

岡山県環境保健センター外部評価委員会資料

平成 20～24 年度調査研究実績

平成 25 年 11 月 15 日

岡山県環境保健センター

平成 20～24 年度 調査研究の概要

課題名	【1】環境中の有害大気汚染物質に関する調査研究 —微小粒子状物質 PM2.5 による大気汚染—
担当科名	環境科学部 大気科

研究概要	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ 健康影響が懸念される微小粒子状物質 (PM2.5) の県内における環境濃度の季節変動や構成成分を分析し、健康影響を削減する方法を探るとともに、発生源推測の手がかりにする。</li> <li>➤ PM2.5 に関する科学的知見を集積するために、レボグルコサン (植物質燃焼の指標物質) 等の分析方法や挙動について検討を行う。</li> <li>➤ 県内 2ヶ所の環境大気測定局 (長津局, 総社局) にローボリウムエアサンプラーを設置し、大気中の粉じんを捕集する。</li> <li>➤ 捕集された粉じんの質量濃度を測定するとともに、その構成成分を分析する。</li> </ul>																																																																					
	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ 浮遊粒子状物質 (SPM) と PM2.5 の質量濃度に係る季節変動の結果から、PM2.5 と SPM はほぼ同じ挙動を示すことが明らかとなった。</li> <li>➤ SPM のマニュアル測定と PM2.5 自動測定との相関関係等を検討し、SPM 濃度の測定結果から PM2.5 濃度を推測する可能性を見出した。</li> <li>➤ PM2.5 の構成成分 (イオン成分、多環芳香族炭化水素類、金属成分等) の成分分析を行い、初冬にレボグルコサンが上昇することや、有害金属の含有量は極微量であることなどが明らかとなった。</li> </ul>																																																																					
	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ 今後、調査範囲を県全域に広げて詳細な調査が必要となる。</li> <li>➤ PM2.5 削減のために、PM2.5 の発生源の情報や大気中での挙動などについて、更なる知見が必要となる。</li> <li>➤ PM2.5 の広域的な発生源及び移流経路等について解明するために、西日本の府県との連携が必要である。</li> </ul>																																																																					
実施内容	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 30%;">実施内容</th> <th style="width: 10%;">年度</th> <th style="width: 10%;">H20</th> <th style="width: 10%;">H21</th> <th style="width: 10%;">H22</th> <th style="width: 10%;">H23</th> <th style="width: 10%;">H24</th> <th style="width: 10%;"></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>連続測定 (環境省試行事業)</td> <td></td> <td colspan="5" style="text-align: center;">—————</td> <td></td> </tr> <tr> <td>地域調査</td> <td></td> <td colspan="5" style="text-align: center;">—————</td> <td></td> </tr> <tr> <td> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 30%;">計画事業費</td> <td style="width: 10%;"></td> <td style="width: 10%; text-align: center;">545</td> <td style="width: 10%; text-align: center;">272</td> <td style="width: 10%; text-align: center;">229</td> <td style="width: 10%; text-align: center;">220</td> <td style="width: 10%; text-align: center;">230</td> <td rowspan="3" style="width: 10%; vertical-align: middle;">単位： 千円</td> </tr> <tr> <td>  一般財源</td> <td></td> <td style="text-align: center;">545</td> <td style="text-align: center;">272</td> <td style="text-align: center;">229</td> <td style="text-align: center;">220</td> <td style="text-align: center;">230</td> </tr> <tr> <td>  外部資金等</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table> </td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>人件費</td> <td></td> <td style="text-align: center;">6,400</td> <td style="text-align: center;">6,400</td> <td style="text-align: center;">6,400</td> <td style="text-align: center;">6,400</td> <td style="text-align: center;">6,400</td> <td></td> </tr> <tr> <td>総事業コスト</td> <td></td> <td style="text-align: center;">6,945</td> <td style="text-align: center;">6,672</td> <td style="text-align: center;">6,629</td> <td style="text-align: center;">6,620</td> <td style="text-align: center;">6,630</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	実施内容	年度	H20	H21	H22	H23	H24		連続測定 (環境省試行事業)		—————						地域調査		—————						<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 30%;">計画事業費</td> <td style="width: 10%;"></td> <td style="width: 10%; text-align: center;">545</td> <td style="width: 10%; text-align: center;">272</td> <td style="width: 10%; text-align: center;">229</td> <td style="width: 10%; text-align: center;">220</td> <td style="width: 10%; text-align: center;">230</td> <td rowspan="3" style="width: 10%; vertical-align: middle;">単位： 千円</td> </tr> <tr> <td>  一般財源</td> <td></td> <td style="text-align: center;">545</td> <td style="text-align: center;">272</td> <td style="text-align: center;">229</td> <td style="text-align: center;">220</td> <td style="text-align: center;">230</td> </tr> <tr> <td>  外部資金等</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>	計画事業費		545	272	229	220	230	単位： 千円	一般財源		545	272	229	220	230	外部資金等													人件費		6,400	6,400	6,400	6,400	6,400		総事業コスト		6,945	6,672	6,629	6,620	6,630	
	実施内容	年度	H20	H21	H22	H23	H24																																																															
	連続測定 (環境省試行事業)		—————																																																																			
	地域調査		—————																																																																			
	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 30%;">計画事業費</td> <td style="width: 10%;"></td> <td style="width: 10%; text-align: center;">545</td> <td style="width: 10%; text-align: center;">272</td> <td style="width: 10%; text-align: center;">229</td> <td style="width: 10%; text-align: center;">220</td> <td style="width: 10%; text-align: center;">230</td> <td rowspan="3" style="width: 10%; vertical-align: middle;">単位： 千円</td> </tr> <tr> <td>  一般財源</td> <td></td> <td style="text-align: center;">545</td> <td style="text-align: center;">272</td> <td style="text-align: center;">229</td> <td style="text-align: center;">220</td> <td style="text-align: center;">230</td> </tr> <tr> <td>  外部資金等</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>	計画事業費		545	272	229	220	230	単位： 千円	一般財源		545	272	229	220	230	外部資金等																																																					
計画事業費		545	272	229	220	230	単位： 千円																																																															
一般財源		545	272	229	220	230																																																																
外部資金等																																																																						
人件費		6,400	6,400	6,400	6,400	6,400																																																																
総事業コスト		6,945	6,672	6,629	6,620	6,630																																																																

調査研究概要【環境中の有害大気汚染物質に関する調査研究】

センター年報掲載	H20	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 冬季におけるイオン成分濃度の特徴－	
	H21	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 イオン成分および炭素成分について－	
	H22	環境中の大気汚染物質に関する研究（微小粒子状 PM2.5 による大気汚染） －第 6 報 PM2.5 の自動測定機とマニュアル測定との比較－	
	H22	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 PM2.5 の多環芳香族炭化水素類の同時分析法の検討と濃度の特徴－	
	H23	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 2 大気測定局における PM2.5 及び SPM の成分分析－	
	H23	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 PM2.5 中のレボグルコサン等の分析法と県内の存在状況－	
	H24	PM2.5 に係る平成 24 年度観測結果について <投稿中>	
学会発表	H20	岡山県南部における PM2.5 及び SPM	第 49 回大気環境学会年会
	H21	微小粒子 PM2.5 イオン成分濃度の特徴	第 36 回環境保全・公害防止研究発表会
	H23	PM2.5 中の多環芳香族炭化水素類について	第 57 回中国地区公衆衛生学会
	H23	微小粒子状物質 PM2.5 の自動測定とマニュアル測定の質量濃度比較と成分分析について	第 38 回環境保全・公害防止研究発表会
	H24	PM2.5 中のレボグルコサン等の分析方法と岡山県における存在状況について	第 58 回中国地区公衆衛生学会
	H24	PM2.5 常時監視と並行実施した PM2.5 及び SPM の成分分析	第 39 回環境保全・公害防止研究発表会

## 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 2 大気測定局における PM2.5 及び SPM の成分分析 —

林 隆義, 中桐未知代, 野村 茂, 小川 登, 深見武史, 中桐基晴（大気科）

#### 要 旨

平成 23 年度大気常時監視として微小粒子状物質（PM2.5）の成分分析を開始した総社一般環境大気測定局及び長津自動車排出ガス測定局において、調査期間及び測定項目を拡大するとともに浮遊粒子状物質（SPM）の成分分析も並行して行い、これらの質量濃度やイオン成分、無機成分等の地点間差を比較した。質量濃度の季節変動は、いずれの測定局においても過去の調査と異なり夏季～秋季に低下しており、夏季の大気不安定な状況が原因の一つと考えられた。長津自動車排出ガス測定局の質量濃度はともに総社一般環境大気測定局よりも高値を示したが、2 測定局は同じ変動傾向を示した。イオン成分や金属成分の主要な成分の割合は 2 測定局でほとんど変わらず、明らかな地域差は認められなかったが、長津自動車排出ガス測定局は 8 月を除き  $\text{Cl}^-$  が高値を示した。同測定局の調査期間における風向は、8 月は西北西が主であったのに対し、それ以外の時期は東北東～北東が主であり  $\text{Cl}^-$  の特定発生源の存在が推察されるため今後原因を調査する必要がある。

#### 1 はじめに

本県では、平成 21 年度から環境省試行事業として、早島一般環境大気測定局（以下「早島局」という。）において微小粒子状物質（以下「PM2.5」という。）自動測定機による常時監視を開始した。また、平成 22 年度末に長津自動車排出ガス測定局（以下「長津局」という。）、総社一般環境大気測定局（以下「総社局」という。）及び茂平一般環境大気測定局（以下「茂平局」という。）の 3 測定局に PM2.5 自動測定機を整備し、平成 23 年度から計 4 測定局（岡山市及び倉敷市設置分を除く。）において大気汚染防止法に基づく PM2.5 常時監視と長津局及び総社局で成分分析を開始した

本調査では PM2.5 の季節変動やその成分をより詳細に把握するため、調査期間及び測定項目を拡大するとともに浮遊粒子状物質（以下「SPM」という。）の成分分析を行い、その結果をとりまとめたので報告する。

#### 2 結果と考察

##### 2.1 測定地点及び時期における質量濃度と主要成分の割合の比較

各調査時期における PM2.5 と SPM の質量濃度の変動を図 1 に示した。長津局は PM2.5 及び SPM ともに総社局を上回ったが 2 つの測定局の変動は同期しており、バックグラウンドと考えられる総社局の値に自動車排気ガスの影響が加算されていると思われた。しかし、総社局の PM2.5 は平均値においても環境基準値の年平均  $15\mu\text{g}/\text{m}^3$  を超過しており、住宅地域においても PM2.5 が高い濃度で推移していた。

センター屋上や早島局における過去の結果<sup>1),2)</sup>では、PM2.5 及び SPM ともに初夏から初冬にかけて上昇し、冬に低下する一山型の傾向を示していたが、今回はこれとは異なり、長津局、総社局ともに 8 月から 10 月にかけて減少し、11 月に若干上昇して 1 月に低下した後、2 月に上昇するという W 型の変動を示していた。8 月に PM2.5 の上昇がみられなかったのは、夏期における不安定な大気状況との関連が疑われた。11 月の上昇は県南部で稲刈り後のワラ焼きが行われたためと考えられるが、10 月の低値の原因については今後のデータの蓄積が必要である。

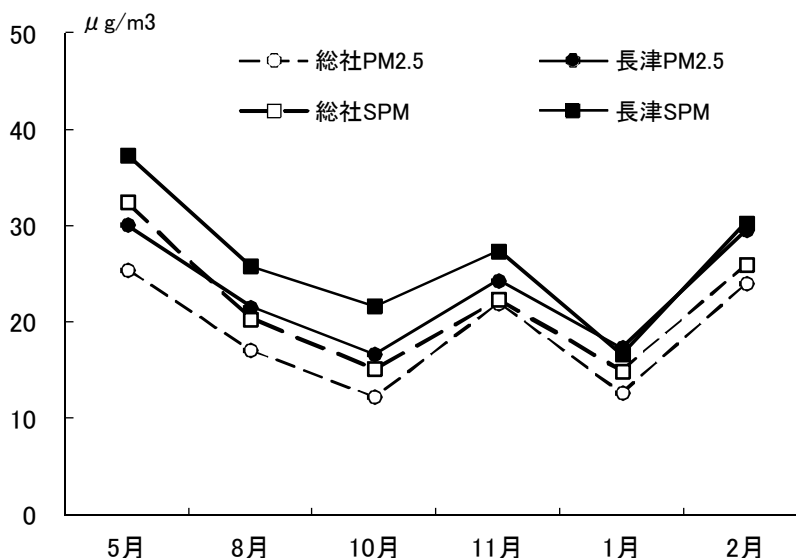


図 1 PM2.5 と SPM の質量濃度の季節変動

次に PM2.5 と SPM についてマニュアル測定における質量濃度の相関を示した（図 2, 3）。

2つの測定局ともに良い相関を示し、また回帰式の傾きもほぼ同じであり、SPM の 8 割程度を PM2.5 が占めていることが確認され、SPM の挙動から PM2.5 の状況を推測可能と思われた。この関係が県全域に適用可能かどうかについては、県北部等での調査を行い、検証する必要がある。

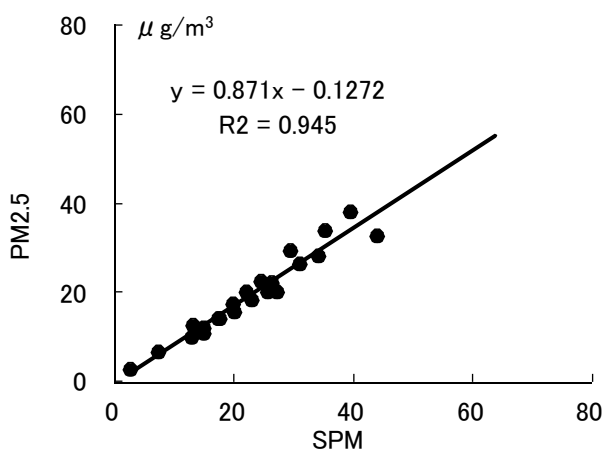


図 2 総社局の SPM と PM2.5 の相関

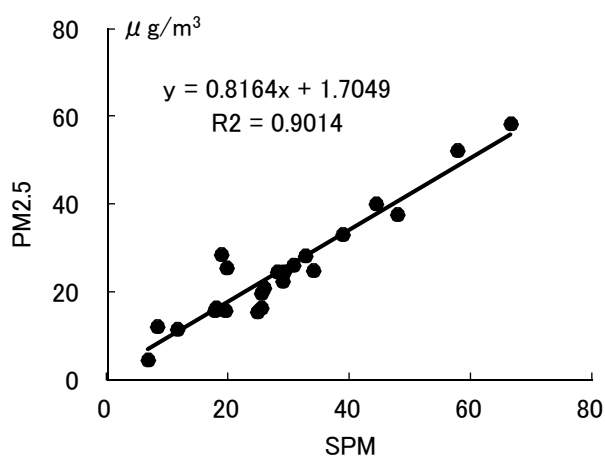


図 3 長津局の SPM と PM2.5 の相関

次に、PM2.5 と SPM の主要な成分である、イオン成分、金属成分及び炭素成分を含むその他成分について、調査時期別にその割合を図 4, 5 に示した。

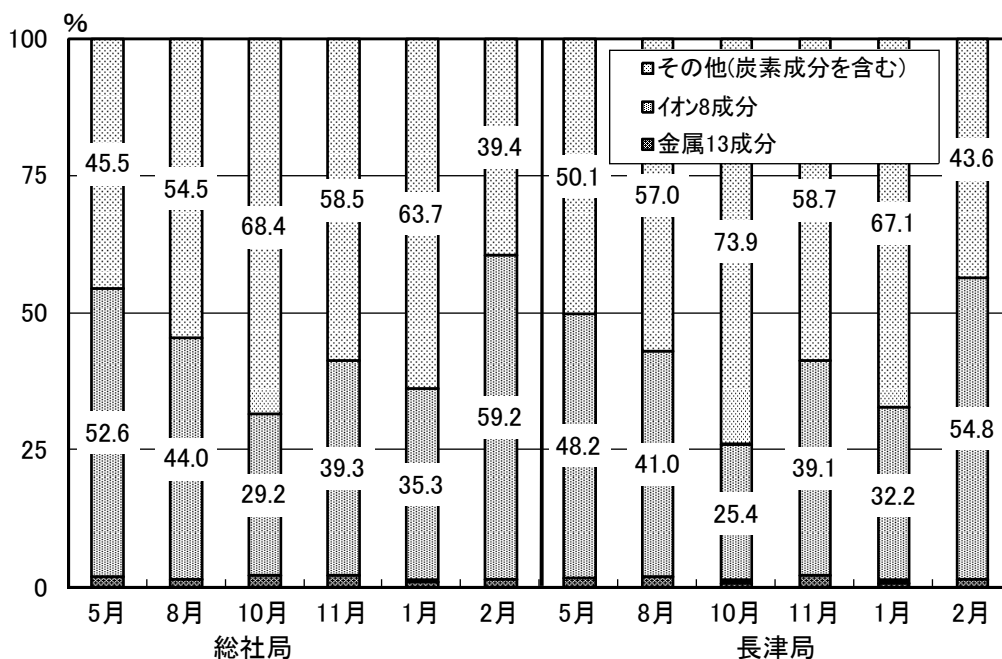


図 4 PM2.5 主要成分の割合

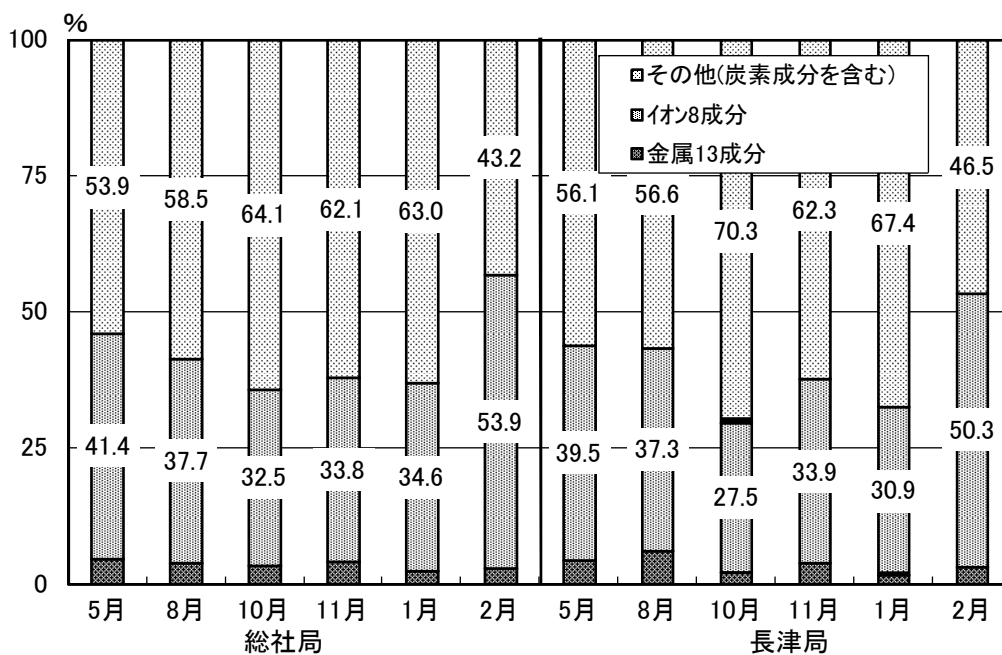


図 5 SPM 主要成分の割合

2つの測定局ともに質量濃度に差はあるものの、調査時期にかかわらず3つの主要な成分の割合に大きな差は認められなかった。金属13成分の割合は2測定局ともにPM2.5で2%程度、SPMで4%程度とSPMの方が多かったが質量全体に占める割合は小さかった。イオン成分の割合はPM2.5の方がSPMよりも若干高いものの、平均して40%程度とPM2.5質量の多くを占めていた。また、炭素成分を含むその他成分の割合については2つの測定局間で明確な差は見られなかったが、長津局は総社局に比べて自動車排出ガスの影響を強く受けると考えられることから、現在凍結保存しているろ紙の炭素成分を分析し、詳細な解析を行う必要がある。

## 2.2 水溶性イオン成分分析結果

水溶性イオン 8 成分について PM<sub>2.5</sub> 及び SPM の測定局別のイオン当量比を図 6 及び図 7 に示す。

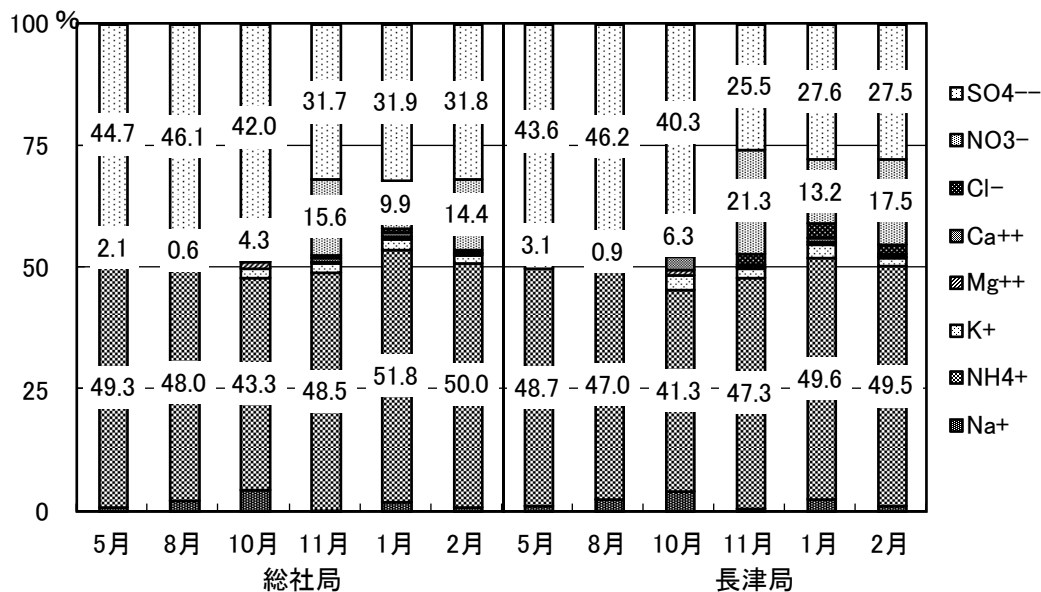


図 6 PM<sub>2.5</sub> イオン当量比

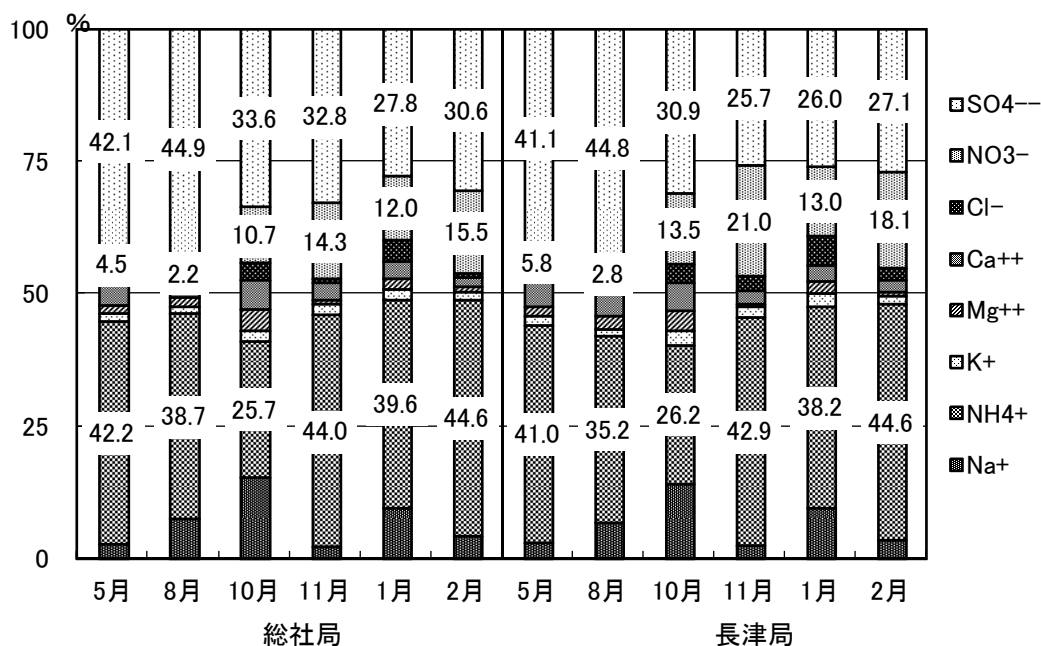


図 7 SPM イオン当量比

2つの測定局ともに PM<sub>2.5</sub>, SPM のいずれも NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>が主成分を占め、夏に NO<sub>3</sub><sup>-</sup>の当量比が低く、秋にから冬にかけて増加する傾向は過去の調査結果と同様であった。

SPM については 2 測定局ともに Na<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, 及び Ca<sup>2+</sup>の当量比が PM<sub>2.5</sub> の当量比よりも大きく、粗大粒子 (>粒径 2.5μm) である海塩粒子の捕集によるものと推察された。

また、2 測定局間の Na<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>及び Ca<sup>2+</sup>の当量比の差は少なく、海塩粒子の影響は 2 測定局とも同程度と考えられた。しかし Cl<sup>-</sup>当量比については、PM<sub>2.5</sub> 及び SPM とも長津局が高い傾向を示した。特に海塩粒子の影響が少ないと考えられる PM<sub>2.5</sub> で Cl<sup>-</sup>当量比が、8月を除き、顕著に総社局よりも高値を示した。

幹線道路沿道である長津局は総社局よりも NO<sub>x</sub> 濃度が高く，PM<sub>2.5</sub> 中の NO<sub>3</sub> も若干高いことから，NO<sub>x</sub> の影響によるクロロロスにより CI 当量比は低値を示すものと予測されたが，これに反して 8 月以外は総社局よりも高値であった。

8 月の CI については，高温により揮散して総社局との差がなくなったと推察されるが，その他の時期で CI が高い原因を調べるため，長津局における各調査期間における風向を確認したところ，8 月の主な風向は西南西であったが，それ以外の時期では，北東から東北東であった（図 8）。今後，CI が高値となる原因としてその発生源（廃棄物焼却施設等の状況）について調査する必要があると思われる。

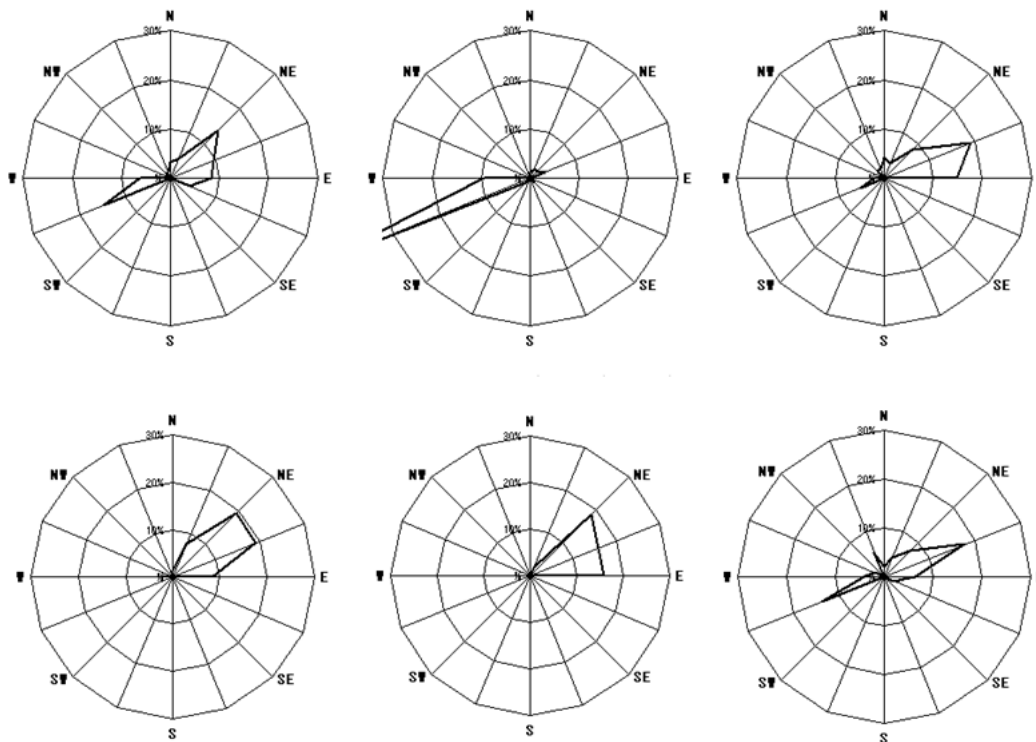


図8 調査期間における長津局の風配図

### 2.3 金属成分分析結果

PM<sub>2.5</sub> 及び SPM の調査時期別の金属 13 成分の結果を示す(図 9, 10)。

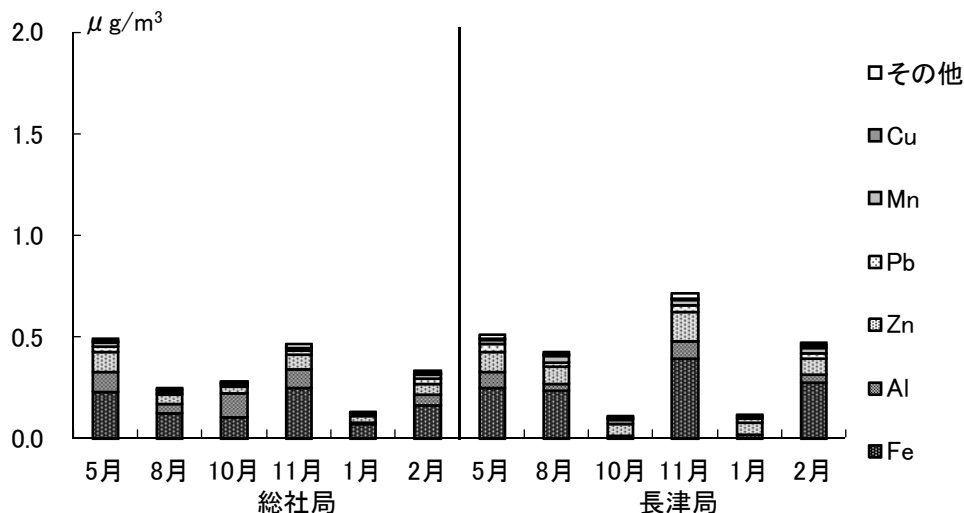


図9 PM<sub>2.5</sub> 金属成分



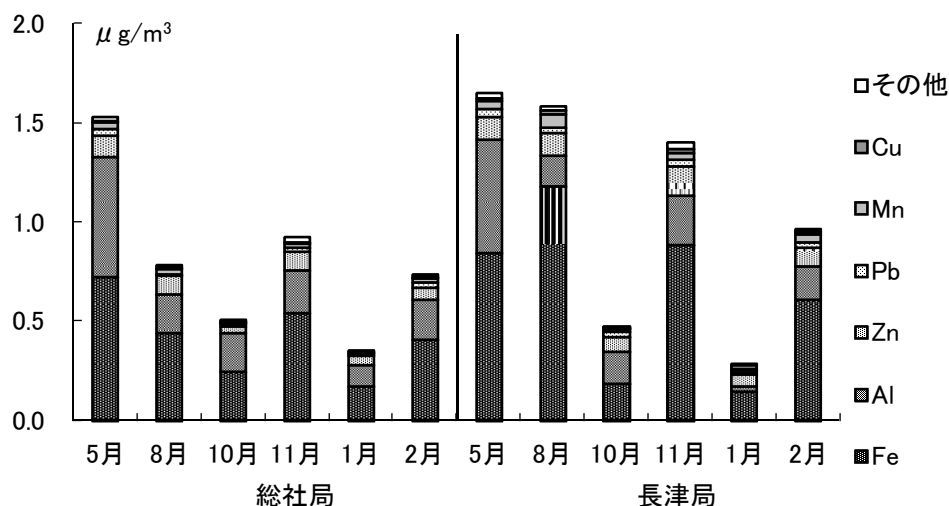


図 10 SPM 金属成分

金属成分の合計濃度は、長津局が総社局よりも高い値を示すものの、平均的には  $\text{PM}_{2.5}$  で  $0.4\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、SPM で  $1.0\mu\text{g}/\text{m}^3$  程度であり粒子全体質量に占める割合はわずかであったが、その変動は質量濃度の変動とほぼ同期しており、Fe, Al, Zn の 3 元素が、金属成分の大部分を占めていた。しかし、ブランク値が高い元素等では定量が困難なものもあり、発生源究明のため正確に金属成分分析を測定するには、分析試料の質量を増やすかブランク値の小さい PTFE ろ紙による捕集の必要性が感じられた。

### 3 まとめ

平成 23 年度、 $\text{PM}_{2.5}$  常時監視を開始した一般環境大気測定局の総社局及び自動車排出ガス測定局の長津局において、四半期毎、年 4 回の常時監視成分分析に、調査研究による 2 回の成分分析期間を追加し、 $\text{PM}_{2.5}$  のイオン成分、無機金属成分等の分析を実施するとともに、SPM についても同様に並行して採取分析した結果、以下のとおりであった。

- 1) 質量濃度は  $\text{PM}_{2.5}$ 、SPM とともに長津局が総社局よりも常に高値を示したが、調査時期による変動傾向は同じであった。しかし、総社局の  $\text{PM}_{2.5}$  の平均値においても環境基準値（年平均  $15\mu\text{g}/\text{m}^3$ ）を超過しており、住居地域での高濃度の状況が確認された。
- 2) 過去のセンター屋上や早島局での調査とは異なり、夏季～秋季に  $\text{PM}_{2.5}$  が高値を示す状況が認められなかった。これは、夏季における大気不安定な状況との関連性が疑われた。
- 3) マニュアル測定では 2 測定局とも  $\text{PM}_{2.5}$  と SPM の間に良い相関が認められ、一次回帰式の傾きが 0.8 程度と、SPM の質量濃度の約 8 割が  $\text{PM}_{2.5}$  であることが確認できた。このことから、SPM の測定により  $\text{PM}_{2.5}$  の状況が一定程度推測できるものと考えられた。
- 4) 2 測定局における、 $\text{PM}_{2.5}$  と SPM の主要成分（金属成分、イオン成分及びその他成分）の割合については、大きな差は認められなかった。
- 5) 2 測定局とも SPM では海塩粒子の影響が認められたが、その影響割合には 2 測定局間で大きな差は認められなかった。
- 6) 長津局の  $\text{PM}_{2.5}$  では、8 月を除くと  $\text{Cl}^-$  当量比が総社局よりも高値であった。風向は 8 月以外は主に東北東～北東であり、今後この方向について  $\text{Cl}^-$  当量比が高値となる原因（廃棄物焼却施設等の状況）を調査する必要があると思われる。

- 7) 金属 13 成分は、2 測定局ともに PM2.5 及び SPM の質量濃度の 2-4%と少なく、Fe, Al, Zn の 3 成分が大部分を占めていた。石英繊維ろ紙を用いた金属成分分析は、捕集粒子の質量濃度が低い場合、ブランクが高い元素等の定量が困難であった。分析試料の質量を増やしブランクの低い PTEF ろ紙を使用するために、平成 24 年度からは PM2.5-LV は 2 台／1 測定局体制とすることとした。

## 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 PM2.5 中のレボグルコサン等の分析法と県内の存在状況—

中桐未知代, 林 隆義, 野村 茂, 小川 登, 深見武史, 中桐基晴 (大気科)

#### 要 旨

本県ではこれまでに浮遊粒子状物質及び微小粒子状物質について質量濃度, イオン成分, 無機元素成分, 炭素成分及び多環芳香族炭化水素の分析を行ってきた。平成 23 年度は, より詳細な微小粒子状物質の科学的知見を収集するため, それらに加えてレボグルコサン, ジカルボン酸類の分析を行い, 県内の挙動を調査した。レボグルコサンとジカルボン酸類の多環芳香族炭化水素類との同時分析は不可能であったが, GC/MS による同時測定は可能であった。今回の調査では, レボグルコサンは初夏・初春に大陸からの影響, 夏季から初冬にかけて地域の産業活動からの影響を受けていると考えられた。

#### 1 はじめに

微小粒子状物質 (以下「PM2.5」という。) は人の健康影響が懸念されている粒径  $2.5\mu\text{m}$  以下の微小粒子で, 平成 21 年 9 月に環境基準が定められた。本県では平成 21 年度から PM2.5 の質量濃度を連続測定しているが, 環境基準を超過している状況が続いている。

PM2.5 の削減対策を進めるためには PM2.5 及びその前駆物質の大気中の挙動等に関する知見や, 発生源の特定が必要不可欠であるが, その知見は十分でない。このため本県ではこれまでに, 質量濃度に加えイオン成分, 無機元素成分, 炭素成分 (一部) 及び多環芳香族炭化水素類 (以下「PAHs」という。) の成分分析を実施し報告した。

従来知見を踏まえ, より詳細な PM2.5 の科学的知見を集積するため, 今回は GC/MS による分析が可能なレボグルコサン及びジカルボン酸について PAHs との同時分析を検討し, 平成 23 年度に県内で採取した試料についてこれらの分析を実施し, 知見を得たので報告する。

#### 2 結果と考察

##### 2.1 PM2.5 及び SPM 中の PAHs 及びレボグルコサン

PM2.5 と SPM 中の PAHs の結果を図 1 に示す。総社局及び長津局のいずれも Benzo(b)fluoranthene が最も多く, 次いで Fluoranthene, Benzo(a)pyrene が多かった。また, PAHs 各々の相対的な割合はほぼ同じであったことから, 3 環以上の PAHs では生成過程や大気中での挙動が似ていると考えられた。PAHs の総量は総社局・長津局とも PM2.5 と SPM でほぼ同じであったが, 総社局は初夏と初春に多く, 長津は夏季と初冬が多かった。

次に, PM2.5 と SPM 中のレボグルコサン濃度の経日変化を図 2 に示す。秋季から冬季にかけて, レボグルコサンの濃度が高くなり, PM2.5 の質量濃度とほぼ同じ挙動を示した。レボグルコサンはバイオマス燃焼の指標物質であり, 特にボイラー (木くず), 野焼き, 喫煙所, 地下街において顕著に検出されることが知られていることから, この季節の PM2.5 質量濃度には周辺地域において秋期から冬期に実施されるワラ焼きなどの野焼きが大きく寄与していると考えられる。

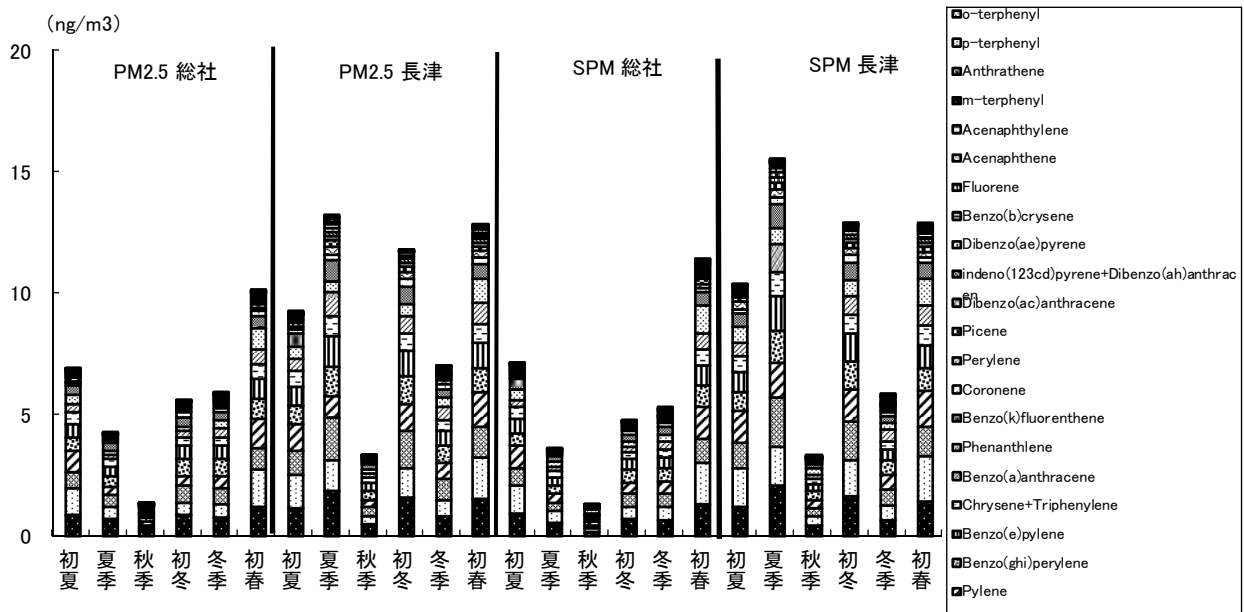


図 1 PM2.5 及び SPM 中の PAHs 濃度

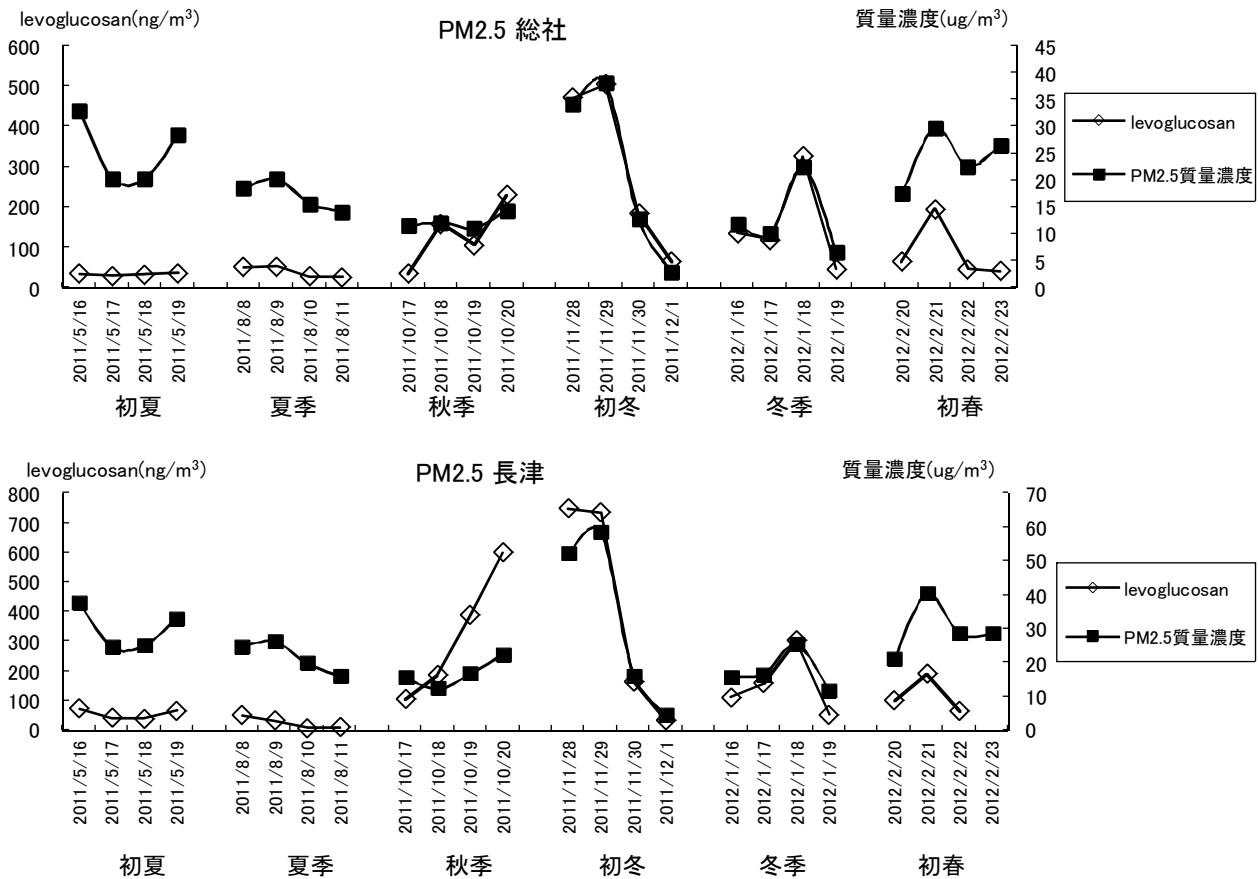


図 2 レボグルコサン濃度の経日変化（上段：総社局，下段：長津局）

## 2.2 HYSPLIT Model を用いた後方流跡線解析

総社局と長津局のレボグルコサン及び全体的な PAHs が似た挙動を示したことから、測定地点周辺の局所的な発生源の影響だけでなく、他地点からの移流など、広域的な影響が各成分に影響していることも考えられるため、採取期間中の後方流跡線解析（NOAA HYSPLIT Model）を行い、その結果を図 3 に示した。

