

Shizuoka-Ken Kankyō Eisei Kagaku
Kenkyūsho Hōkoku 42 (1999)
ISSN 1343-246X

静岡県環境衛生科学研究所報告

平成11年度

Bulletin
of
Shizuoka Institute of
Environment and Hygiene

No.42 1999

静岡県環境衛生科学研究所

は し が き

これまで、人類の繁栄を支えてきた大量生産・大量消費・大量廃棄という社会・経済のシステムが、環境汚染を地球規模にまで拡げ、また資源の枯渇が危惧されるようになってきました。このような状況が更に進めば、人類を始めとする地球上の生物の生存が危ぶまれることにもなります。

このため、私たちにはこれまでのライフスタイルを改め、循環型社会を構築すること、またこれまでに汚染された環境を修復し、これらを通して自然との共生を図ることが、いま求められています。

また公衆衛生分野でも、インフルエンザやエイズなど突然変異しやすいウイルスや、腸管出血性大腸菌O157やレジオネラなどのような環境汚染細菌による疾病が問題化しております。

こうしたなかにあって研究者に寄せられる期待は大きいものがあり、成果が有効に利用できるような研究が求められています。そのためには、様々な分野との協力がますます重要となっております。本県におきましても平成12年度からは環境、商工、農林、水産等の複数の分野にまたがる横断的なプロジェクト研究の制度が発足し、現在9テーマで進められております。

このような状況のもと当研究所では、県が解決しなければならない県民に密着した課題を取り上げ、それらをテーマとした研究を実施しております。これを進めるに当たっては、外部の委員で構成する評価委員会が研究成果の活用等の観点から中間評価、総合評価を行い、研究のレベルアップを図っているところです。

この平成11年度の「研究所報告」は、職員のこのような研究成果を取りまとめたものであり、何らかの形で皆様方のお役に立てていただければと考えます。

御高覧のうえ御批判、御指導いただければ幸いです。

平成12年 7月

静岡県環境衛生科学研究所長 久保田昭彦



目 次

報 文

大気・水質部

- 1 魚類への死原因判定に関する研究
—急性毒性試験における有害物質の部位別蓄積濃度の変化—
……………平井 一行, 箕輪 正夫 ……………1
- 2 大気中揮発性有機化合物の測定法の検討
……………太田良和弘, 萱沼 広行, 矢島 雅
篠原英二郎, 永田 嘉七, 竹下 昭二
味岡 嘉輝 ……………5

資 料

微生物部

- 1 生活環境水のレジオネラ汚染およびレジオネラ症患者調査
—レジオネラ症患者の検査と疫学調査—
……………杉山 寛治, 増田 教子, 宮本 秀樹
中村 信也 ……………11
- 2 海水・海泥からの耐熱性溶血毒産生腸炎ビブリオの検出
……………杉山 寛治, 増田 教子, 川村 朝子
郷田 淑明, 秋山 真人 ……………15
- 3 浜名湖産二枚貝の麻痺性貝毒成分分析
……………増田 教子, 杉山 寛治, 郷田 淑明
秋山 真人 ……………19
- 4 小型球形ウイルス (SRSV) による食中毒防止対策に関する研究
……………杉枝 正明, 佐原 啓二, 長岡 宏美
三輪 好伸, 秋山 真人 ……………25
- 5 静岡県における眼疾患の起因ウイルス
……………三輪 好伸, 杉枝 正明, 佐原 啓二
長岡 宏美, 秋山 真人 ……………31
- 6 ヒトおよび動物のインフルエンザウイルスに関する疫学的研究
……………佐原 啓二, 杉枝 正明, 長岡 宏美
三輪 好伸, 秋山 真人, 細矢 佳行 ……………35
- 7 腸管出血性大腸菌 O157 に関する研究
……………増田 高志, 川村 朝子, 三輪 憲永
秋山 真人, 宮本 秀樹, 寺井 克哉 ……………41

医薬品生活部

- 8 医薬品等の試験検査に係る有害試薬の使用状況調査（第二報）
－医薬品等の試験検査に係る有害試薬の低減化の試み－
……………小和田和宏，堀池あずさ，馬淵 博
佐野 智子，永野 隆夫 ……………49
- 9 医薬品等の試験検査結果の信頼性を確保するために（第三報）
－業務管理と内部クロスチェッカー－
……………小和田和宏，堀池あずさ，馬淵 博
上村 慎子，高橋 真，坂根 弓子
佐野 智子，永野 隆夫，中村 信也 ……………53
- 10 医薬品製造所における分析法のバリデーションの標準的モデルの作成に関する研究
－その1 県内製造所を対象としたアンケート調査－
……………堀池あずさ，馬淵 博，小和田和宏
上村 慎子，高橋 真，坂根 弓子
佐野 智子，永野 隆夫 ……………57
- 11 医薬品製造所における分析法のバリデーションの標準的モデルの作成に関する研究
－その2 分析法バリデーション事例集の作成－
……………堀池あずさ，馬淵 博，小和田和宏
上村 慎子，高橋 真，坂根 弓子
佐野 智子，永野 隆夫 ……………63
- 12 医薬品溶出試験の規格等に関する検討（第一報）
－問題点の把握とその対応－
……………馬淵 博，堀池あずさ，小和田和宏
佐野 智子，永野 隆夫，森川 馨 ……………69
- 13 リサイクル商品の品質に関する研究
……………山口善三郎，影山 知子，菅野 尚子
中村 和光，永野 隆夫 ……………73
- 14 静岡県における特別用途食品の動向及び品質に関する研究
……………中村 和光，影山 知子，菅野 尚子
山口善三郎，永野 隆夫 ……………79
- 15 災害時用携帯浄水器に関する調査・研究
……………中村 和光，影山 知子，菅野 尚子
山口善三郎，永野 隆夫 ……………85

16 無洗米の品質等に関する調査・研究	菅野 尚子, 中村 和光, 山口善三郎 永野 隆夫	91
17 桜えびの栄養成分及び鮮度保持に関する調査・研究	菅野 尚子, 中村 和光, 山口善三郎 永野 隆夫	97

環境科学部

18 ISO14001の運用と効果	池谷 静雄	103
19 環境教育プログラムの研究開発及び提供	糸田 昇一, 藤田 友司, 前嶋 孝明	109

大気・水質部

20 干潟モデルの設計に関する研究 －浜名湖の干潟の浄化能力について－	鈴井 孝雄, 田口 弘道, 杉本 勝臣 瀧本 俊晴, 平井 一行, 室伏 由紀 味岡 嘉輝, 石渡 達也	117
21 深層水中の深度別微量成分に関する研究 －駿河湾深層水の水質に関する研究－	平井 一行, 田口 弘道, 鈴井 孝雄 杉本 勝臣, 瀧本 俊晴, 守屋 司子 増田 教子, 杉山 寛治, 郷田 淑明 秋山 真人, 横山 玲子	123
22 静岡県内の有害大気汚染物質調査 －優先取組物質（19物質）の状況について	太田良和弘, 萱沼 広行, 矢島 雅 篠原英二郎, 永田 嘉七, 竹下 昭二 味岡 嘉輝	129
23 臭気指数による悪臭規制の検討	永田 嘉七, 萱沼 広行, 太田良和弘 篠原英二郎, 矢島 雅, 竹下 昭二 味岡 嘉輝	135

24 コーヒー抽出に起因する着色排水の調査

.....	諸星 龍範, 中村 茂和, 久保山成基	
	中山 洋, 遠藤 満, 増田 一	
	小原 九一, 味岡 嘉輝, 三好 廣志	
	志村 修	139

西部支所

25 西部（小笠）地域の窒素による地下水等汚染調査（第2報）

.....	中島 二夫, 河合 渉, 小池 明	
	永谷 隆行, 梅原 鎬市, 井伊 博行	
	田中 豊和	143

他誌に発表した論文	147
-----------------	-----

学会・研究会等の報告	149
------------------	-----

表彰等	153
-----------	-----

Content

Original

Department of Pollution Control

- 1 Studies on the Method to Investigate the Cause of Fish Mortal Accidents
— On the Changes of the Concentrations of Toxic Substances
Accumulated in Different Organs under the Acute Toxicity Test —
.....Hirai, K., and Minowa, M.1
- 2 Investigation of Measurement Method for Volatile Organic Compounds in Air
.....Ōtara, K., Kayanuma, H., Yajima, M., Shinohara, E.,
Nagata, K., Takeshita, S., and Ajioka, Y.5

Report

Department of Microbiology

- 1 Relationship between Legionella Contamination of Environmental Water and
Occurrence of Legionnaires Disease
— Examinations and Epidemiological Aspects in Cases of Legionnaires Disease —
.....Sugiyama, K., Masuda, K., Miyamoto, H.,
and Nakamura, N.11
- 2 Isolation of Thermostable Direct Hemolysin Producing *Vibrio parahaemolyticus*
from Seawater and Seasand
.....Sugiyama, K., Masuda, K., Kawamura, A., Gōda, T.,
and Akiyama, M.15
- 3 Analysis of Paralytic Shellfish Poison in Shellfish from the Lake Hamanako
.....Masuda, K., Sugiyama, K., Gōda, Y.,
and Akiyama, M.19
- 4 Studies on the Small Round Structured Virus to Prevent Food Poisoning Outbreak
.....Sugieda, M., Sahara, K., Nagaoka, H., Miwa, Y.,
and Akiyama, M.25
- 5 Epidemiological Study on Adeno virus from Epidemic Keratoconjunctivitis in
Shizuoka Prefecture
.....Miwa, Y., Sugieda, M., Sahara, K., Nagaoka, H.,
and Akiyama, M.31
- 6 Epidemiological Investigation on Influenza Virus Infection among Human, Swine and Chicken
.....Sahara, K., Sugieda, M., Nagaoka, H., Miwa, Y., Akiyama, M.,
and Hosoya, Y.35

- 7 Epidemiological Examination of Enterohemorrhagic Escherichia coli serotype O157
.....Masuda, T., Kawamura, A., Miwa, N., Akiyama, M.,
and Miyamoto, H.41

Department of Pharmaceutics and Life Section

- 8 Research for Deleterious Chemicals Used in the Test of Drugs(Part 2)
– Experiments to Reduce Deleterious Chemicals in the Test of Drugs –
.....Owada, K., Horiike, A., Mabuchi, H., Sano, S.,
and Nagano, T.49
- 9 In order to Assure Reliability for Analysis and Testing of Drugs etc.(Part 3)
– Quality Control System and Intra-laboratory Quality Control –
.....Owada, K., Horiike, A., Mabuchi, H., Kamimura, M.,
Takahashi, M., Sakane, Y., Sano, S., Nagano, T., and
Nakamura, N.53
- 10 Study for Standard Model of Validation of Analytical Procedures at Drug Manufactures
– Step 1: Research of Opinionaire for Validation at Drug Manufactures –
.....Horiike, A., Mabuchi, H., Owada, K., Kamimura, M.,
Takahashi, M., Sakane, Y., Sano, S., and Nagano, T.57
- 11 Study for Standard Model of Validation of Analytical Procedures at Drug Manufactures
– Step 2: Text of Validation of Analytical Procedures for Drug Manufactures –
.....Horiike, A., Mabuchi, H., Owada, K., Kamimura, M.,
Takahashi, M., Sakane, Y., Sano, S., and Nagano, T.63
- 12 Study on the Standard of Drug Dissolution Testing (Part 1)
– Confirmation of Issues –
.....Mabuchi, H., Horiike, A., Owada, K., Sano, S., Nagano, T.,
and Morikawa, K.69
- 13 Study on Quality of Recycled Products
.....Yamaguchi, Z., Kageyama, T., Kanno, N., Nakamura, K., and
Nagano, T.73
- 14 Condition of Consumption of Foods for Special Dietary Use in Daily Life
and their Quality Level
.....Nakamura, K., Kageyama, T., Kanno, N., Yamaguchi, Z., and
Nagano, T.79

15	Practical Test of Filtration Commodity of Handy Type	
Nakamura, K., Kageyama, T., Kanno, N., Yamaguchi, Z., and Nagano, T.	85
16	Nutrient Substances, Sensory Attributes and Environmental Effects of Grinded Rice, MUSENMAI	
Kanno, N., Nakamura, K., Yamaguchi, Z., and Nagano, T.	91
17	Study on Nutrient Substances and Freshness Assurance of SAKURAEBI	
Kanno, N., Nakamura, K., Yamaguchi, Z., and Nagano, T.	97
Department of Environment Development		
18	The Activities and its Effects of ISO14001	
Iketani, S.	103
19	Research and Development of Environmental Education Program and its Offer	
Kumeta, S., Fujita, T., and Maejima, T.	109
Department of Pollution Control		
20	Studies on Designs of Tidal Flat Models	
	— Purification Capacity of Tidal Flats in Hamanako Lake —	
Suzui, T., Taguchi, H., Sugimoto, K., Takimoto, T., Murofushi, Y., Ajioka, Y., and Ishiwata, T.	117
21	Studies on the Trace Ingredients Containing at Different Depth in Deep Sea Water	
	— Studies on The Quality of Deep Sea Water in Suruga Bay —	
Hirai, K., Taguchi, H., Suzui, T., Sugimoto, K., Takimoto, T., Moriya, N., Masuda, K., Sugiyama, K., Gōda, Y., Akiyama, M., and Yokoyama, R.	123
22	Research on Hazardous Air Pollutants in Shizuoka Prefecture	
	— Research on HAPs of 19 —	
Ōtara, K., Tabata, T., Kayanuma, H., Yajima, M., Shinohara, E., Nagata, K., Takeshita, S., and Ajioka, Y.	129

23	Study on Odor Regulation by Odor Index	135
Nagata, K., Yajima, M., Ōtara, K., Shinohara, E., Kayanuma, H., Takeshita, S., and Ajioka, Y.	
24	Research on Expelled Water Colored with Coffee	139
Morohoshi, T., Nakamura, S., Kuboyama, S., Nakayama, H., Endo, M., Masuda, H., Kohara, K., Ajioka, Y., Miyoshi, H., and Shimura, O.	
Western Branch Office		
25	Survey on Contamination of Nitrate in Groundwater	143
Nakajima, T., Kawai, W., Koike, A., Nagatani, T., Umehara, K., Ii, H., and Tanaka, T.	
SUMMARIES OF PAPERS IN OTHER PUBLICATIONS		147
PRESENTATIONS AT CONFERENCES AND/OR SOCIETY MEETINGS		149
COMMENDATION		153

魚類へい死原因判定に関する研究 — 急性毒性試験における有害物質の部位別蓄積濃度の変化 —

大気・水質部 水質環境スタッフ 平井一行
エコプロ・リサーチ 箕輪正夫

Studies on the Method to Investigate the Cause of Fish Mortal Accidents
— Change of the Concentration of Toxic Substances Accumulated in Different Organs
under Acute Toxicity Test —

Kazuyuki HIRAI, and Masao MINOWA

In Shizuoka Prefecture, every year, from twenty to thirty water pollution accidents are caused by outflow of harmful matters and kill many fishes in a river. It is necessary to research the effect of chemical toxicity on aquatic organisms. So, we execute acute toxicity tests exposing "Ayu" (*Plecoglossus altivelis*) to various chemical solutions (cyanogen, zinc and agricultural chemical). As a result of chemical analysis in different organs of "Ayu", toxic substances were most accumulated in the gill among all organs. On flowing fresh water after death, the concentrations of agricultural chemical and zinc in each organ continued level for 48 hours, however, that of cyanogen decreased quickly and was not found after 48 hours. So we had better use the gill as the materials investigating the cause of fish mortal accidents and analyze quickly in case of cyanogen.

Key words : 急性毒性試験, アユ, 有害物質, 濃縮

Acute toxicity test, "Ayu" (*Plecoglossus altivelis*), Toxic substances, Concentration

はじめに

シアンや農薬等の有害物質や油などの流出などによる水質汚濁事故は静岡県内の河川等で毎年20~30件発生しており、魚類のへい死を伴うものも少なくない¹⁾。有害物質によって死亡した魚類では、特有の症状を呈する^{2) 3)}。場合があることから外観により、また、河川の水質やへい死魚から化学物質を実験的に抽出する方法などにより、へい死原因を推定しているが⁴⁾、特定できた例は多くはない¹⁾。シアンが原因で死亡した魚では魚体中のシアン濃度が時間経過とともに減少し⁵⁾、また、表皮や鰓、内臓など部位別に異なる蓄積がみられることが知られている⁶⁾。このように、へい死原因の推定には死亡した後、分析までに要する時間や原因物質の魚体への部位別の蓄積

の検討が必要と考えられる。そこで、過去に静岡県で起こったへい死事故のうち、原因と推定されたシアン、農薬、亜鉛⁸⁾を用いて急性毒性試験を実施し、それらについて検討することとした。

材料及び方法

静岡県アユ種苗センターにおいて飼育された平均尾叉長17cm、平均体重65gのアユ140尾を用い、1999年9月28~30日に急性毒性試験を行った。54lのコンテナ4個を用意し、うち3個にそれぞれ、概ね30分でアユが全数が死亡する濃度⁹⁾である0.5mg/lのシアン化カリウム水溶液、100mg/lの塩化亜鉛水溶液、0.5mg/lのベンゾエピン (endosulfan) 水溶液を50lずつ入れ、通気した。この中に前述のアユを35尾ずつ移し入れ、30分間浸漬し、シアン、亜鉛、ベンゾエピンの試験区とした。また、別の1個のコンテナには水道水を50l入れ通気し、同様にアユを35尾移し入れ30分間浸漬し、対照区とした。その後、それぞれの試験区ごとに19℃、pH7の水道水を毎分10l注水した。それぞれの試験区から各水溶液に30分間

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市北安東4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-andō, Shizuoka, 420-8637, Japan)

浸漬後、0, 2, 4, 6, 18, 24, 48時間後に5尾ずつアユを取り出し、鰓、内臓（生殖腺を含む）、それらを除く全部の部位に分け、重量を測定した後、粉碎した。粉碎された部位別の試料からシアン試験区ではシアンを、亜鉛試験区では亜鉛を、ベンゾエピン試験区ではベンゾエピンを表1の方法で分析した。なお、対照区では水道水に30分間浸漬後のアユを用いシアン、亜鉛、ベンゾエピンについて部位別に同様に分析した。

Table 1 Method of analysis

Cyanogen	JIS K0102 38.3 4-pirazin carboxylic acid-pirazoron absorptionmetry
Zinc	JIS K0102 53.2 Flame atomic absorption method
Benzoepin	Solid-phase extraction-gas chromatography/mass spectrometric method

結 果

シアン、亜鉛、ベンゾエピンの試験区にアユを30分浸漬すると全数が死亡したが、対照区では全数が生残した。対照区における生残したアユの各部位の濃度を表2に示した。

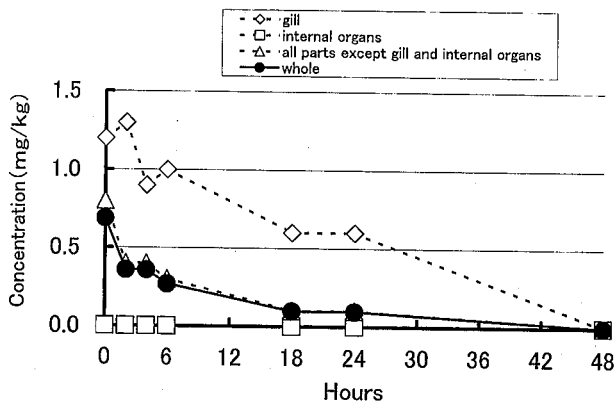


Fig1. Change of concentration of cyanogen in different organs of Ayu after exposing to 0.5mg/l potassium cyanide solution for half an hour

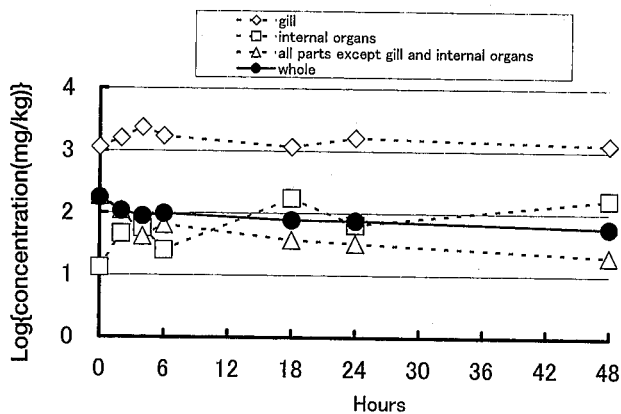


Fig2. Change of concentration of zinc in different organs of Ayu after exposing to 100mg/l zinc chloride solution for half an hour

Table 2 Concentration of toxic substances in different organs for control (mg/kg)

	Cyanogen	Zinc	Benzoepin
Gill	<0.1	17.1	<0.01
Internal organs	<0.1	26.4	<0.01
All parts except gill and internal organs	<0.1	12.3	<0.01
Whole	<0.1	14.4	<0.01

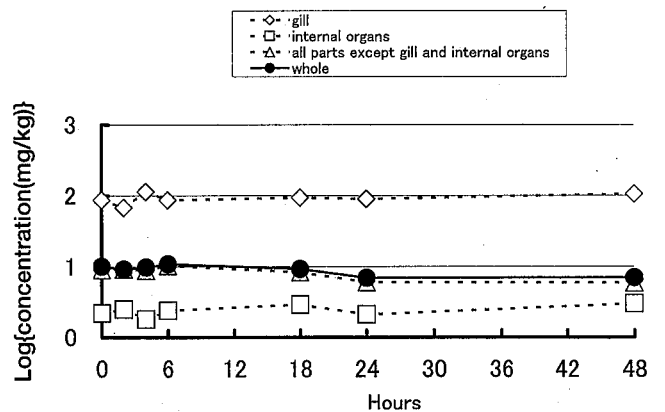


Fig3. Change of concentration of benzoepin in different organs of Ayu after exposing to 0.5mg/l benzoepin solution for half an hour

また、試験区ごとの部位別濃度の経時変化を図1, 2, 3に、濃縮係数の経時変化を図4, 5, 6に示した。

シアン試験区では、30分浸漬後（経過0時間）には鰓で1.2mg/kgのシアンが検出されたが、24時間後には0.6mg/kgとなり、48時間後には検出されなくなり、時間経過とともに急速に減少する傾向がみられた。また、鰓と内臓を除く部位と魚全体のシアンの経時変化は、30分浸漬後（経過0時間）には約0.7mg/kg、24時間後には0.1mg/kgなり、48時間後には検出されなくなり、時間経過とともに減少する傾向が同様にみられた。一方、内臓では48時間にわたって検出されなかった（図1）。濃縮係数は30分浸漬後（経過時間0時間）には鰓で2.5、鰓および内臓を除く部位と全魚体では、1.5とやや高いが、18時間後にはそれぞれ1.2および0.2となり、また、48時間後には0となった（図4）。

亜鉛試験区では、30分浸漬後（経過0時間）には鰓で10³mg/kg程の亜鉛が検出され、48時間後にもほぼ同濃度で、時間経過とともに減少する傾向はみられなかった。

また、内臓、鰓と内臓を除く部位、魚全体の亜鉛の濃度は 10^2 mg/kgと安定して推移した(図2)。濃縮係数は鰓で11~17, その他では、概ね1未満であった(図5)。

ベンゾエピン試験区では、30分浸漬後(経過0時間)には鰓で 10^2 mg/kg程のベンゾエピンが検出され、48時間後にもほぼ同濃度であり、時間経過とともに減少する傾向はみられなかった。また、鰓と内臓を除く部位、魚

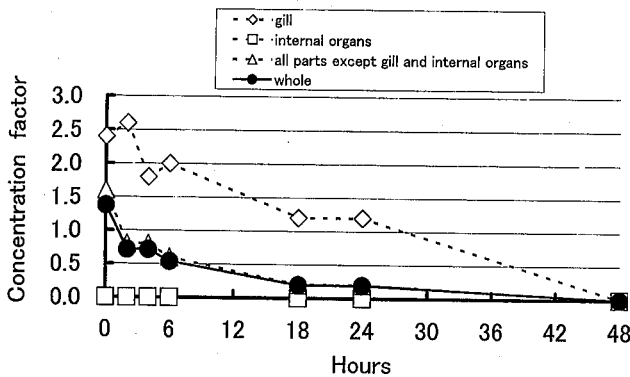


Fig4. Change of concentration factor of cyanogen in different organs of Ayu after exposing to 0.5mg/l potassium cyanide solution for half an hour

