.001	0.031±0.004	200	ND	4.8±0.4
D2	H24.8.29	0.008±0.001	0.029±0.004	290	ND	1.8±0.2
D3	H24.8.28	0.013±0.001	0.036±0.005	200	ND	1.2±0.2

ND:不検出の略(計数誤差の3倍未満)

表6 土壤の放射性核種及びF濃度測定結果(H25年度)

測定エリア	採取年月日	U-238 (Bq/g乾)	Ra-226 (Bq/g乾)	F (mg/kg乾)	Cs-134 (Bq/kg乾)	Cs-137 (Bq/kg乾)
A1	H25.6.24	0.041±0.003	0.090±0.006	360	ND	ND
A2	H25.6.25	0.029±0.002	0.059±0.005	210	ND	2.1±0.2
A3	H25.6.24	0.041±0.003	0.046±0.004	170	ND	2.7±0.2
B1	H25.6.24	0.010±0.001	0.030±0.003	220	ND	3.1±0.2
B2	H25.6.25	0.043±0.003	0.058±0.004	180	ND	ND
B3	H25.6.27	0.024±0.002	0.037±0.003	290	ND	2.4±0.2
B4	H25.6.25	0.010±0.001	0.018±0.003	150	ND	60 ±1
C1	H25.6.24	0.033±0.003	0.073±0.005	260	ND	ND
C2	H25.6.27	0.017±0.001	0.026±0.003	300	ND	1.9±0.2
C3	H25.6.27	0.020±0.001	0.033±0.003	230	ND	5.2±0.3
D2	H25.6.27	0.011±0.001	0.022±0.003	280	ND	1.1±0.2
D3	H25.6.27	0.020±0.002	0.038±0.003	200	ND	2.1±0.2

ND:不検出の略(計数誤差の3倍未満)

表4, 5, 6のCs-137の測定結果については、測定精度を考慮し有効数字2桁で表記した。



放射性核種濃度についても3年間の測定結果から同様にバックグラウンドレベルを把握できたと考えられるが、B4では採取場所を変更したため、平成27年度に追加調査をした上で、3年間の調査結果全体のとりまとめを行

う。

また、今後は指標植物であるヨモギを調査対象として、県内の生物質中の放射性物質等のバックグラウンドレベルの把握を行いたいと考えている。

表7 河川水の放射性核種及びF濃度測定結果(H26年度)

測定エリア	採取年月日	U-238 (mBq/cm <sup>3</sup> )	Ra-226 (10 <sup>-2</sup> mBq/cm <sup>3</sup> )	F (mg/L)	Rn-222 (Bq/L)	Cs-134 (Bq/L)	Cs-137 (Bq/L)
A1	H26.9.8	ND	ND	0.24	0.06±0.01	ND	ND
A2	H26.9.8	ND	ND	0.05	0.05±0.01	ND	ND
A3	H26.9.8	ND	ND	0.06	ND	ND	ND
B1	H26.9.8	ND	ND	0.13	ND	ND	ND
B2	H26.8.21	ND	ND	0.16	0.40±0.03	ND	ND
B3	H26.8.12	ND	ND	0.05	0.21±0.02	ND	ND
B4	H26.8.12	ND	ND	ND	0.21±0.02	ND	ND
C1	H26.8.21	ND	ND	0.19	0.08±0.02	ND	ND
C2	H26.8.21	ND	ND	0.07	0.19±0.02	ND	ND
C3	H26.8.21	ND	ND	ND	0.09±0.02	ND	ND
D2	H26.8.21	ND	ND	0.08	1.06±0.06	ND	ND
D3	H26.8.21	ND	ND	0.05	0.15±0.02	ND	ND

ND:不検出の略(U-238:<0.003,F:<0.05,その他:計数誤差の3倍未満)

表8 河川水の放射性核種及びF濃度測定結果(H24年度)

測定エリア	採取年月日	U-238 (mBq/cm <sup>3</sup> )	Ra-226 (10 <sup>-2</sup> mBq/cm <sup>3</sup> )	F (mg/L)	Rn-222 (Bq/L)	Cs-134 (Bq/L)	Cs-137 (Bq/L)
A1	H24.8.27	ND	ND	0.30	0.05±0.01	ND	ND
A2	H24.8.29	ND	ND	ND	ND	ND	ND
A3	H24.8.27	ND	ND	0.06	0.14±0.02	ND	ND
B1	H24.8.27	ND	ND	0.27	0.40±0.03	ND	ND
B2	H24.8.29	ND	ND	0.27	1.26±0.06	ND	ND
B3	H24.8.27	ND	ND	0.07	0.28±0.03	ND	ND
B4	H24.8.29	ND	ND	ND	0.25±0.03	ND	ND
C1	H24.8.28	ND	ND	0.18	ND	ND	ND
C2	H24.8.28	ND	ND	0.15	ND	ND	ND
C3	H24.8.27	ND	ND	ND	0.07±0.02	ND	ND
D2	H24.8.27	ND	ND	0.11	9.61±0.16	ND	ND
D3	H24.8.28	ND	ND	0.09	0.19±0.02	ND	ND

ND:不検出の略(U-238:<0.003,F:<0.05,その他:計数誤差の3倍未満)

表9 河川水の放射性核種及びF濃度測定結果(H25年度)

測定エリア	採取年月日	U-238 (mBq/cm <sup>3</sup> )	Ra-226 (10 <sup>-2</sup> mBq/cm <sup>3</sup> )	F (mg/L)	Rn-222 (Bq/L)	Cs-134 (Bq/L)	Cs-137 (Bq/L)
A1	H25.7.18	ND	ND	0.30	0.13±0.02	ND	ND
A2	H25.7.18	ND	ND	ND	0.14±0.02	ND	ND
A3	H25.7.18	ND	ND	0.05	0.07±0.01	ND	ND
B1	H25.7.18	ND	ND	0.17	0.15±0.02	ND	ND
B2	H25.7.22	ND	ND	0.19	0.86±0.05	ND	ND
B3	H25.7.24	ND	ND	ND	0.37±0.03	ND	ND
B4	H25.7.24	ND	ND	ND	0.34±0.03	ND	ND
C1	H25.7.18	ND	ND	0.11	0.13±0.02	ND	ND
C2	H25.7.24	ND	ND	0.10	0.23±0.02	ND	ND
C3	H25.7.23	ND	ND	ND	0.16±0.02	ND	ND
D2	H25.7.30	ND	ND	0.09	2.57±0.08	ND	ND
D3	H25.7.30	ND	ND	ND	0.20±0.02	ND	ND

ND:不検出の略(U-238:<0.003,F:<0.05,その他:計数誤差の3倍未満)

## 文 献

- 1) 森上嘉亮, 畑陽介, 清水光郎, 片岡敏夫, 小川登 : 岡山県内における環境放射能バックグラウンド調査, 岡山県環境保健センター年報, 37, 65-68, 2013
- 2) 森上嘉亮, 畑陽介, 清水光郎, 片岡敏夫, 小川登 : 岡山県内における環境放射能バックグラウンド調査 (第2報), 岡山県環境保健センター年報, 38, 29-33, 2014
- 3) 岡山県 : “公共用水域及び地下水の常時監視”, <http://www.pref.okayama.jp/page/detail-28503.html>
- 4) 野口正安 : 液体シンチレーションカウンタによる Radon の放射能測定, Radioisotopes, 13, (5), 362-367, 1964
- 5) 杉山広和, 道広憲秀, 清水光郎, 片岡敏夫, 柚木英二 : 岡山県における空間 $\gamma$ 線量率調査, 岡山県環境保健センター年報, 20, 49-53, 1996
- 6) IAEA : Environmental Consequences of the Chernobyl Accident and their Remediation: Twenty Years of Experience. Report of the Chernobyl forum experts group ‘Environment’, Radiological Assessment Reports Series, 2006
- 7) 古米弘明 : 流域に沈着した放射性物質の移動と消長に関する文献調査及び知見整理, 平成24年度環境省環境総合推進費報告書

【資 料】

## 鏡野町上齋原夜次地区における杉の樹葉中 Ra-226 濃度の個体差調査, 及び樹葉中放射能濃度等の地域差について

A study of individual difference of Ra-226 concentration in cedar leaves at Yotsugi district, Kamisaibara, Kagamino-cho, and regional difference of radioactive concentration in cedar leaves

畑 陽介, 清水光郎, 木下浩行, 片岡敏夫, 小川 登(放射能科)

Yousuke Hata, Mitsuo Shimizu, Hiroyuki Kinoshita, Toshio Kataoka, Noboru Ogawa  
(Environmental Radiation Section)

### 要 旨

岡山県では、国立研究開発法人日本原子力研究開発機構人形峠環境技術センター（以下「人形峠センター」という。）施設周辺の環境放射線等監視測定（以下「監視測定」という。）を行っているが、夜次地区において平成 25 年度に採取した杉の樹葉中 Ra-226 が過去 20 年間の測定範囲を超える値であったため、その要因について調査を行った。その結果、同一地区に生育する杉の樹葉中 Ra-226 濃度に約 1.4 倍の濃度差が確認され、杉の個体差が要因である可能性が高いと考えられた。また、幹囲と Ra-226 濃度の間に相関は認められなかった。さらに、人形峠センター施設周辺の各地区における樹葉中 Ra-226、U-238 及びふっ素濃度の平成 7～25 年度の測定結果をとりまとめたところ、Ra-226 濃度は U-238 及びふっ素濃度に比べて地域差が大きい傾向が認められた。

[キーワード：Ra-226, 杉, 樹葉, ばらつき]

[Key words : Ra-226, Cedar, Leaves, Dispersion]

### 1 はじめに

当センターでは、苫田郡鏡野町上齋原に立地している人形峠センター施設周辺の監視測定において、杉の樹葉中 Ra-226、U-238 及びふっ素濃度の測定を行っている。平成 25 年度に夜次地区で採取した杉の樹葉中 Ra-226 濃度が  $1.58 \pm 0.11\text{Bq/kg}$  生であり、過去 20 年間(平成 5～24 年度)の測定範囲を超える値であったため、その要因について調査を行った。また、人形峠センター及び当センターは図 1 に示す人形峠センター施設周辺の各地区において杉の樹葉中放射能濃度等の測定を行っており、平成 7～25 年度の測定結果をとりまとめたので併せて報告する。

### 2 調査方法

#### 2.1 夜次地区における樹葉中 Ra-226 濃度の個体差調査

監視測定において樹葉を採取、測定している苫田郡鏡野町上齋原の夜次地区に生育する 7 本の杉を対象として、樹高、1m 高さにおける幹囲、樹木間距離及び樹葉

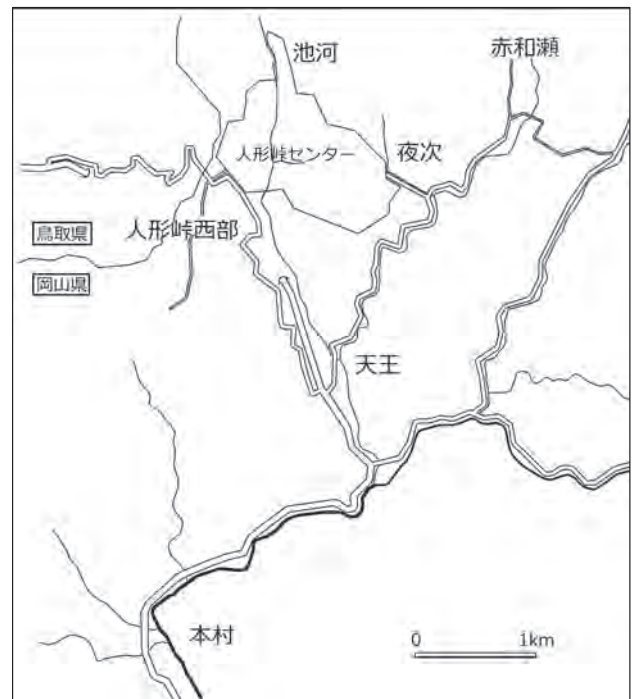


図 1 人形峠センター施設周辺地図

中 Ra-226 濃度を調査した。調査地点の概略図を図 2 に示す。樹葉の採取地点は人形峠センターの敷地境界から約 50m 東側に位置している。監視測定では毎年 6 月及び 11 月に樹葉を採取しており、本調査においては平成 26 年 6 月 3 日に採取した。また、樹葉の採取部位は樹冠下部とした。

樹高の測定は三角測量法により行い、試料の前処理及び Ra-226 濃度分析は文部科学省放射能測定法シリーズ 16「環境試料採取法」(昭和 58 年)及び同 19「ラジウム分析法」(平成 2 年)の硫酸バリウム共沈法(A 法)に準拠して行い、窓なし 2π ガスフロー自動測定装置(Aloka 製 LBC-4311-R 型)を用いて測定した。また、各検体について 3 回ずつ分析を行った。

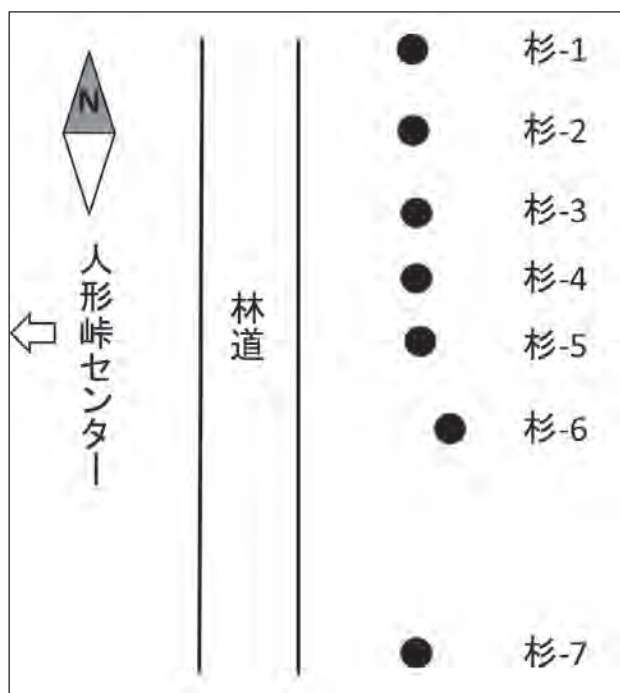


図 2 夜次地区概略図

## 2.2 樹葉中 Ra-226 濃度の統計処理による評価

環境試料中の放射能の測定結果は、試料の採取方法や気象、地理等の自然条件の変化等によって変動する。測定条件等がよく管理され、原子力施設が平常運転を続けている限り測定値の変動はある幅(平常の変動幅)に納まるとされている<sup>1)</sup>。平成 5～24 年度の過去 20 年間の夜次地区における樹葉中 Ra-226 濃度測定結果を用いて、平常の変動幅として「 $\text{平均値} \pm 3\sigma$ 」を算出した。

## 2.3 人形峠センター施設周辺の各地区における放射能濃度等調査

人形峠センターの協力を得て、人形峠センター施設周辺の各地区の樹葉中 Ra-226、U-238 及びふっ素濃度の測定結果<sup>2),3)</sup>をとりまとめた。とりまとめた対象期間は、人形峠センターが報告書を作成し公表している平成 7 年度から平成 25 年度の 19 年間とした。なお、この期間、人形峠センターの事業活動による周辺環境への影響は認められなかったと岡山県環境放射線等測定技術委員会により評価されている。

## 3 結果及び考察

### 3.1 夜次地区における樹葉中 Ra-226 濃度の個体差調査

杉の樹高、幹囲及び樹木間距離の測定結果を表 1 に示す。杉-1 から杉-6 は樹高が同程度であったが、幹囲にはばらつきが認められた。これは樹木間距離が一定ではないこと、周囲の木との距離が近く被圧の程度が高い木は成長が劣る<sup>4)</sup>こと等によると考えられた。杉-7 は杉-6 からの距離が 11.30m と離れており、また樹高は杉-1 から杉-6 と比べて半分程度であることから、他の杉よりも生育年数が短いと考えられた。

各杉の樹葉中 Ra-226 濃度の測定結果を表 2 に示す。当センターが実施した樹葉中 Ra-226 分析における合成標準不確かさ<sup>5)</sup>は 10.78% であり、同一の杉における樹葉中 Ra-226 濃度測定結果は、この合成標準不確かさの範囲内であった。

各杉の樹葉中 Ra-226 濃度の平均値は 1.17～1.63Bq/kg 生の範囲であり、個体によって約 1.4 倍の濃度差が認められた。平成 5 年度から平成 24 年度の監視測定における夜次地区の樹葉中 Ra-226 濃度は 0.28～1.30Bq/kg 生<sup>2)</sup>であり(表 3 のとおり)、本調査の測定結果は若干高い傾向であった。

また、幹囲と樹葉中 Ra-226 濃度の関係を図 3 に示す。相関係数は 0.45 と低く、両者の間に相関は認められなかった。

監視測定を行ううえで、対象施設からの影響は平常時における測定値の変動幅が小さいほど検知しやすいと考えられる。そのため、複数本の木から樹葉を採取し、平均化することで個体差による測定値への影響を小さくでき、対象施設からの影響を検知する精度の向上が可能であると考えられた。

### 3.2 樹葉中 Ra-226 濃度の統計処理による評価

平成 5 ～ 24 年度の過去 20 年間の夜次地区における樹葉中 Ra-226 濃度測定結果から算出した平常の変動幅は 0.15 ～ 1.65Bq/kg 生であり、監視測定における平成 25 年度の測定結果(1.58 ± 0.11Bq/kg 生)は平常の変動幅に納まっていた。

また、平成 26 年度に行った夜次地区の各杉の Ra-226

濃度の平均値(1.17 ～ 1.63Bq/kg 生)も平常の変動幅に納まっていた。

以上のことから平成 25 年度の樹葉中 Ra-226 濃度は特に問題となる測定値ではなく、過去 20 年間の測定範囲を超えた要因は杉の個体差である可能性が高いと考えられた。

表 1 調査対象樹木測定結果

	樹高 (m)	1m高さにおける幹囲 (m)	樹木間距離 (m)
杉-1	20	1.57	2.50
杉-2	22	1.38	
杉-3	20	0.94	1.95
杉-4	22	1.23	
杉-5	22	1.29	2.40
杉-6	22	1.40	
杉-7	11	0.80	11.30

表 2 樹葉中 Ra-226 濃度測定結果

	Ra-226濃度 (Bq/kg生)			平均値
	1回目	2回目	3回目	
杉-1	1.64±0.13	1.52±0.13	1.67±0.14	1.61
杉-2	1.20±0.12	1.18±0.12	1.14±0.12	1.17
杉-3	1.61±0.14	1.63±0.14	1.66±0.14	1.63
杉-4	1.48±0.14	1.43±0.13	1.43±0.13	1.44
杉-5	1.57±0.13	1.48±0.13	1.61±0.14	1.55
杉-6	1.37±0.13	1.41±0.14	1.33±0.15	1.37
杉-7	1.57±0.13	1.64±0.16	1.67±0.16	1.63
全体				1.49

表 3 夜次地区の樹葉中 Ra-226 濃度 (平成 5 ～ 24 年度)

	Ra-226濃度 (Bq/kg生)	
	6月	11月
平成5年度	0.60	0.66
平成6年度	0.93	0.38
平成7年度	0.85	0.45
平成8年度	0.84	0.65
平成9年度	0.92	0.54
平成10年度	1.00	0.75
平成11年度	0.76	0.86
平成12年度	1.11	1.29
平成13年度	0.78	1.07
平成14年度	1.08	0.60
平成15年度	0.90	1.01
平成16年度	1.27	0.96
平成17年度	1.23	0.28
平成18年度	1.09	1.15
平成19年度	0.90	1.30
平成20年度	1.05	0.91
平成21年度	1.26	0.82
平成22年度	1.14	1.03
平成23年度	0.87	1.16
平成24年度	0.77	0.95
最大値	1.30	
最小値	0.28	
平均値	0.90	
標準偏差	0.25	

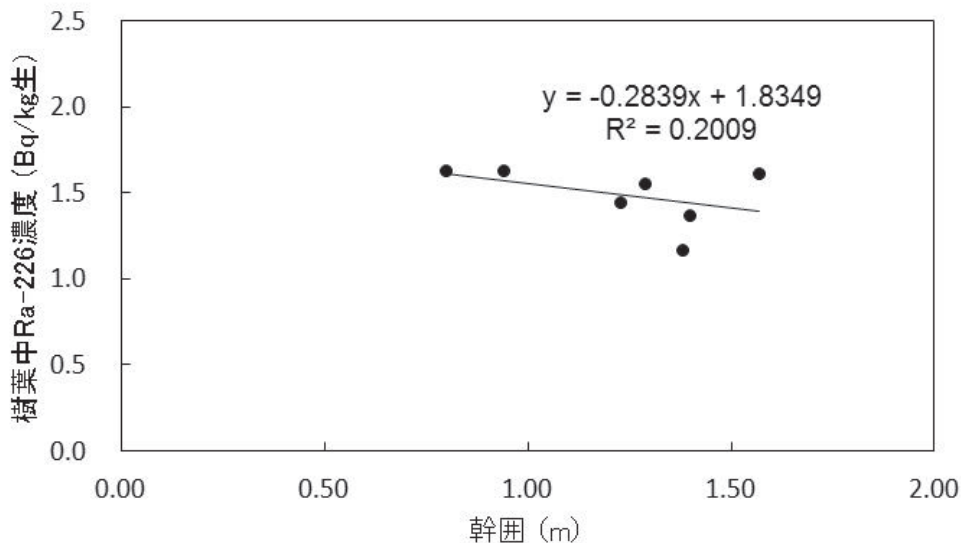


図 3 幹囲と樹葉中 Ra-226 濃度

### 3.3 人形峠センター施設周辺の各地区における放射能濃度等調査

人形峠センターおよび当センターが測定を行った人形峠センター周辺の樹葉中 Ra-226, U-238 及びふっ素濃度について、各地区の平成 7～25 年度の測定範囲を箱ひげ図として、図 4、5 及び 6 に示す。箱ひげ図の下側のバーは最小値、上側のバーは最大値である。長方形の下端、中の線及び上端は、測定値を小さいものから順に並べたときの第 1 四分位数 (25% 値)、第 2 四分位数 (中

央値) 及び第 3 四分位数 (75% 値) を示している。人形峠センターと当センターが同一地区で採取している夜次および人形峠西部においては、採取地点はそれぞれ 200m および 50m 程度離れた地点であり、測定範囲は Ra-226 及び U-238 濃度はよく一致していたが、ふっ素濃度には違いが認められた。また樹葉中の Ra-226 濃度は U-238 及びふっ素濃度に比べて地域差が大きい傾向が認められた。

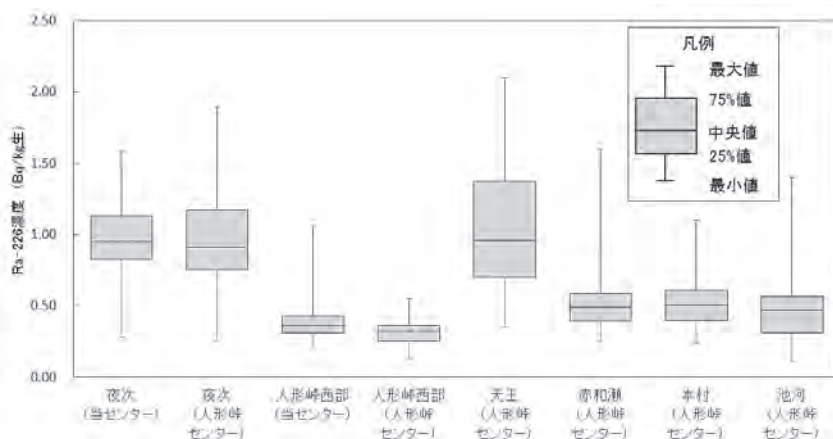


図 4 樹葉中 Ra-226 濃度測定範囲(平成 7～25 年度)

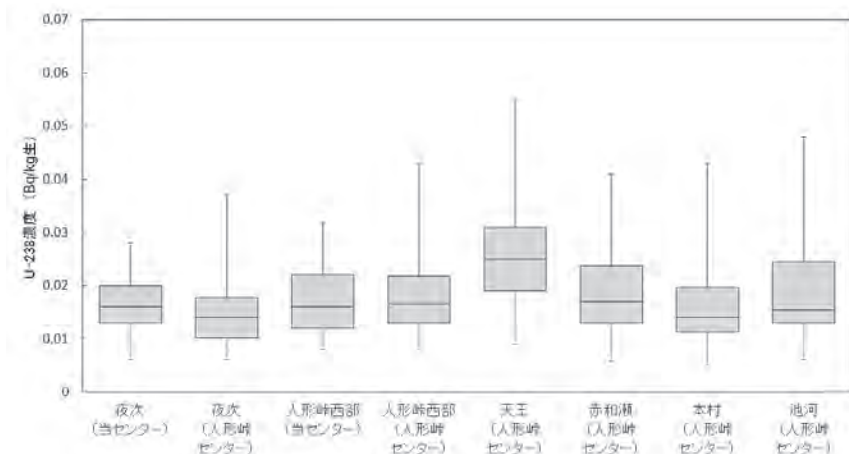


図 5 樹葉中 U-238 濃度測定範囲(平成 7～25 年度)

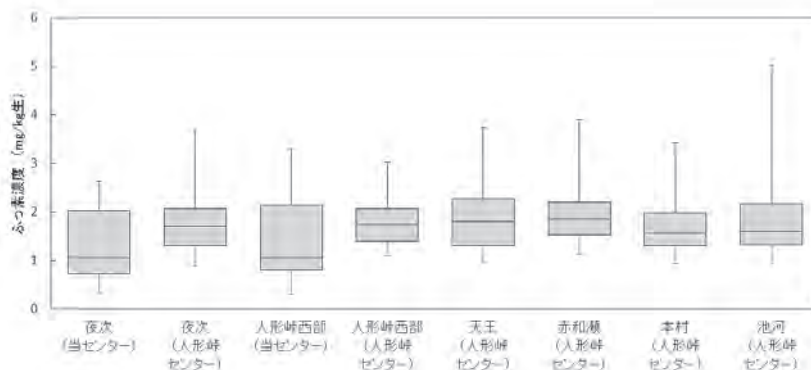


図 6 樹葉中ふっ素濃度測定範囲(平成 7～25 年度)

#### 4 まとめ

夜次地区の平成 25 年度に採取した杉の樹葉中 Ra-226 濃度が過去 20 年間の測定範囲を超えたため、その要因について調査を行った。同地区の杉は個体差があり、約 1.4 倍の濃度差が確認された。監視測定において対象施設からの影響を検知するためには、樹葉を採取する際に複数本の木から採取し平均化することで、個体差による測定値の変動幅を小さくすることが望ましいと考えられた。また、幹囲と樹葉中 Ra-226 濃度の間に相関は認められなかった。

監視測定における夜次地区の平成 25 年度の樹葉中 Ra-226 濃度及び、平成 26 年度の各杉の Ra-226 濃度は過去 20 年間の測定結果から算出した平常の変動幅に納まっていた。平成 25 年度の樹葉中 Ra-226 濃度は特に問題となる測定値ではなく、過去 20 年間の測定範囲を超えた要因は杉の個体差である可能性が高いと考えられた。

人形峠周辺の各地区の樹葉中放射能濃度等について測定結果をとりまとめたところ、人形峠センターと当センターが同一地区で採取している樹葉の Ra-226 及び U-238 濃度の測定範囲はよく一致していた。また樹葉中 Ra-226 濃度は、U-238 及びふっ素濃度に比べて地域差が大きい傾向が認められた。

#### 文 献

- 1) 原子力安全委員会編：環境放射線モニタリング指針，2008
- 2) 岡山県環境保健センター編：人形峠周辺の環境放射線等測定報告書，1996～2014
- 3) 日本原子力研究開発機構人形峠環境技術センター編：人形峠周辺環境の監視測定結果，1996～2014
- 4) 渡邊仁志，茂木靖和：92 年生スギ人工林における成長経過と現存量，岐阜県森林研報，36，7-13，2007
- 5) 日本工業規格：JIS Z 8404-1 測定の不確かさ - 第 1 部：測定の不確かさの評価における併行精度，再現精度及び真度の推定値の利用の指針，2006





【調査研究】

## 感染予防対策に向けたヒト及び環境等における感染症起因菌の調査 (平成 26 年度)

### ①志賀毒素産生性大腸菌の疫学解析

Investigation of pathogenic bacteria in the human and the environmental samples for prevention of transmission (FY2014)

#### ① Investigation of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*

河合央博, 大島律子, 檀上博子, 中嶋 洋, 井上 勝\*, 仲 克巳\*\* (細菌科)

\* 岡山赤十字病院第一小児科, \*\* ぐらしき作陽大学食文化学部現代食文化学科

Hisahiro Kawai, Ritsuko Ohata, Hiroko Danjou, Hiroshi Nakajima, Masaru Inoue\*, Katsumi Naka\*\* (Bacteriology Section)

\* Department of Pediatrics, Okayama Red Cross General Hospital

\*\* The Department of Contemporary Food Culture, Kurashiki Sakuyo University

### 要 旨

志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) 感染症の感染源・感染経路の究明と発生予防を目的として、平成 26 年度に県内でヒトから分離された STEC の疫学調査を行い、併せて、動物及び環境材料について検査を実施した。収集したヒト由来株 67 株のうち、O 血清群 157 が 32 株 (47.8%) で最も検出率が高かった。牛由来検体からの分離株は O 血清群型別不能が多く、ヒトから多く分離される O 血清群 157 及び 26 等は分離されなかった。

[キーワード：志賀毒素産生性大腸菌, 疫学, 血清型, 分子疫学]

[Key words : shiga toxin-producing *Escherichia coli*, epidemiology, serotype, molecular epidemiology]

## 1 はじめに

岡山県下で発生した志賀毒素産生性大腸菌 (以下「STEC」という。) 感染症の感染源・感染経路の究明と発生予防を目的として、疫学調査を継続して実施している。平成 26 年度は、収集したヒト由来株、動物及び堆肥から分離した菌株を用いて疫学解析を行ったので報告する。

## 2 材料及び方法

### 2.1 菌株及び検体

平成 26 年度は、県内でヒトから分離された STEC (以下「ヒト由来 STEC」という。) 67 株 (患者由来株 32 株, 無症状保菌者由来株 35 株) を収集し、牛直腸便 456 検体及び牛糞堆肥 12 検体を用いて行った。

### 2.2 検査法

#### 2.2.1 生化学的性状試験

菌株は、TSI 寒天培地 (日水製薬), CLIG 寒天培地 (極

東製薬工業), LIM 培地 (日水製薬) でスクリーニング後、ID テスト EB20 (日水製薬) を用いて菌の同定を行った。

#### 2.2.2 血清型別

血清型別は、病原性大腸菌免疫血清 (デンカ生研) を用いて実施し、O 血清群 (以下「O」という。) 及び H 血清群 (以下「H」という。) を決定した。また、市販血清のない菌株の血清型別は、国立感染症研究所 (以下「感染研」という。) に依頼して実施した。

#### 2.2.3 毒素型別

毒素 (以下「stx」という。) 型別は、PCR 法<sup>1)</sup> あるいはラテックス凝集反応による大腸菌ベロ毒素検出用キット (デンカ生研) により実施した。

#### 2.2.4 反復配列多型解析法 (multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis 以下「MLVA 法」という。) による遺伝子型別解析<sup>2)</sup>

O26, O111 及び O157 株については、MLVA 法によ

る遺伝子型別(以下「MLVA 型」という。)の解析を感染研に依頼して実施した。

### 2.2.5 IS-printing system による遺伝子型別解析

O157 株については、IS-printing System (TOYOBO) を用いて遺伝子型別(以下「IS 型」という。)の解析を実施した。

## 3 結果及び考察

### 3.1 岡山県内で分離された STEC の疫学調査

平成 26 年度のヒト由来 STEC の月別検出状況を、表 1 に示した。

ヒト由来 STEC は、例年と同様に夏期に多く発生する傾向が見られ、特に、7 月は 46.3% と検出率が非常に高かった。しかし、9 月は検出されず、例年にはない傾向が見られた。これは、気温が 8 月～9 月にかけて平年よりも低かったこと、そして、7 月に腸管出血性大腸菌感染症注意報が、8 月には同警報が発令されたことにより注意喚起が図られたことも一つの要因ではないかと考えられた。

ヒト由来 STEC の血清型・stx 型を、表 2 に示した。

12 種類の血清型・stx 型株が検出された。このうち、O157 は 32 株(47.8%)、そして O26 は 23 株(34.3%)であった。この 2 種類の血清群は、全体の約 80% を占め、この傾向も例年と同様であった。O157 及び O26 以外では、O91、O103、O111、O121、O174、並びに O179 が検出された。

O157 株の MLVA 型及び IS 型の分類数、O26 及び O111 株の MLVA 型分類数を、表 3 に示した。

MLVA 解析により、O157 株は 21 種類、O26 株は 6 種類、O111 株は 3 種類の MLVA 型に分類された。いずれの血清群の株でも、同一家族から分離される等、疫学情報から関連性が高い株間では、おおむね同一の MLVA 型に分類された。しかし、一部の株間においては、疫学的関連性が見られるにもかかわらず、異なる MLVA 型に分類された。これらは、DNA の点変異、欠失及び挿入等の genetic event により 1～2 遺伝子座で単一配列のリピート数が異なったこと等により、別の MLVA 型に分類されたものと思われる。したがって、疫学調査においては、疫学情報や遺伝子解析結果等の総合的な判断が重要であると考えられる。

O157 株については、IS-Printing system による遺伝子型別解析を行ったが、IS 型は 17 種類に分類された。同一家族由来株等、疫学的関連性が強い株間では、同一の IS 型に分類された。一方、IS 型は同一であるが MLVA 型の異なる株が確認され、これらの株間には、疫学的な関連性が確認できないものがあった。IS-printing system による遺伝子型別は、同一家族から分離される等、疫学的関連性が見られる場合には同一の結果を示し、なおかつ、手技が非常に簡便であり迅速に行えることから、迅速スクリーニング法として有用であると考えられる。しかし、疫学的関連性が確認できない、あるいは不明な場合は、結果を慎重に取り扱う必要があると

表 1 ヒト由来 STEC 月別検出状況

月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計
患者由来株	3	3	6	11	4	0	2	0	2	1	0	0	32
無症状保菌者由来株	0	1	1	20	6	0	6	0	0	1	0	0	35
計	3	4	7	31	10	0	8	0	2	2	0	0	67
%	4.5	6.0	10.4	46.3	14.9	0	11.9	0	3.0	3.0	0	0	

表 2 ヒト由来 STEC の血清型・stx 型

血清型	stx 型	株数	%
O26:H11	1	22	32.8
O26:H-	1	1	1.5
O91:H14	1	1	1.5
O103:H2	1	4	6.0
O111:H-	1	4	6.0
O121:H19	2	1	1.5
O157:H7	1,2	23	34.3
	2	5	7.5
O157:H-	1,2	3	4.5
	2	1	1.5
O174:H21	2	1	1.5
O179:H8	2	1	1.5
計		67	

表 3 ヒト由来 STEC O157 株の MLVA 型及び IS 型の分類数及び O26、O111 株の MLVA 型の分類数

血清型	stx 型	株数	MLVA 型数	IS 型数
O157:H7	2	5	5	5
	1,2	23	14	10
O157:H-	1,2	3	1	1
	2	1	1	1
O26:H11	1	22	5	
O26:H-	1	1	1	
O111:H-	1	4	3	

思われた。

STEC 株は、厚生労働省通知（「病原性大腸菌 O-157 の検体提供依頼について」(平成 8 年 6 月 19 日付、衛食第 160 号)等)に基づき感染研へ送付しており、感染研で実施した遺伝子型別解析等の結果を還元されている。遺伝子型別解析結果の還元は、昨年度まではパルスフィールドゲル電気泳動法 (pulsed-field gel electrophoresis, 以下「PFGE 法」という。)によるものであったが、広域発生事例をより一層迅速に把握するため、平成 26 年度より O26, O111 及び O157 株について、MLVA 法を用いることとなった。MLVA 法は、データをコード化して型別できることから、菌株間の関連性の比較が容易であり、また、PFGE 法とほぼ同等の結果がより迅速に得られることが利点として挙げられる。

今後は、MLVA 法を導入し、感染源や感染経路究明のため、行政機関等へ遺伝子型別解析結果を迅速に提供する必要があると考える。

牛直腸便及び牛糞堆肥から検出された STEC の血清型・stx 型を、表 4 に示した。

牛直腸便 456 検体中 55 検体 (12.1%)、牛糞堆肥 12 検体中 3 検体 (25.0%) から STEC が検出された。27 種類の血清型・stx 型に分類されたが、その多くは O 血清群型別不能 (OUT) であり、ヒトから多く分離される O157, O26 等は分離されなかった。この結果は、過去の調査結果と同様の傾向を示していたが、毎年ヒトから平均 100 株前後分離されている株は O157 及び O26 等であり、より広範囲の検体について STEC 汚染調査や動物の保菌調査を継続して実施する必要があると思われた。