初春と初夏は移動性高気圧が西から東に通過しており、中国大陸を経由する大気塊が測定地点に流れていた。このことから初夏から初夏の PAHs の高濃度には大陸からの移流の影響を受けている可能性が示唆された。夏季の調査期間中は広く高気圧に覆われており、移流は南側からであった。長津局だけ PAHs の高濃度が見られたこともふまえると、これは局所的な汚染と考えられる。レボグルコサンが低濃度であったこと、採取期間中は南西からの風が卓越していたことから、移動発生源や固定発生源の影響が考えられる。初冬は大気塊が日本付近を漂っていたことと、レボグルコサンが高濃度であったことから、調査地点の周辺地域で季節的に盛んなワラ焼きによる局所的な影響を大きく受けられていると考えられた。

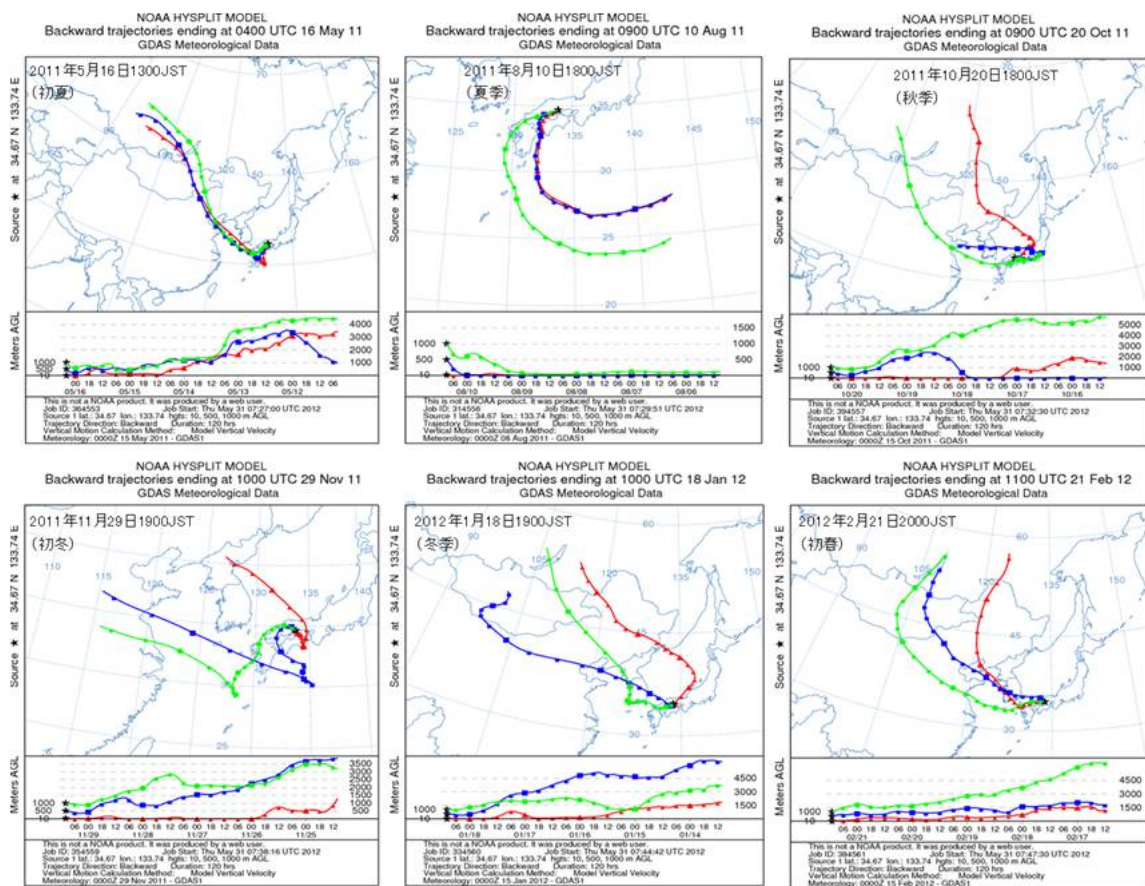


図3 採取期間中の後方流跡線 (NOAA) 結果

## 3 まとめ

総社局及び長津局で延べ 24 日間 PM<sub>2.5</sub> 及び SPM を捕集し、PAHs、レボグルコサン及びジカルボン酸の分析法の検討、測定を行ったところ次に示す結果を得た。

- 1) PM<sub>2.5</sub> 及び SPM 中の PAHs とレボグルコサンの測定結果から、初夏と初春には大陸からの影響も受けている可能性が示唆されたが、夏季や初冬には地域の環境から局所的な影響を受けていると考えられた。
- 2) PM<sub>2.5</sub> 削減対策を進めるためには、より詳細な発生源情報や大気中での挙動等の知見が必要であることから、レセプターモデル等での解析も必要となる。

平成 20～24 年度 調査研究の概要

課題名	【2】有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究
担当科名	環境科学部 水質科

研究概要	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ 残留性・蓄積性の高い有機化合物について、環境中の挙動を調査する。</li> <li>➤ 多成分を高感度に測定することができる分析機器（ガスクロマトグラフ質量分析計及び液体クロマトグラフ質量分析計等）を活用し、分析方法が確立されていない化学物質を効率的に分析できる方法の開発を行う。</li> <li>➤ 水質事故等の危機管理分析に対応できる技術力を保持する。</li> </ul>							
研究成果	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ 液体クロマトグラフ質量分析計を用いた分析に関する主な研究成果                     <ul style="list-style-type: none"> <li>◇ 使用量の多い殺虫剤や殺菌剤、除草剤について、8種類の同時分析が可能となった。</li> <li>◇ 魚毒性が強く難分解性物質（ポリ-<i>tert</i>-ブチルフェノール類）の分析が可能となった。</li> </ul> </li> <li>➤ ガスクロマトグラフ質量分析計を用いた分析に関する主な研究成果                     <ul style="list-style-type: none"> <li>◇ 過去、県内の事業所において事故により漏洩した物質（炭酸ジメチル）の除染方法を確認することができた。</li> <li>◇ 口蹄疫の防疫用薬剤として使用されるグルタルアルデヒド等の迅速一斉分析法を検討し、口蹄疫の発生に備えた。</li> </ul> </li> </ul>							
今後の課題	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ 引き続き水質環境実態調査を実施し、公共用水域において検出される農薬等の濃度レベルの把握を行う必要がある。</li> <li>➤ 排出量が多い化学物質や有機フッ素化合物等が検出された地点の周辺において、追跡調査を実施する必要がある。</li> <li>➤ 水質事故時の原因究明がより迅速かつ的確に実施できるよう、分析項目のさらなる拡充など体制の整備が必要である。</li> </ul>							
実施内容	実施内容	年度	H20	H21	H22	H23	H24	
	分析法開発		—————					
	汚染実態調査		—————					
	計画事業費		6,711	5,935	5,766	5,465	5,078	単位： 千円
	一般財源		1,562	781	768	751	744	
	外部資金等		5,149	5,154	4,998	4,714	4,334	
人件費		5,600	5,600	5,600	5,600	5,600		
総事業コスト		12,311	11,535	11,366	11,065	10,678		

センター年報掲載	H20	有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究 －LC/MS/MSを用いたトリメリット酸トリオクチルの分析法－
	H20	有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究 －ヘッドスペース GC/MS法による炭酸ジメチルの分析と水中における分解性について－
	H20	有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究 －岡山県の河川における農薬類の環境実態調査－
	H20	有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究 －固相ディスク法による水質中オクタクロロスチレンの分析法－
	H20	有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究 －LC/MS/MSを用いた水質中L-チロシンの分析法－

調査研究概要【有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究】

センター 年報掲載	H21	有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究 －LC/MS/MSを用いた水中の農薬他成分同時分析法の検討－	
	H21	有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究 －GC/MSを用いた水質中トルイジンとメチルナフタレンの同時分析法の検討－	
	H22	有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究 －岡山県の公共用水域における有機フッ素化合物の環境実態調査－	
	H22	有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究 －GC/MSを用いた水質中多環芳香族炭化水素（PAH）の多成分分析法の検討－	
	H22	有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究 －排出が多い化学物質の水質実態調査－	
	H23	有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究 －GC/MSを用いた水質中フタル酸エステル（PAE）の多成分分析法の検討－	
	H23	有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究 －LC/MS/MSを用いた生物中農薬の分析法の検討－	
	H23	有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究 －LC/MS/MSを用いた水質中ポリ <i>tert</i> -ブチルフェノール類の同時分析法の検討－	
	H23	有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究 －多環芳香族炭化水素(PAH)類の水質環境実態調査－	
	H24	有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究 〈投稿中〉 －GC/MSを用いた水質中脂肪酸メチルエステル（FAMES）等の多成分分析法の検討－	
	H24	有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究 〈投稿中〉 －LC/MS/MSを用いた4-メチルベンジリデンカンファーの分析法の検討－	
	H24	有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究 〈投稿中〉 －LC/MS/MSを用いた水質中マラカイトグリーン分析－	
	学会発表	H20	GC/MSによる底質中の農薬類分析法の検討
H20		LC/MSによる化学物質分析法の基礎的研究	第17回環境化学討論会
H20		LC/MS/MSを用いた陽イオン界面活性剤の分析	第11回日本水環境学会シンポジウム
H20		LC/MSによる化学物質分析法の基礎的検討 － L-チロキシンの分析法 －	平成21年度 保健所検査業務研究発表会
H21		ヘッドスペース GC/MS法による炭酸ジメチルの分析と水中における分解性について	第36回環境保全・公害防止研究発表会
H21		オクタクロロスチレン（水質）の分析法	平成21年度 化学物質環境実態調査環境化学セミナー
H22		水質中農薬類の一斉分析	第19回環境化学討論会
H22		o-トルイジン, 1-メチルナフタレン, 2-メチルナフタレン（水質）の分析	平成22年度化学物質環境実態調査環境科学セミナー
H22		L-チロキシン及び3,3',5-トリヨード-L-チロニン（L-チロキシンの代謝物）（水質）の分析	平成22年度化学物質環境実態調査環境科学セミナー
H22		1,2,4-ベンゼントリカルボン酸トリオクチル（水質）の分析法	平成22年度 化学物質環境実態調査環境科学セミナー
H22	有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発	平成22年度保健所検査業務研究発表会	

調査研究概要【有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究】

学会発表	H23	多量排出化学物質の水環境実態調査	第 14 回日本水環境学会シンポジウム
	H23	岡山県の河川及び海域の有機フッ素化合物の環境実態調査	第 20 回環境化学討論会
	H23	LC/MS による化学物質分析法の基礎的研究	第 20 回環境化学討論会
	H23	フルオランテン（水質）の分析法	平成 23 年度「化学物質環境実態調査環境化学セミナー
	H23	オキサミル，フルフェノクスロン，フルアジナム（水質）の一斉分析法	平成 23 年度「化学物質環境実態調査環境化学セミナー
	H24	LC/MS による化学物質分析法の基礎的研究	第 21 回環境化学討論会
	H24	水質試料中ポリ <i>tert</i> -ブチルフェノール類の同時分析	第 21 回環境化学討論会
	H24	GC/MS を用いた水質中のフタル酸エステル類の分析について	平成 24 年度「化学物質環境実態調査環境化学セミナー
	H24	LC/MS/MS を用いた水質中の 2,4-ジ- <i>tert</i> -ブチルフェノールの分析について	平成 24 年度「化学物質環境実態調査環境化学セミナー
	H24	LC/MS/MS を用いた生物中のフルフェノクスロン，フルアジナムの分析について	平成 24 年度「化学物質環境実態調査環境化学セミナー



## 有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究

### —GC/MS を用いた水質中フタル酸エステル（PAE）の多成分分析法の検討—

吉岡敏行，山辺真一，坂口浩範，大月史彦（水質科）

#### 要 旨

フタル酸エステル 10 種類について水質分析法を検討した。前処理方法は、メスフラスコを用いたヘキサンスターラー攪拌抽出法と分液ロートを用いたジクロロメタン振とう抽出法を比較検討した。また、ブランクの管理手法を検討し、ブランク値がほとんど検出されない分析方法が確立できた。検討の結果、分析法の検出下限値は 0.0013～0.040 $\mu\text{g/L}$ 、定量下限値は 0.0034～0.10 $\mu\text{g/L}$  となり、従来の分析法に比べてばらつきの少ない高感度分析方法が確立できた。

#### 1 はじめに

本県では、最新の化学物質情報の入手や分析技術の習得等を目的に、毎年、環境省が実施する化学物質環境実態調査に参画し、化学物質の新規分析法の開発や、環境中の濃度の把握に努めている。今回、平成 23 年度化学物質環境実態調査と連携して、フタル酸ブチルベンジル及びフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)等のフタル酸エステル 10 種類の水質分析法について検討した。

フタル酸エステルは、その有害性から食品衛生法では特に、玩具や器具及び容器包装で規制がされている。環境基本法では水質汚濁に係る環境基準の要監視項目としてフタル酸ジエチルヘキシルの指針値が 0.06 mg/L と規定され、また、その測定方法として、共栓付き試験管を用いたヘキササン抽出法で GC/MS 又は GC/ECD 等を用いて測定する方法が規定されている。一方、環境省の化学物質環境実態調査では、フタル酸ブチルベンジルがメスフラスコを用いたヘキササン抽出法により GC/MS を用いて測定する方法がある。また、JIS K0450-30-10 では、工業用水・工場排水中のフタル酸エステル類の試験法として 8 種類の同様の測定法がある。このようにさまざまな公定法が規定されているが、フタル酸エステルはプラスチック製品の可塑剤等として身近に多量に使用されており、特に、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)やフタル酸ジ-*n*-ブチルは実験環境や試薬・器具類等からの汚染により、操作ブランク値が検出されることが多く、一定にコントロールすることは比較的困難であった。そのため、できるだけシンプルで操作ブランクの混入が少ない分析法を採用しているが、基本的には検出された操作ブランク値を差し引いて定量すること等から変動係数が比較的高く、検出下限も比較的高い等の問題点がある。

今回、試薬、器具、操作手順等を再確認したところ、汚染経路が明確となり、操作ブランク値をできるだけ低減するように汚染対策を行い、操作ブランク値がほとんど検出されず、検出下限も従来の分析法よりかなり低い分析方法を確立することができたので報告する。

#### 2 検討結果及び考察

##### 2.1 GC/MS 測定条件の検討結果

対象物質の GC カラムでの分離状況を図 1 と図 2 に示す。フタル酸エステルの測定では、一般的に、無極性から微極性の GC カラムが使用されるが、HP-1MS と DB-5MS (Agilent J&W) を比較したところ、DB-5MS ではフタル酸ジ-*n*-ヘプチルとフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)のピークが分離しなかったため、今回は HP-1MS を用いて検討を行った。

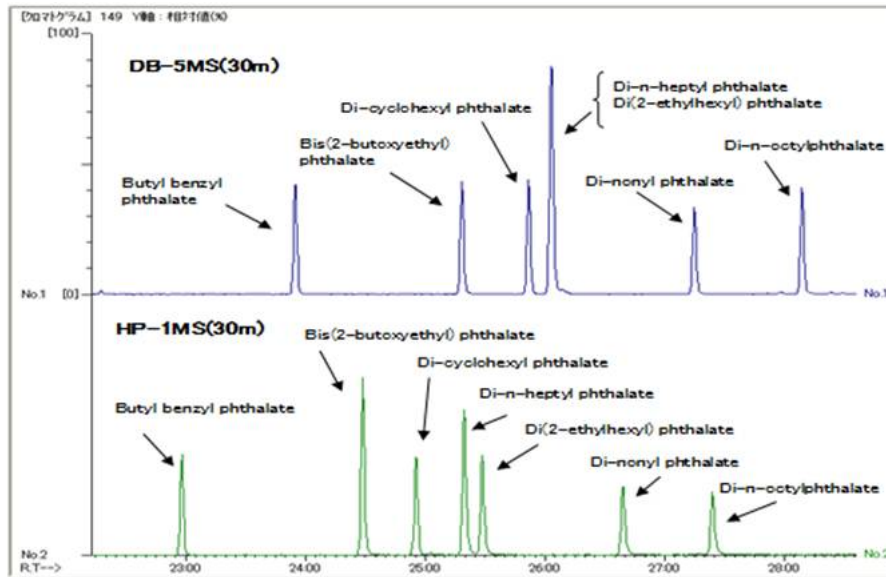


図 1 GC カラムの比較

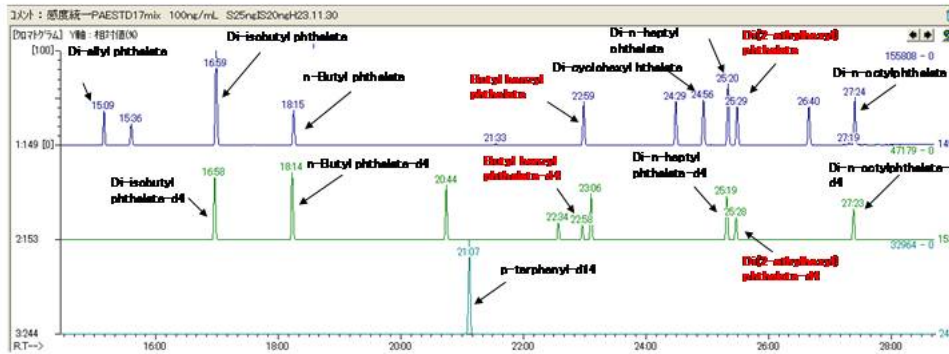
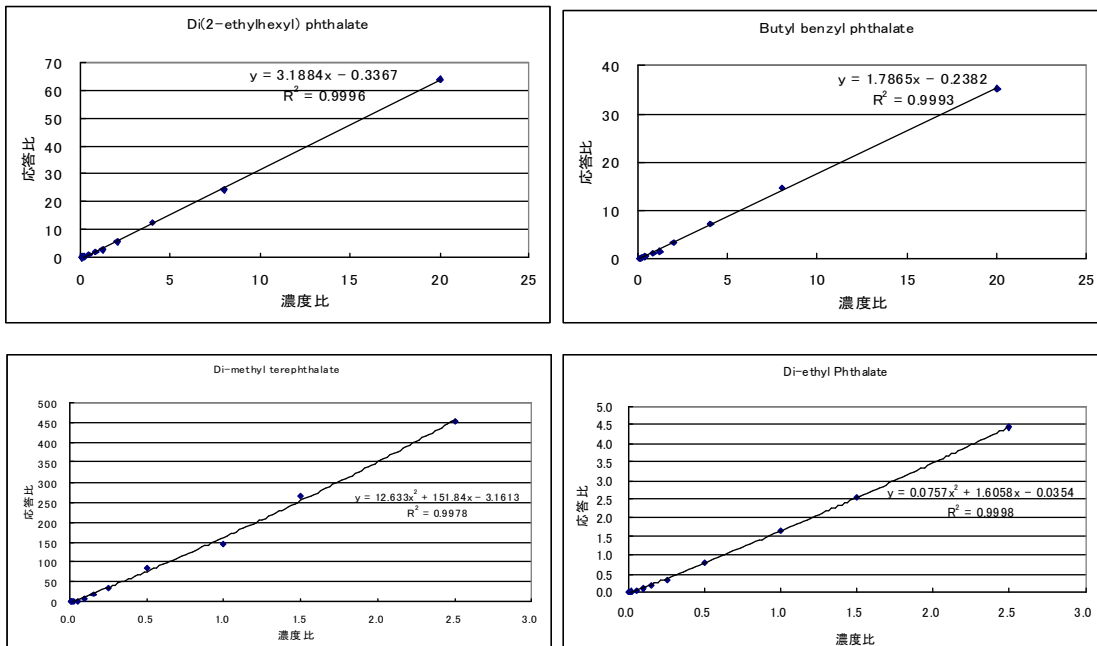


図 2 標準物質のクロマトグラム

フタル酸エステルの検量線を図 3 に示す。物質により最低濃度は 0.05~2.0ng/mL の幅があり、感度は大きく異なっていた。また、一部の物質では検量線は直線ではなく、二次曲線で相関が高かったが、今回検討に使用した分析装置の特徴と思われる。



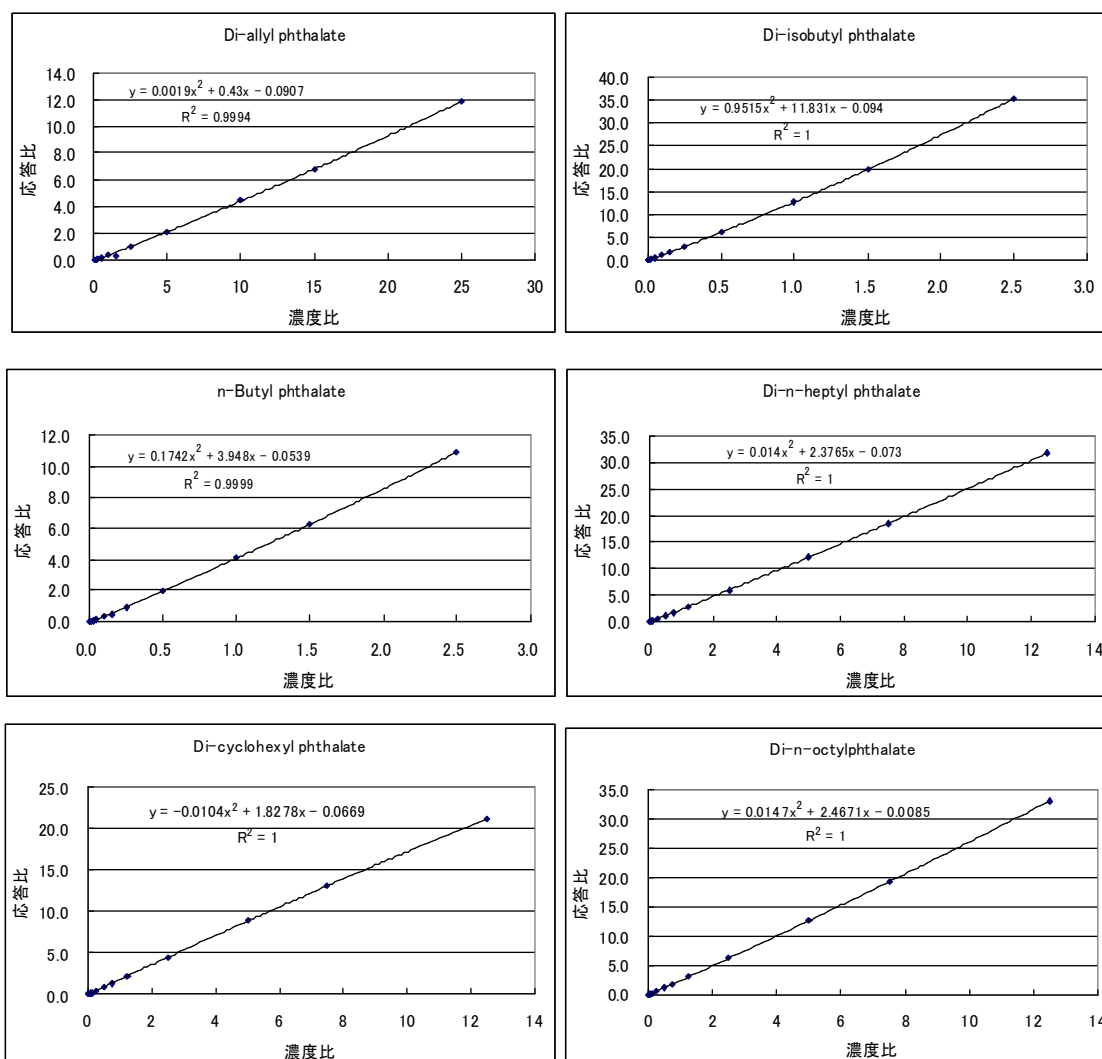


図 3 検量線

## 2.2 汚染源の検討結果

試薬類は、フタル酸エステル分析用の規格品が販売されているが、必ず、事前にブランクの有無をチェックして使用した。しかし、一度、開封して実験室内に放置すると、実験室の環境によっては室内空気から汚染されることがあることから、念のため使用の都度、新しい溶媒を使用した。なお、当センターの微量化学物質分析棟(建設後約 10 年経過)は、外気の導入及び室内空気の排気は活性炭フィルターやヘパフィルター等でろ過しているため、実験室内の空気が非常に清浄であり、溶媒を開封して約 1 ヶ月放置したものでほとんどフタル酸エステルの汚染は無かった。

塩化ナトリウムや無水硫酸ナトリウムはフタル酸エステル用のものであっても、使用前には加熱処理し、清浄な環境で放冷したものを使用した。しかし、長期間保存すると、室内空気から再度汚染される可能性があるため、基本的には塩析も脱水も行わない分析法とすることが望ましい。

器具類の洗浄等に使用する水は超純水を用い、また、操作ブランクに使用する水は超純水を活性炭 (EDS-Pak) 処理した後、必要に応じて、さらに、ヘキサン洗浄した。

加熱処理できるガラス器具類は、溶媒 (アセトンとヘキサン) 洗浄後、乾燥させ、250℃で 3 時間程度加熱処理した後、放冷し、できるだけ早めに使用することによりブランクを低く管理することができた。

分析操作で汚染を受ける可能性が考えられたのは、駒込ピペットのゴム球と操作を行う人の手指が考えられた。素手で分析を行うと、極微量のフタル酸エステルが検出されることがあり、ブランクを一定にコントロールすることは非常に困難であった。今回、試薬やガラス器具等のブランク管理を十分行った状態で、分析操作時に手袋をしなくて低濃度試料を分析したときのフタル酸ジ(2-エチルヘキシル) のばらつきを図 4 に示す。操作ブランクである超純水にも 0.010 $\mu\text{g/L}$  程度検出され、変動係数も 15%を超過し、測定結果は比較的ばらついていた。実際の河川試料の変動係数は、試料水の濃度が高くなるほど小さくなる傾向があり、0.025 $\mu\text{g/L}$  程度であれば変動係数が 10%を下回り、安定した測定値が得られた。

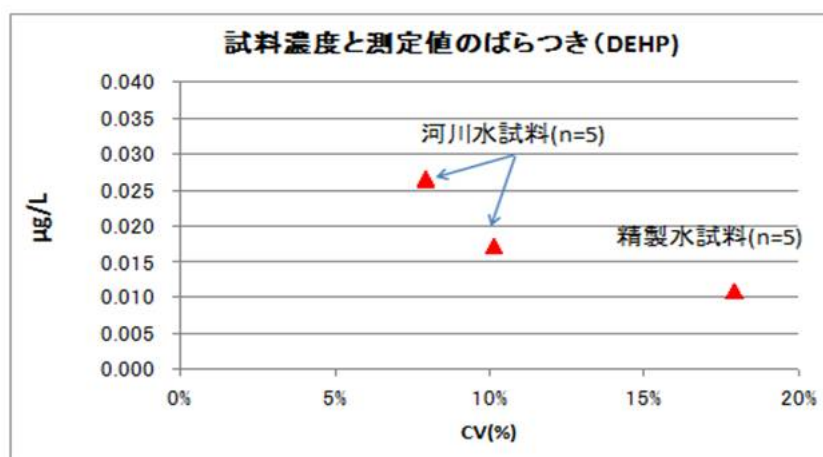


図 4 フタル酸ジ(2-エチルヘキシル) 濃度による測定値のばらつき

その原因を確認するために、手指にヘキサンを 1mL 滴下して GC/MS で分析したところ、図 5 に示すとおり、非常に高濃度のフタル酸ジ(2-エチルヘキシル) が検出され、分析工程での最大の汚染源は分析者の手指である可能性が示唆された。そのためフタル酸エステル類の分析を行う際には、試料採取から分析操作のすべての工程において、素手でガラス器具等を取り扱えないと判断した。次に、手指からの汚染を避けるために手袋の汚染状況を手指と同様の方法で確認したところ、ニトリル手袋にはフタル酸エステルはほとんど検出されなかったことから、分析のすべての工程でニトリル手袋を着用することとした。その結果、操作ブランクはほとんど検出されなくなった。操作ブランクのクロマトグラムを図 6 に示す。

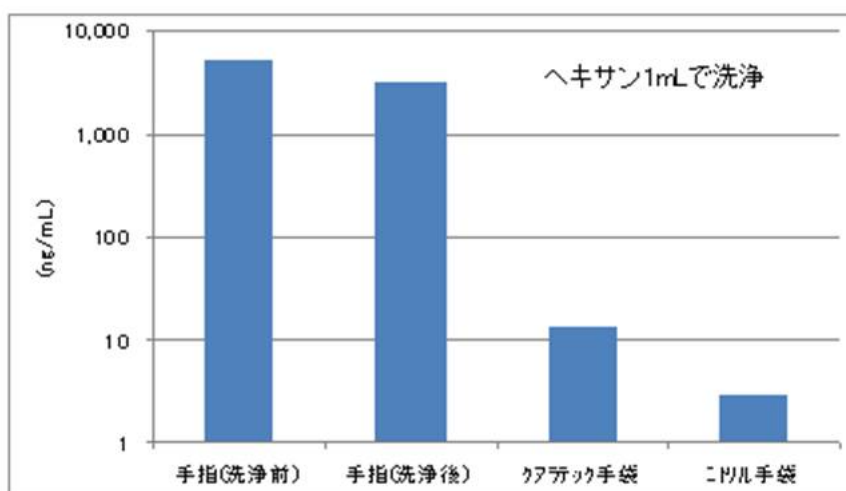


図 5 フタル酸ジ(2-エチルヘキシル) の汚染状況

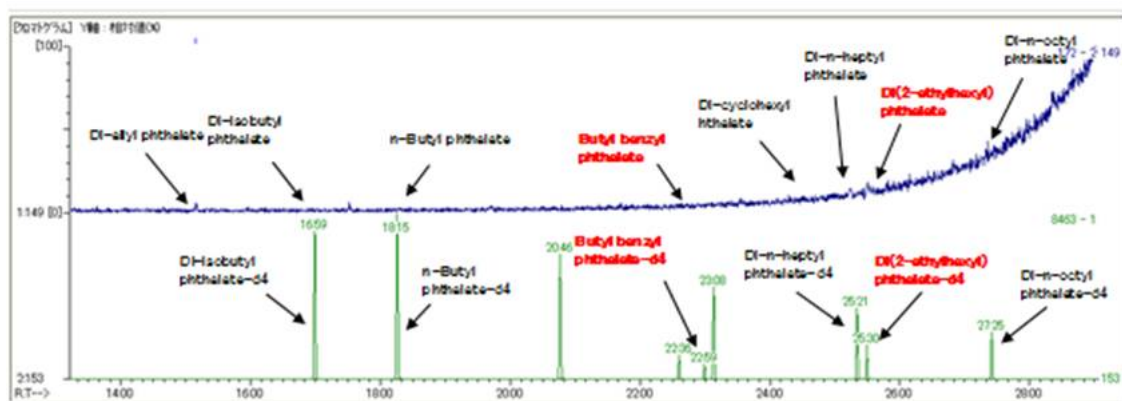


図 6 操作ブランクのクロマトグラム

また、フタル酸エステルの分析では、GC/MS 測定時にブランクピークが検出される場合<sup>3)</sup>もあるが、今回の検討時には装置由来のブランクピークはまったく検出されなかった。当センターでは、日常的に比較的清浄な試料と汚染の程度が著しい試料では分析装置の使用を目的により使い分けていることや、ピークのテーリング等が生じた場合には、頻繁に注入口周辺の洗浄と部品の交換を実施し、装置のメンテナンスを十分に行っているため装置由来のブランクが検出されなかったものと考えられた。

### 2.3 抽出方法及びクリーンアップの検討結果

メスフラスコを用いたヘキサンスターラー攪拌抽出法と分液ロートを用いたジクロロメタン振とう抽出法の添加回収試験結果を図 7 と図 8 に示す。ヘキサンスターラー攪拌抽出法では、比較的分子量が小さく水溶性の高いテレフタル酸ジメチルとフタル酸ジエチルの回収率は 40% 未満と低かった。また、フタル酸ジアリルの回収率も 60% 程度であり、スターラー攪拌が十分でないと抽出率が低くなる傾向が見られた。また、今回の検討では塩析を行わなかったことから、河川水の回収率は海水の回収率に比べて若干低い傾向が見られた。ジクロロメタン振とう抽出法では、分液ロートを加熱処理しなかったことや塩化ナトリウムと無水硫酸ナトリウムの添加や、ロータリーエバポレーターの使用等の操作工程が増加したことにより、フタル酸ジ-n-ブチルやフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)等の汚染をコントロールできず、回収率が 100% を大きく超過した。

2 種類の抽出方法を検討した結果、操作ブランクが懸念される物質でヘキサンによる抽出率に問題のないフタル酸エステルは、ヘキサンスターラー攪拌抽出法が適用できると考えられた。一方、ヘキサン抽出率が悪いが、操作ブランクが検出されないフタル酸エステルは、ジクロロメタン振とう抽出法が適用できると考えられた。

シリカゲルカートリッジカラム (Supelclean LC-Si 1g) の溶出パターンを図 9 に示す。アセトン及びヘキサンで洗浄したカートリッジカラムに標準物質(d 体)を 10ng 添加し、溶出液を順次、流したところ、5%アセトン/ヘキサン 5mL の画分に溶出した。しかしながら、試料 95mL を 2mL ヘキサンで抽出することから濃縮倍率が低く、妨害物質がない限りは、汚染の原因となる可能性があるクリーンアップ操作も省略するほうが望ましいと考えられた。なお、カートリッジカラムは、ガラス製であっても使用しているテフロンフリットから妨害物質が溶出することがあるため、あらかじめアセトンで洗浄した後、再度、ヘキサンで十分置換してから使用が必要があった。

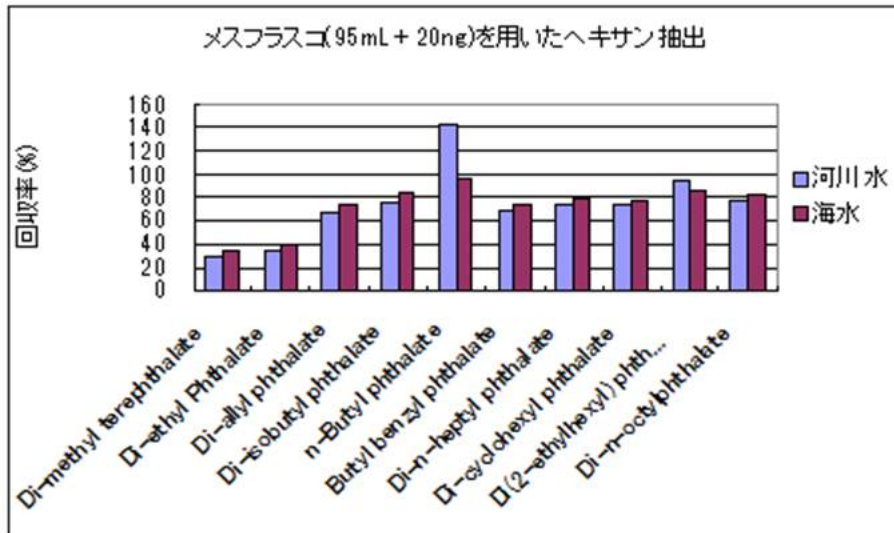


図 7 ヘキサンスターラー攪拌抽出法の回収率

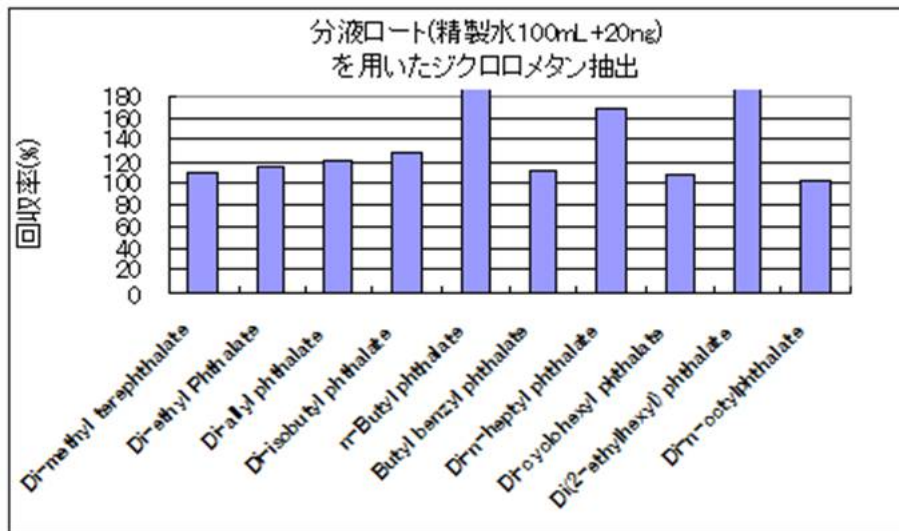


図 8 ジクロロメタン振とう抽出法の回収率

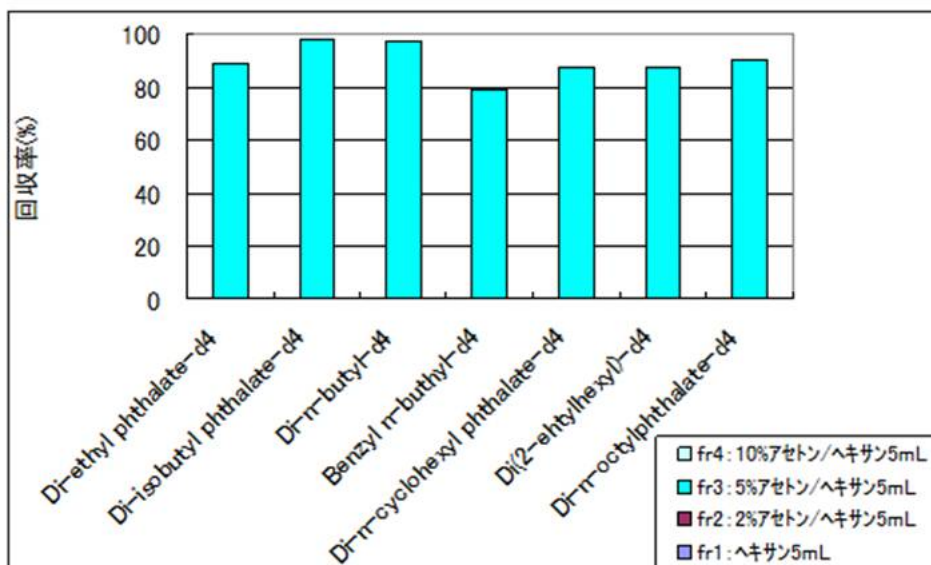


図 9 シリカゲルカートリッジカラムの溶出パターン

## 2.4 分解性スクリーニング試験及び保存性試験結果

分解性スクリーニング試験結果を表 1 に示す。7 日後程度であれば、いずれのフタル酸エステルも分解はほとんど認められなかった。

保存性試験結果を表 2 に示す。1 ヶ月経過した後、フタル酸ジアリルを除いて残存率は 70% 以上であった。フタル酸ジアリルの残存率が低くなった原因は、ヘキサンスターラー攪拌抽出法を行う際、攪拌が不十分で、抽出率が低下した可能性が考えられた。

また、標準物質を添加しない超純水だけの保存性試験結果を図 10 に示す。14 日後までは目だった操作ブランクは見られなかったが、1 ヶ月経過した際の精製水からはフタル酸ジエチルやフタル酸ジアリル、フタル酸ジ-*n*-ブチル、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)が検出され、冷蔵庫に保存中に汚染された可能性が考えられた。したがって、分解する可能性は少ないが、保存中に汚染を受ける可能性があることを考慮すれば、試料採取後は数日中には分析するのが望ましいと考えられた。