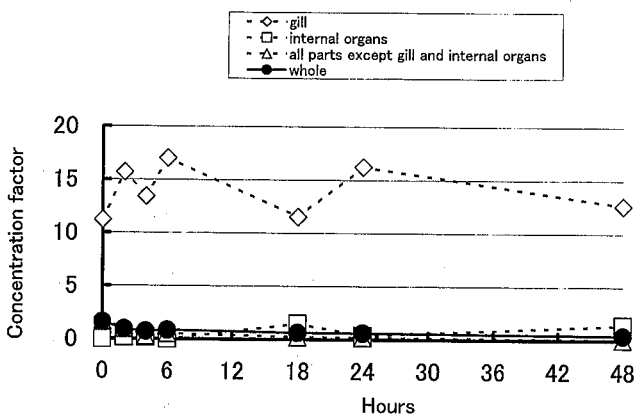


Fig5. Change of concentration factor of zinc in different organs of Ayu after exposing to 100mg/l zinc chloride solution for half an hour

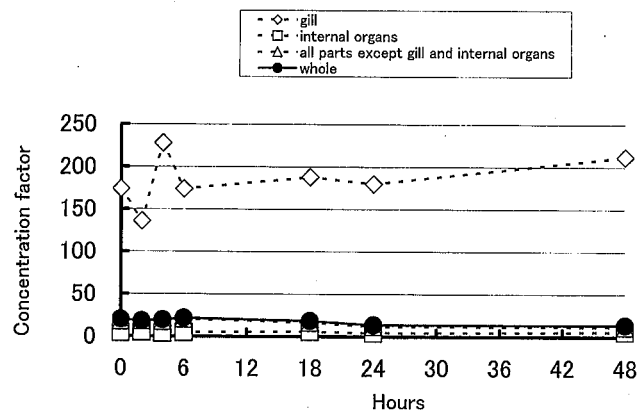


Fig6. Change of concentration factor of benzoepin in different organs of Ayu after exposing to 0.5mg/l benzoepin solution for half an hour

全体の濃度は 10^1 mg/kg, 内臓では 10^3 mg/kgと安定して推移した(図3)。濃縮係数は鰓で130~230, 魚全体では、13~22で推移した(図6)。

考 察

鰓における原因物質の分析値はシアンでは魚全体の分析値の約2倍, 亜鉛やベンゾエピンでは約10倍の蓄積がみられた。また、死亡後48時間にわたり、濃縮係数を求めた結果、それぞれの試験区の最高値は概ね2.5, 15, 250と鰓で有害物質が濃縮されている様子がうかがえた。これらのことは、鰓が魚類の呼吸器官で、血管等が集中しており、汚染水が鰓を通過する際に蓄積する物質も多い⁹⁾ことを反映しているものと考えられる。中でもシアンは血液中のヘモグロビンと結合してシアンヘモグロビンとなり鰓が鮮紅色となる⁷⁾ことや、亜鉛では鰓に亜鉛が凝着して鰓が灰白色になる⁸⁾ことなど外観的な症状を呈することも知られている。これらのことから、比較的高濃度の有害物質で短時間で死亡する場合には、鰓にへい死の原因となる物質の蓄積が多くみられるものと考えられた。従って、へい死原因の推定には魚全体より鰓のみを試料として分析の方が原因物質をより検出可能とするものと考えられる。

亜鉛やベンゾエピンが原因物質となる場合では48時間後にも安定して体内から検出されたが、シアンは時間経過にともない減少し、48時間後には検出できなくなった。へい死事故におけるシアンの魚体からの検出例は、 $0.001\sim 0.96$ mg/kg¹⁰⁾, $0.09\sim 0.39$ mg/kg¹¹⁾等で酸、アルカリなどと比べても事例数が極めて少なく⁵⁾、検出濃度の変動が大きいという特徴がある。これらのことは、へい死魚の各部位のシアンの濃度が時間経過にともない減少する現象を反映しているものとも考えられる。シアンが原因でへい死する場合は亜鉛やベンゾエピンとは異なり、へい死から分析までの要する時間が原因物質の検出に大きな影響を及ぼすものと考えられる。

ま と め

- 1) シアン, 亜鉛, ベンゾエピンによって短時間で死亡させた場合には、それらの原因物質はいずれも鰓において内臓、鰓と内臓を除く部位および魚全体よりも高濃度の蓄積がみられた。
- 2) 亜鉛, ベンゾエピンでは鰓, 内臓, 鰓と内臓を除く部位および魚全体で高濃度の蓄積が48時間にわたって持続してみられたが、シアンではそれらが急速に減少し、48時間後には魚体中からは検出されなくなった。
- 3) 今後、へい死原因の究明のためには試料として高濃度に原因物質が蓄積されるへい死魚の鰓を使用する

ことが、また、シアンの場合にはへい死魚の分析を早急に行うことが望ましいものと考えられる。

参 考 文 献

- 1) 静岡県環境衛生科学研究所：最近10年間の魚類へい死事故発生傾向，環衛レポート，2，2(1998)
- 2) 愛知県環境部：魚のへい死に伴う調査手引き，7-26(1984)
- 3) 福井県県民生活部：魚類へい死事故対応手引，1-69(1993)
- 4) 北海道保健環境部環境対策課：公共用水域における魚類等へい死事件措置の手引き，1-12(1991)
- 5) 静岡県環境部：魚類へい死マニュアル，1-34(1999)
- 6) 堀 賢平・薩美賢策：シアンの魚類に及ぼす影響-IV，群馬県水産試験場事業報告(23)，7-8(1975)
- 7) 奈良正人：シアン化合物の水生生物に及ぼす影響，生態化学，1(2)，39-46(1979)
- 8) 五十嵐保正他：魚類へい死原因判定に関する研究，静岡県環境衛生科学研究所，41，61-67(1998)
- 9) 三上敬二他：魚類へい死原因の究明について，生態化学，3(2)，31-40(1980)
- 10) 大上皓久：有害物質による魚のへい死事故と原因調査(2)，碧水，31(1984)
- 11) 狩谷貞二他：水質汚濁へい死魚の死因判定について-IV，シアンによるへい死，日本水産学会誌，33(4)，311-314(1967)

大気中揮発性有機化合物の測定法の検討

大気・水質部 大気・騒音環境スタッフ 太田良和弘, 田端孝光*, 萱沼広行
矢嶋 雅, 篠原英二郎, 永田嘉七
竹下昭二, 味岡義輝

Investigation of Measurement Method for Volatile Organic Compounds in Air

Kazuhiro ŌTARA, Takamitsu TABATA*, Hiroyuki KAYANUMA,
Masashi YAJIMA, Eijirō SHINOHARA, Kashichi NAGATA,
Shōji TAKESITA, and Yoshiteru AJIOKA

Measurement method and analytical accuracy by canister-GC/MS system for 44 volatile organic compounds (VOCs) in air are investigated. It is found that the analytical accuracy about 43 compounds is good. However, storage stability of Benzyl chloride is bad. This method, therefore, is not applicable to determination of Benzyl chloride.

As for the sampling method the passive sampling is found to be simpler and has fewer error factors than the pressurized one. By the above reason we adopt the passive sampling for simultaneous measurement of many components of VOCs.

Key words: 揮発性有機化合物, 有害大気汚染物質, キャニスター

Volatile organic compounds (VOCs), Hazardous air pollutants (HAPs), Canister

はじめに

1996年5月に有害大気汚染物質対策の推進を図ることを主目的として大気汚染防止法の一部改正が行われた。この中で国は、有害大気汚染物質に該当する可能性がある234物質のリスト（プライオリティリスト）と、特に優先的に対策に取り組むべき22物質（優先取組物質）のリストを明らかにし、環境実態の把握等段階的な取組を進めることを求めた。プライオリティリストのうち、揮発性有機化合物（以下、VOCsという）に該当するもの

は110種以上あり、特に優先取組物質リストに限れば13種類がこれに該当する。これらのうち、現在、モニタリングマニュアルが定められているVOCsはアルデヒド類2種と酸化エチレンを含めた12種類である¹⁾。

キャニスターを用いた大気中VOCsの測定法は、採取が簡便であり繰り返し測定が可能である。また、キャニスター内部表面を吸着性の低い物質で不活処理していることから、広範囲の試料及び多種のVOCsに適用可能である。米国EPAではVOCsの測定法としてTO-14²⁾で採用しており、国内では優先取組物質のうちVOCs9物質の測定法として「有害大気汚染物質測定方法マニュアル³⁾」（以下、マニュアルという）に採用されている。

静岡県ではこのキャニスター法により、VOCs9物質について1997年から大気環境濃度のモニタリングを開始しており、その結果については前報で報告した。^{4)~6)}

今回、モニタリング対象の拡充を目的として、VOCs40物質の測定法を定めたTO-14を参考に、さらに4物質を加えたVOCs44物質について、測定法及び分析精

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市北安東4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-andō, Shizuoka, 420-8637, Japan)

*静岡浜松工業技術センター

*Hamamatsu Industrial Research Institute of Shizuoka
Prefecture

度について検討したので報告する。

検 討 方 法

1 検討対象物質

今回の検討は、市販の混合標準ガスが入手可能なVOCsについて行った。対象としたVOCs44物質をTable 1に示す。この中には優先取組VOCs9物質をはじめ、プライオリティリストに該当する34物質が含まれる。さらに、オゾン層破壊物質に指定されているフロン類も一部含まれる。

2 実験方法^{1) - 3)}

1) 試 薬

標準物質として、市販の窒素バランス44成分混合標準原ガス（濃度1ppm；住友精化製HAPs-J44）を用いた。試料の希釈には窒素ガス（純度99.99995%；高千穂化学工業製VOCフリー高純度窒素）を、ガスの加湿には蒸留水（VOC測定用水；住友精密工業製）を用いた。内部標準物質は、トルエン-d8（100%；シグマアルドリッチ製）より調製した約12ppm内部標準原ガスを用いた。

2) 器具及び装置

キャニスター減圧採取法としてマスフローコントローラ（流量固定型；GLサイエンス製PCS363）及びSUMMAキャニスター（内容積6l；GLサイエンス製）を用いた。また加圧採取法として、加圧サンプラー（GLサイエンス製GL CPS206）、マスフローコントローラ（流量可変型；GLサイエンス製PCS360）及びSUMMAキャニスターを用いた。

3) サンプリング方法

減圧採取法については前報^{4) - 6)}と同様である。

加圧採取法は、採気流量を6~7ml/minに設定し、24時間でキャニスター内圧が約200kPa程度になるように採取を行った。

4) 分析方法

前報と同様である^{4) - 6)}。

分析に用いた大気試料導入装置（Tekmar-Dohrmann製AUTOCAN）及びガスクロマトグラフ質量分析計（GC/MS；島津製作所製GC-17A/QP5000Ver.2）の設定条件等をそれぞれTable 2、Table 3に示した。SIM法によるモニターイオンは、Table 1に示した。

定量には、まず混合標準原ガスを段階的に希釈し0, 0.02, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 3ppbの8種類の標準ガスを調製した。次にこれらのうちから、各物質の大気環境濃度レベルに合わせて5点を選び、最小自乗法により検量線を作成した。なお、定量は内標準物質と目的物質のピーク面積比によって行った。

5) 標準物質による精度管理

4) で調製した標準ガスを用いて検量線の直線性、最低濃度域での繰り返し分析による定量下限値の算定、中

Table 1 Target VOCs

No.	Compounds	b.p.(°C)	Preferential	Priority	TO-14	target ion*	monitor ion*
1	Freon 12	-29.8			○	85	87
2	Methyl chloride	-23.8		○	○	50	52
3	Freon 114	3.6			○	85	87
4	Vinyl chloride	-13.9	○	○	○	62	64
5	1,3-Butadiene	-4.4	○	○		54	53
6	Methyl bromide	4.5			○	94	96
7	Ethyl chloride	12.5		○	○	64	66
8	Freon 11	23.8			○	101	103
9	Acrylonitrile	77.3	○	○		52	53
10	1,1-Dichloroethylene	31.7		○	○	96	98
11	Dichloromethane	40.1	○	○	○	84	86
12	Allyl chloride	45.0		○		41	39
13	Freon 113	47.6			○	151	101
14	1,1-Dichloroethane	57.3		○	○	63	65
15	cis-1,2-Dichloroethylene	60.0		○	○	96	98
16	Chloroform	61.2	○	○	○	83	85
17	1,2-Dichloroethane	83.7	○	○	○	62	64
18	1,1,1-Trichloroethane	73.9		○	○	97	99
19	Benzene	80.1	○	○	○	78	77
20	Carbon tetrachloride	76.7		○	○	117	119
21	1,2-Dichloropropane	96.4		○	○	63	76
22	Trichloroethylene	86.7	○	○	○	130	95
23	cis-1,3-Dichloropropene	104			○	75	110
24	trans-1,3-Dichloropropene	112			○	75	110
25	1,1,2-Trichloroethane	114		○	○	97	83
	d8-Toluene	111	IS			98	
26	Toluene	111		○	○	91	92
27	Ethylene dibromide	132		○	○	107	109
28	Tetrachloroethylene	121	○	○	○	166	129
29	Chlorobenzene	132		○	○	112	77
30	Ethylbenzene	136		○	○	91	106
31	p-Xylene	138		○	○	91	106
32	m-Xylene	139		○	○	91	106
33	Styrene	145		○	○	104	78
34	1,1,2,2-Tetrachloroethane	146		○	○	83	65
35	o-Xylene	144		○	○	91	106
36	4-ethyltoluene	161				105	120
37	1,3,5-Trimethylbenzene	165		○	○	105	120
38	1,2,4-Trimethylbenzene	169		○	○	105	120
39	Benzyl chloride	179		○	○	91	126
40	m-Dichlorobenzene	172			○	146	148
41	p-Dichlorobenzene	174		○	○	146	148
42	o-Dichlorobenzene	181		○	○	146	148
43	1,2,4-Trichlorobenzene	210		○	○	180	182
44	Hexachlorobutadiene	283			○	225	223

*: Ion in m/z monitored by GC/MS

Table 2 Conditions of sample/interface system

Sample concentrator : AUTOCAN (Tekmar-Dohrmann)		
Line temp.	: 150°C	Desorb preheat temp. : -10°C
Valve temp.	: 150°C	Trap desorb time : 8min
MCS line temp.	: 50 °C	Trap desorb temp. : 220°C
Trap standby temp.	: 50°C	Cryo cool temp. : -185 °C
Cryo standby temp.	: 130°C	Cryo inject time : 2min
MFC standby flow	: 20ml/min	Cryo inject temp. : 200°C
Trap cool temp.	: -100°C	Trap bake time : 20min
MFC transfer flow	: 65ml/min	Trap bake temp. : 230°C
Drypurge time	: 2min	MCS bake temp. : 230°C
Drypurge temp.	: -10°C	Sample volume : 400ml
Drypurge flow	: 20ml/min	Internal standard volume : 100ml

Table 3 Operating conditions of the GC/MS

GC/MS : GC-17A/GCMS-QP5000Ver.2(Shimadzu)	
Column	: DB-1(60m×0.25mm I.D. df=1.0 μ mJ&W Scientific)
Column temp.	: 40°C(4min)→3°C/min→70°C→6°C/min→140°C →15°C/min→230°C(6min)
Carrier gas	: He(120kPa)
Injection mode	: Direct injection
Interface temp.	: 250°C
Ionization method	: EI(70eV)
SIM condition	
SIM interval	: 0.2sec
Monitoring ion	: Table 1 Cf.

間濃度域での機器の感度変動及び保存性を評価した。

6) 実試料による評価

住居地域において大気試料のサンプリングを行い、繰り返し分析により測定値の精度を評価した。また、分析室内空気を減圧法により採取し、分析操作中の汚染の危険性を調べた。さらに、減圧及び加圧採取を同時に行い、二つの採取法の比較を行った。

結果及び考察

1 標準物質による精度管理

標準物質による精度管理の結果をTable 4に示した。物質の順番は本法での検出順に表記してある。No.31, 32のm, p-Xyleneは、本法では分離不十分のため2物質を合算して取り扱った。

1) 検量線の判定

検量線の定量範囲は、下記の一部の物質を除き、0～0.25ppbである。具体的には、Freon 12 (No.1), Methyl chloride (No.2), o-Xylene (No.35), Benzyl chloride (No.39), 1,2,4-Trichlorobenzene (No.43)は0, 0.05～0.5 ppb, Dichloromethane (No.11), Benzene (No.19), Ethylbenzene (No.30), m/p-Xylene (No.31, 32)は0.01～1ppb, Toluene (No.26)は0, 0.25～3ppbが定量範囲であることを認めた。また、濃度比と面積比の相関係数の2乗を寄与率 r^2 で表した。Carbon tetra-chloride (No.20), 1,2,4-Trichlorobenzene (No.43)を除き、 r^2 は0.999以上、全物質についても0.99以上であり良好な精度であった。

2) 定量下限値の判定

優先取組物質の9物質については前報と同様、目標定量下限値を満たしていた。その他の物質については目標定量下限値が定められていないため評価は行えない。比較的GC分析で保持時間が長い物質の中で、定量下限値が高いものがみられた。

3) 感度変動比による精度の判定

数回の分析中で0.1ppb標準ガスを時々組み入れ、分析値を理論値で除した値を感度変動比とし、その最小、最大値を示した。マニュアルでは感度変動比の許容範囲を±20%としているが、Benzyl chloride (No.39)のみ許容範囲を超えており精度が低かった。他の物質については感度変動比は許容範囲であった。

4) 標準ガスの保存性

0.25ppb標準ガスの、調製時の分析値と9日間経過後の分析値の偏差を求め、標準ガスの保存性とした。この評価においてもBenzyl chloride (No.39)が偏差-23%を示し、保存性に問題があった。3)及び4)の評価から、この物質に関しては分析精度が悪く、本法による測定の実用は難しいと考えられる。他の物質については保存性は良

好であった。

2 実試料による評価

実試料の測定例と評価をTable 5に示した。検出下限値未満は「該当値ND」、定量下限値未満は「分析値<定量下限値」で表した。

1) 測定値のばらつきによる評価

測定値のばらつきが最大で10%以上あり、定量精度の低かった物質をTable 5中「★」で表した。

Vinyl chloride (No.4)は大気環境濃度が $0.011 \mu\text{g}/\text{m}^3$ で定量下限値0.01に近く低濃度であったため、若干分析精度が低くなったと考えられる。Methyl bromide (No.6)についても0.04に対し定量下限値(0.03)に近く低濃度なため同様な結果が得られたと推定される。

また、本法で大気環境濃度が定量下限値未満でばらつきを評価できなかった物質をTable 5中「？」で表した。これに該当したものは10物質あり、これらを定量するためには大気試料の濃縮量を増やすか、GC/MS等のシステムそのものを高感度にする必要がある。しかし、前者の場合、Toluene (No.26)等高濃度物質が機器のダイナミックレンジを超える危険性があり、いずれにしても本法で対象物質を同時定量することは困難と考えられる。

2) 分析室内濃度について

分析室内の空気は、換気により基本的には屋外大気環境の影響を受けるが、家具等からのVOCsの揮発や特殊な溶剤の使用により特異に汚染される可能性がある。分析室内濃度が大気環境濃度より3倍以上高かった物質について、Table 5中「！」で表した。これに該当する物質は、Chloroform (No.16), Styrene (No.33)であり、特にChloroformの濃度は約60倍高く、コンタミネーションを受けやすいと考えられるので、Chloroformの濃度が特異的に高い結果が得られた場合には注意が必要である。反面、キャニスターのリーク等があった場合、Chloroformの濃度が特異的に高くなる可能性があるため精度管理の指標とすることも可能である。

3) 減圧採取法と加圧採取法の比較

二つの採取法のそれぞれの利点を考えると、減圧法は現場において外部電源等動力を必要としないため、簡便でありかつ採取場所に制限を受けにくい。これに対し加圧法は、ポンプにより試料を吸引採取するため、比較的操作が煩雑、かつ電源を必要とする。しかし、減圧法より試料を約2.5倍多く採取できるため、より低濃度域の定量(減圧法より定量下限値が約1/2～1/3低くなる)が可能となる。

今回、両手法を用いて並行サンプリングを行い、測定値の比較を行った結果、43物質中25物質については相対誤差が30%未満で良好な結果が得られた。

また、Table 5中「※」で表した1,1,2,2-Tetrachloro-

Table 4 Analytical precision by reference gas

No.	Compounds	Linearity ¹⁾	Min. limit ²⁾	Sensitivity fluctuation ³⁾		Preservation ⁴⁾
		r ²	10*S.D.(n=5)	MIN	MAX	Deviation%
1	Freon 12	1.000	0.012	0.88	~ 1.06	15
2	Methyl chloride	0.999	0.006	0.87	~ 1.06	6
3	Freon 114	1.000	0.027	0.91	~ 1.04	15
4	Vinyl chloride	1.000	0.010	0.88	~ 1.05	5
5	1,3-Butadiene	0.999	0.005	0.87	~ 1.05	4
6	Methyl bromide	1.000	0.032	0.89	~ 1.05	11
7	Ethyl chloride	1.000	0.018	0.87	~ 1.05	5
8	Freon 11	1.000	0.027	0.88	~ 1.04	11
9	Acrylonitrile	0.999	0.016	0.88	~ 1.05	-4
10	1,1-Dichloroethylene	1.000	0.023	0.87	~ 1.04	10
11	Dichloromethane	0.999	0.024	0.88	~ 1.04	6
12	Allyl chloride	0.999	0.010	0.90	~ 1.04	-3
13	Freon 113	1.000	0.033	0.92	~ 1.03	3
14	1,1-Dichloroethane	1.000	0.016	0.88	~ 1.05	-4
15	cis-1,2-Dichloroethylene	1.000	0.019	0.86	~ 1.06	9
16	Chloroform	1.000	0.024	0.91	~ 1.05	11
17	1,2-Dichloroethane	1.000	0.013	0.89	~ 1.04	0
18	1,1,1-Trichloroethane	1.000	0.028	0.89	~ 1.04	13
19	Benzene	1.000	0.025	0.85	~ 1.05	-6
20	Carbon tetrachloride	0.998	0.040	0.96	~ 1.05	6
21	1,2-Dichloropropane	1.000	0.019	0.88	~ 1.04	1
22	Trichloroethylene	1.000	0.039	0.86	~ 1.06	8
23	cis-1,3-Dichloropropene	1.000	0.012	0.90	~ 1.04	-1
24	trans-1,3-Dichloropropene	0.999	0.013	0.91	~ 1.05	0
25	1,1,2-Trichloroethane	1.000	0.028	0.88	~ 1.03	16
26	Toluene	0.999	0.018	0.89	~ 1.04	5
27	Ethylene dibromide	1.000	0.042	0.93	~ 1.02	12
28	Tetrachloroethylene	1.000	0.034	0.94	~ 1.02	2
29	Chlorobenzene	1.000	0.017	0.92	~ 1.03	7
30	Ethylbenzene	0.999	0.006	0.91	~ 1.04	-4
31,32	m/p-Xylene	1.000	0.006	0.91	~ 1.04	-8
33	Styrene	1.000	0.012	0.91	~ 1.04	15
34	1,1,2,2-Tetrachloroethane	1.000	0.051	0.91	~ 1.03	9
35	o-Xylene	1.000	0.010	0.91	~ 1.04	-1
36	4-ethyltoluene	0.999	0.018	0.90	~ 1.05	10
37	1,3,5-Trimethylbenzene	1.000	0.021	0.91	~ 1.04	2
38	1,2,4-Trimethylbenzene	1.000	0.031	0.91	~ 1.08	10
39	Benzyl chloride	0.999	0.067	0.72	~ 1.25	-23
40	m-Dichlorobenzene	1.000	0.037	0.95	~ 1.04	5
41	p-Dichlorobenzene	1.000	0.040	0.95	~ 1.04	7
42	o-Dichlorobenzene	0.999	0.038	0.95	~ 1.05	5
43	1,2,4-Trichlorobenzene	0.996	0.082	0.87	~ 1.14	4
44	Hexachlorobutadiene	1.000	0.088	0.86	~ 1.10	2

1) : Squared value of coefficient of correlation for linear fitting of the response, 5 levels

2) : Minimum limit of determination by measuring 0.02ppb reference gas ; nuit (μ g/m³)

3) : Fluctuation rate of the measurement of 0.1ppb reference gas

4) : Deviation from original value of 0.25ppb reference gas preserved in the canistar for 9 days