表 4 牛直腸便等由来 STEC の血清型・stx 型

検体名	血清型	stx型	陽性検体数	検出率(%)
牛直腸便	O6:HUT	2	1	0.2
	O8:H19	2	1	0.2
	O8:H19	1,2	2	0.4
	O8:H28	2	1	0.2
	O8:HUT	1,2	1	0.2
	O28ac:HUT	2	1	0.2
	O91:H21	2	1	0.2
	O119:H-	2	2	0.4
	O153:HUT	2	1	0.2
	O153:HUT	1,2	1	0.2
	OUT:H2	2	3	0.7
	OUT:H2	1,2	1	0.2
	OUT:H7	1,2	1	0.2
	OUT:H9	1	2	0.4
	OUT:H11	2	4	0.9
	OUT:H19	2	7	1.5
	OUT:H19	1,2	3	0.7
	OUT:H21	2	2	0.4
	OUT:H21	1,2	2	0.4
	OUT:H28	2	1	0.2
OUT:HUT	1	1	0.2	
OUT:HUT	2	4	0.9	
OUT:HUT	1,2	6	1.3	
OUT:H-	2	6	1.3	
	計		55	12.1
牛糞堆肥	O15:H28	2	1	8.3
	O28ac:HUT	1,2	1	8.3
	O119:H-	1	1	8.3
	計		3	25.0

## 謝 辞

本調査の実施に際して、MLVA 型別等をお願いしました国立感染症研究所の泉谷 秀昌先生、並びに菌株の分与や検体採取にご協力いただきました関係機関の先生方に深謝いたします。

## 文 献

- 1) 小林一寛：腸管出血性大腸菌の同定法 2. PCR 法、臨床検査, 36, 1334 ~ 1338, 1992
- 2) Izumiya H, et al., Microbiol Immunol 54:569-577, 2010



【調査研究】

## 感染予防対策に向けたヒト及び環境等における感染症起因菌の調査 (平成 26 年度)

### ②県内の環境検体におけるレジオネラの検出状況

Investigation of pathogenic bacteria in the human and the environmental samples for prevention of transmission (FY2014)

#### ② Isolation of *Legionella* from environmental samples in Okayama prefecture

檀上博子, 大島律子, 河合央博, 中嶋 洋, 仲 克巳\* (細菌科)

\* 暮らしき作陽大学食文化学部現代食文化学科

Hiroko Danjou, Ritsuko Ohata, Hisahiro Kawai, Hiroshi Nakajima,  
Katsumi Naka\* (Bacteriology section)

\* The Department of Contemporary Food Culture, Kurashiki Sakuyo University

### 要 旨

レジオネラの汚染実態を把握するため、浴槽水等 108 検体について調査を行った。浴槽水からの検出率は 31.9%、ジャグジー水は 37.5%、シャワー水は 9.1%、堆肥は 50% であった。浴槽水、ジャグジー水、シャワー水からは *L. pneumophila* が検出され、堆肥からは *L. londiniensis*、レジオネラ属菌が検出された。また、県内でヒトから検出され、その遺伝子型に地域特異性が見られる *L. pneumophila* 血清群 3 の感染源究明のため、当センター及び保健所等で検出された *L. pneumophila* 血清群 3 の遺伝子解析を行ったが、ヒト由来株の遺伝子型と一致する株はなかった。

[キーワード：レジオネラ, レジオネラ・ニューモフィラ, 血清群 3, ST93]

[key words ; *Legionella*, *L. pneumophila*, serogroup 3, sequence type 93]

### 1 はじめに

レジオネラ症は、レジオネラを含むエアロゾルや粉塵を吸入することで起こる感染症で、感染症法において四類感染症に指定されている。近年、レジオネラ症の届出件数は増加傾向にあり、平成 26 年度は全国で 1,236 例(暫定値)が報告されており、四類感染症の中で最も届出数の多い疾患である。県内では平成 23 年以降、毎年 20 名以上のレジオネラ患者が報告されているが、感染源は不明であることが多い。

レジオネラは土壌や淡水等の自然環境や冷却塔、加湿器、浴槽水などの人工的な水環境中に広く分布し、アメーバを宿主として生息している。

当センターでは、レジオネラ対策の一環として、県内の浴槽水等の汚染実態調査を実施しており、本報告では平成 26 年度の結果について報告する。また、平成 19 年より岡山県内のレジオネラ症患者分離株を収集し、血清

群別及び遺伝子解析を行っている。患者分離株のうち、*L. pneumophila* 血清群(以下「SG」という。)3 は、現時点において本県に地域特異的であり、全ての株の遺伝子解析結果が一致している。このため、感染源・感染経路の究明を目的として、分離収集したレジオネラ菌株の遺伝子解析を行ったので、その結果についても報告する。

### 2 材料及び方法

#### 2.1 菌株及び検体

平成 26 年度に採取した浴槽水等 96 検体と堆肥 12 検体の計 108 検体について、レジオネラ検査を実施した。一方で、県内の保健所等で、浴槽水等から検出されたレジオネラ菌株 152 株を収集し、同定及び血清群別を実施した。また、*L. pneumophila* SG3 と同定された菌株は、遺伝子解析を行った。

## 2.2 検査法

### 2.2.1 浴槽水の濃縮と培養

検体 500mL を孔径 0.22 μm のポリカーボネート製メンブランフィルターでろ過濃縮し、吸引後のフィルターを滅菌蒸留水 5mL でよく混和して洗い出し、濃縮試料とした。試料 1mL に 0.2N HCl・KCl 緩衝液 (pH2.2) を等量混合して 4 分間酸処理を行い、200 μL を GVPC 寒天培地 (日研生物医学研究所) 及び WYO 寒天培地 (栄研化学) あるいは MWY 寒天培地 (関東化学) に、コンラージ棒で塗抹した。36℃ で 7 日間培養し、その間、斜光法でコロニーを観察して、レジオネラと推定された集落を血液寒天培地 (BBL) と BCYE *a* 寒天培地 (栄研化学) に接種した。BCYE *a* 寒天培地のみで発育した集落について、血清群別試験、PCR 法 (*mip* 遺伝子及び 5S rRNA 遺伝子) または LAMP 法 (栄研化学) を実施して、同定をし、菌数を測定した。また、浴槽水については遊離残留塩素濃度と検出状況の関連を調べた。

### 2.2.2 堆肥の前処理と培養

堆肥 200g に滅菌蒸留水 400mL を加え、よく攪拌後、二重にした滅菌ガーゼで濾過し、濾液 120mL を 10,000rpm、5 分間遠心後、沈殿物に滅菌蒸留水 40ml を加え濃縮試料とした。試料 5mL を加熱処理 (50℃ 20 分間) 後、等量の 0.2N HCl・KCl 緩衝液 (pH2.2) を加えて 4 分間酸処理を行い、浴槽水と同様に分離培地に塗抹して、同定を行った。

### 2.2.3 血清群別試験

レジオネラ免疫血清 (デンカ生研) 及び衛生微生物技術協議会レジオネラレファレンスセンターで配布されたレジオネラ免疫血清 (ロングビーチ 2 群, ロングビーチ 2253, フィーレイ 1 群, フィーレイ 2 群, ハッカーリ 1 群

+2 群, アニサ, ロンディニエンシス 1 群, ロンディニエンシス 2 群) を用いて行った。

### 2.2.4 パルスフィールドゲル電気泳動法による DNA パターンの解析

常らの改良法<sup>1)</sup>により、パルスフィールドゲル電気泳動法 (以下「PFGE 法」という。) を実施した。

### 2.2.5 sequence-based typing 法

sequence-based typing 法による sequence type (以下「ST」という。) は、国立感染症研究所に依頼して実施した。

## 3 結果

### 3.1 検体別レジオネラ検出状況

浴槽水等 108 検体のレジオネラ検出状況を、表 1 に示した。

浴槽水 69 検体中 22 検体 (31.9%), ジャグジー水 8 検体中 3 検体 (37.5%), シャワー水 11 検体中 1 検体 (9.1%) 及び堆肥 12 検体中 6 検体 (50%) から、レジオネラが検出され、浴槽水やジャグジー水及び堆肥の検出率が高かった。原水、注湯口水及び冷却塔水からは、レジオネラは検出されなかった。

浴槽水からは、*L.pneumophila* SG 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, UT 等、多様な血清群の菌が検出された。ジャグジー水からは *L.pneumophila* SG3 と 6 が、シャワー水からは *L.pneumophila* SG3 が検出された。

堆肥からは *L.londiniensis* SG1 とレジオネラ属菌が検出されたが、*L.pneumophila* は検出されず、浴槽水、ジャグジー水、シャワー水由来株とは汚染菌種が異なっていた。

*L.pneumophila* SG3 は浴槽水等 108 検体中 5 検体から

表 1 検体別レジオネラ検出状況

検体名	検体数	検出数	検出率 (%)	検出菌種及び血清群 (検体数) *
浴槽水	69	22	31.9	<i>L. pneumophila</i> SG1 (6), 2 (1), 3 (2), 5 (4), 6 (9), 7 (2), 8 (1), 9 (2), 10 (4), UT (3)
ジャグジー水	8	3	37.5	<i>L. pneumophila</i> SG3 (2), 6 (1)
原水	4	0	0.0	
注湯口水	2	0	0.0	
シャワー水	11	1	9.1	<i>L. pneumophila</i> SG3 (1)
冷却塔水	2	0	0.0	
堆肥	12	6	50.0	<i>L. londiniensis</i> SG1 (5), <i>Legionella</i> spp. (4)
計	108	32	29.6	

\* 重複を含む。 UT : 0血清群別不能

検出された。

### 3.2 浴槽水等から検出されたレジオネラ菌数の分布

浴槽水、ジャグジー水、シャワー水から検出されたレジオネラ菌数を、表2に示した。

レジオネラが検出された検体の菌数は、ほとんどが $10 \sim 10^3$  CFU/100mLであったが、浴槽水とシャワー水からは、 $10^3$  CFU/100mL以上検出された検体があった。

### 3.3 遊離残留塩素濃度とレジオネラ検出状況

浴槽水の遊離残留塩素濃度とレジオネラ検出状況を、表3に示した。(浴槽水69検体中5検体は未測定)。

レジオネラの検出率は、遊離残留塩素度が0.2 mg/L

表2 浴槽水等から検出されたレジオネラ菌数の分布

菌数* (CFU/100mL)	浴槽水	ジャグジー	シャワー水
10未満(不検出)	47	5	10
$10 \sim 10^2$ 未満	18	3	0
$10^2 \sim 10^3$ 未満	3	0	0
$10^3 \sim 10^4$ 未満	0	0	1
$10^4 \sim 10^5$ 未満	1	0	0
計	69	8	11

\*人がエアロゾルを直接吸引する恐れがあるもの(浴槽水、シャワー水等)は検出される菌数を10CFU/100mL未満としている。(レジオネラ症防止指針)

未満では16検体中11検体(68.8%)、0.2mg/L以上1.0mg/L未満は25検体中7検体(28.0%)、1.0mg/L以上は23検体中2検体(8.7%)で、遊離残留塩素濃度が高いほど、検出率が低くなる傾向にあった。表には示していないが、検出菌数が $10^2$ CFU/100mL以上の検体は、全て遊離残留塩素濃度0.2mg/L未満であり、0.2mg/L以上の検体では検出菌数は $10 \sim 10^2$ CFU/100 mLで、遊離残留塩素濃度が高いほど、検出菌数が少なくなる傾向にあった。

シャワー水では、井戸水を使用した遊離残留塩素濃度0.1mg/L未満の検体から、 $10^3$ 以上 $10^4$ 未満CFU/100 mLのレジオネラが検出された。水道水を使用した10検体は、遊離残留塩素度が0～0.2mg/Lであったが、レジオネラは検出されなかった。

### 3.4 保健所等の浴槽水等由来株の血清群別結果

保健所等の検査で浴槽水等から検出された152株の血清群別結果を、表4に示した。

浴槽水由来株は、*L.pneumophila* SG 1, 3, 5, 6, 8, 9, 10, 11, UT, *L.micdadei* 及びレジオネラ属菌で、当センターの調査結果と同様に、多様な血清群及び菌種が検出された。原水由来株は*L.pneumophila* SG 1, 3, 5, 8 及びレジオネラ属菌、シャワー水由来株は*L.*

表3 浴槽水中の遊離残留塩素濃度とレジオネラ属菌の検出率

遊離残留塩素濃度* (mg/L)	検体数	陽性検体数	検出率(%)
0.2未満	16	11	68.8
0.2以上1.0未満	25	7	28.0
1.0以上	23	2	8.7
計	64	20	31.3

\*遊離残留塩素濃度は「0.2～1.0mg/L程度に維持する」となっている。(レジオネラ症防止指針)

表4 保健所等分離レジオネラ株

検体名	検出菌種及び血清群
浴槽水	<i>L. pneumophila</i> SG1, 3, 5, 6, 8, 9, 10, 11, UT <i>L. micdadei</i> , <i>Legionella</i> spp.
原水	<i>L. pneumophila</i> SG1, 3, 5, 8, <i>Legionella</i> spp.
シャワー水	<i>L. pneumophila</i> SG1, 5
ジャグジー	<i>L. pneumophila</i> SG1, 3, 5, 6, 9
トイレ給湯口水	<i>L. pneumophila</i> SG1

UT：0血清群別不能

*L.pneumophila* SG 1, 5, ジャグジー水由来株は *L.pneumophila* SG1, 3, 5, 6, 9, トイレ給湯口由来株は *L.pneumophila* SG1 であった。

保健所等の検査で浴槽等から検出された *L.pneumophila* SG3 は 19 株であった。

### 3.5 遺伝子型別

当センターで検出された *L.pneumophila* SG3 の 5 株

表 5 県内で分離された *L.pneumophila* SG3 株の PFGE パターン

検体	菌株数	バンドパターン数*	
環境由来	浴槽水	109	60
	原湯	4	4
	ジャグジー水	7	5
	プール水	8	4
	プールろ過水	1	1
	フローミル水	9	1
	ろ過水	4	1
	冷却水	3	3
	シャワー水	1	1
	小計	146	72
患者	9	1	
計	155	73	

\* 検体間の重複を含む

及び保健所等で検出された *L.pneumophila* SG3 の 19 株の合わせて 24 株について、PFGE 法による解析を行った結果、患者由来の *L.pneumophila* SG3 と遺伝子パターンが一致する菌株はなかった。さらに、過去に検出された環境由来株及び患者由来株を含めた 155 株について、PFGE 法による解析を行った結果を、表 5 及び図 1 に示した。

環境由来株 146 株は 72 パターンに分類され、そのうち、浴槽水由来株 109 株は 60 パターンに分類された。患者由来 9 株は全て同じパターンであった。浴槽水等から検出された株は、いずれも患者由来株の PFGE パターンとは、異なっていた。また、菌株を国立感染症研究所に送付して、ST 型別を実施したが、いずれも患者由来株の ST93 とは異なっていた。

### 4 考察

レジオネラ感染症の原因菌としては、衛生微生物技術協議会レジオネラレファレンスセンターで収集された臨床分離株の 9 割以上を *L.pneumophila* が占め、そのうちの 8 割が SG1 であった。一方、*L.londiniensis* は、臨床分離株 1 株が収集されているのみである<sup>2)</sup>。

本調査で、浴槽水等及び堆肥からは、様々な種類のレジオネラが検出され、検体により分布が異なっていた。

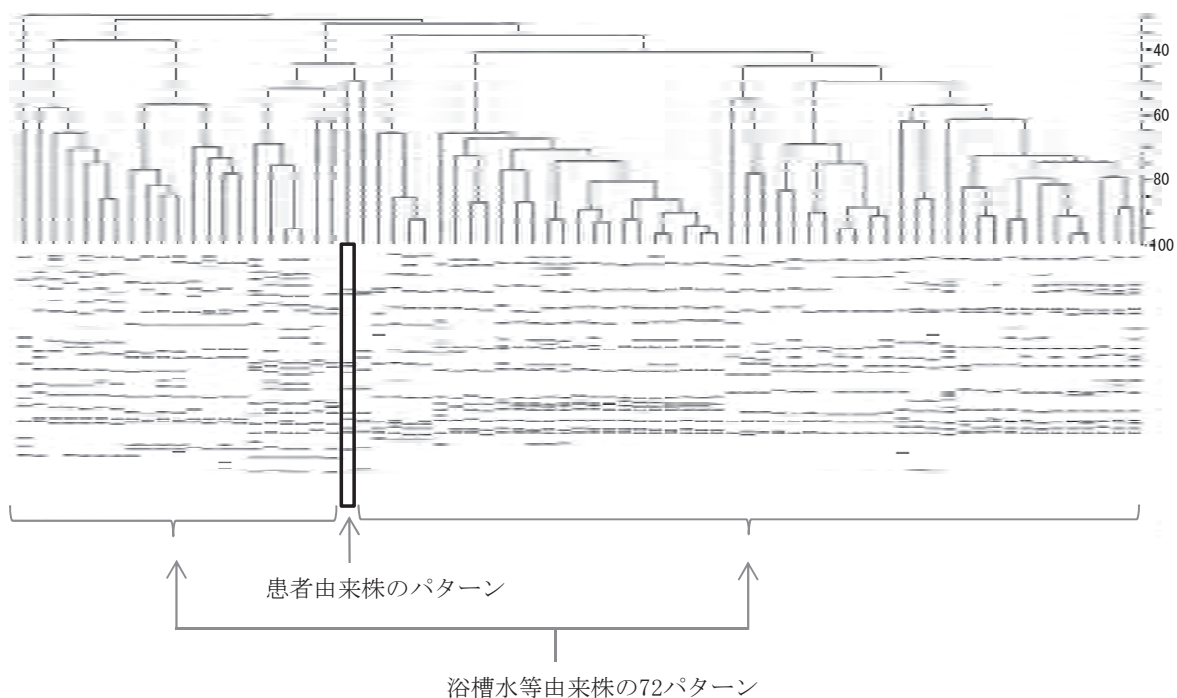


図 1 患者および浴槽水等由来 *L.pneumophila* SG3 株の PFGE パターンとデンドログラム解析結果



浴槽水の衛生管理では、遊離残留塩素濃度が適切であっても、レジオネラが検出されている検体があり、高いpH、有機物、バイオフィルムの存在等による影響が考えられ、適切な管理が必要である。ジャグジーやシャワーはエアロゾルを発生するため、検出菌数が多い場合は感染のリスクが高く、注意が必要である。

堆肥からは*L.pneumophila* は検出されなかったが、臨床検体から分離されている*L.londiniensis* が高率に検出されたので、堆肥を扱う際には、粉塵の吸入を防ぐよう注意する必要があると思われる。

県内で患者から検出された*L.pneumophila* SG3は、同一のPFGEパターン及びSTを示す地域特異的な株であるが、現在まで環境由来株は、全て患者由来株とPFGEパターン及びSTが異なっていた。今後は対象を広げ、より多様な環境検体についての調査が重要であると思われる。

なお、本調査は、平成26年度厚生労働科学研究費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事業)「レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究」の研究班による調査の一環として実施した。

## 謝 辞

レジオネラのST型別をお願いしました国立感染症研究所の前川 純子先生に深謝いたします。

## 文 献

- 1) 常 彬, 前川 純子, 渡辺 治雄: レジオネラを解析するパルスフィールド・ゲル電気泳動(PFGE)法の改良, IASR, 29, 333-334, 2008
- 2) 前川 純子, 倉 文明, 大西 真, 渡辺 ユウ, 渡辺 祐子: レジオネラ臨床分離株の型別—レファレンスセンター活動報告として, IASR, 34, 161-162, 2013



【調査研究】

## 感染予防対策に向けたヒト及び環境等における感染症起因菌の調査 (平成 26 年度)

### ③小児科受診患者等のエルシニア抗体価調査について

Investigation of pathogenic bacteria in the human and the environmental samples for prevention of transmission (FY2014)

### ③ Investigation of *Yersinia* antibody titer in pediatric patients and others

中嶋 洋, 大島律子, 河合央博, 檀上博子(細菌科)

Hiroshi Nakajima, Ritsuko Ohata, Hisahiro Kawai, Hiroko Danjou (Bacteriology Section)

### 要 旨

エルシニア症の発生実態を把握するため、平成 25 年度から平成 27 年度の期間で、エルシニア抗体価の調査を実施している。全国の病院小児科等を受診した患者のうち、エルシニア症疑いあるいは川崎病との鑑別が必要な患者について、血清抗体価測定依頼を受けて実施した。平成 26 年度は、60 施設の患者 159 名 353 検体の抗体価を測定した。このうち、153 名 (341 検体) が同意書を提出し、*Y.enterocolitica* に対する抗体価は 2 名 (1.3%) が、*Y.pseudotuberculosis* に対する抗体価は、31 名 (20.3%) が陽性であった。

[キーワード：エルシニア, *Y.pseudotuberculosis*, *Y.enterocolitica*, 抗体価, 疫学]

[Keywords: *Yersinia*, *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica*, antibody titer, epidemiology]

## 1 はじめに

過去に岡山県下で発生したエルシニア症の集団事例は、昭和 55 年以来、*Y. pseudotuberculosis* (以下「Y.ptb」という。)による事例が 4 回、*Y. enterocolitica* (以下「Y.ent」という。)による事例が 1 回発生した<sup>1)</sup>。このうちの 2 事例は北部山間部の水道未普及地域で発生し、患者は未殺菌の井戸水等を飲用していた。その後の調査から、野生動物、野鳥や小型げっ歯類が本菌を高率に保菌し、これら動物の排泄物により汚染された環境水の飲用が、エルシニア症の原因であることが推察された<sup>2)</sup>。現在、エルシニアによる集団事例の報告は、ほとんど無い。また、患者検体について、本菌を対象とする培養検査の機会が少なく、患者への抗菌剤の早期投与などにより、菌の検出がより難しい状況にあると思われることから、散发例の発生実態も不明である。このため、患者血清の抗体価測定は、エルシニア症の実態を把握するための手段として重要であり、平成 25 年度からエルシニア抗体価の調査を実施している。本報告では、平成 26 年度の結果について報告する。

## 2 材料及び方法

### 2.1 検体

エルシニア抗体価測定用の検体は、全国の病院小児科等を受診あるいは入院している患者のうち、エルシニア症の疑いがあるか、あるいは川崎病との鑑別を必要とするため、主治医から抗体価測定依頼を受けた患者血清を使用した。平成 26 年度は、29 道府県の 60 施設の病院から、患者 159 名分 353 検体について、抗体価測定の依頼を受けて実施した。なお、本調査は、当センターの倫理審査委員会の承認を得て実施しており、同意書が提出された 153 名 (341 検体) の調査結果について、報告する。

### 2.2 検査法

患者血清は 56℃、30 分間非働化し、生理食塩水で 10 倍希釈した。これを 2 倍段階希釈して 1:10 ~ 1:320 の希釈系列を、使用する抗原の種類と同数作成した。抗原液は、当センターが保有する Y.ptb (血清群 1a, 1b, 2a, 2b, 3, 4a, 4b, 5a, 5b, 6) 株と Y.ent (血清群 03, 05, 08, 09) 株を使用した。25℃、2 日間培養した菌を生理

食塩水で2回洗浄し、生理食塩水でマクファーランド No 0.6 の濃度になるように調製して、抗原液として使用した。抗体価の測定は、抗原ごとに希釈系列の患者血清 0.2ml と抗原液 0.2ml を試験管内で混合し、50℃、1晩反応後に凝集像を観察した。凝集の見られた最高希釈倍率の値をその検体の抗体価とし、抗体価が 1:160 以上を陽性と判定した。

### 3 結果及び考察

#### 3.1 抗体価検査結果

抗体価測定依頼を受けた患者の性別・年齢別測定結果を、表1に示した。

153名のうち、男性は97名(63.4%)、女性は56名(36.6%)で、男性が多かった。年齢別では、男女とも1歳～6歳の幼児がそれぞれ51名(33.3%)、35名(22.9%)で最も多く、次いで7歳～15歳がそれぞれ36名(23.5%)、20名(13.1%)であった。エルシニア抗体価陽性は、153名中33名(21.6%)で、これらの患者ではエルシニアによる感染の可能性が高いと思われた。性別は男性が20名(20.6%)、女性は13名(23.2%)で、ほぼ同率であった。年齢別では、男女とも7歳～15歳が25.0%～27.8%で陽性率が高く、1歳～6歳の幼児でも19.6%～22.9%が陽性であったが、他の年齢では抗体価の上昇は見られなかった。

表1 性別・年齢別エルシニア抗体価測定結果

患者数 <sup>a)</sup>	男性					女性			計
	97 (63.4%)					56 (36.6%)			
	1歳未満	1歳～6歳	7歳～15歳	16歳以上	不明	1歳未満	1歳～6歳	7歳～15歳	
	7 (4.6%)	51 (33.3%)	36 (23.5%)	2 (1.3%)	1 (0.7%)	1 (0.7%)	35 (22.9%)	20 (13.1%)	153
陽性者数 <sup>b)</sup>	0	10 (19.6%)	10 (27.8%)	0	0	0	8 (22.9%)	5 (25.0%)	33 (21.6%)
	20 (20.6%)					13 (23.2%)			

a) : 倫理委員会で承認された同意書提出者

a) : *Y. pseudotuberculosis* 及び *Y. enterocolitica* に対する抗体価

表2 抗体価陽性となった菌種と血清群(患者数 153名)

菌種	<i>Y. pseudotuberculosis</i>							<i>Y. enterocolitica</i>				
	血清群	1	2	3	4	5	6	計	03	05	08	09
陽性患者数 (%)	7 (4.6)	5 (3.3)	2 (1.3)	4 (2.6)	10 (6.5)	7 (4.6)	31* (20.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.3)	0 (0.0)	2 (1.3)

\* : 4名は2血清群の抗体価が陽性

#### 3.2 抗体価陽性菌種と血清群

抗体価が陽性となった菌種と血清群を、表2に示した。

*Y.ptb* に対する抗体価は31名(20.3%)が陽性であり、1～6群のすべての血清群で陽性者が確認された。このうち、5群が陽性の患者が10名(6.5%)と最も多く、31名中4名は同時に2種類の血清群で陽性となったことから、複合感染の可能性が示された。*Y.ent* に対する抗体価は2名(1.3%)が陽性で、いずれも血清群08群のみ陽性であった。

#### 3.3 疾病グループ別 *Y.pseudotuberculosis* 抗体価測定結果

153名中、*Y.ent* の抗体価が陽性となった2名を除く151名について、症状が川崎病症状を呈するグループ①[80名(53.0%)]と、それ以外でエルシニアによる感染が疑われるグループ②[71名(47.0%)]の疾病グループ別に、*Y.ptb* に対する抗体価測定結果を、表3に示した。

グループ①は80名中9名(11.3%)が、グループ②では71名中22名(31.0%)が抗体価陽性であり、エルシニア感染が疑われるグループ②の方が抗体価の陽性率は高く、川崎病症状を呈するグループ①に比べて陽性率に差が見られた( $p < 0.005$ )。

表3 疾病グループ別 *Y.pseudotuberculosis* 抗体価測定結果

疾病グループ	抗体価		計
	陽性	陰性	
① 川崎病症状を呈した患者	9	71	80
	11.3%	88.8%	53.0%
② ①以外でエルシニアによる感染が疑われた患者	22	49	71
	31.0%	69.0%	47.0%
計	31	120	151
	20.5%	79.5%	

感染源の推定につながる疫学的なエピソードが多かった ( $p < 0.005 \sim 0.05$ )。一方、抗体価陰性の患者では、川崎病に関連する両側眼球結膜充血 (67.5%)、頸部リンパ節腫脹 (61.7%) などの発症率が高かった ( $p < 0.005$ )。

本年度の調査で表3及び表4の結果から、症状等と抗体価について多少の関連性が見られたようにも思われるが、症状等がエルシニア感染のスクリーニングに有効な指標となり得るかどうかは、さらに多くの検体についてデータの集積と解析が必要である。原因不明の川崎病との鑑別やエルシニア症の感染実態把握のために、今後も継続した調査を実施して行く予定である。

なお、エルシニア抗体価調査の一部は、姫路赤十字病院小児科との共同研究の検体を使用した。

### 3.4 *Y.pseudotuberculosis* 抗体価と症状等について

*Y.ptb* に対する抗体価の測定結果と患者の症状等について、表4に示した。

151名の症状等を、*Y.ptb* に対する抗体価が陽性の患者と陰性の患者別に比較すると、抗体価陽性患者はエルシニア症で見られる腹痛 (38.7%)、膜様落屑 (48.4%)、腎不全 (29.0%)、腸間膜リンパ節炎あるいは腸間膜リンパ節腫大 (12.9%) などの発症率が高かった。また、家族内発症 (22.6%)、山水・井戸水等の使用 (54.8%) など、

### 謝 辞

本調査の実施に際して、多数の患者血清検体をご提供いただきました関係機関の先生方に、深謝いたします。

表4 *Y.pseudotuberculosis* 抗体価と症状等

グループ	症状 (主訴)						
	発熱	発疹	嘔吐	下痢	結節性紅斑	腹痛	頸部リンパ節腫脹
抗体価陽性	27	9	5	5	1	12	2
	87.1%	29.0%	16.1%	16.1%	3.2%	38.7%	6.5%
抗体価陰性	109	28	12	19	1	21	12
	90.8%	23.3%	10.0%	15.8%	0.8%	17.5%	10.0%
有意水準 (p<)						0.025	

グループ	川崎病の主要症状									
	発熱 (5日以上)	四肢末端の変化			不定形発疹	両側眼球結膜充血	口唇口腔所見			頸部リンパ節腫脹
		硬性浮腫	紅斑	膜様落屑			口唇紅潮	莓舌	口腔粘膜発赤	
抗体価陽性	23	7	6	15	19	9	11	10	9	10
	74.2%	22.6%	19.4%	48.4%	61.3%	29.0%	35.5%	32.3%	29.0%	32.3%
抗体価陰性	97	50	36	34	83	81	57	42	26	74
	80.8%	41.7%	30.0%	28.3%	69.2%	67.5%	47.5%	35.0%	21.7%	61.7%
有意水準 (p<)				0.05		0.005				0.005

グループ	他の症状									その他	
	冠動脈拡張性変化	腎不全	腸間膜リンパ節炎	腸間膜リンパ節腫大	計	回盲部リンパ節腫脹	急性虫垂炎	回腸末端炎	計	家族内発症	山水・井戸水等の使用
抗体価陽性	2	9	2	2	4	3	1	1	5	7	17
	6.5%	29.0%	6.5%	6.5%	12.9%	9.7%	3.2%	3.2%	16.1%	22.6%	54.8%
抗体価陰性	15	9	2	2	4	9	0	5	14	4	32
	12.5%	7.5%	1.7%	1.7%	3.3%	7.5%	0.0%	4.2%	11.7%	3.3%	26.7%
有意水準 (p<)		0.005			0.05					0.005	0.005

## 文 献

- 1) 井上正直, 中嶋 洋, 石田立夫, 坪倉 操: わが国におけるエルシニア症の発生状況, 獣医畜産新報, 796, 12-16, 1987
- 2) 井上正直, 中嶋 洋, 森 忠繁, 田中睦男, 本郷俊治ら: 4. 岡山県におけるエルシニアの生態, メディアサークル, 36, 366-370, 1991

【調査研究】

## 結核疫学調査における結核菌 DNA 解析データベースの活用 (7)

Application to epidemiological investigation with  
DNA database of *Mycobacterium tuberculosis* (7)

大畠律子, 河合央博, 檀上博子, 中嶋 洋(細菌科)

Ritsuko Ohata, Hisahiro Kawai, Hiroko Danjou, Hiroshi Nakajima  
(Bacteriology Section)

### 要 旨

岡山県では、感染経路の究明や二次感染の予防等、結核対策に資するため、県内の結核新登録患者から分離された結核菌の DNA 解析を実施し、その結果を菌株情報と融合させてデータベース化している。平成 26 年度は、Variable number of tandem repeats (VNTR) 解析法により、散発事例や試験室内汚染、家族内感染、施設内感染及び BCG との鑑別の 4 つの事例で感染源究明のための解析を行った。また、感染伝播力の強さや薬剤耐性との関連から注目されている北京遺伝子型株の分離状況についても調査した。

[キーワード：結核菌，データベース，VNTR 解析，北京型]

[Key words : *M.tuberculosis*, database, VNTR analysis, Beijing type]

### 1 はじめに

岡山県では、結核の感染源・感染経路の究明や二次感染予防を目的に、結核菌の DNA 解析を行い、菌株情報と融合させたデータベースを構築して、感染事例の疫学調査に活用している<sup>1), 2)</sup>。結核菌の遺伝子型別は、国内標準法として提唱されている JATA (12)-VNTR 解析法(以下「JATA (12)-VNTR」という。)を用い<sup>3)</sup>、さらに、その型別能力を補うために、JATA (15)-VNTR 解析法(以下「JATA (15)-VNTR」という。)及び超多変(hypervariable, HV)領域の VNTR 解析法(以下「HV-VNTR」という。)も追加して解析を実施している<sup>4), 5)</sup>。今回は、試験室内汚染疑い 1 事例、家族内感染疑い 1 事例、施設内感染疑い 1 事例及び BCG との鑑別 1 事例の計 4 つの事例と、その他の散発事例について、DNA 解析を行いデータベースを活用して感染源を調査した。

ここで、結核菌の遺伝子型においては、世界の分離株の約 3 割が属し<sup>6)</sup>、我が国でも分離株の 7 割以上が属する北京型株(Beijing genotype strain)が、感染伝播力の強さや薬剤耐性との関連性から結核対策上重要視されている<sup>7), 8)</sup>。さらに、北京型株は新興型(modern type)と祖先型(ancient type)に区分され、新興型株は感染伝

播力が強く発病し易いと言われている<sup>9)</sup>。我が国では、過去の再燃ではなく現在の感染を反映している若年者層の結核患者で新興型株が分離される割合が高いため<sup>10)</sup>、新興型株の動向に注目する必要がある。これらのことから、平成 26 年度も昨年度に引き続き、北京型株の検出及び新興型と祖先型の区分も実施し、データベースに追加した。

### 2 材料及び方法

#### 2.1 平成 26 年度の DNA 解析対象株

県内の医療機関または検査機関において分離された結核菌のうち、試験室内汚染疑い事例の 2 株、家族内感染疑い事例の 2 株、施設内感染疑い事例の 4 株及び BCG との鑑別の 1 株と、以下の条件に該当した散発事例 61 株の計 70 株が搬入され、重複する 1 株を除く 69 株で VNTR 解析を実施した。

- (1) 60 歳以下の塗抹陽性患者の菌株
- (2) 保健所から依頼のあった菌株
  - ・ 社会福祉施設等(集団生活等)で発生した患者(利用者、職員)の菌株
  - ・ 接客業、看護師、保健師、保育士、教員、医師

等の菌株

- ・その他保健所長が必要と判断した患者の菌株

## 2.2 安全対策

感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律(平成10年法律第114号)(以下「感染症法」という。)に基づき通知されている「特定病原体等の運搬に係る容器等に関する基準(平成19年厚生労働省告示第209号)」に従って菌株を運搬した。

また、搬入された菌株の管理は、感染症法第56条の24及び第56条の25に適合した施設で行った。

結核菌のDNA抽出は、バイオセーフティーレベル3の施設内でN95微粒子用マスクを装着し、クラスⅡの安全キャビネットを使用して行った。

## 2.3 菌株からのDNA抽出

DNA抽出は、結核菌VNTRハンドブック(地研協議会保健情報疫学部会マニュアル作成ワーキンググループ編 第一版2012年)の「菌懸濁液の加熱死菌上清の作成方法」に準じて行った。

## 2.4 VNTR解析

全69株でJATA(12)-VNTR<sup>3)</sup>を実施し、JATA(12)-VNTR型が69株中またはデータベース中の株と一致した場合は、JATA(15)-VNTR及びHV-VNTRを追加し、解析結果をデータベースに登録した。VNTR解析及びデータベース作成には、解析ソフトBioNumerics ver 7.1 (APPLIED MATHS)を用いた。

## 2.5 事例の感染源究明

試験室内汚染疑い1事例(事例1)、家族内感染疑い1事例(事例2)、施設内感染疑い1事例(事例3)及びBCGとの鑑別1事例(事例4)の4つの事例について、患者から分離された結核菌のVNTR解析により感染源を究明した(表1)。

## 2.6 北京型と他の遺伝子型の区別

北京型と他の遺伝子型の区別は、Warrenらの方法<sup>11)</sup>に従って実施した。

## 2.7 北京型株における新興型と祖先型の区分

新興型と祖先型の区分は、Mokrousovらの方法<sup>12)</sup>に従って実施した。

## 3 結果

### 3.1 VNTR解析結果

平成25年度に解析した結核菌69株のVNTR型を、

図1に示した。

69株について、JATA(12)-VNTRとJATA(15)-VNTR及びHV-VNTRを組み合わせて解析したところ、2～3株を含む4組のクラスターが形成された(図1 事例1, 2, 3及び①)。

69株のVNTR型をデータベース中の他株と比較したところ、クラスター①を含む13組14株がJATA(12)-VNTR, JATA(15)-VNTR及びHV-VNTR全てで一致したが、過半数が70～80歳代の患者分離株で、発病時期に数年以上の開きがあり、患者間の関連性は認められなかった。

### 3.2 事例の検討結果

結果は、表1に示すとおりであった。

事例1及び2は、それぞれ試験室内汚染及び家族内感染と判断された。事例3では、介護老人保健施設で発生した集団感染に関連した4名の患者のうち、発病時期が他の3名と異なった患者eが別の感染源と判明した。事例4では患者分離株のVNTR型がBCG株とは異なったため(図2)、免疫療法で用いられたBCG株が起因菌ではないことが判った。