表 1 分解性スクリーニング試験結果

物質名	pH	1時間後の 残存率(%)	7日後の残存率(%)	
			暗所	明所
Di-allyl phthalate	pH5	88	90	104
	pH7	89	79	98
	pH9	97	83	76
Di-isobutyl phthalate	pH5	88	90	105
	pH7	90	80	99
	pH9	99	86	78
n-Butyl phthalate	pH5	104	99	112
	pH7	106	70	109
	pH9	116	104	97
Butyl benzyl phthalate	pH5	93	88	97
	pH7	96	71	95
	pH9	84	76	87
Di-n-heptyl phthalate	pH5	83	88	97
	pH7	95	53	98
	pH9	94	105	106
Di-cyclohexyl phthalate	pH5	87	86	101
	pH7	97	60	97
	pH9	102	108	109
Di(2-ethylhexyl) phthalate	pH5	90	89	106
	pH7	103	61	87
	pH9	98	90	104
Di-n-octylphthalate	pH5	79	75	94
	pH7	85	54	74
	pH9	89	72	84

初期濃度0.42µg/L

表 2 保存性試験結果

	試料	1時間後	1日後	3日後	6日後	14日後	1ヶ月後
Di-allyl phthalate	河川水	66	68	60	58	55	54
	海水	75	72	75	70	61	58
Di-isobutyl phthalate	河川水	74	79	81	79	81	91
	海水	83	71	89	84	81	93
n-Butyl phthalate	河川水	101	87	85	81	87	94
	海水	96	77	100	95	87	98
Butyl benzyl phthalate	河川水	73	71	74	74	73	77
	海水	75	77	85	83	77	90
Di-n-heptyl phthalate	河川水	73	76	81	82	79	54
	海水	80	65	87	86	81	89
Di-cyclohexyl phthalate	河川水	70	74	77	79	81	97
	海水	79	63	88	85	82	93
Di(2-ethylhexyl) phthalate	河川水	93	86	93	90	92	112
	海水	87	92	93	94	85	97
Di-n-octylphthalate	河川水	76	76	84	84	80	74
	海水	81	80	88	89	82	89

初期濃度0.21µg/L

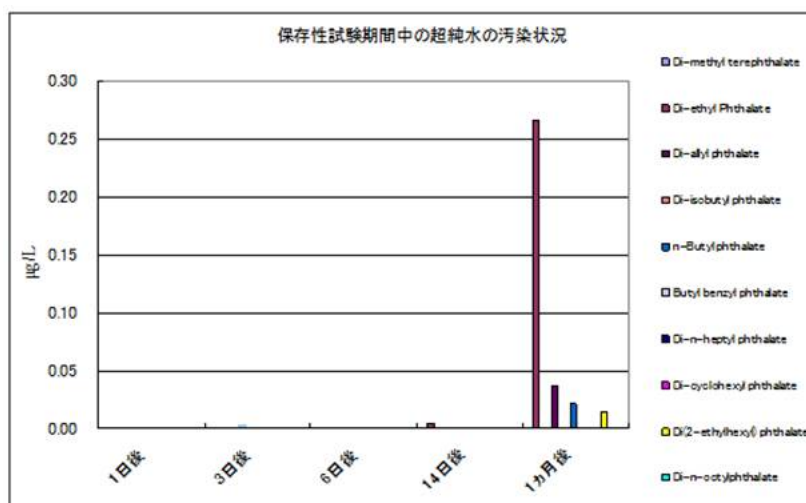


図 10 保存性試験期間中の超純水の汚染状況

## 2.5 IDL 及び分析法の MDL と MQL

IDL 及び MDL, MQL を表 3 に示す。IDL は 0.00023~0.013µg/L , MDL は 0.0013~0.040µg/L, MQL は 0.0034~0.10µg/L であり, 徹底したブランク管理と分析操作の簡略化により従来の分析方法に比べてかなり定量下限値を下げる事ができた。

表 3 IDL 及び MDL, MQL

	試料量 (mL)	最終液量 (mL)	IDL (µg/L)	MDL (µg/L)	MQL (µg/L)
Di-methyl terephthalate*	100	1.00	0.00052	0.0013	0.0034
Di-ethyl phthalate*	100	1.00	0.00023	0.0016	0.0040
Butyl benzyl phthalate	95	2.00	0.013	0.033	0.085
Di(2-ethylhexyl) phthalate	95	2.00	0.0076	0.014	0.035
Di-allyl phthalate	95	2.00	0.011	0.040	0.10
Di-isobutyl phthalate	95	2.00	0.00048	0.0051	0.013
n-Butyl phthalate	95	2.00	0.00057	0.0045	0.012
Di-n-heptyl phthalate	95	2.00	0.0042	0.026	0.067
Di-cyclohexyl phthalate	95	2.00	0.0036	0.024	0.063
Di-n-octyl phthalate	95	2.00	0.0024	0.028	0.073

\*: 分液ロートを用いたジクロロメタン振とう抽出法

## 2.6 添加回収試験

添加回収試験結果を表 4 に示す。回収率は 62~111%と比較的良好な結果であった。サロゲートの回収率も 69~90%であり, 特に問題は無かった。

表 4 添加回収試験結果

試料	物質名	試料量 (mL)	添加量 (ng)	検対数	検出濃度 (µg/L)	回収率 (%)	サロゲート 回収率
河川水	Butyl benzyl phthalate	95	40	6	0.45	107	88
	Di(2-ethylhexyl) phthalate	95	40	6	0.48	108	90
	Di-allyl phthalate	95	10	6	0.065	62	-
	Di-isobutyl phthalate	95	1	6	0.0082	78	84
	n-Butyl phthalate	95	1	6	0.0081	77	86
	Di-n-heptyl phthalate	95	5	6	0.043	83	78
	Di-cyclohexyl phthalate	95	5	6	0.043	81	75
	Di-n-octylphthalate	95	5	6	0.050	95	69
海水	Butyl benzyl phthalate	95	40	6	0.47	111	85
	Di(2-ethylhexyl) phthalate	95	40	6	0.49	111	85



### 3 まとめ

フタル酸ブチルベンジル及びフタル酸ジ（2-エチルヘキシル）を含むフタル酸エステル 10 種の水質分析法について検討し、次の結果を得た。

- 1) フタル酸エステルを分析する際の最大の汚染源は分析者の手指であることが確認された。汚染の少ないニトリル手袋を使用することにより、前処理工程で汚染されることが多いフタル酸ジ（2-エチルヘキシル）等の操作ブランクが検出されない分析方法が確立できた。
- 2) テレフタル酸ジメチルとフタル酸ジエチル以外の 8 種類のフタル酸エステルは、ブランクを管理するため、使用するガラス器具はメスフラスコとパスツールピペットだけで、塩析も行わず、サロゲートと抽出溶媒のヘキサンを添加し、回転子によりスターラー攪拌して抽出する非常にシンプルな分析方法とした。
- 3) 汚染の少ないテレフタル酸ジメチルとフタル酸ジエチルは、ヘキサンスターラー攪拌抽出法では抽出率が悪く、分液ロートを用いたジクロロメタン振とう抽出法が適用できた。
- 4) 徹底したブランク管理と操作法の簡略化により、MDL は  $0.0013 \sim 0.040 \mu\text{g/L}$ 、MQL は  $0.0034 \sim 0.10 \mu\text{g/L}$  となり、従来の分析方法に比べてかなり定量下限値を下げる事ができた。

## 有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究

### —LC/MS/MS を用いた水質中ポリ-*tert*-ブチルフェノール類の同時分析法の検討—

大月史彦, 吉岡敏行, 山辺真一, 坂口浩範, 劔持堅志 (水質科)

#### 要 旨

環境試料（水質中）のポリ-*tert*-ブチルフェノール類 4 種の多成分同時分析法について検討した。分析法はヘキサンで抽出後、アセトニトリルに転溶し LC/MS/MS(SRM 法)で測定する方法とした。各種溶媒、バイアルセプタム等に対象物質が含まれており、これらの影響を除外するための様々な対策が必要であった。開発した分析法では、要求感度を満足する検出下限値が得られ、回収率や保存性等の試験も良好であった。環境試料を分析したところ、いずれの物質も検出されなかった。

#### 1 はじめに

2,4-ジ-*tert*-ブチルフェノールは、魚毒性が強く、また難分解性有害化学物質のおそれも想定されている物質であるが、環境に及ぼす影響等の実態はよくわかっていない。今回、当該物質が環境省の実施する化学物質環境実態調査の調査対象物質として選定され、本県に分析法の開発が委託されたことから、当該物質を含め 4 種類のポリ-*tert*-ブチルフェノール類について、当該調査と連携して、LC/MS/MS を用いて同時分析する方法を検討するとともに、環境試料の濃度レベルを測定したので報告する。

#### 2 結果及び考察

##### 2.1 各種条件の検討結果

##### 2.1.1 移動相溶媒と質量分析条件の検討

移動相溶媒と質量分析条件の検討を行った結果を表 1 に示す。100ng/mL の 2,4-ジ-*tert*-ブチルフェノールの標準溶液を用いて確認したところ、移動相溶媒をアセトニトリルとし、SRM で二重にフィルターをかける形の 205>205 の質量数の分析で、最も良好な S/N 比が得られ、これを条件とした。また、205>189 の質量数は対象物質からフェノールの酸素原子が外れるという、物質の構造を示す特有のピークと言え、確認イオンとして最適であると考えられた。

表 1 各条件における 2,4-ジ-*tert*-ブチルフェノールの S/N 比 (各最適条件化済み)

移動相溶媒	定量方法	SIM		SRM
	モニターイオン	205	205>189	205>205
移動相溶媒	アセトニトリル	200	130	830
	メタノール	100	85	520

は本開発での条件。

##### 2.1.2 HPLC 条件の検討

HPLC 条件の検討を行った結果を表 2 と図 2 に示す。移動相溶媒、溶出モードを変更して各物質の分離状況と 2,4-ジ-*tert*-ブチルフェノールのブランクを確認したところ、移動相溶媒をアセトニトリルとし、溶出モードをアイソクラティックとすることで、良好な分離とブランクが得られた。グラジエントでブランクのピークが検出されるのは、3. 1. 3 の検討結果から、移動相溶媒中の不純物等に由来するものと考えられた。

表 2 HPLC 条件の検討結果（各物質の分離状況）

	溶出モード	グラジエント	アイソクラティック
移動相溶媒	アセトニトリル	Blank で検出, 分離良好	Blank で未検出, 分離良好
	メタノール	Blank で検出, 分離良好	Blank で未検出, 分離不良

は本開発での条件。

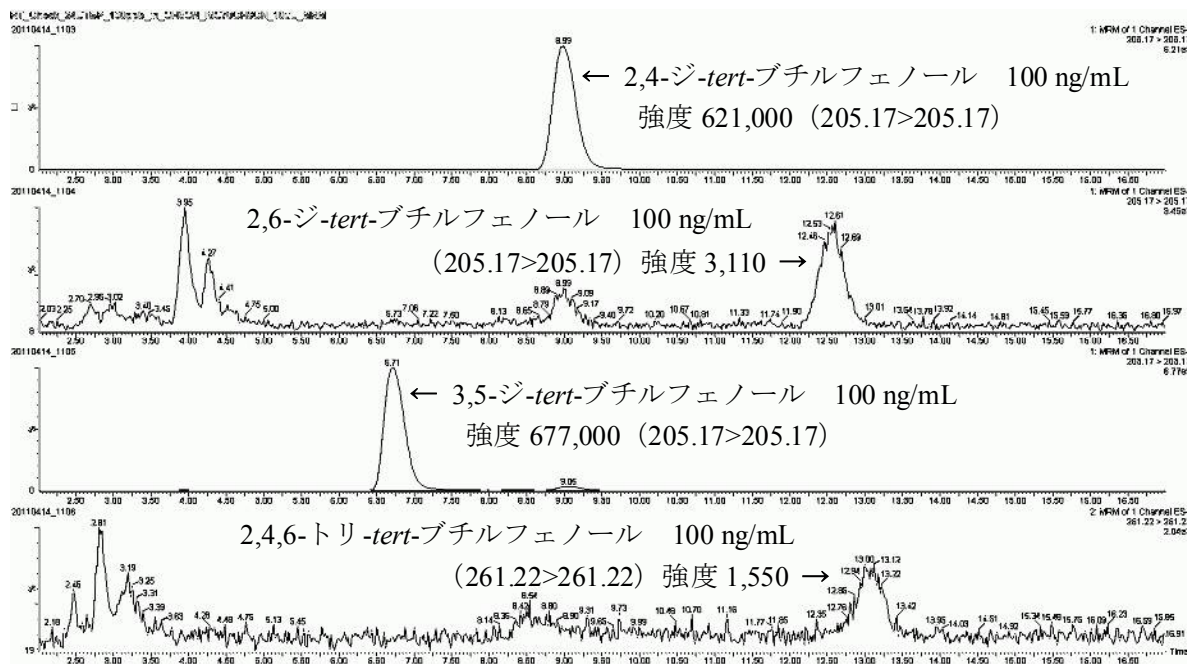


図 2 各物質の分離状況と強度

### 2.1.3 ブランクの検討

各種の実験時に、2,4-ジ-tert-ブチルフェノールがブランクで検出されたため、ブランクについての検討を実施した。当該物質は酸化防止剤の中間体として、幅広いところで用いられていることから、様々な場所からの汚染が想定された。

装置に標準溶液を繰り返し注入すると値が上昇したため、バイアルの蓋からの汚染を確認したところ、セプタムから汚染が起こっていることがわかった。テフロン製のセプタムを使用することにより、対処できた。結果を表 3 と図 3, 4 に示す。

表 3 バイアル蓋（セプタム）からの検出状況 (ng/mL)

	A 社 赤色	A 社 青色	A 社 緑色	W 社 赤色	W 社 青色	W 社 緑色	W 社 白色	S 社 黒色	S 社 テフロン 1	S 社 テフロン 2
24DTBP	25.5	19.1	36.4	25.1	32.7	21.8	40.5	12.0	ND	ND
26DTBP	10.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
35DTBP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
246DTBP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

セプタムを4つに切り、5mLのアセトニトリルで3.5時間振とう抽出した上澄みを測定。

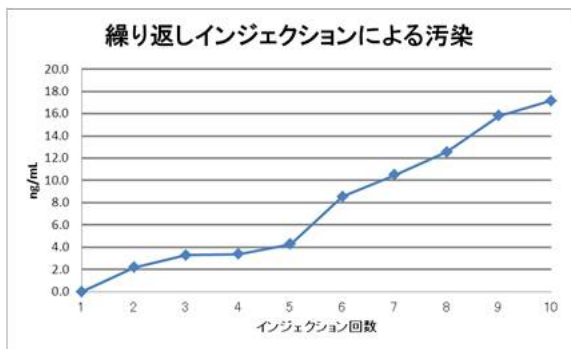


図 3 繰り返しによる汚染(W社白色蓋)

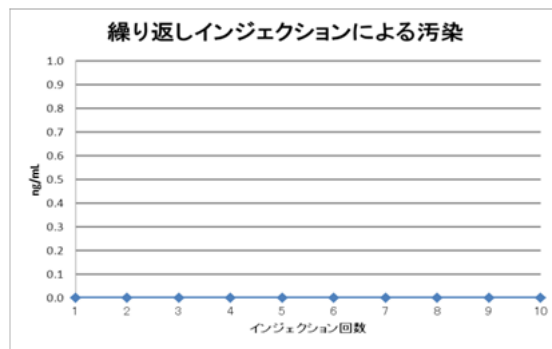


図 4 繰り返しによる汚染(S社7701)

また、グラジエント条件でブランクから検出されたことから、溶媒からの汚染が疑われたため、ガラスの器具を用いて、溶媒をエバポレーターで 100 倍濃縮し確認したところ、表 4 のとおり、すべての溶媒から 2,4-ジ-*tert*-ブチルフェノールが測定装置の検出限界と同程度のレベルで確認された。このため、前処理は抽出溶媒をあまり濃縮せず、かつ必要最小量を用いることとした。

表 4 溶媒からの検出状況 (ng/mL)

	W 社	W 社	W 社	W 社	W 社	W 社	K 社	K 社	W 社	W 社
	LC/MS	LC/MS	5000	テラム	LC/MS	5000	LC/MS	5000	5000	5000
	CH <sub>3</sub> CN	CH <sub>3</sub> CN	CH <sub>3</sub> CN	CH <sub>3</sub> CN	CH <sub>3</sub> OH	CH <sub>3</sub> OH	CH <sub>3</sub> OH	CH <sub>3</sub> OH	ヘキサン	アセトン
	Lot1	Lot2								
24DTBP	0.160	0.208	0.061	0.189	0.180	0.142	0.124	0.172	0.158	0.137
26DTBP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
35DTBP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
246DTBP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

### 2.1.4 前処理法の検討

前処理法は、液液分配による方法と、固相抽出による方法を検討した。どちらの方法でも回収率は良好であったが、固相抽出は図 5 に示すようにブランクが大きく、またプラスチック製の大容量リザーバーがブランク対策で使用できないことから操作性が悪い等の問題点があったため、液液分配を採用した。

Sample17\_4Mix\_24\_26\_35\_246TBP\_in\_CH3CN\_ISO70CH3CN\_10uL\_MRM\_Check\_Recovery\_MilliQ\_BL\_0p

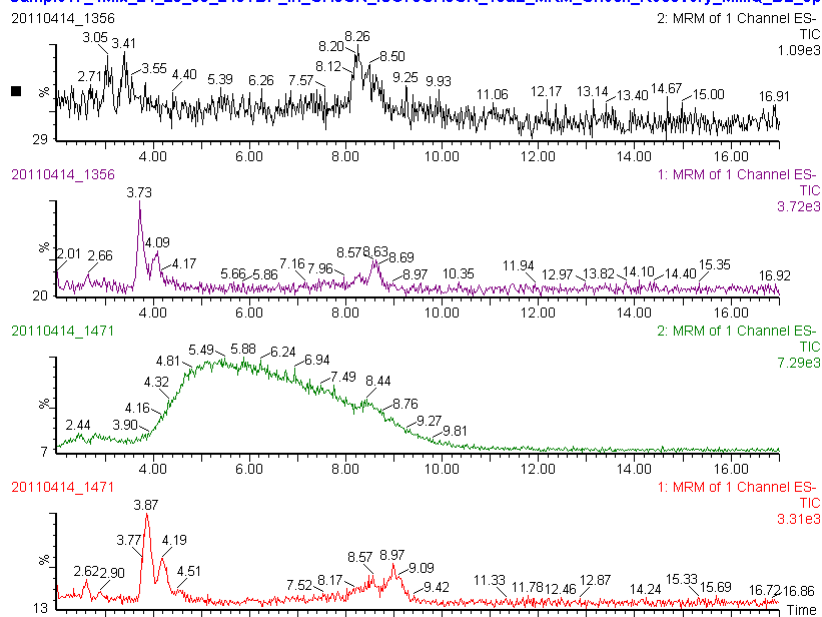


図 5 液液分配と固相抽出時のブランク比較用クロマトグラム

## 2.2 添加回収試験結果

添加回収試験結果を表 5 に示す。添加回収試験には河川水は旭川水系の乙井手堰、海水は岡山県倉敷市水島沖の水質試料を使用した。河川水、海水ともに良好な添加回収試験結果が得られた。

表 5 添加回収試験結果

試料名	物質名	試料量 (mL)	添加量 (ng)	試験 数	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)
河川水	2,4-ジ- <i>tert</i> - ブチルフェノール	100	無添加	1	ND	—	—
	ブチルフェノール	100	5	7	46.8	94	10.0
	3,5-ジ- <i>tert</i> - ブチルフェノール	100	無添加	1	ND	—	—
	ブチルフェノール	100	5	7	45.7	92	5.5
海水	2,4-ジ- <i>tert</i> - ブチルフェノール	100	無添加	2	ND	—	—
	ブチルフェノール	100	50	3	479.5	96	2.0
	3,5-ジ- <i>tert</i> - ブチルフェノール	100	無添加	2	ND	—	—
	ブチルフェノール	100	50	3	487.8	98	2.7

※2,6-ジ-*tert*-ブチルフェノールと 2,4,6-トリ-*tert*-ブチルフェノールは当装置では他に比べて感度が 1/100 以下と著しく悪かったため添加回収試験はせず。

## 2.3 分解性スクリーニング試験結果

分解性スクリーニング試験結果を表 6 に示す。pH や光の有無によらず、著しい分解性は見られなかった。

表 6 分解性スクリーニング試験結果

物質名	pH	試験数	初期濃度 (ng/L)	1 時間後の 残存率(%)	7 日後の残存率(%)	
					明所	暗所
2,4-ジ- <i>tert</i> - ブチルフェノール	5	2	500	109	90	—
	7	2	500	100	88	95
	9	2	500	98	86	—
3,5-ジ- <i>tert</i> - ブチルフェノール	5	2	500	105	95	—
	7	2	500	100	98	97
	9	2	500	98	92	—

※7日後の残存率は、1時間後の残存量を100とした値である。

## 2.4 保存性試験結果

保存性試験結果を表 7 に示す。保存性は良好であった。

表 7 保存性試験結果

物質名	試料名	初期濃度 (ng/mL)	残存率(%)		
			1 週間後	9 週間後	13 週間後
2,4-ジ- <i>tert</i> - ブチルフェノール	試料 (河川水)	0.2	101	—	—
	標準溶液	1	—	—	98
		2	—	106	—
		100	—	101	99
3,5-ジ- <i>tert</i> - ブチルフェノール	試料 (河川水)	0.2	100	—	—
	標準溶液	1	—	—	97
		2	—	101	—
		100	—	100	97

## 2.5 環境試料の分析結果

平成 23 年 10 月に採取した河川水（旭川乙井手堰）及び海水（水島沖）からは、対象物質は検出されなかった。定量下限は 2,4-ジ-*tert*-ブチルフェノールが 46.6 ng/L, 3,5-ジ-*tert*-ブチルフェノールが 25.1 ng/L であった。

## 3 まとめ

4 種類のポリ-*tert*-ブチルフェノール類について、多成分同時分析法を検討し、次の結果を得た。

- 1) 2,4-ジ-*tert*-ブチルフェノールと 3,5-ジ-*tert*-ブチルフェノールは高感度測定が可能であったが、2,6-ジ-*tert*-ブチルフェノールと 2,4,6-トリ-*tert*-ブチルフェノールは当装置では感度が著しく悪かったため、分離はできるものの他と同濃度レベルでの定量は困難と考えられた。
- 2) 移動相溶媒にアセトニトリル、定量方法に SRM を用いると、最も良好な S/N 比を得ることができた。
- 3) 各種溶媒、バイアルセプタム等に対象物質が含まれており、これらの影響を除外するための様々な対策が必要であった。
- 4) 液液分配と固相抽出による前処理方法を検討し、いずれも回収率は良好であったが、ブランクと操作性の点から液液分配を採用した。
- 5) 添加回収試験結果は、河川水、海水ともに良好であった。
- 6) 分解性スクリーニング試験結果は、pH 条件や光の有無によらず、著しい分解性は見られなかった。
- 7) 保存性試験の結果、保存性は良好であった。
- 8) 河川水（旭川乙井手堰）及び海水（水島沖）から、対象物質は検出されなかった。

## 有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究

### —LC/MS/MS を用いた生物中農薬の分析法の検討—

大月史彦, 浦山豊弘, 吉岡敏行, 山辺真一, 坂口浩範, 劔持堅志

#### 要 旨

環境試料（生物中）の農薬 2 種の同時分析法について検討した。分析法は生物試料を有機溶媒で抽出後、リン酸緩衝液等で夾雑物を除去し、更にヘキサン/アセトニトリル分配で脱脂したのち定容した。その一部を分取し、ENVI-Carb/LC-NH<sub>2</sub> のデュアルレイヤー固相カートリッジで精製し LC/MS/MS(SRM 法)で測定する方法とした。LC/MS の機種によっては、著しいマトリックス効果が起こり、マトリックス検量線の使用が必要であった。その場合検量線標準溶液の保存性に留意する等の注意が必要であったが、本分析法は要求感度を満足する検出下限値が得られ、回収率や保存性等の試験も良好であった。環境試料を分析したところ、いずれの物質も検出されなかった。

#### 1 はじめに

フルフェノクスロン及びフルアジナムは、近年使用されている農薬であるが、環境に及ぼす影響等の実態はよくわかっていない。今回、当該物質が環境省の実施する化学物質環境実態調査の調査対象物質として選定され、本県に分析法の開発が委託されたことから、当該調査と連携して当該物質を LC/MS/MS を用いて分析する方法を検討し、マトリックス効果等について知見を得るとともに、環境試料の濃度レベルを測定したので報告する。

#### 2 結果及び考察

##### 2.1 マトリックス効果の検討

フルフェノクスロンで見かけ上の回収率の低下が生じたため、マトリックス効果について各種の検討を実施した。

##### 2.1.1 マトリックス効果の装置による違いの検討

マトリックス効果の装置による違いについて検討を行った結果を表 1 に示す。50%アセトニトリル溶液と、同組成のマトリックス含有溶液に標準物質を 1ng/mL の濃度で添加し、マトリックス効果を確認した。Micromass Quattro micro API ではカラム、移動相によらず著しいイオン化抑制が生じたが、AppliedAPI3200 ではイオン化抑制はほぼ起こらなかった。装置により、マトリックス効果が著しく異なる場合があるとの結果が得られた。

表 1 マトリックス効果の装置による違い (Matrix 有り / Matrix 無し の相対%)

装置	Micromass Quattro micro API		AppliedAPI3200	
	0.35%ギ酸	5mMCH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub>	5mMCH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub>	
移動相	0.35%ギ酸	5mMCH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub>	5mMCH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub>	
カラム	T3	Xterra	T3	Xterra
フルフェノクスロン	38	51	50	47
フルアジナム	103	117	107	112
				※

は本開発での条件。

※AppliedAPI3200は臨時に借りたため、回収率が良好なフルアジナムは測定せず。

### 2.1.2 マトリックス効果の標準濃度依存性の検討

マトリックス効果の標準濃度依存性について検討を行った結果を表 2 に示す。フルフェノクスロンは、濃度によらずイオン化抑制のマトリックス効果がほぼ一定であり、フルアジナムは、高濃度でマトリックス効果によりイオン化が増進されていることがわかった。

表 2 マトリックス効果の濃度依存性 (Matrix 有り / Matrix 無し の相対%)

濃度 ng/mL	0.01	0.02	0.05	0.1	0.2	0.5	1	2	5	10	20	50	100
フルフェノクスロン	46	24	27	27	37	31	32	35	31	29	28	29	33
フルアジナム	56	68	81	83	94	98	98	103	103	115	123	154	196

### 2.1.3 マトリックス効果のマトリックス希釈率依存性の検討

マトリックス効果のマトリックス希釈率依存性について検討を行った結果を表 3 に示す。添加濃度 1ng/mL でマトリックス液の希釈倍率依存性を確認した。マトリックスの希釈率が変わると、マトリックス効果の程度が変わることから、マトリックス液の希釈は不可であることがわかった。

表 3 マトリックス液希釈倍率依存性確認 (Matrix 有り / Matrix 無し の相対%)

希釈倍率	抽出液原液	2 倍希釈	5 倍希釈	10 倍希釈	マトリックス無し
フルフェノクスロン	40	51	70	77	100
フルアジナム	100	101	101	96	100

### 2.1.4 マトリックス効果のマトリックス種依存性の検討

マトリックス効果のマトリックス種依存性について検討を行った結果を表 4 に示す。添加濃度 1ng/mL でマトリックス液のマトリックス種依存性を確認した。マトリックスの種類が変わると、マトリックス効果の程度が変わることから、分析対象に応じてマトリックス検量線を作る必要があることがわかった。

表 4 マトリックス液種類依存性確認 (Matrix 有り / Matrix 無し の相対%)

種類	ヒラメ	マス	コイ	サーモン	アサリ	鶏肉	ボラ
フルフェノクスロン	78	70	86	67	52	64	52
フルアジナム	112	111	109	111	112	116	113

## 2.2 添加回収試験結果

添加回収試験結果を表 5 に示す。添加回収試験には水島沖において採取されたボラを使用した。フルフェノクスロン、フルアジナムともに良好な添加回収試験結果が得られた。

表 5 添加回収試験結果

試料名	物質名	試料量 (g-wet)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度 (ng/g-wet)	回収率 (%)	変動係数 (%)
ボラ	フルフェノクスロン	10	無添加	1	ND	—	—
		10	3	5	0.284	95	6.8
	フルアジナム	10	無添加	1	ND	—	—
		10	3	5	0.213	71	9.5



### 2.3 保存性試験結果

保存性試験結果を表 6 に示す。また、マトリックス標準の各濃度における残存率を図 1, 2 に示す。

マトリックスの入っていない標準溶液の保存性は良好であるが、マトリックス標準は約二週間を超えると保存性が悪化する。粗抽出液による試験では、14 日の保存性は良好であるのも、この傾向と一致している。溶液を調整後、二週間以内での測定が必要であることがわかった。

表 6 保存性試験結果

物質名	試料名	初期濃度 (ng/mL)	残存率(%)				
			6 日	12 日	14 日	17 日	28 日
フルフェノクスロン	標準溶液	0.1	—	—	—	—	92
		50	—	—	—	—	99
	マトリックス標準 (ボラ)	0.1	111	128	—	65	0
		50	103	117	—	85	33
		※粗抽出液 (ボラ)	0.1	—	—	95	—
フルアジナム	標準溶液	0.1	—	—	—	—	89
		50	—	—	—	—	102
	マトリックス標準 (ボラ)	0.1	115	136	—	110	0
		50	106	138	—	107	23
		※粗抽出液 (ボラ)	0.1	—	—	93	—

※粗抽出液20mLに0.2ngの標準を添加した。添加した粗抽出液を0日、14日保存後、カラム以降の前処理を実施した。

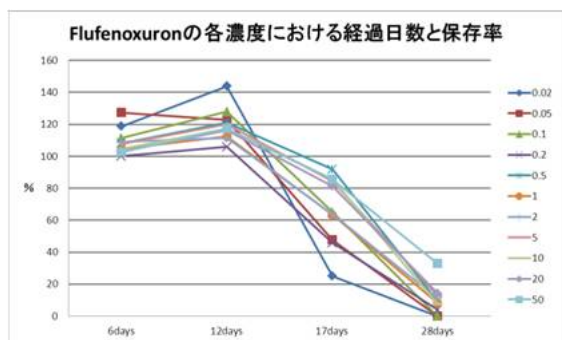


図 1 マトリックス標準の残存率(フルフェノクスロン)

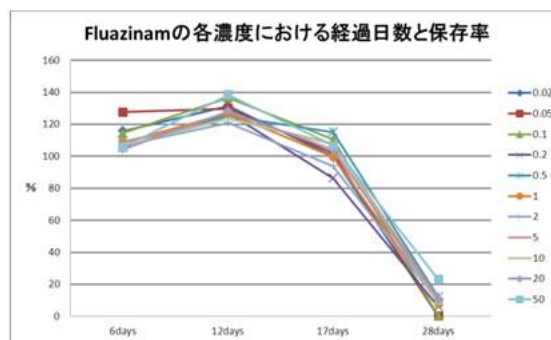


図 2 マトリックス標準の残存率(フルアジナム)

### 2.4 環境試料の分析結果

平成 23 年 8 月に採取した環境試料の生物 (水島沖のボラ)からは、対象物質は検出されなかった。定量下限はフルフェノクスロンが 0.025 ng/g-wet, フルアジナムが 0.032 ng/g-wet であった。

### 3 まとめ

生物中の農薬 2 種の同時分析法を検討し、次の結果を得た。

- 1) LC/MS の機種によっては、著しいマトリックス効果が起こり、マトリックス検量線等を用いる必要があった。
- 2) マトリックス効果の程度は、装置、標準濃度、マトリックスの種類及び濃度などで変化するため適切なマトリックス検量線を用いる等の注意が必要であった。
- 3) 添加回収試験結果は良好であった。
- 4) 保存性試験結果から、溶液を調整後、約 2 週間以内での測定が必要であることがわかった。
- 5) 環境試料の生物 (水島沖のボラ) から対象物質は検出されなかった。

平成 20～24 年度 調査研究の概要

課題名	【3】 児島湖に関する調査研究 (1) 難分解有機物等の汚濁物質の挙動 (2) 水生生物（貝類）が水質に与える影響調査
担当科名	環境科学部 水質科

研究概要	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ 本研究は、「児島湖に係る湖沼水質保全計画」（以下「計画」という。）に基づき実施したものである。</li> <li>➤ 化学的酸素要求量（COD）が低下しない一因として関与が示唆される「難分解性有機物」について調査を行うとともに、水生生物による水質改善機能を検討するために貝類等による浄化効果を調査する。</li> <li>➤ 難分解性有機物調査については、採取した湖水を採取時の水温で静置し、有機物の分解特性を調査する。</li> <li>➤ 生物による浄化能力調査では、室内外での実験により化学的酸素要求量（COD）及び懸濁物質に係る浄化効果を測定する。</li> </ul>							
研究成果	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ 難分解性有機物の調査結果                             <ul style="list-style-type: none"> <li>◇ 溶存態 COD（D-COD）の大半は難分解性 COD であり、年間を通じて 0～20% 分解されることが明らかとなった。</li> <li>◇ 溶存態 COD（D-COD）は、夏期には分解されるものもあるが、冬期にはほとんど分解されないことが明らかとなった。</li> </ul> </li> <li>➤ 生物による浄化能力の調査結果                             <ul style="list-style-type: none"> <li>◇ ヒメタニシのろ過速度が 600mL（水温 25℃で 1 個体 1 日当たり）であることが明らかとなった。</li> <li>◇ 水田等でヒメタニシ 2 個体/L における浮遊物質（SS）の削減率は約 55% と推測された。</li> </ul> </li> <li>➤ ユスリカの棲息量調査も併せて実施し、ユスリカが湖内全域に分布しており、棲息量が夏期には低く冬期には高いことが明らかとなった。</li> </ul>							
今後の課題	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ 第 6 期計画が平成 27 年度まで継続されていることから、同計画に基づき、児島湖における湖底からのりん溶出因子に関する調査を実施する予定である。</li> <li>➤ また、水田等非特定汚染源の原単位の補正方法の確認に関する調査についても実施する予定である。</li> <li>➤ シミュレーション手法から、児島湖における汚濁削減対策を推進する必要がある。</li> </ul>							
実施内容	実施内容	年度	H20	H21	H22	H23	H24	
	水質調査及び解析		—————					
	計画事業費		2,956	2,973	415	394	386	単位： 千円
	一般財源		856	428	415	394	386	
	外部資金等		2,100	2,545				
人件費		7,200	7,200	7,200	7,200	7,200		
総事業コスト		10,156	10,173	7,615	7,594	7,586		

調査研究概要【児島湖に関する調査研究】

センター年報掲載	H20	児島湖に関する研究 ー流入河川での溶存態有機物、栄養塩の挙動ー	
	H20	児島湖におけるクロロフィル a および COD と栄養塩（窒素・りん）の関係	
	H20	児島湖流域の内部生産(6) ー植物プランクトンの増殖ー	
	H20	児島湖底泥からの窒素・リンの溶出	
	H20	貝類による水中の懸濁物質への影響に関する考察	
	H20	陸域から海域への汚濁負荷の影響	
	H21	児島湖に関する調査研究 (2)児島湖における溶存態有機物、栄養塩の挙動	
	H21	児島湖におけるクロロフィル a および COD と栄養塩（窒素・りん）の関係(2)	
	H22	児島湖の水質シミュレーション計算	
	H22	児島湖に関する調査研究 ー溶存性有機物の挙動と郷内川の汚濁負荷についてー	
	H23	児島湖流域の水質シミュレーション計算	
	H23	児島湖底泥のユスリカ調査	
	H24	七区における汚濁負荷量調査〈投稿中〉	
	学会発表	H20	貝類による水中の懸濁物質への影響に関する考察
H22		児島湖底泥のユスリカ調査	第 65 回日本衛生動物学会西日本支部大会
H23		児島湖の水質シミュレーション	日本水処理生物学会第 48 回大会
H23		児島湖底質における汚濁物質の変化	第 46 回日本水環境学会年会
H24		児島湖流域の水質シミュレーション	日本水処理生物学会第 49 回大会

## 貝類による水中の懸濁物質への影響に関する考察

藤田和男, 宮崎 清 (水質第一科)

### 要 旨

3 種類の貝類（マツカサガイ，カラスガイ，ヒメタニシ）について，室内実験により懸濁物質（SS）および COD の変化を測定した。懸濁物質が吸収され擬糞として排出され沈降し，5 日後に，SS は約 20 ～ 30 %，COD は約 40 %にまで減少した。容積 2 (L)，高さ 20 (cm) の容器を使用して，懸濁物質の沈降速度を評価すると，貝類を入れた場合 3 ～ 6 (cm/day) 増加した。貝類を入れて数日の時間が経過した検水では，懸濁物質の沈降速度は大きく 100 ～ 150 (cm/day) であった。これは懸濁物質が擬糞状になることにより，粒子径が大きくなり，沈降速度が増加したものと考えられた。屋外の用排水路で，貝類が，懸濁物質の沈降する速度に与える影響を調査した。ヒメタニシによる懸濁物質沈降速度は水温の低下により減少し，5℃では貝類による懸濁物質の沈降は殆ど認められなかった。得られた結果から，水路を仮定したシミュレーション計算では，平均滞留時間 0.5 日，水深 20 (cm)，ヒメタニシ 2 (個体/L) の場合，懸濁物質の削減率は約 50 %であった。

### 1 はじめに

近年，湖沼等の閉鎖性水域で，水中の懸濁物質による汚濁が問題となっている。懸濁物質は COD を上昇させるだけでなく，湖水を濁らせる（透明度の低下）。また沈降し底泥として堆積した場合，ヘドロ化することで水中の溶存酸素を低下させ魚のへい死事象等を引き起こし，栄養塩が底泥から再溶出することにより植物プランクトンが増殖し，水域の汚濁が進行する。これらのことから，懸濁物質は汚濁の主要な要因と位置づけられる。

一方，近年，生態系の生物による懸濁物質浄化機能についての研究が行われてきており，海域，干潟，汽水及び淡水域等での，貝類の影響や浄化効果について報告されている（表 1）。岡山県の児島湖湖心の水質は COD が 7.9 (mg/L) (75 %値，平成 19 年度) で，近年除々にではあるが減少傾向にあるものの，環境基準 (5 mg/L) の 1.5 倍程度である。COD の約 40 %弱は懸濁態 COD と推定されており，懸濁物質の影響が大きい。ここでは児島湖及び流入河川に棲息する貝類について，水中の懸濁物質への影響に関して検討した。

表 1 貝類による水質浄化

種類	浄化能力	場所
ヤマトシジミ <sup>3)</sup>	SS: 2.2 mg/個体/hr Chl.a: 1.8 μg/個体/hr	神西湖(島根県) (屋外水槽)
ヤマトシジミ <sup>4)</sup>	SS: 0.07 L/個体/hr Chl.a: 0.47 L/個体/hr	堀川(島根県) (室内実験)
シオフキガイ <sup>5)</sup>	ろ過速度: 3.0 L/g 軟体部乾重/hr	三番瀬(東京湾) (室内実験)
ヤマトシジミ <sup>6)</sup>	吸収速度 COD: 5.75 mg/g 湿重/day T-N: 1.14 mg/g 湿重/day T-P: 0.01 mg/g 湿重/day	酒沼(茨城県) (室内実験)

## 2 結果及び考察

### 2.1 水質の経時変化

藍藻綱（ピコプランクトン）が優占する検水に 3 種類の貝類を入れ、SS および COD の変化を測定し、貝類を入れないものをブランクとした。懸濁物質が吸収され、擬糞として排出され沈降し、水の透明度が上昇するのが観察された。マツカサガイ、カラスガイ及びヒメタニシでは、いずれも概ね 5 日後に、SS は約 20 ～ 30 %、COD は約 40 % にまで減少していた（図 1）。

今回の実験の条件では、貝類の個体あたりの SS のろ過速度は 0.7 ～ 1 (mg/個体/hr)、COD のろ過速度は 0.4 ～ 0.5 (mg/個体/hr) と推算された。また NH<sub>4</sub>-N 排泄速度は、最大で 0.02 (mg/個体/hr) であった。

ヤマトシジミのろ過速度は、最も高い場合では SS で 1.2 (mg/個体/hr) と報告されている。

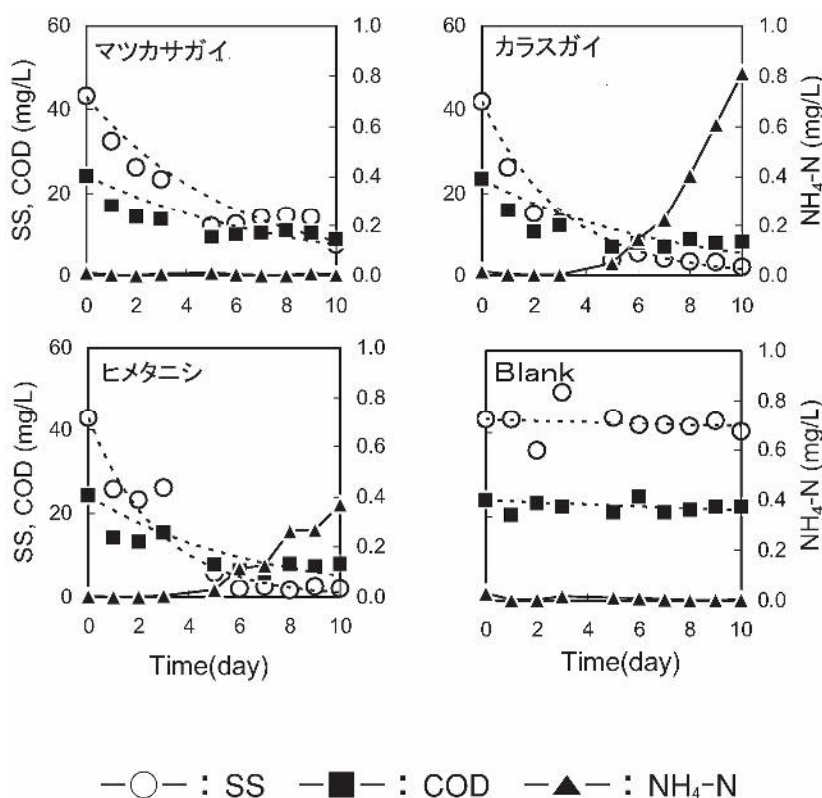


図 1 SS, COD および NH<sub>4</sub>-N の経時変化（藍藻）

### 2.2 懸濁物質の沈降速度

培養 1 日目、貝類を入れた容器では、貝類を入れないもの（ブランク）と比較して SS の沈降速度が約 3 ～ 6 (cm/day) 増加した（図 2）。これは容器底の貝類が水中の懸濁物質を吸入し擬糞化することによると考えられた。