Table 5 Evaluation for measurement of outdoor air

unit: $\mu\text{g}/\text{m}^3$

No.	Compounds	Concentration			CV% ²⁾		Laboratory sample	Evaluation ³⁾
		Passive α	Pressurized β	γ ¹⁾	MIN	MAX		
1	Freon 12	2.6	2.4	-4.9	1.4	~ 3.3	3.5	
2	Methyl chloride	1.1	1.1	-3.7	0.8	~ 1.8	1.2	
3	Freon 114	0.15	0.14	-11	1.6	~ 4.3	0.14	
4	Vinyl chloride	0.011	0.011	-5.3	1.6	~ 10	0.013	★
5	1,3-Butadiene	0.27	0.20	-23	1.2	~ 5.5	0.28	
6	Methyl bromide	0.044	0.043	-2.4	1.7	~ 12	0.057	★
7	Ethyl chloride	0.042	0.045	6.2	6.3	~ 9.5	0.12	
8	Freon 11	1.3	1.2	-4.5	0.4	~ 2.6	1.4	
9	Acrylonitrile	0.024	0.024	-0.5	3.9	~ 8.0	0.058	
10	1,1-Dichloroethylene	0.01 ND	0.01 ND	-	*	~ *	0.01 ND	?
11	Dichloromethane	2.1	2.1	-3.3	0.9	~ 2.7	4.9	
12	Allyl chloride	0.01 ND	0.01 ND	-	*	~ *	0.01 ND	?
13	Freon 113	0.51	0.50	-2.1	1.1	~ 2.9	0.88	
14	1,1-Dichloroethane	0.01 ND	0.01 ND	-	*	~ *	0.01 ND	?
15	cis-1,2-Dichloroethylene	0.02 ND	0.01 ND	-	*	~ *	0.01 ND	?
16	Chloroform	0.13	0.14	3.9	2.6	~ 3.7	8.1	!
17	1,2-Dichloroethane	0.076	0.074	-3.0	2.1	3.6	0.10	
18	1,1,1-Trichloroethane	0.32	0.31	-3.6	1.6	~ 5.6	0.28	
19	Benzene	2.8	2.4	-12	1.9	~ 4.0	2.9	
20	Carbon tetrachloride	0.53	0.49	-7.4	0.7	~ 5.7	0.53	
21	1,2-Dichloropropane	0.02<0.05	0.02<0.02	-	2.5	~ 7.0	0.02<0.03	?
22	Trichloroethylene	0.31	0.29	-7.5	1.5	~ 8.9	0.60	
23	cis-1,3-Dichloropropene	0.03 ND	0.01<0.04	-	*	~ *	0.02 ND	?
24	trans-1,3-Dichloropropene	0.04 ND	0.02 ND	-	*	~ *	0.02 ND	?
25	1,1,2-Trichloroethane	0.01 ND	0.01 ND	-	*	~ *	0.01 ND	?
26	Toluene	14	13	-8.4	0.6	~ 2.7	20	
27	Ethylene dibromide	0.02 ND	0.02<0.03	-	*	~ *	0.02 ND	?
28	Tetrachloroethylene	0.14	0.12	-10	1.7	~ 7.9	0.18	
29	Chlorobenzene	0.047	0.033	-30	1.9	~ 9.3	0.044	×
30	Ethylbenzene	2.2	2.3	7.2	0.5	~ 2.4	4.2	
31,32	m/p-Xylene	1.7	1.8	5.9	0.5	~ 1.3	2.6	
33	Styrene	0.18	0.25	36	1.0	~ 3.9	0.61	×!
34	1,1,1,2,2-Tetrachloroethane	0.01 ND	0.012	100	*	~ *	0.01 ND	※
35	o-Xylene	1.2	1.3	8.9	0.6	~ 1.7	1.8	
36	4-ethyltoluene	0.53	0.60	13	0.7	~ 1.9	0.62	
37	1,3,5-Trimethylbenzene	0.46	0.51	11	1.0	~ 2.2	0.52	
38	1,2,4-Trimethylbenzene	1.7	2.3	36	0.8	~ 3.8	2.1	×
39	Benzyl chloride	0.10 ND	0.04 ND	-	*	~ *	0.06 ND	?
40	m-Dichlorobenzene	0.093	0.035	-62	*	~ *	0.01<0.06	×
41	p-Dichlorobenzene	0.55	0.59	7.9	1.5	~ 5.6	1.3	
42	o-Dichlorobenzene	0.11	0.057	-47	*	~ *	0.076	×
43	1,2,4-Trichlorobenzene	0.03 ND	0.35	100	*	~ *	0.41	※
44	Hexachlorobutadiene	0.09 ND	0.039	100	*	~ *	0.05 ND	※

1) : $\gamma = (\beta - \alpha) / \alpha * 100$ Relative deviation of pressurized sampling from passive one; $\gamma = 100$ if $\alpha = \text{ND}$

2) : Fluctuation of coefficient of variation for 3 different air samples collected at 3 different places; CV% is calculated from the results of 5 time analysis for each sample

3) : The symbols stand for:

★: Low level of accuracy: CV% is 10% or more

!: Laboratory sample is contaminated: concentration in the room air is higher than 3 times of that in outdoor one

?: No detection by both pressurized sampling and passive one

×: Relative deviation is 30% or more

※: Detection was possible only by pressurized sampling

ethane (No.34) と Hexachlorobutadiene (No.44) は、減圧法では定量できなかったが、加圧法のみ上記の利点により定量可能であった。同様に、1,2,4-Trichlorobenzene (No.42) も加圧法でのみ定量可能であったが、他の2物質が定量下限値に近い値 (Table 4 の減圧法の定量下限値の約1/3倍) で定量されたのに対し、この物質の測定値は約4倍と高く、理論的に矛盾する結果となった。

さらに、Table 5 中「×」で表した Chlorobenzene (No.29), Styrene (No.33), 1,2,4-Trimethylbenzene (No.38), m-Dichlorobenzene (No.40), o-Dichlorobenzene (No.42) については、減圧法と加圧法の相対誤差が30%以上あり、真値が推定できない。減圧法と加圧法の比較及びその誤差については、検討対象物質が異なるものの数例の報告がされており^{7), 8)}、加圧法について極性成分や高沸点成分の凝縮等による誤差要因が指摘されている。今回、相対誤差が大きかった物質も高沸点成分や極性成分であり、同様の誤差要因があったと考えられる。このことから今回の検討では比較的操作が簡便で、誤差要因が少ない減圧採取法が多成分VOCsの測定法として優れていると考えられた。

ま と め

キャニスターGC/MS法により、VOCs44物質について、測定法及び分析精度について検討した結果、以下のとおりであった。

- 1) 標準物質により作成した検量線は寄与率が全物質について0.99以上であり良好な精度であった。
- 2) 標準物質により感度変動比、保存性を検討した結果、Benzyl chlorideの分析精度が低く、定量に関し本法を適用できないと判定された。

- 3) 減圧採取法と加圧採取法の比較を行った結果、比較的操作が簡便で、誤差要因が少ない減圧採取法が多成分VOCsの測定法として優れていると考えられた。

文 献

- 1) 環境庁：有害大気汚染物質測定方法マニュアル 平成9年2月制定，平成10年1月，平成11年3月一部改訂
- 2) U.S.EPA: Determination of volatile organic compounds (VOCs) in ambient air using SUMMA polished canister sampling and gas chromatographic (GC) analysis. (TO-14), (1988)
- 3) 有害大気汚染物質測定の実際編集委員会編：有害大気汚染物質測定の実際 平成9年6月
- 4) 田端孝光 他：静岡県内の有害大気汚染物質調査－揮発性有機化合物 (VOCs) について－，静岡県環境衛生科学研究所報告，40, 99-102 (1997)
- 5) 田端孝光 他：静岡県内の有害大気汚染物質調査－優先取組物質 (18物質) の状況について－，静岡県環境衛生科学研究所報告，41, 85-89 (1998)
- 6) 太田良和弘 他：静岡県内の有害大気汚染物質調査－優先取組物質 (19物質) の状況について，静岡県環境衛生科学研究所報告，42, 129-133 (1999)
- 7) 大野ちづ子 他：減圧採取と加圧採取によるVOC濃度の比較について，徳島県保健環境センター年報，16, 29-32 (1998)
- 8) 村山 等 他：キャニスターを用いた大気中揮発性有機化合物の測定における減圧採取法と加圧採取法の比較，環境化学，10, 27-34 (2000)

生活環境水のレジオネラ汚染およびレジオネラ症患者調査 —レジオネラ症患者の検査と疫学調査—

微生物部 環境微生物スタッフ 杉山寛治, 増田教子, 宮本秀樹
中村信也

Relationship between *Legionella* Contamination of Environmental Water and Occurrence of Legionnaires Disease

— Examinations and Epidemiological Aspects in Cases of Legionnaires Disease —

Kanji SUGIYAMA, Kyoko MASUDA, Hideki MIYAMOTO, and Nobuya NAKAMURA

レジオネラ属菌により発症するレジオネラ症は、その検査が普及しておらず、疫学的に不明な点が多い。そこで、病院からの検体を対象に、従来の検査法と並行して迅速診断法（PCR法）を実施して、その有用性を検討した。さらに、レジオネラ症と診断された患者の感染源などの疫学的背景について調査した。

1986年～1998年までに、9例のレジオネラ症確定例（死亡3例）があった。患者は平均62.3歳、すべて男性で、季節を問わず通年発症している。検査では培養法で7例、血清抗体価測定で5例、PCR法で2例（陽性患者の検査実施全例）が陽性を示した。PCR法は6時間以内に結果が判明し、治療に役立った。臨床検査では白血球数、CRPにおいて強い炎症反応が観察され、また肝機能異常（GOT, GPT, LDH上昇）、CPK, BUN上昇を示す症例もみられた。患者の疫学的調査では、3例が発症直前に温泉旅行をしていた。また1例は配管工で、発症直前に大型レジャー浴湯の循環給湯システムの修理をしていた。その浴槽水から患者と同型の菌が検出されたため、給湯装置が感染源であると推察された。

Key words: レジオネラ, 疫学調査, 感染源, PCR, 浴槽水

Legionella, Epidemiological aspect, Source of infection, PCR, Bath water

はじめに

レジオネラ症はレジオネラ属菌により発症する呼吸器系の新興感染症である。本症は感染症新法（平成11年4月1日施行）では4類感染症に分類され、医師の届け出が必要となった。しかし、レジオネラは病院等で常用されている培地には発育しないことから、その検査が普及しておらず、本症には疫学的に不明な点が多い。

そこで、病院から送付された肺炎患者の検体を対象に、従来のレジオネラ検査法と並行して迅速診断法（PCR法）を実施し、その有用性を検討すると共に、レジオネラ症と診断された患者の感染源など疫学的背景について調査したので、その結果を報告する。

材料および方法

肺炎患者のレジオネラ検査は病院から送付された39症例の検体（喀痰、気管支洗浄液、血清など）を対象に実施した。従来の検査法として培養法と血清抗体価測定法（間接蛍光抗体法）を用い、また、迅速診断法として喀痰、気管支洗浄液を対象に、レジオネラ属に特異的な16S ribosomal RNA encoding DNA を標的としたプライマー（山本ら¹⁾）と、*Legionella pneumophila* の染色体DNAの一部を標的とした菌種特異的プライマー（Starnbachら²⁾）を使用したPCR法を行った。

培養法とPCR法では、喀痰をスプタザイム処理したもの、気管支洗浄液は無処理のものを検体とし、15,000rpm, 10分間遠心後、その沈渣を蒸留水で1/20に濃縮・再浮遊させた。濃縮検体の各10 μ lをWYO α 平板（栄研）塗抹培養とPCRに供した。

患者の臨床検査データは病院から提供を受けた。

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市北安東4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-andō, Shizuoka, 420-8637, Japan)

レジオネラ症患者の疫学的調査は、年齢、性、職業などと共に、感染源調査として発症前14日以内の自宅以外での入浴（温泉、大型レジャー浴湯、保養センター、ゴルフ場、ホテルなど）、24時間風呂入浴、水冷式の冷房の使用の有無などについて調べた。また、菌検査が可能であった1施設については浴槽水のレジオネラ汚染を調査した。

結果および考察

当所では1986年～1998年までに、9例のレジオネラ症

確診例（死亡3例）を把握しているが、このうち5例（死亡1例）は最近の2年間に発生している。レジオネラ肺炎患者9例（No. 1～9）の概要を表1に示した。患者は平均62歳、すべて男性で、季節を問わず通年発症している。既往歴では肺結核、肝障害、慢性白血病などが4例あり、他の5例には特記すべき疾患はなかった。検出菌種と血清群は *L. pneumophila* のSG1が7例、SG5が1例、*L. pneumophila* 以外（菌種同定中）が1例あった。

レジオネラ検査では、培養法で7例、血清抗体価測定

表1 レジオネラ肺炎患者9例の概要

患者No	年齢	性別	職業	住所	既往歴	発症年月日	転帰	診断の根拠	菌種	血清群	疫学的背景
1	70	男	無職	静岡市	肺結核	1986.2.4	死亡	気管支吸引物から菌分離	<i>L.p.</i> *1	SG1	・
2	60	男	会社員	静岡市	肺一部切除	1986.3.13	軽快	血清抗体価の上昇	<i>L.p.</i>	SG1	・
3	48	男	塗装業	静岡市	肺結核 肝障害	1987.5.23	軽快	喀痰から菌分離	<i>L.p.</i>	SG1	・
4	67	男	・	静岡市	特記なし	1996.4	死亡	吸引痰から菌分離	<i>L.p.</i>	SG5	・
5	66	男	・	袋井市	特記なし	1996.11	死亡	肺胞洗浄液から菌分離	<i>L.p.</i>	SG1	温泉旅行
6	57	男	無職	袋井市	特記なし	1997.10.15	軽快	血清抗体価の上昇	<i>L.p.</i>	SG1	温泉旅行
7	76	男	無職	清水市	慢性白血病	1998.4.9	軽快	気管支洗浄液から菌分離	<i>L.spp.</i> *2	・	・
8	61	男	・	浜松市	特記なし	1998.9.15	軽快	気管支洗浄液から菌分離	<i>L.p.</i>	SG1	温泉旅行
9	56	男	配管工	藤枝市	特記なし	1998.10.6	軽快	気管支洗浄液から菌分離	<i>L.p.</i>	SG1	給湯装置修理

*1 *L.p.* : *Legionella pneumophila*

*2 *L.spp.* : *Legionella pneumophila* 以外の *Legionella* 属菌種

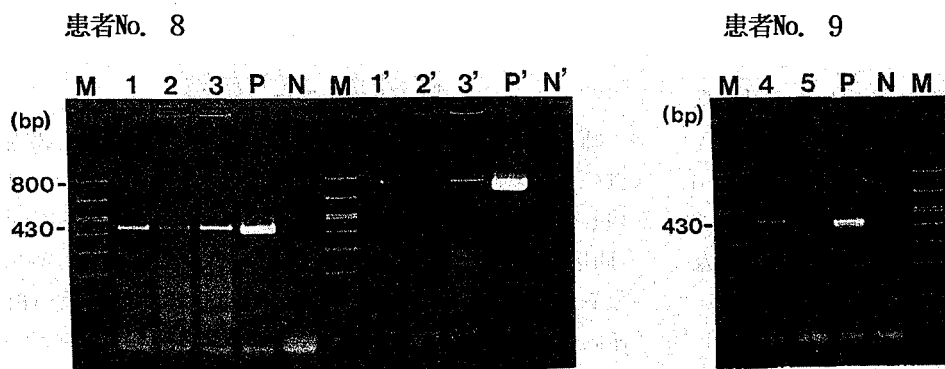


図1 患者検体のPCR増幅産物

Lane 1～5, P, Nはレジオネラ属特異プライマーを使用。

Lane 1'～3', P', N'は *Legionella pneumophila* 菌種特異プライマーを使用。

増幅産物のサイズ（大きさ）は左側に塩基対(bp)で示した。

Lane 1 : 患者No. 8の喀痰 ; Lane 2と3 : 患者No. 8の気管支洗浄液 ; Lane 4 : 患者No. 9の

気管支洗浄液 ; Lane 5 : レジオネラ症以外の肺炎患者の気管支洗浄液 ; M : 分子量マーカー ;

P, P' : 陽性コントロール ; N, N' : 陰性コントロール

表2 レジオネラ症患者6例の間接蛍光抗体法による血清抗体価

患者 No	発症後日数(下段)における抗体価														
	5日	6日	8日	9日	10日	21日	22日	23日	26日	29日	31日	46日	49日	53日	74日
2	<64	2048
3	512
6	16	512	64	.	.	.
7	.	512	.	.	.	1024	1024	512	<16
8	.	.	.	16	.	.	.	256
9	.	.	<16	1024

判定基準：急性期と回復期の抗体価の差が4倍以上，または回復期血清が128≦の時，陽性。

表3 レジオネラ症患者8例の臨床検査データ

検査項目	正常値	患者No 1	2	3	5	6	7	8	9
WBC (/mm ³)	3,500~9,000	<u>19,800</u>	<u>9,300</u>	<u>11,700</u>	<u>14,160</u>	<u>10,610</u>	<u>13,000</u>	<u>22,000</u>	<u>9,800</u>
CRP (mg/dL)	0~0.6	<u>6+</u> (毛細管法, 6mm以上)	<u>6+</u>	<u>5+</u>	<u>60</u>	<u>32.4</u>	<u>19.6</u>	<u>29.24</u>	<u>>25</u>
GOT (IU/L)	0~38	<u>757</u>	<u>127</u>	<u>457</u>	.	<u>132</u>	18	<u>183</u>	<u>242</u>
GPT (IU/L)	0~35	<u>303</u>	<u>76</u>	<u>112</u>	.	<u>67</u>	17	<u>93</u>	<u>143</u>
LDH (IU/L)	50~400	<u>3,006</u>	<u>773</u>	<u>998</u>	.	<u>823</u>	<u>469</u>	<u>1,026</u>	<u>1,507</u>
CPK (IU/L)	15~125	<u>14,590</u>	<u>319</u>	80	.	<u>2,482</u>	21	<u>1,704</u>	<u>15,407</u>
ESR-1h (mm)	1~14	.	<u>117</u>	<u>81</u>	<u>72</u>
Na (mEq/L)	135~147	139	144	136	.	133	137	134.5	123
BUN (mg/dL)	8~20	<u>105</u>	<u>39</u>	<u>31</u>	.	<u>28.3</u>	<u>22</u>	<u>33.4</u>	17

下線：異常値を示す

法で5例，PCR法で2例が陽性であった。

喀痰と気管支洗浄液を検査対象にしたPCR増幅産物の電気泳動像を図1に示した。培養法で陽性となった7例のうち2例でPCR法を実施したが，2例とも陽性となり，両法の成績はよく一致していた。また，PCR法は6時間以内に検査結果が判明したことから，早期にレジオネラ感染症に有効な抗生剤を選択でき，患者の治療上でも大いに役立った。

レジオネラ症患者6例(No. 2, 3, 6, 7, 8, 9)の間接蛍光抗体法による血清抗体価を表2に示した。多くの症例で急性期と回復期の抗体価の差が4倍以上あり，血清抗体価測定が本症診断上有効であることが確認された。

レジオネラ症患者8例(No. 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9)の臨床検査データを表3に示した。調査した8例全例で白血球数，CRPにおいて強い炎症性反応が観察され，また，肝機能異常(GOT・GPT・LDH上昇)，CPK，BUN上昇を示す症例もみられた。

5例(No. 5~9)のレジオネラ症患者の疫学的調査では，3例(No. 5, 6, 8)が発症直前に温泉旅行をしていた(表1)。また，1例(No. 9)は配管工で発

症直前に大型レジャー浴湯の循環式給湯システムの修理をしていた。後日，その施設の浴槽水からは患者と同型の菌(*L. pneumophila* SG1)が最高460 CFU/100mL検出され，給湯装置が感染源であると推定された。

この調査から，レジオネラ症の感染源として温泉や大型レジャー浴湯などの循環風呂の重要性が示唆されたが，循環風呂浴槽水などの生活環境水とレジオネラ症発生との関連については，さらに疫学的調査を進めていかなければならない。今後，循環風呂浴槽水についても冷却塔水と同様なレジオネラ汚染防止対策(厚生省生活衛生局監修のレジオネラ症防止指針³⁾)が必要になると考えられるので，前報^{4, 5)}で検討した循環濾過式浴槽水のレジオネラ殺菌法(加熱処理，塩素処理)について，実際の施設への応用をはかっていきたい。

文 献

- 1) Yamamoto, H., Hashimoto, Y. and Ezaki, T.: Comparison of detection methods for *Legionella* species in environmental water by colony isolation, fluorescent antibody staining, and polymerase chain reaction, *Microbiol. Immunol.*, **37**, 617-622 (1993)

- 2) Starnbach, M.N., Falkow, S. and Tompkins, L.S.: Species-specific detection of *Legionella pneumophila* in water by DNA amplification and hybridization, *J. Clin. Microbiol.*, **27**, 1257-1261 (1989)
- 3) 厚生省生活衛生局企画課監修：レジオネラ症防止指針, (財)ビル管理教育センター, 東京 (1994)
- 4) 杉山寛治, 興津知子, 宮本秀樹, 中村信也：循環濾過式浴槽水のレジオネラ汚染と殺菌法, 静岡県環境衛生科学研究所報告, **39**, 47-52 (1996)
- 5) 杉山寛治, 興津知子, 宮本秀樹, 中村信也：モデル浴槽水を使用したレジオネラ加熱殺菌法の検討, 静岡県 環境衛生科学研究所報告, **40**, 5-8 (1997)

海水・海泥からの耐熱性溶血毒産生腸炎ビブリオの検出

微生物部 環境微生物スタッフ 杉山寛治, 増田教子, 川村朝子
郷田淑明, 秋山真人

Isolation of Thermostable Direct Hemolysin Producing *Vibrio parahaemolyticus* from Seawater and Seasand

Kanji SUGIYAMA, Kyoko MASUDA, Asako KAWAMURA,
Yoshiaki GŌDA, and Masato AKIYAMA

腸炎ビブリオ病原株の環境における分布を知る目的で、PCR（遺伝子増幅）法、免疫磁気ビーズ法と神奈川現象培地の3者を組み合わせた検査法を用い、静岡県下の漁港海水、海泥などからの耐熱性溶血毒(TDH)産生・神奈川現象陽性の病原株の検出を試みた。その結果、従来検出が困難であった海水と海泥各々1検体からTDH産生腸炎ビブリオ血清型O3:K6を検出することができた。これらの菌株と1999年に県下で発生した腸炎ビブリオ食中毒事例の患者分離株(O3:K6)の染色体DNAの制限酵素切断パターンをパルスフィールドゲル電気泳動法で比較したところ、両由来株の一部は同一パターンを示した。腸炎ビブリオO3:K6に汚染された海水が同時期に発生した食中毒と疫学的に結び付く可能性が示唆された。

Key words: 耐熱性溶血毒, 海水, 海泥, 免疫磁気ビーズ法

Thermostable direct hemolysin, Seawater, Seasand, Immuno magnetic separation

はじめに

腸炎ビブリオは夏季の沿岸海水や海産魚介類に分布し、病原株と非病原株に区別される。食中毒患者から分離される病原株は耐熱性溶血毒(thermostable direct hemolysin: TDH^{1, 2)})や、これに類似する溶血毒(TDH-related hemolysin: TRH³⁾)を産生するが、海水や海泥などの環境材料からそれらの病原株を検出することは従来困難であるといわれていた。そこで、特にTDH産生腸炎ビブリオを海水等から効率良く分離するために、PCR（遺伝子増幅）法、免疫磁気ビーズ法と神奈川現象培地の3者を組み合わせた検査法を検討した。

材料および方法

1999年7月から11月のあいだに、静岡県下の漁港や汽水湖の深さ1mから採取した海水(1L)29検体、海泥(25g)25検体について、PCR法⁴⁾、免疫磁気ビーズ法(10月以降の検体について実施)と神奈川現象培地⁵⁾を組み合わせた検査法で、TDH産生腸炎ビブリオの検出を行った。

免疫磁気ビーズはDynabeads M-280 Sheep anti Rabbit IgG (DYNAL社)のビーズに腸炎ビブリオ型別用K型血清(デンカ生研)を感作させ使用した。また、アルカリペプトン水を用いた最確数(MPN)増菌培養法で腸炎ビブリオの菌数とtdh遺伝子保有菌のMPN値の測定を行った。

海水、海泥から分離された腸炎ビブリオ株(血清型O3:K6)については、染色体DNAのパルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)法による制限酵素(*Sfi* I, *Not* I処理)切断パターンを、1999年に発生した腸炎ビブリオ食中毒4事例の患者分離株(血清型O3:K6)と比較した。

成 績

海水、海泥からのTDH産生腸炎ビブリオの検出方法で、今回検討して最も優れていると思われる方法を(図1)に示した。海水は1Lをメンブランフィルターで濾

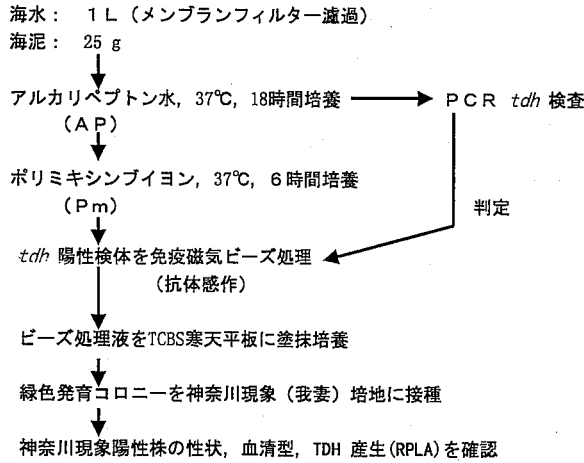


図1 海水、海泥からのTDH産生腸炎ビブリオの検出方法

過しフィルターを、海泥は25gをアルカリペプトン水で18時間培養後、増菌液中の *tdh* 遺伝子の有無をPCR法で検査した。同時にアルカリペプトン水増菌液の一部をポリミキシンBイオンに接種し6時間の2次増菌を行った。