### 3.3 北京型と他の遺伝子型の区別及び北京型株における新興型と祖先型の区分

結果は、表2に示すとおりであった。

試験室内汚染の1株を除いた68株中46株が北京型を示し(67.6%)、うち、新興型が11株(23.9%)で祖先型が34株(73.9%)であった。北京型株の分離状況を患者の年齢別で見ると、60歳より若い患者では新興型が38.5%であったが、60歳以上では18.8%であり(図3)、若年層の患者において、祖先型よりも新興型の割合が高い傾向が見られた。

## 4 考察

JATA(12)-VNTR, JATA(15)-VNTR及びHV-VNTR全てでデータベース中の他株と一致した13組14株のうち、同じ市内に居住していた20歳代の患者2名の分離株から成るクラスター①は、データベース中の同市内に居住していた30～40歳代の2名の患者分離株と一致した。4名の年齢が若いことから、最近の感染で何らかの接点が存在すると思われるが、関連性は見つけられなかった。このような潜在的な接点を検出するためには、疫学調査において、空気感染という結核の特殊な感



表1 事例の概要

事例	No.	所管保健所	患者	届出時年齢	届出	発病	VNTR型	事例概要	
1	1569	W	a		未届	結核症状無	一致	患者aは、臨床で結核症状を示していなかったが結核菌が分離され、その検体は結核患者bの検体と同時に検査されていたため、試験室内汚染が疑われた。 患者a・b分離株のVNTR分析の結果、遺伝子型が一致し、aの検体は検査時にbの検体に汚染されたと考えられた。	
	1570		b	88	2014/3/31	2014/3/27			
2	1608	X	c	84	2014/4/14	?	一致	患者cとdは家族で、両者から分離された結核菌DNAのVNTR型が一致したので、cからdへの感染と考えられた。	
	1609		d	80	2014/8/18	2014/7/7			
3	1610	Y	e	86	2013/4/11	?	相違 .....	患者e~hは、介護老人保健施設で職員・入所者合わせて8人が結核に感染し、うち5人が発病した集団感染事例の入所者(e, g, h)と職員(f)であった。e~hの分離株のVNTR分析の結果、f, g, h分離株の遺伝子型は一致したが、e分離株は異なっていた。eは発病時期が他の3名より早く、VNTR型も異なっていたため、集団感染とは別の感染源による発病と考えられた。 gは平成25年に入所した時点で肺に陰影があり、かなり以前から咳をしていたとのことから、この集団感染の初発患者と推測された。	
	1611		f	51	2014/8/14	?			
	1612		g	70	2014/8/27	2014/2/-			一致
	1631		h	74	2014/9/10	2014/8/24			
4	1630	Z	i	88	2014/11/20		BCG Tokyo株及びBCG Glaxo株とは一致せず	患者iは2014年4月に膀胱がんと診断され、その免疫療法としてBCG膀胱注入療法を同年9月までに4~5回受けていた。その後、11月20日に胸部X線とCT画像で浸潤影が認められ、喀痰検査でG5を示し、PCR陽性となって肺結核と診断された。 この肺結核の起原菌が結核菌か膀胱がんの免疫療法に使用されたBCG株かを判断するためVNTR分析を実施し、BCG株と比較したところ、VNTR型が異なったので(図2)、結核菌による発病と判断された。	

染様式を考慮に入れ、利用する施設やバス・電車等の交通機関、イベント等への参加状況などより詳細な情報入手する必要があると思われた。

4つの感染事例の検討では、VNTR解析により感染源についての科学的な根拠を示すことが出来、接触者健診等の対応に役立てられた。

北京型の分離状況では、67.9%が北京型に属し、全国的な調査結果(73.8%)および昨年度の県内の結果(77.8%)と大きな違いは無かった<sup>2), 7), 13)</sup>。北京型株の

うち、新興型は、昨年度と同様に若年者層の患者で多く分離されたので、引き続きその動向を調査する必要があると思われた。

今後も、県内の結核菌分離株について、JATA(12)-VNTRにJATA(15)-VNTRとHV-VNTRの両法を加えた方法で解析を行い、併せて北京型株の分離状況を調査することでデータベースの充実を図り、結核対策に役立てる予定である。

JATA12

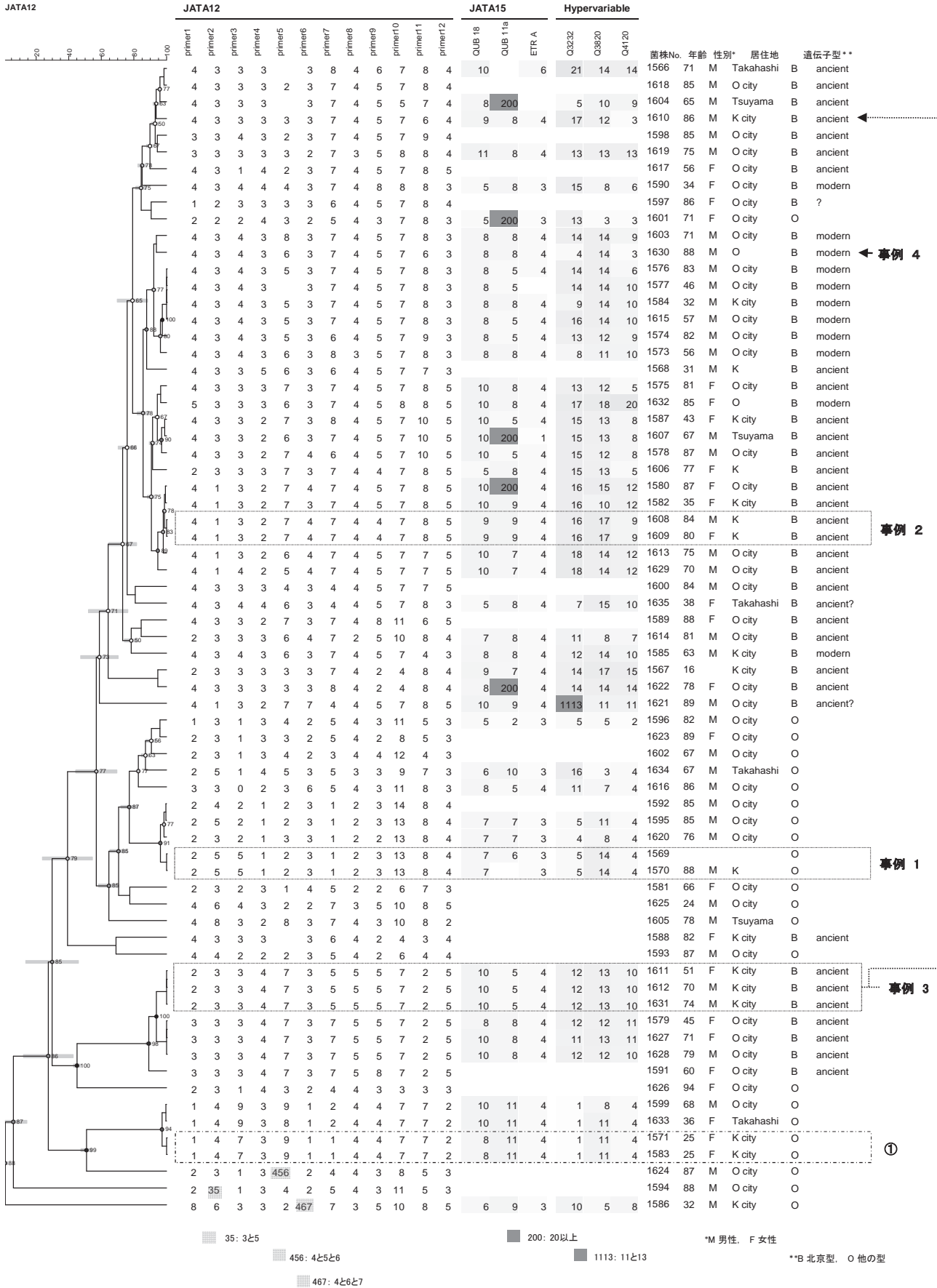


図1 平成26年度に解析した結核菌69株のVNTR型

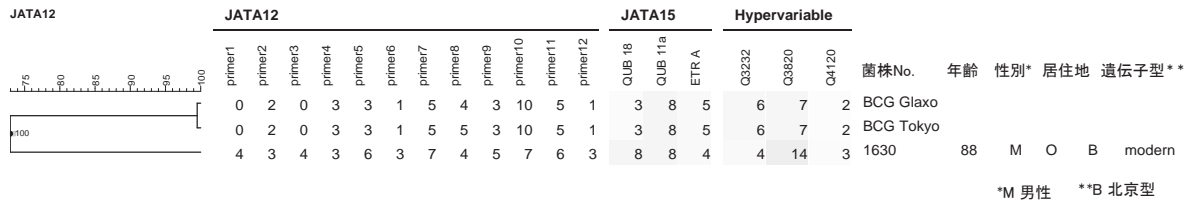


図2 BCG株との鑑別

表2 北京型株の分離状況

患者の年齢	10-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	80-89	90-	total	%	
北京型	新興型			2	1	2	1	1	4	11 (23.9%)		
	祖先型	1		3	2	2	3	10	13	34 (73.9%)		
	不明								1	1 (2.2%)		
小計	1		5	3	4	4	11	18	46 (100%)	67.6		
他の型			3	2			4	3	9	1	22	32.4
合計	1	3	7	3	4	8	14	27	1	68*	100.0	

\*解析した69株中、事例1の1株(No.1569)は試験室内汚染のため除外

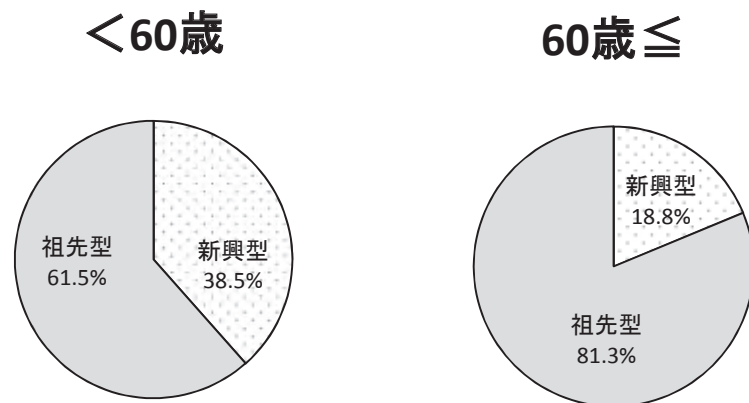


図3 患者の年齢別北京型株分離状況

## 文 献

- 1) 大島律子, 中嶋 洋: 結核対策における地域ベースの結核菌 RFLP 解析の意義, 日本公衆衛生雑誌, 52, 736-745, 2005
- 2) 大島律子, 河合央博, 中嶋 洋: 結核疫学調査における結核菌 DNA 解析データベースの活用 (6), 岡山県環境保健センター年報, 38, 43-47, 2014
- 3) 前田伸司, 村瀬良朗, 御手洗 聡, 菅原 勇, 加藤 誠: 国内結核菌型別のための迅速・簡便な反復配列多型 (VNTR) 分析システム, 結核, 83, 673-678, 2008
- 4) 和田崇之, 長谷 篤: 結核菌の縦列反復配列多型性 (VNTR) 解析に基づく分子疫学とその展望, 結核, 85, 845-852, 2010
- 5) 前田伸司, 和田崇之, 岩本朋忠: 国内結核菌を効率よく型別するための標準反復配列多型 (VNTR) 分析法, 日本細菌学雑誌, 65, 201, 2010
- 6) Abebe F, Bjune G: The emergence of Beijing family genotypes of *Mycobacterium tuberculosis* and low-level protection by bacille Calmette-Guerin (BCG) vaccines: is there a link?, Clin Exp Immunol, 145, 389-397, 2006
- 7) 岩本朋忠: 結核菌分子疫学研究の将来展望, 結核, 84, 789-791, 2009
- 8) Bifani PJ, Mathema B, Kurepina NE, Kreiswirth BN: Global dissemination of the *Mycobacterium tuberculosis* W-Beijing family strains, Trends Microbiol, 10, 45-52, 2002
- 9) Hanekom M, van der Spuy GD, Streicher E, Ndabambi SL, McEvoy C. R. E, et al.: A Recently evolved sublineage of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strain family is Associated with an increased ability to spread and cause disease, J Clin Microbiol, 45, 1483-1490, 2007
- 10) Iwamoto T, Fujiyama R, Yoshida S, Wada T, Shirai C, et al.: Population structure dynamics of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strains during past decades in Japan, J Clin Microbiol, 47, 3340-3343, 2009
- 11) Warren RM, Victor TC, Streicher EM, Richardson M, Beyers N, et al.: Patients with active tuberculosis often have different strains in the same sputum specimen, Am J Respir Crit Care Med, 169, 610-614, 2004
- 12) Igor Mokrousov I, Jiao WW, Valcheva V, Vyazovaya A, Otten T: Rapid detection of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype and its ancient and modern sublineages by IS6110-Based inverse PCR, J Clin Microbiol, 44, 2851-2856, 2006
- 13) 大島律子, 多田敦彦: 岡山地区で分離された結核菌における Beijing family および他の遺伝子型, 結核, 79, 47-53, 2004

【調査研究】

## 胃腸炎ウイルスの疫学的研究

－岡山県の散発胃腸炎患者におけるロタウイルス A の流行状況(2013/2014 シーズン)－  
Epidemiological Studies on Viruses Causing Gastroenteritis in Okayama  
－ Surveillance of Rotavirus A from Sporadic Gastroenteritis in Okayama Prefecture(2013-2014) －

藤原香代子, 藤井理津志, 濱野雅子, 磯田美穂子, 松岡保博, 井上 勝<sup>1</sup>, 濃野 信<sup>2</sup>,  
金谷誠久<sup>3</sup> (ウイルス科)

<sup>1</sup>岡山赤十字病院小児科, <sup>2</sup>のうの小児科, <sup>3</sup>国立病院岡山医療センター小児科  
Kayoko Fujiwara, Ritsushi Fujii, Masako Hamano, Mihoko Isoda, Yasuhiro Matsuoka,  
Masaru Inoue, Shin Nouno, Tomohisa Kanadani  
(Virology Section)

<sup>1</sup>Department of Pediatrics, Okayama Red-Cross Hospital,

<sup>2</sup>Nouno Pediatric Clinic,

<sup>3</sup>Department of Pediatrics, National Hospital Organization Okayama Medical Center

### 要 旨

2013/2014 シーズン(2013年9月～2014年8月)の散発胃腸炎患者ふん便 698 件について、イムノクロマト法または酵素抗体法によるロタウイルス A の検索を行い、陽性となった 95 件について、逆転写 PCR 法により G 型別と P 型別を実施した。その結果、95 件すべてでロタウイルス A 遺伝子が確認された。ロタウイルス A の検出時期は 2014 年 1 月～7 月で、検出のピークは 3 月～5 月であった。年齢別では、1 歳の 32 件(33.7%)が最も多かった。G 型別は 94 件で判定可能であり、内訳は G1 が 59 件、G2 が 30 件、G3 及び G9 が 2 件、G1 と G2 の混合感染が 1 件であった。P 型別は 66 件で判定可能であり、内訳は P[8] が 64 件、P[4] が 2 件であった。G1P[8] と判定された 59 件について、従来株であるか遺伝子再集合体由来株であるかについて簡易的な鑑別を行った結果、鑑別可能であった全株が遺伝子集合体由来株と推定された。

[キーワード：ロタウイルス A, 胃腸炎, 逆転写 PCR, 遺伝子再集合体, ワクチン]

[Key words : Rotavirus A, Gastroenteritis, Reverse-transcription PCR, Reassortant, Vaccine]

### 1 はじめに

ロタウイルス A(以下「RVA」という。)は、レオウイルス科に属する 2 本鎖 RNA をゲノムとして持つウイルスで、外殻糖たん白(VP7)及び外殻スパイクたん白(VP4)をコードする遺伝子に基づき、それぞれ G(Glycoprotein の略号)遺伝子型及び P(Protease sensitive の略号)遺伝子型に分類される<sup>1)</sup>。現在までに、G 遺伝子型については G1～G27, P 遺伝子型については P[1]～P[35]がそれぞれ確認されており<sup>2)</sup>、さらに両者の組み合わせによって多くの遺伝子型が存在しうが、そのうちヒトから検出される頻度が高いのは、G1P[8], G2P[4], G3P[8],

G4P[8], 及び G9P[8]である<sup>1), 3)</sup>。

RVA は小児のウイルス性急性胃腸炎の病原体としてきわめて重要視されていることから、本ウイルスの感染予防を目的とした生ワクチンが複数メーカーで開発され、その導入が世界的に進められている<sup>4)</sup>。主なものとしては、ヒト RVA 株(G1P[8]型)由来の単価ワクチンである Rotarix<sup>®</sup>(グラクソ・スミスクライン社製)、及びヒト RVA の G1～G4 の VP7 遺伝子と P[8] の VP4 遺伝子を組み込んだウシ RVA 遺伝子組み換え株に由来する 5 価ワクチンである RotaTeq<sup>®</sup>(メルク社製)が知られている。我が国においては Rotarix<sup>®</sup>が 2011 年 7 月に、

RotaTeq<sup>®</sup>が2012年1月にそれぞれ製造承認され導入が開始された。我々は、県内におけるRVA流行状況を継続的に調査し、特定の血清型の流行推移<sup>5)~7)</sup>や、遺伝子再集合体RVAの県内侵入<sup>8)</sup>等を明らかにしてきた。特に2011/2012シーズンに県内侵入が確認された遺伝子再集合体RVAは、異なるゲノムグループ間(G1型プロトタイプであるWaゲノムグループとG2型プロトタイプであるDS-1ゲノムグループ)の遺伝子再集合体由来の株であった。すなわちこの株は、VP7及びVP4遺伝子型はWa株と同じG1P[8]であるが、VP6、NSP4及びNSP5/6遺伝子型がDS-1株と同一であった。これまでの結果を踏まえて、2013/2014シーズンも引き続き散発胃腸炎患者からのウイルス検出と遺伝子型別を行い、県内のRVA流行状況についてワクチンの影響等を解析した。

## 2 対象と方法

### 2.1 対象

2013年9月～2014年8月(毎年9月～翌年8月を1シーズンとする)に県内の3医療機関で採取された散発胃腸炎患者(年齢0歳～28歳)ふん便698件を用いた。

### 2.2 方法

市販のRVA検出キット(イムノクロマト法または酵素抗体法)によりRVAのスクリーニングを行い、陽性

となった検体について、市販キット(QIAamp Viral RNA mini kit, 株式会社キアゲン)によりRNAを抽出した。このRNAを用いて、Gouveaら<sup>9)</sup>の方法による逆転写PCR(以下「RT-PCR」という。)法でG遺伝子型別を、Wuら<sup>10)</sup>の方法によるRT-PCR法でP遺伝子型別を実施した。さらにG1P[8]と判定された株については、遺伝子再集合体由来の株か否かを簡易的に判別するため、NSP4遺伝子とNSP5/6遺伝子を増幅するRT-PCR法<sup>8)</sup>を実施した。これにより得られた産物サイズの比較を行い、NSP4産物>NSP5/6産物の株は、従来型(電気泳動像:Longパターン)株、NSP4産物<NSP5/6産物の株は、遺伝子再集合体由来型(電気泳動像:Shortパターン)株と推定した。

## 3 結果

### 3.1 ウイルス検出状況

ふん便検体698件のうち、スクリーニングで陽性となった95件すべてで、RT-PCR法によりウイルス遺伝子が確認され、RVA検出率は、13.6%であった。

月別の検査検体数とRVA検出率を図1に示す。RVAは2014年1月～7月の間、毎月検出され、検出率は、3月(35.9%:33/92)、4月(28.9%:26/90)、5月(22.4%:22/98)の順で高かった。

RVA遺伝子が検出された95件のうち、年齢不明例を

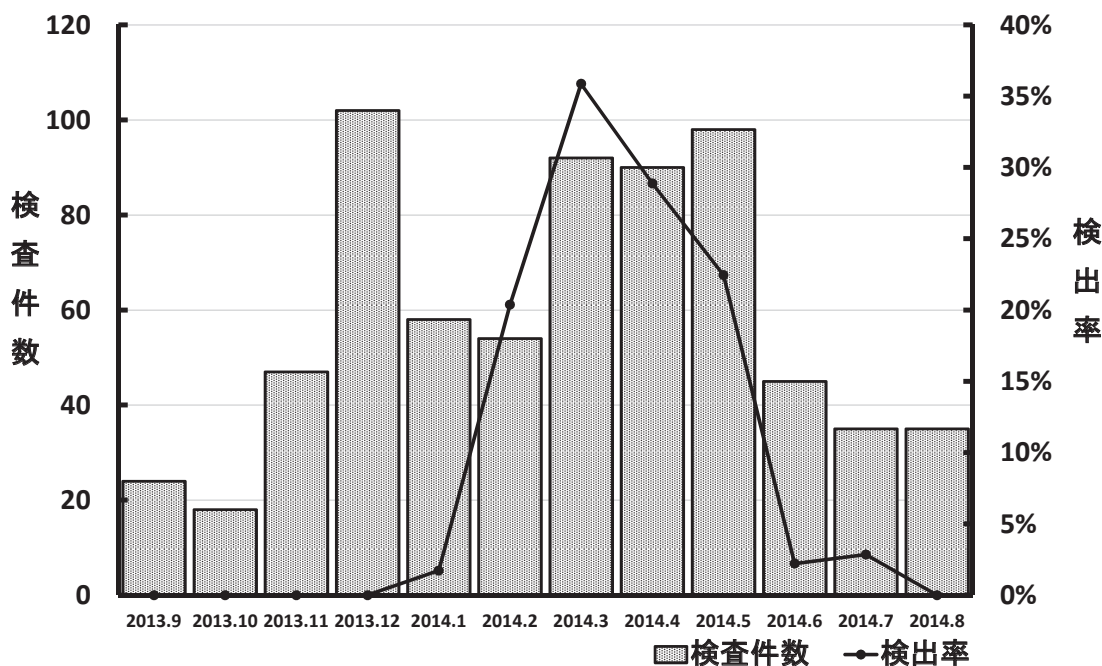


図1 月別ロタウイルス検査状況(2013/14シーズン)

除いた66件の患者年齢は0歳～10歳であり、1歳(32件:33.7%)が最も多く、3歳(11件:11.6%)、2歳(7件:7.4%)と続いた。

### 3.2 G 遺伝子型及び P 遺伝子型の解析

RVA 遺伝子が確認された95件のうち、94件でG遺伝子型が、66件でP遺伝子型が判定可能であった。各G遺伝子型の検出状況は、G1が59件(62.8%)と最も多く、次いでG2が30件(31.9%)、G3及びG9が各2件(2.1%)、G1とG2の混合感染例が1件(1.1%)であった。

各G遺伝子型の月別検出状況を表1に示す。G1は、2月～7月の間に検出され、3月～5月がピークであった。G2は、2月～5月の間に検出され、2月と3月がピークであった。

各G遺伝子型の年齢別検出状況を表2に示す。G1は、不明例を除く検出年齢は0歳～10歳で、特に1歳の検出が多かった。G2は、不明例を除く検出年齢は0歳～3歳及び8歳であった。

P 遺伝子型が判定可能であった66件の内訳は、P[8]

が64件(97.0%)、P[4]が2件(3.0%)であった。G 遺伝子型及びP 遺伝子型の両遺伝子型が検出された65件の内訳は、G1P[8]が59件(90.7%)と最も多く、G2P[4]、G3P[8]及びG9P[8]が各2件(3.1%)であった。

### 3.3 G1P[8] の遺伝子再集合体由来株解析

G1P[8]と同定された59件のうち、58件でNSP4及びNSP5/6遺伝子のPCR産物が得られた。PCR産物サイズの比較を行ったところ、全てNSP4<NSP5/6となり、G1P[8]と同定された全ての株が遺伝子再集合体由来株と推定された。

## 4 考察

2013/2014シーズンの岡山県内におけるRVAの流行は、3月～5月をピークとするG1P[8]を主流型とするものであった。G1P[8]はヒトから最も高頻度に検出されるといわれる遺伝子型であり、県内では2011/2012シーズン後半から検出割合が増加した<sup>8)</sup>。

RVA 検出率は、ワクチン導入前の7シーズン

表1 各G 遺伝子型の月別検出状況

遺伝子型	採取月											計 (%)	
	2013.09	2013.10	2013.11	2013.12	2014.01	2014.02	2014.03	2014.04	2014.05	2014.06	2014.07		2014.08
G1						3	19	20	15	1	1		59 (62.8)
G2						8	12	5	5				30 (31.9)
G3							2						2 (2.1)
G9					1				1				2 (2.1)
混合型								1					1 (1.1)
計					1	11	33	26	21	1	1		94

表2 各G 遺伝子型の年齢別検出状況

遺伝子型	年齢(歳)											計 (%)
	0	1	2	3	4	5	6	8	10	不明		
G1	4	21	2	6	4	1	2	1	1	17	59	
G2	1	8	5	5				1		10	30	
G3										2	2	
G9	1	1									2	
混合型			1								1	
計 (%)	6 (6.4)	31 (33.0)	7 (7.4)	11 (11.7)	4 (4.3)	1 (1.1)	2 (2.1)	2 (2.1)	1 (1.1)	29 (30.8)	94	

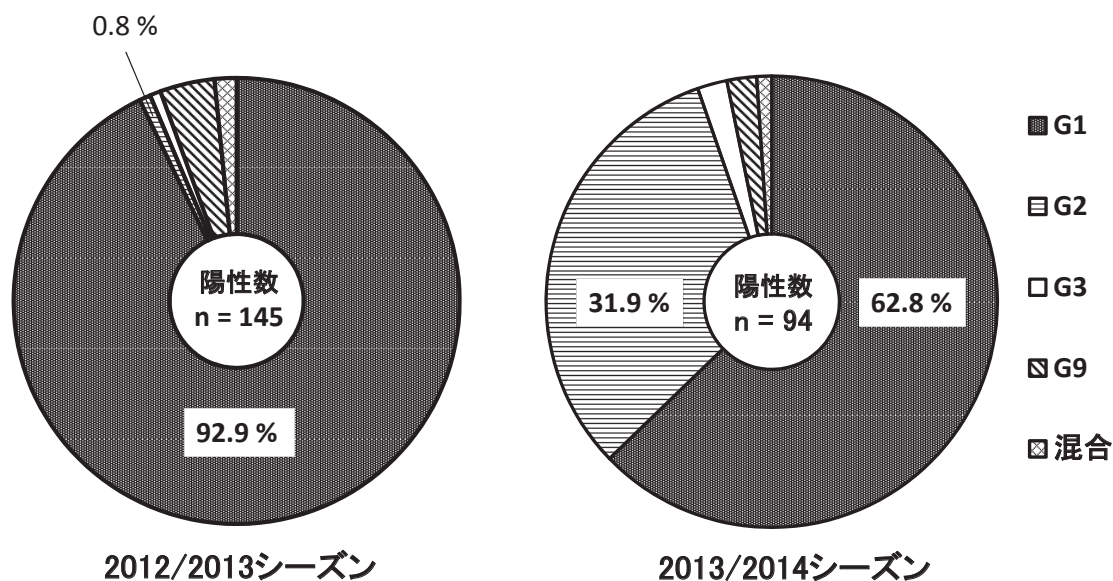


図2 G 遺伝子型別検出状況の比較

(2004/2005 シーズン～2010/2011 シーズン)において20.4%～30.1%の範囲であり、いずれのシーズンも20%以上で推移していた<sup>6),7)</sup>。これに対して、2013/2014シーズンの検出率は13.6%と低く、ワクチン導入による影響の可能性が考えられた。

2013/2014 シーズンと2012/2013 シーズンの各G遺伝子型検出状況の比較を図2に示す。主流行型は両シーズンともにG1であったが、2013/2014シーズンは、G1の割合が2012/2013シーズンと比較して低下した一方で、2012/2013シーズンにはほとんど検出されなかったG2の割合が大きく上昇した。既にワクチンを導入しているブラジル等においては、単価のワクチンによってG1が抑制された結果、血清型シフトが起こりG2の検出割合が上昇したと報告<sup>11), 12)</sup>されており、県内でも同様の現象が発生した可能性が考えられた。一方、県内における過去のG2検出割合を見ると、2000/2001シーズンは最多の47.0%、2006/2007シーズンはG1に次ぐ32.6%と、他のシーズンと比べてG2検出割合が高いシーズンが存在し<sup>5), 6)</sup>、2013/2014シーズンのG2の増加は自然変動の範囲内である可能性も考えられた。

G1P[8]の遺伝子再集合体由来株は、2011/2012シーズンに県内で初めて存在が確認されて以降<sup>8)</sup>、2012/2013シーズンはG1P[8]の3割を占めていた<sup>13)</sup>が、2013/2014シーズンでは検出されたすべての株が遺伝子再集合体由来株と推定された。これにより、従来遺伝的に不安定と

考えられてきた遺伝子再集合体由来株が3シーズン連続で流行したこととなり、新たな流行株として県内に定着した可能性が考えられた。

今後もワクチン導入によるRVA流行状況に対する影響を検証していくために、検出率の動向及び遺伝子再集合体由来株を含めたRVA流行株の推移について、長年にわたる注意深いモニタリングが必要と考えられる。

## 文 献

- 1) 小林宣道, 浦沢正三: ロタウイルス, ウイルス, 50: 157-172, 2000
- 2) Matthijnssens, J., Ciarlet, M., McDonald, S. M., Attoui, H., Banyai, K., Brister, J. R., Buesa, J., Esona, M. D., Estes, M.K., Gentsch, J. R., Iturriza-Gómara, M., Johne, R., Nakagomi, O., Parreno, V., Rahman, M., Ruggeri, F. M., Saif, L. J., Santos, N., Steyer, A., Taniguchi, K., Patton, J. T., Desselberger, U., Van Ranst, M.: Uniformity of rotavirus Classification Working Group (RCWG). Arch. Virol., 156: 1397-1413, 2011
- 3) Santos, N. and Hoshino, Y.: Global distribution of rotavirus serotypes/genotypes and its implication for the development and implementation of an effective rotavirus vaccine. Rev Med Virol. 15: 29-



- 56, 2005
- 4) 中込治, 中込とよ子: ワクチンによるロタウイルスの感染制御, ウイルス, 60: 33-48, 2010
  - 5) 葛谷光隆, 濱野雅子, 藤井理津志, 小倉肇, 金谷誠久, 実村信: 岡山県における A 群ロタウイルス検出状況と血清型分布の最近の動向, 病原微生物検出情報, 26, 4-6, 2005
  - 6) 葛谷光隆, 濱野雅子, 木田浩司, 藤井理津志, 岸本壽男, 金谷誠久, 西村恵子: 岡山県における A 群ロタウイルスの検出状況と血清型分布の最近の動向, 病原微生物検出情報, 32, 71-72, 2011
  - 7) 濱野雅子, 木田浩司, 藤井理津志, 岸本壽男, 葛谷光隆, 金谷誠久, 福岡義久: 岡山県における A 群ロタウイルスの検出状況 (2010/11 ~ 2012/13 シーズン), 病原微生物検出情報, 35, 68-69, 2014
  - 8) Kuzuya M, Fujii R, Hamano M, Kida K, Mizoguchi Y, Kanadani T, Nishimura K, Kishimoto T.: Prevalence and molecular characterization of G1P[8] human rotaviruses possessing DS-1-like VP6, NSP4, and NSP5/6 in Japan. *Med Virol*. 2014 Jun; 86 (6): 1056-64. doi: 10.1002 / jmv. 23746. Epub 2013 Sep 16
  - 9) Gouvea V., Glass, R.L., Woods, P., Taniguchi, K., Clark, H. F., Forrester, B. and Fang, Z. Y.: Polymerase chain reaction amplification and typing of rotavirus nucleic acid from stool specimens, *J. Clin. Microbiol.*, 28: 276-282, 1990
  - 10) Wu, H., Taniguchi, K., Wakasugi, F., Ukae, S., Chiba, S., Ohseto, M., Hasegawa, A., Urasawa T., Urasawa, S. : Survey on the distribution of the gene 4 alleles of human rotaviruses by polymerase chain reaction., *Epidemiol.Infect.*, 112 : 615-622, 1994
  - 11) Correia JB, Patel MM, Nakagomi O, Montenegro FM, Germano EM, Correia NB, Cuevas LE, Parashar UD, Cunliffe NA, Nakagomi T. Effectiveness of Monovalent Rotavirus Vaccine (Rotarix) against Severe Diarrhea Caused by Serotypically Unrelated G2P[4] Strains in Brazil. *J Infect Dis*. 201 : 363-369, 2010
  - 12) Nakagomi T, Cuevas LE, Gurgel RG, Elrokhsi SH, Belkhir YA, Abugalia M, Dove W, Montenegro FM, Correia JB, Nakagomi O, Cunliffe NA, Hart CA. Apparent extinction of non-G2 rotavirus strains from circulation in Recife, Brazil, after the introduction of rotavirus vaccine. *Arch Virol* 153 : 591-593, 2008
  - 13) 濱野雅子, 藤井理津志, 木田浩司, 葛谷光隆, 橋原幸二, 井上勝, 濃野信, 金谷誠久: 胃腸炎ウイルスの疫学的研究 - 岡山県の散発胃腸炎患者におけるロタウイルス A の流行状況 (2012/2013 シーズン), 岡山県環境保健センター年報, 38, 55-58, 2014



【調査研究】

## 岡山県におけるマダニの生息状況と 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)ウイルス保有調査

Inhabitation Surveillance and Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome (SFTS) Virus  
Detection of Ticks in Okayama Prefecture

濱野雅子, 磯田美穂子, 藤原香代子, 松岡保博, 藤井理津志, 木田浩司\*, 島村琢自\*\*, 芦田顕彦\*\*\*,  
宇田晶彦\*\*\*, 森川 茂\*\*\* (ウイルス科)

\*美作保健所, \*\*備中保健所, \*\*\*保健福祉部健康推進課, \*\*\*\*国立感染症研究所 獣医科学部  
Masako Hamano, Mihoko Isoda, Kayoko Fujiwara, Yasuhiro Matsuoka, Ritsushi Fujii, Kouji Kida\*,  
Takuji Shimamura\*\*, Akihiko Ashida\*\*\*, Akihiko Uda\*\*\*\*, and Shigeru Morikawa\*\*\*\*  
(Virology Section)

\* Mimasaka Public Health Care Center, \*\* Bitchu Public Health Care Center

\*\*\* Health Promotion Division, Department of Health and Welfare

\*\*\*\* Department of Veterinary Science, National Institute of Infectious Diseases

### 要 旨

平成 25 年 8 月～平成 26 年 9 月の間, 県内 7 定点で月 1 回, 植生マダニを捕獲し, 形態学的観察により, 種等を鑑別集計した。また, 捕獲した成ダニと若ダニの一部について, 重症熱性血小板減少症候群ウイルス遺伝子検索を実施した。なお, 検索対象の一部は, 全国調査の一環として国立感染症研究所においてウイルス遺伝子検索を行った。7 定点すべてで, 合わせて 11 種 3,524 匹が捕獲され, キチマダニ, フタトゲチマダニ, ヒゲナガチマダニの割合が高かった。捕獲マダニの種類や数は, 月及び地点により差が見られ, 生息マダニ相は, 季節や地域により変化することがうかがわれた。全国調査で SFTS ウイルス保有例が確認された 5 種(キチマダニ, フタトゲチマダニ, ヒゲナガチマダニ, オオトゲチマダニ, タカサゴキラマダニ)については, いずれも県内での生息が確認され, 捕獲頻度も高かった。捕獲マダニ 1,577 匹(1,441 検体)のウイルス遺伝子検索の結果, フタトゲチマダニ 2 検体から SFTS ウイルス遺伝子が検出された。

[キーワード: 重症熱性血小板減少症候群, マダニ, 逆転写 PCR]

[Key words: Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome, Tick, Reverse-transcription PCR]

### 1 はじめに

重症熱性血小板減少症候群(以下「SFTS」という。)は, 2011 年に中国の研究者らによって発表されたブニヤウイルス科フレボウイルス属に分類される SFTS ウイルスによって引き起こされる新しい感染症であり<sup>1)</sup>, 2013 年 1 月に国内第 1 症例が報告されて以降, 西日本の 15 の県で 110 名の患者が確認されている(2015 年 4 月 8 日現在)<sup>2)</sup>。岡山県では, 2013 年 7 月に初めて 2 名の患者が相次いで確認された後, 2014 年 5 月と 7 月にさらに各 1 名の患者が確認され, これまでの患者確認数は 4 名となっている(2015 年 3 月 31 日現在)。この感染症は,

主にウイルスを保有するマダニに刺こうされることで感染するとされるが, 国内での媒介マダニ種やその生息状況については, 未調査であった。岡山県でも, 同じダニ媒介感染症である日本紅斑熱の患者発生に関連して, 地域や期間を限定した調査が実施されたことはあったものの, 県下のマダニに関する継続的な調査は実施されていなかった。今回, 県内での SFTS 患者発生を受けて, 県内各地の定点における年間を通じたマダニ生息状況と SFTS ウイルス保有状況の調査を行った。