貝類を入れて 10 日が経過した検水では、SS の沈降速度が 100 ～ 150 (cm/day) と大きかった。これは懸濁物質が擬糞状になることにより、粒子径が大きくなり、沈降速度が増加したと考えられた。

これらのことから、貝類を入れた容器では時間の経過に伴い、容器中の水の透明度がブランクに比べ増加する等の変化が見られるのは、貝類による懸濁物質の沈降の促進が大きな要因であると考えられた。

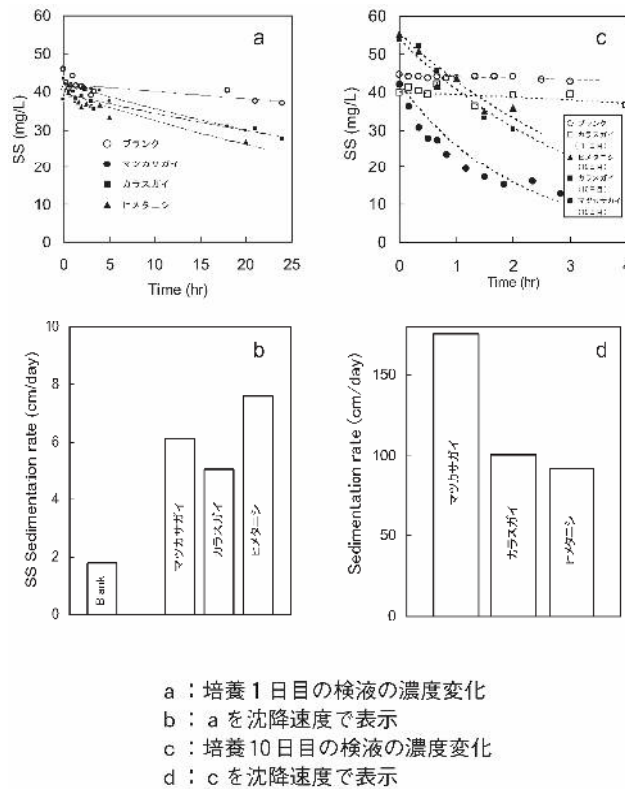
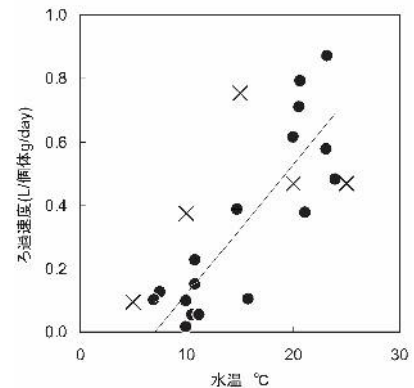


図 2 SS の沈降速度（藍藻）

### 2.3 水温の影響

屋外の用排水路に貝類を入れた容器、及び、対照試験（ブランク）として貝類を入れない容器を設置し、SS の容器への単位時間当たりの沈降量を測定し、ブランクとの差から、貝類によるろ過速度を計算した。図 3 に実験に用いた容器、および実測値から計算したヒメタニシのろ過速度と温度の関係を示す。SS ろ過速度は水温の低下により減少し、5℃では貝類による懸濁物質の沈降は殆ど認められなかった。図中にヤマトシジミでの値（文献値）をあわせて示す（図中に×で示す）。1 個体あたりのろ過速度はほぼ同等の値であった。



●：実測値（ヒメタニシ）  
 ×：文献値（ヤマトシジミ）

図 3 屋外実験結果

### 2.4 シミュレーション計算

得られたデータから、水中の懸濁物質の削減についてシミュレーション計算を行った（図 4）。

#### 2.4.1 容器

高さ 20 (cm)、断面積 100 (f) の容器を想定して計算した。水中の懸濁物質は珪藻綱、SS は 40 (mg/L)、貝類はヒメタニシが 0 ~ 2 (個体/L) 存在し、懸濁粒子の沈降速度については、実験結果をもとにヒメタニシが存在しない場合 13 (cm/day)、ヒメタニシが 2 (個体/L) 存在する場合 49 (cm/day) と仮定した。平均滞留時間  $\tau$  を 1 (day) としたときの計算結果を図 5 (a) に示す。ヒメタニシが存在しない場合の SS の自然沈降による削減率は 24 (hr) 後では 31 %で、これに対しヒメタニシが 2 (個体/L) 存在する場合は SS の削減率は 68 %と計算された。

#### 2.4.2 水路

0.5 (m), 長さ 1 (m), 水深 0.2 (m) の水路を想定して計算した。平均滞留時間は 0.5 (day) とし, 水中の懸濁物質は珪藻綱, SS は 40 (mg/L) とした。貝類はヒメタニシが水路内に 0 ~ 2 (個体/m<sup>2</sup>) 存在し, 懸濁粒子の沈降速度は実験結果をもとに, 貝類が存在しない場合 13 (cm/day) 及び貝類が 2 (個体/m<sup>2</sup>) 存在する場合 49 (cm/day) であると仮定した。式 (2) による計算結果を図 5 (b) に示す。

SS の削減率は, 貝類が存在しない場合は 24 % であるのに対し, 貝類が 2 (個体/L) のときは 55 % であった。

#### 2.4.3 水田

幅 10 (m), 長さ 10 (m), 湛水深 20 (cm) の水田を想定して計算した。平均滞留時間は 0.2 ~ 2 (day) とし, 貝類はヒメタニシ, 水中の懸濁物質は珪藻綱, SS は 40 (mg/L), 貝類が存在しない場合の沈降速度は 13 (cm/day) とした。貝類の生息密度については, 笹ヶ瀬川河口域で 53 ~ 121 (個体/m<sup>2</sup>) が報告されており, ここでは同程度の 100 (個体/m<sup>2</sup>) に相当する, 0.5 (個体/L) とした。式 (2) による計算結果を図 5 (c) に示す。

SS の削減率は, 平均滞留時間が 1 (day) の場合は 52 %, 2 (day) の場合は 68 % と計算された。上記の計算結果から, 単位体積における 1 日あたりの SS 削減率を 50 % とし, これを見島湖への 1 日あたりの流入水量 (224 万 t と仮定) と比較すると, 流入水の SS を 50 % 削減するのに要する水田の面積は 11.2 (h) と計算されるが, これは見島湖流域の水田面積 120h の約 9 % に相当する。

#### 2.4.4 ため池

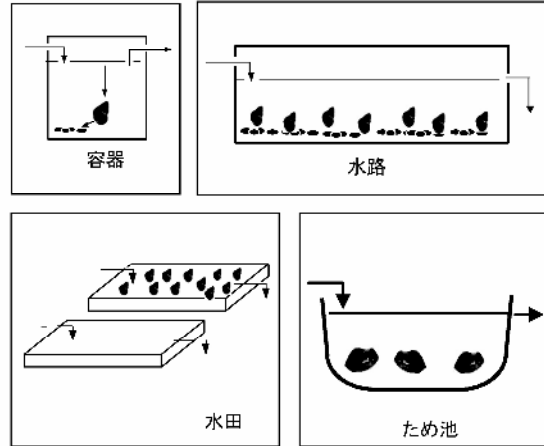
幅 20 (m), 長さ 20 (m), 高さ 50 (cm) のため池を想定して計算した。平均滞留時間は 1 ~ 15 (day) とし, 水中の懸濁物質は藍藻綱, 見かけ上の増殖速度は 0.1 (1/day) と仮定, 流入水の SS は 40 (mg/L), 沈降速度は 3 (cm/day), 貝類はカラスガイがため池内に 0 ~ 100 (個体/m<sup>2</sup>) 存在すると仮定した。式 (4) による計算結果を図 5 (d) に示す。平均滞留時間 15 (day) を仮定した場合, 貝類が存在しない場合は, SS は全く削減されず, これに対し 20 (個体/m<sup>2</sup>) 存在する場合には 37 % と計算された。

### 3 まとめ

- 1) 3 種類 (マツカサガイ, カラスガイ, ヒメタニシ) の貝類を入れ SS および COD の変化を測定した。いずれも 5 日後には, SS は 20 ~ 30 %, COD は 40 % 程度にまで減少していた。
- 2) 貝類を入れた容器では, SS の沈降速度が 3 ~ 6 (cm/day) 増加していた。これは容器底の貝類が水中の SS を吸入することによると考えられた。
- 3) 貝類を入れて数日の時間が経過した検水では, SS の沈降速度が 100 ~ 150 (cm/day) と大きかった。これは懸濁物質が擬糞状になることにより, 粒子径が大きくなり, 沈降速度が増加したと考えられた。
- 4) シミュレーション計算結果は次のとおりであった。
  - ・ 容器 (容積 2L, 水深 20cm) では, 平均滞留時間 1 (day), ヒメタニシ 2 (個体/L) のとき, 24 (hr) 後の SS 削減率は約 70 %。
  - ・ 水路 (長さ 1m, 水深 20cm) では, 平均滞留時間 0.5 (day), ヒメタニシ 2 (個体/L) のとき, SS の削減率は約 50 %。

- ・水田（湛水深 20 cm）では，平均滞留時間 1（day），ヒメタニシ 100（個体/m<sup>2</sup>）のとき，SS の削減率は約 50 %。
- ・ため池（水深：0.5m）では，平均滞留時間 15（day），カラスガイ 20（個体/m<sup>2</sup>）のとき，SS の削減率は約 40 %と見積もられた。

	高さ m	面積 m <sup>2</sup>	τ day	貝 種類 個/L
容器	0.2	0.01	1	ヒメタニシ 0-2
水路	0.2	0.5	0.5	ヒメタニシ 0-2
水田	0.2	100	0.2-2	ヒメタニシ 0.5
ため池	0.5	400	1-15	カラスガイ 0-0.2



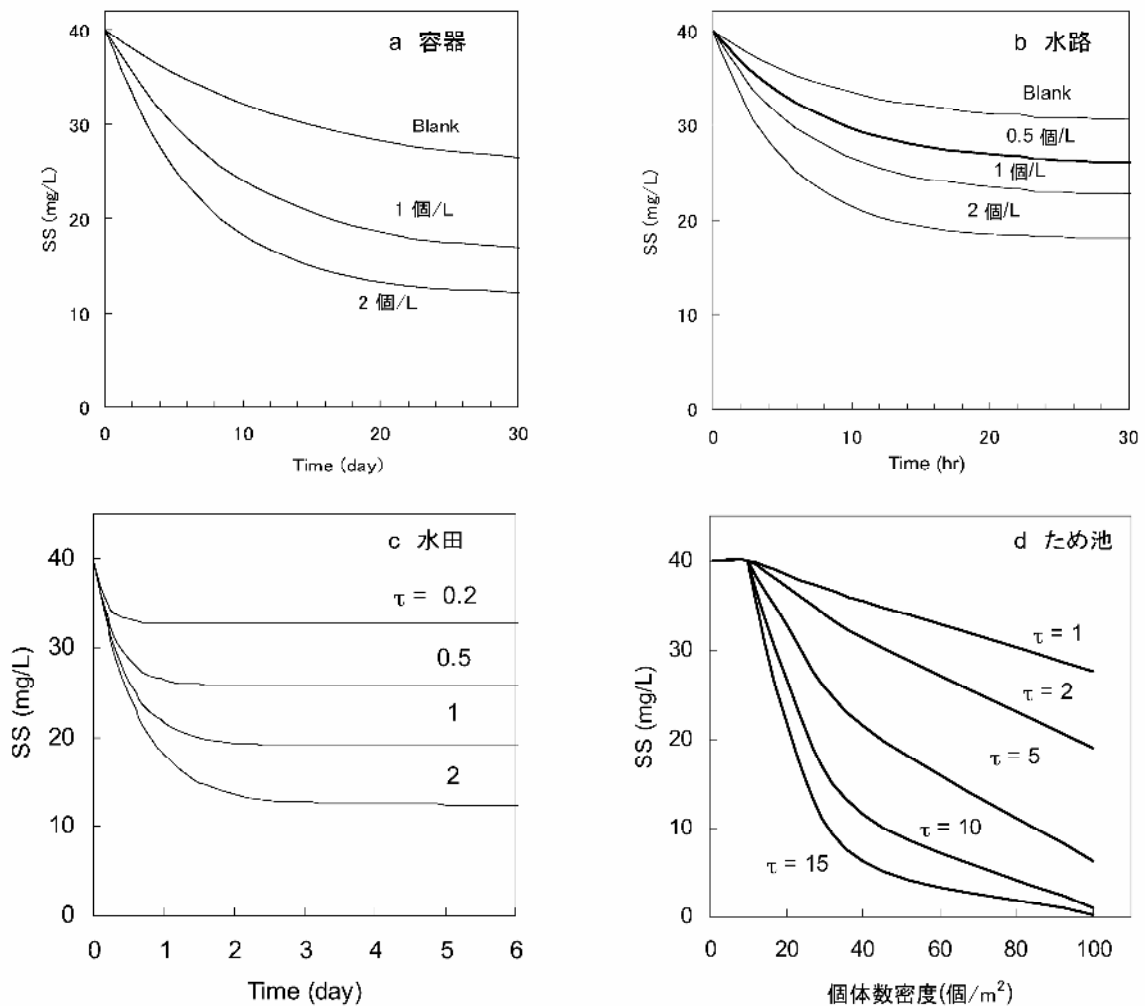
※平均滞留時間  $\tau$  (day) と懸濁物質濃度  $C$  (mg/L) の関係

$C$  は  $\tau$  の関数として以下のようにあらわされる。

$$C = a \cdot e^{-\frac{(\pi \cdot C_{ss} + D) \cdot t}{H}} + b$$

において  $t \rightarrow \infty$  のとき  $C$  は  $b$  に収束するので、(2)式から、

$$C_{t \rightarrow \infty} = b = \frac{D \cdot H \cdot C_{in}}{W_b - D \cdot H} - \frac{\pi \cdot C_{ss}}{\tau \cdot W_b - H} \quad \therefore \tau = \frac{1}{D}$$



a : 容器, b : 用排水路, c : 水田, d : ため池

図4 シミュレーション計算



## 児島湖に関する調査研究

### (3) 溶存性有機物の挙動と郷内川の汚濁負荷について

鷹野 洋，藤田和男，難波 勉，坂本祐基（水質科）

#### 要 旨

指定湖沼の児島湖について、水質汚濁の一因と考えられる溶存態有機物や栄養塩の分解挙動を調べたところ、高温期には有機物は分解されたが、低温期には溶存態有機物はほとんど分解されなかった。アンモニア態窒素は高温期には硝化作用で減少したが、低温期には増加する傾向であった。リン酸態リンは年間を通して増加する傾向であった。流入河川では倉敷川支流の郷内川が上流部の生活排水と農業排水で汚濁しており、非灌漑期には倉敷川の汚濁負荷量の 30%～50%を占め、郷内川の浄化対策が必要であった。郷内地区は下水道工事が行われており、今後生活系負荷は減少すると考えられた。

#### 1 はじめに

指定湖沼に指定されている児島湖は、湖沼水質保全計画の策定や実施、下水道整備や湖底の浚渫など、岡山県、流域市町及び国による水質改善対策の進展により、平成 21 年度は昭和 60 年度の指定以来初めて窒素の環境基準 1 mg /L を達成した。しかし、COD とリンについては改善傾向にはあるものの、未だ環境基準の達成には至っていない。

ところで、全国の湖沼の中には水質改善が緩やかになったり、悪化の傾向に転じているところもあり、これらの水質改善を阻んでいる要因として、生物学的に難分解性の溶存態有機物（DOM）の蓄積・増加が考えられている。児島湖では有機物の半分以上を DOM が占めていることから、DOM の挙動を知ることは今後の浄化対策を考える過程において重要である。

今回、児島湖水の分解実験を行い、DOM 等の分解特性を調べたので報告する。また、倉敷川支流の郷内川は生活系と農地系の負荷量が極めて大きく、郷内川から児島湖へ流入する DOM や栄養塩の割合も大きかったので、汚濁負荷の特徴と削減の方法について検討した。

#### 2 結果及び考察

##### 2.1 平成 22 年度の児島湖

平成 22 年（2010 年）度は気象庁から異常気象情報が出されるほど全国的に夏期は高温であった。児島湖流域も例外ではなく岡山気象台の平均気温は 30.5℃と平年値よりも 2.6℃も高くなり、降水量も 7 月下旬から 8 月中旬の 1 ヶ月間は 11 mm の降雨しかなく、平年値の 90.5 mm に比べて少なかった。そのような異常高温の影響と思われるが、7 月から 9 月にかけて児島湖で 13 年ぶりに藍藻の Anabena sp. と Microcystis aeruginosa のアオコが発生した。また、平成 23 年（2011 年）1 月は渇水の影響で児島湖の滞留日数が長くなり、珪藻の Cyclotella sp. が大増殖したことが、Chl-a の平均値が前年よりも高くなった要因と考えられる（図 1）。

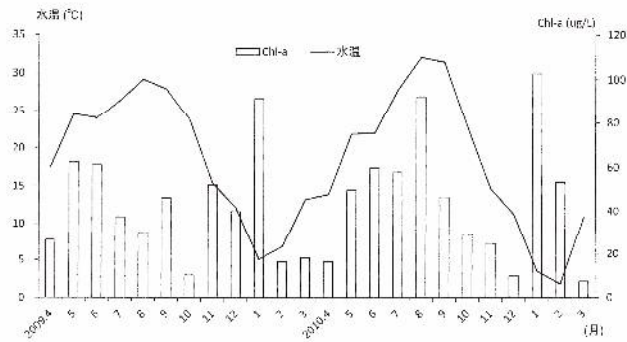


図 1 湖心における水温と Chl\_a の変動

## 2.2 有機物の分解特性

図 2 に全 COD(T-COD)と溶存態 COD(D-COD)の分解実験の結果を示した。T-COD は未ろ過の試料をそのまま密封し，D-COD は whatman GF/C でろ過したろ液を密封したものを採水時の水温に設定した恒温器内で培養したものであり，数字は 0 日目から 24 日後の値を差し引いており，グラフは 24 日間の分解試験期間における有機物の減少量を表している。

T-COD は 2009 年 6 月には分解前に 8.1 mg/L であったものが分解後は 5.0 mg/L となり，分解率が 38% になるなど春期から夏期にかけて高い分解率を示したが，秋期から冬期には分解率が悪くなり，2010 年 12 月には分解前に 4.3 mg/L であったものが分解後は 3.9 mg/L となり，分解率は 9.3% に低下した。T-COD は年間をとおしては 10% ～ 40% 程度分解されたが，季節変動が激しいことと，低温期に分解されにくい傾向が見られた。

2010 年 4 月からはろ液の分解試験も行った。2010 年 7 月には分解前の D-COD 5.4 mg/L が分解後に 4.4 mg/L と分解率が 18% になり，春期から夏期にかけては 10% ～ 20% の分解率を示したものの，秋期から冬期の低温期には分解率が 0% ～ 2.5% と殆ど分解されなかった。

したがって，D-COD は高温期には 80 ～ 90%，低温期には 95% 以上は難分解性有機物 (DOM) で占められていると考えられた。

図 3 に T-COD と D-COD の変動を示したが，浄化作用を受けにくい D-COD=DOM が年間平均で 4.7 mg/L，T-COD に対する割合では約 70% も存在しており，COD がなかなか減少しない一因と考えられた。

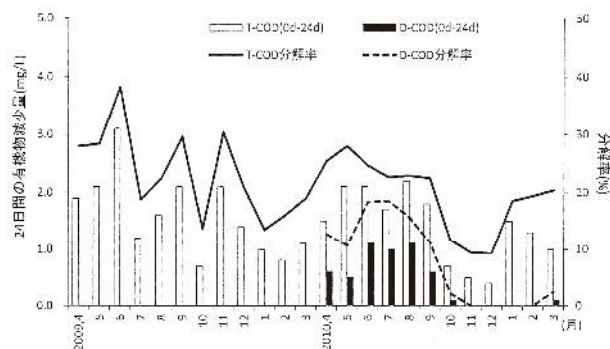


図 2 湖心における T-COD と D-COD の分解

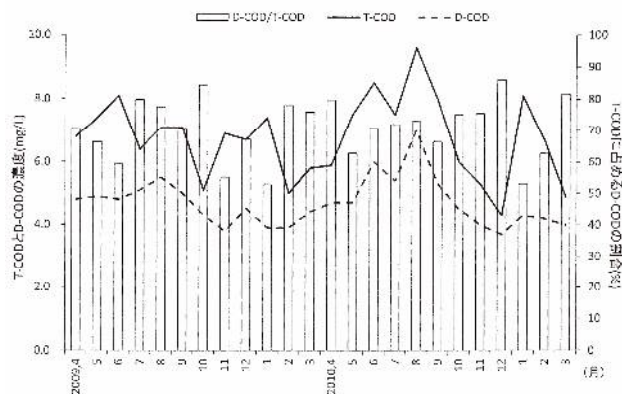


図 3 湖心における T-COD と D-COD の変動

### 2.3 栄養塩の分解特性

栄養塩の分解に伴う挙動を調べ、図 4 に NH<sub>4</sub>-N と PO<sub>4</sub>-P の増減を示した。COD の場合とは異なり、培養後に増加した場合を y 軸の正方向にプロットしている。

平成 21 年度の NH<sub>4</sub>-N は増減の変動は小さかったが、高温期に減少し、低温期に増加する傾向が見られた。平成 22 年度は 8 月にアオコが発生と 1 月は珪藻の増殖が観測された。NH<sub>4</sub>-N は 8 月には培養前に 0.031 mg/L であったものが培養後に 0.557 mg/L に、1 月には 0.010 mg/L であったものが 0.302 mg/L にそれぞれ増加した。これとは対照的に懸濁性有機物の指標である強熱減量 (IL) は 8 月には 9.3 mg/L が 2.4 mg/L に、1 月には 9.6 mg/L が 5.6 mg/L それぞれ減少しており、試料中に含まれていた藻体が分解したことにより分解産物として NH<sub>4</sub>-N が増加したと考えられる。反対に、平成 22 年 11 月には分解前に 0.224 mg/L であった NH<sub>4</sub>-N が分解後は 0.010 mg/L に減少している。これは分解前の TOC が 3.0 mg/L と児島湖の平均値 4.7 mg/L の 2/3 程度と有機物が少なく、有機物の分解による NH<sub>4</sub>-N の供給が減少して、水中の酸素によって NO<sub>2</sub>-N や NO<sub>3</sub>-N に酸化されたと考えられる。

平成 22 年 8 月をアオコによる特異なデータとして考えると、NH<sub>4</sub>-N は高温期には NO<sub>2</sub>-N や NO<sub>3</sub>-N に酸化されて減少するが、低温期には増加する傾向にあると考えられる。一方、PO<sub>4</sub>-P は一部の例外はあるものの全体的に増加の方向であった。PO<sub>4</sub>-P は NH<sub>4</sub>-N が NO<sub>2</sub>-N や NO<sub>3</sub>-N になるような形態変化が殆どなく、有機物の分解に伴って供給された PO<sub>4</sub>-P は溶存態のまま存在するか、懸濁物として沈殿すると考えられる。

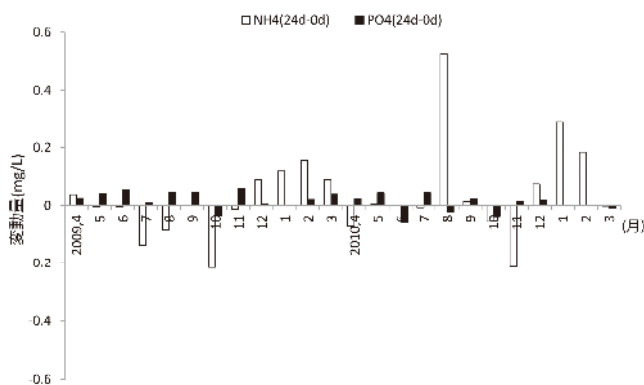


図 4 分解実験における NH<sub>4</sub>-N と P<sub>04</sub>-P の変動

## 2.4 郷内川の変動

### 2.4.1 藤戸橋

児島湖の主要な流入河川である倉敷川の調査を行ったところ、倉敷川の中流で合流している郷内川の窒素、リン濃度が非常に高濃度であることが判明し（図 5）、倉敷川への負荷も大きいことが推測されたため、郷内川を対象として栄養塩等の調査を行った。

郷内川は倉敷川流域で唯一の自然河川であり、上流部は自然豊かな丘陵地帯であるが、中流域より下流は水田が多く、住宅開発も盛んに行われている。測定点として郷内川の郷内上橋、藤戸橋及び福江川とし、合流地点直下の倉敷川稔橋を比較対象とした。

図 6 (a) に藤戸橋の COD と BOD、図 6 (b) に稔橋の濃度変動を示したが、藤戸橋の COD は平均で 7.8 mg/L と稔橋の平均 COD 5.6 mg/L の約 1.5 倍と明らかに高く、夏期のみならず冬期にも濃度が上昇する傾向があった。図 7 (a) に藤戸橋、図 7 (b) に稔橋の全窒素と全リンを示したが、これらも藤戸橋は稔橋の約 1.5 倍程度であり、上流部からの汚濁負荷が大きいことがうかがえた。また、藤戸橋の特徴として夏期にリンが、冬期には窒素、リンの濃度が上昇していることであり、2 種類の汚濁源が存在すると考えられた。

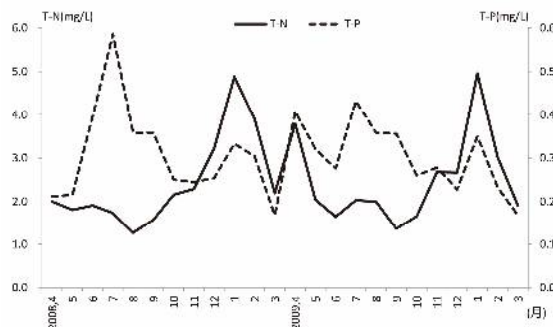


図 5 藤戸橋における窒素とリンの濃度変動

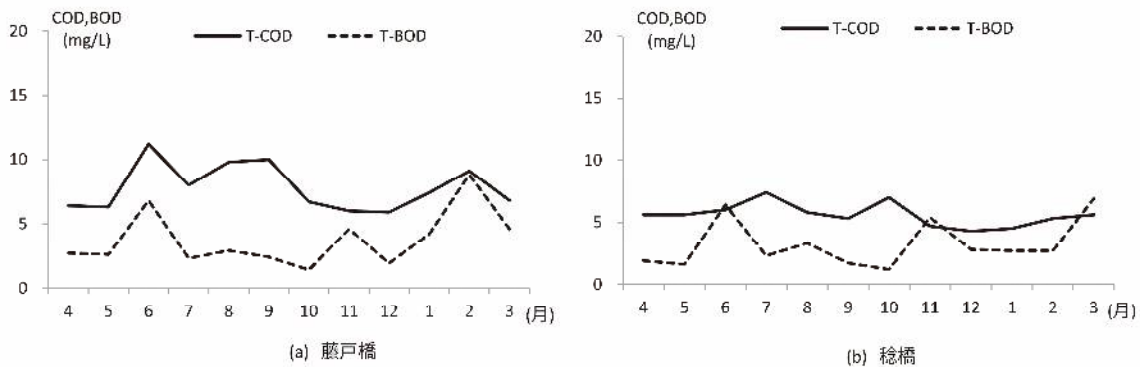


図 6 藤戸橋と稔橋における COD と BOD の変動

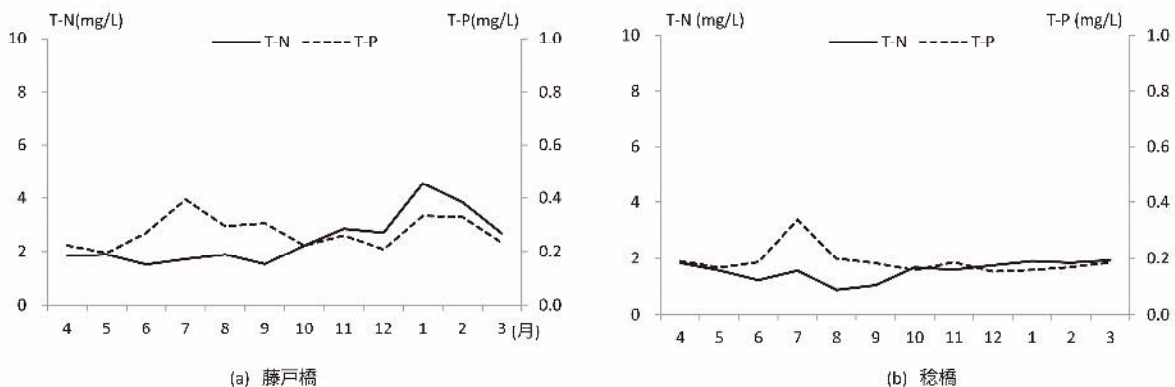


図 7 藤戸橋と稔橋における T-N と T-P の変動

### 2.4.2 郷内上橋

藤戸橋の上流部である郷内上橋の結果を図8(a)にCODとBOD, 図8(b)に窒素とリンの変動を示した。郷内上橋は8月にリンが0.619 mg/Lと高濃度を示し、藤戸橋で夏期に見られるリンの高濃度はさらに上流部の影響があると考えられた。郷内上橋の上流部には住宅団地が2ヶ所あり、河川沿いは住宅が密集するとともに、水田と山林の占める割合も大きくなっている。図9(a)に郷内上橋での水量を示したが、夏期の8月は $2.6 \times 10^3$  t/dと農業用水の増加にともない郷内川の水量は増加するが、冬期の2月は $0.5 \times 10^3$  t/dと極端に減少し、約5倍の水量差が生じている。しかし、8月のリン濃度は0.62 mg/Lと2月の0.53 mg/Lに比べて高い濃度を示した。

ところで、郷内上橋の上流部では岡山県により水田の原単位調査が行われているが、計測されたリンの原単位は4.88 kg/年/haであり、これまで全国で調査された原単位の中でも大きい値を示している。したがって、この流域の土壌はリンの保持性が悪く、水系へ漏れやすい性質と考えられ、郷内上橋の夏期に見られるリンの高濃度は水田からの負荷と考えられた。

一方、冬期には窒素とリンが共に高い濃度となったが、周辺の水田は一期作で冬期は耕作されていないことから、別の要因が考えられた。郷内川上橋での水量を図9(a)に示したが、冬期は水量が減少して汚濁源からの負荷が河川で希釈されていないこと、窒素とリンがほぼ同じような濃度変化を示していることから、定常的に河川に流入する生活系排水が汚濁源と考えられた。

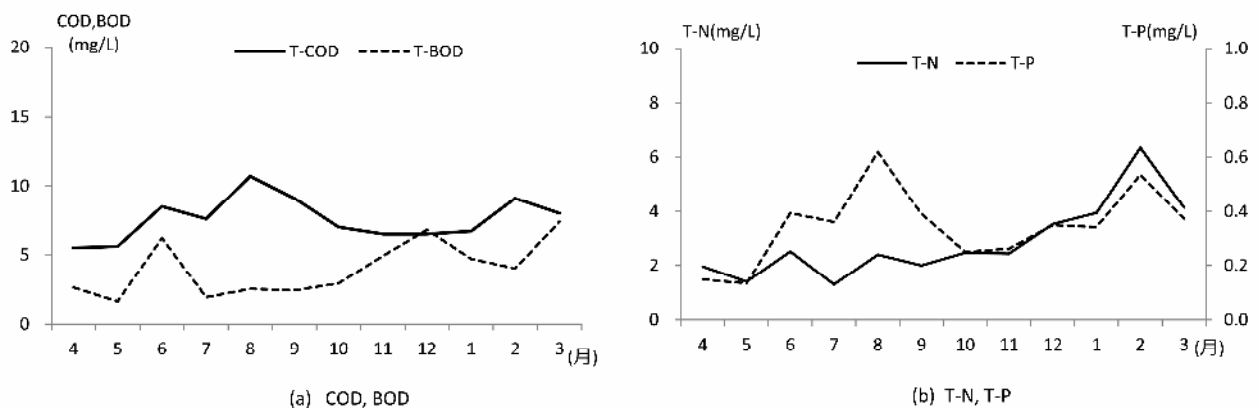


図8 郷内上橋における汚濁物質の変動

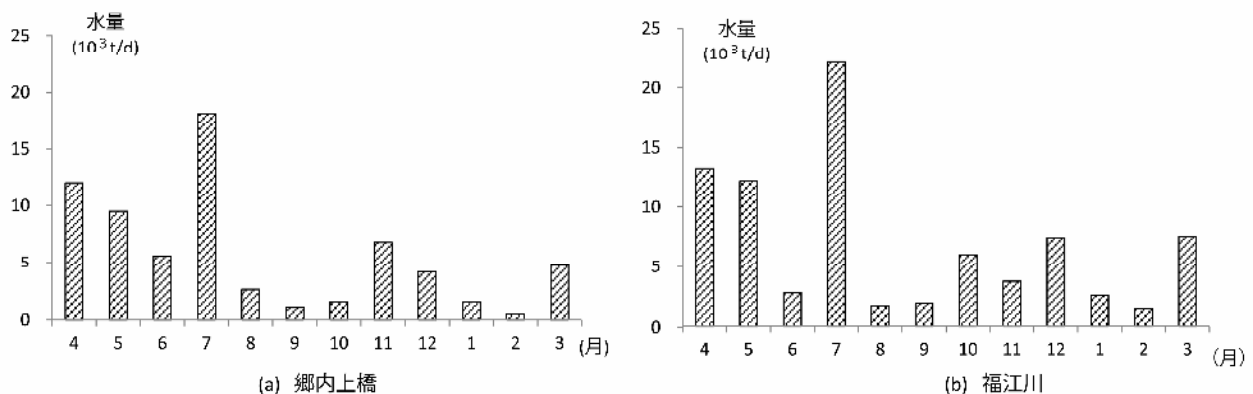


図9 郷内上橋と福江川の水量変化

### 2.4.3 福江川

郷内上橋では福江川が郷内川へ合流しており、郷内川に与える影響は大きいと思われた。図 10 (a) に COD と BOD を示したが、夏期以外は BOD/COD 比が高く、冬期には COD よりも BOD が高くなる場合が見られ、未分解の有機物が多いことが推測された。図 10 (b) には窒素とリンの濃度変化を示したが、窒素は秋期から冬期に非常に高くなり、特に窒素が 8.6 mg/L と高くなっていた。これは藤戸橋の冬期に見られた窒素の濃度ピークと良く合致していた。リンはほぼ 1 年をとおして高濃度のままであったが、冬期に向かって高くなり、1 月は 0.67 mg/L と最大となっていた。図 10 (b) に示すように、福江川も灌漑期（6 月～9 月）は農業用水の増加によって汚濁物は希釈されるが、非灌漑期（10 月～5 月）になると農業用水がなくなり、生活排水が主要な水源になるとともに主要な汚濁源になっていると考えられる。

藤戸橋の濃度変化は夏期は郷内川上流の水田排水、秋期から冬期は生活排水が影響していることが明らかとなった。

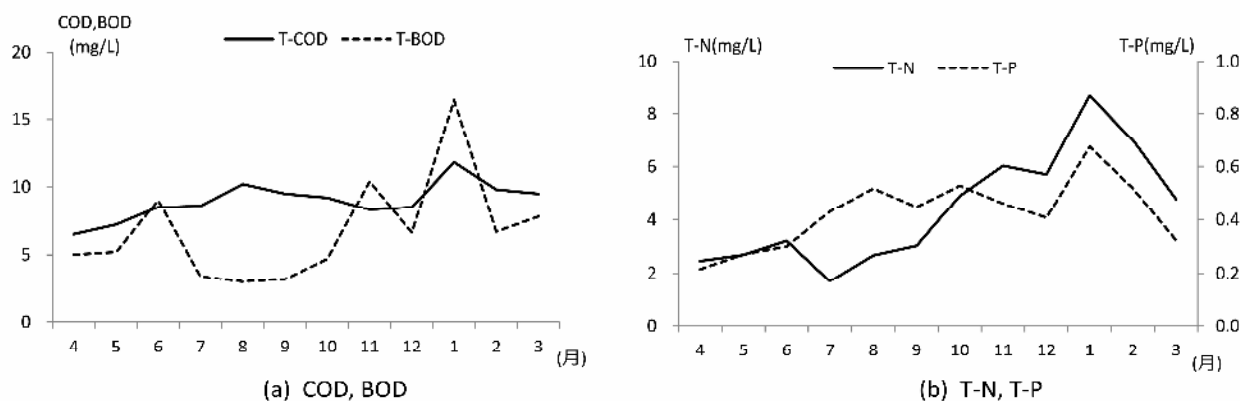


図 10 福江川における汚濁物質の変化

### 2.4.4 郷内川の汚濁負荷量

これまで郷内川の水質について検討したが、採水と同時に水量を測定しており、濃度と水量から負荷量を算出し、図 11 (a) から (d) に各採水地点での窒素とリンの負荷量の変動を示した。郷内上橋と福江川の負荷量の合計は藤戸橋の負荷量とほぼ同量であり、上流での負荷が下流の汚濁を左右していることが明らかとなった。また、稔橋に対する郷内川の負荷割合を図 12 に示したが、灌漑期（6 月～9 月）は 1%～4% 程度であるものの、非灌漑期（10 月～5 月）は 10%～20%、春期は 20%～50% にも達し、非灌漑期に児島湖へ倉敷川から流入する負荷の主要な部分を郷内川が占めていることが明らかとなった。

郷内川は冬期に窒素、リンの濃度や負荷量が増加することから、要因として生活系排水の負荷が考えられた。そこで、土地利用形態が割合に単純で、河川からの負荷量が大い福江川について、統計資料と原単位から窒素の発生負荷量を算出し、河川流量で割って濃度換算したものを図 13 に示した。年間の濃度レベルと変動パターンが観測結果とほぼ一致しており、福江川は主に生活系負荷、ついで農地系負荷によって汚濁し、郷内川へ流入していることが明らかとなった。

平成 21 年度現在の郷内地区の下水道整備率は約 12% と低くなっているが、下水道工事は盛んに行われており、下水道整備が完了すれば福江川や郷内川からの生活系負荷は大きく減少し、郷内川の負荷も大部分が削減されると思われる。

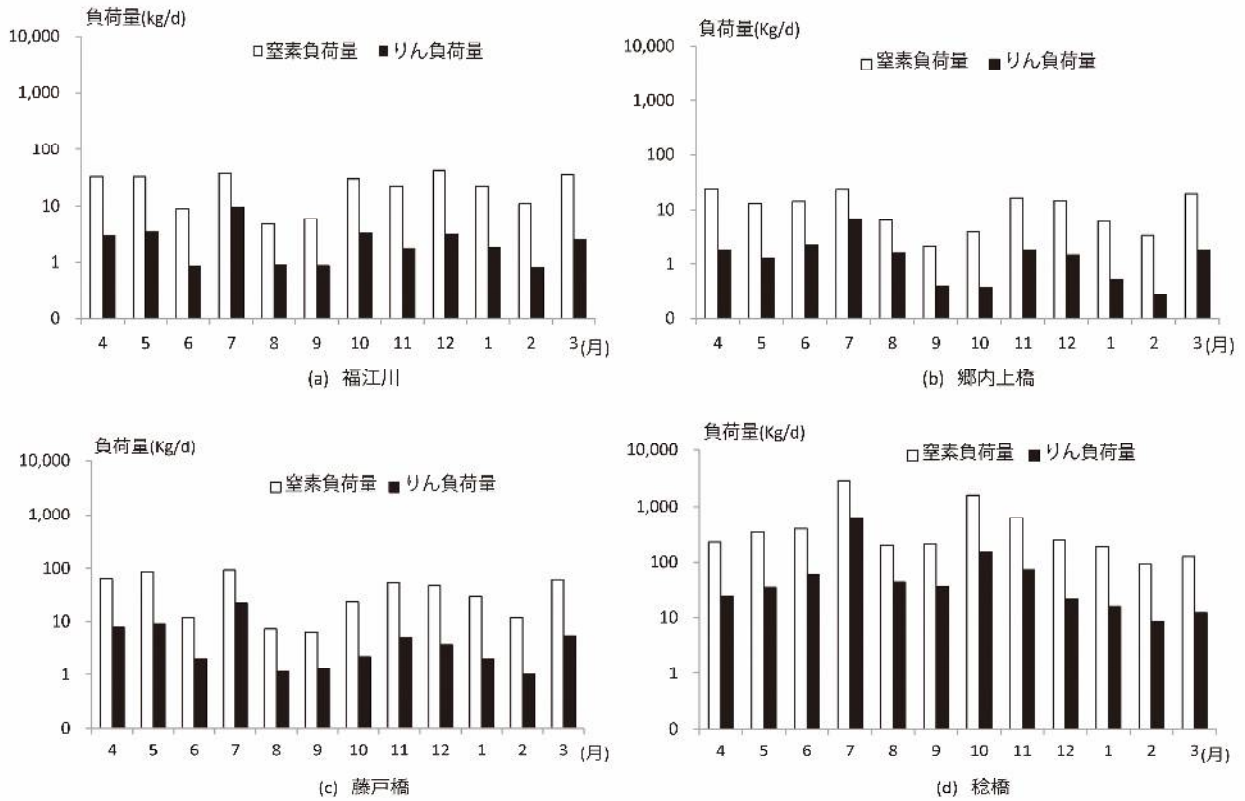


図 11 郷内川における汚濁負荷量の変動

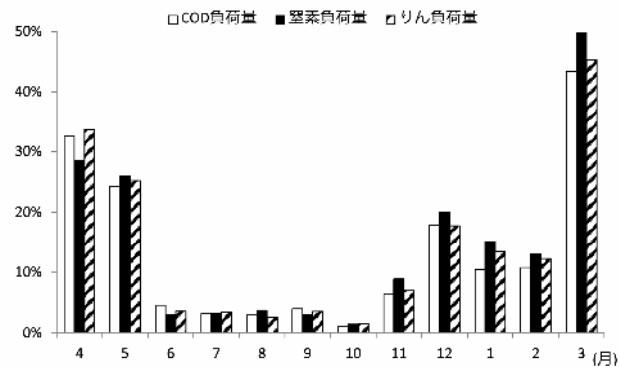


図 12 稔橋に対する藤戸橋の負荷割合の変動

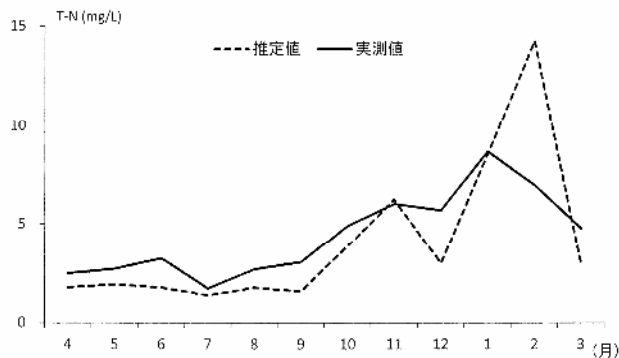


図 13 福江川における窒素の実測値と原単位による推定値

### 3 まとめ

児島湖の水質と流入河川の状況を調査し、以下のような結果を得た。

平成 22 年度の児島湖は夏期のアオコ発生と冬期の珪藻増殖で水質は悪化した。T-COD は年間をとおして 10%～30%程度分解したが、D-COD は高温期でも 10%～20%程度の分解率であった。NH<sub>4</sub>-N は高温期に減少し、低温期に増加する傾向を示し、PO<sub>4</sub>-P は年間をとおして増加する傾向であった。