PCRで *tdh* 陽性となった検体については、腸炎ビブリオK型抗血清を感作させた免疫磁気ビーズで処理した後、TCBS平板に塗抹培養した。発育した緑色集落を神奈川現象培地(我妻培地)に接種し、溶血の有無を調べた。明瞭な溶血のみられた株は、RPLA法によってTDH産生性を確認した。

PCR法による海水からの *tdh* 遺伝子の検出結果の一部を(図2)に示した。漁港海水5検体中4検体(Lane 2

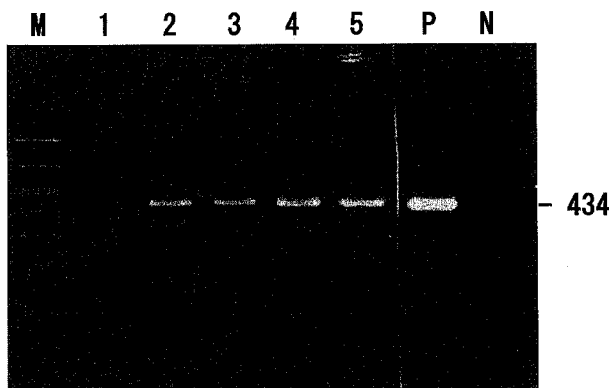


図2 PCR法による海水からの *tdh* 遺伝子検出
Lane 1~5: 漁港海水1Lを濾過したメンブランフィルターをアルカリペプトン水で増菌培養したものを検体とした。
M: 分子量マーカー P: 陽性コントロール
N: 陰性コントロール
増幅産物のサイズ(大きさ)は右側に塩基対(bp)で示した。

~5)で434bpの *tdh* 遺伝子の増幅断片が確認された。

1999年7月から11月の間に採水した県内の漁港等の海水29検体中15検体(52%)、海泥25検体中3検体(12%)からPCR法で *tdh* 遺伝子が検出された(表1)。そのう

表1 海水、海泥からの *tdh* 遺伝子およびTDH産生菌の検出成績

検体(量)	検体数	<i>tdh</i> 陽性数(%)	TDH産生菌検出数(%)
海水 (1L)	29	15 (52%)	1* (3%)
泥 (25g)	25	3 (12%)	1* (4%)

* Y漁港の海水、海泥1検体ずつから、神奈川現象陽性・TDH産生の腸炎ビブリオO3:K6が検出された。

ち、同じ海域の漁港の海水と海泥各々1検体からTDH産生・神奈川現象陽性の腸炎ビブリオO3:K6が検出された。その血清型は1999年に静岡県で発生した食中毒事例で患者から最も多く検出された型と一致していた。

漁港海水の一定点におけるMPN法によってもとめた腸炎ビブリオ総菌数との *tdh* 保有菌数の推移を、表2に表2 一海水定点におけるMPN法によってもとめた腸炎ビブリオ総菌数と *tdh* 保有菌数の推移

採水月日	海水温	腸炎ビブリオ総菌数 /100mL	<i>tdh</i> 保有菌数 /100mL
7月26日	23.5℃	2.1×10 ³	+*
9月20日	25℃	9.3×10 ⁴	9.3×10
9月27日	23℃	1.5×10 ³	+
10月18日	23℃	2.1×10 ²	9.1
11月9日	20℃	4.6×10 ²	+
11月30日	18.5℃	4.3×10	+

*+: 海水1Lのメンブランフィルター濾過培養で *tdh* 陽性になったもの。MPN値は算出できず。

示した。PCR(MPN)法によって海水中の *tdh* 保有腸炎ビブリオ菌数をもとめられた検体は、2検体あり、多いもので海水100mL中93個であった。一方、培養法で求めた非病原株、病原株を含めた腸炎ビブリオ総菌数は最も多いもので海水100mL中10⁴個台であった。腸炎ビブリオ総菌数にしろ *tdh* 保有菌数の割合は100分の1から1,000分の1以下であった。

今回、10月以降に採取した海水14検体、海泥11検体のうち、PCR陽性であった海水7検体、海泥2検体については、特定の腸炎ビブリオK型抗血清を感作させた免疫磁気ビーズ法を応用した。この方法では特定K抗原保有株を免疫磁気ビーズに選択的に結合させ、その結合体を磁場に数回さらす過程で、洗浄により他の菌などを除き、結果的に目的菌を濃縮することが可能であった。

表3に、免疫磁気ビーズ使用の有無および増菌培養法

表3 免疫磁気ビーズ処理による海水、海泥からの目的K抗原保有株の分離率

検体名	培養法	免疫磁気ビーズ 感作抗体	目的K抗原保有 株の分離率	分離株の性状 (株数)
Y漁港海泥	AP→Pm*1	K6	11株/12株中	O3:K6, TDH 陽性 (5株) O3:K6, TDH 陰性 (6株)
〃	AP*2	K6	1株/4株中	O3:K6, TDH 陽性 (1株)
〃	AP→Pm	ビーズ未処理	0株/12株中	
Y漁港海水	AP→Pm	K6	5株/10株中	O3:K6, TDH 陽性 (5株)
〃	AP	K6	0株/12株中	
〃	AP→Pm	ビーズ未処理	0株/12株中	
H湖水(汽水)	AP→Pm	K68	9株/12株中	O11:K68, TDH 陰性 (9株)
〃	AP→Pm	ビーズ未処理	0株/12株中	
H湖泥	AP→Pm	K68	11株/12株中	O11:K68, TDH 陰性 (11株)
〃	AP→Pm	ビーズ未処理	0株/12株中	

*1 アルカリペプトン水 (AP), 37℃, 18時間前培養後, ポリミキシ
ンブイオン (Pm) に再接種, 37℃, 6時間培養したもの。
*2 アルカリペプトン水 (AP), 37℃, 18時間培養したもの。

の違いによる, 目的とするK抗原保有株の分離率を示した。ビーズ処理した検体の一部では目的K抗原保有株を分離することができた。一方, 免疫磁気ビーズで処理しない検体からはいずれも目的とするK抗原保有株を分離することはできなかつた。増菌培養法(アルカリペプトン水単独増菌法とアルカリペプトン水, ポリミキシブイオンの2段階増菌法)の違いにより, 目的とするK抗原保有株の分離率を比較したところ, アルカリペプトン水→ポリミキシブイオンの2段階増菌法を用いた検体からの分離率がアルカリペプトン水単独増菌法のものより高かつた。特にY漁港海水のアルカリペプトン水→ポリミキシブイオンの2段階増菌培地をK6抗体感作ビーズで処理した検体では, 分離12株中11株(92%)がK6抗原を保有していた。そのうち神奈川現象陽性のTDH産生株は5株であった。

免疫磁気ビーズ法では特定のK抗原保有株を選択的に分離することができたが, 表3に示したH湖水, 湖泥の場合のように, K68抗原をもつもののTDH陰性である非病原株を選択的に分離したケースがあつた。しかし, このような場合も, ビーズ処理後の分離株を神奈川現象培地に接種することで, 神奈川現象陽性のTDH産生株のみを確実にスクリーニングすることが可能であつた。

海水, 海泥から分離された血清型O3:K6と, 同じ血

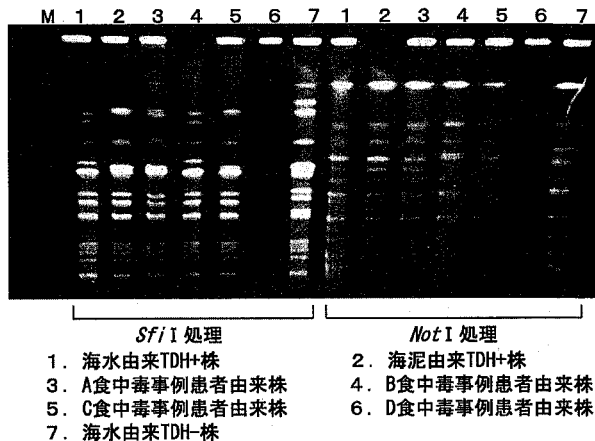


図3 海水, 海泥, 食中毒患者由来腸炎ビブリオO3:K6のPFGE制限酵素切断パターン

清型の食中毒患者分離株の制限酵素切断パターンのパルスフィールドゲル電気泳動像を図3に示した。Lane 1の海水株はLane 4の患者由来株と一致し, Lane 2の海泥株はLane 3, 5の患者由来株と一致していた。

考 察

PCR法, 免疫磁気ビーズ法と神奈川現象培地の3者を組み合わせた検査法で, 従来検出が困難であつた海水と海泥各々1検体からTDH産生腸炎ビブリオ血清型O3:K6を検出することができた。これらの菌株と1999年に静岡県下で発生した腸炎ビブリオ食中毒事例の患者分離株(O3:K6)の染色体DNA制限酵素切断パターンをパルスフィールドゲル電気泳動法で比較したところ, 両由来株の一部は同一パターンを示した。両由来株はすべて山井ら⁶⁾の報告したPFGEタイプSA-NA型に属し, 同一クローンから派生したものと考えられた。腸炎ビブリオO3:K6に汚染された海水が同時期に発生した食中毒と疫学的に結び付く可能性が示唆された。

腸炎ビブリオ血清型O3:K6を原因とする全国の食中毒事例のなかには, 茹でた後に, いけす等の海水で冷やした海産魚介類を原因食品とする事例⁷⁾があり, 腸炎ビブリオで汚染された海水が原因食品の汚染源となつたことが推定されている。漁港海水はいけす用の海水として使用されたり, 魚体の洗浄などにも使われていることから, 私どもが明らかにしたような血清型O3:K6に汚染された海水が直接食中毒の発生に結び付く恐れも十分考えられる。今後は, 汚染された漁港海水の使用中止などの対策が必要であろう。

なお, 本報の要旨は第20回日本食品微生物学会(1999, 10)で報告した。

文 献

- 1) 小原寧：腸炎ビブリオの溶血因子に関する研究，第2報，溶血因子の部分的精製．感染症誌，45，392 (1971).
- 2) Honda, T. et al.: Identification of lethal toxin with thermostable direct hemolysin produced by *Vibrio parahaemolyticus* and some physicochemical properties of the purified toxin. Infect. Immun., 13, 133 (1976)
- 3) Honda, T. et al.: Purification of a TDH-related hemolysin produced by a Kanagawa phenomenon negative clinical isolate of *Vibrio parahaemolyticus* O6:K46. FEMS Microbiol. Lett., 48, 241 (1989)
- 4) 伊藤文明他：遺伝子増幅法を用いた腸炎ビブリオ *tdh* 遺伝子検出法の検討．臨床と微生物，20，208 (1993)
- 5) 我妻正三郎：腸炎ビブリオの溶血試験用培地について．メディアサークル，13，159-162 (1968)
- 6) 山井志朗：腸炎ビブリオの解析条件の標準化，新興・再興感染症研究事業，厚生科学研究報告書
- 7) 杉山明他：原因食品から耐熱性溶血毒産生性 *Vibrio parahaemolyticus* が検出された食中毒事例，病原微生物検出情報，20，189-192 (1998)

浜名湖産二枚貝の麻痺性貝毒成分分析

微生物部 環境微生物スタッフ 増田教子, 杉山寛治, 郷田淑明
秋山真人

Analysis of Paralytic Shellfish Poison in Shellfish from the Lake Hamanako

Kyoko MASUDA, Kanji SUGIYAMA, Yoshiaki GŌDA,
and Masato AKIYAMA

静岡県西部の浜名湖（汽水湖）では、1996年11月に引続いて1999年5月にも麻痺性貝毒の原因プランクトンである渦鞭毛藻類の *A. catenella* の大量発生が確認された。 *A. catenella* 発生海域産のアサリからは出荷自主規制値を超える麻痺性貝毒が検出され、毒化が確認された。今回は1996年と比較して、 *A. catenella* の最高密度が低く、消失も早かったのでアサリの毒化期間は短期間であった。

また、麻痺性貝毒成分確認のために競合酵素免疫測定法及び高速液体クロマトグラフィー法を行い、ゴニオトキシン類を確認した。

Key words 麻痺性貝毒, 浜名湖, 競合酵素免疫測定法, 高速液体クロマトグラフィー
Paralytic shellfish poison, The Lake Hamanako, E L I S A, H P L C

はじめに

当研究所では流通食品の安全性確保のため、定期的に本県の主な貝生産地である県西部の浜名湖（汽水湖）産二枚貝の麻痺性貝毒（Paralytic Shellfish Poison：以下、PSP）及び下痢性貝毒¹⁾の検査を行っている。

浜名湖では1996年11月に *Alexandrium catenella*（以下、*A. catenella*）を原因とするPSPが発生²⁾したが、これ以降、1999年4月まではいずれの貝毒も検出されていなかった。しかし、1999年5月、北部海域で *A. catenella* の大量発生が確認され、当研究所でPSPについて検査したところ、 *A. catenella* 発生海域産のアサリから、最高で5.1MU/gのPSPが検出され、毒化が確認された。

そこで毒化した貝について競合酵素免疫測定法（以下、

E L I S A法）で、サキシトキシン（以下、STX）及び関連毒素であるゴニオトキシン（以下、GTX）類の確認を行った。また、高速液体クロマトグラフィー法（以下、HPLC法）でPSP成分であるGTX及びネオサキシトキシン（以下、neoSTX）の組成分析を行ったので、その概要について報告する。

検査方法

1 材料（1999年5月～6月採取）

- 1) 細江湖採取アサリ
- 2) 内浦湾採取アサリ
- 3) 中之郷採取アサリ

細江湖及び内浦湾は浜名湖北部海域であり *A. catenella* の出現確認海域であった。

中之郷は浜名湖南部海域で主な商業採貝海域であり *A. catenella* の未確認海域であった。

浜名湖では商業的に採貝・養殖されているのはアサリ及びカキである。アサリは一年を通して市場に流通するが、カキは冬季（10～3月）のみである。そのため、

1996年の毒化ではアサリ及びカキを検査材料に用いたが、今回はアサリのみを用いた。

2 検査法

1) 公定法

昭和55年(1980)環乳第30号「貝毒の検査法等について」³⁾に準じた(マウスアッセイ法)。

すなわち、検査材料に等量の0.1N-HClを加えて沸騰水中で加熱抽出した抽出物の遠心上清をマウス腹腔内に投与し、致死時間により毒力を求めた。

毒力はMU(マウスユニット)で表し、1MUは体重20gのマウスを15分間で死に至らしめる量をいう。なお、貝類では可食部1g当たりのPSPの毒力が4MUを超える場合は出荷の自主規制の対象となる。

2) ELISA法

市販のSTX検出キット「チツソ きっとセーフRD スクリーン サキシトキシシ」(競合酵素免疫測定法)を用い、定められた方法で行った。⁴⁾

すなわち、STXに対する抗体をコーティングしたマイクロプレート上のウェルに塩酸抽出物希釈液及び酵素標識STX液(酵素複合体)を添加し、両者を競合結合させ、酵素基質液等を添加し、マイクロプレートリーダー

により450nmの吸光度を測定した。吸光度は競合ELISA法であるため試料溶液中のSTXの濃度と反比例する。なお、交差反応性があり、関連毒素(GTX類: GTX2, 3, C1, C2・neoSTX等)も同様な反応を示す。

3) HPLC法

Oshimaの方法⁵⁾に準じた。⁶⁾

すなわち、塩酸抽出物を逆相カートリッジカラムにかけ、限外ろ過後、HPLCでポストカラム酸化により生成される蛍光物質を検出した。標準物質には水産庁から配布されたGTX1~4及びneoSTXを用いた。

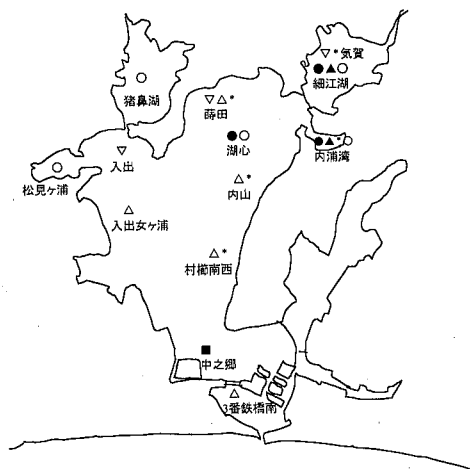
検査結果

アサリ採取海域等を図1に、海面表層部の*A. catenella*の出現量と水温の関係を図2-1に示した。比較のため1996年の結果を図2-2に示した。⁷⁾

*A. catenella*は5月中旬から増殖しはじめ、5月24日に最高値125.5cells/mlとなった。その後、水温の上昇と共に急速に減少した。

1) 公定法

PSPの消長を図3-1に示した。比較のため1996年



- プラクトン発生海域(1999)
- プラクトン発生海域(1996)
- ▲ 毒化アサリ確認海域(1999)
- △ 毒化アサリ確認海域(1996)
- アサリ採取海域(1999)
- ▽ 毒化カキ確認海域(1996)
- * 出荷規制値(4MU/g)以上検出された場合

図1 アサリ採取海域等

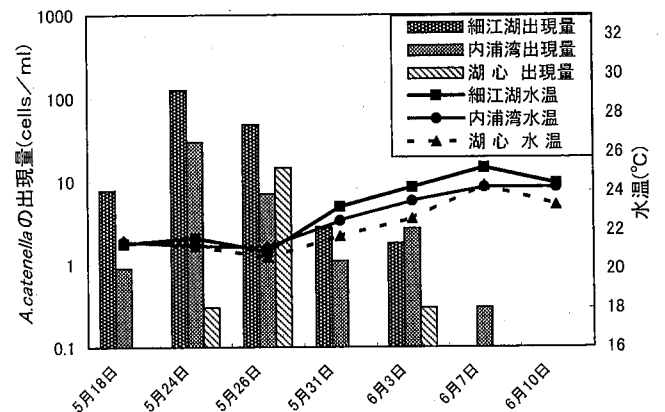


図2-1 *A. catenella*の出現量と水温の関係(1999)

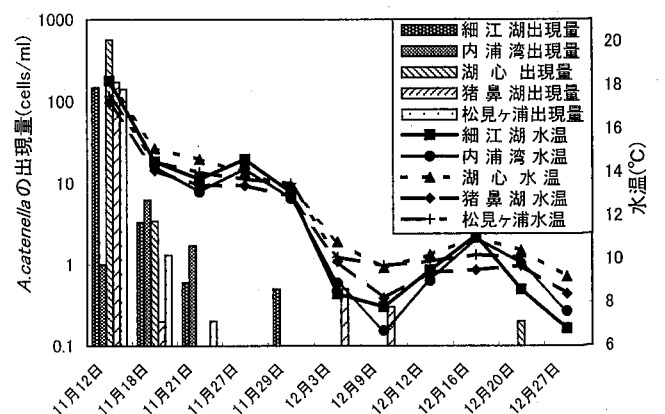


図2-2 *A. catenella*の出現量と水温の関係(1996)

の結果を図3-2に示した。

PSPによるアサリの毒化は浜名湖北部海域で発生した。最高値は5月26日の細江湖採取アサリで5.1MU/gであった。5月30日には1.9MU/gに減少し、それ以降は検出されなかった。細江湖以外では、5月26日の内浦湾

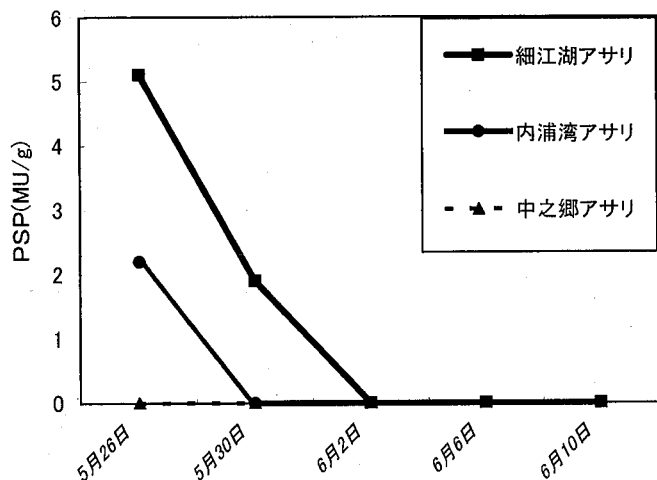


図3-1 PSPの消長 (1999)

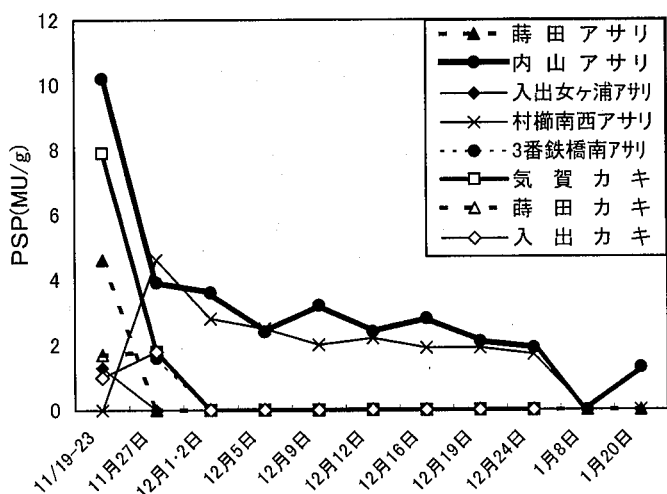


図3-2 PSPの消長 (1996)

採取アサリから2.2MU/g検出された。5月30日以降、規制値以上の検出はなかった。

2) ELISA法

ELISA法による吸光度とPSPの関係を図4-1に示した。比較のため1996年の結果を図4-2に示した。なお、このPSPは公定法で求めた毒力である。また、対照群は1999年12月に公定法で毒化されていないことを確認したアサリ及びカキである。

ELISA法を行ったマイクロプレートの写真を図5に示した。

毒化貝は吸光度40%前後、無毒貝は吸光度100%以上であった。なお、最低毒力の毒化貝は1.4MU/gであった。

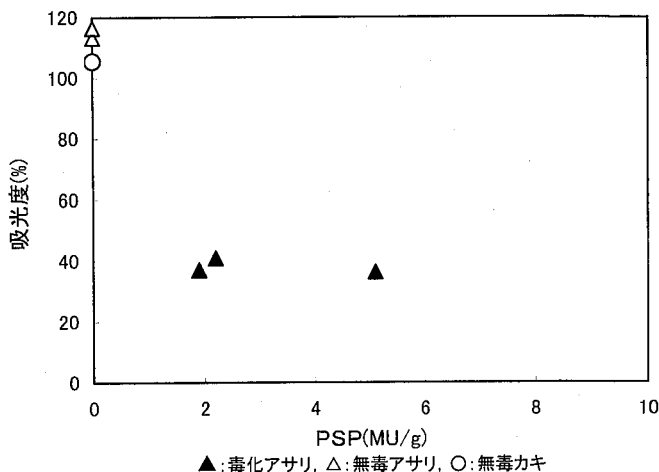


図4-1 吸光度とPSPの関係 (1999)

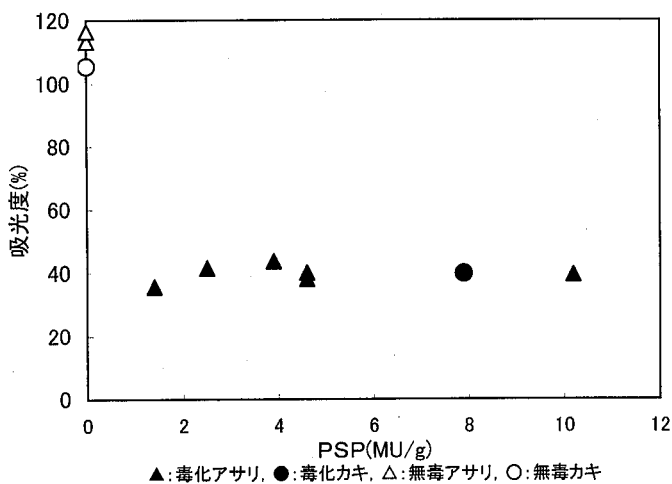


図4-2 吸光度とPSPの関係 (1996)

- 陰性対照群 アサリ1
- 陰性対照群 アサリ2
- 陰性対照群 カキ
- 1996カキ 7.9MU/g
- 1999アサリ 1.9MU/g
- 1999アサリ 5.1MU/g