## 2 対象と方法

### 2.1 対象

県下の5保健所管内の7地点を定点(A～G)とし、2013年8月～2014年9月の間、月1回旗振り法により採取した植生マダニを対象とした。保健所・支所ごとの定点配置、調査期間及びSFTS患者発生数を表1に示す。

表1 保健所別定点配置と調査期間

保健所	支所	調査定点	調査期間	SFTS患者発生数 (2015.3.31現在)
備前	東備	—	—	—
		A	2013年9月～2014年9月	2
	B	2013年8月～2014年9月		
備中	井笠	—	—	—
		C	2013年8月～2014年9月	1
	D	2013年9月～2014年9月		
備北	新見	E	2013年10月～2014年9月	—
		—	—	—
真庭	—	—	—	—
美作	勝英	F	2013年10月～2014年9月	—
		—	—	—
岡山市	—	G	2013年8月～2014年9月	1
倉敷市	—	—	—	—

### 2.2 方法

#### 2.2.1 捕獲マダニの鑑別と集計

捕獲したマダニは、形態学的観察により種・生育ステージ・雌雄を鑑別し、月ごとに集計した。

#### 2.2.2 捕獲マダニからのSFTSウイルス遺伝子検索

捕獲マダニのうち、種類ごとに若ダニ及び成ダニの一部を選び、個体ごとに潰して得られた内臓液をPBS(-)に浮遊させ、QIAamp viral RNA mini kitとQIACube(ともにQIAGEN社)を用いてウイルスRNAを抽出した。このRNAを用いて、まず、ヒトの臨床検体で用いられるSFTSウイルスの核たん白質をコードするNP遺伝子を標的としたワンステップ-逆転写PCR<sup>3), 4)</sup>のうちのプライマーセット2(SFTSV NP-2F / NP-2R)で増幅した後、内側に設定したプライマーセット(NP-3F / NP-3R 国立感染症研究所設計 未発表)でのnested-PCRによりウイルス遺伝子を検索した。

ただし、全国調査への協力分として国立感染症研究所へ送付したマダニについては、若ダニの複数個体プール及び成ダニの各個体から抽出されたウイルスRNAを用いて、ワンステップ-リアルタイム逆転写PCR<sup>3), 5)</sup>によりウイルス遺伝子検索が行われた。

## 3 結果

### 3.1 県内のマダニ生息状況

捕獲されたマダニは、11種、3,524匹であった。マダニは、調査した7地点すべてで捕獲された。また、調査した14ヶ月の間、毎月いずれかの定点で捕獲され、積雪で1月～4月の調査ができなかった定点Fを除く6定点では、それぞれの調査期間を通して毎月マダニが捕獲された。

捕獲されたマダニの種、生育ステージ及び雌雄別の数を表2に、種別割合を図1に示す。種別では、キチマダニが最も多く1,421匹(40.32%)、ついでフタトゲチマダニ

表2 生育ステージ別マダニ捕獲数

種類	ステージ	幼ダニ	若ダニ	成ダニ		計(匹)
				雌	雄	
キチマダニ		342	800	124	155	1,421
フタトゲチマダニ		314	684	250	47	1,295
ヒゲナガチマダニ		0	0	307	202	509
オオトゲチマダニ		26	46	7	21	100
アカコッコマダニ		16	52	1	0	69
タカサゴキララマダニ		21	27	0	1	49
ヤマアラシチマダニ		1	14	8	15	38
ヤマトマダニ		0	0	15	9	24
タネガタマダニ		3	2	3	6	14
タイワンカクマダニ		2	0	1	1	4
タカサゴチマダニ		0	1	0	0	1
計		725	1,626	716	457	3,524

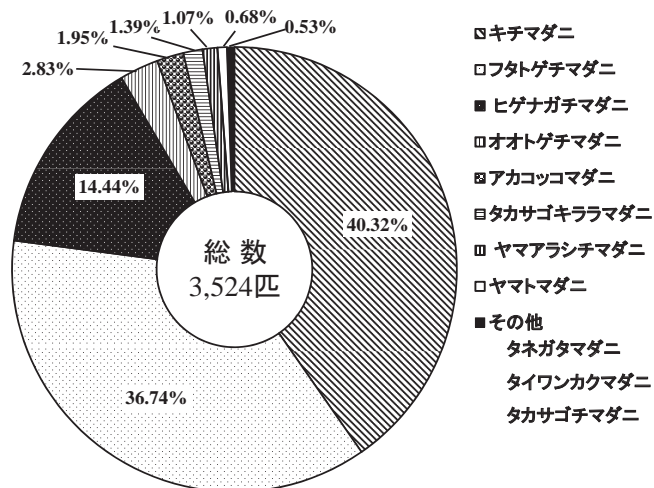


図1 捕獲マダニの種別割合(2013年8月～2014年9月)

表3 月別マダニ捕獲数

種類 \ 月	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	計(匹)
キチマダニ	90	59	112	40	52	21	28	198	229	162	223	207	1,421
フタトゲチマダニ	0	0	87	112	74	171	145	116	503	64	11	12	1,295
ヒゲナガチマダニ	91	134	93	57	28	0	0	0	0	3	48	55	509
オオトゲチマダニ	3	3	11	1	0	0	7	0	19	29	8	19	100
アカコッコマダニ	9	12	20	13	3	0	0	0	0	0	4	8	69
タカサゴキラマダニ	0	0	4	4	18	3	9	2	6	2	1	0	49
ヤマアラシチマダニ	0	0	0	1	4	4	11	9	9	0	0	0	38
ヤマトマダニ	0	0	3	4	13	3	1	0	0	0	0	0	24
タネガタマダニ	3	0	0	0	1	1	0	2	2	1	1	3	14
台湾ンカクマダニ	0	0	0	0	0	0	0	1	3	0	0	0	4
タカサゴチマダニ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1

■ は、捕獲があった月

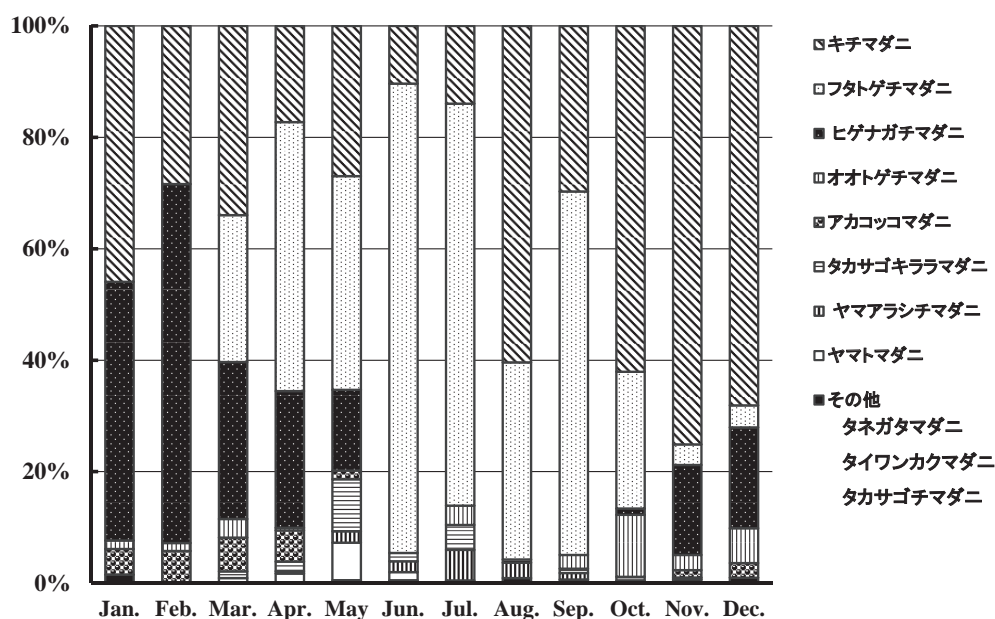


図2 月別マダニの種別捕獲割合

ニ 1,295 匹(36.74%)、ヒゲナガチマダニ 509 匹(14.44%)、オオトゲチマダニ 100 匹(2.83%)、アカコッコマダニ 69 匹(1.95%)、タカサゴキラマダニ 49 匹(1.39%)、ヤマアラシチマダニ 38 匹(1.07%)、ヤマトマダニ 24 匹(0.68%)、タネガタマダニ 14 匹(0.39%)、台湾ンカクマダニ 4 匹(0.11%)、タカサゴチマダニ 1 匹(0.02%)の順であった。生育ステージ別では、若ダニ 1,626 匹、成ダニ 1,173 匹、幼ダニ 725 匹の順に多く、成ダニでは雌(716 匹)が雄(457 匹)より多く捕獲された。

マダニの月ごとの種別捕獲数を表3に、種別割合を図2に示す。捕獲数の季節的消長は、種によって異なり、キチマダニが、夏にやや減少するもののほぼ通年捕獲されたのに対して、フタトゲチマダニは、厳寒期の1、2月を除く時季に捕獲され特に春から秋にかけて多く、タカサゴキラマダニ、ヤマアラシチマダニ及びヤマトマダニも同様の傾向であった。一方、ヒゲナガチマダニ、オオトゲチマダニ、アカコッコマダニは、秋から翌年春にかけて多く捕獲された。

表4 定点別捕獲マダニの種類

保健所	支所	調査定点	捕獲されたマダニ種(捕獲個体数の多い順)
備前	東備	A	<u>フタトゲチマダニ</u> , <u>オオトゲチマダニ</u> , <u>キチマダニ</u> , <u>タカサゴキララマダニ</u> , <u>ヒゲナガチマダニ</u> , <u>タイワンカクマダニ</u> , <u>ヤマアラシチマダニ</u> , <u>タカサゴチマダニ</u>
		B	<u>フタトゲチマダニ</u> , <u>ヒゲナガチマダニ</u> , <u>キチマダニ</u> , <u>オオトゲチマダニ</u> , <u>タカサゴキララマダニ</u> , <u>ヤマアラシチマダニ</u> , <u>タネガタマダニ</u> , <u>ヤマトマダニ</u>
備中	井笠	C	<u>キチマダニ</u> , <u>フタトゲチマダニ</u> , <u>アカコッコマダニ</u> , <u>タカサゴキララマダニ</u> , <u>ヤマアラシチマダニ</u> , <u>ヤマトマダニ</u> , <u>タネガタマダニ</u> , <u>タイワンカクマダニ</u>
		D	<u>キチマダニ</u> , <u>フタトゲチマダニ</u> , <u>ヤマアラシチマダニ</u> , <u>アカコッコマダニ</u> , <u>タネガタマダニ</u> , <u>タカサゴキララマダニ</u>
備北		E	<u>キチマダニ</u> , <u>ヤマアラシチマダニ</u> , <u>ヤマトマダニ</u> , <u>タカサゴキララマダニ</u> , <u>アカコッコマダニ</u> , <u>オオトゲチマダニ</u> , <u>フタトゲチマダニ</u>
美作		F	<u>キチマダニ</u>
岡山市		G	<u>ヒゲナガチマダニ</u> , <u>キチマダニ</u> , <u>フタトゲチマダニ</u> , <u>タカサゴキララマダニ</u> , <u>ヤマアラシチマダニ</u> , <u>ヤマトマダニ</u> , <u>タネガタマダニ</u> , <u>オオトゲチマダニ</u>

下線は、全国調査でウイルス保有例が確認されている種

定点ごとの捕獲マダニの種類を、捕獲個体数の多い順に表4に示す。キチマダニは、すべての定点で捕獲された。また、フタトゲチマダニ、タカサゴキララマダニ及びヤマアラシチマダニは、定点Fを除く6定点で捕獲された。一方、ヒゲナガチマダニは県東部の3定点(A, B, G)のみ、アカコッコマダニは県西部の3定点(C, D, E)のみで捕獲された。

### 3.2 県内のマダニのSFTSウイルス保有状況

捕獲されたマダニのうち、1,577匹(1,441検体)(県実施分:1,392匹(1,392検体), 国実施分:185匹(49検体) - 2013年8月及び9月に捕獲された若ダニ及び成ダニ)についてSFTSウイルスの遺伝子検索を実施した。その結果、フタトゲチマダニ2検体(いずれも国実施分:2013年8月に捕獲された雌成ダニ1件と同年9月に捕獲された若ダニのプール検体1件)からSFTSウイルスの遺伝子が検出された。

## 4 考察

今回の調査の結果、マダニは調査定点すべてで捕獲された。また、調査した14ヶ月の間、いずれかの定点で毎月マダニが捕獲され、特に、積雪の影響がなかった6定点ではそれぞれの調査期間を通して毎月捕獲された。このことは、岡山県では、マダニが広い地域に季節を問わず生息していることを示している。種類も11種に上り、種ごとに生息数の季節変動があり、大まかに「通年

型(キチマダニ)」、「春～秋型(フタトゲチマダニ、タカサゴキララマダニ、ヤマアラシチマダニ、ヤマトマダニ等)」、「秋～春型(ヒゲナガチマダニ、オオトゲチマダニ、アカコッコマダニ)」の3パターンがあることも明らかになった。

一般的に節足動物媒介感染症においては、つつが虫病リケッチアとツツガムシ、日本脳炎ウイルスとコガタアカイエカ、デングウイルスとヒトスジシマカというように、限定的な種類の節足動物によって媒介されることが多い。中国におけるSFTSウイルス媒介マダニは、フタトゲチマダニとオウシマダニにとされている<sup>1)</sup>。日本における媒介マダニ種については、全国調査でキチマダニ、フタトゲチマダニ、ヒゲナガチマダニ、オオトゲチマダニ、タカサゴキララマダニでSFTSウイルス遺伝子が検出された例が確認されており<sup>5), 6)</sup>、この5種が媒介種である可能性がある。今回の調査では、キチマダニが全定点、フタトゲチマダニ、タカサゴキララマダニが定点Fを除く6定点、オオトゲチマダニは4定点、ヒゲナガチマダニは3定点で捕獲されており、SFTSウイルスを媒介する可能性のある5種すべてが、県内各地に生息していることが明らかになった。また、全捕獲数に占めるこの5種の割合は、95.74%(3,374匹/3,524匹)に上り捕獲頻度も高かった。一方、ウイルス検索では、フタトゲチマダニからウイルス遺伝子が検出されており、岡山県における媒介種の一つと考えられた。ただし、マ

ダニからのウイルス検出率自体は0.14% (2検体/1,441検体)とわけて低く、マダニにおけるSFTSウイルスの高度な浸潤は、今回の調査では確認されなかった。

以上より、岡山県内には、SFTSウイルスを媒介する可能性のあるマダニが広く分布しており、活動期とされる春から秋のみならず冬季にも生息していることが明らかとなった。実際、全国的には冬季にも少数ながら患者発生が見られており<sup>2)</sup>、他地域でも同様の生息状況であると推察された。ウイルスの主な感染経路がマダニによる刺さることから、SFTS感染防止のために、年間を通じて「身体に付着させない」、「かまれる前に取り除く」等のマダニ対策が最も重要である。

## 文 献

- 1) Yu X-J., Liang M-F., Zhang S-Y., Liu Y., Li J-D. et al: Fever with Thrombocytopenia Associated with a Novel Bunyavirus in China, N Engl J Med, 364, 1523-1532, 2011
- 2) 感染症発生動向調査で届け出られたSFTS症例の概要：国立感染症研究所ホームページ, <http://www.nih.go.jp/niid/ja/id/2238-disease-based/sa/sfts/3143-sfts.html>
- 3) Yoshikawa T., Fukushi S., Tani H., Fukuma A., Taniguchi S. et al: Sensitive and specific PCR systems for detection of both Chinese and Japanese severe fever with thrombocytopenia syndrome virus strains and prediction of patient survival based on viral load, J.Clin.Microbiol., 52, 3325-3333, 2014
- 4) 福士秀悦, 吉河智城, 谷 英樹, 福間藍子, 下島昌幸ら：重症熱性血小板減少症候群の検査法, 病原微生物検出情報, 35, 40-41, 2014
- 5) 森川 茂, 宇田晶彦, 木村昌伸, 藤田 修, 加来義浩ら：重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルスの国内分布調査結果(第二報), 病原微生物検出情報, 35, 75-76, 2014
- 6) 森川 茂, 宇田晶彦, 加来義浩, 木村昌伸, 今岡浩一ら：重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルスの国内分布調査結果(第一報), 病原微生物検出情報, 34, 303-304, 2013





【調査研究】

## 岡山県におけるインフルエンザ流行の疫学的解析(2013～2014年シーズン)

Epidemiological Analysis of Influenza in Okayama Prefecture during 2013 to  
2014 Season

松岡保博, 濱野雅子, 磯田美穂子, 藤原香代子, 藤井理津志, 筒井みちよ\*, 芦田顕彦\*\*  
(ウイルス科)

\*岡山県感染症情報センター, \*\*保健福祉部健康推進課

Yasuhiro Matsuoka, Masako Hamano, Mihoko Isoda, Kayoko Fujiwara, Ritsushi Fujii,  
Michiyo Tsutsui\* and Akihiko Ashida\*\*  
(Virology Section)

\*Okayama Prefectural Infectious Disease Surveillance Center

\*\*Health Promotion Division, Department of Health and Welfare

### 要 旨

2013～2014年シーズンの岡山県におけるインフルエンザは、岡山県感染症発生動向調査事業における患者発生状況から、2013年第52週(12月下旬)に流行が始まり、2014年第5週(2月上旬)をピークとし、2014年第22週(6月上旬)に終息したものと考えられた。患者から検出されたウイルスは、AH1pdm09型が48件、AH3型が45件、B型が30件であった。2013年中はAH3型のみを検出で、2014年に入りAH1pdm09型及びB型が検出され始めたが、流行のピークを迎えるまではAH3型が最も多く検出された。定点医療機関あたり患者数は、2月上旬に流行のピークを迎えた後も高い状態で推移し、3月上旬に至って減少に転じた。また、2月上旬以降のウイルス検出件数は、AH1pdm09型、B型、AH3型の順で多くなっていた。よって、2013～2014年シーズンは、2014年1月下旬まではAH3型を、2月上旬以降はAH1pdm09型を流行の中心とし、そこへシーズンを通して継続的に検出されたB型が加わった混合流行であると推察された。AH1pdm09型が加わった3種類の混合流行は、県内では2010～2011年シーズン以来であった。

[キーワード：岡山県, インフルエンザウイルス, インフルエンザ集団発生, 感染症発生動向調査, 疫学解析]

[Key words: Okayama Prefecture, Influenza virus, Outbreak of influenza, Infectious disease surveillance, Epidemiological analysis]

## 1 はじめに

2013～2014年シーズンの岡山県におけるインフルエンザ流行の詳細を明らかにするため、岡山県感染症発生動向調査事業(以下「発生動向調査」という。)の定点医療機関におけるインフルエンザ患者発生状況及び学校等におけるインフルエンザ集団発生事例の発生状況を解析した。また、患者から採取された咽頭拭い液等からインフルエンザウイルス(以下「Inf.V」という。)の検索を行った。

## 2 材料及び方法

### 2.1 インフルエンザ患者発生状況

発生動向調査の週別患者報告に基づき、定点医療機関あたり(以下「定点あたり」という。)のインフルエンザ患者数(1週間に1ヵ所の定点医療機関を受診したインフルエンザ患者数の平均値)を算出・集計した。集団発生事例の発生状況については、保健福祉部健康推進課がとりまとめた「インフルエンザとみられる学校等の臨時休業について」をもとに集計した。

### 2.2 Inf.V 検索材料

2013年10月～2014年8月に、発生動向調査におけ

る病原体定点及び積極的疫学調査で確認されたインフルエンザ患者 119 人及び 2013 年 11 月～2014 年 2 月にインフルエンザ集団発生が認められた 9 施設の患者 20 人、合計 139 人から採取した咽頭拭い液等を Inf.V 検索材料とした。

### 2.3 遺伝子検出法に基づく Inf.V 検索

遺伝子検出法に基づく Inf.V の検索については、国立感染症研究所から示された「インフルエンザ診断マニュアル(第2版)」に従って実施した。すなわち、QIAamp Viral RNA Mini Kit(株式会社キアゲン)を用い、検体からウイルス RNA を抽出後、前記マニュアルに従って逆転写リアルタイム PCR (RT-realtimePCR) 法を実施した。

### 2.4 Inf.V AH1pdm09 型の薬剤耐性マーカー遺伝子の検出

Inf.V AH1pdm09 型の薬剤耐性マーカー遺伝子の検出については、国立感染症研究所から示された「A/H1N1pdm09 H275Y 耐性株検出法実験プロトコール(2011年8月 ver.2)」に従って実施した。すなわち、遺伝子検出法により Inf.V AH1pdm09 型陽性となった検体について、MDCK 細胞を使用してウイルス分離を実施した<sup>1)</sup>。分離株からウイルス RNA を抽出し、前記マ

ニュアルに従って One-step RT-PCR 法を実施した後、耐性遺伝子の有無を解析した。その結果、耐性株及び耐性株と感受性株の混合株と判定された株については、国立感染症研究所にて、薬剤感受性試験を実施した。

## 3 結果

### 3.1 患者発生状況

発生動向調査における県全体の定点あたりのインフルエンザ患者数の推移を、図1に示した。2013年第52週(12月下旬)に、定点あたり患者数がインフルエンザ流行開始の目安とされる 1.0 人を超えた後、2014年第2週(1月上旬)には注意報レベルにあたる定点あたり 5.0 人を上回った。そこから患者数は急激に増加し、第5週(2月上旬)には定点あたり 28.89 人に達し、今シーズンのピークを迎えた。その後、患者数は定点あたり 20.0 人を超えた高い状態で推移したが、第10週(3月上旬)からは減少し、第21週(5月下旬)には定点あたり 1.0 人を下回り、流行はほぼ終息した。

インフルエンザとみられる学校等の臨時休業施設数及び県全体の定点あたりのインフルエンザ患者数の推移を図2に示した。今シーズンの臨時休業施設数は、652 施設であった。その内訳は、小学校 470 施設(72.1%)、幼

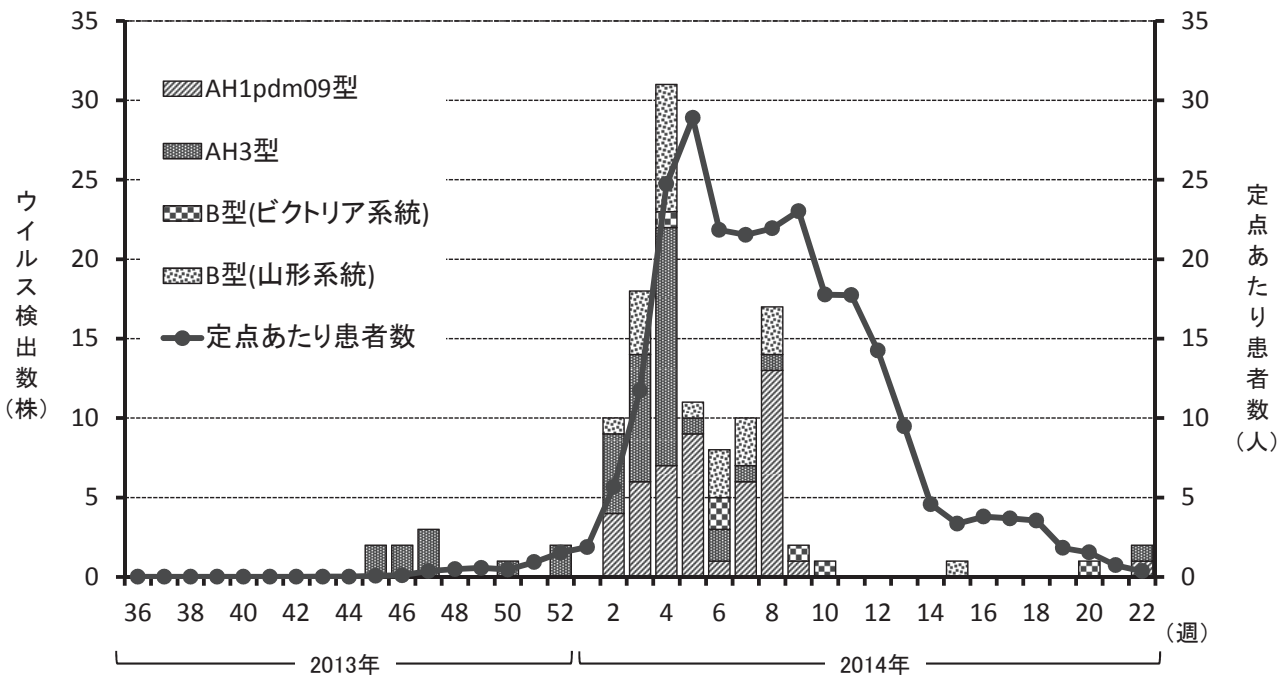


図1 週別の定点あたりインフルエンザ患者数及びウイルス検出状況

カラムが型別のウイルス検出数を、折れ線が県全体の定点あたり患者数を示す。

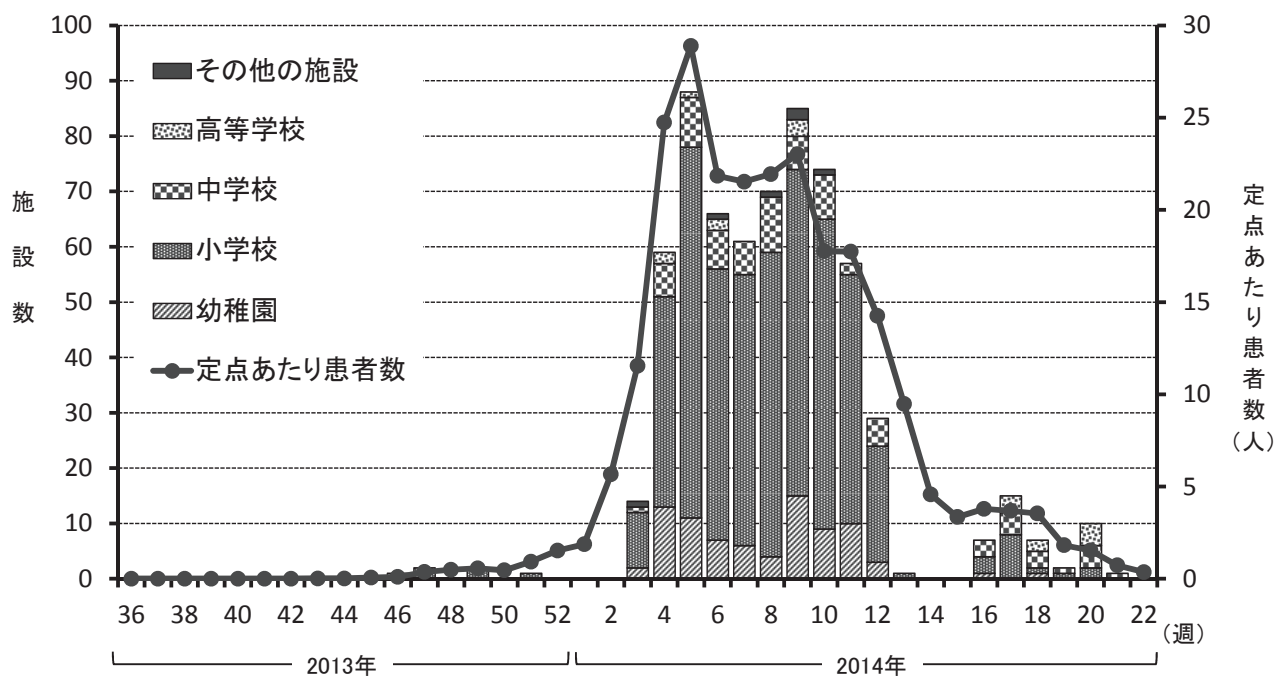


図2 週別のインフルエンザとみられる学校等の臨時休業施設数及び定点あたりインフルエンザ患者数

カラムが施設別の臨時休業数を、折れ線が県全体の定点あたり患者数を示す。

稚園 83 施設(12.7%)、中学校 76 施設(11.7%)、高等学校 17 施設(2.6%)、その他 6 施設(0.9%)であった。2014 年に入ると臨時休業施設数は急激に増加し、第 5 週(2 月上旬)には、今シーズン最多となる 88 施設からの報告があった。その後、臨時休業施設数は 60 ~ 80 施設と多い状態で推移したが、第 10 週(3 月上旬)以後は減少した。シーズンを通して、臨時休業施設数の推移は、定点あたり患者数の動向とよく一致していた。

### 3.2 ウイルス検出状況

インフルエンザ患者からの検体採取状況及びウイルス検出状況を表 1 に示した。散発例では患者 119 人中 105 人(88.2%) から Inf.V が検出され、その内訳は AH1pdm09 型が 39 件(32.8%)、AH3 型が 38 件(31.9%)、B 型山形系統が 22 件(18.5%)、B 型ビクトリア系統が 6 件(5.0%)であった。一方、インフルエンザ集団発生が認められた 9 施設の患者 20 人中 18 人(90.0%) から Inf.V が検出され、その内訳は AH1pdm09 型が 9 件(45.0%)、AH3 型が 7 件(35.0%)、B 型山形系統が 2 件(10.0%)であった。ウイルス株全体では AH1pdm09 型が 48 件(34.5%)、AH3 型が 45 件(32.4%)、B 型山形系統が 24 件(17.3%)、B 型ビクトリア系統が 6 件(4.3%)であった。

週別のウイルス検出状況を図 1 に示した。AH3 型は

シーズン前半から検出され、2014 年第 4 週をピークに以後大きく減少した。AH1pdm09 型は、2014 年に入ると検出され始め、2 月には最も多く検出された。B 型については、山形系統は 2014 年に入ると継続的に検出され、ビクトリア系統は散発的に検出された。

Inf.V AH1pdm09 型の薬剤耐性マーカー遺伝子の検出については、今シーズン検出された AH1pdm09 型のうち、ウイルスが分離できた 43 株について実施し、1 株から薬剤耐性マーカー遺伝子が検出された。なお、その 1 株について、国立感染症研究所において薬剤感受性試験を実施した結果、オセルタミビル(タミフル)及びペラミビル(ラピアクタ)に対して耐性を示し、ザナミビル(リレンザ)及びラニナビル(イナビル)に対しては感受性を示したことが確認された。

## 4 考察

今シーズンの岡山県におけるインフルエンザは、患者発生状況から 2013 年第 52 週(12 月下旬)に流行が始まり、2014 年第 5 週(2 月上旬)をピークとし、2014 年第 22 週(6 月上旬)に終息したものと考えられた。全国も県内と同様に、2014 年第 5 週(2 月上旬)をピークとする流行パターンが認められた<sup>2)</sup>。ウイルス検索では、2013

表1 インフルエンザ検査成績

	検体採取状況			ウイルス検出・同定				
				検出*	同定			
					AH1 pdm09型	AH3型	B型 (ビクトリア 系統)	B型 (山形 系統)
散 発 事 例	所管保健所名	検体採取年月日						
	倉敷市保健所	2013.10.9～2014.3.11		14/15	12	2	0	0
	岡山市保健所	2013.10.24～2014.8.28		25/29	10	10	1	4
	備中保健所	2013.11.14～2014.5.29		65/74	16	26	5	18
	美作保健所	2014.5.26		1/1	1	0	0	0
	小計			105/119 (88.2%)	39 (32.8%)	38 (31.9%)	6 (5.0%)	22 (18.5%)
集 団 発 生 事 例	施設名	所在地	検体採取年月日					
	A幼稚園	総社市	2013.11.14	1/1	0	1	0	0
	B小学校	倉敷市	2013.11.19	3/3	0	3	0	0
	C幼稚園	美作市	2014.1.14	2/2	2	0	0	0
	D小学校	岡山市	2014.1.14	1/1	1	0	0	0
	E小学校	岡山市	2014.1.15	2/2	0	0	0	2
	F小学校	和気町	2014.1.20～21	3/4	3	0	0	0
	G小学校	玉野市	2014.1.23	1/1	1	0	0	0
	H小学校	高梁市	2014.1.24	3/3	0	3	0	0
	I小学校	真庭市	2014.2.14	2/3	2	0	0	0
	小計			18/20 (90.0%)	9 (45.0%)	7 (35.0%)	0 (0.0%)	2 (10.0%)
合計				123/139 (88.5%)	48 (34.5%)	45 (32.4%)	6 (4.3%)	24 (17.3%)

\* 陽性数/検体数

年中はAH3型のみを検出で、2014年に入りAH1pdm09型及びB型が検出され始めたが、流行のピークを迎えるまではAH3型が最も多く検出された。定点あたり患者数は、2月上旬に流行のピークを迎えた後も高い状態で推移し、3月上旬に至って減少に転じた。また、2月上旬以降のウイルス検出件数は、AH1pdm09型、B型、AH3型の順で多くなっていた。よって、今シーズンは2014年1月下旬まではAH3型を、2月上旬以降はAH1pdm09型を流行の中心とし、そこへシーズンを通して継続的に検出されたB型が加わった混合流行であると推察された。一方、全国では、県内同様に3種類の混合流行であったが<sup>2)</sup>、流行の中心はAH1pdm09型単独であり、県内のような流行ピーク前後での中心となる型に変化は見られなかった。県内の過去2シーズンは、

AH3型を主流行としたB型との混合流行であり<sup>3), 4)</sup>、AH1pdm09型が加わった3種類の混合流行は、県内では2010～2011年シーズン以来であった<sup>5)</sup>。B型に着目すると、2010～2011年シーズンはビクトリア系統のみの検出であったが<sup>5)</sup>、その後、シーズン毎に山形系統の検出割合が増加し、今シーズンは山形系統とビクトリア系統の検出割合は4:1であった。

## 文 献

- 1) 飛田清毅：MDCK細胞によるインフルエンザウイルスの分離，臨床とウイルス，4，58 - 61，1976
- 2) 国立感染症研究所 感染症疫学センター：インフルエンザ 2013 / 14 シーズン，病原微生物検出情報，35，251 - 253，2014

- 3) 木田浩司, 葛谷光隆, 溝口嘉範, 濱野雅子, 藤井理津志, 島村琢自: 岡山県におけるインフルエンザ流行の疫学的解析(2011～2012年シーズン), 岡山県環境保健センター年報, 37, 115-119, 2013
- 4) 木田浩司, 溝口嘉範, 磯田美穂子, 濱野雅子, 藤井理津志, 島村琢自: 岡山県におけるインフルエンザ流行の疫学的解析(2012～2013年シーズン), 岡山県環境保健センター年報, 38, 63-66, 2014
- 5) 葛谷光隆, 濱野雅子, 木田浩司, 藤井理津志, 羽原誠: 県内におけるインフルエンザ流行の疫学的解析(2010～2011年シーズン), 岡山県環境保健センター年報, 36, 89-94, 2012



【資 料】

## 岡山県内の下水におけるノロウイルス遺伝子調査について

Survey of Norovirus genes in sewage in Okayama prefecture (2009-2015)

磯田美穂子, 藤原香代子, 松岡保博, 濱野雅子, 藤井理津志(ウイルス科)

Mihoko Isoda, Kayoko Fujiwara, Yasuhiro Matsuoka, Masako Hamano, Ritsushi Fujii  
(Virology Section)

### 要 旨

ノロウイルスの環境中における汚染実態を把握し、ウイルス性胃腸炎の感染予防対策及び流行予測に役立つ目的で、下水処理場に流入する下水を継続的に採取し、ノロウイルス遺伝子を定量的に検索した。下水中のノロウイルス遺伝子は、ノロウイルスによる胃腸炎の流行期である冬季に検出量が増加する傾向を示した一方で、患者報告数の少ない時期においても検出されており、一年を通して下水にノロウイルスが流入していることが確認された。ノロウイルスは環境中や食品中では増殖せず、ヒトの腸内で増殖後ふん便中に排せつされ、下水へ流入していると考えられる。したがって、ヒトの糞便中には季節を問わずノロウイルスが排せつされ、ふん便を介した感染が、流行期以外の時期であっても起こる可能性が示唆された。このことを念頭においた感染予防対策が必要である。

[キーワード：感染症, ノロウイルス, Real-time RT-PCR, 下水]

[Key words: Infectious disease, Norovirus, Real-time RT-PCR, sewage]

### 1 はじめに

ノロウイルスは、秋から春にかけて幅広い年齢層で流行する急性胃腸炎の主要な病原体である。おう吐や下痢を主症状とし、通常1～2日で軽快するが、小児や高齢者等では、まれに重症化することもある。ふん便やおう吐物を介してヒトからヒトへと感染するほか、しばしば食品を介して感染し食中毒の原因となるなど、公衆衛生上重大な問題となっており、社会的関心は高い。

ノロウイルスによる胃腸炎について、流行状況を明らかにすることは予防や対策をとる上で重要である。しかし、ノロウイルスによる胃腸炎は、感染症発生動向調査事業<sup>1)</sup>において、他の病原体による胃腸炎と一括した感染性胃腸炎として、患者定点から患者数が報告されているのみである。またその報告対象は小児に限定されていることや、軽症の胃腸炎患者や不顕性感染者では医療機関を受診しない場合も想定されることから、ノロウイルスによる胃腸炎の流行状況は正確に把握できていないといえる。