郷内川の上流での濃度及び負荷量は下流の変動とほぼ一致した。原単位や水量から計算すると、灌漑期（6 月～9 月）は水田排水、非灌漑期（10 月～5 月）は生活排水が郷内川の主な汚濁源と考えられた。郷内川からの負荷量は、非灌漑期には倉敷川の負荷量の 30%～50%に達し、児島湖の主要な負荷源と考えられた。

郷内地区の下水道整備が完了すれば生活系負荷は大きく減少し、児島湖への負荷量の大幅な削減が期待される。



## 児島湖流域の水質シミュレーション計算

藤田和男, 難波 勉, 難波あゆみ, 鷹野 洋, 板谷 勉 (水質科)

### 要 旨

児島湖流域を 8 ブロックに分け, COD と窒素・リンについて, 最近の 5 年間 (2007 ~ 2011 年度) の測定結果から, シミュレーション計算を行った。笹ヶ瀬川および倉敷川流域の水質はいずれも正弦曲線で近似された。湖心のシミュレーション計算結果の平均値は 7.5 mg/L で報告値 (公共用水域) の平均値 7.3 mg/L と近い値であった。

### 1 はじめに

児島湖の水質保全や水質改善効果の検証のため, これまで児島湖の計算モデルを作成し, 現況再現のためのシミュレーション計算及び結果の検討等を行ってきたが,

こうした数値シミュレーションを用いることにより, 例えば流入水の水質を構成している各因子の寄与率が算定できれば, ある因子に対する浄化施策と水質改善効果について推算でき, 現状の評価及び将来の予測が可能となる。

今回は, 児島湖流域を 8 ブロックに分け各ブロックから汚濁負荷が流入するモデルを作り計算した。その結果, 児島湖の水質や季節変化をシミュレーション計算に組み込むことができたので報告する。

### 2 結果および考察

#### 2.1 流入水の水質

基礎となるデータについて当センターの測定結果および公共用水域調査結果およびを用い, 正弦曲線により近似させた。図 1~3 に COD, T-N および T-P を示す。

笹ヶ瀬川の 4 地点および倉敷川の 2 地点の COD, T-P はいずれも夏期に高く冬期に低い値であり, T-N は逆に夏期に低く冬期に高い値であった。

次に水質, 流量および汚濁負荷量の関係から各ブロックの流量および汚濁負荷量を計算し設定した。各地点での流量の設定値を図 8 に示す。また各ブロックからの汚濁負荷 (COD, T-P および T-N) 流入量を水質 (図 1~3) と流量 (図 4) を掛けて計算し, 既報に従い 6 つの発生源 (生活系, 産業系, 畜産・農地系, 都市系及び自然系) に分けて示した (図 5~7)。負荷量の年間の変動パターンを設定するにあたって農地系及び自然系からの負荷量が総負荷量 (図 5~7 の推算値) の季節変化の増減に比例すると仮定して設定した。

負荷量は COD, T-P および T-N のいずれも春期から夏期に高く秋期から冬期に低い値であり要因として灌漑等の影響が考えられた。これについてここでは農地系からの負荷量の時間的な増減パターンが総負荷量の増減パターンと単純に比例すると仮定したが, 実際の季節的な変動パターンや単位面積あたりの流出量については現場での調査を含めた今後の検討が必要である。

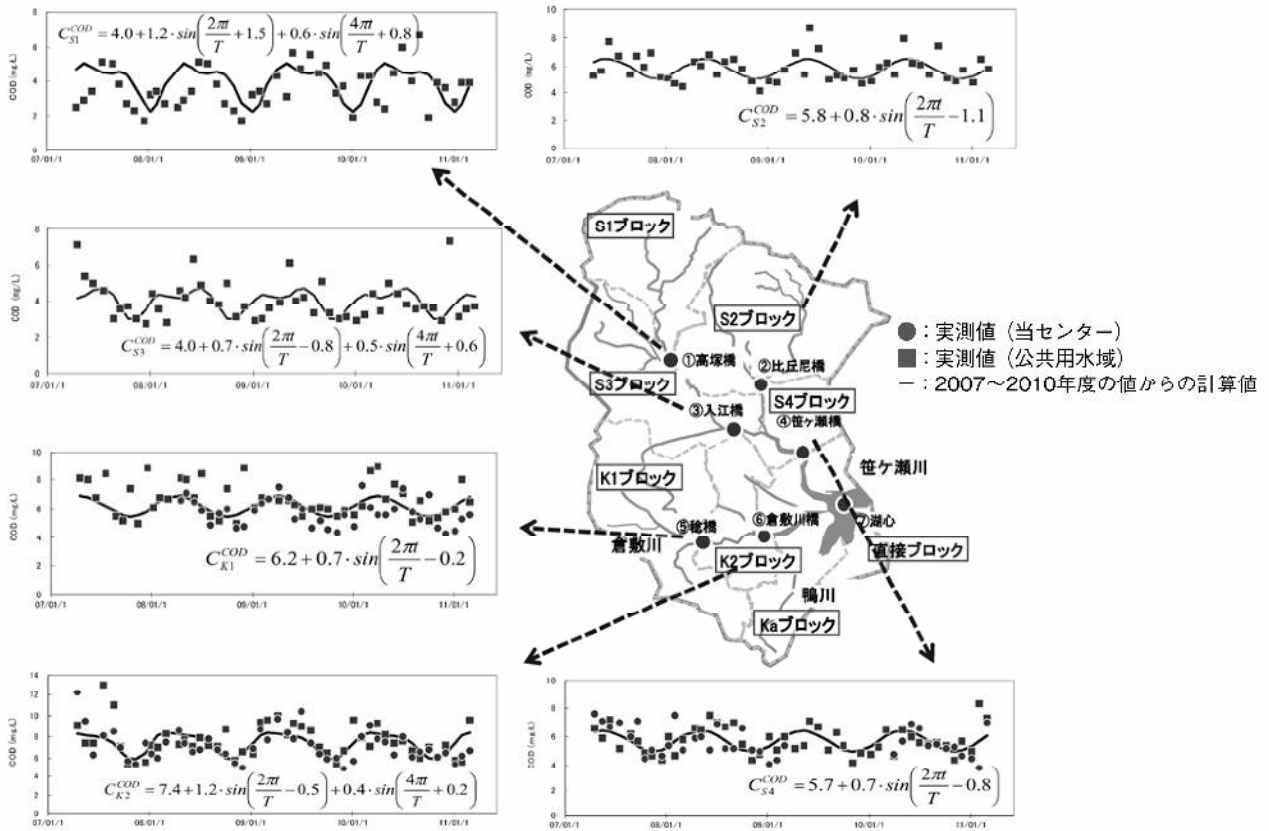


図 1 児島湖流域の COD

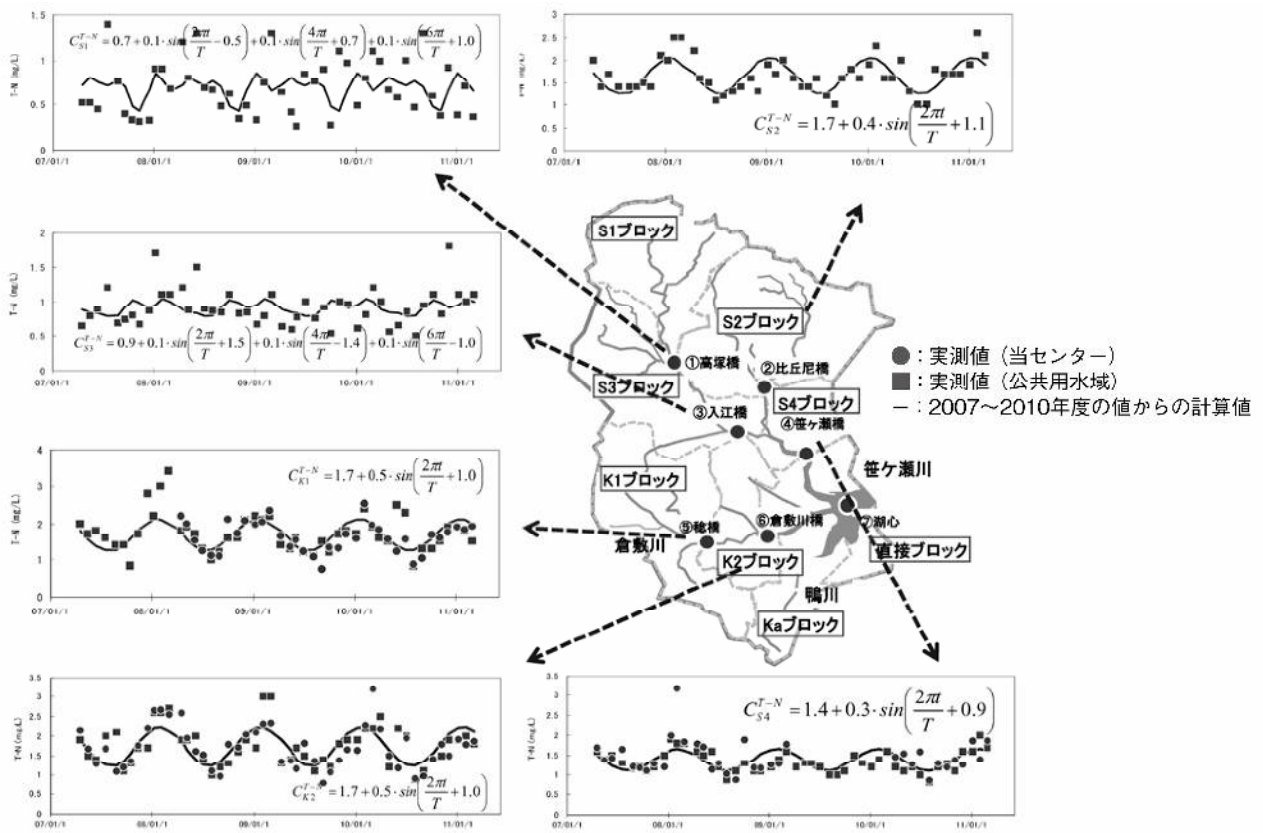


図 2 児島湖流域の T-N

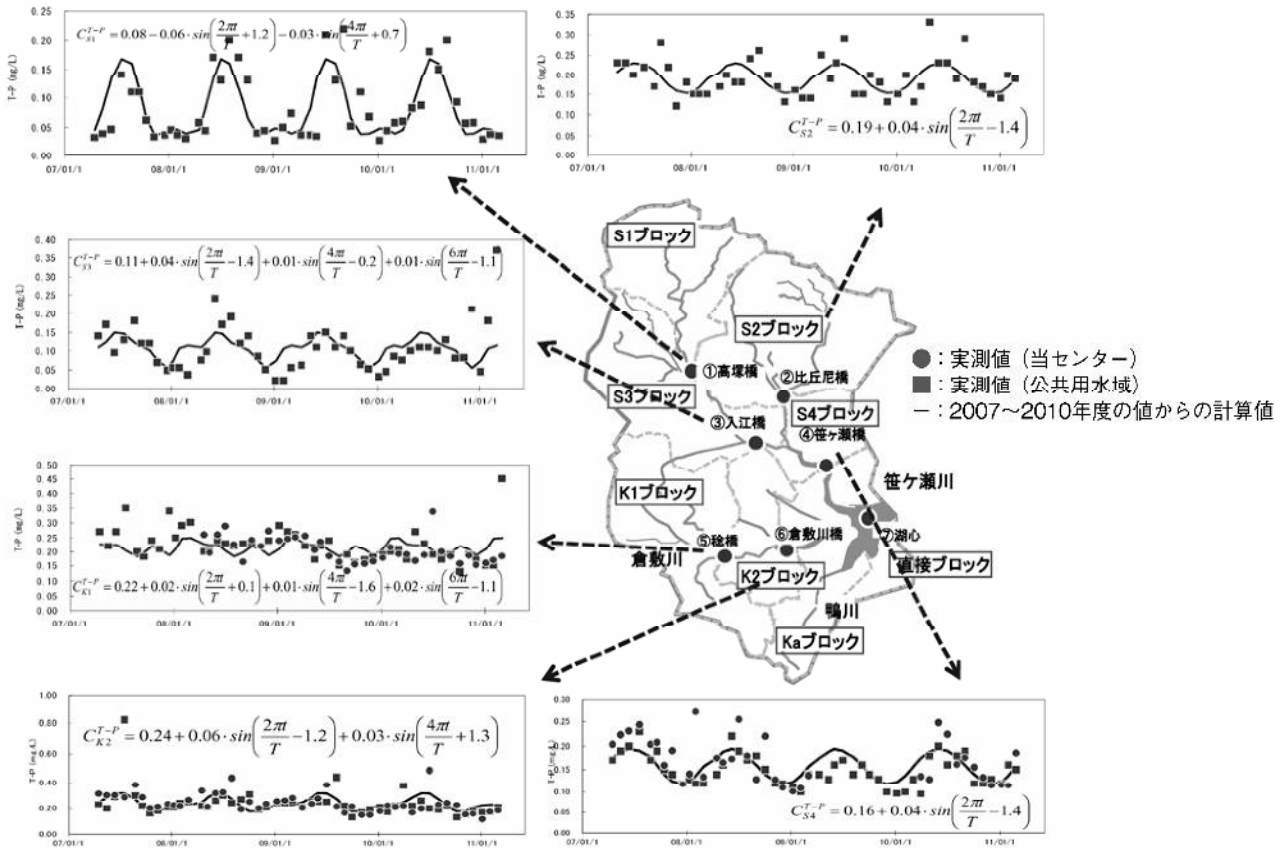


図 3 児島湖流域の T-P

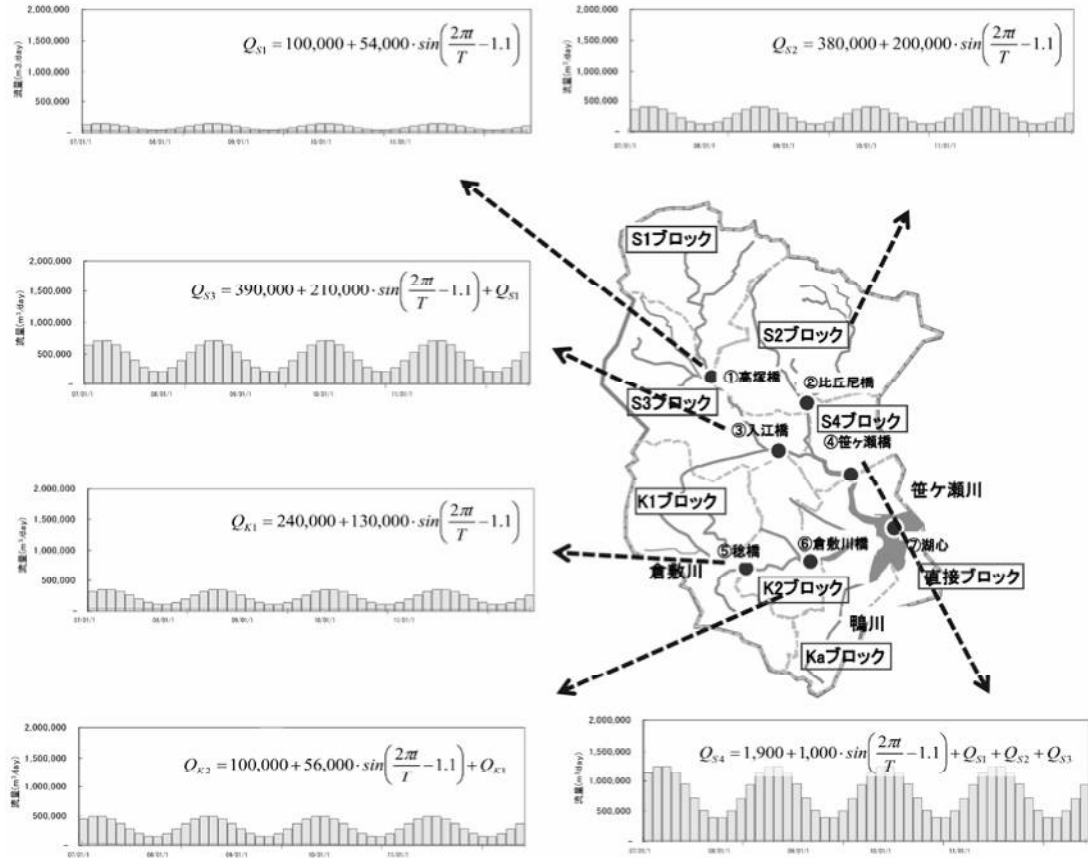


図 4 児島湖流域の河川流量（設定値）

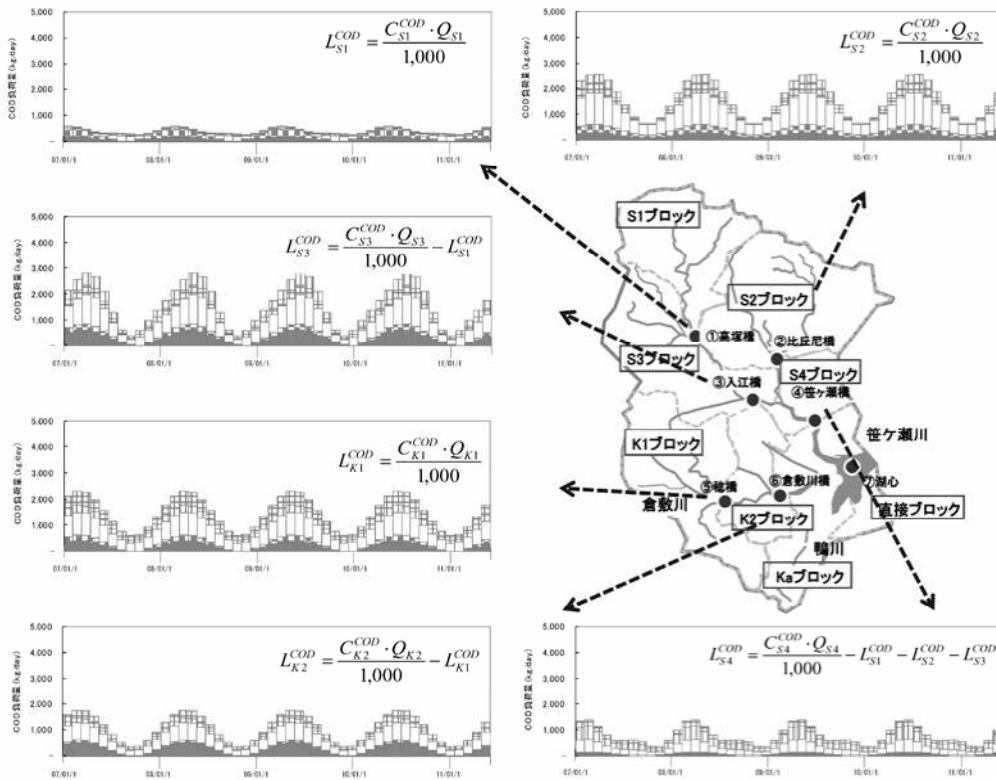


図 5 児島湖流域の COD 負荷量（設定値）

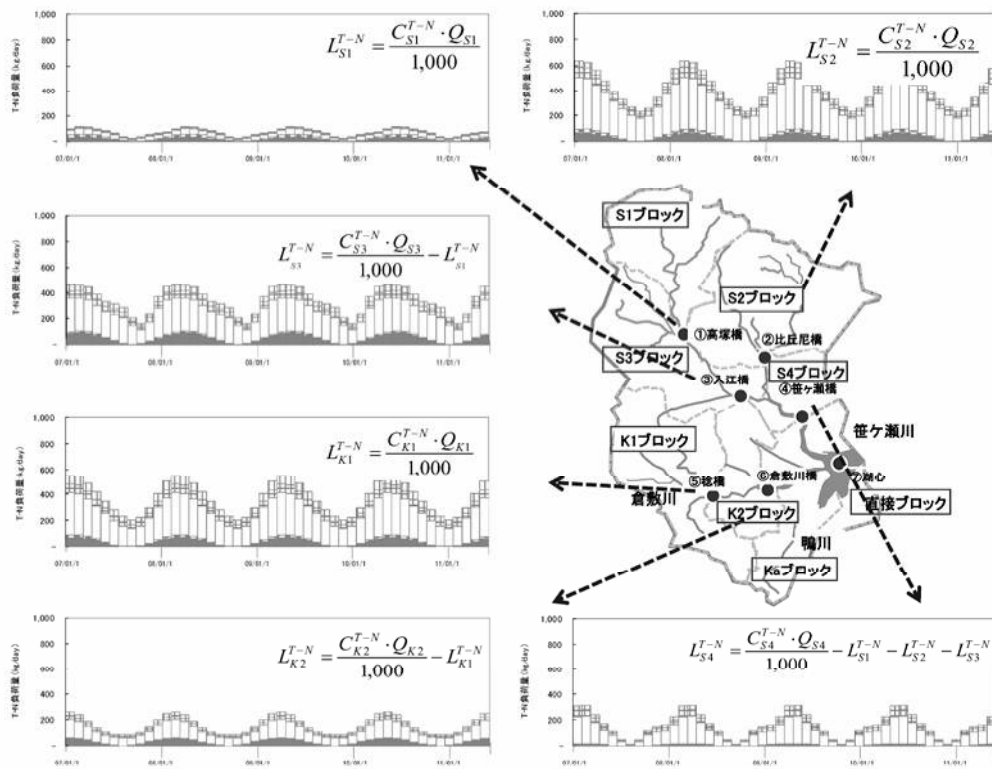


図 6 児島湖流域の T-N 負荷量（設定値）

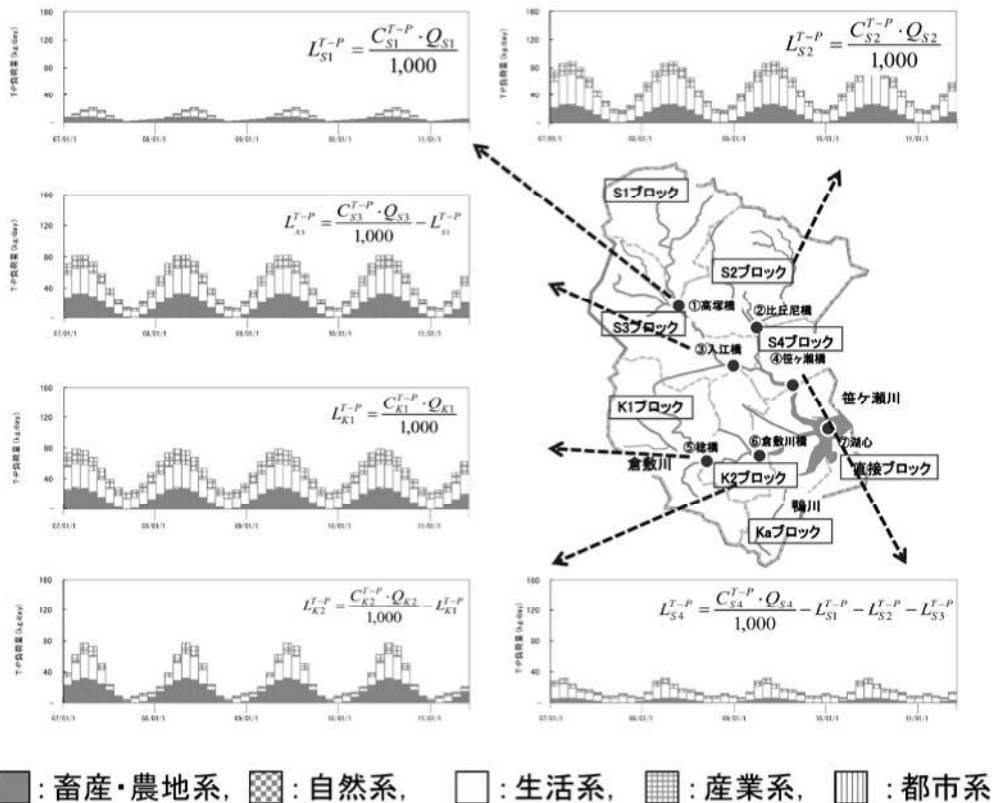


図 7 児島湖流域の T-P 負荷量（設定値）

## 2.2 湖心のシミュレーション計算

図 8 に最近 4 年間(2007 年～2010 年度)の流入水の水質に基づく湖心での水質(COD, P-COD, D-COD, T-N および T-P) のシミュレーション計算（図中の実線）および実測値を示す。

児島湖湖心の COD および P-COD の実測値は春期に高く秋期から冬期にかけて低い傾向がみられ、シミュレーション計算で再現することができた。シミュレーション計算の結果について、COD の平均値は 7.5 mg/L であり報告値（公共用水域、(2007～2010 年度)での COD の平均値 7.3 mg/L に近い値であった。P-COD の平均値（センター実測値）は 2.0 mg/L であったが、シミュレーション計算の平均値は 2.4 mg/L であった。T-N はシミュレーション計算の平均値が 1.1 mg/L で公表されている公共用水域の T-N 平均値（2007～2009 年度の 3 年間）1.2 mg/L と近い値であった。T-P はシミュレーション計算の平均値が 0.18 mg/L で公表されている公共用水域 T-P 平均値（2007～2009 年度の 3 年間）0.19 mg/L と近い値であった。

このシミュレーション計算を用い汚濁要因と将来の目標を達成するために必要な事業等の検討の一助とする。第 6 期湖沼水質保全計画では各種の汚濁負荷対策を行った場合、汚濁負荷量が平成 22 年度と比較して平成 27 年度に COD で 1,100 kg/day, T-N で 362 kg/day, T-P で 41 kg/day 削減すると見込まれている。これを仮定しシミュレーション計算すると（図 12 中の点線で示す）、COD は年平均 7.0 mg/L（6.4%減少）、T-N は年平均 1.0 mg/L（9.8%減少）、T-P は年平均 0.17 mg/L（8.1%減少）と推算された。計算結果は負荷量が単純に減少すると仮定したものであるが詳細な条件や結果の妥当性については今後さらに検討する必要がある。

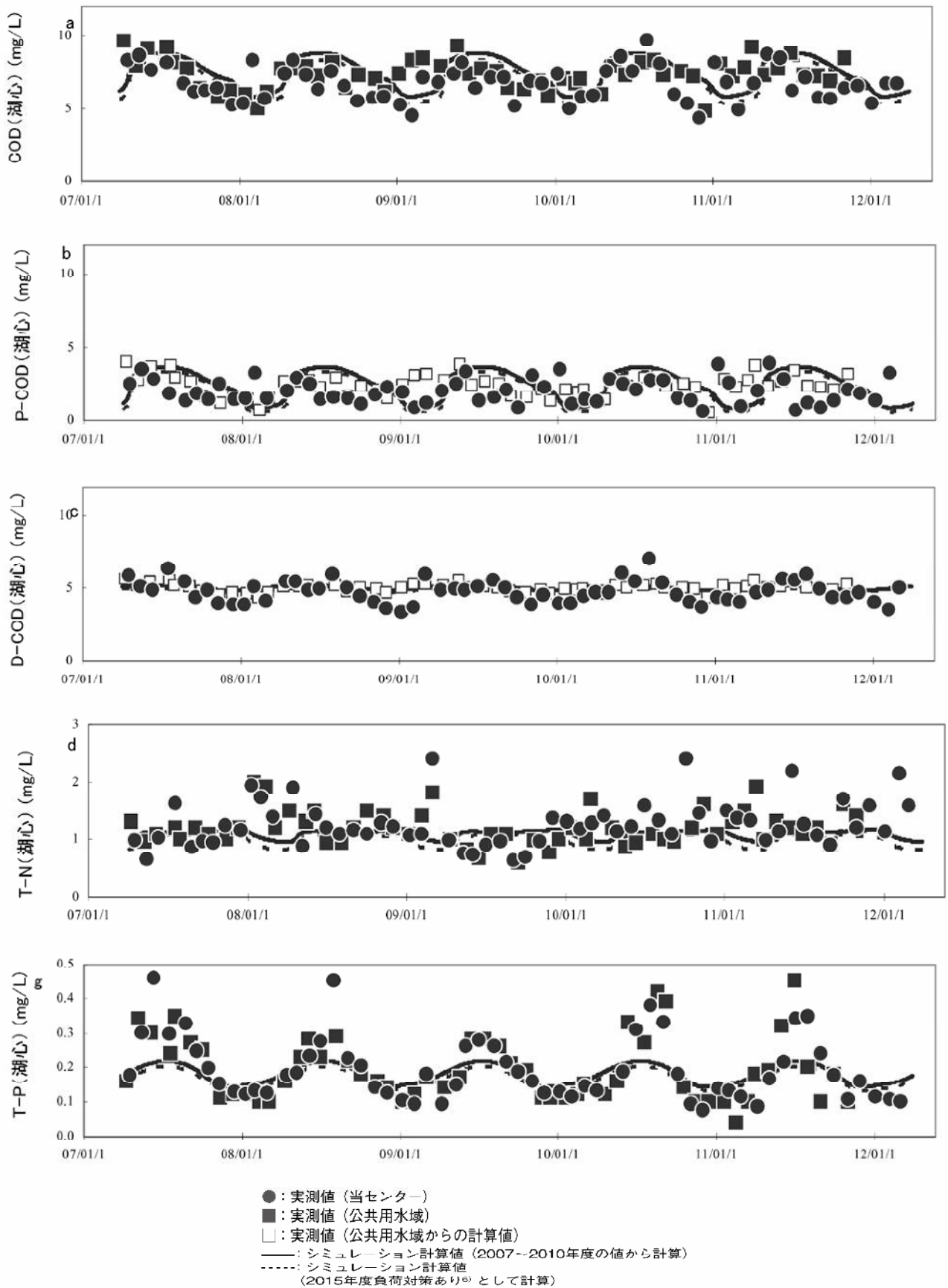


図 8 児島湖流域の COD, T-N 及び T-P の実測値及び計算値

### 3 まとめ

児島湖流域を 8 ブロックに分け、水質測定結果をモデル式に当てはめ、最近 5 年間（2007～2011 年度）のシミュレーション計算を行った結果、以下の知見が得られた。

- 1) 汚濁負荷流入量はいずれも夏期に高く冬期に低い値で灌漑の影響が大きいと考えられた。
- 2) 湖心の実測値及び計算結果は夏期に高く冬期に低い値で、COD（平均値）が 7.5 mg/L で実測値の 7.3 mg/L と近い値であった。
- 3) T-N は計算結果の平均値が 1.1 mg/L で実測値の 1.2 mg/L と同等の値であり、T-P は計算結果の平均値が 0.18 mg/L で実測値の 0.19 mg/L と同等の値であった。

平成 20～24 年度 調査研究の概要

課題名	【4】岡山県における食中毒及び感染症起因菌の疫学的解析 (1) 下痢症・呼吸器感染症起因菌の疫学的解析と検査法の検討 (2) リステリア及びサルモネラの疫学調査と汚染防止対策の検討
担当科名	保健科学部 細菌科

研究概要	<ul style="list-style-type: none"> <li>➢ 感染症や食中毒の予防対策に役立てるために、感染症及び食中毒起因菌について汚染実態を把握する。</li> <li>➢ 食中毒等の事例が発生した際に実施する疫学解析による原因究明の一助とする。</li> <li>➢ レジオネラ、腸管出血性大腸菌、コリネバクテリウム・ウルセランス、リステリア及びサルモネラについて患者及び動物の保菌実態を調査するとともに、食品及び環境材料等の汚染状況を把握する。</li> <li>➢ 食中毒等の事例発生時において疫学的解析を実施する。</li> </ul>
研究成果	<ul style="list-style-type: none"> <li>➢ 腸管出血性大腸菌 O157 感染症の同時期に多発した事例などについて、分子疫学解析により感染の実態を解明した。</li> <li>➢ レジオネラ迅速検査法を検討し、浴槽水等の衛生管理手法として有用であることが示された。また、レジオネラの感染予防対策として浴槽水等の衛生管理が重要であることが明らかとなった。</li> <li>➢ ネコのコリネバクテリウム・ウルセランス保菌が明らかになり、ヒトへの感染源になる可能性が示唆された。</li> <li>➢ リステリア及びサルモネラの汚染実態を把握し感染経路を推測することにより、リステリア感染症及びサルモネラ食中毒の予防対策として、食鳥・食肉処理場の衛生管理や食鳥、食肉及び加工品の取扱の重要性が示された。</li> </ul>
今後の課題	<ul style="list-style-type: none"> <li>➢ 腸管出血性大腸菌感染症やレジオネラ症(特に <i>L.pneumophila</i> SG3 ST93)では感染源不明の場合が多いため、継続して広範囲の疫学調査を実施する必要がある。</li> <li>➢ コリネバクテリウム・ウルセランス感染症患者の実体は不明であり、患者の調査を重点的に行う必要がある。</li> <li>➢ リステリア症およびサルモネラ食中毒の予防対策として、調査結果に基づいた施設の衛生管理・監視指導を徹底する必要がある。</li> </ul>

実施内容	年度	H20	H21	H22	H23	H24	単位： 千円
		下痢症等	—————				
リステリア等	—————						
計画事業費		1,955	3,518	4,107	3,319	1,551	
一般財源		455	195	169	159	151	
外部資金等		1,500	3,323	3,938	3,160	1,400	
人件費		4,800	4,800	4,800	4,800	4,800	
総事業コスト		6,755	8,318	8,907	8,119	6,351	



調査研究概要【岡山県における食中毒及び感染症起因菌の疫学的解析】

センター 年報掲載	H20	岡山県における食中毒及び感染症起因菌の疫学的解析 －下痢症・呼吸器感染症起因菌の疫学調査と検査法の検討（平成 20 年度）－	
	H20	ヒト及び動物から分離されたリステリアの性状	
	H20	大規模食鳥処理施設のリステリア及びサルモネラの汚染実態調査と水洗浄及び次亜塩素酸ナトリウムによる屍体の洗浄消毒について	
	H20	大規模食鳥処理場における処理工程ごとのカンピロバクターの動向及び衛生管理対策（平成 20 年度）	
	H21	岡山県における食中毒及び感染症起因菌の疫学的解析 ①下痢症・呼吸器感染症起因菌の疫学調査と検査法の検討（平成 21 年度）	
	H21	牛直腸内容物からのリステリア及びサルモネラの検出状況と岡山県におけるサルモネラの疫学的解析（平成 21 年度）	
	H22	牛由来検体からのリステリア及びサルモネラの検出状況と岡山県におけるサルモネラの疫学的解析（平成 22 年度）	
	H22	岡山県における食中毒及び感染症起因菌の疫学的解析 ①下痢症・呼吸器感染症起因菌の疫学調査と検査法の検討(平成 22 年度)	
	H23	岡山県における食中毒及び感染症起因菌の疫学的解析 ①下痢症・呼吸器感染症起因菌の疫学調査と検査法の検討(平成 23 年度)	
	H23	牛由来検体からのリステリア及びサルモネラの検出状況と県内におけるサルモネラの疫学的解析（平成 23 年度）	
	H24	岡山県における食中毒及び感染症起因菌の疫学的解析 ①下痢症・呼吸器感染症起因菌の疫学調査と検査法の検討(平成 24 年度) <投稿中>	
	H24	牛由来検体等からのリステリア及びサルモネラの検出状況とパルスフィールドゲル電気泳動法を用いた <i>Listeria monocytogenes</i> の型別 <投稿中>	
学会発表	H20	岡山県のジフテリア検査体制の整備について	衛生微生物技術協議会 第 29 回研究会
	H20	ヒト及び動物から分離されたリステリアの性状	第 15 回岡山県保健福祉学会
	H21	マイクロチップ電気泳動法を用いた腸管出血性大腸菌 O157 の MLVA 解析	平成 21 年度岡山県獣医 公衆衛生学会
	H21	岡山県における動物のジフテリア毒素産生性 <i>Corynebacterium</i> の保菌状況	第 83 回日本細菌学会総会
	H22	乳児ボツリヌス症の検査について	平成 22 年度保健所検査業務 研究会発表会
	H23	岡山県で確認された乳児ボツリヌス症の 1 事例について	平成 23 年度岡山県獣医 三学会ほか
	H23	IS-printing system を用いた志賀毒素産生性大腸菌感染症事例の分子疫学的解析	第 57 回中国地区公衆衛生学 学会
	H20	ミドリガメが感染源と考えられる小児サルモネラ感染症の一例	第 82 回日本感染症学会総会 学術講演会

調査研究概要【岡山県における食中毒及び感染症起因菌の疫学的解析】

学会発表	H20	国内で分離された、ジフテリア毒素非産生性 <i>C.diphtheriae</i> の検査報告	第 82 回日本感染症学会総会 学術講演会
	H21	社会福祉施設におけるレジオネラ症集団感染について	岡山県保健福祉学会
	H21	わが国のレジオネラ症患者由来株の血清群、遺伝子型、モノクローナル抗体型の分布	第 58 回日本感染症学会東日本地方会学術集会
	H22	浴槽水からのレジオネラの単離および定量化における免疫磁気分離法の評価	第 83 回日本細菌学会総会
	H22	<i>Legionella pneumophila</i> の遺伝子型別による菌株の解析	第 83 回日本細菌学会総会
	H23	<i>Legionella</i> isolates from patients in Japan	EWGLI2011 (ヨーロッパレジオネラ専門家会議)
	H23	Analysis of <i>Legionella pneumophila</i> serogroup 1 from patients in Japan	IUMS (国際微生物学会)
学会誌等掲載	H20	Investigation of Immunity Level against Diphtheria and Reinforcement of Immunity by Booster Vaccination for Infection Control Staff in Okayama Prefecture	Jpn.J.Infect.Dis 61, 104-106, 2008
	H20	老人福祉施設におけるレジオネラ集団感染事例-岡山県	病原微生物検出情報 29, 330-331, 2008
	H20	レジオネラ臨床分離株の収集と型別から得られた知見	病原微生物検出情報 29, 332-333, 2008
	H21	浴槽水等のレジオネラ属菌検出状況と検査法の比較	遺伝子検出ガイドブックーリアルタイム PCR による遺伝子迅速検出ー (タカラ) 21-24, 2009
	H21	掛け流し式温泉におけるレジオネラ属菌汚染とリスク因子	感染症学雑誌 83,36-44, 2009
	H22	Characterization of <i>Legionella pneumophila</i> isolates from patients in Japan according to serogroups, monoclonal antibody subgroups and sequence types	J. of Medical Microbiology 59,104-106, 2008
	H22	イヌ・ネコにおけるジフテリア毒素産生 <i>Corynebacterium ulcerans</i> の保菌調査状況 岡山県におけるイヌ・ネコの <i>C.ulcerans</i> 保菌状況	病原微生物検出情報 31, 206-207, 2010
	H24	病原性大腸菌血清型と「他の下痢原性大腸菌」の検出報告状況、2001 年～2011 年 8 月	病原微生物検出情報 33, 3-4, 2012
	H24	倉敷市における腸管毒素原性大腸菌 O153:H12 による集団感染事例	病原微生物検出情報 33, 69-70, 2012

## 岡山県における食中毒および感染症起因菌の疫学的解析

### (1) 下痢症・呼吸器感染症起因菌の疫学調査と検査法の検討（平成 23 年度）

中嶋 洋, 狩屋英明, 石井 学, 河合央博, 大島律子（細菌科）,  
仲 克己（くらしき作陽大学食文化学部現代食文化学科）,  
檜原幸二（岡山赤十字病院第一小児科）

#### 1 目的・背景

岡山県では腸管出血性大腸菌（以下 EHEC）感染症やレジオネラ症の患者が毎年発生しており、ジフテリア様毒素を産生するコリネバクテリウム・ウルセランスによる感染症も過去に患者が発生した。このため、感染源・感染経路の究明や発生予防を目的として、継続調査を実施した。

#### 2 結果及び考察

##### 2.1 岡山県内で分離された EHEC の疫学調査

平成 23 年度においては 4 月と 3 月以外の月でヒトから EHEC が 62 株検出され、特に 6 月～9 月は 16.1～22.6%と高率に検出されたことから、腸管出血性大腸菌感染症注意報が発令された。最近では年ごとに患者数が減少傾向にあり、焼肉チェーン店でのユッケ等を原因とした EHEC 感染症により、肉の生食の禁止や本菌に対する注意喚起がなされたため、患者数の減少に繋がった可能性が考えられる。検出された EHEC の O 血清群は、例年どおり O157(43.5%)と O26(32.3%)が大半を占めたが、これら以外の O 血清群(O103, O111, O115, O121, O145, O165 など)の検出が増加してきている。一方、EHEC は牛の直腸便(16.1%)、牛糞堆肥(7.4%)からも検出されたが、O 血清群は UT(型別不能)が 69.6%と牛由来株において常に主要な血清群となっている。ただ、O157 も牛直腸便から 1.0%検出されていることから、ヒトへの感染源対策として今後も継続調査が必要であると考えられる。