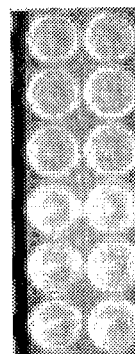


図5 ELISA法マイクロプレート

3) HPLC法

PSPの組成を図6に示した。

5.1MU/gであった5月26日細江湖採取アサリではGTX4がかなり高い割合で検出されたが、5月30日(1.9MU/g)ではほとんどがGTX2であった。2.2MU/gであった5月26日内浦湾採取アサリではGTX

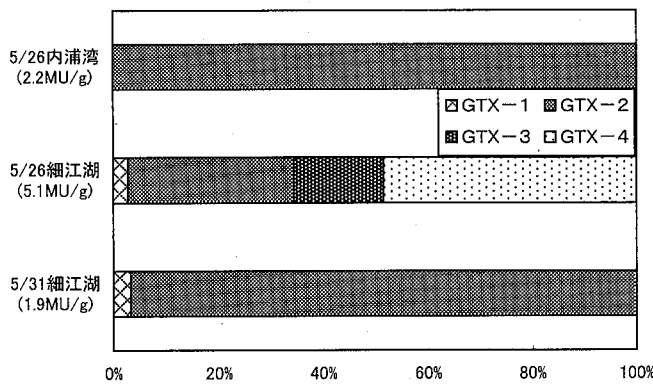


図6 PSPの組成

2 以外は検出されなかった。

いずれのアサリからも neo S T X は検出されなかった。

考 察

A. catenella 1細胞当りの毒力は季節や系統等によって異なるといわれており、毒化を引き起こすのに必要な量については様々な値が報告されているため、出現量だけで毒化を予知することは難しい。しかし、浜名湖では *A. catenella* と P S P とは密接に関係していると考えられ、今回、*A. catenella* が出現している海域でアサリの毒化が確認されたので1999年5月の毒化も1996年11月の毒化と同じく *A. catenella* によるものと考えられる。

1999年のアサリの毒化海域は浜名湖北部に限局しており、1996年の様に広域化することは無かった。また、P S P の最高値も5.1MU/gと低く（1996年最高値：内山採取アサリ・10.2MU/g、気賀採取カキ・7.9MU/g）、短期で検出されなくなった。

これら毒化が低規模であったことは、*A. catenella* の出現海域が狭かったこと、出現数が少なかったこと（1996年最高値：湖心部・566cells/ml）によると考えられる。なお、北部海域のアサリの流通はほとんどなく、主に流通しているのは南部海域産であった。そのため、今回の自主規制以前に出荷されたアサリについては問題はないと考えられる。

A. catenella は海泥中にシスト（休眠接合子）の状態が存在し、適当な環境下で発芽・増殖するといわれている。⁸⁾ 浜名湖ではシストの存在が確認されているが、今回の *A. catenella* が浜名湖に以前から存在していたものか外部から持ち込まれたものかは判断できない。

浜名湖の南部海域は潮の満ち欠け等による海水の出入りで外洋とつながっているが、北部海域については外洋の影響を受けにくい。特に今回の毒化海域となった湾部分は影響を受けにくい。そのため、北部海域ではP S P の原因となった *A. catenella* がシストとして残存し、今後も毒化を引き起こす可能性が高いと考えられる。

E L I S A 法では所要時間が塩酸抽出後、およそ2～3時間程度であり、迅速にS T X 及び関連毒素の存在の確認ができる。また、標準的な公定法の検出限度は1.8MU/gであるが、1.4MU/gでも目視で着色の有無により判定ができた。これらのことから、P S P 発生（疑）時の緊急検査に公定法と並行して行うことが有効と考えられる。しかし、S T X に対する抗原抗体反応を利用した方法であるため、定量法として用いることはできない。

P S P は貝の体内で変換され、毒増加期と減少期により組成が変化するといわれる。H P L C 法により細江湖採取アサリは初期にはG T X 4 の高い割合で、低毒化されるとG T X 2 のみが検出された。貝毒研究は特定の地域の特定のプランクトンによる特定の貝についての研究であるため他の報告と直ちには比較できない。

1996年の毒化では水産業界に多大な影響を与えたため、静岡県では行政機関と水産業界とで「浜名湖貝毒監視連絡会」を設立し、貝毒やプランクトンに関する情報・意見交換などを行っている。今回の毒化は潮干狩りの時期と重なり、観光業界にも影響を与えたため、今後はこれらの業界も含めてプランクトンの増殖時期（水温20℃前後）を中心として貝毒の動向及び対策について検討していく予定である。

ま と め

1996年11月に引続き、1999年5月にも浜名湖（汽水湖）で *A. catenella* の大量発生海域産のアサリから、最高で5.1MU/gのP S P が検出された。毒化海域は浜名湖北部に限局しており、短期で検出されなくなった。

E L I S A 法は迅速に判定ができるため緊急検査に有効と考えられた。

H P L C 法でP S P が貝の体内で変換され、組成が変化したことが確認できた。

謝 辞

本調査の遂行にあたり、浜名湖のプランクトン等の調査をして頂いた静岡県水産試験場浜名湖分場の小泉鏡子様、H P L C 法の指導をして頂いた浜松市保健環境研究所の進士一男様に深謝致します。

文 献

- 1) 日本水産学会：有毒プランクトン，73-111，恒星社厚生閣，東京（1985）
- 2) 興津知子他： *Alexandrium catenella* による浜名湖産カキおよびアサリの麻痺性貝毒の調査，静岡県環境衛生科学研究所研究報告，39，53-56（1996）
- 3) 厚生省環境衛生局乳肉衛生課長通知：貝毒の検査

- 法等について，環乳第30号，昭和55年7月1日
(1980)
- 4) Kasuga, F. et al.: Evaluation of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Kit for Paralytic Shellfish Poisoning Toxins, J. Food Hyg. Soc. Japan, 37, 407-410 (1996)
 - 5) Oshima, Y.: Postcolumn Derivatization Liquid Chromatographic Method for Paralytic Shellfish Toxins, J. AOAC International, 78, 528-532 (1995)
 - 6) 進士一男他：HPLCによる浜名湖産貝類の麻痺性貝毒調査について，浜松市衛生試験所年報，8，32-33 (1997)
 - 7) 小泉鏡子他：浜名湖における *Alexandrium catenella* の出現，静岡県水産試験所研究報告，33 (発行予定)
 - 8) 日本水産学会：貝毒プラントン，19-26，31-39，恒星社厚生閣，東京 (1985)

小型球形ウイルス (SRSV) による食中毒防止対策に関する研究

微生物部 ウイルススタッフ

杉枝正明, 佐原啓二, 長岡宏美
三輪好伸, 秋山真人

Studies on the Small Round Structured Virus to Prevent Food Poisoning Outbreak

Masaaki SUGIEDA, Keiji SAHARA, Hiromi NAGAOKA, Yoshinobu MIWA,
and Masato AKIYAMA

1997年1月～2000年3月の期間に、静岡県内で発生した食中毒事例の87事例中25事例(28.7%)は小型球形ウイルス(SRSV)による食中毒であることが確認された。そこで、それらのSRSV食中毒事例について、原因食品の追及と共に患者・調理従事者糞便を対象としてRT-PCR法によるSRSV遺伝子の検出を試み、その結果からSRSVによる食中毒防止対策について考察した。

①1997年1月～2000年3月の期間に、県内で87事例の食中毒が発生し、そのうち25事例(28.7%)はSRSVを病因物質とした食中毒であった。発生状況を月別にみると各年次とも1月～3月、11～12月の冬季に確認された。また、この原因食品としては、カキの摂食に関連したものが9事例(47.4%)、カキ以外の摂食(52.6%)であった。

②患者および調理従事者の糞便を対象としてSRSV遺伝子の排泄状況を経時的に調査し、患者の治癒後およびSRSV保有の調理従事者は、長期間に亘り糞便中にSRSVが排泄されることから衛生対策上十分注意することが重要であると考えられた。

Key word: 小型球形ウイルス (SRSV), 食中毒, 防止対策, 逆転写遺伝子増幅法 (RT-PCR法)

Small round structured virus (SRSV), Food poisoning, Prevention, RT-PCR method

はじめに

生ガキ等の食品を介して冬季に発生する食中毒事件の多くが小型球形ウイルス(SRSV)に起因していることが

徐々に明らかになってきた。平成9年5月30日付で厚生省は食品衛生法の改正を行い、食中毒事件で起因ウイルスが証明された場合は、その報告を義務づけた。しかし、ウイルス性食中毒と原因食品との因果関係、食中毒発生のメカニズム等については不明な点が多く、事例発生後の追及等により、解明されることが期待されている。

今回、法律改正後(1997年～2000年3月)の期間に県内におけるSRSV食中毒の発生状況および患者、調理従事者糞便中のSRSV遺伝子の検出状況、SRSV遺伝子の排

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市北安東4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-andō, Shizuoka, 420-8637, Japan)

泄期間等について調査したので報告する。

材料および方法

1 食中毒事例の発生状況

1997年1月～2000年3月の期間に、静岡県内で発生した食中毒事例を静岡県健康福祉部で集計した事例を用いた。

2 検査材料

1997年1月～2000年3月の期間に、検体採取が可能であった非細菌性食中毒19事例の患者糞便 206検体およびその原因施設14カ所の調理従事者糞便130検体を用いた。また、糞便中のSRSV排泄状況に用いた材料は、食中毒3事例の患者9人および調理従事者6人について、発病後5回(2,7,14,21,24～28日目)糞便を採取した。

3 RT-PCR法(SRSV遺伝子の検出法)

糞便材料からのSRSV-RNAの抽出、RT-PCR法によるSRSV遺伝子の検出は、1998年¹⁾に報告した方法で実施した。また、SRSV遺伝子が検出された一部のPCR産物については国立公衆衛生院に依頼し、ダイレクトシークエンス法により塩基配列を決定した。

結 果

1 静岡県内で発生したSRSVによる食中毒事例

1997年1月～2000年3月の期間に、静岡県内で発生した食中毒は87事例確認されているが、そのうち25事例(28.7%, 当研究所19事例, 他機関6事例確認)がSRSVによりは発生していた。

年次別のSRSVによる食中毒の発生状況では、1997

年、98年が7事例、1999年が4事例、2000年3月末までが7事例で、食中毒の28.7%がSRSVを病因物質として発生していた。

月別の発生状況では、毎年ほとんどの事例が11月～12月、1月～3月の冬季であった(表1)。

2 SRSV食中毒事例における原因食品の追及

SRSVが原因で発生した食中毒19事例(25事例のうち6事例は浜松・静岡市で検査)は、カキの摂食に関連したものの9事例(47.4%), カキの摂食に関連しないもの10事例(52.6%)であった(表2)。

3 SRSV食中毒事例における患者および調理従事者糞便からのSRSV遺伝子の検出状況

食中毒事例における患者および調理従事者糞便を対象に、RT-PCR法によるSRSV遺伝子の検出を試みた。

患者206検体中141検体(68.4%)からSRSV遺伝子が検出された。また、この食中毒事例の原因施設と断定された14施設中で11施設(78.6%)の調理従事者(130検体中21検体:16.3%)からSRSV遺伝子保有者が確認された(表2)。

4 患者および調理従事者糞便中におけるSRSV遺伝子の経時的な検出状況

生ガキを原因食品として発生した1事例の患者、および生ガキの関連しない2事例の患者糞便、そしてその3施設でSRSV遺伝子を保有していたことが確認された調理従事者糞便中のSRSV遺伝子の排泄状況を追跡した。患者(5～9人)は、発症後7,14日目までは全員から、21日目では3人、24日日目では1人からSRSV遺伝子が継続的に検出された。また調理従事者者では、7日目で5

表1 静岡県内で発生したSRSVによる食中毒事例(1997年1月～2000年3月)

年次	食中毒事例数*	SRSV事例数 (SRSV事例数の割合%)	発生状況											
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12(月)
1997	26	7 (26.9%)	1	1	2	·	1	·	·	·	·	·	1	1
1998	34	7 (20.5%)	1	3	3	·	·	·	·	·	·	·	·	·
1999	20	4 (20.0%)	1	·	2	·	·	·	·	·	·	·	1	·
2000	7	7 (100%)	2	4	1	·	·	·	·	·	·	·	·	·
計	87	25 (28.7%)	5	8	8	·	1	·	·	·	·	·	2	1

*静岡市、浜松市で発生したSRSVによる食中毒事例(6事例)を含む

表2 食中毒事例*における患者および調理従事者糞便からのSRSV遺伝子の検出状況

発生年次	原因施設	カキの 撰食		検査件数		SRSV遺伝子の検出 (陽性数/供試数)	
		有	無	患者	調理従事者	患者	調理従事者
1997. 1	食堂	有		13	・	12/13 (92.3%)	・
3	旅館		無	5	・	4/ 5 (80.0%)	・
5	給食施設		無	7	・	2/ 7 (28.6%)	・
11	旅館		無	11	・	7/11 (63.6%)	・
12	食堂	有		6	・	4/ 6 (66.7%)	・
1998. 2	食堂	有		6	2	6/ 6 (100%)	1/ 2 (50.0%)
2	食堂	有		9	5	8/ 9 (88.9%)	1/ 5 (20.0%)
2	仕出し屋		無	19	42	14/19 (73.7%)	2/42 (4.8%)
3	惣菜屋		無	10	12	10/10 (100%)	2/12 (16.7%)
1999. 1	食堂	有		7	5	4/ 7 (57.1%)	0/ 5
3	料理店		無	6	3	2/ 6 (33.3%)	0/ 3
3	仕出し屋		無	15	25	12/15 (80.0%)	2/25 (8.0%)
12	旅館	有		11	3	4/11 (36.4%)	3/ 3 (100%)
2000. 1	食堂	有		18	4	13/18 (72.2%)	3/ 4 (75.0%)
2	仕出し屋	有		11	4	8/11 (77.2%)	0/ 4
2	委託食堂		無	12	9	11/12 (91.7%)	2/ 9 (22.2%)
2	食堂	有		8	1	6/ 8 (75.0%)	1/ 1 (100%)
2	簡易宿泊所		無	17	2	10/17 (58.8%)	2/ 2 (100%)
3	仕出し屋		無	15	13	4/15 (26.7%)	2/13 (15.4%)
計 19		9	10	206	130	141/206 (68.4%)	21/130 (16.2%)

*静岡市，浜松市で発生したSRSVによる食中毒事例(6事例)を除き，当研究所で実施した事例数

人，14日目で2人から検出されたが，21日目では検出されなくなった(表3)。

5 患者および調理従事者糞便から検出されたSRSV遺伝子の解析

生ガキの関連しない食中毒1事例の患者4名および調理従事者1名の糞便から検出されたSRSV遺伝子のPCR産物をダイレクトシークエンス法によりその遺伝子の塩基配列を決定した。Yuri系プライマーによるRT-PCR法で患者4株(1st:470bp, Nested:370bp)および調理従事者1株(Nested:370bp)から検出されたSRSV遺伝子のPCR産物は，全てGenogroup IIに属し，Genogroup IIに位置するYuri株(標準株)と90.1%の相同性を示した(表4)。

考 察

1997年5月30日付けで厚生省は食品衛生法の改正を行い，食中毒の病因物質としてウイルス(小型球形ウイルス，その他のウイルス)を含めて報告するようになった。

今回，食品衛生法の改正後，1997年～2000年3月の期間に静岡県内で発生した食中毒事例を調査したところ，SRSVが原因として発生した事例は全食中毒事例の約29%を占め，年次別発生状況(2000年は1月～3月のみ)に大きな差は認められなかった。また，月別発生状況でも従来から冬季に多いとして指摘されているとおり，県内においても同様に11月～3月の冬季に発生していることが確認された。

これらのSRSV食中毒の原因食品として，私共は生ガキの関連した事例を報告する²⁾と共に，生ガキのSRSV汚染の実態調査を実施し，感染源として十分注意していく必要性を報告¹⁾してきたが，生ガキの関連しない事例も約50%を占めていることが明らかになった。ウイルス性食中毒の発生は，1989年9月～1994年8月の5年間，川本ら³⁾が全国実態調査(食品媒介性ウイルス胃腸炎集団発生実態調査班)で報告した調査内容と同様な傾向を示しており，冬季に発生する食中毒の大半が病因物質としてウイルス(SRSV)が関与していることを考慮して原因究明をしていくことが大切と考える。

表3 食中毒事例の患者および調理従事者糞便中におけるSRSV遺伝子の経時的な排泄状況

検体の由来	例数	SRSV遺伝子の検出状況					
		2	7	14	21	24	28 (検体採取病日)
患者糞便	1	+	+	+	+	-	
	2	+	+	+	+	-	
	3	+	+	+	+	+	-
	4	+	+	+	-		-
	5	+	+	+	-		
	6	+	+	+	-		
	7	+	+	+	-		
	8	+	+		-		
	9	+	+		-		
調理従事者糞便	1	+	+	+	-		
	2	+	+	+	-		
	3	+	+	-	-		
	4	+	+	-	-		
	5	+	+	-	-		
	6	+	-	-	-		

表4 患者および調理従事者糞便から検出されたSRSV遺伝子の解析

由来	塩基配列の相同性 (%)					
	Yuri	S0212	S0216	S0218	SO220	S0230
Yuri株 (標準株)	-	90.1	90.1	90.1	90.1	90.1
S0212 (患者株)	90.1	-	100	100	100	100
S0216 (患者株)	90.1	100	-	100	100	100
S0218 (患者株)	90.1	100	100	-	100	100
SO220 (患者株)	90.1	100	100	100	-	100
S0230 (調理従事者株)	90.1	100	100	100	100	-

現在、非細菌性食中毒の感染源、感染経路の究明には、SRSV遺伝子の検出を目的としたRT-PCR法で実施されることが多い。

今回の非細菌性食中毒事例におけるSRSV検索には、主に国内で使用されている35/36系 (1st:35/36, Nested:NV81/NV82, SM82) とYuri系 (1st:MR3/4, Nested:Yuri22/FR) ⁴⁾ プラマーによるRT-PCR法を行って、1stおよびNested PCRでSRSV遺伝子を検出した。29事例のうち19事例がSRSV遺伝子を病因物質として発生していたことを確認すると共に、これらの事例中、原因施設の調理従事者 (非発症者) にもSRSV遺伝子を保有していることが判明した。調理従事者が患者と同様の食品を摂食しているか否かの詳細については把握できなかったが、柿島⁵⁾らが健全な学校給食調理従事者の糞便を調査した保有率 (約1%) と比較すると高率 (16.2%) であり、これらのSRSV保有者が調理に従事することは手指などを介して食品、調理場などを汚染する可能性が

あると考えられ、注意することが必要である。

このようにSRSVが人に感染した場合、発症者と非発症者が存在し、発症者では、下痢 (水様性)、嘔吐などを主訴とする臨床症状を呈したのち、2~4日程度でその症状は消失し回復する。この患者回復期からのSRSV排泄状況を把握することは、人からの感染ルートを考えるうえで重要である。春木ら⁶⁾は1986年大阪市内で生ガキが推定原因食と考えられた非細菌性集団食中毒患者2名の糞便の排泄期間を電子顕微鏡で観察し、発症後8日目までSRSVの存在を確認している。またJiang⁷⁾はPCR法を用いて、発症後15日目までSRSV遺伝子を検出し感染後のSRSV排泄が2~3日目まで急激に減少はするが長期間持続することを報告している。

今回、私共もPCR法でSRSV感染が確認された食中毒事例の患者および調理従事者の糞便を経時的に採取し排泄状況を調査したところ、患者は21日目、調理従事者では14日目までSRSV遺伝子の存在を確認し患者糞便中に

は長期間排泄されること、非発症者であっても2週間程度排泄が持続することを確認した。

ウイルス性食中毒の感染源、感染経路を究明する場合、様々な検査材料が搬入されるが、生ガキの関連しない事例では生ガキの様にウイルスの濃縮される食品が存在しないため難しい。今回、生ガキの関連しない一集団給食施設で発生したSRSV食中毒事例において、患者と調理従事者由来のSRSV遺伝子は、塩基配列の相同性から同一派生株であることが示唆された。

以上の成績は、SRSVが人から食品を介し感染が成立する可能性を示唆するものであり、食中毒防止には冬季においても一般的な衛生対策、啓蒙などが食中毒防止には重要と考えられる。

ま と め

1997年1月～2000年3月に静岡県内で発生した非細菌性食中毒事例についての発生状況、原因食品の実態を明らかにすると共に、患者、調理従事者糞便を対象としてRT-PCR法でSRSV遺伝子を検出し、その結果からSRSVによる食中毒防対策について検討し、以下の結果を得た。

- 1) 1997年1月～2000年3月に、県内では87事例の食中毒が発生し、そのうち25事例(28.7%)がSRSVが病因物質として関与した食中毒であった。

発生状況は、毎年1月～3月、11～12月の冬季に確認された。

- 2) 調査した食中毒19事例の原因食品は、カキの摂食に関連したもの9事例(47.4%)、カキの摂食に関連しないもの10事例(52.6%)であった。
- 3) SRSVによる食中毒の原因施設として断定された14施設の調理従事者糞便を調査したところ、14施設中11施設(78.6%)でSRSV遺伝子の保有者が確認された。
- 4) 食中毒事例でSRSV遺伝子が確認された患者9人お

よび調理従事者6人の糞便を対象としてSRSVの排泄状況を経時的に調査したところ、患者は発症後21日、調理従事者(非発症者)では14日目までSRSV遺伝子が糞便中に排泄されていることが確認された。

本調査の一部は、平成11年度厚生科学特別研究事業(厚生科学全国ウイルス性食中毒研究班)研究助成により実施した。

文 献

- 1) 杉枝正明, 他. 市販生食用カキ中腸腺におけるSRSV遺伝子の検出, 静岡県環衛研報告, 39:1～6(1996)
- 2) Sugieda M. et al: Outbreak of Norwalk-like Virus associated gastroenteritis traced to shellfish, coexistence of two genotypes in one specimen. *Epidemiol. Infect.*, 116, 339-346(1996)
- 3) 川本尋義, 他: 食品媒介ウイルス性胃腸炎集団発生全国実態調査研究班, 最近5年間の食品媒介ウイルス性胃腸炎集団発生全国実態調査総合報告, (1995)
- 4) Saito H. et al: Application of RT-PCR designed from the sequence of the local SRSV Strain to the screening in viral gastroenteritis out-breaks. *Microbiol. Immunol.*, 42(6), 439-446(1998)
- 5) 柿島安博, 他: 学校給食施設調理従事者糞便からのSRSV遺伝子の検出, 日本食微学会誌, 16(3), 193-196(1999)
- 6) 春木孝佑, 他: 生カキが推定原因食と考えられた非細菌性集団食中毒の原因に関するウイルス学的検索, 臨床とウイルス, 16(1), 59-64(1988)
- 7) Jiang X. et al: Detection of Norwalk virus in stool by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol.*, 30, 2529-2534(1992)

静岡県における眼疾患の起因ウイルス検索

微生物部 ウイルススタッフ

三輪好伸, 杉枝正明, 佐原啓二
長岡宏美, 秋山真人

Epidemiological Study on Adenovirus from Epidemic Keratoconjunctivitis in Shizuoka Prefecture

Yoshinobu MIWA, Masaaki SUGIEDA, Keiji SAHARA,
Hiromi NAGAOKA, and Masato AKIYAMA

1998年～1999年の2年間に静岡市内のI眼科医院を受診した結膜炎患者を対象に、迅速診断キット、PCR法および従来の細胞培養法の3方法を用いてアデノウイルスの検出状況を比較検討した。検出率はそれぞれ30.2%、44.5%、32.8%となりPCR法が優位であった。眼疾患患者は、夏場に多いものの年間を通して認められ、検出されたアデノウイルスの血清型は1998年では19型、4型、1999年では37型、8型が多く、流行に血清型の変化が見られた。また今回、高検出率であるPCR法を応用した制限酵素切断法（RFLP法）によるパターン分類からアデノウイルスの血清型別法を確立した。

Key words : アデノウイルス, 流行性角結膜炎, PCR-RFLP法,

Adenovirus, Epidemic kerato-conjunctivitis, PCR-restriction Fragment length polymorphism

はじめに

アデノウイルスは、1953年にRoweらが小児の手術切除後のアデノイド組織を培養中に細胞変性を起こす因子「Adenoid degeneration agent」として発見された¹⁾。その後呼吸器疾患などから次々と分離された一連のウイルス群は、由来組織がアデノイドであることから、1956年にアデノウイルスと命名された。アデノウイルスは現在49の血清型に分類²⁾され、呼吸器疾患、眼疾患、乳児の胃腸炎など多くの疾患の病原ウイルスとして知られている。