一般家庭のトイレなどから生活排水が流れ込む下水には、患者だけでなく軽症者や不顕性感染者から排せつさ

れたウイルスが含まれているため、下水を採取し調査することで、流域内においてヒトが感染している種々のウイルスを検索できると考えられる。実際に下水を材料としたポリオウイルス野生株の監視及びエンテロウイルスの検索が実施されており<sup>2)</sup>、ノロウイルスについても成果が示されている<sup>3)</sup>。本県においても、下水に流入するノロウイルスを定量的にモニタリングすることで、ノロウイルスによる胃腸炎の流行状況をタイムリーに把握でき、さらに流行予測に資することができる可能性がある。そこで、県内の1下水処理場において2009年1月から2015年3月まで継続的に採取された流入水を対象に、リアルタイムRT-PCR法によるノロウイルス遺伝子の検出を行い、データの蓄積及び解析を行った。また岡山県感染症発生動向調査における感染性胃腸炎患者数との比較を行った。

### 2 材料及び方法

#### 2.1 検査対象

県内下水処理場において、2009年1月から2015年3月までの間、月に1～2回(2009年6月は3回、2010年

4月, 2013年8月, 2013年11月は採水せず) 流入水を500mL 採水し, 陰電荷膜吸着誘出法<sup>4)~6)</sup>を用いて濃縮したものを試験材料とした。陰電荷膜に吸着したウイルスを誘出する工程として, 2009年1月から2014年3月までは, 水酸化ナトリウム水溶液を添加し加圧ろ過を行っていたが<sup>4)~5)</sup>, 2014年4月以降は, 膜を細かく裁断後にビーフェキストラクト液を添加しよく混和する方法<sup>5)~6)</sup>に変更した。

## 2.2 リアルタイム RT-PCR 法

ノロウイルス検出用リアルタイム RT-PCR 法は, 平成19年5月14日付け食安監第0514004号厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知に準拠し実施した。流入水濃縮検体からQIAamp Viral RNA mini kit(株式会社キアゲン)を用いてRNAを抽出した後, これを鋳型としrandom hexamer(タカラバイオ株式会社)により逆転写反応を行いcDNAを合成した。リアルタイムPCRは, Universal Master Mix(ライフテクノロジーズ株式会社)を用いて, StepOne Plus(ライフテクノロジーズ株式会社)により, 遺伝子群I(以下「G I」という。), 遺伝子群II(以下「G II」という。)の遺伝子群別に検出を試みた。なおノロウイルス遺伝子コピー数については, 既知のコピー数であるコントロールプラスミドとの比較により算出した。最終的な定量値は, 濃縮率等を考慮した上で流入水1Lあたりのコピー数に換算し(検出限界 $10^3$ コピー/L),  $10^n$ の形で記録することとした。

## 3 結果

### 3.1 下水中のノロウイルス遺伝子コピー数の推移

2009年1月から2015年3月までの間に採取された流入水の, リアルタイム RT-PCR 法によるノロウイルス遺伝子検索結果は, 表1のとおりである。ノロウイルス遺伝子は一年を通して検出されており, 調査期間中に一度も検出されない月は無かった。検出量が最大となったのは, G Iでは2011年3月8日に採水された流入水, G IIでは2014年2月18日と2015年3月10日に採水された流入水で, それぞれ $10^7$ コピー/Lものノロウイルス遺伝子が含まれていた。

G Iでは, 概ね2月から4月の間にコピー数のピークがみられた。G IIでは2009年では1月から3月にピークが認められたものの, 2010年以降は季節によるコピー数の変化があまりみられず, 明瞭なピークは認められな

かった。また118検体のうち, G Iが検出されたのは85検体(72%), G IIが検出されたのは99検体(84%)で, コピー数定量値では, G IIの方がG Iに比べ2倍程度高濃度に検出された。

採水年ごとに比較すると, 高レベルといえる $10^5$ コピー以上/Lが検出された割合は, G Iでは2015年(100%), 2013年(92%), 2010年(90%), 2014年(83%), 2011年(58%), 2009年(41%), 2012年(4%)の順に高かった。G IIでは, 2015年(100%), 2014年(92%), 2010年(55%), 2013年(54%), 2011年(46%), 2009年(36%), 2012年(25%)の順に高かった。

### 3.2 感染性胃腸炎患者報告数と下水中のノロウイルス遺伝子コピー数との関連性

図1に, 2009年1月から2015年3月までの間に採取された流入水から検出されたノロウイルス遺伝子コピー数を, 岡山県感染症発生動向調査(以下「発生動向調査」という。)における感染性胃腸炎患者の定点あたり報告数の変動とともに示した。

ノロウイルス遺伝子コピー数と感染性胃腸炎患者の定点あたり報告数の変動との相関性では, 患者報告数の増加する時期には, 流入水中のウイルス遺伝子も増加傾向を示した。一方で, 患者報告数が減少した5月~10月であっても, 流入水中のノロウイルス遺伝子は高頻度に検出され続けていることから, 感染性胃腸炎患者数の多少に関わらず, 下水中には1年を通してノロウイルスが流入していることが確認された。また, 2011年の秋頃から2012年の秋頃にかけては, コピー数及び検出頻度が低い状態で推移しているが, この間の感染性胃腸炎患者報告数のピークも他の年の同時期と比較してやや低くなる等, ある程度の関連がみられたものの, その他の年については患者数の多寡と遺伝子コピー数の間に明らかな相関性は無かった。

## 4 考察

本調査より, 下水処理場に流入する流入水からは, 一年中ノロウイルス遺伝子が検出され, 流行期に最大で $10^7$ コピー/Lとなるなど, 大量に含まれていることが確認された。また, 2013年の4月以降では, 2013年の3月以前に比べてG I, G IIとも検出量が多い傾向があるが, 検体濃縮時のウイルス誘出工程を変更したことでウイルス遺伝子を効率よく回収できるようになったと推



表 1 下水中のノロウイルス遺伝子コピー数

採水日	ノロウイルス遺伝子コピー数/L		採水日	ノロウイルス遺伝子コピー数/L		採水日	ノロウイルス遺伝子コピー数/L	
	遺伝子群 I	遺伝子群 II		遺伝子群 I	遺伝子群 II		遺伝子群 I	遺伝子群 II
2009/1/27	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	2011/1/12	10 <sup>4</sup>	10 <sup>6</sup>	2012/10/10	≤10 <sup>3</sup>	10 <sup>5</sup>
2009/2/10	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	2011/1/26	10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>	2012/10/22	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>
2009/2/25	10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>	2011/2/7	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	2012/11/5	≤10 <sup>3</sup>	10 <sup>5</sup>
2009/3/10	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	2011/2/22	10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>	2012/11/19	≤10 <sup>3</sup>	10 <sup>6</sup>
2009/3/24	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	2011/3/8	10 <sup>7</sup>	10 <sup>6</sup>	2012/12/11	≤10 <sup>3</sup>	10 <sup>5</sup>
2009/4/7	10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>	2011/3/23	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	2012/12/26	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>
2009/4/21	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	2011/4/4	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	2013/1/7	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
2009/5/19	10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>	2011/4/20	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	2013/1/22	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>
2009/6/2	≤10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	2011/5/9	10 <sup>6</sup>	10 <sup>5</sup>	2013/2/5	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>
2009/6/16	≤10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	2011/5/23	10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>	2013/3/5	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>
2009/6/30	≤10 <sup>3</sup>	≧10 <sup>3</sup>	2011/6/6	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	2013/3/29	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>
2009/7/14	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	2011/6/22	10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>	2013/4/8	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>
2009/7/28	≤10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	2011/7/4	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	2013/5/7	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>
2009/8/11	≤10 <sup>3</sup>	≧10 <sup>3</sup>	2011/7/20	10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>	2013/6/4	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
2009/8/25	≤10 <sup>3</sup>	≧10 <sup>3</sup>	2011/8/9	10 <sup>4</sup>	≤10 <sup>3</sup>	2013/7/2	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>
2009/9/8	≤10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	2011/8/23	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	2013/7/30	≤10 <sup>3</sup>	10 <sup>6</sup>
2009/10/13	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	2011/9/6	≤10 <sup>3</sup>	≤10 <sup>3</sup>	2013/9/10	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
2009/10/27	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	2011/9/21	≤10 <sup>3</sup>	≤10 <sup>3</sup>	2013/10/8	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
2009/11/10	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	2011/10/11	≤10 <sup>3</sup>	≤10 <sup>3</sup>	2013/12/10	10 <sup>4</sup>	10 <sup>6</sup>
2009/11/24	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	2011/10/25	≤10 <sup>3</sup>	≤10 <sup>3</sup>	2014/1/7	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
2009/12/8	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	2011/11/7	≤10 <sup>3</sup>	≤10 <sup>3</sup>	2014/2/18	10 <sup>5</sup>	10 <sup>7</sup>
2009/12/22	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	2011/11/21	≤10 <sup>3</sup>	≤10 <sup>3</sup>	2014/3/4	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>
2010/1/19	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	2011/12/6	≤10 <sup>3</sup>	≤10 <sup>3</sup>	2014/4/15	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>
2010/2/2	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	2011/12/19	≤10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	2014/5/14	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>
2010/2/24	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	2012/1/11	≤10 <sup>3</sup>	≧10 <sup>3</sup>	2014/6/3	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
2010/3/9	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	2012/1/23	≤10 <sup>3</sup>	≤10 <sup>3</sup>	2014/7/1	10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>
2010/5/11	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	2012/2/7	≤10 <sup>3</sup>	≤10 <sup>3</sup>	2014/8/5	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>
2010/5/25	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	2012/2/20	≤10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	2014/9/2	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>
2010/6/8	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	2012/3/7	≤10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	2014/10/8	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>
2010/6/22	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	2012/3/21	≤10 <sup>3</sup>	≤10 <sup>3</sup>	2014/11/11	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
2010/7/6	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	2012/4/10	≤10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	2014/12/9	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
2010/7/21	≤10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	2012/4/23	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	2015/1/6	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
2010/8/10	≤10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	2012/5/8	10 <sup>4</sup>	≧10 <sup>3</sup>	2015/2/3	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
2010/8/24	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	2012/5/22	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	2015/3/10	10 <sup>5</sup>	10 <sup>7</sup>
2010/9/7	10 <sup>4</sup>	10 <sup>6</sup>	2012/6/5	≤10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>			
2010/9/22	10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>	2012/6/19	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>			
2010/10/5	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	2012/7/10	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>			
2010/10/20	≤10 <sup>3</sup>	10 <sup>6</sup>	2012/7/23	≤10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>			
2010/11/10	10 <sup>4</sup>	10 <sup>6</sup>	2012/8/6	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>			
2010/11/22	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	2012/8/20	10 <sup>5</sup>	≤10 <sup>3</sup>			
2010/12/7	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	2012/9/10	≤10 <sup>3</sup>	≤10 <sup>3</sup>			
2010/12/21	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	2012/9/25	10 <sup>4</sup>	≤10 <sup>3</sup>			

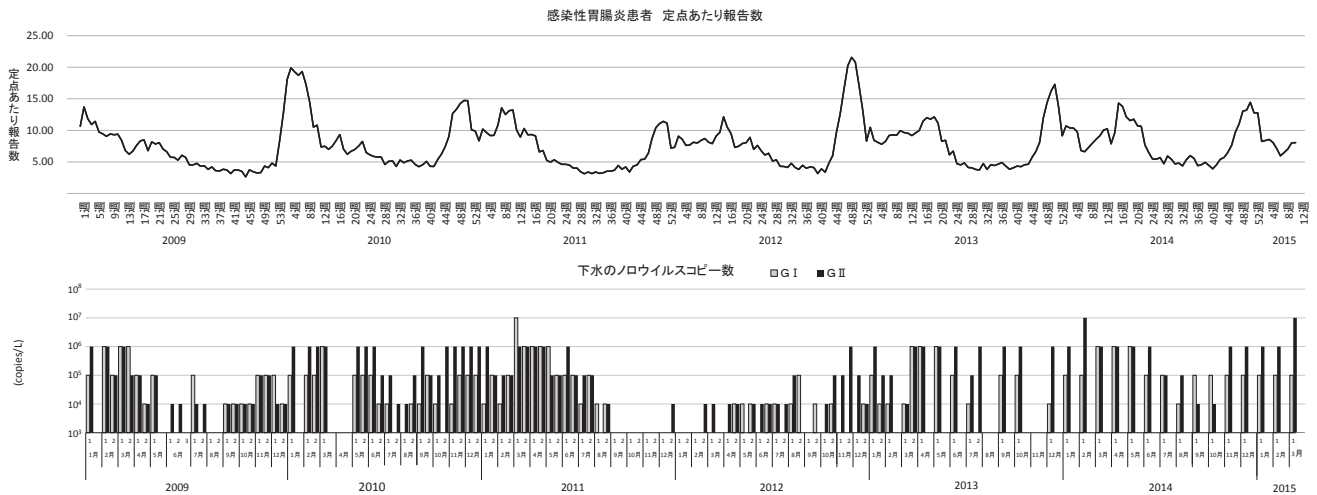


図1 感染性胃腸炎患者報告数と下水のノロウイルスコピー数

察される。

胃腸炎患者から検出される頻度が多いG IIは<sup>7)</sup>、G Iに比べて患者ふん便中へ100倍程度多く排出されることが報告されている<sup>8)</sup>。しかし今回の調査結果では、G IIの検出頻度がG Iに比べて10%程度高く、かつ2倍程度高濃度となったものの、それほど大きな差異はなく、患者ふん便を検査対象とした場合と、患者だけでなく軽症者や不顕性感染者から排せつされたウイルスが含まれている下水を検査対象とした場合では、G IとG IIの検出割合は異なることがわかった。

感染性胃腸炎患者の報告数が増加する時期には、流入水中のノロウイルス遺伝子も増加傾向を示した一方で、報告数が減少した時期であっても、流行期に匹敵する量のウイルスが検出されている。これは、ノロウイルスによる胃腸炎患者は、症状が治まった後も3週間から1ヶ月以上にわたってノロウイルスを排出する<sup>9)</sup>ことが一因となった可能性がある。ノロウイルスによる胃腸炎が秋から春にかけて流行する理由は明らかにされていないが、今回の調査結果から、流行期以外の時期にも、ノロウイルスを排せつしているが発生動向調査では把握されていないヒトが多数存在していることが示唆された。ヒトは、ノロウイルスを10から100個程度体内に取り入れることで感染するとされており<sup>7)</sup>、下水中には一年を通して10<sup>4</sup>コピー以上/L(1mL中に10コピー以上)のノロウイルス遺伝子が流入していることから、ヒトのふん便中にも季節を問わず感染成立に十分な量のウイルスが排出されている可能性がある。ノロウイルスの感染予防

にあたっては、このことを念頭に置き、流行期以外の時期であっても手洗いや消毒等の対策が必要である。

## 文 献

- 1) 厚生労働省：感染症発生動向調査事業実施要綱，2014
- 2) 伊藤 雅，岩切 章，内野清子，小澤広規，北川和寛：＜速報＞平成25年度感染症流行予測調査事業ポリオ環境水調査期間中(2013年4～12月)に検出されたエンテロウイルスについて，病原微生物検出情報，Vol.35，275-276，2014
- 3) 下水道におけるウイルス対策に関する調査委員会：下水道におけるウイルス対策に関する調査委員会報告書，8，2010
- 4) Haramoto, E., Katayama, H., Oguma, K., Ohgaki, S.: Application of cation-coated Filter Method to Detection of Noroviruses, Enteroviruses, Adenoviruses, and Torque Teno Viruses in the Tamagawa River in Japan, Appl. Environ. Microbiol., 71, 2403-2411, 2005
- 5) 片山浩之：新たなウイルス濃縮方法の開発と水道水および水道水源調査への適用，モダンメディア，52，185-190，2006
- 6) 厚生労働省健康局結核感染症課：感染症流行予測調査実施要領，5-7，2014
- 7) 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会食中毒部会：ノロウイルス食中毒対策について(提言)，平成19

年10月12日, 別添, 2007

- 8) Chan M. C. W., J. J. Y. Sung, R. K. Y. Lam, P. K. S. Chan, N. L. S. Lee, R. W. M. Lai, W. K. Leung: Fecal viral load and norovirus-associated gastroenteritis, *Emerging Infectious Disease journal*, Vol. 12, 1278-1280, 2006
- 9) 田中智之, 三好龍也, 内野清子, 吉田永祥: 感染後のノロウイルス排出期間および排出コピー数, *病原微生物検出情報*, Vol.28, 286-288, 2007



【調査研究】

## GC/MS/MS を用いた野菜類及び果実類中残留農薬の一斉分析法の 妥当性評価(第2報)

Validation Study on a Method for Simultaneous Determination of Pesticide Residues in Vegetables  
and Fruits by GC/MS/MS (2)

難波順子, 浅田幸男, 赤木正章, 北村雅美, 吉岡敏行(衛生化学科)

Junko Namba, Yukio Asada, Masaaki Akaki, Masami Kitamura, Toshiyuki Yoshioka  
(Food and Drug Chemical Research Section)

### 要 旨

岡山県では、GC/MS/MS を用いた野菜類及び果実類中残留農薬の一斉分析法の妥当性評価を、厚生労働省の妥当性評価ガイドラインに従って行っている。平成26年度は、添加を行う果実類として岡山県の特産物である、もも及びぶどうの2種類を選び、既報と同様の分析法を用いて測定を行った。添加濃度は試料中0.1ppm及び0.01ppmの2濃度とし、添加試料を1名が2併行、5日間の枝分かれ試験で行った。その結果、ガイドラインの目標値を両濃度で満たしたのは、もも210種類及びぶどう217種類であった。

[キーワード：残留農薬, 一斉分析法, 妥当性評価, ガスクロマトグラフタンデム質量分析計]

[Key Words : pesticide residues, simultaneous determination, validation study, GC/MS/MS]

### 1 はじめに

食品中の残留農薬等の規格基準にポジティブリスト制度が平成18年5月29日から導入され、現在では800を超える農薬の残留基準が設定されている。また、残留基準が設定されていない農薬等を含む食品については一律基準(0.01ppm)が適用され、それを超えた量を含む食品の販売等が禁止されている。これに伴い監視対象農薬が大幅に増加し、一斉分析法を用いた迅速かつ高感度な農産物中の残留農薬分析が求められようになった。岡山県でも、通知試験法であるGC/MSによる農薬等の一斉試験法(農産物)<sup>1)</sup>に示された試験溶液調製法に準拠した一斉分析法により、農産物中の残留農薬検査をGC/MS/MS及びLC/MS/MSを用いて実施している。

また、平成19年11月15日付け食品安全部長通知「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて」<sup>2)</sup>(以下「ガイドライン」という。)が平成22年12月24日に改正された<sup>3)</sup>ことにより、通知試験法<sup>1)</sup>に基づき残留農薬検査を実施する場合においても食品の多様性等にも配慮の上、検査機関ごとに妥当性評

価を実施する必要性が生じた。そのため、岡山県でも代表的な野菜類及び果実類として、ばれいしょ、キャベツ、ほうれん草、りんご及びオレンジの5種類を用いた妥当性評価を行い報告している<sup>4)</sup>。今回は岡山県の特産物である、もも及びぶどうの2種類を用いて、妥当性評価を行ったので報告する。

### 2 方法

試料としては、岡山県の特産物である、もも及びぶどうの2種類を用いた。分析対象物質及び試験溶液調製法等その他の方法は既報<sup>4)</sup>のとおり行った。

### 3 結果及び考察

#### 3.1 定量限界

異性体を含めて241種類の農薬成分を2つのグループ(グループ1及び2)に分けてmultiple reaction monitoring(以下「MRM」という。)測定を行った。0.01ppmの標準品のピーク形状が悪くS/N $\geq$ 10を常には満たさない、あるいは検量線の相関が常に良好ではない農薬は、アセタ

ミプリド, イマザメタベンズメチルエステル, イミベンコナゾール脱ベンジル体, キノクラミン, ジクロラン, チフルザミド, デイルドリン, テトラジホン, トリシクラゾール, プロヒドロジャスモン, ヘキサクロロベンゼン, ヘキサコナゾールの 12 種類であった。

### 3.2 選択性

ブランク試料を試験法に従って測定し, 定量を妨害するピークの有無を確認した。妨害ピークを認めた場合で, ガイドラインの許容範囲を超えていたのは, もも中のホレート及びピラゾホス, ぶどう中のピオアレスリン 3, クロルフェナピル, テクナゼン及びピラゾホスであった。図 1 にピオアレスリン 3 標準品 (0.02ppm), ぶどうブランク試料のクロマトグラムを示す。ぶどうブランク試料では, ピオアレスリン 3 の保持時間 (16.1min) とほぼ同じ保持時間に妨害ピークがあり, このピークの影響で選択性が満たされなかった。

### 3.3 真度及び精度

定量限界及び選択性で目標値を満たす項目について, 真度及び精度の評価を行った。真度の結果を表 1 に示す。真度の目標値 (70 ~ 120%) を満たす農薬は, もも, ぶどう共に添加濃度が 0.1ppm で 221 種類, 0.01ppm で 220

種類であった。両添加濃度で目標値を満たす農薬は, もも 220 種類, ぶどう 219 種類であった。目標値から外れる農薬では, 70% 未満の農薬がほとんどであり, 120% を超える農薬は 1 農薬 (ぶどう中のジメトエート) だけであった。このことから, 精製が十分で正のマトリックス効果を余り受けていないことが推測された。図 2 にオレンジブランク試料, ももブランク試料及びぶどうブランク試料のトータルイオンクロマトグラム (以下「TIC」という。) を示す。精製が不十分であり真度が 120% を超える農薬が多かったオレンジブランク試料<sup>4)</sup>と比較して, ももブランク試料及びぶどうブランク試料では, TIC のピーク強度が 25 ~ 50 分の 1 程度であった。両添加濃度で真度が 50 ~ 150% を満たす農薬は, いずれの農産物でも 223 種類以上と 93% を超え, 既報と同様にスクリーニングとしての有用性が示された。

精度の結果を表 2 に示す。0.1ppm 添加時に併行精度の目標値を満たさない農薬は, ももでは 1 種類であり, ぶどうでは全て目標値を満たしていた。0.01ppm 添加時に併行精度の目標値を満たさない農薬は, ももでは 3 種類, ぶどうでは 2 種類であり, 併行精度は概ね良好な結果が得られた。室内精度の目標値を満たさない農薬は,

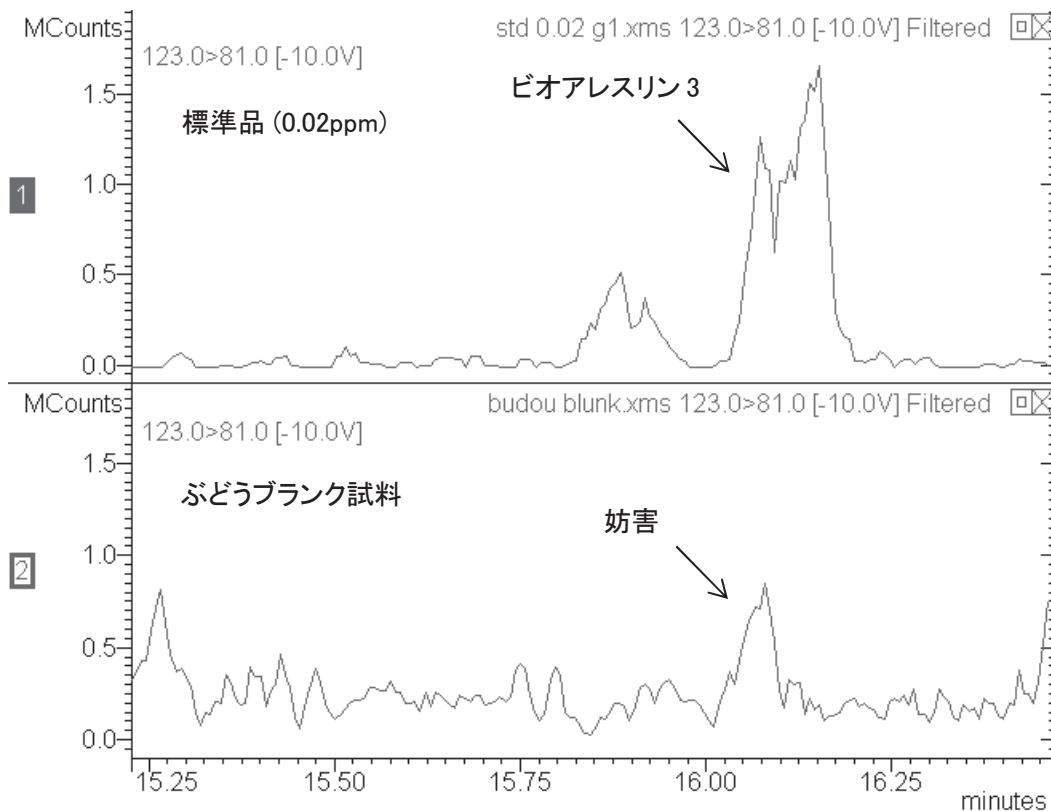


図 1 標準品 (0.02ppm) 及びぶどうブランク試料のクロマトグラム (MRM)

表 1 真度結果

真度 (%)	もも		ぶどう	
	0.1ppm	0.01ppm	0.1ppm	0.01ppm
<50	1	1	1	1
50-70	5	6	3	3
70-120	221	220	221	220
120-150	0	0	0	1
150<	0	0	0	0

添加濃度0.1ppm及び0.01ppmにおける目標値 真度:70-120%

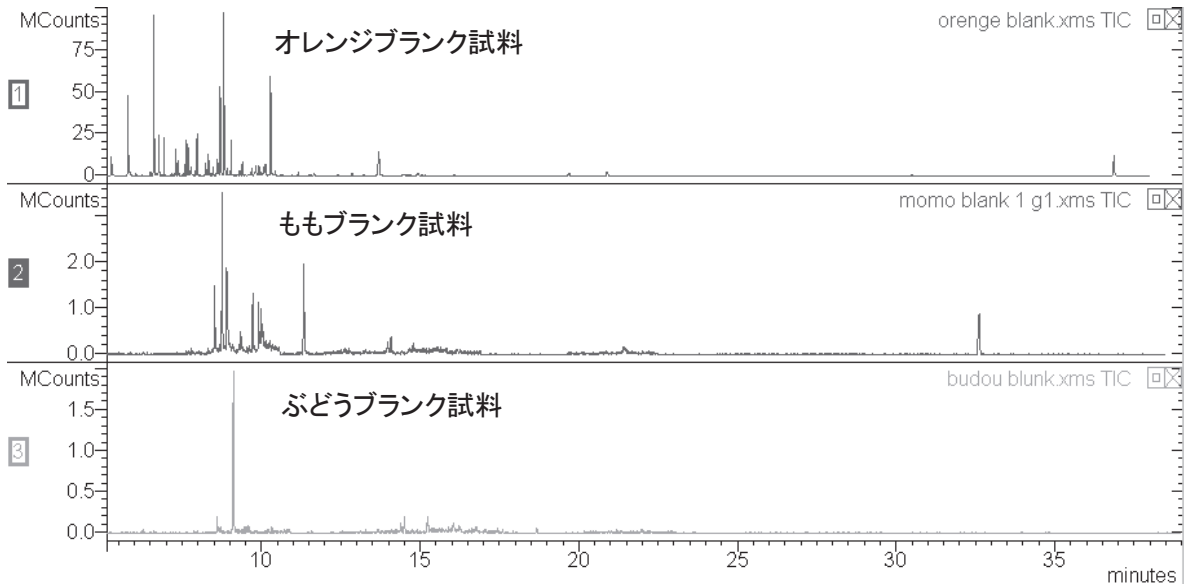


図 2 オレンジ, もも, ぶどうの各空白試料のクロマトグラム (TIC)

表 2 精度の目標値を満たした農薬数

精度	もも	ぶどう
併行精度	224	223
室内精度	216	219

添加濃度0.1ppm目標値 併行精度:RSD%<15, 室内精度:RSD%<20

添加濃度0.01ppm目標値 併行精度:RSD%<25, 室内精度:RSD%<30

0.1ppm 添加時にはももで7種類、ぶどうで1種類、0.01ppm 添加時にはももで11種類、ぶどうで6種類であり、室内精度は併行精度よりも目標値を満たさない農薬が多く、0.01ppm 添加時に室内精度の目標値を満たしていない場合が多かった。精度を満たさない農薬は  $\alpha$ -BHC, ビテルタノール2, ブピリメート, カルボキシシン, クロルフェナピル, ジフェノコナゾール1, エトプロホス, エチルチオメトン, フェナミホス, フルリドン, オメトエート, オキシフルオロフェン, パラチオン, パラチオンメチル, キントゼン, テクナゼンの16種類であった。これらの農薬は他の農薬に比べて定量感度を得ることが難しく、定量性に問題がある農薬であった。

### 3.4 妥当性評価結果

妥当性評価において適合と判定される両添加濃度で真度及び精度の目標値を全て満たす農薬をA, 0.01ppm 添加時のみ目標値を満たす農薬はB, 0.1ppm 添加時のみ目標値を満たす農薬はC, 両濃度添加時共に目標値を満たさない農薬はD, 定量限界又は選択性が許容範囲外の農薬はEに分類した。各農産物別の集計結果を表3に、農薬別の詳細結果を表4に示す。目標値を全て満たすAの農薬は、もも210種類、ぶどう217種類であった。

妥当性評価において検討を行う食品は、まず代表的な食品を選択して評価し、順次食品毎に行うとされている<sup>3)</sup>。岡山県では代表的な野菜類として、ばれいしょ、キャベツ、ほうれん草を選定し、代表的な果実類としてりんご、オレンジを選定して妥当性評価を行っている。そして、この3種類の野菜で目標値を全て満たす農薬を全ての野菜の検査項目として選定し、2種類の果実で目標値を全て満たす農薬を全ての果実の検査項目として選定し

ている。評価済み食品に限られる状況で、円滑かつ効率的に検査が行えるように、検査対象食品のグループ化及びそれに対応した検査項目の設定を行っていることが報告されている<sup>5)</sup>。岡山県においても、今後とも食品の拡充を行い、適正な検査項目の設定を行っていききたい。

### 3.5 実態調査

本法を用いて県内で市販されていた野菜24種類103検体、果実12種類32検体、合計36種類135検体について実態調査を行い、GC/MS/MS測定での農薬の検出結果を表5に示す。20検体から農薬が9種類延べ22農薬検出され、検体の検出率は15%であった。検出された農薬は全て残留基準値以下であった。野菜は5種類6検体から延べ6農薬検出されており、検体の検出率は5%であった。一方、果実は5種類14検体から延べ16農薬検出されており、検体の検出率は44%であり、昨年度と同様に野菜よりも高頻度に検出された。バナナ及びりんごは検査した3検体全てから検出された。バナナから検出した農薬は全てクロルピリホスであった。ぶどうは検査した10検体のうち半数からテブコナゾールが、オレンジは検査した4検体のうち半数からフェンプロパトリンが検出された。これらの農薬は全て昨年度も同じ果実から検出されており<sup>4)</sup>、栽培時の使用が推測される。検査検体のうち、輸入品は野菜1種類1検体、果実4種類9検体、合計5種類10検体であった。その中で果実2種類5検体から延べ5農薬検出されており、検体の検出率は50%であった。昨年と同様に、輸入品の果実から高頻度に農薬が検出された。今後とも実態調査を行っていききたい。

表3 妥当性評価結果まとめ

グループ	判定		もも	ぶどう
	0.01ppm	0.1ppm		
A	○	○	210	217
B	○	×	3	1
C	×	○	8	4
D	×	×	6	3
E	定量限界 × , 選択性 ×		14	16











222	Tetraconazole	A	87	6	8	103	10	19	A	95	9	9	111	10	10
223	Tetradifon	E	-	-	-	-	-	-	E	-	-	-	-	-	-
224	Thenylchlor	A	90	2	9	84	9	10	A	92	6	6	105	12	12
225	Thifluzamide	E	-	-	-	-	-	-	E	-	-	-	-	-	-
226	Thiobencarb	A	89	7	11	95	16	16	A	96	5	8	114	17	23
227	Tolclofos-methyl	A	92	5	9	81	8	9	A	95	5	11	100	10	11
228	Tolfenpyrad	A	98	3	13	85	16	16	A	95	5	7	110	4	9
229	Tralomethrin	A	93	4	12	86	10	20	A	98	7	8	98	8	14
230	Triadimefon	A	85	5	11	95	9	21	A	100	3	4	100	18	18
231	Triadimenol1	A	86	6	12	89	13	14	A	100	7	11	103	9	12
	Triadimenol2		86	5	16	94	7	17		100	4	10	108	8	8
232	Triallate	A	83	5	8	79	13	17	A	93	4	7	80	10	15
233	Triazophos	A	87	4	11	88	5	18	A	97	4	6	112	8	8
234	Tribufos	A	95	4	8	92	15	15	A	100	6	6	117	9	9
235	Tricyclazole	E	-	-	-	-	-	-	E	-	-	-	-	-	-
236	Trifloxystrobin	A	89	3	8	90	13	17	A	95	6	6	88	19	19
237	Trifluralin	A	87	5	14	75	18	30	A	96	6	8	82	8	18
238	Uniconazole P	A	85	4	5	80	14	15	A	100	7	9	99	11	14
239	Vinclozoline	A	83	4	17	99	12	14	A	94	5	7	101	7	13
240	XMC	A	95	4	14	98	7	15	A	88	4	5	103	9	11
241	Zoxamide	A	94	7	9	102	4	15	A	99	4	8	110	6	13

表5 検出結果

検出検体 (検出数/検体数)	検出農薬	検出値 (ppm)	基準値 (ppm)	産地
大根の根 (1/6)	トルフェンピラド	0.03	0.2	国産
トマト (2/4)	エトフェンプロックス	0.08	2	国産
	ジエトフェンカルブ	0.01	5.0	国産
ネギ (1/2)	EPN	0.09	0.1	国産
ピーマン (1/6)	シペルメトリン	0.02	2.0	国産
ほうれん草 (1/2)	シペルメトリン	0.04	2.0	国産
ぶどう (5/10)	テブコナゾール	0.15, 0.03, 0.02, 0.02, 0.01	10	国産
オレンジ (2/4)	フェンプロパトリン	0.04, 0.06	5	輸入
バナナ (3/3)	クロルピリホス	0.02, 0.01, 0.03	3	輸入
りんご (3/3)	テブコナゾール	0.03	1	国産
	シペルメトリン	0.03, 0.03	2.0	国産
	クロルピリホス	0.03	1.0	国産
	トリフロキシストロビン	0.01	3	国産
なし (1/3)	シペルメトリン	0.07	2.0	国産

#### 4 まとめ

GC/MS/MSを用いた野菜類及び果実類中残留農薬の一斉分析法の妥当性評価を、厚生労働省のガイドラインに従って行い、次の結果を得た。

- ① 異性体を含めて241種類の農薬成分のMRM測定を行ったところ、試料中濃度0.01ppmの定量感度を229種類の農薬で得られた。
- ② 選択性は、もも中のホレート及びピラゾホス、ぶどう中のピオアレスリン3、クロルフェナピル、テクナゼン及びピラゾホスで許容範囲を超えていた。
- ③ 真度の目標値(70～120%)を両添加濃度で満たす農薬は、もも220種類、ぶどう219種類であった。
- ④ 併行精度はいずれの農産物でもほぼ良好な結果が得られていた。室内精度は併行精度よりも目標値を満たさない農薬が多かった。0.01ppm添加時に目標値を満たしていない場合が多く、それらの農薬は他の農薬に比べて定量感度を得ることが難しい農薬であった。
- ⑤ 妥当性評価で適合と判定される両添加濃度で真度及び精度の目標値を全て満たす農薬は、もも210種類、ぶどう217種類であった。
- ⑥ 本試験法を用いて、実態調査を野菜・果実36種類135検体で行い、20検体から9種類延べ22農薬が全て残留基準値以下で検出された。果実は野菜よりも高頻度に検出された。特に、輸入品の果実から高頻度に検出された。

今後とも妥当性評価を継続して行い、適正に検査項目の選定を行っていきたい。

#### 文 献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について、食安発第0124001号、平成17年1月24日、2005
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて、食安発第1115001号、平成19年11月15日、2007
- 3) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について、食安発1224第1号、平成22年12月24日、2010
- 4) 難波順子、浅田幸男、赤木正章、北村雅美、肥塚加奈江：GC/MS/MSを用いた野菜類及び果実類中残留農薬の一斉分析法の妥当性評価(第1報)、岡山県環境保健センター年報、38、69-81、2014
- 5) 山口聡子、高取聡、福井直樹、北川陽子、吉光真人ら：妥当性評価ガイドラインを踏まえた残留農薬検査における大阪府の取り組み、第51回全国衛生化学技術協議会年会講演集、60-61、2014

【調査研究】

食品と医薬品等に含まれる有害化学物質等の分析技術の開発に関する研究

－ウリ科植物に含まれる苦味成分ククルビタシン分析法の検討－

Study on the development of analytical techniques of hazardous chemicals contained in food and pharmaceuticals, etc.