##### 2.2 浴槽水等のレジオネラ汚染調査

浴槽水等について汚染調査を実施した結果、*L.pneumophila* の各種血清群およびレジオネラ属菌が、培養法により浴槽水(9.3%)、冷却塔水(83.3%)から検出された。一方、レジオネラ症患者は高齢男性に多く、*L.pneumophila* 血清群 1 による感染が最も多かったが、血清群 2 および 3 も検出された。このうち、血清群 3 の遺伝子タイプはすべて ST 93 であったため、同じ感染源の可能性が示された。これらの株は県内でのみ分離されており、感染源の究明が急がれる。感染予防対策として浴槽水等の衛生管理は重要であり、その手法として遺伝子検査による迅速検査法の有用性を検討した。培養法に比べて感度が高く迅速に結果を得ることができるが、特殊な機器を必要とし操作が煩雑なため、さらに改良が必要と思われた。

##### 2.3 コリネバクテリウム・ウルセランスの調査

ジフテリア様毒素を産生するコリネバクテリウム・ウルセランスによる感染症の実態調査および患者の感染源と考えられる動物の保菌調査を実施した。その結果、ネコ 121 検体中 5 検体（4.1%）から本菌が検出され、すべての菌がジフテリア様毒素を産生した。一方、イヌの咽頭スワブ、牛健康畜の外耳内部及び鼻腔内部のスワブ、牛病畜の乳汁及び関節液からは、菌は検出されなかった。また、患者の咽頭スワブからも今までのところ菌は検出されていないが、今後も患者の調査を継続し感染実態を明らかにする必要がある。

## 岡山県における食中毒および感染症起因菌の疫学的解析

### （2）リステリアおよびサルモネラの疫学調査と汚染防止対策の検討

#### 牛由来検体からのリステリア及びサルモネラの検出状況と

#### 県内におけるサルモネラの疫学的解析（平成 23 年度）

河合央博, 狩屋英明, 石井 学, 大島律子, 中嶋 洋（細菌科）,

仲 克己（くらしき作陽大学食文化学部現代食文化学科）,

檜原幸二（岡山赤十字病院第一小児科）

### 1 目的・背景

リステリア症は重症化し致死率の高い感染症であり、欧米では多くの症例があるが、日本での発生頻度は低い。サルモネラによる食中毒は毎年全国で多数発生しているが、流行血清型は年により多少の変化が見られる。そこで、リステリア、サルモネラの家畜の保菌状況、食品汚染状況を調査し、食品、特に食肉関連食品の衛生管理の向上の一助とする。また、県下で分離されたサルモネラの疫学解析を行って、流行する血清型の把握と感染予防に役立てる。

### 2 研究内容・結果

#### 2.1 リステリア

牛直腸便 415 検体、牛糞堆肥 27 検体、飼料 7 検体、野菜 60 検体及び腸管感染症疑い患者便 135 検体を検査した結果、牛直腸便 32 検体（7.7%）、牛糞堆肥 3 検体（11.1%）、飼料 2 検体（28.6%）、腸管感染症疑い患者便 1 検体（0.7%）から *L. monocytogenes* が検出され、野菜からは検出されなかった。分離株の血清型別は、牛直腸便は 1/2b が 28 検体（87.5%）と最も多く、4b が 2 検体（6.3%）、UT が 2 検体（6.3%）であった。牛糞堆肥、飼料、腸管感染症疑い患者便では、すべてが 1/2b であった。また、病院受診患者分離株 1 株を収集し血清型を検査したところ、1/2a であった。

同一牛飼育施設の牛直腸便、牛糞堆肥及び飼料から比較的高率に同一血清型のリステリアが検出された。飼料のリステリア汚染あるいは施設内での相互感染の可能性が考えられたため、牛飼育施設の衛生管理の徹底がリステリア感染症予防対策には重要であると考え。汚染の拡大防止及び感染予防の観点から、今後も継続して保菌状況を調査する必要がある。

#### 2.2 サルモネラ

牛直腸便 415 検体、牛糞堆肥 27 検体、飼料 7 検体及び腸管感染症疑い患者便 135 検体を検査した結果、腸管感染症疑い患者便各 1 検体から *S.Thompson*（0.7%）及び *S.Weltevreden*（0.7%）が検出され、牛直腸便、牛糞堆肥、飼料、野菜からは検出されなかった。また、病院受診患者分離株 1 株を収集して血清型を検査したところ、*S.Thompson* であった。

保健所が収去し検査した食品由来 11 株（鶏肉由来 10 株、豚肉由来 1 株）を収集して血清型別を実施したところ、*S.Infantis* が鶏肉由来 10 株中 7 株（70.0%）と最も多かった。過去の調査でも、食鳥の本菌汚染率は高く恒常化していることが示されたことから、食鳥を介したヒトへの感染が懸念される。他の鶏肉由来株は *S.Manhattan*, *S.Schwarzengrund*, O8 群 H 型別不能株がそれぞれ 1 株（10.0%）で、豚肉由来株は *S.Derby* であった。これらのことから、感染予防対策として食鳥・食肉処理場の衛生管理や、食鳥・食肉あるいはその加工品の取扱いの重要性が示された。

平成 20～24 年度 調査研究実績の概要

課題名	【5】結核菌の分子疫学的研究
担当科名	保健科学部 細菌科

研究概要	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ 本県では、毎年多くの患者が発生していることから、主要事業として「結核菌 DNA 解析調査事業」（以下「調査事業」という。）により結核対策を行っている。（我が国において結核は最大の感染症の一つであり、我が国は結核の中程度蔓延国である。）</li> <li>▶ 本研究は調査事業と連携して実施し、結核の感染源及び感染経路を究明するとともに、結核対策に役立てる。</li> <li>▶ 最近結核を発病し、新たな感染源になるおそれがある患者等を対象として、結核の分離菌株を収集して遺伝子解析を行い、データベースを構築する。</li> <li>▶ データベースを用いて、結核の散发事例における隠れた関連性を検索するとともに、感染から発病まで長期間に及んだ場合等については、過去の事例と照合するなど活用を図る。</li> </ul>							
	研究成果	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ 従来から実施している遺伝子解析法である RFLP 法に加え、新しい解析法である VNTR 法を実施し、データベースの強化を図った。</li> <li>▶ これにより、結核の集団感染や院内感染などの感染事例が発生した際に、遺伝子検査結果が疫学調査を裏付ける科学的根拠となり、その結果より正確な感染源及び感染経路の究明が可能となった。</li> <li>▶ その一例として、遺伝子解析とデータベースにより、3つの集団感染事例を含む12事例の感染源を究明できた。</li> </ul>						
	課題	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ 感染源及び感染経路究明における結核菌の遺伝子型データベースの有用性について、保健所や医療機関等の関係者への周知が必要である。</li> <li>▶ 感染源となる可能性の高い患者（医療従事者や多数の人と接する者）由来株の積極的な収集を行うことにより、データベースの充実化を図る必要がある。</li> </ul>						
実施内容	実施内容	年度	H20	H21	H22	H23	H24	
	結核の分子疫学的研究		—————					
	健康推進課委託調査		—————					
	計画事業費		364	365	383	375	376	単位： 千円
	一般財源		64	65	83	75	76	
外部資金等		300	300	300	300	300		
人件費		2,400	2,400	2,400	2,400	2,400		
総事業コスト		2,764	2,765	2,783	2,775	2,776		

調査研究実績【結核菌の分子疫学的研究】

センター 年報 掲載	H20	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	
	H21	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(2)	
	H22	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(3)	
	H23	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(4)	
学会誌 掲載	H20	遺伝子解析を用いた結核感染の長期経過後の発病実態の把握とその有用性	日本公衆衛生雑誌 55,367-374,2008

## 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(4)

大島 律子, 石井 学, 河合 央博, 中嶋 洋 (細菌科)

### 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、RFLP 解析法及び VNTR 解析法を用いて結核菌の 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。

従来、RFLP 解析法が世界的標準法であったが、操作が簡単で結果を数値化できる VNTR 解析法である JATA(12)-VNTR 解析法が平成 20 年に確立され、国内標準法として提唱されている。さらに、JATA(12)-VNTR の型別能力を補う方法として、JATA(15)-VNTR 解析法や超多変 (hypervariable, HV)-VNTR 解析法が報告されている。当県でも、平成 20 年度に JATA(12)-VNTR を試験的に実施し、平成 21 年度と 22 年度は RFLP 解析結果との比較によりその有用性を確認した。平成 23 年度は JATA(15)-VNTR 及び HV-VNTR を導入して、RFLP 解析法から VNTR 解析法に完全移行した。

今回、VNTR 解析結果のデータベースを活用して、集団感染事例を含む 6 つの感染事例について感染源の究明を行ったので、その概要を報告する。

### 2 結果 (VNTR 解析結果)

患者	年齢	届出	発病	VNTR 型	事例概要	
1	a	75	20101028	20100700	一致	患者 a,b,c は同じ施設の入所者で、2 年前の初発患者発病後相次いで発病し、3 名から分離された結核菌 DNA の VNTR 型が一致したため施設内感染と考えられた。この他に、施設内には感染者 3 名の存在も判明しており、 <b>集団感染</b> に該当する事例となった。 患者 d は a,b,c と同じ施設の入所者で、初発患者及び b と同室であった。患者 d 分離株の VNTR 型は a,b,c と一致したので、 <b>集団感染</b> に含まれる症例と考えられた。
	b	41	20090714	20090700		
	c	61	20101224	不明		
	d	51	20110323	不明		
2	e	61	20110325	20101000	一致	2011 年 3 月に X 病院に長期入院中だった患者 e が結核を発病したため、入院患者や通院患者、病院職員等を対象に接触者健診を行ったところ、患者 f,g を含む 5 名の発病と 38 名の感染が判明した。患者 e,f,g から分離された結核菌 DNA の VNTR 型は一致し、 <b>集団感染</b> に該当する事例となった。
	f	62	20110613	20110531		
	g	63	20110930	不明		
3	h	66	20100927	不明	一致	患者 h と i は同居人で、両者から分離された結核菌 DNA の VNTR 型が一致したため、両者間の感染が判明した。
	i	64	20110303	不明		
4	j	48	20110531	20110530	一致	患者 k と l は夫婦で j はその子である。患者 k の結核登録後、j と l が相次いで結核登録され、3 名から分離された結核菌 DNA の VNTR 型は一致したので家族内感染と判明した。
	k	83	20110312	不明		
	l	75	20110719	不明		
5	m	32	20110301	不明	相違	患者 n は m と同じ病院に通院歴があったため、m からの感染が疑われたが、両者から分離された結核菌 DNA の VNTR 型が異なったため、それぞれ別の感染源と判った。
	n	26	20110902	不明		
6	o	84	20110611	20110600	一致	2011 年 12 月に患者 p が結核と診断され、調査の結果、2011 年 6 月頃結核を発病した患者 o と同じ施設で同室であった事が判明した。両者から分離された結核菌 DNA の VNTR 型が一致したため、患者 o から p に感染したと考えられた。
	p	87	20111231	20111200		

感染事例の感染源を究明した結果、事例 1~4 及び 6 で VNTR 型が一致し、保健所の実地疫学調査結果を裏付ける科学的根拠となり、VNTR 解析は感染事例の感染源究明において非常に有用な疫学指標と考えられた。

平成 20～24 年度 調査研究の概要

課題名	【6】胃腸炎ウイルスの疫学的研究
担当科名	保健科学部 ウイルス科

研究概要	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ 冬季を中心に流行するウイルス性胃腸炎は、幼児や高齢者では重篤な症状となることも多く、集団発生も起こりやすいことが公衆衛生上の問題となっている。</li> <li>➤ 胃腸炎ウイルス（ロタウイルス、アデノウイルス、ノロウイルス、サポウイルス、アストロウイルス）について流行状況を調査し、感染症や食中毒対策の一助とする。</li> <li>➤ 胃腸炎ウイルスの流行状況調査             <ul style="list-style-type: none"> <li>◇ A 群ロタウイルスについて、遺伝子検査法及び酵素抗体法等を用いて、血清型別調査を行う。</li> <li>◇ 胃腸炎ウイルスについて、電子顕微鏡観察と遺伝子検査法を用いて流行状況を調査するとともに、新型・変異ウイルスの出現を監視する。</li> </ul> </li> <li>➤ 胃腸炎ウイルスの検査法の検討             <ul style="list-style-type: none"> <li>◇ A 群ロタウイルスに特異的なモノクローナル抗体を用いたウイルスの検査法の開発を行う。</li> <li>◇ C 群ロタウイルスについて、正確な検査法などの検討を行う。</li> <li>◇ 遺伝子検査法で同定が不可能な小型球形ウイルスについては、その検査方法を検討する。</li> </ul> </li> </ul>							
	研究成果	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ 胃腸炎ウイルスの流行状況調査では、A 型ロタウイルスや胃腸炎ウイルスの流行状況を明らかにした。</li> <li>➤ A 群ロタウイルス G3 型に特異的なモノクローナル抗体を用いた検査法（蛍光抗体法）を開発した。</li> <li>➤ C 群ロタウイルスの検査法（リアルタイム PCR 法）を開発し、下水中に含まれる同ウイルスの調査を可能とした。</li> <li>➤ 低速遠心法によるウイルス粒子精製法を用いて、電子顕微鏡観察を実施し、遺伝子検査法では同定不可能な小型球形ウイルスが存在する可能性が示唆された。</li> </ul>						
	今後の課題	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ ロタウイルスワクチン開始後における流行状況を調査し比較することにより、ワクチンの影響を検討する必要がある。</li> <li>➤ A 群ロタウイルス G3 型と誤判定される G9 型変異株について、国内への進入を検討する必要がある。</li> <li>➤ 同定が不可能な小型球形ウイルスについて、新たな検査法の開発が必要である。</li> </ul>						
実施内容	実施内容	年度	H20	H21	H22	H23	H24	
	新型・変異ウイルス監視		—————					
	検査法開発		—————					
	流行予測		—————					
	計画事業費		1,470	735	735	662	662	単位： 千円
	一般財源		1,470	735	735	662	662	
外部資金等								
人件費		5,600	6,400	6,400	6,400	6,400		
総事業コスト		7,070	7,135	7,135	7,062	7,062		



調査研究概要【胃腸炎ウイルスの疫学的研究】

センター年報掲載	H20	胃腸炎ウイルスの研究 (2008 年度)	
	H21	ノロウイルス検査における抽出コントロールとしてのエコーウイルス 9 型 Hill 株の Real-time RT-PCR 法による検出	
	H21	胃腸炎ウイルスの研究 －電子顕微鏡を用いた胃腸炎ウイルスの検出(2009 年度)－	
	H21	胃腸炎ウイルスの研究 －ノロウイルス迅速検査キットの評価と食中毒原因究明調査における利用の可能性－	
	H21	胃腸炎ウイルスの研究 －岡山県における血清型 G9 型 A 群ロタウイルスの流行状況について－	
	H22	胃腸炎ウイルスの研究 岡山県の散発性胃腸炎患者におけるノロウイルス、サポウイルスおよびアストロウイルスの流行疫学 (2008/2009 シーズン～2009/2010 シーズン)	
	H22	胃腸炎ウイルスの研究 電子顕微鏡を用いた胃腸炎ウイルスの検出 (2005/06～2009/10 シーズン)－	
	H22	胃腸炎ウイルスの研究 －Real-time RT-PCR 法によるヒト C 群ロタウイルス検査法の開発－	
	H23	胃腸炎ウイルスの疫学的研究 －下水を用いたヒト C 群ロタウイルスサーベイランスの有効性－	
	H23	胃腸炎ウイルスの疫学的研究 －電子顕微鏡を用いた胃腸炎ウイルスの検出 (2010/11 シーズン)－	
	H24	胃腸炎ウイルスの疫学的研究 －岡山県で検出された G2 型ヒトロタウイルスの分子疫学的解析－ <投稿中>	
	H24	胃腸炎ウイルスの疫学的研究 －電子顕微鏡を用いた胃腸炎ウイルスの検出 (2011/12 シーズン)－ <投稿中>	
学会発表	H20	Molecular Epidemiology of Group C Rotavirus in Japan over the Last Two Decades	日米医学協力計画・第 42 回日米合同ウイルス性疾患専門部会会議
	H20	岡山県で流行した A 群ロタウイルスの P 遺伝子型について	第 49 回 日本臨床ウイルス学会
	H20	岡山県内の看護学校における A 群ロタウイルスの集団発生事例	第 78 回日本感染症学会西日本地方会
	H20	岡山県における Astrovirus 胃腸炎の流行疫学 (2004-2007 年度)	第 78 回日本感染症学会西日本地方会総会
	H20	G II/4 を中心とした岡山県における散発事例および集団事例由来 Norovirus の解析 (2004-2007 年度)	平成 20 年度日本獣医師会獣医公衆衛生学会年次大会
	H21	岡山県における G9 型 A 群ロタウイルスの流行状況について	第 57 回日本ウイルス学会学術集会
	H21	食中毒原因究明調査における Norovirus 迅速検査キット利用の可能性	平成 21 年度日本獣医師会獣医公衆衛生学会年次大会
	H22	岡山県におけるイヌの A 群ロタウイルス保有状況と性状解析	平成 22 年度獣医公衆衛生学会中国地区学会

調査研究概要【胃腸炎ウイルスの疫学的研究】

学会発表	H22	岡山県における P[8]サブタイプ b 型 A 群ロタウイルスの流行状況について	第 58 回日本ウイルス学会学術集会
	H23	岡山県における G2 型 A 群ロタウイルスの流行状況について	第 52 回日本臨床ウイルス学会
	H23	小型球形ウイルス：正体不明の小型球形ウイルス	衛生微生物技術協議会 第 32 回研究会
	H23	ふきとり検体からのノロウイルス検出法に関する検討	第 32 回日本食品微生物学会学術総会
	H23	岡山県内の成人におけるロタウイルス集団発生事例について	平成 23 年度保健所検査業務研究会発表会
	H24	生カキを原因とするノロウイルス食中毒事件の疫学調査と遺伝子解析	第 33 回日本食品微生物学会学術総会
	H24	患者糞便及び下水調査に基づく C 群ロタウイルス流行実態の解明	第 60 回日本ウイルス学会学術集会
学会誌掲載	H20	ロタウイルス胃腸炎の現状	化学療法の領域、Vol. 24、No.10、1488-1497、2008
	H20	ロタウイルスに感染に関連した急性脳症の 1 例	日大医学雑誌、Vol67、No.5、304-308、2008
	H21	Detection of rotavirus RNA and antigens in serum and cerebrospinal fluid samples from diarrheic children with seizures	Japanese Journal of Infectious Diseases, Vol. 62, No.4, 279-283, 2009
	H21	Rotavirus antigenemia and genomia in children with rotavirus gastroenteritis	Japanese Journal of Infectious Diseases, Vol. 63, No.2, 83-86, 2010
	H23	Outbreak of Salmonella Braenderup Infection Originating in Boxed Lunches in Japan in 2008	Acta Medica Okayama, Vol. 65, No.2, pp.63-69, 2011
	H23	Molecular Characterization of OP354-Like P[8] (P[8]b Subtype) Human Rotaviruses A Species Isolated in Japan	The Journal of Medical Virology, Vol.84, 697-704, 2012
	H24	ロタウイルス胃腸炎の集団発生について	臨床とウイルス、Vol.41、No.1、69-80、2013
	H24	Prevalence and molecular characterization of G1P[8] human rotaviruses possessing DS-1-like VP6, NSP4, and NSP5/6 in Japan <投稿中>	The Journal of Medical Virology,

## 胃腸炎ウイルスの疫学的研究

岡山県の散発性胃腸炎患者におけるノロウイルス，サポウイルスおよびアストロウイルスの流行疫学（2008/2009 シーズン～2009/2010 シーズン）

濱野雅子，藤井理津志，葛谷光隆，木田浩司（ウイルス科），檜原幸二（岡山赤十字病院小児科），濃野 信（のうの小児科），金谷誠久（国立病院機構岡山医療センター小児科）

### 要 旨

感染性胃腸炎におけるノロウイルス（NoV），サポウイルス（SaV）及びアストロウイルス（AstV）のトータルな流行状況を明らかにするため，2008/2009 年シーズンおよび 2009/2010 年シーズン（2008 年 9 月～2010 年 8 月）の散発性胃腸炎患者糞便 1,024 件のうち，電子顕微鏡検索（EM）法で小型球形ウイルス（SRSV）様粒子が観察された 84 件について，逆転写 PCR 法により NoV，SaV 及び AstV を検索した。また，EM 法でロタウイルス（RV）様粒子またはアデノウイルス（ADV）様粒子が観察された 196 件について，それぞれ，酵素抗体（ELISA）法による A 群ロタウイルス（ARV）と C 群ロタウイルス検索，イムノクロマト（IC）法による ADV の検索を実施した。その結果，NoV が 41 件，SaV が 11 件，AstV が 10 件，ARV が 182 件，ADV が 14 件から検出された。シーズンごとの検出数では，ARV，ADV は変化がなかったのに対して，NoV，SaV，AstV は，ともに，2009/2010 年シーズンは 2008/2009 年シーズンの 1/2 ～ 1/4 にとどまった。また，検出時期についても NoV，SaV，AstV ともに 2009/2010 年シーズンは前シーズンに比べて遅くなる傾向が見られた。検出ウイルスの一部について遺伝子解析を行ったところ，NoV では GII/4 が大部分を占め，GII/3，GII/6 も検出された。検出された GII/4 株は，両シーズンともに GII/4 2006b 類似株であった。一方 AstV では，1 型が主流であったが，3 型，4 型も検出された。

### 1 はじめに

ウイルス性胃腸炎の主要な原因の 1 つである小型球形ウイルス（SRSV）は，細胞・実験動物により人工的に増殖させる技術が確立されていないウイルス群であるが，このうち Calicivirus 科に属する Norovirus 属の Norwalkvirus（以下 NoV），Sapovirus 属の Sapporovirus（以下 SaV），Astrovirus 科の Astorovirus（以下 AstV）についてはその遺伝子情報に基づいた逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（以下逆転写 PCR）法での検出が可能となった。

これに伴い，感染症対策と食品衛生対策の両面で最も行政ニーズの高い NoV については，①ヒト由来の NoV は，大きく 2 つの遺伝子群 Genogroup I：GI と Genogroup II：GII に分かれ，ウイルス表面蛋白をコードする capsid 領域の遺伝子配列により，GI，GII ともに多数の遺伝子型：genotype に分かれることや②同一検体中に複数の遺伝子型の NoV が存在する場合があること，③異なる 2 つの遺伝子型の遺伝子が部分的に組みかわったと考えられる「キメラ株」や，同一の遺伝子型内で遺伝子が部分的に大きく変異した「同一遺伝子型内変異株」が存在すること等が明らかになってきた。このように NoV はきわめて多様であるため，その流行状況を予測して対策をとるためには，継続的な監視と事例解析が不可欠である。また，NoV 以外の SRSV である SaV，AstV についても，SaV は 5 つの遺伝子群 GI（以下 SaV\_GI）～GV（SaV\_GV），AstV は 8 血清型（以下 AstV\_1～ AstV\_8）に分かれ，それぞれの血清型に対応する遺伝子型が存在する 11）等 NoV 同様多様なウイルスの存在が明らかになっているが，その流行疫学については不明な点が多く，解明していく必要がある。

2010 年度は，感染性胃腸炎における NoV，SaV および AstV のトータルな流行状況をあきらかにするため，2008/2009 と 2009/2010 の 2 シーズンの散発胃腸炎患者検体でウイルス検索を行い，検出状況を総合的に解析するとともに，検出された NoV，SaV および AstV について遺伝子解析を行った。

## 2 結果

### 2.1 ウイルス検出状況

EM法でウイルス様粒子が観察された検体の内訳は、SRSV様粒子が84件、RV様粒子が182件、ADV様粒子が14件であった。

SRSV様粒子が観察された84件から、NoVが41株、SaVが11株、AstVが10株検出された。このうち、同一検体からNoVとSaVが検出された例が2件みられた。また、NoV、SaV、AstVいずれのPCRでも陰性であった「その他のSRSV」が24株みられた。RV様粒子が観察された182件は、すべてARVと同定された。また、ADV様粒子が観察された14件は、すべてADVであることが確認された（表1）。

表1 ウイルスの検出状況

ウイルス		NoV	SaV	AstV	その他のSRSV*	RotaA	ADV	総計
2008/2009 シーズン	9月						1	1
	10月							0
	11月	1			3			4
	12月	21	2**		7	5		35
	1月	8	3		1	5	3	20
	2月	1	3	1	2	22	2	31
	3月	2		2	2	28		34
	4月			3		19		22
	5月			2		8		10
	6月				1			1
	7月							0
	8月							0
	小計	33	8	8	16	87	6	158
2009/2010 シーズン	9月				3			3
	10月				2			2
	11月							0
	12月				1		1	2
	1月	5	1		1	5	1	13
	2月	2	1**			13		16
	3月	1				24	1	26
	4月					28	2	30
	5月		1		1	18	2	22
	6月			1		7		8
	7月						1	1
	8月			1				1
	小計	8	3	2	8	95	8	124
総計		41	11	10	24	182	14	282

\* NoV,SaV,AstVのPCRがいずれも陰性であったもの

\*\* NoVと同一検体からの検出 1件 を含む

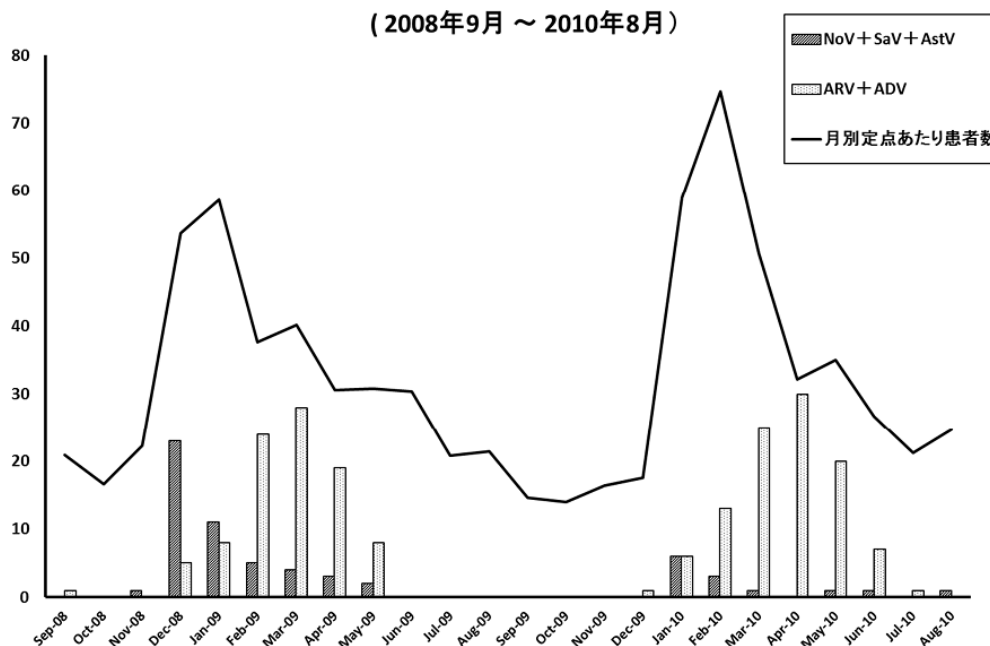
シーズンごとのウイルス検出数を比較すると、NoV、SaV、AstVでは、2008/2009年シーズンがそれぞれ33株、8株、8株であったのに対して、2009/2010年シーズンは8株、3株、2株で、前シーズンの1/2～1/4にとどまった。一方、ARVとADVについては、2008/2009年シーズンがそれぞれ87株、6株、2009/2010年シーズンは95株、8株と大きな変化はみられなかった。検出時期についても、NoV、SaV、AstVでは、2008/2009年シーズンがそれぞれ11月～3月、12月～2月、2月～5月であったのに対して、2009/2010年シーズンは1月～3月、1月～5月、6月～8月と、前シーズンより遅くなる傾向が見られた。

感染症発生動向調査における感染性胃腸炎の患者数を表2に、定点あたり患者数とウイルス検出状況を図1に示す。ウイルス性胃腸炎の主流行期である11月～3月の定点あたり患者数は、2008/2009年シーズンが22.3～58.6人、ピークが12月から1月であったのに対して、2009/2010年シーズンは16.4人～74.6人、ピークが2月で、NoV、SaV、AstVにおける2009/2010年シーズンの検出数の減少と検出時期の遅れは、同シーズンの患者数の推移とよく一致していた。

表 2 感染性胃腸炎の月別患者数

		9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月
2008/2009 シーズン	患者数(人)	1131	898	1203	2898	3163	2034	2172	1651	1664	1640	1122	1160
	定点あたり 患者数(人)	20.9	16.6	22.3	53.7	58.6	37.7	40.2	30.6	30.8	30.4	20.8	21.5
2009/2010 シーズン	患者数(人)	792	754	885	951	3178	4030	2738	1737	1889	1443	1145	1336
	定点あたり 患者数(人)	14.7	14.0	16.4	17.6	58.9	74.6	50.7	32.2	35.0	26.7	21.2	24.7

図 1 感染性胃腸炎月別定点あたり患者数とウイルス検出状況  
(2008年9月～2010年8月)



## 2.2 NoV, SaV および AstV の遺伝子解析

NoV19 株についての遺伝子解析の結果、すべて GII に属しており、GII/3 : 2 株、GII/4 : 15 株、GII/6 : 2 株であった(図 2)。GII/3 および GII/4 は両シーズンにわたって検出されたが、遺伝的に大きな隔たりはみられなかった。これに対して GII/6 は 2008/2009 年シーズンにのみ検出されたが、OH 2159 株がレファレンス株である GII/6 SaitamaU3 株 や GII/6 Seacroft 株と同一クラスターを形成したのに対し、OH 2261 株は別のレファレンス株である GII/6 SaitamaU16 とクラスターを形成し、遺伝的にやや異なる株であった。GII/4 に属する 15 株と遺伝子型内レファレンス株の系統樹を、図 3 に示す。遺伝子型内変異株が知られている GII/4 については、15 株すべてが 2006b タイプであった。

SaV は 2009 年 1 月に採取された OH 2196 株 1 株の塩基配列が決定され、SaV-GI/1 であった。

8 株の AstV についての遺伝子解析の結果、1 型 : 6 株、3 型 : 1 株、4 型 : 1 株であった(図 4)。1 型は両シーズンとも検出されたが、2008/2009 年シーズン検出株 5 株がレファレンス株である Dresden 株と同一クラスターを形成したのに対し、2009/2010 年シーズンに検出された OH 2817 株 (2010 年 8 月採取) は、Dresden 株と相同性が 89.8% で、別のレファレンス株である Oxford 株 (相同性 96.0%) とクラスターを形成し、遺伝的にやや異なる株であった。

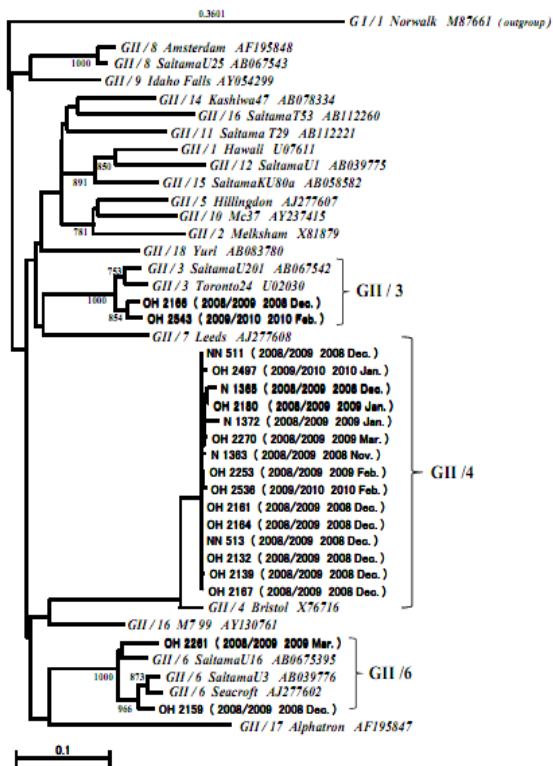


図 2 検出 NoV の polymerase/capsid junction 領域の系統樹

Lordsdale 株 5102-5366 相違の 265 bp, NJ法, Bootstrap 1000 回。  
斜字: レファレンス株, 末尾に Accession No. を記載

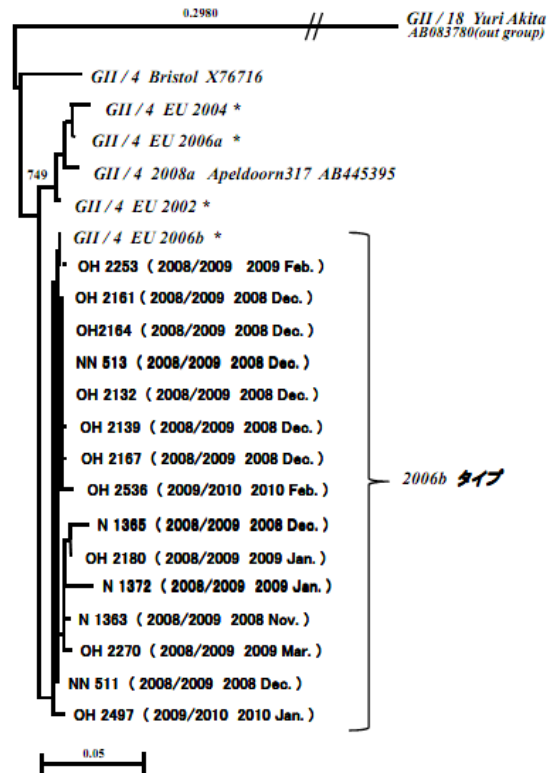


図 3 検出 NoV GII/4 の polymerase/capsid junction 領域の系統樹

Lordsdale 株 5102-5366 相違の 265 bp, NJ法, Bootstrap 1000 回。  
斜字: レファレンス株, 末尾に Accession No. を記載, \*: Eurosurveillance database より引用

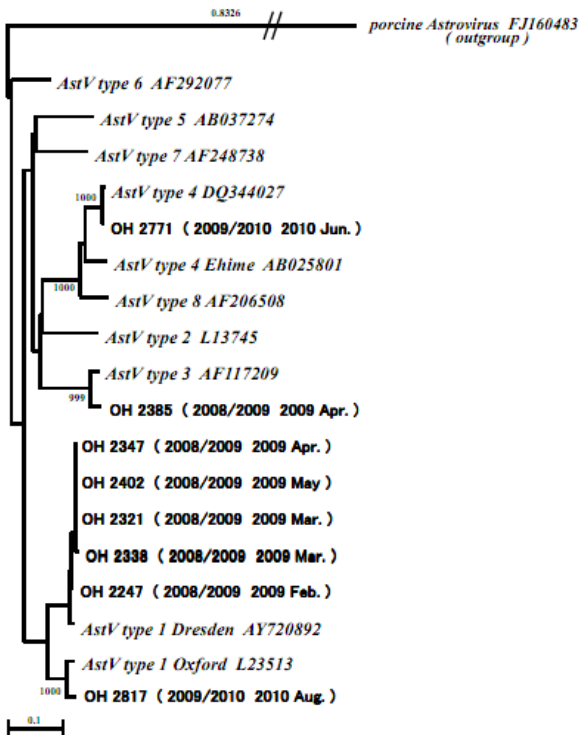


図 4 検出 AstV の ORF2 の部分領域の系統樹

AstV type 2 レファレンス株 4561-4933 相違の 373 bp, NJ法, Bootstrap 1000 回。  
斜字: レファレンス株, 末尾に Accession No. を記載

### 3 考 察

2008/2009 年シーズンおよび 2009/2010 年シーズンの散発胃腸炎患者からのウイルス検出状況は、シーズンにより NoV, SaV および AstV の検出数と検出時期が大きく異なっており、2009/2010 年シーズンは、ともに前シーズンに比べて検出数が減少し、検出時期も遅くなる傾向であった。

われわれは、2007 年度の報告で、各ウイルスの検出時期に関する解析から、NoV, SaV, AstV がそれぞれ時期をずらして流行していると推定したが、検出時期の遅れは、この推定を裏付けると考えられる。

また、特に 11 月から 12 月にかけての NoV の検出数減少と患者数の減少から、同時期の感染性胃腸炎の原因ウイルスは NoV であることが改めて明らかになった。2009/2010 シーズンは、新型インフルエンザの流行したシーズンであり、とくに 10 月～12 月にかけてはもっとも患者が多発した時期であった。したがって手洗い等の感染防止策がきわめて長期間にわたって通常より厳重に実践されていたと考えられ、こうした社会的状況が NoV の検出数減少に関与した可能性がある。

検出された NoV の遺伝子型は、両シーズンとも GII/4 2006b 類似株が大部分を占めた。GII/4 は、2006/2007 シーズン以降、全国の地方衛生研究所からの病原体検出報告でも常に最も多く報告されており、このシーズン以降全国的に胃腸炎の多発を引き起こした GII/4 2006b の流行は、2009/2010 シーズンまで継続していたものと推察され、4 シーズンにわたって県内の主流型であったことになり、こうした長期にわたる流行による感受性者の減少が検出数の減少につながった可能性も考えられた。なお、2008 年 11 月以降国内で流行している GII/4 2008a は、今回は確認されなかった。

また、GII/4 のほかに GII/3 と GII/6 も検出された。これらの遺伝子型は、2008 年 4 月～2009 年 3 月の集団事例でみられた株と同じであり、GII/6 が 2 系統流行していた点も一致していた。AstV は、検出時期が 3 月～6 月に集中しており、1 型が大部分を占める点は以前の報告<sup>20)</sup>と同様であったが、2010 年 8 月に採取された 1 株が Oxford 類似株で、同じ 1 型ながら前シーズンまでの Dresden 類似株とかなり異なっており、今後この系統のウイルスが主流となるのか、今後とも監視していく必要があると考えられる。

## 胃腸炎ウイルスの研究

### －岡山県における血清型 G9 型 A 群ロタウイルスの流行状況について－

葛谷光隆, 濱野雅子, 木田浩司, 藤井理津志（ウイルス科）,  
金谷誠久（国立病院機構岡山医療センター小児科）

#### 要 旨

岡山県における血清型 G9 型（G9 型）A 群ロタウイルス（ARV）の流行状況を明らかにするため、2000 年 9 月～ 2008 年 8 月の 8 シーズンに県内で採取された ARV 陽性の胃腸炎患者糞便 553 検体について G 型別調査を実施した。その結果、126 検体（22.8 %）が G9 型と同定され、G1 型（33.1 %）及び G3 型（31.1 %）に次ぐ値であることが明らかになった。調査 8 シーズン中 5 シーズンで G9 型が検出され、ARV 全体に占める割合は 2001/02 シーズンが 28.8 %、2002/03 シーズンが 4.7 %、2005/06 シーズンが 55.4 %、2006/07 シーズンが 1.1 %、2007/08 シーズンが 72 %であり、特に 2005 年以降は隔年で大きな流行を起こしていた。さらに G9 型陽性例の外殻スパイク蛋白の遺伝子型はすべて P [8] 型であり、また遺伝子解析の結果、検出された株の外殻糖蛋白及び外殻スパイク蛋白遺伝子は高度に（相同性 98.5 %以上）保存されていることがわかった。このような G9 型流行の背景について、G9 型は近年新たに出現した型のため住民の抗体保有率が全体として低かったことが基本にあり、さらに 2001/02 シーズンに県内へ侵入したウイルスが県下全域へと広がるのに数年間を要したこと、その後は G9 型に対する抗体を保有しない 2 歳以下の乳幼児がある程度蓄積する必要があったために、隔年で流行を繰り返したのではないかと考えられた。

#### 1 はじめに

A 群ロタウイルス（ARV）は、外殻糖蛋白（VP7）の抗原性により 20 の血清型に分類されているが、そのうちヒトから検出される頻度が高いことがわかっているのは G1 ～ G4 型である。しかしながら、近年になってヒトの間に出現した G9 型によって世界的な流行が確認されるなど、G1 ～ G4 型以外の流行動向が注目されている。一方、近年になり複数のメーカーにより作成された第 2 世代 ARV ワクチンの導入が世界的に進められており、我が国でも将来的に採用される可能性が考えられる。

しかしながら、これらのワクチンには G9 型は含まれていないことから、ワクチンの有効性を予測する上でも、本型の流行状況を事前に把握しておくことは非常に重要であると思われる。そこで、岡山県における G9 型 ARV の流行状況を把握するため、2000 年～ 2008 年に採取された胃腸炎患者糞便について調査を行った。

#### 2 結 果

##### 2.1 G9 型 ARV 検出状況

G 型別の結果、553 検体すべてが型別可能であった（表 1）。G9 型についてみると、単独で検出されたのが 124 検体、G1 型及び G3 型との混合検出が各 1 検体の、計 126 検体（22.8%）から検出された。なお、シーズン別の検出状況では、調査 8 シーズン中 2001/02 シーズン、2002/03 シーズン、2005/06 シーズン、2006/07 シーズン、2007/08 シーズンの計 5 シーズンで G9 型が検出された。各シーズンごとの G 型別検出割合を図 1 に示した。2001/02 シーズンにはじめて G9 型が検出され、しかもその割合が全体の 28.8%と G 型の中では最も多くを占めていた。翌シーズンにもわずかながら検出されたが、その後 2 シーズンは全く検出されなくなった。しかしながら、2005/06 シーズン及び 2007/08 シーズンには、G9 型が ARV 全体のそれぞれ 55.9%及び 72%を占めるといふ広範な流行が確認された。以上のことから、G9 型の流行は年々その間隔が短くなると同時に、規模も拡大する傾向にあることがわかった。



表1 ARVのG型別成績(2000/01～2007/08シーズン)

G型	流行シーズン								合計(%)
	2000/01	2001/02	2002/03	2003/04	2004/05	2005/06	2006/07	2007/08	
G1	8	8	35	20	29	26	46	11	183(33.1)
G2	9	7	0	0	0	1	29	1	47(8.5)
G3	2	12	33	60	31	14	12	8	172(31.1)
G4	0	6	14	0	2	0	0	0	22(4.0)
G9	0	14	4	0	0	52	1	53	124(22.4)
G12	0	1	0	0	0	0	0	0	1(0.2)
G1&G2	0	0	0	0	0	0	1	0	1(0.2)
G1&G9	0	0	0	0	0	0	0	1	1(0.2)
G2&G3	0	1	0	0	0	0	0	0	1(0.2)
G3&G9	0	1	0	0	0	0	0	0	1(0.2)
合計	19	50	86	80	62	93	89	74	553