眼科領域におけるアデノウイルス性結膜炎は頻度の高い疾患で、感染性が強い結膜炎が流行した場合には、家族内のみならず地域社会に影響を及ぼすため、公衆衛生上重視されている。特に流行性角結膜炎（EKC）は院内感染を起こしやすく、眼科医にとっては注意を要する厄介な疾患である。また、現在のところ有効な治療法が見当たらないため、その流行を早期に把握し予防対策を立てることが最も重要であるといわれている。

アデノウイルスの迅速診断法として免疫クロマト法³⁾やPCR法^{4) 5)}が開発され、短時間で確認できるようになった。またPCR産物を制限酵素で切断し、そのパターンから血清型別が可能である報告⁶⁾もされている。

そこで、早期診断法の有用性を確認するため、従来から行われている細胞培養法とこれらの方法と比較検討するとともに、静岡県内の眼瞼結膜炎の流行状況を調査したので報告する。

材料および方法

1 調査対象

1998年1月～1999年12月までの2年間に、静岡市内のI眼科医院を受診した0歳～84歳の384名から採取した眼瞼結膜の擦過材料を供試した。眼瞼結膜の擦過材料は1%牛胎児血清(FCS)加細胞維持液に採取し、培養細胞の準備ができるまで-20℃に保存した。

2 検査方法

1) アデノウイルス迅速診断キット

モノクローナル抗体を使用した免疫クロマト法の市販キット(アデノチェック: 明治乳業)を用いた。操作方法は、市販キット指定の方法に従った。

2) PCR法

DNAを抽出するため眼瞼結膜拭い液から、プロテアーゼK、フェノール・クロロホルム処理を行った後、エタノール沈殿法によりペレットにし再浮遊させ、Allard⁷⁾らの方法に準拠してPCR法を行った⁸⁾。

3) 細胞培養法

ウイルス分離は定法に従い、培養細胞はHep-2細胞を用い、細胞変性効果を指標に最高5代まで継代し観察した。感度 Sensitivity および特異性 Specificity は以下の方法で算出した。

$$\text{Sensitivity} = \frac{\text{True Positive} \times 100}{\text{True Positive} + \text{False Negative}}$$

$$\text{Specificity} = \frac{\text{True Negative} \times 100}{\text{True Negative} + \text{False Positive}}$$

4) PCR法と制限酵素切断分析法(RFLP)を組み合わせた血清型別法(PCR-RFLP法)。

Allardのプライマーを用いたPCR法で、301bpのDNAバンドが検出された株のPCR産物に制限酵素Rsa I, Hpa II, Hae IIIを用いて切断し、そのDNAパターンよりアデノウイルス血清型別を行った⁹⁾。制限酵素の反応条件はニッポンジーン社指定の方法で行った。DNA断片は4%アガロースゲルで電気泳動し、エチジウムブロマイド染色後、バンドを観察した。

結 果

1 ウイルス性眼疾患の月別患者発生状況

1998年～99年の眼疾患の患者発生状況は、流行性角結膜炎(EKC)が88.5% (340/384)と圧倒的に多く、次いで急性結膜炎が9.9% (37/384)、咽頭結膜熱(PCF)アレルギー等が1.6% (6/384)であった。月別発生状況では、流行性角結膜炎は毎月認められ、特に夏場を中心に多い傾向にあった(表1)。

2 月別のアデノウイルス検出状況

アデノウイルスは年間を通して検出され、2年間に迅速診断キットで30.0%(116件)、細胞培養法で32.8%(126件)、最も検出率の高いPCR法では44.5%(171件)が検出された。

月別の検出状況は、表1の月別患者数に対しPCR法で7月(39/57)、8月(30/53)、9月(15/29)の夏場に50%以上の高検出率を示した(表2)。

3 迅速診断キットと細胞培養法の比較

アデノウイルスの検出率は、迅速診断キットでは

表1 眼疾患患者の月別発生状況

年次	疾患名\月	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	計
98年	EKC	17	5	20	21	28	26	41	31	20	30	8	4	251
	その他	11	1	8	6	3	3	3	1	0	1	0	0	37
99年	EKC	3	4	8	6	4	0	13	18	10	7	2	14	89
	その他	1	0	1	2	0	0	0	3	0	0	0	0	7
	計	32	10	37	35	35	29	57	53	29	38	10	18	384

総合計 EKC 340 (88.5%), 急性結膜炎 37 (9.9%), アレルギー等 6 (1.6%)

注) EKCは流行性角結膜炎, その他は急性結膜炎, アレルギー, 不明等

表2 月別のアデノウイルス検出状況 (3法による比較)

検査法\月	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	計	(%)
迅速診断キット	2	2	8	10	12	8	20	22	14	13	3	2	116/384	(30.0)
PCR法	8	2	13	13	16	14	39	30	15	16	3	2	171/384	(44.5)
細胞培養法	8	2	9	12	14	12	26	20	10	10	3	0	126/384	(32.8)

30.2% (116/384) で、細胞培養法では32.8%(126/384)であった。また、感度は65.9% (83/126)、特異性は87.2% (225/258)であった (表3)。

表3 迅速診断キット (免疫クロマト法) と細胞培養法の比較

迅速診断 キット	細胞培養法		
	陽性 (+)	陰性 (-)	計 (%)
陽性 (+)	83	33	116 (30.2)
陰性 (-)	43	225	268 (69.8)
計	126 (32.8)	258 (67.2)	384 (100.0)

感度83/126 (65.9%) 特異性225/258 (87.2%)

4 PCR法と細胞培養法の比較

PCR法の検出率は44.5%(171/384)であった。また、感度は100.0%(126/126)、特異性は82.6%(213/258)であった (表4)。

表4 PCR法と細胞培養法の比較

PCR法	細胞培養法		
	陽性 (+)	陰性 (-)	計 (%)
陽性 (+)	126	45	171 (44.5)
陰性 (-)	0	213	213 (55.5)
計	126	258	384 (100.0)

感度126/126 (100.0%) 特異性213/258 (82.6%)

5 年次別アデノウイルス血清型別

アデノウイルス血清型別は従来法の細胞培養中和法およびPCR-RFLP法により行った。表4に示すように細胞培養法でウイルスが分離された126件は全てPCR法でも陽性となり、血清型別の結果も同一であった。また、PCR法のみ陽性の45件についてはPCR-RFLP法で型別を行った。

1998年は133件 (46.2%) について血清型別を行い、その内訳は19型45.9% (61/133)、4型41.4% (55/133) で、全体の80%以上を占めていた。また1999年は38件 (39.6%) について血清型別を行い、その内訳は37型42.1% (16/38)、8型31.6% (12/38) で全体の70%以上

を占めた (表5)。

考 察

アデノウイルス性結膜炎は表1に示すように7月から9月の夏場にかけて多い傾向にあるが、通年に患者が見られ、伝染性の強さが伺われた。

アデノウイルス迅速診断キットとして販売されているアデノチェック (免疫クロマト法) は、97年以前に検討した⁹⁾ アデノクロン (ELISA法) と測定原理は違うがほぼ同等の検出率である報告がされている³⁾。検出率は表3に示すように30.2%と3方法の中で最も低く、分離培養との比較検討では特異性 (陰性一致率) は非常に高いが、感度 (陽性一致率) が低い成績であった。

しかし、検査結果がでるまでにアデノチェックは30分以内と早く、健康保険が適応されることなどから眼科医院等で簡単に行えるスクリーニング検査法として有用であると考えられる。

他方、PCR法の検出率は、44.5%と細胞培養法の32.8%より12%程高く、感度・特異性共高い相関性を示した。また、細胞培養法に比べてPCR法は2日で結果が得られ、ウイルス分離陰性の検体でも原因ウイルスを診断することができ、特異性も十分高いことから今回比較した3法の中では最も有効な手法であると考えられた。

またアデノウイルスの血清型別は、細胞培養で分離された株を用いて行ったが、近年アラードらはPCRでその増幅産物を制限酵素で切断するPCR-RFLP法により、そのDNAパターンを比較することで血清型別できることを報告⁷⁾している。今回は、PCR法で陽性の171件 (44.5%) についてPCR-RFLP法を試みたところ、従来法と比較し45件 (11.7%) 多く血清型別をすることができた。細胞培養中和法では型別まで1ヶ月以上の期間を要すること、増殖しにくい血清型が存在 (Ad 8) すること、さらに同一亜群内の血清型間の交差反応 (亜群D) などがあり、型別可能の中にもかなり判定困難なものがあった。PCR-RFLP法は検出率も良く、最短3日で結果を出す事ができ、有効な血清型別法であると考えられた。しかしパターン分類以外のケースも若干見られ課題が残

表5 年次別アデノウイルス血清型別

年次	検体数	PCR法								
		陽性数 (%)	2型	3型	4型	7型	8型	19型	37型	NT
'98年	288	133 (46.2)		8 (6.0)	55 (41.4)	7 (5.3)	1 (0.7)	61 (45.9)		1 (0.7)
'99年	96	38 (39.6)	4 (10.5)		2 (5.3)		12 (31.6)	4 (10.5)	16 (42.1)	
計	384	171 (44.5)	4 (2.3)	8 (4.7)	57 (33.3)	7 (4.1)	13 (7.6)	65 (38.0)	16 (9.4)	1 (0.6)

された。

わが国では特定の血清型が多くなく、年度により各血清型の頻度が3～5年の周期をもって増減する傾向があり、アデノウイルス結膜炎の疫学の大きな特徴になっている。

また血清型と疾患の間には関連が見られ、咽頭結膜熱(PCF)における3, 7型, 流行性角結膜炎(EKC)における8, 19, 37型は代表的な血清型である¹⁰⁾。

最近2年間の集計においても4, 8, 19, 37型がほとんどであった。年次別にみると、19型が1998年は約60%を占めているが、これは前回報告した1996年, 1997年の19型の流行が継続している結果と考えられた。またこの流行は全国の病原微生物検出情報¹¹⁾においても同様な傾向を示していた。1999年は、19型が10.5%と急激に減少し、変わって37型と8型が増えており、流行に変化の兆しが見えた。

厚生省の眼感染症サーベイランスによると、流行性角結膜炎は我が国では年間100万人が罹患すると考えられている。アデノウイルス性結膜炎の特徴として年度により特定の血清型が3～5年の周期をもって増減する傾向があることから、継続的な監視により、今後の流行に注意する必要があると思われる。

結 論

- 1) 眼疾患患者は、流行性角結膜炎(EKC)が88.5%を占め、7月から9月の夏場を中心に多い傾向を示した。
- 2) アデノウイルスは年間を通して検出され、最も検出率の高いPCR法で171件が検出され、7月、8月、9月では50%以上の高検出率であった。
- 3) 迅速診断キットによる検出率は30.2%と3方法中で一番低いが、簡便法として有用である。細胞培養法との比較では特異性は高いが、感度が低い成績であった。
- 4) PCR法による検出率は44.5%と細胞培養法(32.8%)より高く、感度・特異性とも高い相関を示した。
- 5) アデノウイルスの血清型は、1998年では19型, 4型が多く検出され、1996年・97年では19型の流行の継続がみられた。しかし、1999年は37型, 8型が多く、流行に血清型の変化が見られた。
- 6) 今回血清型別法として試みたPCR-RFLP法は、感

度・特異性とも高く、短時間で結果を出す事ができた。また、従来法で陰性となった検体からも検出・型別することができ大変有効な手法であった。

謝 辞

最後に、本調査にあたり、検体採取にご協力いただいた石川眼科医院 石川靖彦先生に深く感謝致します。

文 献

- 1) Rowe W.P. et al: Isolation of a cytopathogenic agent from human adenoids undergoing spontaneous degeneration in tissue culture. Proc. Soc. Exp. Biol. Med, 84, 570-573 (1953)
- 2) Schnurr D, Dondeno ME: Two new candidate adenovirus serotypes. Intervirology, 36:79-83 (1993)
- 3) Uchio E. et al: Rapid diagnosis of adenoviral conjunctivitis on conjunctival swabs by 10 minute immunochromatography. Ophthalmology, 104, 1294-1299 (1977)
- 4) 第31回日本臨床ウイルス学会: PCR法の臨床応用, 臨床とウイルス, 18(3): 317-368 (1990)
- 5) 加瀬哲男 他: Polymerase Chain Reaction (PCR) 法を用いた結膜拭い液からのアデノウイルス-DNAの検出, あたらしい眼科, 9(1), 97-101 (1992)
- 6) 加瀬哲男 他: アデノウイルス性角結膜炎における Polymerase Chain Reaction (PCR) 法の応用, あたらしい眼科, 10(1), 91-95 (1993)
- 7) Allard, A. et al: Polymerase chain reaction for detection of adenoviruses in stool samples. J Clin Microbiol, 28, 2659-2667 (1990)
- 8) 西尾智裕 他: 眼瞼結膜炎からのアデノウイルス検出法の検討. 静岡県衛生環境センター報告, 38, 67-70 (1995)
- 9) 三輪好伸 他: ウイルス性眼疾患の流行と起因ウイルスの追求. 静岡県環境衛生科学研究所報告, 40, 9-13 (1997)
- 10) 青木功喜: 結膜炎とウイルス, 眼科, 35, 959-964 (1993)
- 11) 国立予防衛生研究所, 厚生省保健医療局 エイズ結核感染症課: 病原微生物検出情報 (月報)

ヒトおよび動物のインフルエンザウイルスに関する疫学的研究

微生物部 ウイルススタッフ

佐原啓二, 杉枝正明, 長岡宏美

三輪好伸, 秋山真人

西部食肉衛生研究所

細矢佳行

Epidemiological Investigation on Influenza Virus Infection among Human, Swine and Chicken

Keiji SAHARA, Masaaki SUGIEDA, Hiromi NAGAOKA,
Yoshinobu MIWA, Masato AKIYAMA, and Yoshiyuki HOSOYA

新型インフルエンザウイルス出現の可能性を検討し、インフルエンザの流行予測等に役立てるため、静岡県内のブタ、ニワトリおよびヒトにおけるインフルエンザウイルスの浸淫状況を疫学的に調査した。

2000年2月にブタから分離されたインフルエンザウイルスは、抗原解析および遺伝子解析によりヒト型ウイルスと判断され、新型ウイルスとなり得るトリ型ウイルスやブタ型ウイルスの遺伝子交雑はないと考えられた。ブタの抗体調査では、ブタ型ウイルスのA/ニュージャージー/1/76 (H1N1) および古典的なヒト型ウイルスのA/愛知/2/68 (H3N2) に対して高い抗体価を保有するブタが検出された。以上より、静岡県内のブタの間で由来の異なる数種のインフルエンザウイルスが蔓延していることが明らかとなり、今後のウイルス動向に注目する必要があると考えられた。ヒトでは、1998年6月～7月の非流行期にB/ビクトリア/2/87系統のB型ウイルスが検出されるなど、静岡県における特異的流行を明らかにした。1998年11月に分離されたB/静岡/1/98株は、WHO Weekly Epidemiological Record にワクチン候補株として掲載され、国際的なインフルエンザ予防活動に貢献できたと考えられる。

Key words: インフルエンザウイルス, 静岡県, ニワトリ, ブタ
Influenza virus, Shizuoka prefecture, Chicken, Swine

はじめに

ヒトのインフルエンザ流行は、インフルエンザウイルスの連続的な抗原変異により毎年繰り返されているが、これとは別に、従来の流行株とは異なる新しい変異株が数十年間隔で出現して、世界的に大流行を起こしている。この不連続変異の機序としては、野生の鳥類が保有しているトリ型ウイルスがブタに感染し、ブタ体内においてヒト型ウイルスやブタ型ウイルスとの間で遺伝子分節の交換がおき、不連続変異株である遺伝子分節再集合体が生じると考えられている¹⁾。これらブタ体内で生じた遺伝子分節再集合体のうち、ヒトに感染するものが新型ウ

イルスになると推察されている。一方、1997年香港において突如発生したA (H5N1) 型は、トリ由来であることが明らかにされ、トリ型ウイルスが直接ヒトに感染することも判明している²⁾。

このように、ブタやトリがインフルエンザウイルスの増幅と供給、伝播および遺伝子分節再集合体産生などを担っており、これらの動物がヒトのインフルエンザ流行に重要な役割を果たしている。従って、ヒトに大流行をおこす可能性のある新型ウイルスの出現をいち早く察知する方法としては、ブタやニワトリに感染しているウイルスを定期的に分離し、疫学的、血清学および遺伝学的性状を解析することが効果的である。しかし、この点に着目して行われたインフルエンザウイルスの疫学調査はほとんどない。

本研究では、静岡県内のブタ、ニワトリおよびヒトにおける抗体調査、ウイルス分離、その抗原解析および遺伝子解析を通して、インフルエンザウイルスの浸淫状況

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市北安東4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-andō, Shizuoka, 420-8637, Japan)

を調査し、新型ウイルス出現の可能性を検討して、インフルエンザの流行予測およびワクチン株選定等に役立てることを目的とした。

材料および方法

1 抗体調査

1) 材料

ブタ血清は、1998年3月～1999年9月に静岡県内のAと畜場に搬入された57農場由来の655頭（6ヶ月齢の肥育豚450頭、繁殖豚205頭）、ニワトリ血清は、1998年4月～1999年3月に静岡県内のBおよびC食鳥処理場に搬入された43農場由来の320羽（産卵鶏210羽、ブロイラー110羽）をそれぞれ対象として採血し、3,000rpm 15分間遠心して得られた血清を検体とした。ヒト血清は、1998年7月～9月に県立総合病院および県立こども病院受診者のうち年齢別に無作為に選んだ245人の血清を検体とした。血清は検査に供するまで-20℃で保存した。

2) 検査方法

被検血清は非特異的な血球凝集阻止因子を除くため、ブタ血清はアラバマ法に従ってトリプシン処理、KIO₄処理を実施し、ニワトリ血清およびヒト血清はRDE処理を実施した。また、非特異的な血球凝集因子を除くため、シチメンチョウ血球による吸着を行った。供試したウイルス抗原は、ブタ型ウイルスのA/ブタ/香港/168/93(H1N1)およびA/ニュージャージー/1/76(H1N1)、古典的なヒト型ウイルスのA/愛知/2/68(H3N2)、トリ型ウイルスのA/カモ/シンガポール/3/97(H5N3)、A/シチメンチョウ/イングランド/63(H7N3)およびA/シチメンチョウ/ウイスコンシン/66(H9N2)で、国立感染症研究所呼吸器系ウイルス室から分与されたものを使用した。抗体価の測定は0.5%シチメンチョウ血球を用いた血球凝集抑制(HI)試験により抗体価を測定し、HI価10以上を抗体陽性と判定した。

2 ウイルス分離

1) 材料

ブタの分離材料は、1998年4月～2000年3月に、Aと畜場に搬入された36農場由来の1,100頭（6ヶ月齢の肥育豚）を対象とし、鼻腔内を滅菌綿棒でぬぐい、イーグルMEM培地(牛血清アルブミン 1 mg/ml, ゲンタマイシン 80 μg/ml) 3 mlに浸したものを検体とした。ニワトリの分離材料は、1998年4月～1999年3月に、BおよびC食鳥処理場に搬入された19農場の540羽（産卵鶏250羽、ブロイラー290羽）を対象とし、咽頭内および総排泄腔内を滅菌綿棒でぬぐい、イーグルMEM培地(牛血清アルブミン 1 mg/ml, ペニシリン 1000 単位/ml, ストレプトマイシン 2 mg/ml, ゲンタマイシン 240 μg/ml) 3 mlに浸したものを検体とした。ヒトの分離材料は、

1998年5月～1999年4月に、静岡県内で発生した集団かぜ11事例の学童115人およびインフルエンザ様疾患の散発患者329人から採取した総計444検体の咽頭ぬぐい液またはうがい液を検査材料とした。検体は採取後4℃に保管し、3日以内に培養を開始した。

2) 検査方法

ウイルス分離は、MDC K細胞培養法により行った。まず検体の遠心(3,000rpm 20分)上清200 μlを24ウェルプレートに単層培養したMDC K細胞に接種し、37℃で40分間吸着した。分離用培地として、アセチルトリプシン10 μg/ml加イーグルMEM培地(牛血清アルブミン 2 mg/ml, ゲンタマイシン 80 μg/ml) 1 mlを各ウェルに添加し、35℃で1週間培養して細胞変性効果(CPE)を観察した。CPEの認められない検体は、2代継代し、同様に観察を継続した。培養上清は、モルモットまたはシチメンチョウ血球に対する血球凝集(HA)活性の有無を指標としてインフルエンザウイルスの分離を行った。

HA陽性の培養上清は、酵素抗体法による検査キット(Directigen Flu A,ベクトンディッキンソン)を用いてA型インフルエンザウイルス抗原の有無を調べた。また逆転写-遺伝子増幅(RT-PCR)法によりA型インフルエンザウイルスの亜型に特異的な遺伝子の有無を調べた。すなわち、グアニジウムフェノール法(Isogen-LS,ニッポンジーン)でRNAを抽出後、RT反応により作成したcDNAを鋳型とし、ヒト型インフルエンザウイルス亜型特異性の高いHA1領域を標的としたプライマー、すなわち、H1検出用に設計された210・209R(512bp)およびH3検出用に設計された840・842R(461bp)を用いてPCR反応を行い、遺伝子増幅バンドの有無を調べた。さらに、目的の大きさ付近に検出された遺伝子増幅バンドの塩基配列を決定するために、PCR産物をTベクター(Novagen)に組み込み、Thermosequenaseサイクルシークエンシングキット(Amersham)を用いて蛍光シークエンサーDSQ1000(島津)により決定した。遺伝子解析は、国立公衆衛生院中島節子室長に依頼した。

分離ウイルスの抗原解析は、国立感染症研究所呼吸器系ウイルス室から分与された1998/1999または1999/2000シーズン用フェレット抗血清を用いたHI試験をマイクロプレート法により実施した。

結 果

1 抗体調査

1) ブタのHI抗体保有状況

A/ブタ/香港/168/93に対して655頭中4頭(0.6%)、A/ニュージャージー/1/76に対して290頭中18頭

(6.2%)、A/愛知/2/68に対して655頭中12頭(1.8%)が抗体陽性、トリ型ウイルスのA/カモ/シンガポール/3/97、A/シチメンチョウ/イングランド/63およびA/シチメンチョウ/ウイスコンシン/66に対してHI抗体を保有するブタは認められなかった(表1)。

HI価では、A/ニュージャージー/1/76に対して8頭が40~160の高い抗体価を示し、またA/愛知/2/68に対して3頭が40~320の高い抗体価を示したが、A/ブタ/香港/168/93に対してはいずれも10~20と低かった(表2)。農場別では、A/ニュージャージー/1/76に対して高いHI価を示した8頭は3農場、A/愛知/2/68に対して高いHI価を示した3頭は1農場に限定していた。

2) ニワトリのHI抗体保有状況

供試した320羽のうち、5種のインフルエンザウイルスに対してHI抗体を保有するニワトリは認められなかった。

3) ヒトのHI抗体保有状況

全年齢区分において、A/カモ/シンガポール/3/97(H5N3)に対するHI抗体保有は認められなかった。

2 ウイルス分離

1) ブタからのインフルエンザウイルス分離状況

供試した1,100検体のうち、1999年6月の1検体(No.