－ Study of the analysis method of bitter component cucurbitacin that is included in the cucurbits －

吉岡敏行, 赤木正章, 北村雅美, 浅田幸男, 難波順子(衛生化学科)

Toshiyuki Yoshioka, Masaaki Akaki, Masami Kitamura, Yukio Asada, Junko Namba  
(Food and Drug Chemical Research Section)

要 旨

ウリ科植物に含まれる苦み成分ククルビタシンの分析法について検討した。メタノール抽出, 酢酸エチル再抽出後, カートリッジカラムで精製し, 液体クロマトグラフ質量分析計(LC/MS)で測定した。キュウリを用いた添加回収試験の結果, 82~105%の回収率が得られた。開発した分析法によりユウガオのツルの部分を分析したところ, ククルビタシン B が 19mg/kg 検出された。

[キーワード: ウリ科植物, 自然毒, ククルビタシン, 液体クロマトグラフ質量分析計]

[Key words: Cucurbit, Natural poison, Cucurbitacin, LC/MS]

1 はじめに

ウリ科植物には, キュウリ, ズッキーニ, カボチャ, メロン, ユウガオ(ヒョウタン)等があり, 世界中で食用や鑑賞用等に広く栽培されている。しかし, 特に, 観賞用ウリ科植物には苦味成分であるククルビタシンを多く含んでいる場合がある。ククルビタシンは四環式テルペノイドで, 約40種類のククルビタシンが知られている<sup>1)</sup>。この物質は, 誤って喫食した場合には, 嘔吐や下痢を伴う重篤な胃腸不全を引き起こす可能性があり, 日本では過去50年間にククルビタシン高含量のユウガオの喫食やヒョウタンとの誤食により, 8件の食中毒が発生し, 35人の患者が発生している<sup>2, 3)</sup>。岡山県でも平成26年7月に備前県民局管内でズッキーニに含まれるククルビタシンが原因と強く疑われた苦情が発生<sup>4)</sup>したことから, ククルビタシンの分析法を検討した。

ククルビタシンの分析は, 既存文献では溶媒抽出後, 薄層クロマトグラフィーで分離・精製し, HPLCやLC/MSで検出する方法が報告されている<sup>5~8)</sup>。しかし, 薄層クロマトグラフィーは定量性が乏しいことが推測されることから, 今回, カートリッジカラムによる精製方法

について検討し, 定量性のある分析方法が確立できたので報告する。

2 実験方法

2.1 標準物質

分析法の検討に使用した4種類のククルビタシンは Chroma Dex 製で, その分子量と構造式を表1と図1に示す。これらの標準物質を用いて分析法の検討を行った。各ククルビタシン 1mg を精秤し, メタノールで正確に 10mL とし, 100 µg/mL の標準原液を調製した。各標準原液 1mL を分取し, メタノールで正確に 10mL とし, 10 µg/mL の混合標準溶液を調製した。混合標準溶液を

表1 標準物質

物質名	分子式	分子量
ククルビタシンB	C <sub>32</sub> H <sub>46</sub> O <sub>8</sub>	558.4
ククルビタシンD	C <sub>30</sub> H <sub>44</sub> O <sub>7</sub>	516.3
ククルビタシンE	C <sub>32</sub> H <sub>44</sub> O <sub>8</sub>	556.3
ククルビタシンI	C <sub>30</sub> H <sub>42</sub> O <sub>7</sub>	514.3

メタノールで希釈して 10 ~ 200ng/mL の検量線用標準液を調製した。

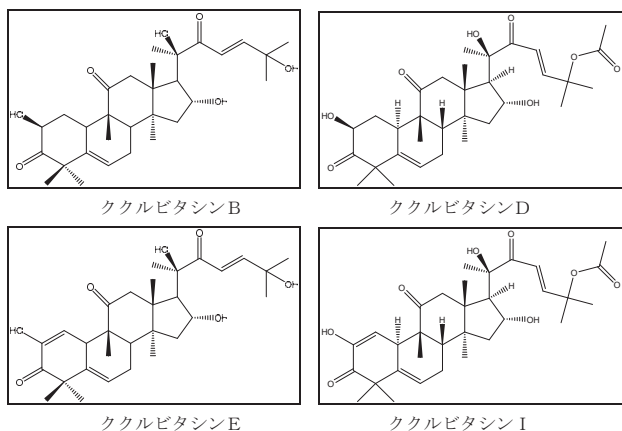


図 1 構造式

## 2.2 装置及び測定条件

装置は、Applied Biosystems 製 API3200 Qtrap を使用した。LC/MS の測定条件は表 2 のとおりである。

表 2 LC/MS の測定条件

HPLC: 島津製 LC-20A 高圧グラジェントシステム	
カラム: Waters 社製 XTerra MS C18 3.5 $\mu$ m (2.1mmI.D.×15cm)	
カラム温度: 40°C	
移動相: アセトニトリル: 水 = 1 : 1	
移動相流量: 0.2mL/min	
試料注入量: 5 $\mu$ L	
MS: Applied Biosystems 製 API3200 QTrap	
インターフェース: Turbo V source	
測定法: Q1 スキャンモード	
○ 条件1	
イオン化モード: ESI positive mode	
イオン源温度: 600°C	
イオン化電圧: 5500V	
○ 条件2	
イオン化モード: ESI negative mode	
イオン源温度: 600°C	
イオン化電圧: -4500V	

## 2.3 前処理方法

検討した分析フローを図 2 に示す。精製方法は、薄層クロマトグラフィー (Merck 製 TLC silica gel 60 F<sub>254</sub>: ガラスプレート) と 3 種類の市販カートリッジカラム SUPELCO 製 Envicarb/LC-NH<sub>2</sub>, Agilent 製 Mega Bond Elute-PSA (1g), Agilent 製 Bond Elute C18 (1,000mg) について検討した。

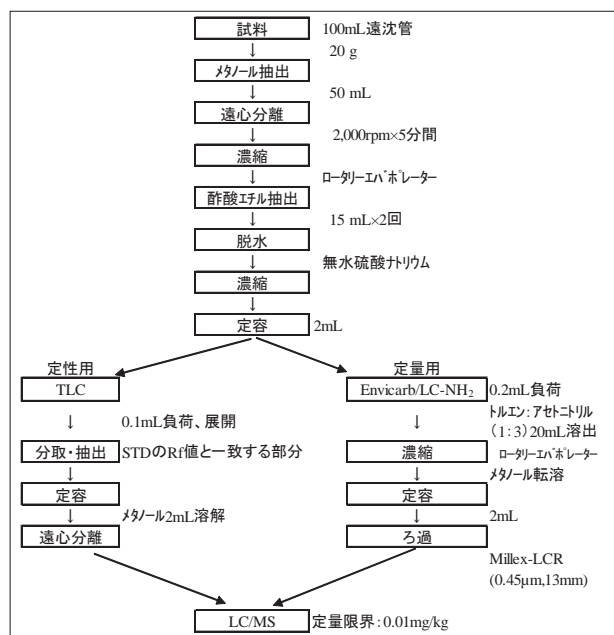


図 2 分析フロー

## 3 検討結果及び考察

### 3.1 LC/MS 測定について

ククルピタシンのイオン化法は ESI を選択した。MS/MS 法で測定を試みたが、最適化できなかったため、スキャン法により測定した。4 種類のククルピタシン各 100ng/mL を含む標準液を測定したポジティブモードとネガティブモードのクロマトグラムを図 3 に示す。クク

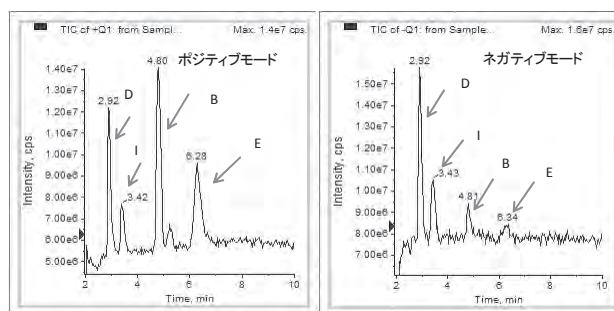


図 3 ククルピタシンのクロマトグラム

ルピタシン D, ククルピタシン I, ククルピタシン B 及びククルピタシン E の順にピークが確認できた。なお、ベースラインはポジティブモードのほうが小さかった。

図 4 にポジティブモードとネガティブモードのマスペクトルを示す。ネガティブモードでは、4 種類のククルピタシンすべてで [M-H]<sup>-</sup> が観測された。

表 3 にモニターイオンを示す。定量は、ポジティブモードで測定を行い、それぞれのベースピークを定量イオンとした。定性イオンは、各ククルピタシンの [M+Na]<sup>+</sup>



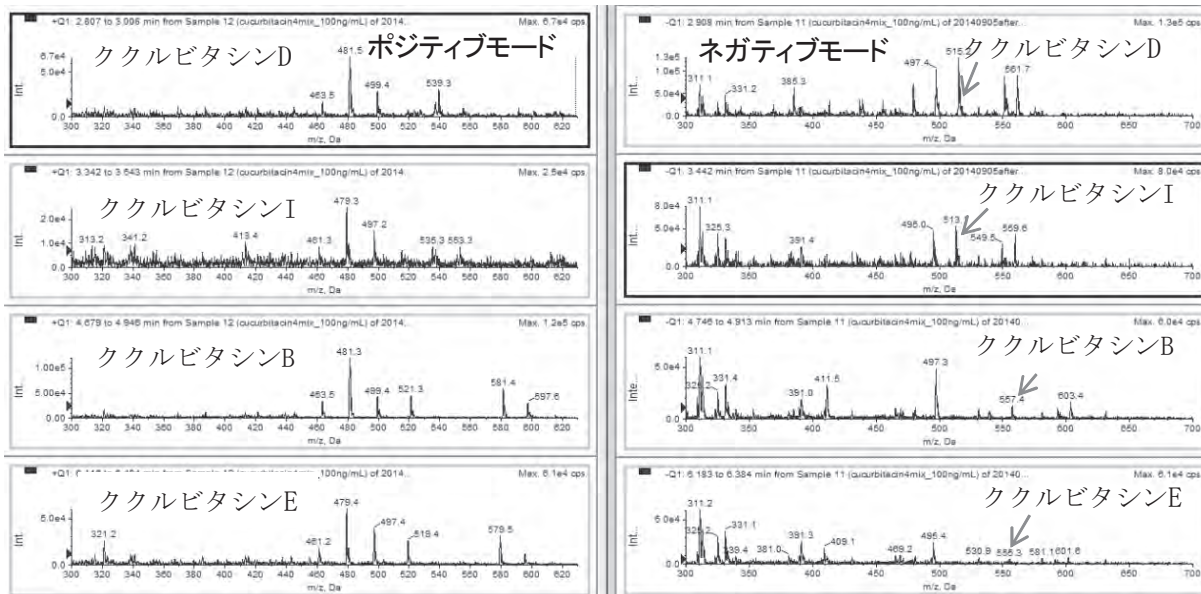


図4 ククルビタシンのマススペクトル

表3 モニターイオン

物質名	定量イオン(m/z)	定性イオン(m/z)
ククルビタシンD	481	539
ククルビタシンI	479	497
ククルビタシンB	481	521, 581, 597
ククルビタシンE	479	519, 579

等の特有のイオンとした。ただし、ククルビタシンIでは特有の定性イオンが観測されなかったため、ククルビタシンEでも観測される m/z 497 を定性イオンとした。

### 3.2 検量線

ククルビタシンの検量線を図5に示す。10～200ng/mLの濃度範囲で直線性 ( $r^2 > 0.9985$ ) が確認され、定量下限は 0.01mg/kg とした。

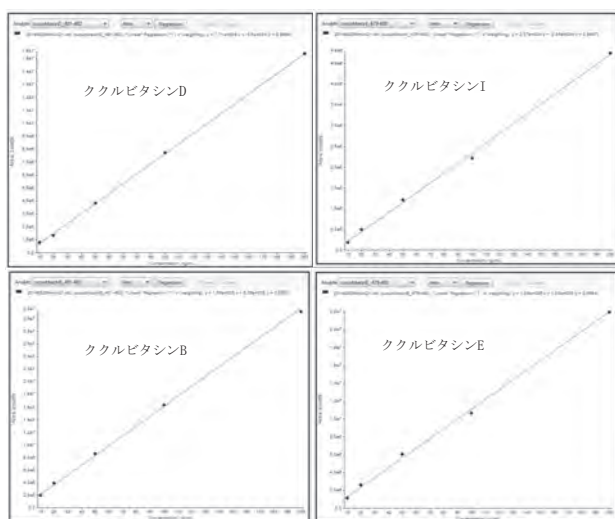


図5 検量線

### 3.3 カートリッジカラムの検討

3種類の市販カートリッジカラム (PSA, C18, Envicarb/LC-NH<sub>2</sub>) は、厚生労働省の残留農薬の通知試験法に採用されているもので、PSAは糖や脂肪酸、有機酸等の除去に、C18は無極性物質の除去に、Envicarb/LC-NH<sub>2</sub>は色素等の除去を目的に使用されている。各カラムにククルビタシンBを100ng添加し、溶出溶媒20mLで溶出し、溶出液を濃縮し、メタノールに置換し1mLに定容した後、LC/MSで測定した。溶出溶媒は、PSAはアセトン：ヘキサン(1：1)、C18とEnvicarb/LC-NH<sub>2</sub>はトルエン：アセトニトリル(1：3)を使用した。添加回収率を図6に示す。いずれのカートリッジカラムも標準物質の添加回収率が60%程度であったが、今回は試料の精製効果がもっとも期待できるEnvicarb/LC-NH<sub>2</sub>を採用した。

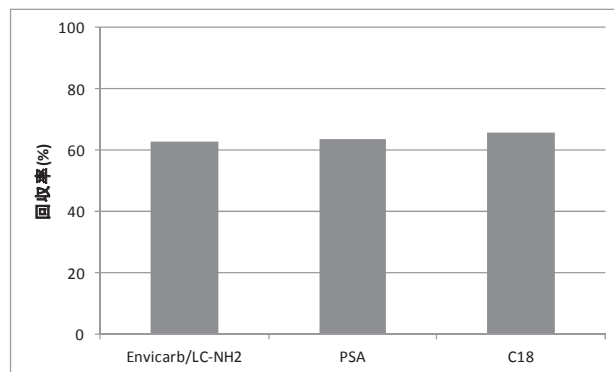


図6 カートリッジカラムの回収率

### 3.4 薄層クロマトグラフィー (TLC) の検討

各ククルピタシン標準物質 30  $\mu$ g を TLC プレートにスポットし、クロロホルム：酢酸エチル = 1：1 で展開した。標準物質を展開した TLC を図 7 に示す。

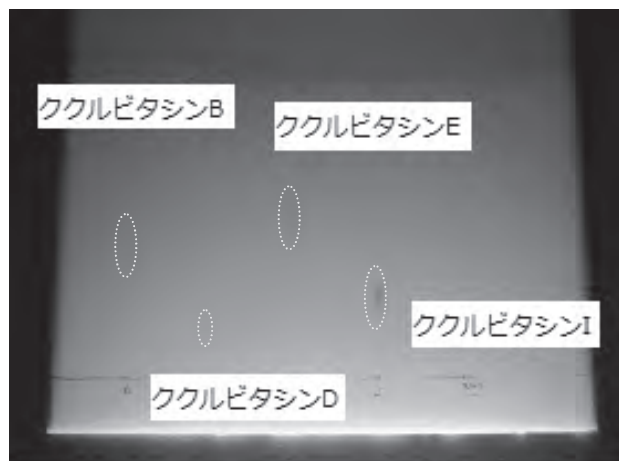


図 7 標準物質の展開 TLC

紫外線 (254nm) を照射し、蛍光が消失した部分がククルピタシンの展開位置を示している。Rf 値はククルピタシン D が 0.10, ククルピタシン I が 0.19, ククルピタシン B が 0.33, ククルピタシン E が 0.41 であった。蛍光が消失した部分を掻き取り、メタノールに再溶解し、LC/MS で測定したところ、回収率は 20 ~ 40% 程度であった。したがって、TLC は定量的な検査には問題があるため、定性用の確認検査法として位置づけた。

### 3.5 添加回収試験

添加回収試験は、キュウリとカレーを用いて実施した。細切したキュウリ 20g (カレーの場合は 10g) に各ククルピタシンを 2  $\mu$ g 添加し、分析フローに従い検査した。添加回収試験結果を図 8 に、クロマトグラムを図 9 に示す。キュウリの回収率は、82 ~ 105% と非常に良好な結果であった。一方、加工食品のカレーの回収率は、26 ~ 67% であり、特に、ククルピタシン E の回収率は非常に悪かった。この原因は、カレーには油脂等の様々なマトリックスが含まれており、Envicarb/LC-NH<sub>2</sub> 処理だけでは除去しきれない妨害成分が残存し、LC/MS 測定の際にイオン化抑制が生じ、見かけ上回収率が低くなったものと推測された。回収率を向上させるためには、試料量を少なくしたり、精製工程を追加したり、マトリックス検量線の採用等が考えられる。

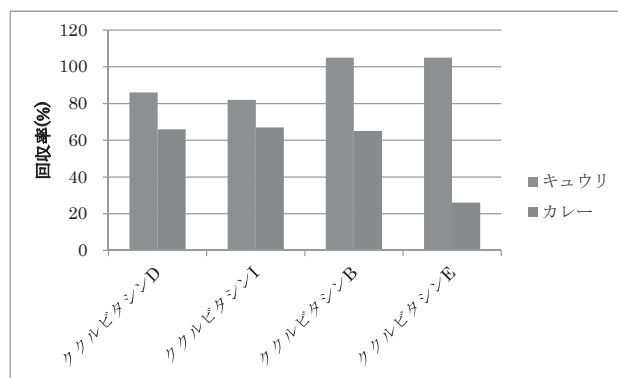


図 8 添加回収試験結果

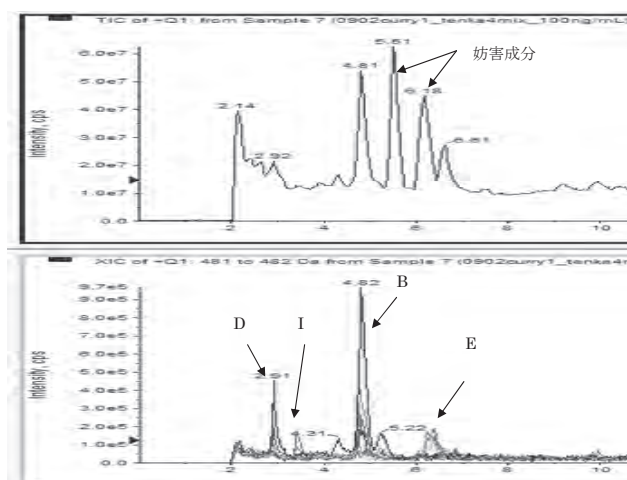


図 9 カレーのクロマトグラム  
(上段：TIC, 下段：m/z 479,481)

### 3.6 ユウガオの検査

かんぴょうに加工されるユウガオは、同一種のヒョウタンからククルピタシンの少ない品種を選別した変種である<sup>3)</sup>。近所で栽培されたユウガオを入手して官能検査を行ったところ、実の部分は全く苦みを感じなかったが、ヘタからツルの部分はしびれるような苦みがあった。したがって、実の部分とツルの部分に分けてククルピタシンを検査した。その結果、実の部分からはククルピタシンはいずれも検出されなかったが、ツルの部分からは図 10 に示すようにククルピタシン B が 19mg/kg 検出された。

ユウガオのツルの部分の抽出液を薄層クロマトで展開した TLC を図 11 に示す。ククルピタシン B と一致する Rf 値に蛍光が消失することが確認できた。TLC で展開した部分を LC/MS で定量したところ、カートリッジカラムの定量値の約 17% の値であった。

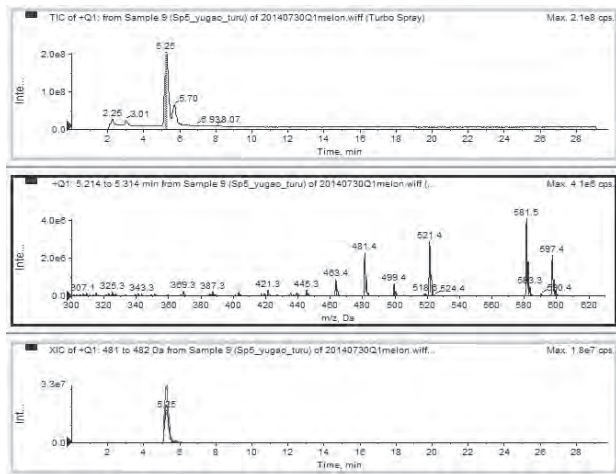


図 10 ユウガオ(ツル) (上段：TIC，中段：マススペクトル：下段：m/z 481,521,581,597)

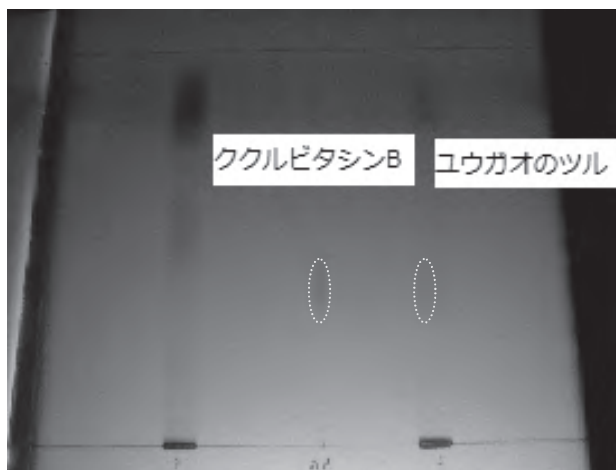


図 11 ユウガオ(ツル)の TLC 展開

#### 4 まとめ

ウリ科植物に含まれる苦味成分クルビタシンについて、カートリッジカラムを用いた精製方法による LC/MS 測定法を検討し、定量性のある分析法を確立した。

- ① LC/MS の ESI ポジティブモードにより 4 種類のクルビタシンが分離，測定可能で，検量線は，10～200ng/mL の濃度範囲で直線性が確認できた。
- ② 薄層クロマトグラフィーを使用した場合，添加回収率は 40% 未満で定量性が乏しかった。
- ③ カートリッジカラムを使用した場合，添加回収率は 82～105% と良好な結果であった。
- ④ ユウガオのツルの部分からクルビタシン B が 19mg/kg 検出された。

#### 謝 辞

本調査の実施に際して，標準物質クルビタシン B の分与にご協力いただきました大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部食品化学課阿久津和彦氏に深謝いたします。

#### 文 献

- 1) 食品安全関係情報：オーストリア保健・食品安全局 <http://www.ages.at/ages./ernaehrungessicherheit/pflanzliche-lebensmittel/zierkuerbis/>
- 2) 登田美桜，畝山智香子，春日文子：過去 50 年間のわが国の高等植物による食中毒事例の傾向，食品衛生学雑誌，55(1)，55-63，2014
- 3) 厚生労働書ホームページ：自然毒のリスクプロファイル：高等植物：ユウガオ [http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/poison/higher\\_det\\_20.html](http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/poison/higher_det_20.html)
- 4) 備前県民局健康福祉部ホームページ：クルビタシンが原因と強く疑われた事例について <http://www.pref.okayama.jp/page/398879.html>
- 5) 大城直雅，佐久川さつき：沖縄県における化学物質と自然毒による食中毒および苦情事例，沖縄県衛生環境研究所報，43，181-184，2009
- 6) 玉那覇康二，大城善昇，山城興博，城間博正，玉城宏幸：ユウガオの苦味物質クルビタシンの同定，沖縄県衛生環境研究所報，30，53-56，1996
- 7) 牛山博文，観 公子，新藤哲也，安田和男：化学物質及び自然毒による食中毒等事件例（第 17 報），東京衛研年報，51，166-169，2000
- 8) 山口瑞香，野村千枝，清田恭平，梶村計志：ヒョウタンによる食中毒事例について，大阪府公衛研所報，52，41-43，2014



【調査研究】

## 指定薬物の分析法検討

Studies on Component Analysis for Designated Drugs

北村雅美, 浅田幸男, 難波順子, 赤木正章, 肥塚加奈江\*, 吉岡敏行(衛生化学科),  
花尻(木倉)瑠理\*\*, 合田幸広\*\*

\*真庭保健所, \*\*国立医薬品食品衛生研究所

Masami Kitamura, Yukio Asada, Junko Nanba, Masaaki Akaki,

Kanae Koeduka\*, Toshiyuki Yoshioka,

Ruri Kikura-Hanajiri\*\*, Yukihiro Goda\*\*

(Food and Drug Chemical Research Section)

\*Maniwa Health Care Center, \*\*National Institute of Health Sciences

### 要 旨

近年, 指定薬物の化学構造は複雑化しており, 分析においても様々な困難事例が発生している状況である。当センターが標準品を保有しているもののうち, 熱による分解を受けやすいもの等, 分析を行う上で改善が必要なものについて検討を行った結果, 分析が可能となった。分析可能となった A-834735, QUCHIC, 5F-QUPIC, 5F-NNE1, NNE1,  $\alpha$ -PHPP 及び MPHP は, 同じ置換基や基本骨格を持つ化合物がすでにいくつも指定薬物となっているため, 今後分析を行っていく上でも有用な知見を得ることができた。

[キーワード: 脱法ドラッグ, 危険ドラッグ, 液体クロマトグラフ質量分析計, ガスクロマトグラフ質量分析計]

[Key words: Designated Drugs, Illegal Drug, Risk Drug, LC/MS, GC/MS]

### 1 はじめに

近年, 脱法ハーブ等と称して流通している危険ドラッグによる薬物乱用が全国的に拡大し, 大きな社会問題となっている。平成 18 年の薬事法改正により, 幻覚等の作用を有し, 使用した場合に健康被害が発生するおそれのあるものが指定薬物として指定され, 販売等が禁止された。この指定薬物には当初 31 物質 1 植物が指定されたが, 平成 27 年 5 月現在では 2,297 物質が指定薬物として指定されている。危険ドラッグには, 未規制の薬物に加え, この指定薬物が含有されている可能性がある。また, 平成 26 年 4 月 1 日からは医療や研究目的以外での指定薬物の所持, 購入, 譲り受け及び使用の禁止に関する規定が加わり, その後も更なる法改正で危険ドラッグ製品の製造, 販売, 広告等の禁止等が規定され, 規制の強化が進んでいる状況である。

岡山県内においても危険ドラッグが原因と疑われる健康被害が発生しており<sup>1)</sup>, その対策が急務になっていることから, 指定薬物の中でも, 特に分析において工夫が必要となるものについての分析法を検討したところ, A-834735, QUCHIC, 5F-QUPIC, 5F-NNE1, NNE1,  $\alpha$ -PHPP, MPHP の分析法について若干の知見を得たので報告する。

### 2 実験方法

#### 2.1 分析対象とした指定薬物

標準品として使用した AM2232, AM1220, JWH-200, QUCHIC, 5F-QUPIC, NNE1, 5F-NNE1 及び MPHP は Cayman Chemical 製を用いた。A-834735 及び  $\alpha$ -PHPP は国立医薬品食品衛生研究所からの分与品を用いた。

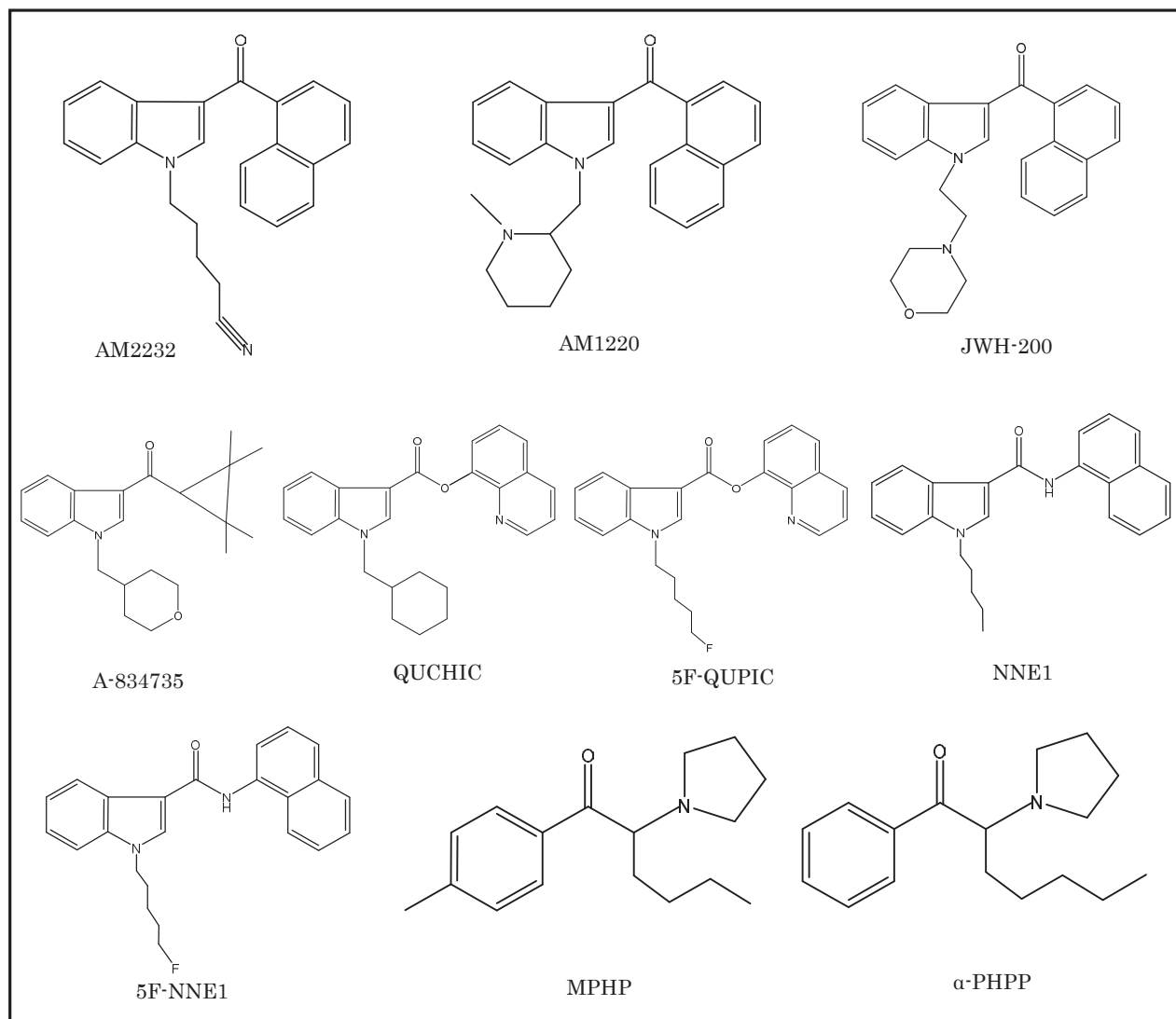


図1 標準品の構造式

図1にこれらの構造を示す。

メタノール、アセトニトリル及びギ酸はLC/MS用を、ギ酸アンモニウムは特級を、ジメチルスルホキシドはダイオキシン類分析用を用いた(全て和光純薬工業製)。メンブランフィルターはMILLIPORE製のMILLEX-LCR(孔径0.45 μm)を用いた。

## 2.2 標準溶液の調製

各標準品はメタノール又はジメチルスルホキシドに溶解させ、メタノール又はアセトニトリルで適宜希釈し調製した。ただしLC/MS分析の検量線作成用に供する溶液は、メタノール：水＝1：1の溶液で適宜希釈した。

## 2.3 測定条件

### 2.3.1 スクリーニング(GC/MS)の昇温条件の検討

基本的には通知法<sup>2)</sup>を参考にしているが、当センター

で保有している指定薬物標準品のうち、合成カンナビノイド類であるAM2232、AM1220、JWH-200は高極性の置換基を持ち、他の指定薬物と比較してカラムに強く保持され保持時間が30分付近である(図2)ため、通知法の条件2の昇温条件のうち、310℃へ昇温後、15分間保持するよう変更した。

測定条件を以下に示す。なお、キャリアーガスの流量とモニターイオンの質量範囲は適宜変更した。

### 2.3.2 GC/MS 定性分析

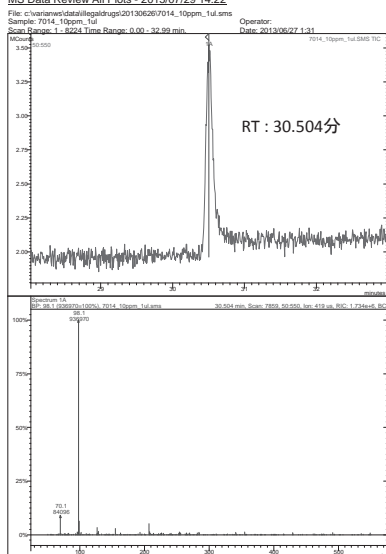
使用機種 GC：Varian 製 450GC，

MSD：Varian 製 240MS(イオントラップ型)

<測定条件1>(MPHP及びα-PHPP)

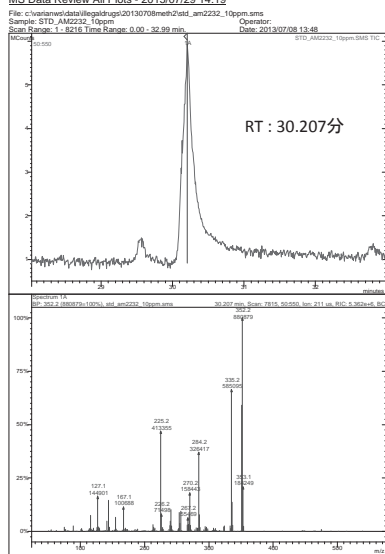
カラム：Agilent 製 DB-5MS+DS(0.25mmi.d. × 30m，

MS Data Review All Plots - 2015/07/29 14:22



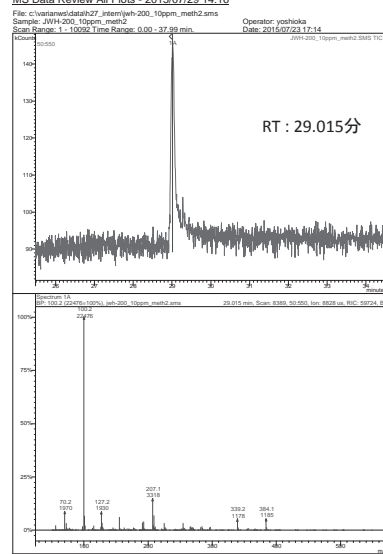
AM1220のクロマトグラムとマススペクトル

MS Data Review All Plots - 2015/07/29 14:19



AM2232のクロマトグラムとマススペクトル

MS Data Review All Plots - 2015/07/29 14:16



JWH-200のクロマトグラムとマススペクトル

図2 AM1220, AM2232 及び JWH-200 のクロマトグラムとマススペクトル

膜厚 0.25 $\mu$ m)<sup>3)</sup>

キャリアーガス：ヘリウム 0.7mL/min

注入口温度：200 $^{\circ}$ C，スプリットレス，

イオン化法：EI法 70eV

昇温条件：80 $^{\circ}$ C (1min)-5 $^{\circ}$ C /min-190 $^{\circ}$ C (15min)-10 $^{\circ}$ C /min-310 $^{\circ}$ C (20min)

<測定条件2>(QUCHIC, 5F-QUPIC, NNE1, 5F-NNE1, A-834735)

カラム：Agilent 製 DB-5MS+DS (0.25mmi.d.  $\times$  30m, 膜厚 0.25 $\mu$ m)

キャリアーガス：ヘリウム 1.1mL/min

注入口温度：250 $^{\circ}$ C，スプリットレス，

イオン化法：EI法 70eV

昇温条件：200 $^{\circ}$ C (1min)-5 $^{\circ}$ C /min-310 $^{\circ}$ C (15min hold)<sup>4)</sup>

<MSD条件(測定条件1及び2共通)>

Trap Temperature：150 $^{\circ}$ C，

Manifold Temperature：45 $^{\circ}$ C，

TransferLine Temperature：250 $^{\circ}$ C，

Source Temperature：150 $^{\circ}$ C

### 2.3.3 LC/MS 定量分析

使用機種 HPLC：島津製 LC-20A 高圧グラジエントシステム

MSD：Applied Biosystems 製 API3200

QTrap

<測定条件1>(MPHP及び $\alpha$ -PHPP)

カラム：Waters 製 Atlantis T3(2.1  $\times$  150mm, 5 $\mu$ m)

移動相 A：10mM ギ酸アンモニウム緩衝液(pH3.0)，

移動相 B：アセトニトリル

A:B 90:10(0min) - 80:20(50min) - 30:70(60-75min)

流速 0.2ml/min, カラム温度：40 $^{\circ}$ C, 注入量：5 $\mu$ l

<測定条件2>(QUCHIC, 5F-QUPIC, NNE1, 5F-NNE1, A-834735)

カラム：Waters 製 XBridge C18(2.1  $\times$  150mm, 3.5 $\mu$ m)

移動相 A：0.1% ギ酸, 移動相 B: 0.1% ギ酸アセトニトリル/メタノール(60:40)

A:B 50:50(0min) - 10:90(30-35min)

流速 0.3ml/min, カラム温度：40 $^{\circ}$ C, 注入量：5 $\mu$ l

<MSD条件(測定条件1及び2共通)>

インターフェース：Turbo V source

測定法：MS/MSモード

イオン化モード：ESI positive mode

イオン源温度：400 $^{\circ}$ C

イオン化電圧：5500V

モニターイオン(表1)