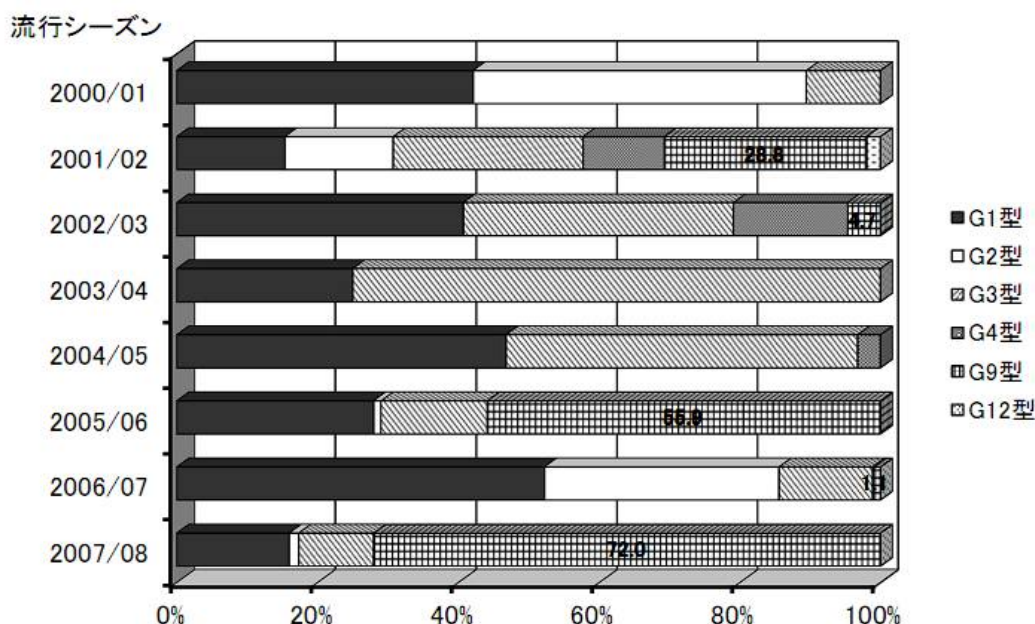


図1 シーズン別のG型別分布割合

次に、ARV 陽性例について検体採取週の中央値を算出したところ、G9型は第12週（3月中旬～下旬）となり、G1～G4型の値（G1型：第13週、G2型：第14週、G3型：第12週、G4型：第13週）に比べると検出時期が早い部類に属するものの、他の型に比べて大きな差は認められなかった。また年齢別検出状況を調べたところ、特定の年齢層からG9型が検出されるといった傾向は認められず、他のG型と同様に1歳をピークとする検出パターンが認められた（データを示さず）。

## 2.2 感染性胃腸炎患者数の推移

2000年～2008年の冬季（前年第45週～翌年第20週）における、岡山県感染症発生動向調査に基づく定点医療機関あたり（定点あたり）の感染性胃腸炎患者数の推移を図2に示した。例年ARVの流行が認められる第5週～第18週頃に注目すると、G9型の割合が50%を超えた2005/06シーズン及び2007/08シーズンにおいては、いずれも定点あたり患者数が他シーズンの値を上回っており、G9型の流行により県下全域で多数の患者が発生していたものと推察された。さらにピーク時の患者数についても、2005/06シーズンが13.9人及び2007/08シーズンが16.6人と増加傾向にあることもわかった。

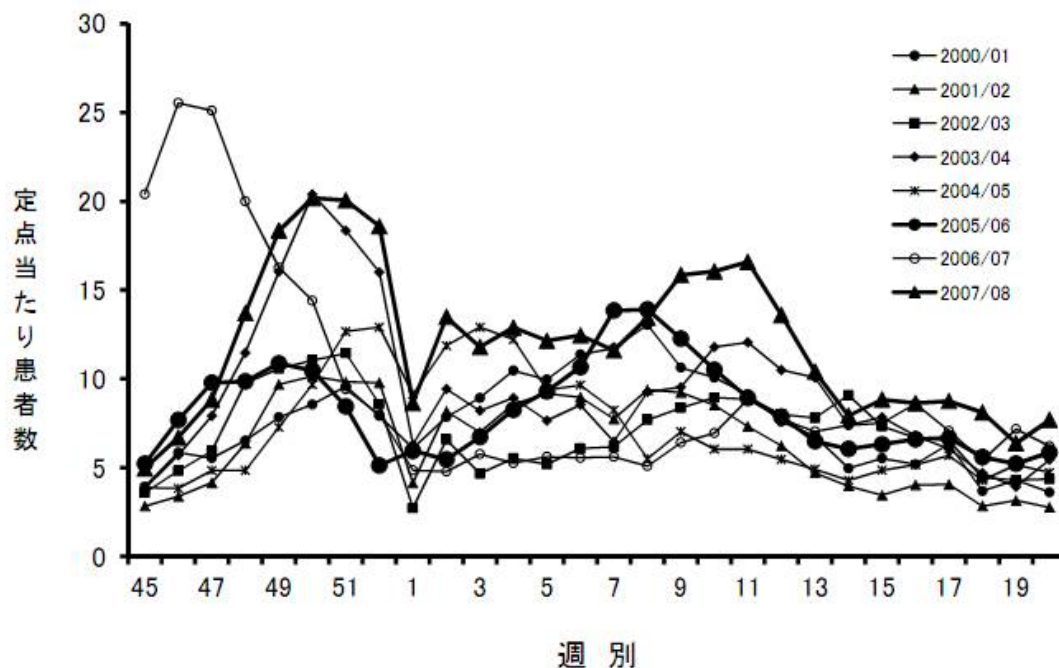


図2 2000～2008年の8シーズンにおける感染性胃腸炎患者数  
2000年～2008年の冬季(前年第45週～翌年第20週)における、岡山県感染症発生動向調査に基づく定点医療機関あたりの感染性胃腸炎患者数の

### 2.3 G9 型株の P 遺伝子型別結果

G9 型と同定された 124 検体（混合感染の 2 例を除く）について、P 型の同定を試みたところ、すべて P[8]型であることがわかった。

### 2.4 VP7 遺伝子解析結果

G9 型代表株として 2001/02 シーズンの 4 株，2005/06 シーズンの 6 株，及び 2007/08 シーズンの 5 株について，VP7 遺伝子の塩基配列及び予測アミノ酸配列について相互に比較を行った（表 2）。その結果，15 株の VP7 は遺伝子 (nt) 及びアミノ酸 (aa) 配列とも 98.8%以上という高い相同性を有していることがわかった。詳しくみると，同一シーズンの株間では，nt レベルで 99.6%以上，aa レベルで 99.4%以上という極めて高い相同性が認められたが，異なるシーズンの株間では nt で 98.8～99.6%，aa で 98.8～99.4%であり，シーズン間で VP7 遺伝子に若干の違いが認められた。

表 2 VP7 遺伝子及びアミノ酸配列相同性

G9型株(解析数)	相同性値(%)		
	2001/02株	2005/06株	2007/08株
2001/02 シーズン株 (4)	99.8～100* (100**)	99.0～99.3 (99.1～99.4)	98.8～99.1 (99.1)
2005/06 シーズン株 (6)		99.8～100 (99.4～100)	99.4～99.6 (98.8～99.1)
2007/08 シーズン株 (5)			99.6～100 (100)

\*遺伝子配列相同性値 \*\*アミノ酸配列相同性値

次に県内で検出された株と、これまでに世界各地で検出された G9 型株の遺伝的関連性をみるため、2001/02 シーズン、2005/06 シーズン及び 2007/08 シーズン代表株それぞれ 2 株ずつ計 6 株の VP7 遺伝子について、近隣結合法による系統解析を実施した。結果は図 3 に示すように、県内検出株はいずれも系統樹上の比較的近い部分に位置付けられ、大きくみると、1995 年以降に日本をはじめオーストラリア、ブラジル、アメリカ、中国など世界各地で検出された G9 型株と同じ系統に属することがわかった。

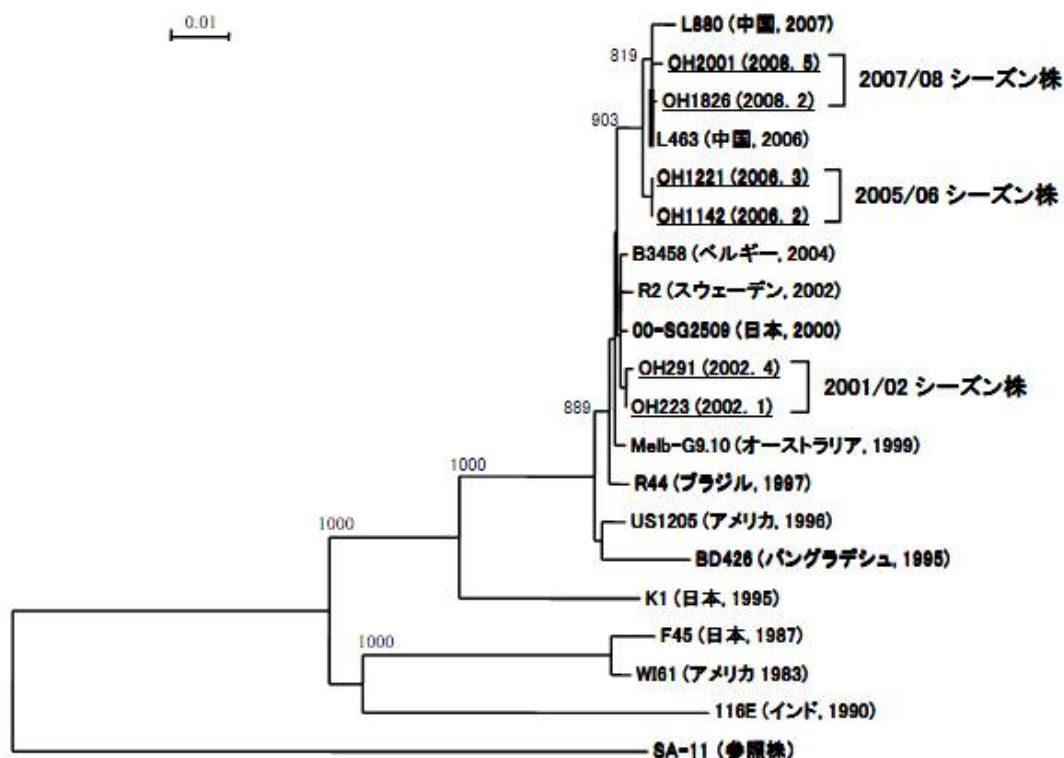


図3 VP7遺伝子配列の系統解析結果

サルARVのSA-11株(G3型)を参照株として、近隣結合法により系統解析を実施した(1,000回のブートストラップを行い、800以上の数値を系統樹上に示す)。県内で検出された株はアンダーラインで示し、括弧内に検出年月を記した。既知のG9型株については、その由来国及び分離年を括弧内に示す。なお、遺伝的距離(サイトあたりの塩基期待置換数)をスケールバーで示した。

## 2.5 VP4 遺伝子解析結果

VP7 の比較を行った 15 株について VP4 遺伝子配列を決定し、遺伝子及びアミノ酸配列の相同性を相互に比較した(表 3)。その結果、15 株の VP4 遺伝子は nt 配列で 98.7%以上、aa 配列で 98.5%以上という高い相同性を有していることがわかった。詳しくみると、同一シーズンの株間の比較、もしくは 2005/06 シーズン株と 2007/08 シーズン株の比較では、nt レベルで 99.3%以上、aa レベルで 99.4%以上という極めて高い相同性が認められたが、2001/02 シーズン株と他シーズン株との比較では、nt 配列で 98.7~99.9%、aa 配列で 98.5~99.1%とやや相同性値が低く、時間の経過とともに VP4 遺伝子に若干の変異が生じていることがわかった。

表3 VP4遺伝子及びアミノ酸配列相同性

G9型株(解析数)	相同性値(%)		
	2001/02株	2005/06株	2007/08株
2001/02 シーズン株 (4)	99.9~100* (99.7~100**)	98.9~99.9 (98.5~98.8)	98.7~99.1 (98.5~99.1)
2005/06 シーズン株 (6)		99.9~100 (100)	99.3~99.9 (99.4~99.7)
2007/08 シーズン株 (5)			99.4~100 (99.4~100)

\*遺伝子配列相同性値 \*\*アミノ酸配列相同性値

次に VP7 遺伝子の場合と同様に、各シーズン代表 2 株の VP4 遺伝子についても系統解析を実施した（図 4）。その結果、県内検出株は系統樹上のほぼ同様な部分にそれぞれ位置づけられ、大きくみると 2004~2005 年にヨーロッパやアジアなどで検出された G9P[8]型株の VP4 遺伝子と密接に関連していることが明らかになった。

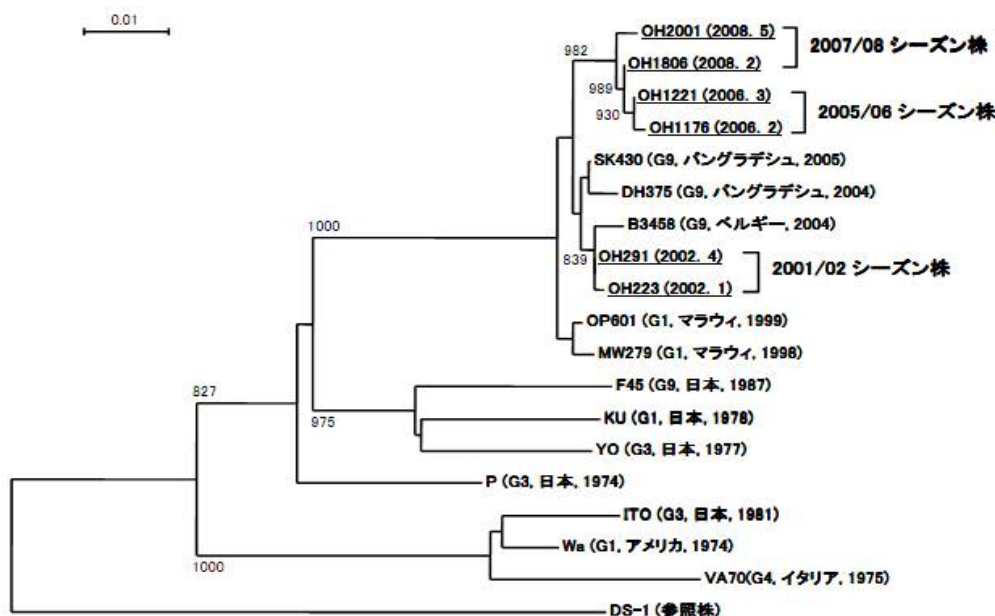


図4 VP4遺伝子配列の系統解析結果

ヒトARVのDS-1株(P[4]型)を参照株として、近隣結合法により系統解析を実施した(1,000回のブートストラップを行い、800以上の数値を系統樹上に示す)。県内で検出された株はアンダーラインで示し、括弧内に検出年月を記した。既知のP[8]型株については、そのG型、由来国及び分離年を括弧内に示した。なお、遺伝的距離(サイトあたりの塩基期待置換数)をスケールバーで示した。

### 3 考察

今回の調査により、8シーズン中5シーズンでG9型ARVが検出され、また検出数でも全体の22.8%とG1型(33.1%)及びG3型(31.1%)に次ぐ割合を占めるなど、県内において本ウイルスが広く流行していることが明らかになった。G9型は1983年にアメリカではじめて検出され、その後1988年にかけて日本やユーゴスラビアでも確認されたが、その時点ではヒトからごく稀に検出されるのみであった。ところが1990年代半ば頃から、世界各地でG9型の検出報告が相次ぐようになり、現在では従来からヒトの間で流行しているG1~G4型に次ぐ第5のG型として注目されている。日本においても、Zhouらが全国5カ所の病院(北海道、東京、舞鶴、大阪、佐賀)において1998年頃からG9

型の陽性例がしだいに増加したことを報告している。特に、G9 型の割合が 1998/99 シーズンの東京で 52.9%、及び 1999/2000 シーズンの佐賀で 78.4%に達したことは注目に値する。さらに Zhou らは、1996 年以降に我が国で検出された計 58 株の G9 型についてその P 型を調べ、57 株が P[8]型であったと報告している。今回の調査で、岡山県においても 2001/02 シーズンに G9 型がはじめて確認され、しかも県内で検出された株の VP4 がいずれも P[8]型であったことから、1990 年代後半頃から始まった全国的な G9 型流行が、2001/02 シーズンには岡山県にも波及し、その後県下に広まったものと考えられた。

2001/02 シーズンに県内に侵入した G9 型が、当該シーズンには ARV 全体の 28.8%を占めるという比較的大きな流行を起こした。翌シーズンにもわずかながら G9 型が検出されたものの、その後 2 シーズンは全く検出されなくなった。しかしながら、2005/06 及び 2007/08 シーズンには G9 型が ARV 全体のそれぞれ 55.4%及び 72%を占めるなど、年を経るごとに流行間隔が短くなるとともに、規模も拡大する傾向にあることが明らかになった。また、G9 型が高率に検出された 2005/06 及び 2007/08 シーズンの ARV 流行時期における、感染性胃腸炎患者数がいずれも例年を上回っていたことなどから、県下全域で当該ウイルスが流行していたことが強く示唆された。その一方で、今回検出された G9 型株はいずれも P 型が P[8]であり、さらに VP7 及び VP4 遺伝子解析結果から、今回の株が遺伝的にも極めて近縁であることがわかった。これらのことは、ほぼ類似した性状のウイルスが繰り返し流行していたことを示している。G9 型がこのような流行形態を取るに至った背景について明確なことはわからないものの、G9 型は近年新たに出現した型のため住民の抗体保有率が全体として低かったことが基本にあり、さらに 2001/02 シーズンに県内へ侵入したウイルスが県下全域へと広がるのに数年間を要したこと、その後は G9 型に対する抗体を保有しない 2 歳以下の乳幼児がある程度蓄積する必要があったために、隔年で流行を繰り返したのではないかと考えられた。今後、ARV の病原性に関与すると考えられている非構造蛋白 NSP4 の比較を行うなど、さらに詳しい解析により流行拡大要因について明らかにする必要がある。

現在、第 2 世代 ARV ワクチンの導入が世界的に進められており、我が国でも将来的に導入される可能性がある。第 2 世代ワクチンのうち世界的に最も導入が進んでいるのは GlaxoSmithKline 社が開発した Rotarix<sup>®</sup>と、Merck 社が開発した RotaTeq<sup>®</sup>である。これらのワクチンは、いずれも弱毒生ワクチンであるが、Rotarix<sup>®</sup>はヒト ARV の 89-12 株 (G1P[8]) のみを用いた単価ワクチンであり、一方の RotaTeq<sup>®</sup>は、ウシ ARV の WC3 株に G1～G4 型の VP7 遺伝子と P[8]型の VP4 遺伝子を組み込んだ遺伝子分節組換え体ワクチンである。しかしながら、いずれのワクチンにも G9 型は含まれていないため、本ウイルスに対する有効性については未知数である。ただし、両ワクチンとも P[8]型を含んでいるため、VP4 を介した免疫により G9P[8]型 ARV に対して感染防御が期待できるものの、2005/06 及び 2007/08 シーズンのように G9P[8]型が ARV の過半数を占めるような流行において、ワクチンがどの程度有効性を示すのかは、今後の検討課題であると思われる。また、ワクチン導入にともなって G1～G4 型の感染が抑制された場合に、G9 型などそれ以外の型の ARV がどのような流行動向を示すかについても注意深く監視する必要があるだろう。

平成 20～24 年度 調査研究の概要

課題名	【7】食の安全に関する調査研究 (1) 食品中の有害化学物質に関する調査研究 (2) 食品の表示の適正化・安全性に関する調査研究
担当科名	保健科学部 衛生化学科

研究概要	<ul style="list-style-type: none"> <li>➢ 健康確保のための食品に係る実態調査が必要となっている。</li> <li>➢ 事故時等における原因究明のための迅速検査法を確立する。</li> <li>➢ 現在公定法のない食品等の検査法を確立する。</li> <li>➢ 食品中の有害化学物質に関する調査研究について             <ul style="list-style-type: none"> <li>◇ 残留農薬ポジティブリスト制に対応した一斉分析が可能な物質の拡充を図る。</li> <li>◇ 行政検査と連動して分析機器（液体クロマトグラフ質量分析計等）を用いた残留農薬、自然毒関係化合物、動物用医薬品等の迅速分析法を確立する。</li> </ul> </li> <li>➢ 食品の表示の適正化及び安全性について             <ul style="list-style-type: none"> <li>◇ 実態調査を行う中で、アレルギー物質及び遺伝子組み換え食品の検査法を確立し、多種多様な検査に対応する。</li> </ul> </li> </ul>							
研究成果	<ul style="list-style-type: none"> <li>➢ 農作物中の残留農薬は 78 項目、畜水産物中の動物用医薬品検査は 32 項目について一斉分析可能となった。</li> <li>➢ 自然毒（リコリン，テトロドトキシン，アコニチン及びメサコニチン並びにアトロピン及びスコポラミン）について迅速かつ高感度分析が可能になった。</li> <li>➢ ふぐ毒（テトロドトキシン）は、液体クロマトグラフ質量分析計を使用することで、公定法（マウス試験法）より高感度な分析が可能となった。</li> <li>➢ トリカブトの毒素（アコニチン及びメサコニチン）やチョウセンアサガオ等の毒素（アトロピン及びスコポラミン）のいずれも迅速かつ高感度な分析を確立した。</li> <li>➢ アレルギー物質を含む市販品食品検査を実施し、違反事例 5 件（他の加工品の原料として使用していた原料の混入及び表示忘れ）が明らかとなった。</li> <li>➢ 遺伝子組み換え食品検査では、安全性審査済遺伝子は規定の範囲（5%）内で検出されたが、安全性未審査遺伝子はまったく検出されなかった。</li> </ul>							
今後の課題	<ul style="list-style-type: none"> <li>➢ 同時分析できる有害物質を拡充していく必要がある。</li> <li>➢ 検査法を確立した物質については、自然界での実際の含有濃度等について実態調査を実施する必要がある。</li> <li>➢ 新たに開発される遺伝子組換え食品や脱法ドラッグ、健康食品等にも対応できるよう、技術開発を継続する必要がある。</li> </ul>							
実施内容	実施内容	年度	H20	H21	H22	H23	H24	
	有害物質分析法		—————					
	アレルギー物質		—————					
	遺伝子組換え食品		—————					
	計画事業費		1,415	707	685	637	624	単位： 千円
	一般財源		1,415	707	685	637	624	
外部資金等								
人件費		6,400	6,400	6,400	6,400	6,400		
総事業コスト		7,815	7,107	7,085	7,037	7,024		

調査研究概要【食の安全に関する調査研究】

センター 年報 掲載	H20	加工食品中の有機リン系農薬一斉分析法の検討	
	H20	家庭用エアゾル製品中のメタノール分析における疑義事例の確認法の検討	
	H20	遺伝子組換えトウモロコシ（DAS59132）における組換え DNA 検出法の検証	
	H21	LC/MS/MS を用いた不揮発性腐敗アミンの一斉分析法の検討	
	H21	アレルギー物質を含む食品検査について －原材料に「あみ」を含む加工食品の分析－	
	H22	厚生労働省ガイドラインによる残留動物用医薬品一斉分析法の妥当性評価	
	H23	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）	
	H23	健康食品からの医薬品成分検出事例について	
	H24	LC/MS/MS を用いた自然毒の迅速分析法の検討 <投稿中>	
	H24	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） <投稿中>	
学会 発表	H20	クロロフェノール類を異臭の原因物質とした水煮マッシュルームの苦情事例	第54回中国地区公衆衛生学会
	H23	自然毒の機器分析について －ふぐ毒及び植物毒について－	平成23年度保健所検査業務研究会発表会
	H24	LC/MS による化学物質分析法の基礎的研究（55）	第21回環境化学討論会
	H24	健康食品からの医薬品成分検出事例について	第58回中国地区公衆衛生学会

## 健康食品からの医薬品成分検出事例について

浦山豊弘, 肥塚加奈江, 赤木正章, 山本淳（衛生化学科）,  
鎌倉浩之, 合田幸広（国立医薬品食品衛生研究所）

### 要 旨

いわゆる健康食品中の医薬品成分の分析について検討を行った。抽出液を希釈して測定し、類似物質の標準品との保持時間の比較、文献の標準品スペクトルとの比較などにより、対象物質の含有を確定した。

#### 1 はじめに

近年、「無承認無許可医薬品」に該当する医薬品成分が含まれたいわゆる「健康食品」が全国で発見されている。当該成分は国内や海外で承認されている医薬品と同一又は構造が類似しているため、健康被害が発生するおそれが否定できない。県内でも健康食品から勃起不全治療薬（ED 治療薬）の主成分であるシルденаフィルの類似成分が検出されたので、その概要について報告する。

#### 2 結果及び考察

##### 2.1 希釈抽出液の測定結果

あらかじめ調製した 1000 倍希釈抽出液を scan 測定したマスクロマトグラムを図 1 に示す。2 本のシャープなピークが現れ、岡山市への通報において健康食品に含まれているとされたアミノタダラフィル及びヒドロキシホモシルденаフィル（以下、分析対象物質という）のプロトン付加分子と同じ  $m/z$  を持つ物質を大量に含有していることがわかった。

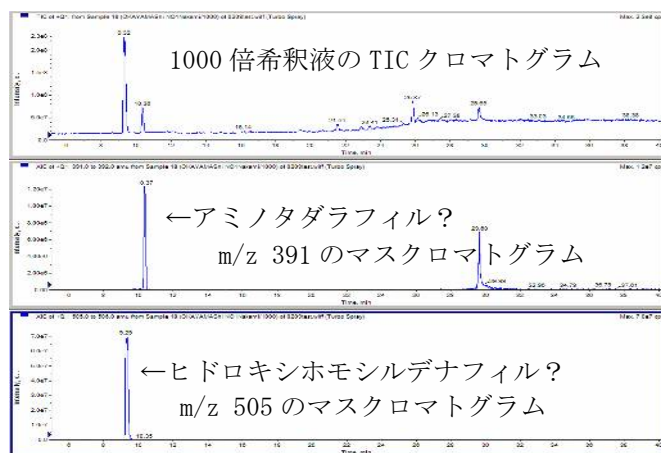


図 1 1000 倍希釈液のマスクロマトグラム

##### 2.2 類似物質との保持時間の比較

分析依頼を受けた時点では対象物質の標準品を所持していなかったため、類似物質の標準品と保持時間を比較した。（図 2）

抽出液の 1000 倍希釈液から検出された 2 本のピークは、いずれも類似物質の保持時間より少し早い時間となっており、厚労省からの通知資料と一致していた。



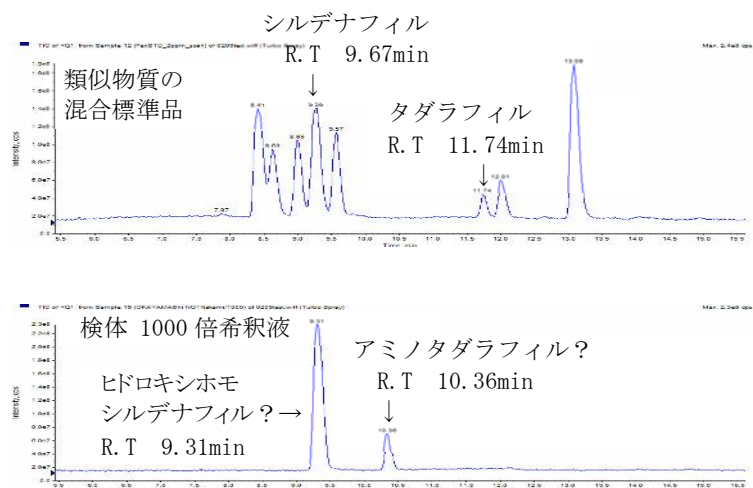


図 2 類似物質との保持時間の比較

### 2.3 イオンスペクトルの厚生労働省通知との比較

厚生労働省通知のマススペクトル(図 3,4)と検体のマススペクトル(図 5)を比較したところ、ヒドロキシホモシルденаフィロと思われるピークのマススペクトルは通知と類似していたが、アミノタダラフィロと考えられるピークのマススペクトルでは検体では  $m/z$  269 が強いのにに対し、通知では  $m/z$  262 及び 268 が強い点が異なっていた。しかし、フラグメントイオンは測定機器の機種により異なる場合があるので、アミノタダラフィロである可能性も否定できなかった。

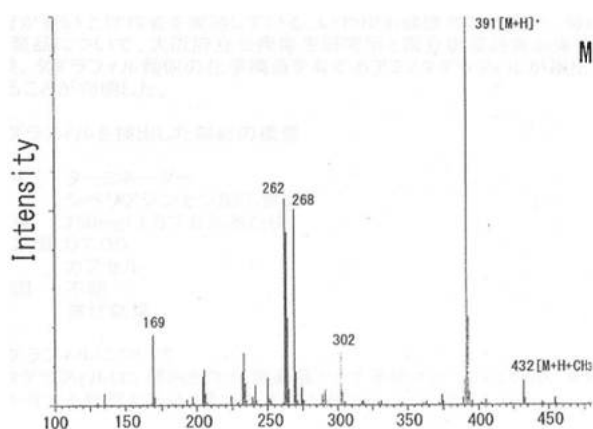


図 3 アミノタダラフィロの厚生労働省通知のマススペクトル

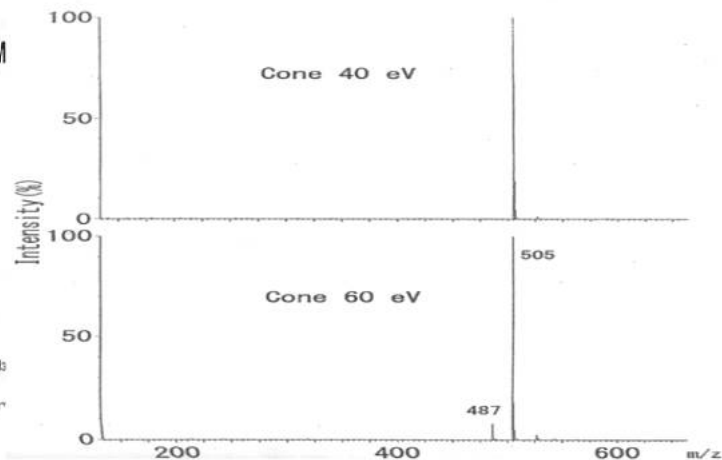


図 4 ヒドロキシホモシルденаフィロの厚生労働省通知のマススペクトル

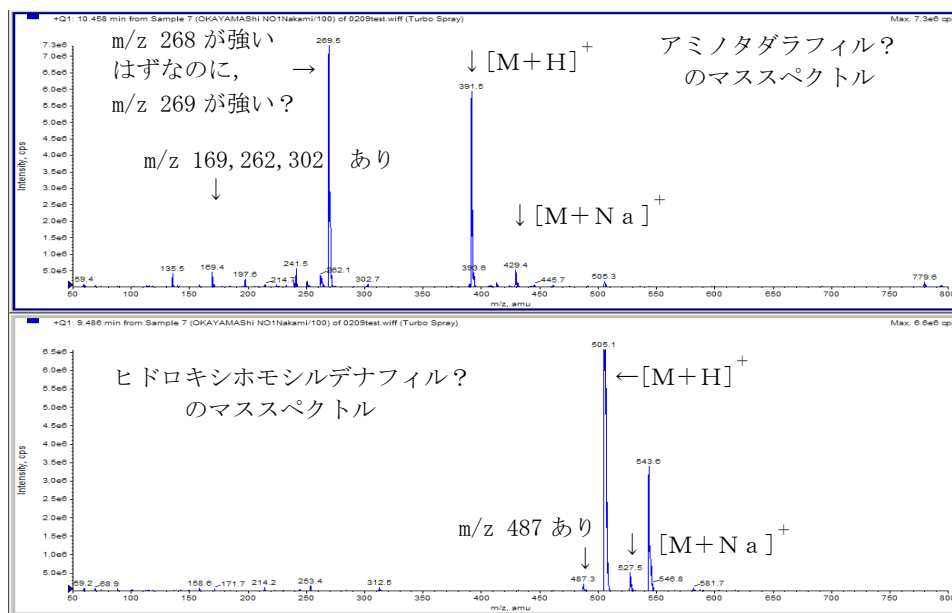


図 5 検体のマススペクトル

以上のデータを国立医薬品食品衛生研究所に提供し、ヒドロキシホモシルデナフィル及びアミノタダラフィルの標準品を供与して頂くこととした。

## 2.4 標準品との比較(保持時間及びマススペクトル)

国立医薬品食品衛生研究所から供与された両物質の標準品と検体の保持時間及びマススペクトルを比較したところ、いずれも一致した。(図 6,7)

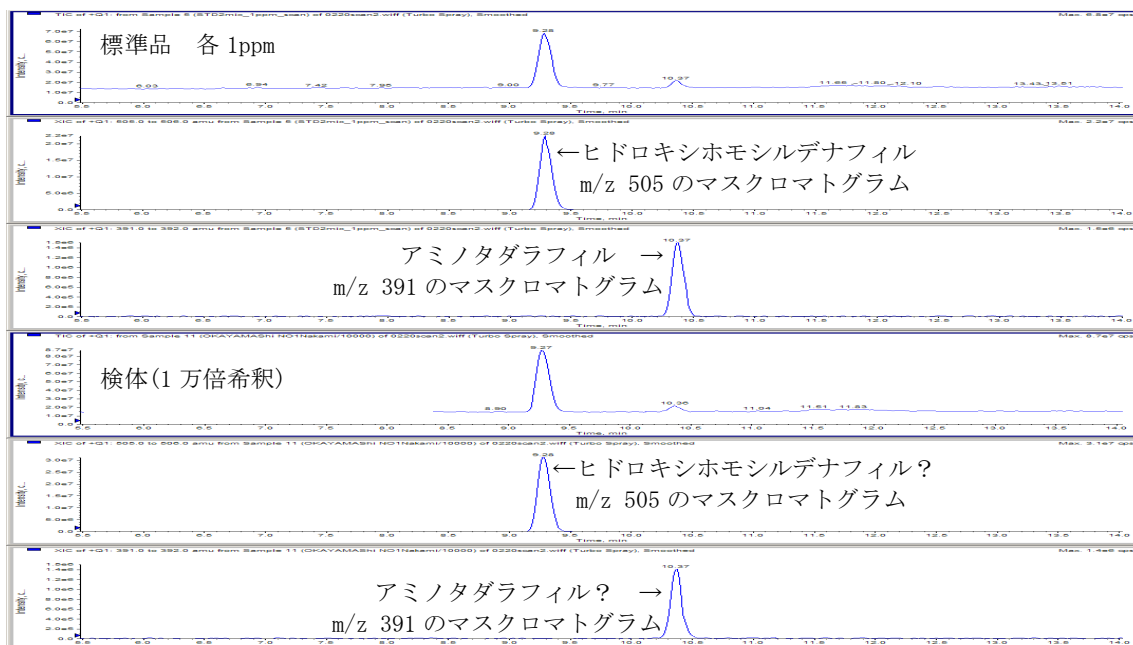


図 6 標準品と検体のマスクロマトグラムの比較

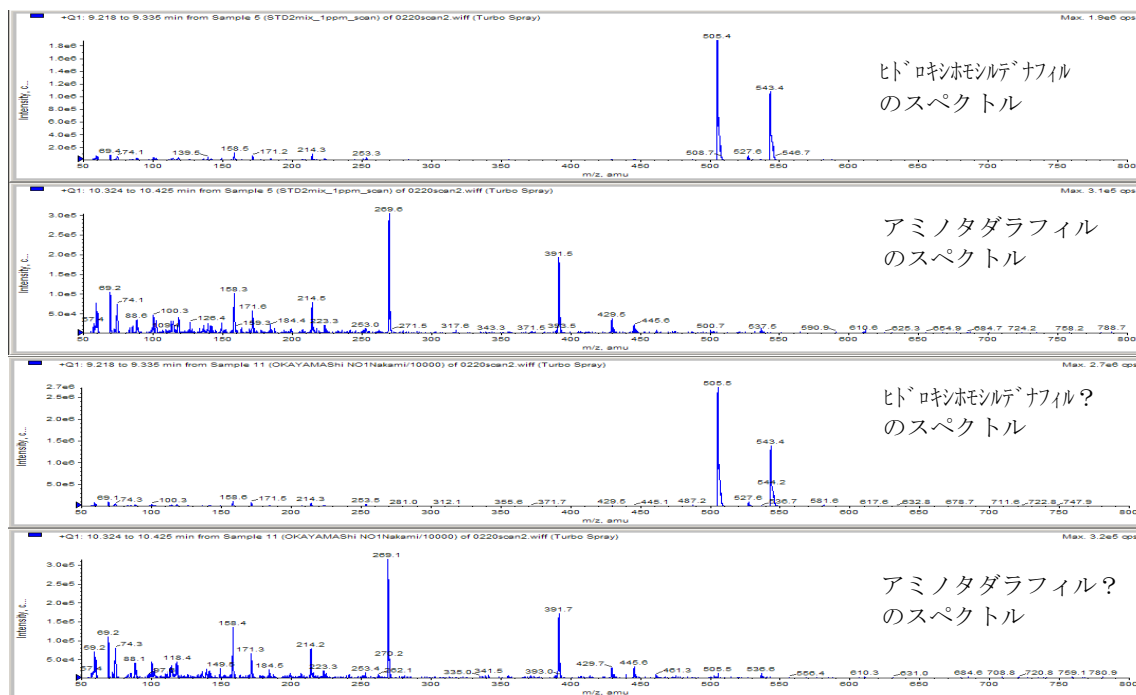


図7 標準品と検体のマスペクトルの比較

## 2.5 標準品との比較（プロダクトイオンスペクトル）

保持時間とマスペクトルが一致したことから、同一物質であると判断可能であるが、念のためプロダクトイオンスペクトルを測定(図 8,9)し比較したところ、こちらも一致したため同一物質であると判断した。

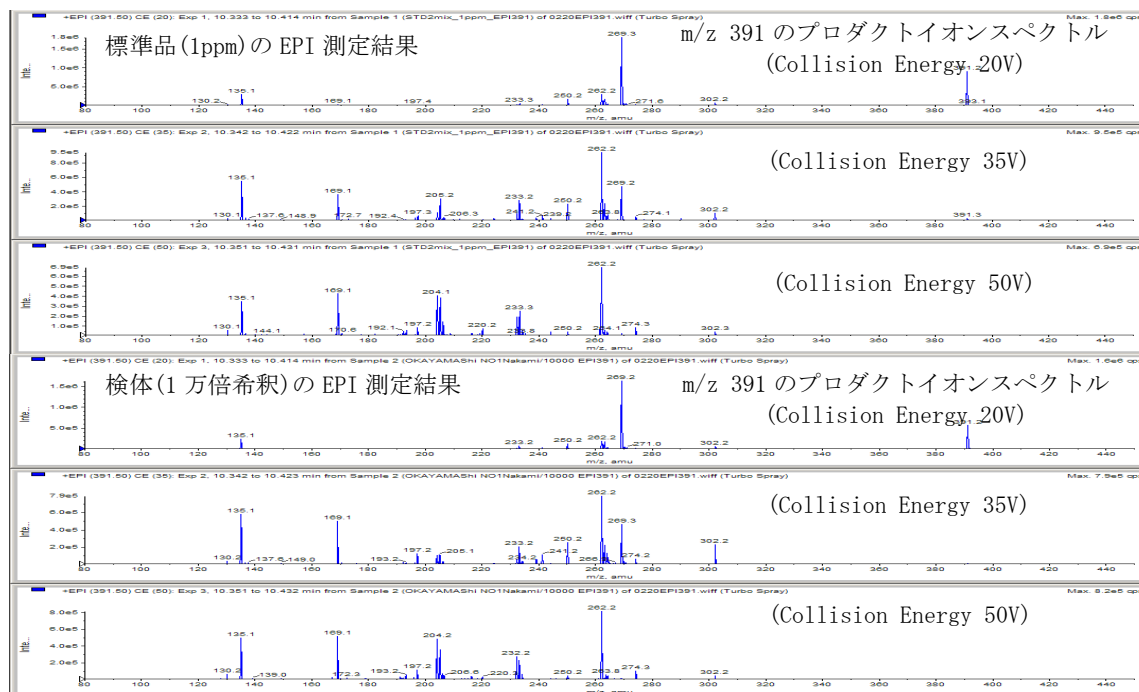


図8 標準品と検体のプロダクトイオンスペクトルの比較 (m/z 391)

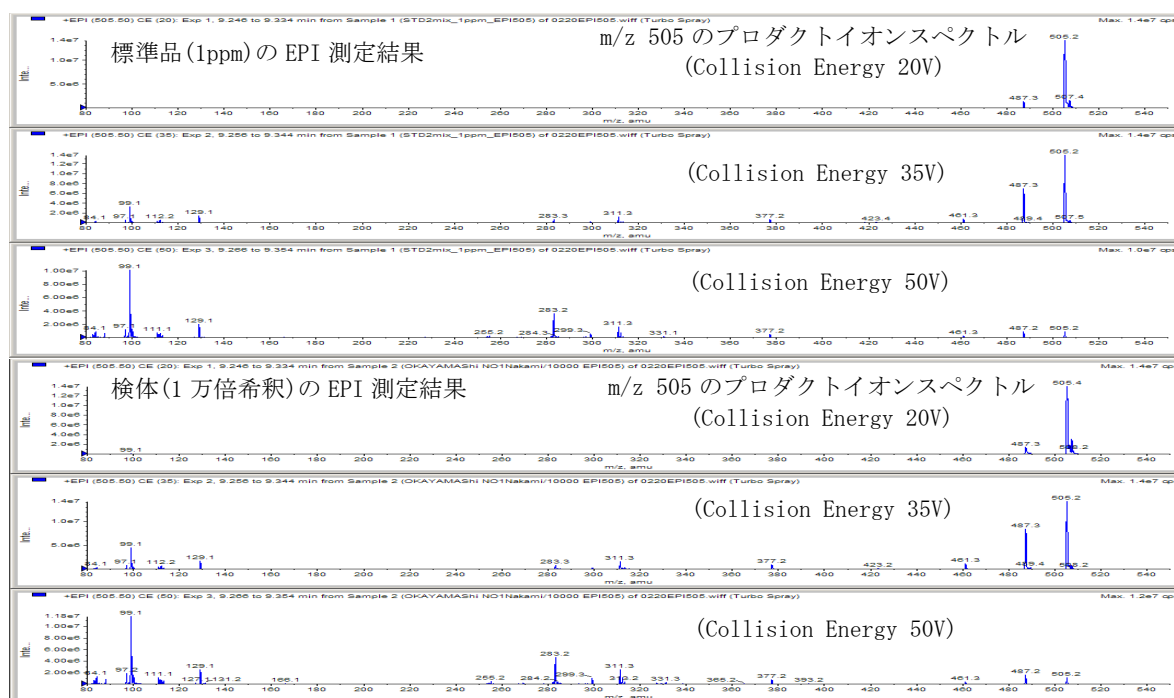


図 9 標準品と検体のプロダクトイオンスペクトルの比較 (m/z 505)