9)、7月の2検体(No.52, No.96)、9月の1検体(No.170)、10月の1検体(No.210)、11月の2検体(No.281, No.282)および2000年2月の1検体(No.401)の計8検体の培養上清は、モルモットおよびシチメンチョウ血球に対してHA価4~64の活性を示した。No.401はMDC K細胞に対してCPEが観察されたが、他の7検体は明瞭なCPEを示さず、MDC K細胞に継代してもHA価は上昇しなかった。

No.401株は、酵素抗体法によりA型インフルエンザウイルス抗原が検出されたが、他の7株についてはA型抗原が検出されなかった。RT-PCR法による亜型特異的遺伝子の検索を行ったところ、No.281株およびNo.282株はH1用プライマー(210-209R)により目的の512bp付近に増幅バンドが検出された。しかし、この2株の増幅バンドにはインフルエンザウイルスに特異的な塩基配列は検出されなかった。以上より、No.401株のみがインフルエンザウイルス(A/ブタ/静岡/401/2000)と同定された(表3)。

A/ブタ/静岡/401/2000のHA抗原解析では、抗A/北京/262/95(H1N1)血清に対して反応せず、抗A/シドニー/5/97(H3N2)血清に対してHI価1280を示したことから、A(H3)型ウイルスと型別された(表4)。

表1 ブタのインフルエンザウイルスに対するHI抗体保有状況

抗原	Aブタ/香港/168/93 (H1N1)	Aニュージャージー/1/76 (H1N1)	A愛知/2/68 (H3N2)	A/カモ/シンガポール/3/97 (H5N3)	A/シチメンチョウ/イングランド/63 (H7N3)	A/シチメンチョウ/ウイスコンシン/66 (H9N2)
肥育豚	0/450*	6/190	7/450	0/450	0/260	0/450
繁殖豚	4/205	12/100	5/205	0/205	0/105	0/205
計	4/655	18/290	12/655	0/655	0/365	0/655

表2 ブタのインフルエンザウイルスに対するHI抗体価の分布

ウイルス抗原	HI抗体価						
	<10	10	20	40	80	160	320
A/ブタ/香港/168/93 (H1N1)	651	3	1	0	0	0	0
A/ニュージャージー/1/76 (H1N1)	272	5	5	4	2	2	0
A/愛知/2/68 (H3N2)	643	7	2	1	1	0	1

表3 ブタからのインフルエンザウイルス分離状況(月別)

1998年							1999年					
4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	
0/50*	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50	
1999年							2000年			計		
6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月			
0/50	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50	1/50	0/50	1/1100		

*: 陽性頭数/供試頭数

表4 ブタから分離されたインフルエンザウイルスHA抗原解析

ウイルス抗原	下記抗血清に対するHI価	
	A/北京/262/95 (H1N1)	A/シドニー/5/97 (H3N2)
標準株		
A/北京/262/95 (H1N1)	1280	<10
A/シドニー/5/97 (H3N2)	<10	1280
分離株		
A/ブタ/静岡/401/2000	<10	1280

A/ブタ/静岡/401/2000のHA 1部分の遺伝子解析では、2000年1月～2月に静岡県内の患者から分離されたA(H3)型ウイルス株のA/静岡/49/2000、A/静岡/118/2000およびA/静岡/172/2000に対して、99.4%～99.9%の極めて高いホモロジーを示した。

2) ニワトリからのインフルエンザウイルス分離状況

供試した540検体は、いずれもMDCK細胞培養法においてCPEは観察されず、培養上清はモルモットおよびシチメンチョウ血球に対するHA活性はなく、インフルエンザウイルスは分離されなかった。

3) ヒトからのインフルエンザウイルス分離状況

1998年5月～1999年4月までの1年間に分離されたインフルエンザウイルスは149株で、その内83株(56%)がB/ビクトリア/2/87系統のB型ウイルス、54株(36%)がA(H3N2)型ウイルス、12株(8%)がB/山形/16/88系統のB型ウイルスであった。B/ビクトリア/2/87系統のウイルスは、インフルエンザ非流行期の1998年6月と7月に集団かぜ患者から11株と散発患者から1株が分離され、その後は11月以降の流行期前半を中心に主に学童から検出された。A(H3)型ウイルスは12月から検出され始め、1月にピークをむかえ、2月まで分離された。B/山形/16/88系統のウイルスは流行期後半になって分離され始め、4月まで検出された(図1)。

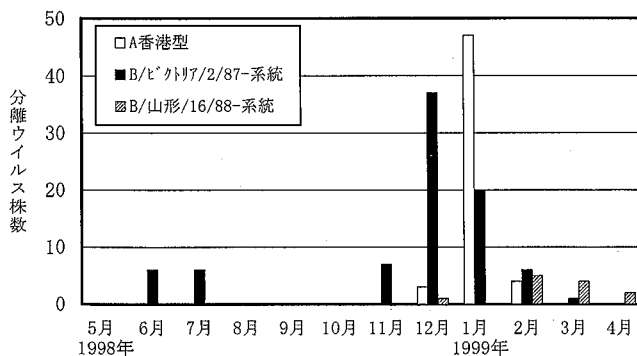


図1 ヒトからのインフルエンザウイルス分離状況

考 察

ブタはヒトの間で流行するヒト型インフルエンザウイルスに感受性があることから、インフルエンザ流行期に、ブタからヒト型ウイルスが分離されることがある³⁾。国内においてもブタからヒト型ウイルスの分離報告^{4, 5)}が散見されるが、ヒトからブタへの伝播がどの程度の頻度に行き起きているか等については詳細に明らかでない。先に実施した我々の調査において、1997年1月に静岡県内のブタから分離されたA(H3)型ウイルス4株⁶⁾は、トリ型やブタ型ウイルスとの遺伝子交雑のないヒト型ウイルスであった⁷⁾。本調査において、2000年2月にブタから分離されたA(H3)型ウイルスは、HAの抗原解析およびHA 1部分の遺伝子解析から、ヒト型ウイルスと判断され、トリ型ウイルスやブタ型ウイルスの遺伝子交雑はないと考えられた。このことから、静岡県内のブタでヒトからブタへのウイルス伝播が継続して起きているものと推測された。

ブタ固有のインフルエンザウイルスについては、1977年以降国内のブタの間でA(H1N1)型ウイルスが浸淫しているが、地域や年により流行規模が異なるとされている⁸⁾。静岡県内のブタでは、1997年に実施した我々の調査で、ブタ型ウイルスのA/ブタ/静岡/1/78(H1N1)に対する抗体を21.3%と高率に保有していることが既に明らかとなっている⁹⁾。今回、本ウイルス以外で、A/ニュージャージー/1/76(H1N1)およびA/愛知/2/68(H3N2)に対して高い抗体価を有するブタが認められたことから、ブタ間でこれらのウイルスが蔓延している可能性が高いと考えられる。A/ニュージャージー/1/76(H1N1)は、1976年アメリカで呼吸器症状を示したヒトから分離されたブタ型ウイルス⁹⁾で、このウイルスに感染したブタの存在は注目される。A/愛知/2/68(H3N2)は1968年当時ヒトの間で流行した古典的なヒト型ウイルスであり、このウイルスがブタ間で長期間保存されていることは既に指摘されている¹⁰⁾。本調査でこれらウイルスに対する抗体を保有するブタは数農場由来のブタに集中していたことから、静岡県内の特定農場においてこれらのウイルスの蔓延が起きているものと推察される。

ブタはヒトの間で流行するヒト型ウイルス、ブタ固有のブタ型ウイルスおよび鳥類由来のトリ型ウイルスに感受性があるとされている。本調査でトリ型ウイルスに対する抗体を保有するブタは認められなかったが、ブタ型ウイルスおよびヒト型ウイルスの浸淫があることが分かった。この様にブタの間で由来の異なる数種のインフルエンザウイルスが保存されている状況は、A(H1N2)型ウイルス¹¹⁾のようにブタ型ウイルスとヒト型ウイルスに由来する遺伝子分節再集合体が生じる可能性もあり、今

後のウイルス動向に注目する必要性があるものと考えられた。

本調査では、静岡県内のヒトの間で、6月～7月の非流行期にB/ビクトリア/2/87系統株が検出され、次シーズンには同系統株が全国に先駆けて分離されるなど、B/ビクトリア/2/87系統ウイルスの静岡県における特異的流行を明らかにすることができた¹²⁾。北半球の1998/1999シーズンにおけるB/ビクトリア/2/87系統ウイルスの分離報告は、静岡県を中心とした日本とアジアの一部のみであり、世界的には同系統ウイルスの流行拡大が懸念されている。この様な状況から、1998年11月に分離されたB/静岡/1/98株は、WHO Weekly Epidemiological Record(1999年2月発行)にワクチン候補株として掲載された¹³⁾。本株は、結果的には次シーズンのワクチン株には選定されなかったが、本調査は国際的なインフルエンザ予防活動に貢献できたと考えられる。

謝 辞

分離株の遺伝子解析を実施して頂いた、国立公衆衛生院中島節子博士に深謝いたします。

文 献

- 1) Kida, H. et al.: Potential for transmission of avian influenza viruses to pigs, *J. Gen. Virol.*, **75**, 2183-2188 (1994)
- 2) Subbarao, K. et al.: Characterization of an avian influenza A(H5N1) virus isolated from a child with a fatal respiratory illness, *Science*, **279**, 393-396 (1998)
- 3) Kundin, W. D.: Hong Kong A-2 influenza virus infection among swine during a human epidemic in Taiwan, *Nature*, **228**, 857 (1970)
- 4) 杉村崇明他：香港型インフルエンザウイルスによるブタの自然感染例，*ウイルス*，**25**，19-24 (1975)
- 5) 勝田賢他：十勝地方の豚から分離されたA型インフルエンザウイルス (H3N2) の性状，第121回日本獣医学会講演要旨集，137 (1996)
- 6) 丸尾聡志他：静岡県におけるブタのインフルエンザウイルス浸淫状況，平成8年厚生省「インフルエンザワクチンの予測に関する研究班」分担研究報告書 (1997)
- 7) 山崎良直他：静岡県のブタから分離されたH3N2型インフルエンザウイルスの性状，第126回日本獣医学会講演要旨集，142 (1998)
- 8) Katsuda, K. et al.: Prevalence of antibodies to type A influenza viruses in swine sera 1990-1994, *J. Vet. Med. Sci.*, **57**, 773-775 (1995)
- 9) Goldfield, M. et al.: Influenza in New Jersey in 1976: Isolation of influenza A/New Jersey/76 virus at Fort Dix. *J. Infect. Dis.*, **136**, supp., 347-355 (1977)
- 10) Nakajima, K. et al.: Further genetic evidence for maintenance of early Hong Kong-like influenza A (H3N2) strains in swine until 1976, *Virology*, **116**, 562-572 (1982)
- 11) Sugimura, T. et al.: Isolation of a recombinant influenza virus (Hsw1N2) from swine in Japan, *Arch Virol.*, **66**, 271-274 (1980)
- 12) 佐原啓二他：夏季に起きたB型インフルエンザウイルスによる集団発生，*感染症誌*.73, 253-254 (1999)
- 13) WHO: Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 1999-2000 season, **74**, 57-64 (1999)

腸管出血性大腸菌 O157 に関する疫学調査

微生物部 食品微生物スタッフ 増田高志, 川村朝子, 三輪憲永
秋山真人, 宮本秀樹, 寺井克哉*

Epidemiological Examination of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Serotype O157

Takashi MASUDA, Asako KAWAMURA, Norinaga MIWA, Masato AKIYAMA,
Hideki MIYAMOTO, and Katsuya TERAI*

腸管出血性大腸菌 O157 は食中毒や感染症の病因物質として広く関心が持たれており、その発生を防止するための基礎研究が求められている。そこで、検討の結果、以下の成績が得られた。①県内では1987年から1999年までの13年間に142名から本菌が検出され、1996年以降の4年間は毎年20名前後の患者が確認された。検出された菌株のうち血清型O157:H7, VT1,2 産生株が142株中86株(60.6%)と最も多かった。12薬剤に対する感受性では65株中13株(20%)が耐性を示した。フェージ型別では14の型に分類され、32型が86株中24株(27.9%)と最も多かった。②薬剤感受性パターンやフェージ型別は疫学マーカーとして有用であった。③県内で販売されている食肉類113検体、野菜類137検体および野菜洗浄水50検体の計300検体から本菌は検出されず、これらの食品汚染は低率であった。④野菜からの凍結損傷菌の検出法にはmEC培地で増菌後、ビーズ処理をしてCT-SMACに塗沫培養する方法が最も良かった。また、特殊酵素基質培地の併用により検出感度を上げることができると考えられた。⑤食品のpH、塩分濃度、保存温度等を配慮することにより微生物制御が可能であると考えられた。

Key words: 腸管出血性大腸菌 O157, 疫学調査, 疫学マーカー, 検出法
Enterohemorrhagic *Escherichia coli* serotype O157
Epidemiological examination, Epidemiological marker
Method for isolation of EHEC O157 from vegetables

はじめに

腸管出血性大腸菌 enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) O157 がベロトキシン(verotoxin)を産生することは、1977年カナダのKonowalchukら¹⁾によつてはじめて明らかにされ、その産生する毒素によりベロトキシン産生性大腸菌 verotoxin producing *Escherichia coli* O157 (VTEC O157)とも言われている。EHEC O157は1982年アメリカのオレゴン州およびミシガン州において相次いで

発生した同一ファーストフードレストランチェーンのビーフハンバーガーを原因食品とする集団食中毒事件²⁾を契機として世界的に注目されるようになった。

一方、わが国では1990年に埼玉県内の幼稚園においてEHEC O157による最初の集団感染事例³⁾の発生があり、患者319名のうち園児2名が溶血性尿毒症症候群(Hemolytic-Uremic syndrome)により死亡したことで全国的に注目されるようになった。さらに、1996年5月末に岡山市の小学校での集団食中毒事件を発端として、その後全国的に多発した。特に、7月に大阪府堺市の小学校を中心として発生した集団食中毒事件は患者数が約6,000名にもおよぶ世界的にも類を見ない大規模な集団事例となった⁴⁾。

静岡県では1987年に最初の散発下痢症患者が確認されて以来ほぼ毎年のように発生している⁵⁾。1996年以降は全国状況と同様に増加傾向を示しており、県民の間で

静岡県環境衛生科学研究所
(〒420-8637, 静岡市北安東4-27-2)
Shizuoka Institute of Environment and Hygiene
(4-27-2 Kita-andō, Shizuoka, 420-8637, Japan)

* 静岡県西部食肉衛生検査所

* Shizuoka Prefectural Western Meat Inspection Office

広く関心が持たれてきた。そこで、当研究所では平成9～11年度の3年にわたり、EHEC O157による食中毒や感染症の発生防止対策に役立つ基礎資料を得ることを目的として調査研究を実施したので、その概要を報告する。

調査研究内容

1 静岡県におけるEHEC O157の検出状況

県内では、1987年12月にEHEC O157:H7 (VT2産生)による最初の散発下痢症患者(8歳, 男)が確認されて以来、1995年までの8年間に家族内感染事例10名(4件)、散発事例21名の計31名からEHEC O157が検出された。1996年以降は1997年をピークとして、1999年12月までに集団感染事例9名(2件)、家族内感染事例50名(18件)、散発事例52名の計111名からEHEC O157が検出され、増加傾向を示した。県内の傾向は散発事例が半数を占め、小規模ではあるが1997年には幼稚園での集団感染事例(原因不明)や1999年には合宿中の食事が原因と推定される食中毒事件の発生があった(表1)。

表1 静岡県内のEHEC O157 検出状況

年	集団感染事例	家族内感染事例	散発事例	計
1987~95		10 (4)	21	31
96		12 (4)	12	24
97	7 (1)	25 (9)	11	43
98		8 (3)	10	18
99	2 (1)	5 (2)	19	26
計	9 (2)	60 (22)	73	142

() 内: 件数

2 EHEC O157の各種疫学マーカーの検討

細菌の疫学マーカーは感染症や食中毒事件における感染源の追及に不可欠な検査である。そこで、血清型別、VT型別、薬剤感受性パターン、ファージ型別といった表現型の疫学マーカーについて検討した。

1) 材料および方法

①検査対象

血清型別およびVT型別には1987年～1999年12月の間に県内の保健所、病院等で検出された菌株142株を供試した。また、1997年以降に検出された菌株87株のうち、薬剤感受性パターンには65株、ファージ型別には86株を供試した。

②検査方法

血清型別は市販の病原大腸菌免疫血清「生研」を用いて常法によりO、H血清型別を行い決定した。VT型別は大腸菌VT検出用キット(EHEC-RPLA「生研」)による逆受身ラテックス凝集反応と腸管出血性大腸菌

VT検出用プライマーセット(宝酒造等)によるPCR法を併用してVT産生の確認と型別を常法により行った。

薬剤感受性パターンはアンピシリン(ABPC)、ストレプトマイシン(SM)、テトラサイクリン(TC)、シプロフロキサシン(CPFX)、カナマイシン(KM)、セフトキシム(CTX)、クロラムフェニコール(CP)、トリメトプリム(TMP)、トリメトプリム/スルファメトキサゾール(ST)、ゲンタマイシン(GM)、ナリジクス酸(NA)、ホスホマイシン(FOM)の12薬剤についてセンシ・ディスク(BBL)とミューラーヒントンII寒天培地を用いてKirby-Bauer法により行った。

ファージ型別はAhmedら⁶⁾およびKhakhriaら⁷⁾の方法に準じて行った。なお、現在は83ファージ型に型別される。

2) 結果および考察

血清型別ではO157:H7が121株(85.2%)、O157:H-が21株(14.7%)、VT型別ではVT1,2産生が95株(66.9%)、VT2産生が47株(33.1%)であった。さらに、O157:H7、VT1,2産生株が86株(60.6%)と最も多く、O157:H7、VT2産生株が35株(24.6%)、O157:H-、VT2産生株が12株(8.5%)、O157:H-、VT1,2産生株が9株(6.3%)の順であった。また、人由来株でVT1産生株は確認されなかった(表2)。

表2 EHEC O157の血清型別およびVT産生性

血清型	VT産生性		計
	VT2産生	VT1,2産生	
O157:H7	35	86	121
O157:H-	12	9	21
計	47	95	142

薬剤感受性パターンでは年別にみると、1997年は25株全てが12薬剤に感受性を示し、耐性株は確認されなかった。しかし、1998年は16株中6株(37.7%)、1999年は24株中7株(29.2%)がいずれかの薬剤に対して耐性を示した。薬剤別にみると、SMおよびTCの2薬剤に対して耐性を示した株が65株中11株(16.9%)と最も多く、SM単独およびSM、TC、ABPCの3薬剤に耐性を示す株が1株ずつみられた(表3)。また、同じ集団感染事

表3 EHEC O157の薬剤感受性パターン

年	1997	1998	1999	計 (%)
供試株数	25	16	24	65
SM耐性	0	0	1 (4.2)	1 (1.5)
SM, TC耐性	0	5 (31.3)	6 (25.0)	11 (16.9)
SM, TC, ABPC耐性	0	1 (6.3)	0	1 (1.5)
耐性株数計 (%)	0	6 (37.5)	7 (29.2)	13 (20.0)

例や家族内感染事例からの分離株は同一の薬剤感受性パターンを示した。

ファージ型別では非定型(AT) 1株を除いて85株が14のファージ型 (1, 2, 4, 8, 14, 21, 23, 28, 31, 32, 33, 34, 45, 54) に型別された。32型が24株(27.9%), 2型が13株(15.1%), 34型が9株(10.5%)の順に多かった。32型が多かった原因としては、1997年3月に関東から東海地方にかけてある種の食品を原因とするDiffuse outbreakの発生によるものと考えられた。また、2型、34型が多かったことは集団感染事例や家族内感染事例の発生によるものと考えられた。さらに、検査件数は少ないがファージ型によって特定のVT産生性があることや薬剤感受性パターンの成績と同様に同じ集団感染事例や家族内感染事例からの分離株は同一のファージ型を示しており、疫学マーカーとしての有用性が確認された(表4)。

表4 EHEC O157のファージ型別およびVT産生性

ファージ型	株数	内 訳			VT産生性	
		集団	家族	散発	VT2	VT1,2
1	1			1		1
2	13		7	6	13	
4	6			6	3	3
8	5		3	2		5
14	6			6		6
21	3	2		1	1	2
23	6		5	1	1	5
28	1			1		1
31	1			1		1
32	24		19	5		24
33	2			2		2
34	9	7		2	9	
45	3		2	1	1	2
54	5		2	3	4	1
AT	1			1		1
計	86	9	38	39	32	54

3 各種食品等におけるEHEC O157 汚染実態調査

わが国で発生したEHEC O157による集団食中毒事件の原因食品としてカイワレ、メロン、レタスサラダ、ポテトサラダ等の農産物(野菜類)が報告されている⁴⁾。また、家畜および食肉におけるEHEC O157汚染の状況については仁科ら⁵⁾の報告がある。さらに、レタス、アルファルファといった生野菜やアップルサイダーといった今まであまり問題にしていなかった農産物についても危険性が指摘されている⁶⁾。そこで、過去に内外で集団食中毒事件の原因食品として報告のあった食品(食肉類、

野菜類)および集団給食施設における野菜洗浄水についてEHEC O157等の汚染実態を調査した。

1) 材料および方法

①調査対象

1997年~2000年の間に静岡市等のスーパーマーケット、小売店で購入した食肉類(牛:63, 豚:32, 鶏:18)113検体および主に生で喫食する野菜類35検体、同市内の市場で購入した同様の野菜類102検体、同市内の集団給食施設において採取した野菜洗浄水50検体(一カ所10検体の5施設)計300検体を供試した。

なお、供試した検体の内訳を表5に示した。

②検査方法

食肉類および野菜類はその25gを検体とし、野菜洗浄水は3lをフィルター(0.45μm)で濾過し、その濾紙を検体とした。

スーパーマーケット、小売店で購入した食肉類および野菜類については、検体にNmEC培地(mEC Broth with Novobiocin) 225mlを加えて42±0.5℃で20~24時間培養後、培養液をCT-SMAC(Sorbitol MacConkey Agar with Cefixime Tellurite)とCHROMagar O157に直接塗抹する直接法を行った。

市場で購入した野菜類および野菜洗浄水については、検体の入った滅菌袋に約40℃に保温しておいたBPW(Buffered Peptone Water)を野菜類には225ml、野菜洗浄水には100mlを加え、36±1℃で6時間培養した。さらに、この培養液1mlを10mlのNmEC培地に接種し42±0.5℃で20~24時間培養した。次に、この培養液をCT-SMACとCHROMagar O157に直接塗抹する直接法およびmini VIDAS(ビオメリュー社)で処理後同じ培地に塗抹するICE法を行った。これらの培地は36±1℃で20~24時間培養後、それぞれの培地に発育した疑わしい集落は厚生省の示した検査手順¹⁰⁾に従って検査を行った。

なお、市場で購入した野菜類については検体25gにBPW 225mlを加えたものおよび野菜洗浄水を用いて、スパイラル法による一般細菌数の測定とEC培地により大腸菌検査を行った。

2) 結果および考察

食肉類113検体、野菜類137検体(33種類)および野菜洗浄水50検体(17種類)の計300検体からEHEC O157は直接法、ICE法いずれの方法でも検出されなかった。このことからこれら食肉類や野菜類のEHEC O157汚染は極めて低率と考えられた。

今回調査した野菜類(102検体)の一般細菌数は、全体では<10²~10⁷CFU/gであった。その分布は、<10²CFU/g:2(2%), 10²CFU/g:1(1%), 10³CFU/g:7(6.9%), 10⁴CFU/g:16(15.7%), 10⁵CFU/g:24

表 5 EHEC O157 汚染実態調査検体の内訳

食品の種類	品 名	検体数
食肉類	牛 肉 (挽肉40, 細切肉等15)	55
	牛レバー	3
	牛タン	2
	牛ホルモン	1
	牛・豚肉 (挽肉)	2
	豚 肉 (挽肉)	31
	豚レバー	1
	鶏肉 (挽肉)	18
小 計		113
野菜類	ミツバ	10
	モヤシ	9
	ホウレン草	8
	サニーレタス	7
	クレソン, サラダ菜, サンチュ	18 (各6)
	エシャレット, 大葉, カブ, セロリ, チンゲン菜, 白菜	
	ミニトマト, パセリ	40 (各5)
	カイワレ, イチゴ, 山芋, 春菊, ズッキーニ, モロヘイヤ	24 (各4)
	マッシュルーム, 食用菊, ルッコラ	9 (各3)
	アルファルファ, つまみ菜, チシャ菜, 豆苗	8 (各2)
	オクラ, キュウリ, つるむらさき, 野菜炒め	4 (各1)
	小 計	
野菜洗浄水	キャベツ	8
	キュウリ	6
	ホウレン草, 白菜, タマネギ	15 (各5)
	ニンジン	4
	レタス, 大根	6 (各3)
	ネギ, ジャガイモ	4 (各2)
	リンゴ, キウイ, イチゴ, パナナ, ゴボウ, ネーブル, パセリ	7 (各1)
	小 計	
合 計		300

表 6 野菜類 (市場購入) の一般細菌数および大腸菌

一般細菌数 (CFU/g)	野菜数	大腸菌陽性数
<10 ²	2	0
10 ²	1	0
10 ³	7	0
10 ⁴	16	0
10 ⁵	24	0
10 ⁶	43	8 (大葉3, クレソン3, ホウレン草2)
10 ⁷	9	2 (大葉, モヤシ)
計	102	10

表 7 野菜洗浄水の一般細菌数および大腸菌

一般細菌数 (CFU/ml)	野菜洗浄水数	大腸菌陽性数
<10	4	0
10 ¹	3	0
10 ²	9	0
10 ³	11	0
10 ⁴	18	0
10 ⁵	5	0
計	50	0

(23.5%), 10^6 CFU/g:43 (42.2%), 10^7 CFU/g:9 (8.8%) であり, 約半数が 10^6 CFU/g 以上であり, 20種類の野菜類に及んでいた. 一般細菌数の少ない野菜類としてはイチゴがあり, 多い野菜類としてはエシャレット, ミツバ, 大葉, クレソン等があった. また, 大腸菌は10検体(9.8%) から検出され, 検出された野菜類としては大葉, クレソン, ホウレン草, モヤシがあり, それらの一般細菌数は全て 10^6 CFU/g 以上であった (表6).