### 2.4 データベース

分析法を検討するに当たり、GC/MS及びLC/MSのMS/MSスペクトルライブラリデータの拡充を行った。

まず当センターで入手した指定薬物、麻薬及び向精神薬の標準品について、GC/MSでは104成分、LC/MS

表1 モニターイオン

	定量イオン		参照イオン	
A-834735	340.284	>125.100	340.284	>242.200
QUCHIC	385.252	>240.200	385.252	>144.100
5F-QUPIC	377.233	>232.200	377.233	>144.100
5F-NNE1	375.252	>232.100	375.252	>144.100
NNE1	357.206	>214.300	357.206	>144.100
$\alpha$ -PHPP	260.203	>154.400	260.203	>105.000
MPHP	260.220	>140.200	260.220	>189.200
			260.220	>119.100

では34成分の標準溶液を分析し、各成分の保持時間、マススペクトルに関するデータを収集し、ライブラリーデータベースを作成した。加えて、GC/MSではAgilent Technologiesが配布しているMass Spectral Library、試薬メーカーであるCayman Chemicalがホームページ上で提供しているCayman Spectral Library及びScientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs (SWGDRUG)がホームページ上で提供しているSWGDRUG MS Libraryを入手し、約2,400物質のデータベースの拡充が完了した。また、LC/MSではAB SCIEXが無料で提供しているMS/MSスペクトルライブラリーを入手し、約600物質のデータベースの拡充が完了した。

## 2.5 検量線

検量線は、2.2で調製した標準原液を等濃度になるよう混合した後、メタノール又はアセトニトリルを用いて順次希釈し、2, 5, 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1,000ng/mLの混合標準液を調製し、ピーク面積法により検量線を作成した。

## 2.6 分析の手順

最初にGC/MSで測定を行い、得られたマススペクトルから2.4で作成したデータベースで検索を行い、化合物を推定した。次に、LC/MS/MSで測定を行い、ライブラリーデータベースや質量数、フラグメントから化合物の構造に関する情報を得る。検体の場合、その後標準品を入手し、LC/MSにて定量を行った。

## 3 結果および考察

### 3.1 A-834735

A-834735をGC/MS及びLC/MSで測定した際のクロマトグラムとマススペクトルを図3に示す。対象物質のピークの後にA-834735 degradantと考えられるピー

クが検出され、GC注入口の熱(250℃)で3員環が開裂したものと推察された。LC/MS/MS測定では、A-834735とJWH-203のプリカーサーイオンとプロダクトイオンが一致していたが、リテンションタイムの違いにより分離することが可能であった。

### 3.2 5F-QUPIC, QUCHIC, 5F-NNE1 及び NNE1

5F-QUPICはGC/MS測定では一部が熱分解することやメタノール溶液では縮合する可能性が指摘されており<sup>5)</sup>、ジメチルスルホキシドとアセトニトリルを用いて試料調製を行った。また、同じ基本骨格を持つQUCHICについては、ジメチルスルホキシドで溶解し、アセトニトリルで標準品の調製を行った。その結果、分解を防ぐことができ、同定が可能となった(図4)。

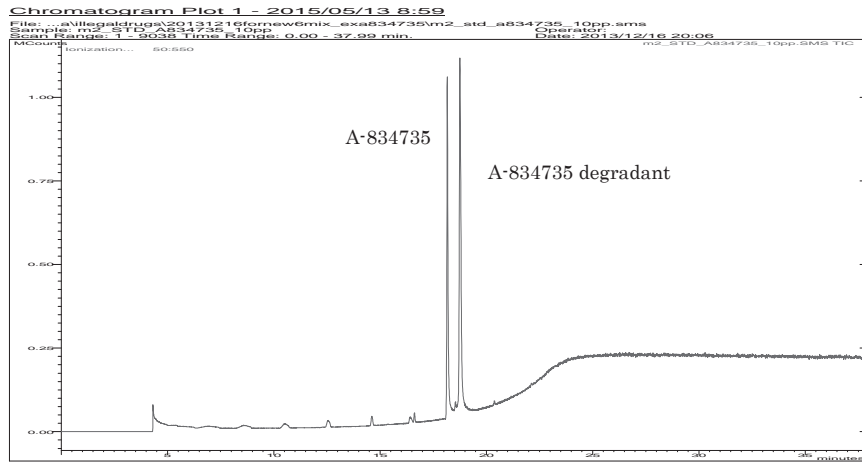
数多く存在する構造異性体のうち5F-QUPIC(5-フルオロペンチル基)の構造異性体である5F-QUPIC N-(2-fluoropentyl) isomer(2-フルオロペンチル基)、5F-NNE1(1-ナフチル基)の構造異性体である5F-NNE1 2'-naphthyl isomer(2-ナフチル基)、NNE1(1-ナフチル基)の構造異性体であるNNE1 2'-naphthyl isomer(2-ナフチル基)、の3つの構造異性体(図5)については標準品が入手できたので、GC/MS及びLC/MS(どちらも測定条件2)でそれぞれ5F-QUPIC、5F-NNE1、NNE1と保持時間を比較した(図6)ところ、GC/MSで2~5分程度、LC/MSで1~2分程度の明確な差異が見られた。その結果、5F-QUPIC(図7)、5F-NNE1(図8)、NNE1(図9)について、同定が可能となった。

### 3.3 MPHP 及び $\alpha$ -PHPP

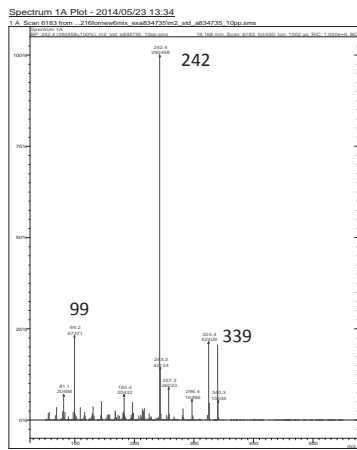
MPHP及び $\alpha$ -PHPPは、GC/MSでは図10に示すとおり、測定条件1で保持時間に1分近くの差異があることから完全に分離できていたが、LC/MSでは測定条件1での保持時間が非常に近接しており、完全に分離する



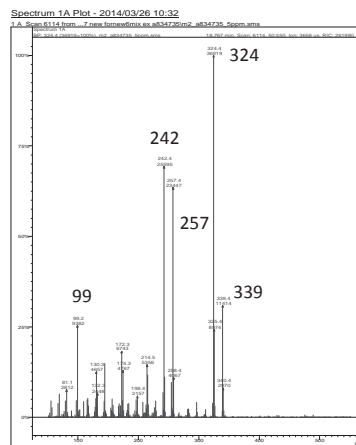
GC/MS Analysis



A-834735のクロマトグラム (TIC)

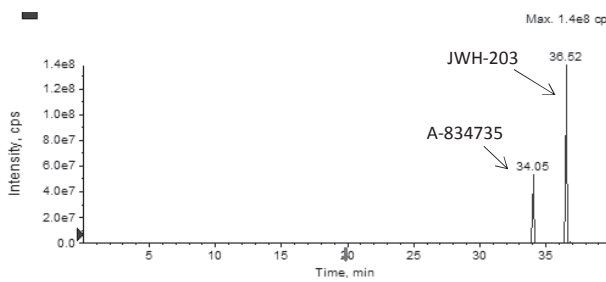


A-834735のマスペクトル

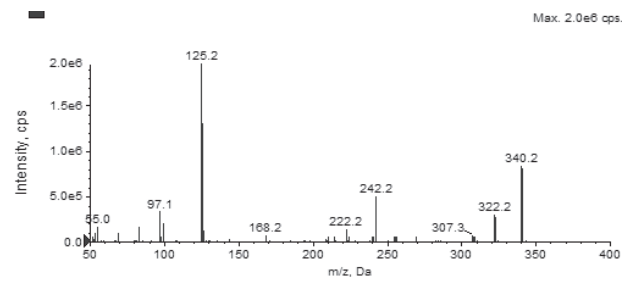


A-834735 degradant のマスペクトル

LC/MS Analysis



混合標準品のMRMで得られたクロマトグラム

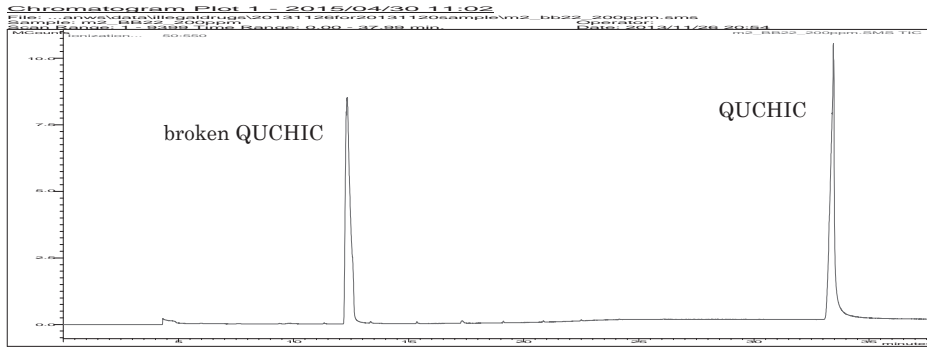


A-834735のマスペクトル

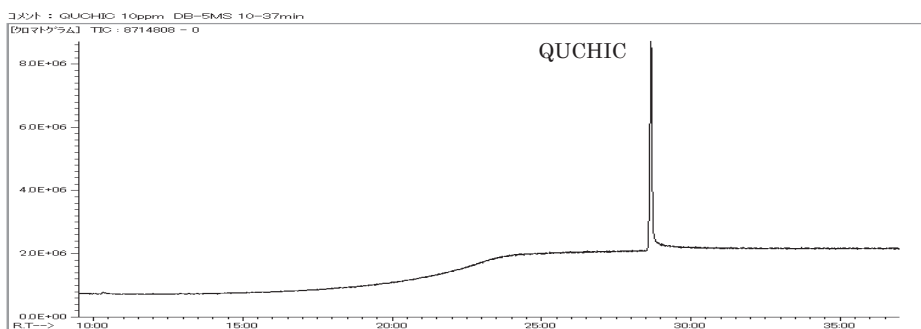
図 3 A-834735

GC/MS Analysis

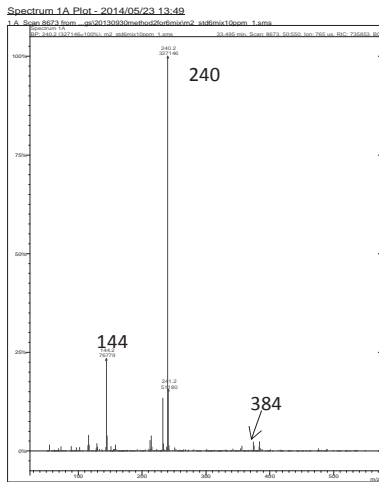
メタノール溶液



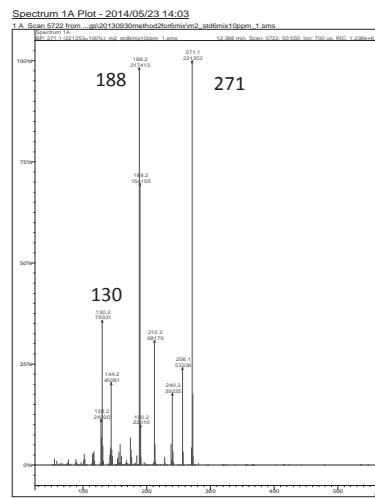
アセトニトリル溶液



QUCHICのクロマトグラム (TIC)

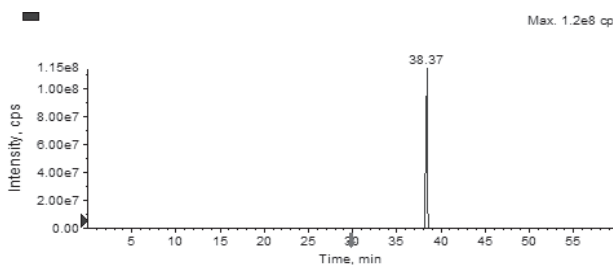


QUCHICのマススペクトル

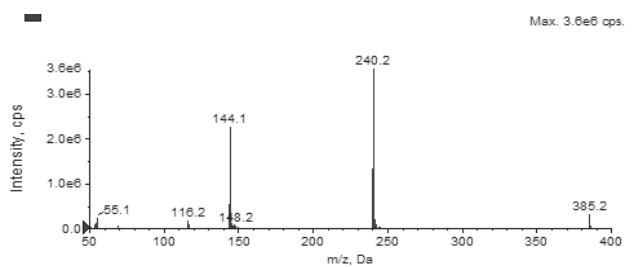


QUCHICの分解物のマススペクトル

LC/MS Analysis



QUCHICのクロマトグラム (TIC)



QUCHICのマススペクトル

図 4 QUCHIC

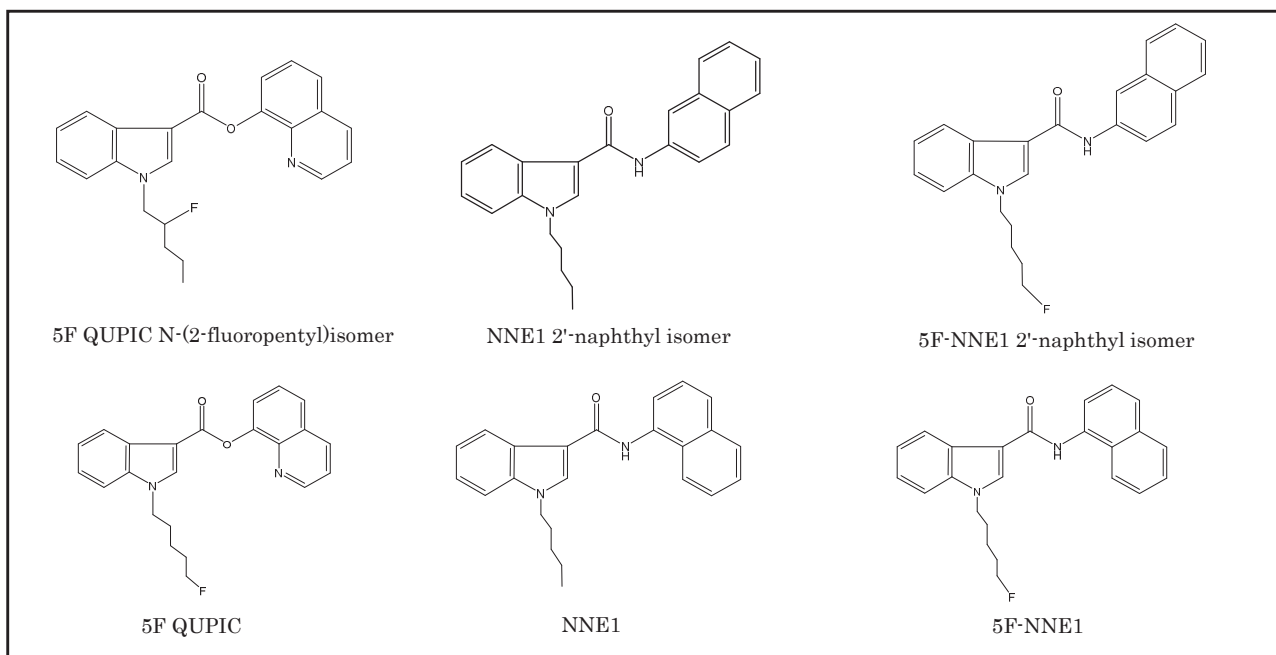


図5 構造異性体の構造式

ことはできなかったので、 $m/z$  260 をプリカーサーイオンとした MS/MS 測定で個々に特有の  $m/z$  140 及び  $m/z$  154 をプロダクトイオンとして同定を行った。

### 3.4 検量線

図 11 に示したとおり、全ての検量線について直線性が得られたので、定量が可能となった。

## 4 まとめ

GC の熱により分解したり、溶媒選択によっては縮合してしまうもの、LC/MS では分離不可能なほど構造的に類似しているものなど、様々な特徴を持った指定薬物について分析法の検討を行った。

新たな指定薬物が指定された直後は、既存の指定薬物の基本骨格や置換基を一部変えた新しい化合物が検出されることが多く、「いたちごっこ」と称される状態が続いていることから、類似した構造を持つ成分を一括して指定薬物とする包括指定制度が導入されたため、指定薬物は 2,000 物質以上となり、構造の解析が複雑化していく傾向にある。特に平成 26 年 1 月 12 日から包括指定されたカチノン系化合物については、GC/MS によるスクリーニングや LC/MS から得られるマススペクトル情報が少ないため、誤認を防ぎ、かつ迅速に化合物の同定を行うためには、今後は TOF/MS 及び NMR による解析が必要になってくると考えられる。

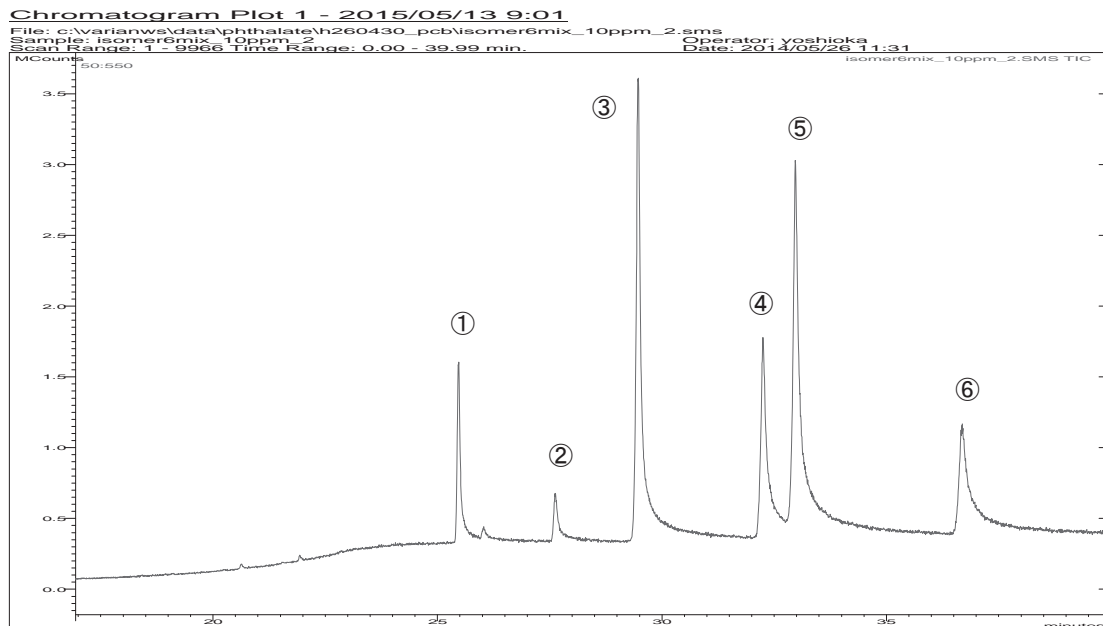
## 謝 辞

本調査にあたり、当県の視察研修を受け入れていただいた、福岡県保健環境研究所保健科学部生活化学課の関係者の皆様、及びスペクトルデータ等をご提供いただいた、大阪府立公衆衛生研究所衛生化学部薬事指導課の関係者の皆様に深謝いたします。

## 文 献

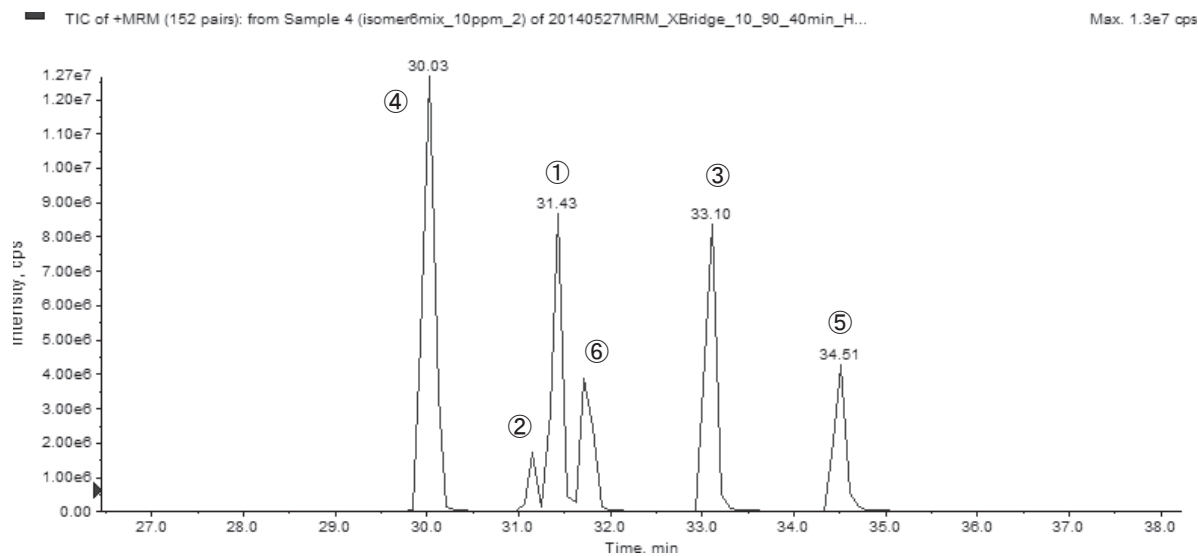
- 1) 朝日新聞：脱法ドラッグ、平成 25 年 3 月 7 日岡山県版記事
- 2) 厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課長通知：指定薬物の測定結果等について、薬食監麻発 0914 第 5 号、平成 22 年 9 月 14 日、2010
- 3) 財津桂、片木宗弘、中西啓子、志摩典明、鎌田寛恵ら：違法ドラッグとして流通している合成カンナビノイド類の分析、法科学技術、16(2)、73-90、2011
- 4) 高橋市長、長谷川貴志、西條雅明、永田知子、花尻(木倉)瑠理、合田幸広：千葉県における違法ドラッグ試験検査について(平成 21 年度)、千葉県衛生研究所年報、58：51-54、2009
- 5) 田上貴臣：違法ドラッグ分析について、平成 25 年度関西広域連合脱法ドラッグ勉強会資料、大阪府立公衆衛生研究所、2013

GC/MS Analysis



指定薬物(5F-QUPIC, 5F-NNE1及びNNE1)とその異性体の混合標準液のクロマトグラム(TIC)

LC/MS Analysis



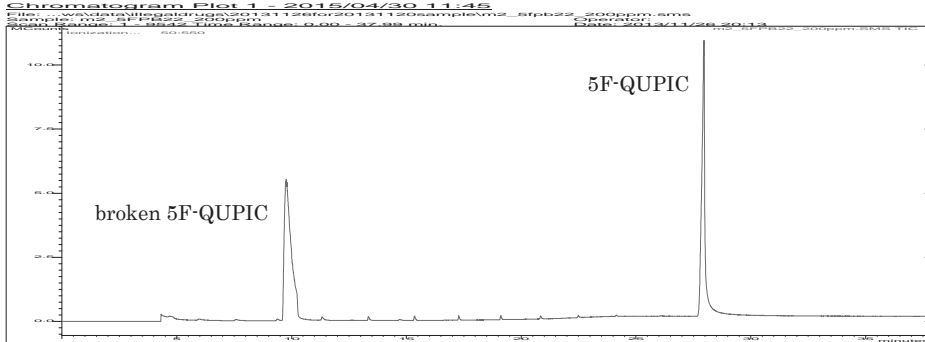
指定薬物(5F-QUPIC, 5F-NNE1及びNNE1)とその異性体の混合標準液のクロマトグラム(TIC)

- ①: 5F-QUPIC N-(2-fluoropentyl)isomer
- ②: 5F-QUPIC
- ③: NNE1
- ④: 5F-NNE1
- ⑤: NNE1 2'-naphthyl isomer
- ⑥: 5F-NNE1 2'-naphthyl isomer

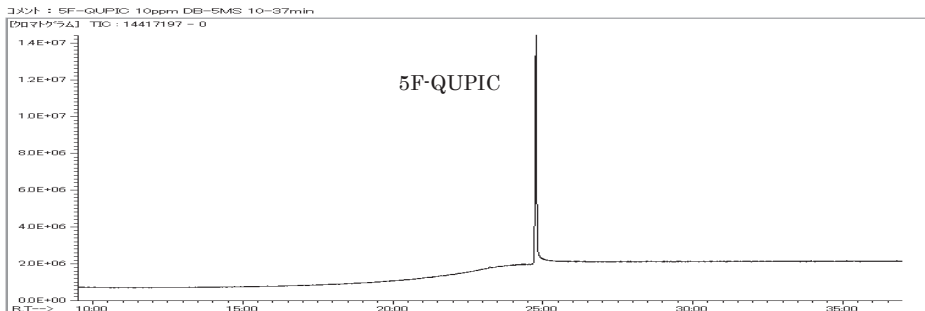
図6 異性体

GC/MS Analysis

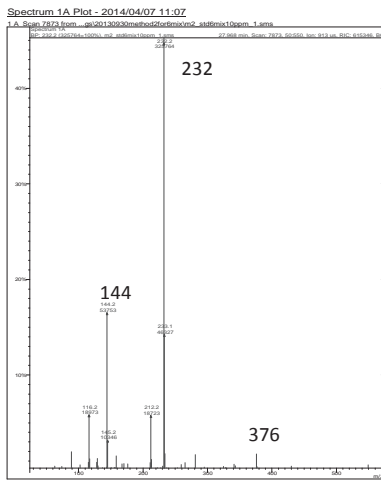
メタノール溶液



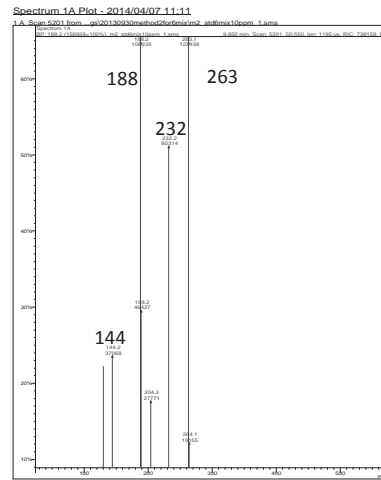
アセトニトリル溶液



5F-QUPICのクロマトグラム(TIC)

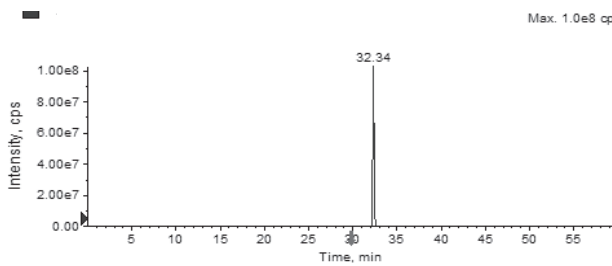


5F-QUPICのマススペクトル

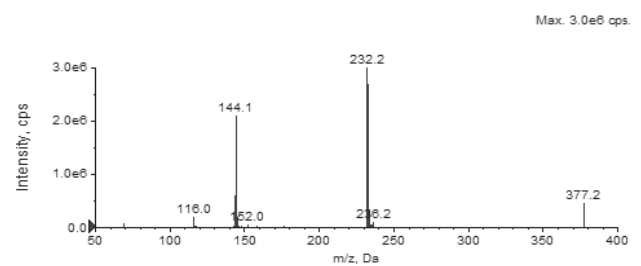


5F-QUPICの分解物のマススペクトル

LC/MS Analysis



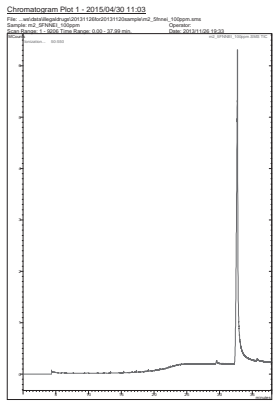
5F-QUPICのクロマトグラム(TIC)



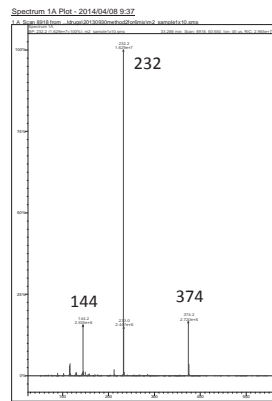
5F-QUPICのマススペクトル

図7 5F-QUPIC

GC/MS Analysis

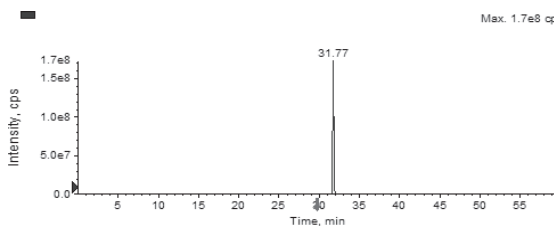


5F-NNE1のクロマトグラム (TIC)

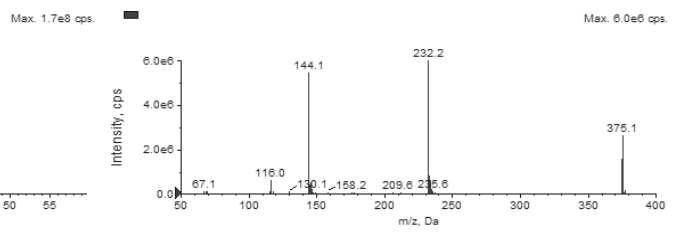


5F-NNE1のマススペクトル

LC/MS Analysis



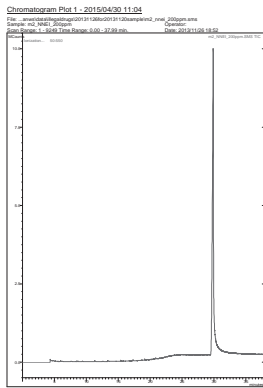
5F-NNE1のクロマトグラム (TIC)



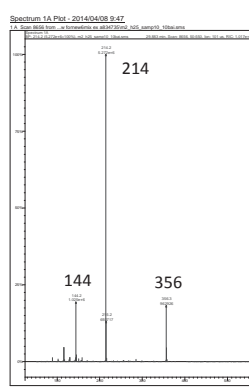
5F-NNE1のマススペクトル

図 8 5F-NNE1

GC/MS Analysis

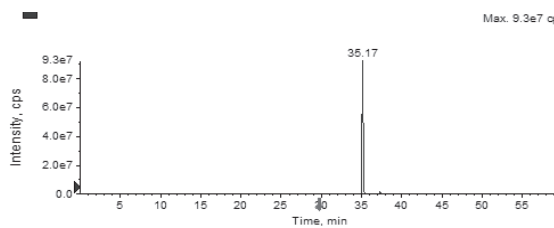


NNE1のクロマトグラム (TIC)

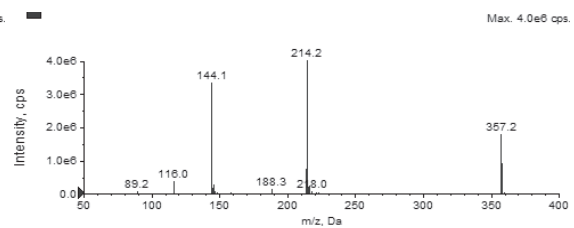


NNE1のマススペクトル

LC/MS Analysis



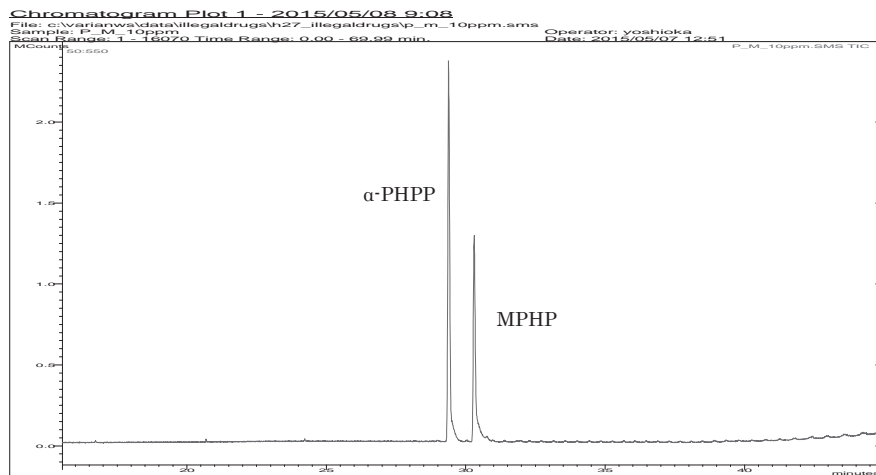
NNE1のクロマトグラム (TIC)



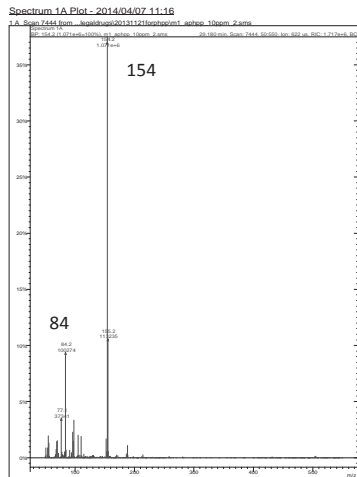
NNE1のマススペクトル

図 9 NNE1

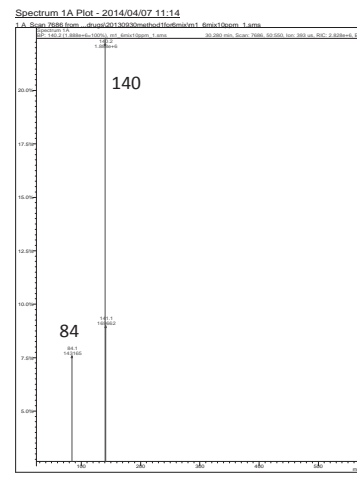
GC/MS Analysis



MPHPP及び $\alpha$ -PHPPのクロマトグラム(TIC)

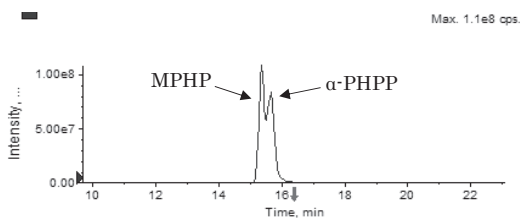


$\alpha$ -PHPPのマススペクトル

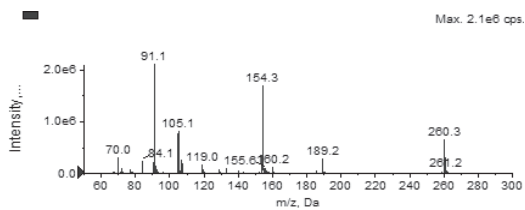
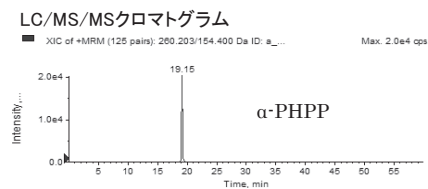
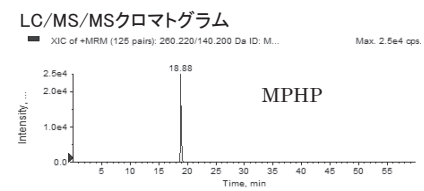


MPHPPのマススペクトル

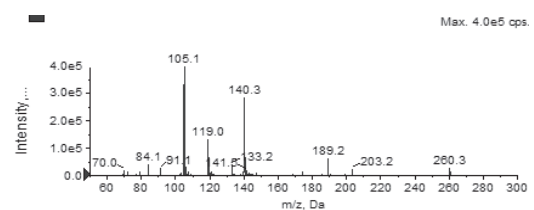
LC/MS Analysis



MPHPP及び $\alpha$ -PHPPのクロマトグラム (TIC)