## 2.6 検量線

検量線を図 10,11 に示す。

アミノタダラフィルは  $0.5 \sim 10 \mu\text{g/mL}$ 、ヒドロキシホモシルデナフィルは  $0.1 \sim 2 \mu\text{g/mL}$  の範囲で直線性を示した。

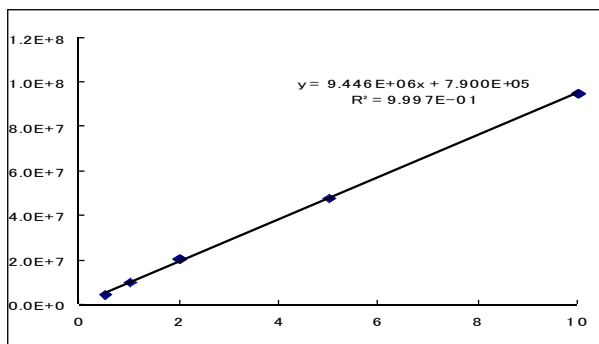


図 10 アミノタダラフィルの検量線  
( $0.5 \sim 10 \mu\text{g/mL}$ )

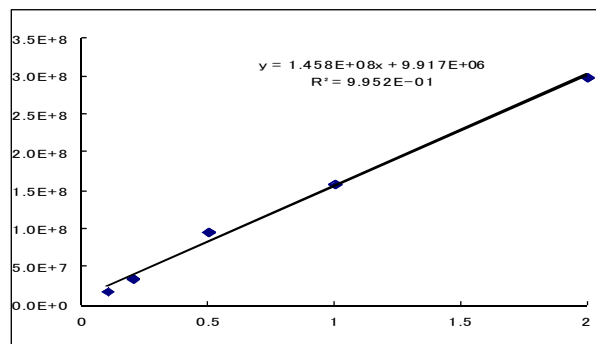


図 11 ヒドロキシホモシルデナフィル  
の検量線 ( $0.1 \sim 2 \mu\text{g/mL}$ )

## 2.7 未知試料測定時の留意点

あらかじめ調製した抽出原液を希釈せずに scan 測定したマスクロマトグラムを図 12 に示す。

図上段の TIC では雑多な成分が混合されている状態に見え、特定の成分が多く入っている様子は読み取れない。また、分析対象物質のプロトン付加分子と同じ  $m/z$  391,  $m/z$  505 のマスクロマトグラム(同図中段・下段)を確認しても、形状の悪いブロードなピークが確認されるだけで、特定の成分のピークを表していることは読み取れない。

このように、含有濃度が高すぎることで逆に含有を見落とす可能性があるため、注意が必要である。見落としを防止するためには、図の左側に示されたスケールが同じ値であることに注目することや、飽和した時のピーク形状の特徴を把握しておくことが有効であると考えられる。

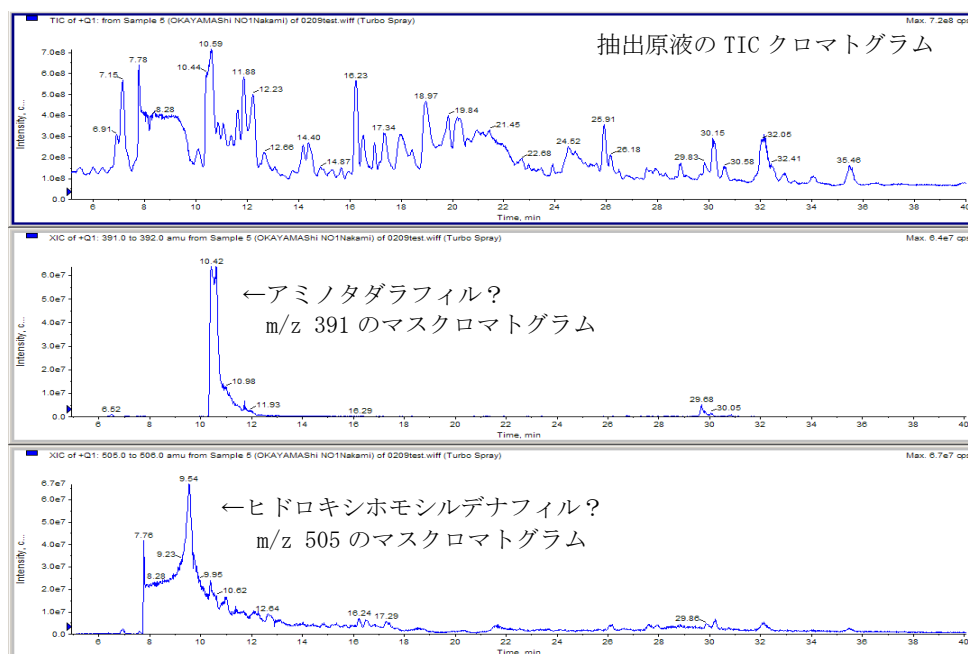


図 12 抽出原液のマスクロマトグラム

### 3 まとめ

- 1) 抽出液を 1000 倍に希釈して測定することで、マスクロマトグラム上に良好なピークとマススペクトルが得られた。
- 2) 対象物質の標準品を所持していない状態で、類似物質の標準品との保持時間の比較、厚生労働省通知のスペクトルとの比較から対象物質の含有を推定することが可能であった。
- 3) 標準品を入手後、推定どおりであったことが確認された。

# 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)

浦山豊弘, 肥塚加奈江, 赤木正章, 山本 淳 (衛生化学科),

## 要 旨

既報においてサルファ剤を主とする動物用医薬品 21 種について LC/MS/MS を用いた一斉分析法を検討し, その妥当性について厚生労働省ガイドラインに基づき評価を実施した。今回, 既報と同じ分析法を用い, 対象物質追加の検討を行ったので, その概要を報告する。

### 1 はじめに

動物用医薬品は, 家禽等を病気や寄生虫から守るために用いられているが, その食品への残留基準については, 食品衛生法で設定されているが, 個別の基準が設定されていないものについては, 平成 18 年 5 月 29 日付けのポジティブリスト施行以降 0.01ppm の一律基準を超えて残留してはならないとされている。

このような経緯や食への安全・安心に対する県民の意識高まりを踏まえ, 残留動物用医薬品の検査を平成 22 年度から実施している。

動物用医薬品の分析法としては, 厚生労働省から LC/MS/MS を用いる一斉分析法が示されているが, 同分析法は水系溶媒であるメタリン酸を多く用いて抽出を行った後, これを濃縮する作業があるなど煩雑で時間がかかる難点があった。そのため, 既報において, 文献を参考に有機溶媒と二種類の固相カラムを用いることにより簡単かつ確実にクリーンアップを行える一斉分析法を開発した。

今回, 22 物質を追加候補として既報と同じ分析法により分析し, 厚生労働省通知のガイドライン (以下「妥当性ガイドライン」という。)に基づき妥当性評価を実施した。

### 2 結果及び考察

#### 2.1 検討対象物質について

既報の LC/MS/MS を用いた動物用医薬品 21 種の一斉分析法を用い, 同じ分析法で分析可能な動物用医薬品の追加を検討した。(表 1)

表 1 検討対象物質

既報の対象物質	エトパベート, オルメトプリム, 酢酸メレンゲステロール, スルファキノキサリン, スルファクロルピリダジン, スルファジアジン, スルファジミジン, スルファジメトキシシ, スルファチアゾール, スルファドキシシ, スルファニトラン, スルファピリジン, スルファメトキサゾール, スルファメトキシピリダジン, スルファメラジン, スルファモノメトキシシ, ゼラノール, チアベンダゾール, チアンフェニコール, トリメトプリム, レバミゾール	
追加 検討 物質	殺虫剤	アレスリン, エマメクチン B1a, テメホス, トリクロルホン, ファムフル, フェノブカルブ
	抗生物質	チアムリン, チルミコシ, モネンシ, ラサロシド, リンコマイシ
	合成抗菌剤	スルファセタミド, ダノフロキサシ, ピリメタミ, フロルフェニコール
	ステロイド系消炎剤	デキサメタゾン, ヒドロコルチゾン, プレドニゾロン
	寄生虫駆除剤	2-アセチルアミノ-5-ニトロチアゾール, クロルスロン
	鎮静剤	キシラジン
	成長促進剤	クレンプテロール

検討対象項目のうち, エマメクチン B1a, ダノフロキサシ, モネンシの 3 物質は, LC/MS/MS での感度が悪く, 質量分析計の最適化をすることができなかつたため, 測定対象から外すこととした。

## 2.2 新規追加物質のイオン化温度の検討

ESI のイオン化温度を 350°C, 400°C, 500°C, 600°C と変更し比較したところ(表 2), イオン化温度が高いほどピーク面積が大きくなる物質が多かったため, 既報と同じ 600°C とした。

表 2 イオン化温度とピーク面積 (500°Cでのピーク面積を 100 とした値)

	350°C	400°C	500°C	600°C
アレスリン	107	119	100	87.7
キシラジン	82.0	84.4	100	111
クレンブテロール	77.9	87.0	100	124
スルファセタミド	99.1	98.0	100	103
チアムリン	77.0	85.0	100	107
チルミコシン	105	98.2	100	109
デキサメタゾン	88.1	99.1	100	97.5
テメホス	33.5	44.9	100	142
トリクロルホン	100	101	100	114
ヒドロコルチゾン	79.1	88.0	100	110
ピリメタミン	89.3	93.9	100	121
ファミフル	97.2	101	100	106
フェノブカルブ	118	108	100	99.4
プレドニゾン	96.4	100	100	113
リンコマイシン	83.5	89.9	100	112
平均	88.9	93.2	100	110

## 2.3 妥当性評価試験

厚生労働省通知のガイドライン (以下, 「妥当性ガイドライン」という) に従って妥当性評価を実施した。

添加量は試料 1g に対し定量限界 (一律基準濃度) である 0.01  $\mu$ g 添加の低濃度と, 高濃度として 0.1  $\mu$ g 添加の 2 種類で実施した。

妥当性評価試験の結果は表 3 のとおりで, その概要は次のとおりであった。

- 1) 2-アセチルアミノ-5-ニトロチアゾール, スルファセタミド, チアムリン, ヒドロコルチゾン, ピリメタミン, ファムフル, フェノブカルブ, フロルフェニコールの 8 物質は真度(回収率), 併行精度, 室内精度のいずれも妥当性ガイドラインの目標値を満たしていた。
- 2) リンコマイシンは, 鶏肉及びさけへの低濃度添加試料(0.01  $\mu$ g 添加)で真度(回収率)が目標よりやや低めのそれぞれ 68.7%, 67.4%であったが, 併行精度及び室内精度は妥当性ガイドラインの目標値を満たしており, できるだけ多くの項目を一斉分析できるよう, モニタリング対象項目に加えることとした。
- 3) アレスリンは, 鶏肉の低濃度添加試料(0.01  $\mu$ g 添加)において夾雑物質のピークが重なって定量不能となり, 選択性の目標を満たさなかった。
- 4) クロルスロン, ラサロシドは, 不規則に回収率が変動する傾向にあり, 目標値を満たさなかった。
- 5) クレンブテロール, デキサメタゾン, プレドニゾロンは, 基準値が低いか不検出であり, 0.01ppm では下限値として十分でない項目である。

表3 妥当性評価試験結果

	添加量	鶏肉(もも)			さけ			イカ			
		回収率 (真度) (%)	併行 精度 (RSD%)	室内 精度 (RSD%)	回収率 (真度) (%)	併行 精度 (RSD%)	室内 精度 (RSD%)	回収率 (真度) (%)	併行 精度 (RSD%)	室内 精度 (RSD%)	
目標値	0.1 μg	70~120	15 >	20 >	70~120	15 >	20 >	70~120	15 >	20 >	
	0.01 μg	70~120	25 >	30 >	70~120	25 >	30 >	70~120	25 >	30 >	
2-アセチルアミノ-5-ニコチアゾール	0.1 μg	89.6	7.5	5.4	88.8	3.5	3.9	80.9	4.7	12.6	
	0.01 μg	87.2	9.2	15.1	90.2	15.0	5.1	76.9	7.4	7.6	
アレスリン	0.1 μg	85.8	6.7	19.1	99.9	4.4	3.6	84.0	5.9	5.1	
	0.01 μg	—	—	—	81.8	13.3	46.0	91.0	6.7	17.2	
クレンプテロール	0.1 μg	81.3	8.5	19.2	91.9	3.5	4.5	86.9	3.9	9.1	
	0.01 μg	63.4	11.5	27.6	71.9	8.3	7.7	76.9	9.4	7.0	
クロルスロン	0.1 μg	74.5	10.4	39.0	91.3	2.2	3.6	83.1	4.1	8.3	
	0.01 μg	77.5	29.0	46.1	104.1	15.8	10.7	87.0	8.1	15.1	
スルファセタミド	0.1 μg	101.6	7.0	14.8	107.4	3.1	1.0	92.0	6.2	5.9	
	0.01 μg	81.9	13.8	24.5	97.9	7.0	11.7	75.1	16.1	14.1	
チアムリン	0.1 μg	90.4	7.2	18.2	97.8	6.2	8.9	91.2	9.2	16.3	
	0.01 μg	82.0	9.6	28.7	98.2	10.9	15.7	92.4	9.8	21.8	
デキサメタゾン	0.1 μg	98.1	8.5	19.4	108.5	7.8	6.4	100.0	9.8	8.8	
	0.01 μg	99.7	28.3	28.4	110.8	10.2	18.4	90.3	6.0	17.0	
ヒドロコルチゾン	0.1 μg	94.1	7.7	17.6	107.4	3.6	5.1	93.2	5.2	9.0	
	0.01 μg	102.1	13.2	22.6	107.5	10.4	17.8	79.9	10.3	18.0	
ピリメタミン	0.1 μg	88.0	7.7	17.0	96.5	3.8	2.7	91.7	4.8	11.3	
	0.01 μg	73.0	4.8	27.9	70.8	8.3	6.8	75.4	5.0	21.7	
ファムフル	0.1 μg	93.1	5.4	16.0	106.7	3.3	6.4	94.6	6.5	3.1	
	0.01 μg	93.5	8.4	19.5	111.3	14.0	24.3	83.3	8.3	5.5	
フェノブカルブ	0.1 μg	89.4	3.4	20.0	103.5	2.2	4.0	92.9	4.5	8.9	
	0.01 μg	93.0	7.3	11.8	85.6	14.5	11.9	90.6	9.2	10.9	
プレドニゾロン	Pos	0.1 μg	99.2	4.9	17.0	109.2	3.8	1.9	97.0	8.7	9.6
		0.01 μg	83.9	14.9	28.7	94.8	9.6	16.0	84.2	12.2	10.3
	Neg	0.1 μg	87.7	7.6	7.2	92.8	7.4	5.5	85.3	4.0	10.0
		0.01 μg	88.8	15.2	14.7	96.6	17.8	5.9	88.9	7.8	11.6
フロルフェニコール	0.1 μg	105.9	6.5	7.5	103.7	5.2	11.3	98.2	8.9	14.9	
	0.01 μg	112.6	14.6	7.5	113.0	9.9	14.8	83.2	14.3	12.0	
ラサロシド	0.1 μg	82.1	19.8	46.7	57.9	6.4	35.2	68.6	6.0	7.2	
	0.01 μg	77.5	3.8	62.7	47.0	11.0	41.3	68.7	5.8	14.7	
リンコマイシン	0.1 μg	80.4	10.0	14.5	85.3	7.1	15.0	88.4	3.6	11.0	
	0.01 μg	68.7	4.2	16.1	67.4	6.1	23.8	80.1	7.2	8.8	

網掛け部は、ガイドラインの目標値を満足していない。

ヒドロコルチゾンの下線部は、添加元の検体の含有量を減じた値。

## 2.4 添加回収試験

添加回収試験 (n=1) の結果を表 4 に示した。豚肉、えび、アカニシ貝、カラフトシシヤモは試料 1g に対し 0.1 μg 添加と 0.01 μg 添加の 2 濃度で実施、かに及びたこは 0.1 μg 添加のみを行った。

ピリメタミンは、表 3 では妥当性ガイドラインの目標値を満たしていたが、豚肉への 0.01 μg 添加試料で回収率 38% となったため、今回は対象項目への追加を見送った。



表 4 添加回収試験結果（回収率%）（n=1）

添加量(試料 1g に対し)	0.1 $\mu$ g						0.01 $\mu$ g				
	えび	かに	たこ	豚肉	アカシ貝	カラフト シヤモ	えび	豚肉	アカシ貝	カラフト シヤモ	
2-アセチルアミノ-5-ニトロチアゾール	89	89	83	89	90	69	102	105	98	117	
アレスリン	63	78	74	79	64	95	59	64	63	108	
クレンブテロール	54	89	76	66	86	79	77	53	92	79	
クロルスロン	83	83	82	90	91	86	71	84	103	56	
スルファセタミド	105	92	86	69	64	88	84	110	82	60	
チアムリン	63	93	77	67	81	110	75	58	85	135	
デキサメタゾン	77	93	95	87	85	108	100	132	152	151	
ヒドロコルチゾン	102	90	79	<u>74</u>	96	<u>82</u>	134	<u>97</u>	96	<u>53</u>	
ピリメタミン	58	85	69	64	79	92	68	38	80	70	
ファミール	94	92	86	85	87	88	83	71	120	117	
フェノバルブ	83	91	83	83	84	88	110	93	107	79	
プレドニゾン	Pos	82	92	85	81	98	94	100	62	110	81
	Neg	95	106	95	90	88	88	125	77	96	66
フロルフェニコール	92	102	96	92	94	120	121	83	92	93	
ラサロシド	80	67	70	74	41	47	53	75	4	34	
リンコマイシン	70	93	71	59	94	72	79	58	94	59	

※ヒドロコルチゾンの下線部は、添加元の検体の含有量を減じた値。

## 2.5 既報の対象物質の確認

既報において豚肉、えび、さけを用いて妥当性評価済である 21 物質について、最終液量を 1ml から 2ml に変更したため選択性及び真度の確認が必要になったため、今回の追加対象項目と併せて鶏肉(もも)、さけ、イカを用いて妥当性評価を実施した。

結果を表 5 に示す。レバミゾール、オルメトプリム、スルファジアジン、トリメトプリムについて、妥当性ガイドラインの目標値を満たさなかった。なお、レバミゾールでは、同位体標準物質(サロゲート)を用いた場合でも満たす必要のある 40%も満たさない検体が複数あり、表 6 に示すとおり回収率が低い検体は添加から測定までの日数が長いほど多い傾向にあったので、分解性によるものと考えられた。

既報においては妥当性ガイドラインの目標値を満たさなかった項目もサロゲートの使用により妥当な分析法と判断されているが、今回はサロゲートを使用しなくても目標値を満たす項目に限定することとし、これら 4 項目を 23 年度の報告項目から外した。

表 5 既報の物質の妥当性評価試験結果

	添加量	鶏肉(もも)			さけ			イカ			
		回収率 (真度) (%)	併行 精度 (RSD%)	室内 精度 (RSD%)	回収率 (真度) (%)	併行 精度 (RSD%)	室内 精度 (RSD%)	回収率 (真度) (%)	併行 精度 (RSD%)	室内 精度 (RSD%)	
目標値	0.1 μg	70~120	15 >	20 >	70~120	15 >	20 >	70~120	15 >	20 >	
	0.01 μg	70~120	25 >	30 >	70~120	25 >	30 >	70~120	25 >	30 >	
エトバベート	0.1 μg	95.3	3.7	2.6	98.5	1.8	1.3	90.6	5.1	6.9	
	0.01 μg	99.2	2.8	12.6	96.1	4.7	7.5	99.3	6.9	11.2	
オルメトプリム	0.1 μg	81.9	7.1	16.5	81.8	4.3	8.7	91.7	5.7	6.9	
	0.01 μg	58.3	14.0	11.0	69.8	12.2	9.7	96.5	10.1	11.1	
酢酸トレン ボロン(*)	α-トレン	0.1 μg	86.9	3.8	15.1	92.2	3.4	9.4	87.6	3.4	8.6
	β-トレン	0.1 μg	91.0	29.6	22.2	98.3	10.0	29.5	93.5	24.8	20.8
	ボロン	0.1 μg	85.6	9.1	9.5	88.1	2.0	7.9	91.7	6.6	4.7
	ボロン	0.01 μg	77.8	19.6	11.2	81.9	17.0	16.8	75.8	22.9	50.8
酢酸メレンゲステロール	0.1 μg	83.1	4.6	7.1	88.1	4.9	3.6	83.0	4.4	5.3	
	0.01 μg	77.1	14.7	18.3	86.4	6.0	8.0	89.1	3.2	9.4	
スルファキノキサリン	0.1 μg	90.3	3.4	7.3	90.9	2.0	6.2	84.3	2.5	3.3	
	0.01 μg	98.4	7.0	21.5	104.9	4.3	20.8	90.3	12.8	10.5	
スルファクロルピリダジン	0.1 μg	89.5	4.9	7.2	94.4	4.8	1.9	86.8	4.3	7.7	
	0.01 μg	90.6	10.1	4.3	90.3	4.1	4.4	94.2	4.1	8.2	
スルファジアジン	0.1 μg	80.6	7.0	4.1	85.2	3.0	4.7	80.0	4.7	9.3	
	0.01 μg	65.5	9.9	6.7	84.1	3.5	10.7	79.3	14.8	13.6	
スルファジミジン	0.1 μg	86.6	3.6	7.2	93.8	2.0	3.7	89.9	5.7	6.5	
	0.01 μg	79.0	9.5	8.2	97.7	5.7	6.5	102.9	3.4	5.2	
スルファジメトキシ	0.1 μg	97.7	5.3	5.2	100.4	3.4	3.8	94.2	2.5	4.7	
	0.01 μg	94.8	5.8	12.3	100.4	4.3	8.0	96.5	8.2	4.9	
スルファチアゾール	0.1 μg	85.5	5.5	6.7	91.4	4.3	5.3	90.0	4.9	2.5	
	0.01 μg	76.9	7.3	12.8	91.9	6.2	8.3	96.5	4.2	9.8	
スルファドキシ	0.1 μg	90.1	3.7	7.4	93.2	1.9	2.9	91.1	3.4	4.4	
	0.01 μg	86.5	8.1	12.1	99.3	3.7	6.5	98.1	3.8	5.2	
スルファニトラン	0.1 μg	95.9	5.9	9.2	90.9	4.6	4.2	95.3	2.9	6.3	
	0.01 μg	109.3	21.7	19.6	90.6	10.2	14.5	97.9	18.2	8.5	
スルファピリジン	0.1 μg	84.0	2.6	6.3	88.8	5.4	2.3	92.4	4.4	3.9	
	0.01 μg	79.4	10.0	6.9	98.1	6.7	11.9	94.1	5.2	6.7	
スルファメキサゾール	0.1 μg	90.9	3.8	7.9	92.1	2.1	4.0	91.3	7.5	7.6	
	0.01 μg	87.2	6.6	3.7	88.1	5.0	7.1	82.4	5.8	14.5	
スルファメキシピリダジン	0.1 μg	89.7	1.9	6.7	93.1	1.3	5.0	88.5	6.8	2.3	
	0.01 μg	89.0	5.8	10.8	95.2	9.5	7.8	101.9	6.4	8.2	
スルファメラジン	0.1 μg	93.2	4.3	3.4	92.8	5.2	5.2	91.6	2.0	6.1	
	0.01 μg	81.0	11.9	5.7	108.0	10.4	7.4	104.5	6.0	8.3	
スルファモノメトキシ	0.1 μg	89.8	5.7	12.1	89.4	3.3	2.6	90.4	3.5	3.2	
	0.01 μg	95.6	5.9	12.1	92.8	5.3	8.1	91.5	7.3	9.2	
チアベンダゾール	0.1 μg	82.5	5.8	6.7	84.6	1.6	2.9	87.7	4.0	5.3	
	0.01 μg	78.7	8.9	16.5	80.6	4.2	6.8	89.5	4.8	7.2	
トリメトプリム	0.1 μg	82.4	4.7	15.5	91.0	7.3	2.8	86.4	5.3	4.8	
	0.01 μg	64.6	7.7	16.9	80.8	8.8	11.8	82.8	3.6	12.6	
レバミゾール	0.1 μg	52.6	27.5	50.3	54.5	19.7	25.3	84.8	3.7	4.3	
	0.01 μg	35.6	21.6	65.3	47.2	30.3	48.3	85.1	4.4	9.5	

網掛け部は、ガイドラインの目標値を満足していない。

酢酸トレンボロンは基準値が不検出であり、0.01ppm では下限値として十分でないため、分析可能項目としていない。

表 6 レバミゾールの回収率と標準品添加から測定までの日数の比較

	添加量	鶏肉(もも)、回収率(真度)(%)									
		①-1	①-2	②-1	②-2	③-1	③-2	④-1	④-2	⑤-1	⑤-2
レバミゾール	0.1 μg	17.7	28.3	23.3	27.7	63.9	90.8	37.4	88.4	79.2	69.7
	0.01 μg	10.6	50.9	13.4	15.4	40.2	39.3	16.7	22.7	75.8	70.6
標準品添加から測定までの日数		28日	28日	28日	28日	14日	14日	14日	14日	5日	5日

網掛け部は、サロゲートを用いた場合でも満たす必要のある 40%も満たさない検体

### 3 まとめ

- 1) 既報の LC/MS/MS を用いた動物用医薬品 21 種の一斉分析法を用い、同じ分析法で分析可能な動物用医薬品の追加を検討した。
- 2) 厚生労働省ガイドラインに基づき妥当性評価を実施し分析法の妥当性を確認したところ、8 項目が追加可能と判断されたが、既報の項目のうち 4 項目を対象から外したため、25 項目の一斉分析法となった。
- 3) 今後も、一斉分析できる動物用医薬品の検査項目を増加させるため、クリーンアップ法等の前処理法を見直したり、新たな物質の同時分析を検討する予定である。

## 用 語 解 説

<b>あ</b> アストロウイルス	非細菌性急性胃腸炎を引き起こす小型球形ウイルスの一種。小型球形ウイルスと呼ばれるものは、この他「ノロウイルス」「サポウイルス」がある。アストロウイルスによる感染性胃腸炎の症状はノロウイルス等と同様、吐き気、嘔吐、下痢等を呈する。
<b>あ</b> アデノウイルス	非細菌性急性胃腸炎を引き起こす胃腸炎ウイルスの一種。胃腸炎の原因となるアデノウイルスは腸管アデノウイルスとも呼ばれるが、この他のアデノウイルスは眼疾患、上気道炎等の原因となる。
<b>あ</b> RFLP 法	制限酵素によって切断された DNA 断片の長さが、菌株間で異なる（多型を示す）ことを検出する手法のこと。得られた断片長は、電気泳動によって既知の断片長の DNA（サイズマーカー）と比較して求める。
<b>い</b> 一般環境大気測定局	環境大気測定局のうち、住宅地などの一般的な生活空間における大気汚染の状況を把握するため設置されたもの。環境基準の適合状況の把握、大気汚染対策の効果の確認など地域全体の汚染状況を把握することや、特定発生源の影響を受け高濃度の局所汚染が出現しやすい地域での緊急時の措置に対処することなどである。全国に約 1,500 局の測定局が設けられ、大気汚染の常時監視が行われている。
<b>い</b> 遺伝子組換え食品	商業的に栽培されている植物（作物）に遺伝子操作を行い、新たな遺伝子を導入し発現させたり、内在性の遺伝子の発現を促進・抑制したりすることにより、新たな形質が付与された作物を「遺伝子組換え作物」といい、これらを原料とした食品を「遺伝子組換え食品」という。
<b>え</b> 液体クロマトグラフ (LC)	粒径が微小、かつ、均一な充てん剤を詰めた分離カラムやキャピラリーチューブの内壁に固定相を保持した分離カラムを用いて、高圧下で（液体の）移動相を送液して試料中の成分を分離する装置。
<b>え</b> 液体クロマトグラフ 質量分析計 (LC/MS)	分離装置に液体クロマトグラフを、検出器に質量分析計を用い、両者をオンラインで結合させた分析装置。
<b>え</b> エンテロウイルス	主に腸管内で増えるウイルスのこと。多くの型があり、「夏かぜ」といわれるような呼吸器症状、発疹、口内炎、結膜炎、髄膜炎など、様々な症状を引き起こすが、感染してもほとんど症状が現れない場合もある。手足口病の原因となるコクサッキーウイルス A16 型とエンテロウイルス 71 型、急性出血性結膜炎をおこすコクサッキーウイルス A24 型とエンテロウイルス 70 型、無菌性髄膜炎の原因の一つであるエコーウイルス 30 型などが含まれる。
<b>お</b> 汚濁負荷量	水環境に流入する陸域から排出される有機物や窒素、りん等の汚濁物質を指す。一般的には、汚濁物質の時間あるいは日排出量で表わし、「汚濁負荷量＝汚濁濃度×排水量」で計算する。事業場排水等については、濃度規制が多いが、たとえ低濃度でも排出量が大きいと環境に与える影響は大きくなるため、一般的に環境への影響を推定する場合は汚濁負荷量を用いる。
<b>か</b> ガスクロマトグラフ (GC)	気体を移動相とし、吸着剤などを固定相とした分離カラムを用いて、気化させた試料中の成分を分離する装置。

か	ガスクロマトグラフ 質量分析計 (GC/MS)	分離装置にガスクロマトグラフを、検出器に質量分析計を用い、両者をオンラインで結合させた分析装置。
か	株 (菌株)	微生物の単一種が一定量まとまって生育している状態のこと。
か	環境基準	環境基本法に基づき、政府が定める環境保全行政上の目標のこと。環境基準は、「人の健康を保護し及び生活環境を保全する上で維持されることが望ましい基準」と定義されており、大気汚染、水質汚濁、土壌汚染、騒音などに関して基準が定められている。また、同法では「常に適切な科学的判断が加えられ、必要な改定がなされなければならない」と規定されている。
か	環境大気測定局	大気汚染防止法に基づき、環境大気汚染状況を常時監視するために設置されている測定局のこと。環境大気測定局は、一般環境大気測定局と自動車排出ガス測定局に区分される。
く	グルタルアルデヒド	アルデヒドの一種で、殺菌消毒薬として用いられている。ほとんどすべての細菌や真菌、ウイルス等に有効である。ホルムアルデヒドや次亜塩素酸ナトリウム等とともに WHO (世界保健機関) が炭疽菌の消毒薬として推奨する消毒薬の一つであるが、毒性が強いため人体には使用できない。
け	血清型	微生物の細胞表面の抗原を基に分類した型のこと。血清型は、微生物の疫学指標としての役割を担う。
こ	抗体	リンパ球のうち B 細胞の産生する糖タンパク分子で、特定のタンパク質などの分子 (抗原) を認識して結合する働きをもつ。抗体は主に血液中や体液中に存在し、体内に侵入してきた細菌やウイルス等を抗原として認識して結合する。抗体が抗原に結合すると、これを白血球やマクロファージといった食細胞が認識・貪食して体内から除去したり、リンパ球などの免疫細胞が結合して免疫反応を引き起こす。これらの働きにより感染防御機構において重要な役割を担っている。
こ	湖沼水質保全計画	湖沼水質保全特別措置法に基づき、湖沼が指定湖沼及び指定地域に定められたとき、都道府県知事が湖沼水質保全基本方針に基づき定める水質保全施策に関する計画のこと。本県では、平成 24 年 3 月に児島湖に係る第 6 期湖沼水質保全計画を策定した。
こ	コリネバクテリウム	グラム陽性桿菌で、一部のものはヒトの気道粘膜などに常在するが、このうち、ジフテリア毒素を産生するジフテリア菌は、2 類感染症であるジフテリアの原因菌である。
さ	サポウイルス	非細菌性急性胃腸炎を引き起こす小型球形ウイルスの一種。小型球形ウイルスと呼ばれるものは、この他「ノロウイルス」や「アストロウイルス」がある。サポウイルスによる感染性胃腸炎の症状は、ノロウイルス等と同様、吐き気、嘔吐、下痢等を呈します。
し	COD	水中の有機物を酸化剤で分解する際に消費される酸化剤の量を酸素量に換算したもので、海水や湖沼水質の有機物による汚濁状況を測る代表的な指標のこと。「化学的酸素要求量」ともいう。環境基準では、河川には COD 値は設定されず、湖沼および海域で COD 値が設定されている。また、水質汚濁防止法に基づき、排出水の規制のための COD の基準値が定められている。類似の指標に BOD (生物化学的酸素要求量) がある。

<b>し</b> 自然毒	<p>生物が生産及び保有する生理活性物質で、他の生物に対してのみ有害作用を示すもの。代表的なものとして、フグ毒、貝毒、毒キノコなどがある。自然毒は植物性自然毒と動物性自然毒に大別されるが、日本における事件数及び患者数とも植物性自然毒によるものが多いが、致命率は動物性自然毒のほうが高い。</p>
<b>し</b> 質量濃度	<p>大気環気中の粉じん等の濃度をその質量で示す基本的な表示方法のこと。通常、空気 1m<sup>3</sup> 中に含まれる粉じん等の総質量によって表わされるため、表示単位として mg/m<sup>3</sup> や □g/m<sup>3</sup> などが用いられる。</p>
<b>し</b> 質量分析計	<p>イオン化した物質を電場や磁場などを用いて質量分離することにより、質量を求める分析装置のこと。ガスクロマトグラフや液体クロマトグラフと組み合わせて用いられる。</p>
<b>し</b> 自動車排出ガス測定局	<p>環境大気測定局（「環境大気測定局」参照）のうち、交差点や道路、道路端付近など交通渋滞による自動車排出ガスによる大気汚染の影響を受けやすい区域の大気状況を常時監視することを目的に設置されたもの。設置区域は、人が常時生活し、活動している場所で、自動車排出ガスの影響が最も強く現れる道路端又はこれにできるだけ近接した場所が望ましいとされる。設置目的は、大気環境基準適合状況の把握や都道府県公安委員会に対して緊急時の措置として交通規制などを要請する際の判断根拠、自動車から排出される有害大気汚染物質による大気の汚染状況の把握などに活用される。全国に 300 局以上の測定局が設けられ、測定が行われている。</p>
<b>し</b> （大気）常時監視	<p>大気の汚染の状況を常時監視すること。大気汚染防止法に基づき、都道府県知事は、常時監視の義務が課せられている。</p>
<b>せ</b> 全窒素（T-N）	<p>有機及び無機（アンモニア態・亜硝酸態・硝酸態）の窒素化合物の総量のこと。湖沼の窒素に関する環境基準になっている。窒素はりんとともに水系を富栄養化させ、赤潮の原因となる。</p>
<b>せ</b> 全りん（T-P）	<p>りん化合物の総量のこと。水環境を富栄養化させる要素の一つであり、湖沼などでは排出基準が定められている。</p>
<b>た</b> 多環芳香族炭化水素（PAHs）	<p>ヘテロ原子や置換基を含まない芳香環が縮合した炭化水素の総称であり、100 種類以上の化学物質がある。油や石炭、乾留液（タール）の沈殿物、化石燃料やバイオマス燃料の燃焼の副生成物に含まれており、このうちいくつかは発がん性、変異原性、催奇形物質であることが確認されている。</p>
<b>ち</b> 窒素・りん規制	<p>富栄養化の原因物質である窒素およびりんの公共用水域への排出を規制すること。人口・産業が集中する広域的な閉鎖性海域では、水質の悪化が著しく進行していたため、窒素やりんの排出規制が進められてきた。瀬戸内海では、瀬戸内海環境保全特別措置法に基づき、昭和 55 年から関係府県が定める指定物質削減指導方針により、りんの削減指導が実施されてきた。一方、平成 8 年には窒素が指定物質削減指導方針の対象項目として追加された。</p>
<b>ち</b> 地方衛生研究所	<p>地域保健対策を効果的に推進し、公衆衛生の向上及び増進を図るため、都道府県又は指定都市における科学的かつ技術的中核として、関係行政部局、保健所等と緊密な連携の下に、調査研究、試験検査、研修指導及び公衆衛生情報等の収集・解析・提供を行うことを目的として設置された機関のこと。本県では、当センターがその役割を担っている。</p>

<p><b>ち</b> 腸管出血性大腸菌 O157</p>	<p>ベロ毒素又は志賀毒素と呼ばれている毒素を産生する大腸菌のことで、この菌の代表的な O 血清群には、157 が存在する。この菌により食中毒などの感染症を引き起こす。この菌は、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により 3 類感染症として指定され、診断した医師には所轄する保健所などへの届出が義務づけられている。</p>
<p><b>な</b> 難分解性有機物</p>	<p>微生物によって分解されない又は分解されにくい有機物のこと。有機物には様々なものが存在するが、その指標として BOD（生物化学的酸素要求量）、COD（化学的酸素要求量）等がある。一般的に BOD は微生物に分解されやすい有機物を、COD は全有機物の指標となるが、難分解性有機物は微生物に分解されない（されにくい）有機物の指標となる。</p>
<p><b>の</b> ノロウイルス</p>	<p>非細菌性急性胃腸炎を引き起こす小型球形ウイルスの一種。貝類の摂取による食中毒の原因になるほか、感染したヒトのふん便や嘔吐物等から経口感染する。ノロウイルスによる集団感染は世界各地の学校や養護施設等で散発的に発生している。</p>
<p><b>ひ</b> PCR 法</p>	<p>ポリメラーゼ連鎖反応の略で、DNA を増幅する手法のこと。非常に長大な DNA 分子の中から、自分の望んだ特定の DNA 断片（数百から数千塩基対）だけを選択的に増幅させることができる。PCR 法は、極めて微量のゲノムや RNA から目的の DNA を選択的に増幅できることから、DNA 型鑑定や診断等にも応用されている。</p>
<p><b>ひ</b> 微小粒子状物質 (PM2.5)</p>	<p>直径が 2.5<math>\mu</math>m 以下の微小粒子のこと。「PM2.5」ともいう。大気汚染の原因物質の一つであり、粒子径が非常に小さいため、気管を通過しやすく肺胞などに付着するため、人体への影響が大きく、ぜんそくや気管支炎を引き起こすとされる。環境基準では、1 年平均値が 15<math>\mu</math>g/m<sup>3</sup> 以下、かつ、1 日平均値が 35<math>\mu</math>g/m<sup>3</sup> 以下と定められている。微小粒子状物質の発生源は、工場のばい煙や自動車排出ガスなどの人の活動に伴うもののほか、自然界由来（火山や森林火災など）のものがある。また、粒子として排出される一次粒子とガス状物質が大気中で粒子化する二次生成粒子がある。</p>
<p><b>ふ</b> VNTR 法</p>	<p>結核菌遺伝子の特定の部位に存在し、菌株毎に数が異なる「繰り返し配列」の数を測定し、比較する方法。</p>
<p><b>ふ</b> 浮遊粒子状物質 (SPM)</p>	<p>大気中に浮遊している粒子状物質で、代表的な大気汚染物質の一つ。「SPM」ともいう。環境基準では、粒径 10<math>\mu</math>m 以下のものと定義しており、1 時間値の 1 日平均値が 0.10mg/m<sup>3</sup> 以下、かつ、1 時間値が 0.20mg/m<sup>3</sup> 以下と定められている。</p>
<p><b>ほ</b> ポリ-<i>tert</i>-ブチルフェノール (PTBP)</p>	<p>アルキルフェノールの一種。フェノール樹脂など合成樹脂の原料やポリカーボネート樹脂を製造する際の調整剤などに利用されている。</p>
<p><b>も</b> モデル解析</p>	<p>数値シミュレーションに際し、ある因果関係を想定したモデルをから数式を作成し、コンピューターに入力して演算し解析すること。本計画（案）では、北七区及び西七区における COD や窒素、りん等の汚濁物質の物質収支をモデル化して数式を作成し、数値シミュレーションを行う。</p>
<p><b>ゆ</b> 有害物質 (水質汚濁防止法)</p>	<p>水質汚濁防止法に「カドミウムその他の人の健康に被害を生ずるおそれのある物質で政令で定めるもの」と規定されている。カドミウム及びその化合物、水銀及びアルキル水銀その他の水銀化合物、PCB 等の 28 項目が有害物質として指定されている。</p>

<b>ゆ</b> 有機フッ素化合物	炭素-フッ素結合を持つ有機化合物の総称。化学反応がおきにくく、温度を変化させても安定であるため、冷蔵庫やエアコンの冷媒及び精密電子部品の洗浄剤などに広く用いられている。
<b>り</b> リステリア	グラム陽性桿菌のリステリア属に属する真正細菌の総称。リステリア属には8種が含まれるが、このうち、基準種であるリステリア・モノサイトゲネスにはヒトに対する病原性があり、リステリア症を引き起こす。医学分野では特にこの菌種のことを指す。
<b>れ</b> レジオネラ	レジオネラ属に属する細菌の総称であり、グラム陰性の桿菌のこと。レジオネラ肺炎等多くのレジオネラ症を引き起こす多くの種を含む。少なくとも46の種と70の血清型が知られている。
<b>れ</b> レボグルコサン	多糖が熱分解される際に生じる無水糖で、バイオマスが燃焼する際にセルロースの熱分解生成物として発生するためバイオマス燃焼に伴って排出される微小粒子の寄与を推定する指標の一つとして利用されている。
<b>ろ</b> ロタウイルス	レオウイルス科の一種で、2層のタンパク質の殻に覆われた2本鎖RNAを遺伝子として持つウイルスのこと。一般的に乳児下痢症や嘔吐下痢症の原因としても知られている。アメリカ合衆国では年間50万人以上が主に下痢症状で受診し、特に小児は重篤な下痢を起こしやすい。