$\alpha$ -PHPPのマススペクトル



MPHPPのマススペクトル

図10 MPHPP及び $\alpha$ -PHPP

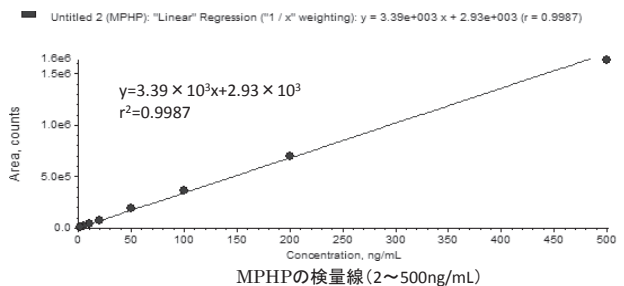
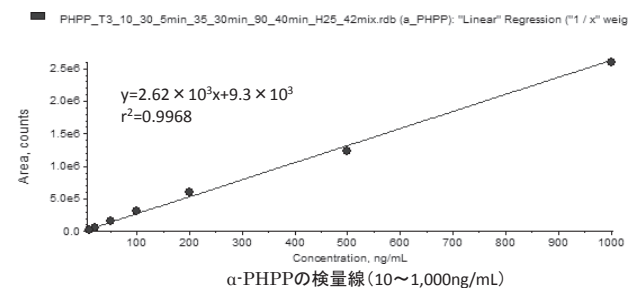
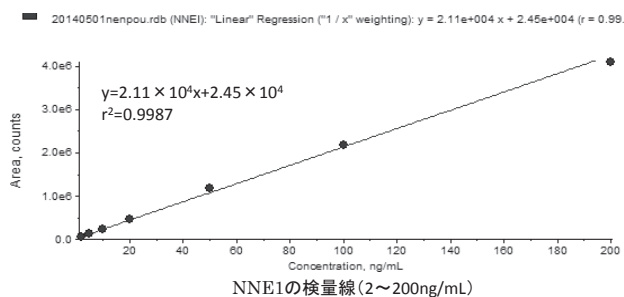
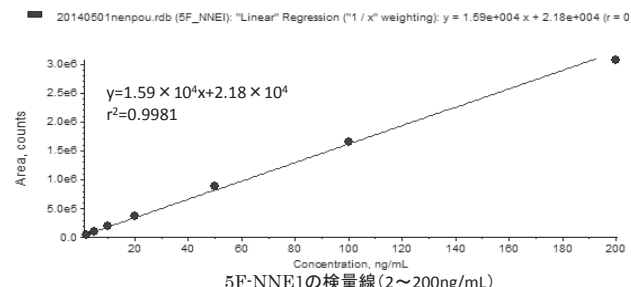
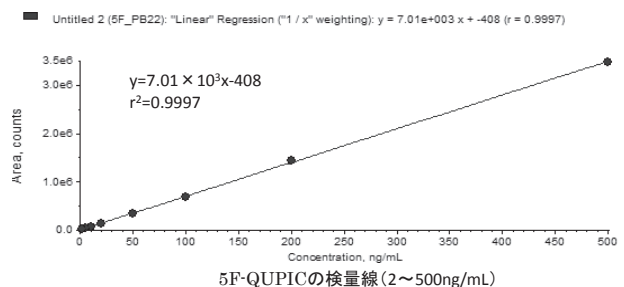
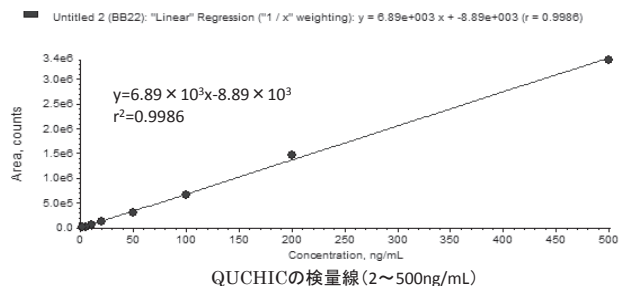
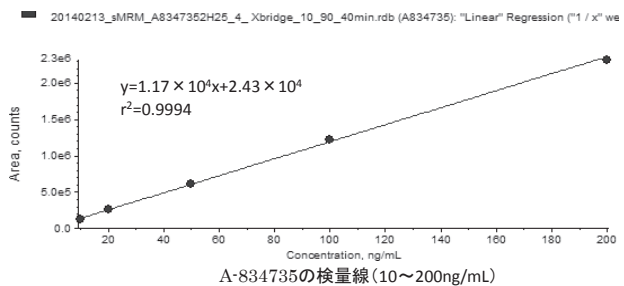


図 11 検量線



# 業 務 報 告

## 2014 年岡山県における感染症の患者発生状況について (岡山県感染症情報センター業務報告)

### 1 はじめに

感染症発生動向調査事業では、「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」(平成 10 年法律第 104 号。以下「感染症法」という。)及び「感染症発生動向調査事業実施要綱」(平成 11 年 3 月 19 日付け健医発第 458 号。以下「要綱」という。)に基づいて、医師等医療関係者の協力のもと、感染症の発生状況、患者情報及び病原体情報などを収集・分析し、その結果を国民や医療関係者へ提供公開していくこととしている。

本県においては、昭和 50 年 9 月から患者発生情報を収集還元していたが、患者情報と病原体情報の収集・分析・提供の一体化を図るため、要綱に基づき平成 23 年 4 月、岡山県環境保健センターに感染症情報センターが設置された。岡山県感染症情報センターでは、医師等医療関係者の協力のもと、県内(岡山市を除く。)の保健所を介して患者情報及び病原体情報を収集し、国立感染症研究所感染症疫学センターへ報告している。また、岡山市及び倉敷市と連携し、感染症情報の収集分析を行い、感染症の予防及びまん延防止のため、これらの情報をホームページや電子メールなどを用いて公開している。しかし、環境保健センターに感染症情報センターが設置されて以降、岡山県内の感染症発生動向調査に関するデータを総合的に取りまとめた報告は作成されなかった。そこで今回、2014 年(平成 26 年)岡山県における感染症の患者発生状況をまとめたので報告する。

### 2 届出対象疾患及び調査方法

#### 2.1 届出対象疾患

対象となる感染症は感染症法により定められており、一類～四類感染症、新型インフルエンザ等感染症及び指定感染症は全数把握対象に、五類感染症は、全数把握対象と定点把握対象に区分されている(表 1 参照)。なお、感染症法施行令及び施行規則の改正により、平成 26 年 7 月 26 日に「中東呼吸器症候群(病原体がベータコロナウイルス属 MERS コロナウイルスであるものに限る。)」が指定感染症に追加され、また平成 26 年 9 月 19 日に「カ

ルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症」、「水痘(患者が入院を要すると認められるものに限る。）」、「播種性クリプトコックス症」が、全数把握対象(五類)に追加、定点把握対象の「薬剤耐性アシネトバクター感染症」が、全数把握対象(五類)となった。

#### 1) 全数把握疾患

全数把握疾患とは、発生数が希少、あるいは周囲への感染拡大防止を図ることが必要な感染症で、医師は該当する患者を診断したときには、最寄りの保健所へ届出なくてはならない。

#### 2) 定点把握疾患

定点把握疾患とは、発生動向の把握が必要なもののうち、患者数が多数で、全数を把握する必要がない感染症で、指定された医療機関(定点)から感染症の発生状況を週単位または月単位で届出されることになっている。なお、定点医療機関は、要綱の基準に基づき選定されており、岡山県の場合、定点数は、小児科定点 54、インフルエンザ定点 84、眼科定点 12、性感染症定点 17、基幹定点 5 となっている。

### 2.2 調査方法

要綱に従って各関係機関から報告された患者情報を、感染症サーベイランスシステム(以下「システム」という。)により、国立感染症研究所感染症疫学センターへ報告している。そのシステムにおける感染症発生動向調査の還元情報から、対象疾患について、岡山県内の発生状況を解析した。

### 2.3 調査期間

全数把握疾患(表 1-1)および月報告の定点把握疾患(表 1-2-②)については、2014 年 1 月 1 日～12 月 31 日を、週報告の定点把握疾患(表 1-2-①)については、2014 年第 1 週～52 週(2013 年 12 月 30 日～2014 年 12 月 28 日)を調査期間とする。なお、いずれの疾患も診断日を基準としている。

### 3 結果

#### 3.1 全数把握疾患の届出状況(表 2, 3 参照)

##### 3.1.1 一類感染症

一類感染症の届出はなかった。

##### 3.1.2 二類感染症

二類感染症では、387 例の届出があり全て結核であった。類型は、患者 263 例、無症状病原体保有者 120 例、疑似症患者 4 例であった。年齢階級別では、80 歳代(30.0%)が最も多く、70 歳代(16.8%)、60 歳代(14.0%)の順となっている。無症状病原体保有者 120 例のうち 47 例が医療従事者(医師、看護婦、介護士、理学療法士など)であった。集団感染については、7月に1件(家族、医療機関等)、8月に1件(社会福祉施設)の計2件発生した。

##### 3.1.3 三類感染症

三類感染症では、71 例の届出があり全て腸管出血性大腸菌感染症であった。類型は、患者 33 例、無症状病原体保有者 38 例であった。年齢階級別では、0 - 9 歳(47.9%)が全体のほぼ半数を占めており、次いで 30 歳代(15.5%)、20 歳代(9.9%)の順に多かった。血清群別(重複あり)では、O157 36 例、O26 23 例、O103 5 例、O111 4 例、O121 及び O91 各 1 例、O 群別不明 2 例であり、溶血性尿毒症症候群(HUS)の報告はなかった。

##### 3.1.4 四類感染症

○四類感染症では、7 疾患 49 例の届出があった。主な疾患については、以下のとおりである。

###### i) 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)

重症熱性血小板減少症候群(SFTS)は、5月と8月に計2例の発生報告があり、2013年に初めて患者報告がされてから、県内での発生が4例となった。

###### ii) デング熱

デング熱は9月に1例の届出があり、都立代々木公園において発生した国内感染事例に伴い報告された症例であった。

###### iii) レジオネラ症

レジオネラ症は30例の届出があり、病型はすべて肺炎型だった。年齢階級別では、60歳代(30.0%)が最も多く、80歳代(26.7%)、50歳代(20.0%)の順となっており、患者はすべて40歳以上の成人だった。感染原因・経路(推定/重複あり)は、塵埃感染5例、水系感染3例、その他不明25例であった。

##### 3.1.5 五類感染症

○五類感染症では、17 疾患 134 例の届出があった。主な疾患については、以下のとおりである。

###### i) アメーバ症

アメーバ赤痢は12例の届出があり、30歳代~70歳代の男性であった。感染原因(推定)は、経口感染1例、性的接触(異性間)1例、その他国外河川での沐浴1例、不明9例だった。感染地域は、国内11例、国外(インド)1例だった。

###### ii) 劇症型溶血性レンサ球菌感染症

劇症型溶血性レンサ球菌感染症は3例の届出があった。年齢階級別では、60歳代2例、90歳代1例だった。感染原因(推定)は創傷感染2例、不明1例であり、診断方法は、すべて分離・同定による病原体の検出で、血清群別では、A群2例、G群1例であった。

###### iii) 後天性免疫不全症候群

後天性免疫不全症候群は21例の届出があり、病型はAIDS8例、無症候性キャリア12例、その他1例であった。性別は、男性20例、女性1例で、年齢階級別では、40歳代(38.1%)が最も多く、30歳代(23.8%)、50歳代及び60歳代(14.3%)の順となっている。感染原因(推定)は、性行為感染18例(異性間2例、同性間15例、異性または同性間1例)、不明3例であった。感染地域は、国内19例、国外(ロシア)1例、不明1例であった。

###### iv) 梅毒

梅毒は21例の届出があり、前年(8例)より大きく増加した。類型は、患者15例、無症状病原体保有者6例であり、性別は、男性20例、女1例であった。年齢階級別では、20歳代及び30歳代(28.6%)が最も多く、40歳代(19.0%)、50歳代(9.5%)の順となっている。感染地域(推定)は、国内20例、国外(中国)1例であった。

###### v) 風しん

風しんは2例の届出があり、全数把握対象となつて以降、最も患者の発生が多かった2013年(76例)と比較して大幅に減少した。年齢階級別では、20歳代1例、30歳代1例で、ワクチン接種歴は、すべて1・2回目とも不明であった。

###### vi) 麻しん

麻疹は6例の届出があり、年齢階級別では、0～9歳2例、10歳代2例、20歳代2例だった。病型は、麻疹4例、修飾麻疹2例で、ワクチン接種歴は、1・2回目ともあり1例、1・2回目ともなし2例、1・2回目とも不明3例であった。

### 3.2 定点把握疾患の届出状況

#### 3.2.1 週報告疾患(表4参照)

##### i) インフルエンザ(2013/2014シーズン流行のまとめ)

インフルエンザは、2013年第43週にシーズン初めての患者が報告され、第52週に定点あたり報告数1.53人となり、流行期に入った。以降、急速に流行は拡大し、2014年第2週に定点あたり5.66人となり、注意報レベルの5人を越えた。そして第5週には定点あたり28.89人となり、2013/2014シーズンのピークを迎えた。第6週に定点あたり21.84人まで減少したものの、その後しばらくほぼ横ばいで推移した。第10週から再び減少し始め、第21週、第22週と2週連続して定点あたり1人を下まわり、インフルエンザの流行は終息した。

2013/2014年シーズン(2013年9月2日～2014年6月8日)、岡山県環境保健センターで検出されたインフルエンザウイルス122株の検出割合は、AH1pdm09型が48株(39%)と最も多く、AH3型が44株(36%)、B型が30株(25%) (B型のうち山形系統24株、ビクトリア系統6株)だった。AH1pdm09型は、2011/2012年シーズン、2012/2013年シーズンには検出されていなかったが、今シーズンは検出最多となった。

##### ii) RSウイルス感染症

RSウイルス感染症は、定点あたり累積報告数が22.42人であり、前年(19.59人)と比較して増加した。前年12月の患者が多い状態から2014年に入り、増減を繰り返しながら減少し、第11週からは散発的であった。第35週から徐々に増加しはじめ、第50週には定点あたり2.59人と過去10年間で最も多くなった。

##### iii) 手足口病

手足口病は、定点あたり累積報告数は、前年の73.76人から大幅に減少し10.89人と少なかった。

##### iv) 咽頭結膜熱

咽頭結膜熱は、第1週から第14週までは過去10

年間で最も多い状態で推移し、9月頃まで流行が継続した。

#### 3.2.2 月報告疾患(表5～7参照)

##### 1) 性感染症定点

###### i) 性器クラミジア感染症

性器クラミジア感染症は、定点あたり累積報告数が21.29人であり、前年(21.82人)とほぼ同数だった。男女別割合では、男性23.8%女性76.2%と女性が多かった。

###### ii) 性器ヘルペスウイルス感染症

性器ヘルペスウイルス感染症は、定点あたり累積報告数が5.65人であり、前年(7.35人)より減少した。男女別割合では、男性5.2%女性94.8%と女性が圧倒的に多かった。

###### iii) 尖圭コンジローマ感染症

尖圭コンジローマ感染症は、定点あたり累積報告数が4.82人であり、前年(4.18人)とほぼ同数であった。男女別割合では、男性65.9%女性34.1%と男性が多く、また男性の報告数が3年連続で増加した。

###### iv) 淋菌感染症

淋菌感染症は、定点あたり累積報告数が8.06人であり、前年(7.88人)とほぼ同数だった。男女別割合では、ほぼ同数だった。

性感染症疾患を年齢階級別で見ると、20歳～30歳代の報告が多い傾向がみられた。

##### 2) 基幹定点(薬剤耐性菌感染症)

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症は、定点あたり累積報告数は37.00人であり、前年(23.60人)より増加した。70歳以上の報告が最も多かった。ペニシリン耐性肺炎球菌感染症、薬剤耐性緑膿菌感染症及び薬剤耐性アシネトバクター感染症の患者報告はなかった。

#### 4 まとめ

全数把握感染症について、結核の届出数は、2012年(477例)、2013年(358例)と連続で減少していたが、2014年(387例)はわずかに増加した。年齢別では、70歳以上の高齢者が多く報告されている。2014年8月には約70年ぶりにデング熱の国内感染患者発生が確認されたが、県内でも1例の届出があった。この届出例でも感染場所と推定された代々木公園への訪問歴があったことから、国内感染が疑われた。梅毒は、2007～2013年の届出数は5～9例だったが、2014年は21例と急増した。全国の梅毒患者の報告総数も、2011年から増加傾向にあるため、岡山県でも今後の発生動向に注意が必要である。

定点把握感染症に関して、2013/2014年シーズンのインフルエンザは、流行期間が23週間と前年と同様であった。定点あたり累積報告数は2012/2013シーズンより増加した。2013/2014シーズンは、定点あたり報告数が30人を超えることはなかったものの、流行のピークを迎えた後、定点あたり報告数の減少が緩やかであったことが特徴であった。RSウイルスは、前年同様8月下旬から患者報告数が増加し始め、定点あたり累積報告数が、過去10年間で最も多くなった。

今後も引き続きデータ収集・解析に努め、全国での感染症の発生動向にも注意を払いつつ、県民の健康を守るための一助として感染症情報を広く発信していきたい。

表 1 感染症法に基づく届出対象疾患(2014 年)

1. 全数把握疾患: 全ての医師が、全ての患者発生について届出を行う感染症

<p>【 一類感染症 】 直ちに届出</p> <p>(1) エボラ出血熱 (2) クリミア・コンゴ出血熱 (3) 痘そう (4) 南米出血熱 (5) ペスト (6) マールブルグ病 (7) ラッサ熱</p>
<p>【 二類感染症 】 直ちに届出</p> <p>(1) 急性灰白髄炎 (2) 結核 (3) ジフテリア (4) 重症急性呼吸器症候群(病原体がコロナウイルス属 SARS コロナウイルスであるものに限る)</p> <p>(5) 鳥インフルエンザ(H5N1)</p>
<p>【 三類感染症 】 直ちに届出</p> <p>(1)コレラ (2)細菌性赤痢 (3)腸管出血性大腸菌感染症 (4)腸チフス (5)バラチフス</p>
<p>【 四類感染症 】 直ちに届出</p> <p>(1) E 型肝炎 (2) ウエストナイル熱 (3) A 型肝炎 (4) エキノコックス症 (5) 黄熱 (6) オウム病 (7) オムスク出血熱 (8) 回帰熱 (9) キャサナル森林病 (10) Q 熱 (11) 狂犬病 (12) コクシジオイデス症 (13) サル痘 (14) 重症熱性血小板減少症候群(病原体がフレボウイルス属 SFTS ウイルスであるものに限る) (15) 腎症候性出血熱 (16) 西部ウマ脳炎 (17) ダニ媒介脳炎 (18) 炭疽 (19) チクングニア熱 (20) つつが虫病 (21) デング熱 (22) 東部ウマ脳炎 (23) 鳥インフルエンザ(H5N1 及び H7N9 を除く) (24) ニバウイルス感染症 (25) 日本紅斑熱 (26) 日本脳炎 (27) ハンタウイルス肺症候群 (28) B ウイルス病 (29) 鼻疽 (30) ブルセラ症 (31) ベネズエラウマ脳炎 (32) ヘンドラウイルス感染症 (33) 発しんチフス (34) ボツリヌス症 (35) マラリア (36) 野兔病 (37) ライム病 (38) リッサウイルス感染症 (39) リフトバレー熱 (40) 類鼻疽 (41) レジオネラ症 (42) レプトスピラ症 (43) ロッキー山紅斑熱</p>
<p>【 五類感染症の一部 】 7 日以内に届出(麻しん・風しんはできるだけ早く)</p> <p>(1) アメーバ赤痢 (2) ウイルス性肝炎(E 型肝炎及び A 型肝炎を除く) (3) カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症 ** (4) 急性脳炎(ウエストナイル脳炎、西部ウマ脳炎、ダニ媒介脳炎、東部ウマ脳炎、日本脳炎、ベネズエラウマ脳炎及びリフトバレー熱を除く) (5) クリプトスポリジウム症 (6) クロイツフェルト・ヤコブ病 (7) 劇症型溶血性レンサ球菌感染症 (8) 後天性免疫不全症候群 (9) シアルジア症 (10) 侵襲性インフルエンザ菌感染症 (11) 侵襲性髄膜炎菌感染症 (12) 侵襲性肺炎球菌感染症 (12) 水痘(入院例に限る) ** (13) 先天性風しん症候群 (14) 梅毒 (15) 播種性クリプトコックス症 ** (16) 破傷風 (17) バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌感染症 (18) バンコマイシン耐性腸球菌感染症 (19) 風しん (20) 麻しん (21) 薬剤耐性アシネトバクター感染症 **</p>
<p>【 指定感染症 】 直ちに届出</p> <p>(1)鳥インフルエンザ(H7N9) (2)中東呼吸器症候群(病原体がベータウイルス属 MERS コロナウイルスであるものに限る) *</p>

2. 定点把握疾患(五類感染症): 指定した医療機関が、患者の発生について届出を行う感染症

①週単位報告

<p>【 小児科定点 】</p> <p>(1) RS ウイルス感染症 (2) 咽頭結核熱 (3) A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎 (4) 感染性胃腸炎 (5) 水痘 (6) 手足口病 (7) 伝染性紅斑 (8) 突発性発しん (9) 百日咳 (10) ヘルパンギーナ (11) 流行性耳下腺炎</p>
<p>【 インフルエンザ定点 】</p> <p>(1)インフルエンザ(鳥インフルエンザ及び新型インフルエンザ等感染症を除く)</p>
<p>【 眼科定点 】</p> <p>(1)急性出血性結膜炎 (2)流行性角結膜炎</p>
<p>【 基幹定点 】</p> <p>(1)感染性胃腸炎(病原体がロタウイルスであるものに限る) (2) クラミジア肺炎(オウム病を除く) (3) 細菌性髄膜炎(髄膜炎菌、肺炎球菌、インフルエンザ菌を原因として同定された場合を除く) (4) マイコプラズマ肺炎 (5) 無菌性髄膜炎</p>

②月単位報告

<p>【 性感染症定点 】</p> <p>(1)性器クラミジア感染症 (2)性器ヘルペスウイルス感染症 (3)尖圭コンジローマ (4)淋菌感染症</p>
<p>【 基幹定点 】</p> <p>(1)ペニシリン耐性肺炎球菌感染症 (2) メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症 (3) 薬剤耐性アシネトバクター感染症 ***</p> <p>(4) 薬剤耐性緑膿菌感染症</p>

\* 2014 年 7 月 26 日より追加

\*\* 2014 年 9 月 19 日より追加

\*\*\*2014 年 9 月 19 日から全数把握感染症に変更











## 他誌発表論文抄録

### Genetic Characterization and Comparison of *Clostridium botulinum* Isolates from Botulism Cases in Japan between 2006 and 2011

Tsuyoshi Kenri, Tsuyoshi Sekizuka, Akihiko Yamamoto, Masaaki Iwaki, Takako Komiya, Takashi Hatakeyama, Hiroshi Nakajima, Motohide Takahashi, Makoto Kuroda, Keigo Shibayama

Appl Environ Microbiol. 2014, 80, 6954–6964.

Genetic characterization was performed for 10 group I *Clostridium botulinum* strains isolated from botulism cases in Japan between 2006 and 2011. Of these, 1 was type A, 2 were type B, and 7 were type A (B) [carrying a silent *bont*/*B* [*bont*/*(B)*] gene] serotype strains, based on botulinum neurotoxin (BoNT) production. The type A strain harbored the subtype A1 BoNT gene (*bont*/*A1*), which is associated with the *ha* gene cluster. The type B strains carried *bont*/*B5* or *bont*/*B6* subtype genes. The type A (B) strains carried *bont*/*A1* identical to that of type A (B) strain NCTC2916. However, *bont*/*(B)* genes in these strains showed single nucleotide polymorphisms (SNPs) among strains. SNPs at 2 nucleotide positions of *bont*/*(B)* enabled classification of the type A (B) strains into 3 groups. Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) and multiple-locus variable-number tandem-repeat

analysis (MLVA) also provided consistent separation results. In addition, the type A (B) strains were separated into 2 lineages based on their plasmid profiles. One lineage carried a small plasmid (5.9 kb), and another harbored 21-kb plasmids. To obtain more detailed genetic information about the 10 strains, we sequenced their genomes and compared them with 13 group I *C. botulinum* genomes in a database using whole-genome SNP analysis. This analysis provided high-resolution strain discrimination and enabled us to generate a refined phylogenetic tree that provides effective traceability of botulism cases, as well as bioterrorism materials. In the phylogenetic tree, the subtype B6 strains, Okayama2011 and Osaka05, were distantly separated from the other strains, indicating genomic divergence of subtype B6 strains among group I strains.

## リケッチア感染症(つづが虫病, 日本紅斑熱)

岸本壽男

小児科診療, Vol.77, 増刊号, 153-154, 2014

本来, 小児へのテトラサイクリン (TC) 系抗菌薬の投与は禁忌であるが, つづが虫病には著効するため, 有用性が勝る場合は治療を優先する。TC 系抗菌薬にアレルギー

ギーがある場合はクロラムフェニコールを用いる。日本紅斑熱では, 症状により TC 系抗菌薬とニューキノロン (NQ) 系抗菌薬の併用も考慮する。

# オウム病

岸本壽男

臨床と微生物, Vol.42, No.1, 57-61, 2015

オウム病は、古くから知られる人獣共通感染症で、主な宿主であるトリの排泄物中のオウム病クラミジアを吸入して感染する。近年は報告例が減っているものの、治

療が遅れると重症化し致死的になりうる疾患である。オウム病の最近の動向と対策について述べる。

## 報 告 書 等

### 人形峠周辺の環境放射線等測定報告(平成 26 年度)

小川 登, 木下浩行, 畑 陽介, 片岡敏夫, 清水光郎,  
山本 淳, 伊東清実, 岸本壽男

岡山県環境保健センター, 同 環境企画課: 平成 26 年度人形峠周辺の環境  
放射線等測定報告書

国立研究開発法人日本原子力研究開発機構人形峠環境  
技術センター周辺の安全確保や環境保全のために, 昭和  
54 年度から環境放射線等の連続測定及びサンプリング  
測定を実施している。平成 26 年度における放射線, 放

射能, ふっ素等の測定結果を外部専門家で構成される測  
定技術委員会において検討した結果, “施設由来の異常値  
は認められなかった。”との評価であった。

### レジオネラ属菌検査法の安定化に向けた取り組み(平成 26 年度)

森本 洋, 中嶋 洋 他

レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究  
厚生労働科学研究費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事業)  
平成 26 年度 総括・分担研究報告書, 77-101, 2015

レジオネラ属菌検査精度管理ワーキンググループで  
は, 本年度も BioBall(特注品)を利用し, 全国 41 の地方  
衛生研究所を対象に外部精度管理を試みた。外部精度管  
理実施方法は, 昨年度, 各機関の SOP による結果にお  
いて大きなバラツキが認められたことから, レジオネラ  
外部精度管理ワーキンググループ推奨法を指定した。そ  
の結果, 昨年度に比べバラツキは解消された。これは,  
非濃縮試料及び未処理による検査工程を加えたことが,  
良い結果につながったと思われる。一方で, 今回の供試  
菌は, 酸処理や熱処理, さらに選択分離培地により発

育が強く抑制されることが確認された。このような現象  
は, これまでに研究班内でも確認されており, 現状では,  
様々な条件に対応できるだけの配付試料を作製するの  
は, 困難と思われた。今後の外部精度管理においては,  
配付試料がより安定した性能を発揮できる範囲内で, 検  
査工程のどの部分に重きを置くかの定義付けを適切に行  
い実施する予定である。一方で, 実検体検査に対する注  
意点等については研修会で対応し, 各検査機関が適切な  
内部精度管理を行えるような環境を整えることが, 重要  
と思われた。

## 地域特異的な感染源不明クラスターに関する調査(平成 26 年度)

中嶋 洋

レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究  
厚生労働科学研究費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事業)  
平成 26 年度 総括・分担研究報告書, 133-141, 2015

県内で発生したレジオネラ症患者の分離株を収集し、sequence-based typing (SBT) 法による型別を実施している。このうち *L.pneumophila* (Lp) 血清群 (SG) 3 は、9 株すべてが sequence type (ST) 93 で、パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 法による遺伝子パターンも一致した。本菌及び Lp SG1 (ST609, 1077) は、地域特異的にほぼ県内のみで検出され、本年度収集した LpSG1 (ST1845, ST1846, ST1847) も、他に分離報告のない新規遺伝子型であった。本年度の環境検体の調査結果は、

浴槽水等 105 検体中 31 検体(29.5%)からレジオネラが検出された。また、保健所等が分離したレジオネラ 119 株を収集・解析し、今までに浴槽水等から分離された 146 株の Lp SG3 について、PFGE 法による解析を行った。その結果、72 パターンに分類されたが、いずれの菌株も患者分離株のパターンとは異なっていた。今後も感染源究明のため、より多様な検体について、継続した調査が必要である。

## 病原体解析手法の高度化による効率的な食品由来感染症探知システムの構築に関する研究(平成 26 年度)

中嶋 洋, 大畠律子, 河合央博 他

病原体解析手法の高度化による効率的な食品由来感染症探知システムの構築に関する研究  
厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)  
平成 26 年度 総括・研究分担報告書及び平成 24 ~ 26 年度 総合研究報告書, 78-123, 2015

中四国地域の分子疫学的手法の維持・向上と、より精度の高いデータベースの構築を目的として、腸管出血性大腸菌 (EHEC) 0157 菌株を用いてパルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE 法) 及び IS-printing System による精度管理を実施した。PFGE 法による解析では、泳動像はどの施設もクリアで、デンドログラム解析はやや類似度に違いが見られたが、ほぼ一致した結果であった。IS-printing system による解析では、1st set primer で増幅されたバンドの 1 つが 1 施設で異なった結果であったが、それ以外はすべての施設の結果が一致した。

中四国地域で発生した EHEC 感染事例について、疫

学情報を収集して解析した。本年度より、国立感染症研究所での分子疫学的解析は、0157 等の血清群については、PFGE 法に代わり MLVA 法による型別が行われることになったため、収集した情報を MLVA 型および IS コードにより解析した。その結果、0157 では 7 種類の同一 IS コードの菌により、複数の県で感染事例が発生しており、このうち 1 つの IS コードによる事例では、県境を越えて疫学的な関連性が見られた。解析能の比較では、MLVA 型がより詳細な分子疫学的解析が可能であった。

## 病原体解析手法の高度化による効率的な食品由来感染症探知システムの構築に関する研究(平成 24～26 年度)

中嶋 洋, 大島律子, 河合央博 他

病原体解析手法の高度化による効率的な食品由来感染症探知システムの構築に関する研究  
厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)  
平成 26 年度 総括・研究分担報告書及び平成 24～26 年度 総合研究報告書, 277-292, 2015

中四国地域の分子疫学的手法の維持・向上と、より精度の高いデータベースの構築を目的として、平成 24 年度～26 年度の 3 年間に腸管出血性大腸菌 (EHEC) 0157 菌株を用いて、パルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE 法) 及び IS-printing System による精度管理を実施した。PFGE 法では、どの施設の泳動像も比較的クリアで、デンドログラム解析も、全体としてはおおよそ一致した結果であった。IS-printing system は、2nd set primer で増幅される高分子量のバンド領域において、異なった判定をしたケースが見受けられたが、長めのゲルを用いて長時間泳動することにより、判定が容易になった。本法の結果も、概ね良好であった。

本研究班では、以前より PFGE 法による型別結果を用いたデータベースの構築を試行してきたが、平成 24

年度からは、IS-printing system による解析結果を用いたデータベースの構築に向けた試行を実施している。中四国地域でも、発生した EHEC 0157 の患者情報と、PFGE 型及び IS-printing system 解析結果などの疫学情報を収集し、解析した結果を各県に還元して、複数県に広がる同一菌による流行状況の把握や感染源の究明に役立てている。解析法として、IS-printing system は操作の簡便性や結果の迅速性及びコード化表記により、事例発生時のスクリーニング的な利用が有用であると思われた。一方、PFGE 法は IS-printing system に比べてより詳細な解析が可能であり、さらに MLVA 法は検査の迅速性やコード表記など、より結果の比較が容易である。各解析法の長所を生かして、状況に応じた効率的な疫学解析に使用することが、重要である。

# 国内リケッチア症の実験室診断に関する全国状況調査

岸本壽男, 濱野雅子 他

ダニ媒介性細菌感染症の診断・治療体制構築と  
その基盤となる技術・情報の体系化に関する研究  
(新型インフルエンザ等 新興・再興感染症研究事業)

平成 26 年度 厚生労働科学研究費補助金 総括・分担研究報告書 137-148, 2015

リケッチア症である「つつが虫病」及び「日本紅斑熱」は、感染症法で四類感染症に規定される重篤な熱性発疹性感染症であり、医療機関が診断した場合は届出が義務づけられ、実験室診断による確定が必須とされている。しかしながら、これらの実験室診断の主体施設である地方衛生研究所においては、人員不足や人事異動等による技術の低下で診断が困難になる施設が出ており、平成 24 年度の調査では、どちらの感染症においても、血清診断及び遺伝子診断の実施施設数が半数を下回った。この結果を受けて、検査法の開発、検査技術研修等を実施

してきたが、平成 26 年度は、リケッチア症検査体制の現状を再度把握するため、全国を 6 地域に分け調査した。その結果、「つつが虫病」・「日本紅斑熱」両感染症とも、遺伝子診断の実施施設数が 50% を超え、それにとまって、「つつが虫病」・「日本紅斑熱」を血清診断または遺伝子診断で診断可能な施設数は、ともに 54.4% となった。また、実験室診断への導入部分である医療機関からの相談窓口は、地方衛生研究所や本庁感染症担当課が担当する自治体が増加し、より専門的かつ一元的な対応が可能な体制へ移行する傾向が伺われた。



# 中国四国地域におけるリケッチア症を含むダニ媒介性感染症の実験室診断に関する状況調査

濱野雅子, 岸本壽男, 安藤秀二

ダニ媒介性細菌感染症の診断・治療体制構築と  
その基盤となる技術・情報の体系化に関する研究  
(新型インフルエンザ等 新興・再興感染症研究事業)

平成 26 年度 厚生労働科学研究費補助金 総括・分担研究報告書 189-194, 2015

リケッチア症である「つつが虫病」及び「日本紅斑熱」は、感染症法で四類感染症に規定される熱性発疹性感染症であり、医療機関が診断した場合は届出が義務づけられ、実験室診断による確定が必須とされている。しかしながら、これらの実験室診断の主体施設である地方衛生研究所においては、人事異動等による人員不足や技術の低下で診断が困難になる施設が出ており、これまでの調査では、いずれの感染症においても、血清診断及び遺伝子診断の実施施設はともに 50% を切り、地域協力体制構築の必要性が浮き彫りになった。さらに、平成 25 年に、新たなダニ媒介性感染症として重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) が国内でも確認、同様に四類感染症に規定され、これを含めたダニ媒介性感染症の鑑別・検査体制の再構築が急務となった。このため、リケッチア症検

査体制の現状を再把握するとともに、SFTS 等を含めたダニ媒介性感染症の検査実施状況を調査した。中国四国地域では、前回調査時に比較して「つつが虫病」の抗体検査及び PCR 検査実施施設がそれぞれ 1 施設減ったのに対して、「日本紅斑熱」では、PCR 検査実施施設が 2 施設増加した。SFTS 等の検査実施状況では、大半の施設がリケッチア症の検査も同時実施できる体制にあり、その結果、SFTS 疑いとして依頼された症例の 7.7% でリケッチア症が発見された。また、リケッチア症疑いとして依頼された症例の 1.0% で SFTS が発見された。以上より、ダニ媒介性感染症に関しては、必要に応じてリケッチアとウイルス両方の検査を実施することが望ましいと考えられた。

## 学 会 発 表

No.	題 名	発 表 者	学 会 名
1	水質試料中のスルファメトキサゾール、クラリスロマイシン等の多成分同時分析	新 和大	第23回環境化学討論会
2	岡山県の金剛川水系における河川水中ラドン濃度調査	畑 陽介, 清水光郎, 小川 登, 片岡敏夫, 森上嘉亮	日本保健物理学会第47回 研究発表会
3	岡山県における重症熱性血小板減少症候群（SFTS）対策実施状況について	濱野雅子, 木田浩司, 溝口嘉範, 磯田美穂子, 藤井理津志, 岸本壽男, 島村琢自	平成26年度岡山県獣医三 学会
4	PM2.5とSPM及びその他大気汚染物質との相関について	喜多真帆	第60回中国地区公衆衛生 学会
5	おもちゃにおけるフタル酸エステル試験法の検討	吉岡敏行, 北村雅美	第60回中国地区公衆衛生 学会
6	ウシ由来STECのO-genotypeを含めた遺伝学的特徴解析	加藤結子, 伊豫田淳, 石原朋子, 大畠律子, 河合央博, 西本清仁 他	第35回日本食品微生物学 会
7	岡山県における重症熱性血小板減少症候群（SFTS）対策実施状況について	濱野雅子, 木田浩司, 溝口嘉範, 磯田美穂子, 藤井理津志, 岸本壽男, 島村琢自	平成26年度獣医学術中国 地区学会
8	スルファメトキサゾールほか同系25物質（水質）の分析	浦山豊弘	平成26年度化学物質環境 実態調査環境科学セミナー

No.	題 名	発 表 者	学 会 名
9	クラリスロマイシンほか同系10物質 (水質) の分析	新 和大	平成26年度化学物質環境 実態調査環境科学セミナー
10	ウリ科植物に含まれる苦味成分ククル ビタシンの分析法の検討	吉岡敏行	第21回岡山県保健福祉学 会
11	岡山県における重症熱性血小板減少 症候群 ( SFTS ) 対策実施状況につ いて	濱野雅子, 木田浩司, 溝口嘉範, 磯田美穂子, 藤井理津志, 岸本壽男, 島村琢自	平成26年度日本獣医師会 獣医学術学会年次大会
12	日本で分離されたLegionella pneumophila 血清群1のsequence- based typing法による解析	前川純子, 石井将仁, 倉 文明, 渡辺祐子, 磯部順子, 中嶋 洋, 村井美代, 大西 真	第88回日本細菌学会総会





---

## 岡山県環境保健センター年報 第39号

(平成26年度)  
平成28年1月20日発行

編集・発行 岡山県環境保健センター  
〒701-0298 岡山市南区内尾739-1  
TEL 総務課 086-298-2681 企画情報室 086-298-2682  
大気科 086-298-2683 水質科 086-298-2684  
放射能科 086-298-2685 細菌科 086-298-2686  
ウイルス科 086-298-2687 衛生化学科 086-298-2688  
FAX 086-298-2088 (代表)  
ホームページ <http://www.pref.okayama.jp/soshiki/185/>

---