野菜洗浄水 (50検体) の一般細菌数は, 全体では $10^1 \sim 10^5$ CFU/mlであった. その分布は, <10 CFU/ml:4 (8%), 10^1 CFU/ml:3 (6%), 10^2 CFU/ml:9 (18%), 10^3 CFU/ml:11 (22%), 10^4 CFU/ml:18 (36%), 10^5 CFU/ml:5 (10%) であった. 5施設の内4施設は10,000食以上を提供している施設で, 一般細菌数の平均は 10^4 CFU/mlであり, 残りの1施設は食数が620食であり, その平均は 10^3 CFU/mlであった. 一般細菌数は処理する野菜類量に左右されるものと考えられた. しかし, 大腸菌は全く検出されなかった (表7).

4 野菜からの凍結損傷EHEC O157の検出法の検討

食品からのEHEC O157の検出は食中毒事件における原因食品の追及や流通食品の汚染実態を把握するために重要である. 現在, 食品は冷凍状態で流通するケースが多くなっているし, 食品管理マニュアルでは検査は -20°C で2週間保管することが義務付けられている. したがって食品中のEHEC O157は冷凍されることによる損傷を受けており発育し難い状態になっている. そこで, 野菜からの凍結損傷EHEC O157を効率的に検出できる方法を検討した.

1) 材料および方法

①凍結損傷EHEC O157の作製

TSA(Trypticase Soy Agar) に発育したEHEC O157 (予研970056) を滅菌ミリQ水に懸濁後, 3,000回転, 20分, 3回滅菌ミリQ水で洗浄した. 再度滅菌ミリQ水に懸濁し, -20°C で24時間以上保存した.

菌液を融解後, CT-SMAC およびTSA に塗抹培養し,

TSA に発育し, CT-SMAC に発育しなかった菌を凍結損傷EHEC O157とした.

②試験方法

カイワレ (一般細菌数 10^8 / g, 大腸菌群数 10^6 / g), へたを除去したイチゴ (一般細菌数 10^5 / g, 大腸菌群 < 200 / g) および3%塩キャベツ (一般細菌数 10^6 / g, 大腸菌群数 10^4 / g) を各25gずつを入れた滅菌袋を各々20袋ずつ作製した. 各々の袋に凍結損傷EHEC O157 (12.4 CFU/mlに調整) 1mlを接種し全体によくなじませた. 予備実験の結果, 選択剤 (NB: Novobiocin, Bile salts) を予め添加した増菌培地では凍結損傷EHEC O157の発育が多少抑制されたため, 増菌培地としては10袋にはBile saltsを除いたmEC培地 225ml, 残りの10袋にはTSB (Trypticase Soy Broth) 225 mlを加えて1分間ストマッカー処理後, 室温 (25°C) に2時間静置した. その後, 各々の袋にNovobiocin溶液 (4.5mg/ml) 1 mlとBile salts No. 3溶液 (126mg/ml) 2mlを加えて軽く振とう後, 42°C 18時間培養した. この培養液を分離培地CT-SMACとCHROMagar O157に直接塗抹する直接法および免疫磁気ビーズ (ダイナル) 処理後塗抹するビーズ法により凍結損傷EHEC O157の検出を行い, 分離培地上に発育した集落数により-~+++ (-: 集落なし, +: 少数, ++: 半分ぐらい, +++: ほとんど全部) を判定した.

2) 結果および考察

カイワレからは直接法, ビーズ法いずれの方法からもEHEC O157は検出されなかった. イチゴからは両法ともEHEC O157が検出され ($1/10 \sim 2/10$), 集落数はほとんどが+++であり, 両法の比較ではあまり差はなかった. 塩キャベツからは両法ともEHEC O157は検出され ($3/10 \sim 6/10$), 直接法では分離培地としてCT-SMACを用いた方が集落数が多かった. しかし, ビーズ法では分離培地の差は少なかった (表8).

以上のことから, 直接法の場合は増菌培地としての

表8 野菜からの凍結損傷EHEC O157の検出状況

増菌培地	野菜名 分離培地 集落数	直接法						ビーズ法					
		カイワレ		イチゴ		キャベツ		カイワレ		イチゴ		キャベツ	
		CT	CHR	CT	CHR	CT	CHR	CT	CHR	CT	CHR	CT	CHR
mEC (NB)	-	10	10	9	9	5	6	10	10	9	8	4	4
	+					1	4				1	2	2
	++												2
	+++			1	1	4				1	1	4	2
TSB (NB)	-	10	10	9	9	6	7	10	10	9	9	6	6
	+						2						
	++						1						
	+++			1	1	4				1	1	4	4

増菌培地 (NB) : Novobiocin, Bile salts 分離培地 CT: CT-SMAC CHR:CHROMagar O157

差は少なかったが、分離培地としてCT-SMAC がやや優れていた。また、ビーズ法の場合は逆に分離培地による差は少なかったが、増菌培地としてTSB がやや優れていた。

総合的に判断すると、増菌にはmEC 培地を用いて、ビーズ処理後、CT-SMAC に塗抹する方法が最も良いと考えられた。また、EHEC O157 はCHROMagar O157でうす紫色の特徴のある集落を形成するので、2種類の培地を併用することにより検出感度が上昇するものと考えられた。

5 各種物理的条件におけるEHEC O157の増殖

培地のpH、塩分濃度および培養温度といった物理的条件の違いによってEHEC O157の増殖に差があるかを検討した。

1) 材料および方法

①培地のpH

培地のpHを3.0～11.0まで0.5刻みで調整後、10 ml 中試験管に分注し滅菌した。これに標準株 (EDL)¹⁰⁾ および下痢症患者由来EHEC O157を接種し、35℃24時間培養後に培地の濁りにより菌の増殖 (～+++) を確認した。

②培地の塩分濃度

市販のTSBは通常塩分濃度が0.5%であり、これにNaCl (試薬特級) を加えることにより1.0～10.0%まで0.5%刻みで塩分濃度を調整後、10ml中試験管に分注し滅菌した。これに標準株 (EDL) および下痢症患者由来EHEC O157 を接種し、35℃24時間培養後に培地の濁りにより菌の増殖 (～+) を確認した。

③培地の培養温度

ダーラム管を入れた中試験管にEC培地 (EC Broth) を分注し滅菌後、急冷した。これに標準株 (EDL) および下痢症患者由来EHEC O157 とEHEC O157 以外の大腸菌 (O18) を接種し 5, 10, 25, 30, 35, 40, 41, 42, 42.5, 43, 43.5, 44, 44.5, 45, 46, 47, 48℃の温度で24時間培養後に培地の濁りにより菌の増殖 (～+++) とガス産生 (～+++) を確認した。

2) 結果および考察

①培地のpH

標準株 (EDL) はpH4.5～9.0の間の培地に増殖が確認され、特にpH5.5～7.0の間でその発育は活発であった。一方、下痢症患者由来株はpH4.5～9.5の間の培地に増殖が確認され、特にpH5.5～7.5の間でその増殖は活発であった (表9-①)。このことはpH4.0以下の酸性食品例えばアップルジュース (pH3.7) やpH10.5以上のアルカリ性の状態では、EHEC O157の増殖が阻害されることを示すものであった。したがって有機酸等を食品に添加して、食品の特色を失わない

程度にpHを調整することは有効な食品の保存法であり、これにより食品の安全性も確保できると考えられる。

②培地の塩分濃度

塩分が高濃度の状態では食品中は高浸透圧になるので微生物は水分を奪われて増殖が阻害される。腸炎ビブリオ等の好塩性細菌では高濃度の塩分濃度でも発育するが大腸菌では2%以下が最適な濃度である。NaClを添加した培地での増殖は、標準株 (EDL)、下痢症患者由来株とも0.5～6.5%の間で発育が確認された (表9-②)。このことはEHEC O157は海水中でも十分生存できることを示すものであり、イクラを原因食品とした全国的な食中毒事件の発生¹¹⁾と同様に他の海産物も食中毒の原因食品になり得る可能性が示唆された。

③培地の培養温度

培養温度が10℃以下では全ての株において菌発育、ガス産生は見られなかった。25～43.5℃の間では全ての株において菌発育、ガス産生とも活発 (+++) であった。標準株 (EDL)、下痢症患者由来株では45℃以上で菌発育、ガス産生とも見られなかった。また、EHEC O157 以外の大腸菌において47℃以上では菌発育、ガス産生とも見られなかった (表9-③)。

EC培地による大腸菌検査では培養温度は44.5℃と規定されているが、この温度ではEHEC O157以外の大腸菌は十分に増殖するが、EHEC O157は増殖が抑制されるため、増殖に適した温度とは言えない。

現在、食品からのEHEC O157検査における増菌法として、検体25 gにNmEC 225mlを加えて42±0.5℃で20～24時間培養する方法が一般的であり、この温度は他の細菌の増殖をある程度抑制させることから適当な方法と考えられた。

ま と め

平成9～11年度の調査研究テーマとして「腸管出血性大腸菌 O157に関する研究」を実施した。本感染症の発生防止対策に役立つ基礎資料を得ることを目的として調査研究を実施した結果、次の知見を得た。

- 1 県内では、1987年にEHEC O157による最初の散発下痢症患者が確認されて以来、1999年12月までに集団感染事例9名(2件)、家族内感染事例60名(22件)、散発事例73名の計142名から散発事例を中心としてEHEC O157が検出された。1996年以降は1997年をピークとして毎年20名前後の患者の発生が確認されており、小規模ではあるが2件の集団感染事例の発生もあった。
- 2 各種疫学マーカーの検討では、検出された菌株のう

表9 各種物理的条件におけるEHEC O157の培地での増殖

①培地のpH

pH	11.0	10.5	10.0	9.5	9.0	8.5	8.0	7.5	7.0	6.5
標準株 (EDL)	-	-	-	-	+	+	+	++	+++	+++
下痢症患者由来株	-	-	±	+	+	+	++	++	+++	+++

	6.0	5.5	5.0	4.5	4.0	3.5	3.0
	+++	+++	++	+	-	-	-
	+++	+++	++	+	-	-	-

②培地の塩分濃度 (%)

塩分濃度	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0
標準株 (EDL)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
下痢症患者由来株	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	9.5	10.0
	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-
	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-

③培地の培養温度 (°C)

温 度		5.0	10.0	25.0	30.0	35.0	40.0	41.0	42.0
標準株 (EDL)	菌発育	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	ガス産生	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++
下痢症患者由来株	菌発育	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	ガス産生	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++
EHEC O157以外	菌発育	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	ガス産生	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++

	42.5	43.0	43.5	44.0	44.5	45.0	45.5	46.0	46.5	47.0	48.0
	+++	+++	+++	++	+	±	-	-	-	-	-
	+++	+++	+++	+	-	-	-	-	-	-	-
	+++	+++	+++	++	++	±	-	-	-	-	-
	+++	+++	+++	+	+	-	-	-	-	-	-
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	±	-
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-

ち血清型O157:H7, VT1,2 産生株が86株 (60.6%)と最も多かった。12薬剤に対する感受性では13株 (20%)が何らかの耐性を示した。ファージ型別では85株が14のファージ型 (1, 2, 4, 8, 14, 21, 23, 28, 31, 32, 33, 34, 45, 54) に型別され, 32型が24株 (27.9%)と最も多かった。また, ファージ型によって特定のVT産生性があることが考えられた。薬剤感受性パターンやファージ型別の成績は同じ集団感染事例や家族内感染事例からの分離株は同一のパターンやファージ型を示し, 疫学マーカーとしての有用性が確認された。

3 食肉類 113検体, 野菜類 137検体および野菜洗浄水 50検体の計 300検体からEHEC O157が検出されなかった。

ことからこれらの食肉類や野菜類のEHEC O157汚染は極めて低率と考えられた。

4 凍結損傷EHEC O157の検出法として, 増菌にはmEC培地を用いて, ビーズ処理後, CT-SMACに塗沫する方法が最も良いと考えられた。また, CHROMagar O157といった特殊酵素基質培地を併用することにより検出感度が上昇するものと考えられた。

5 EHEC O157はpH5.5~7.0, 塩分濃度0.5~6.0%, 培養温度25~43.5°Cの間で活発な増殖が確認され, これらの諸性状を活用することにより食品の安全性を確保し, 食中毒の発生を防止できるものと考えられた。

文 献

- 1) Konowalchuck J, et al : Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*, Infect Immun. , **18**, 775-779 (1977)
- 2) Rirey LW, et al : Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype, N Engl J Med., **308**, 681-685 (1983)
- 3) 鈴木忠義：一埼玉県浦和市 S 幼稚園－病原大腸菌による下痢症患者の集団発生の概要, 公衆衛生情報 **3**, 39 - 45 (1991)
- 4) 甲斐明美 他：わが国における Vero 毒素産生性大腸菌の分離状況, 臨床と微生物, **23**, 49-56 (1996)
- 5) 増田高志 他：ベロ毒素産生性大腸菌 (O157等) のヒト, 食品, 環境水からの検出状況と分離株の各種性状, 静岡県環境衛生科学研究所報告, **39**, 57-62 (1997)
- 6) Rafiq Ahmed, et al : Phage-Typing Scheme for *Escherichia coli* O157 : H7, J Infect Dis., **155**, 806 -809 (1987)
- 7) R.KAKHRIA, et al: Extended phage typing scheme for *Escherichia coli* O157:H7, Epidemiol Infect., **105**, 511-520 (1990)
- 8) 仁科徳啓 他：家畜および食肉における Vero 毒素産生性大腸菌汚染, 臨床と微生物, **23**, 57-64 (1996)
- 9) 金子賢一：生食用野菜及び果物が媒介となる感染症, 食衛誌, **40**, 417-425 (1999)
- 10) 厚生省生活衛生局食品保健課長, 乳肉衛生課長通知：病原大腸菌 O-157 に係る食品等の汚染実態調査の実施について, 衛食第 195 号, 衛乳第 174 号 (1997. 7.18)
- 11) Alison, D.O., et al : *Escherichia coli* O157:H7 strains associated with haemorrhagic colitis The United States produce a *Shigella dysenteriae* 1 (Shega) like cytotoxin, The Lancet., **i**, 702 (1983. 3. 26)
- 12) 北海道立衛生研究所食品科学部：イクラ醤油漬の腸管出血性大腸菌 O157 汚染に関する調査, 病原微生物検出情報, **224**, 3-4 (1998)

医薬品等の試験検査に係る有害試薬の使用状況調査 (第二報)

— 医薬品等の試験検査に係る有害試薬の低減化の試み —

医薬品生活部 医薬食品スタッフ 小和田和宏, 堀池あずさ, 馬淵 博
佐野智子, 永野隆夫

Research for Deleterious Chemicals Used in the Test of Drugs (Part 2)

— Experiments to Reduce Deleterious Chemicals in the Test of Drugs —

Kazuhiro OWADA, Azusa HORIIKE, Hiroshi MABUCHI,
Satoko SANO, and Takao NAGANO

医薬品等の試験検査には様々な試薬が使用されている。近年、労働衛生や環境汚染の視点などから、試験検査においても有害試薬は可能なかぎり排除すべきであると考えられる社会状況にある。当スタッフでは医薬品等の試験検査に使用されている有害試薬等の使用状況を調査し、それらの低減化について検討した。

昨年度実施した有害試薬等の使用状況に関するアンケート調査の結果をもとに、まず、定量試験に汎用されている高速液体クロマトグラフィー (以下, HPLC) に用いる有機溶媒の使用量をHPLCのカラムの長さを変えることにより低減化できないか検討した。その結果、カラムの長さを短くすることにより使用する溶媒量を減らすことができた。また、試験法のスケールダウンによっても定量値に影響を及ぼさず、用いる有機溶媒量を減少させることも可能であった。その他、薄層クロマトグラフィー (TLC) に用いる抽出溶媒や展開溶媒、噴霧試薬を有機溶媒等の種類を検討することにより、有害といわれている試薬類を用いなくても試験できることがわかった。

Key words : 医薬品, 試験検査, 有害試薬, 代替溶媒

Drugs, Test, Deleterious chemicals, Substituted solvent

はじめに

医薬品等の試験検査には様々な試薬が使用されている。これらの中には、労働衛生や環境汚染の視点などから有害試薬と考えられているものが少なくない。現在、こうした有害試薬は可能なかぎり排除すべきであると考えられる社会状況にあり、日本薬局方 (以下, 日局) の作成方針も、「人体および環境に有害な試薬を用いた試験法の廃止」など人や環境への影響を配慮した試験法になるよう努めている。こうした社会状況の中、著者らは医薬品等の試験検査に係る有害試薬の使用状況の調査や有害試薬の低減化の方法等を検討することとした。昨年度は、県内医薬品製造所に対して医薬品の試験検査に係る有害試薬の

使用状況やそれに代わる代替試験法の開発の検討状況に関するアンケート調査を実施した¹⁾。その結果、87%の製造所で有害といわれている試薬類を用いていること、また、65%の製造所では有害試薬の低減を目的とした試験法の変更については検討していないことがわかった。また、実際の医薬品製造承認書を調べてみると、クロロホルムやジクロロメタンなどが抽出溶媒やTLCの展開溶媒として、また、HPLCの移動相としてアセトニトリルなどが多く用いられていた。クロロホルムやジクロロメタン、アセトニトリルなどは有害試薬といわれてはいるが、それらは溶剤としては有用で、なかなか排除できないという実態も明らかになった。

本年度は、有機溶媒等の使用量の低減化を目的にHPLCのカラムの長さや試験検査のスケールダウンを検討した。また、TLCによる確認試験で多く用いる抽出及び展開溶媒の種類の変更により、より毒性の少ない溶媒への変更の可能性についても検討したので報告する。

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市北安東4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-andō, Shizuoka, 420-8637, Japan)

試験方法

1 HPLCカラムの長さの変更による有機溶媒使用量の低減化

医薬品の規格及び試験方法の中でHPLCを用いて定量する品目を選び、医薬品製造承認書及び日局に従って試験検査を行った。また、HPLCの操作条件のうち、カラムの長さや内径のみ変更して、同様に実験した。カラムの長さは25cm、15cm及び10cm（いずれも内径は4.6mm）、内径は4.6mm及び3.0mm（いずれも長さは15cm）を用いた。

それぞれの試験検査条件において、試験品の秤量から測定までを3～6回繰り返して行い、得られた定量値やHPLCの保持時間、溶出順序、分離度、試験の再現性等製造承認書上必要な項目等を相互に比較し、試験条件の変更が試験検査結果に影響を及ぼさないことを検証した。

2 製造承認書等の試験検査のスケールダウンによる溶媒使用量の低減化

医薬品の試験検査において希釈操作などに比較的溶媒を多く用いていると思われた医薬品を選び、希釈方法等を検討することにより使用量を減らすことが可能か、希釈方法の違いによる定量値への影響について調べた。

3 TLC抽出溶媒及び展開溶媒の種類の変更

TLCによる確認試験の項目の中から、抽出溶媒や展開溶媒に有害といわれているジクロロメタンやトルエンを用いている医薬品を選び、別の溶媒で試験検査ができないかを実験的に検討した。

結果および考察

1 HPLCカラムの長さの検討

昨年度、医薬品製造所に対し、有害試薬の低減化を目的に試験方法の変更を検討した事例の有無を調査したところ、HPLCカラムの長さを短くすることにより移動相として用いる有機溶媒量が削減できたという事例が報告された¹⁾。本年度、当スタッフにおいてもこの点に着目し、長さや内径の異なるHPLCカラムを用いて有機溶媒の削減度合いや定量値に与える影響等を比較した。

製造承認書のHPLC操作条件の中で、「内径約4mm、長さ約30cmのカラム」を指定し、カラムの選定条件として「溶出順序は内標準物質、主成分の順で、主成分の保持時間が約10分、両者の分離度が6以上」とされている医薬品Aを検討材料に選んだ。

カラムメーカー、充填剤の種類、内径及び充填剤の粒子径は同じで、長さが25cm、15cm及び10cmの3種類の

カラムを用いた。基本的な考え方として、異なる長さのカラムを用いても主成分の保持時間を製造承認書どおり約10分にするよう流速を調整し、カラム温度もなるべく同じとなるよう操作した。

それらの結果のうち、溶出条件に関するものを表1に示した。3種のカラムによる溶出挙動はいずれも製造承認書の主成分の保持時間（10分）、溶出順序、分離度（6以上）を全て満たしていた。製造承認書のカラム長さである30cmに最も近い25cmのカラムを用いた場合、1回の分析（約15分）に要する溶媒量は18.75mLで、これを15cmのカラムにすると12mL、10cmでは8.25mLで分析が可能となった。従って、25cmのカラムを使った場合に対し、15cmを使った場合は溶媒量として約64%、10cmでは約44%でよいことになる。

表1 3種の長さのカラムの溶出挙動の比較（医薬品A）

	25cm	15cm	10cm
保持時間 IS	6.41	6.29	6.20
保持時間 主成分	10.69	10.49	10.37
溶出順序	○	○	○
分離度（6以上）	14.4	12.1	9.4
カラム温度（℃）	37	35	35
流速（mL/min.）	1.25	0.80	0.55
溶媒量mL（15min.）	18.75 （100%）	12.0 （64%）	8.25 （44%）

また、カラムの長さが定量結果に及ぼす影響について表2に示した。3種のカラムから得られた定量値の平均値及び標準偏差は医薬品Aの規格幅（93～107%）からみて十分で、定量結果に影響を及ぼさないことが推察された。

表2 カラム長さが定量結果に及ぼす影響（医薬品A）

	25cm	15cm	10cm
N=1	99.2%	99.2%	99.1%
N=2	99.3%	100.7%	98.8%
N=3	99.8%	100.7%	99.9%
N=4	99.8%	99.1%	98.0%
N=5	99.8%	100.0%	99.3%
N=6	100.1%	100.1%	100.2%
平均値	99.7%	100.0%	99.2%
標準偏差	0.3%	0.6%	0.7%

カラム長さの変更が有機溶媒の使用量削減に及ぼす影響については別の医薬品Bを用いて15cm及び10cmの2種類のカラムで同様の検討を行った。その結果を表3に示したが、2種のカラムによる溶出挙動はいずれも製造承認書の主成分の保持時間（10分）、溶出順序、分離度（5以上）を満たしていた。製造承認書のカラム長さで

ある15cmを用いた場合、1回の分析(約15分)に要する溶媒量は9 mLで、これを10cmのカラムにすると5.7 mLで分析可能となり、溶媒量として約37%の減量になる。2種のカラムから得られた定量値の平均値及び標準偏差は医薬品Bの規格幅(90~110%)からみて十分で、定量結果にも影響を及ぼさないと考えられた。

表3 カラムの長さとの溶出挙動及び定量値の比較(医薬品B)

	15cm	10cm
保持時間 IS	5.06	5.10
保持時間 主成分	10.10	9.98
溶出順序	○	○
分離度(5以上)	13.1	7.7
流速(mL/min.)	0.60	0.38
定量値%(n=5)	101.3	101.5
標準偏差	0.7	0.5
溶媒量(15min.)	9.0mL(100%)	5.7mL(63%)

医療用医薬品は主成分が1成分しか含まれないものが比較的多く、HPLCのカラムの長さを短くする方法は特に有用であると思われるが、その前提として、試験の操作において溶出順序や保持時間、分離度、試験の再現性等の条件が満たされ、定量結果に影響を及ぼさないことが重要である。

2 HPLCカラムの内径の検討

医薬品Cの製造承認書のHPLC操作条件は「内径約4.6mm、長さ約15cmのカラム、溶出順序は内標準物質、主成分の順で、主成分の保持時間が約7分、両者の分離度が8以上」とされている。この実験では、カラム長さを15cmに固定し、内径が4.6mm及び3.0mmの2種類のカラムを用いて検討した。

その結果を表4に示したが、満足のいく結果は得られなかった。すなわち、内径3.0mmのカラムを用いた場合、4.6mmに比べ、使用する溶媒量は約58%に減少したが、カラムの選定条件における分離度(8以上)を算出する

表4 カラム内径と溶出挙動及び定量値の比較(医薬品C)

	4.6mm	3.0mm
保持時間 IS	3.50	4.14
保持時間 主成分	7.11	7.01
溶出順序	○	○
分離度(8以上)	14.5	3.8
流速(mL/min.)	1.20	0.70
定量値%(n=3)	101.4	103.2
標準偏差	0.6	1.8
溶媒量(10min.)	12.0(100%)	7.0(58%)

と3.8と条件を満たさず、定量値もバラツキが大きかった。また、3.0mmの内径のカラムを用いた場合、内径が小さいため、カラムに対する圧力が大きくなり、粒子径を検討する等カラムを選ぶ別の要因検討も必要になると思われた。

3 試験検査のスケールダウンによる溶媒使用量の低減化

医薬品Dは5 mL中に主成分を100mg含有する注射剤である。製造承認書では注射液5 mLを量り500mLとした液を、さらに5 mL量り50mLに希釈して吸光度を測定する定量方法である。従って、試験品を1回試験するには、注射液5 mLと550mLの溶媒が必要となる。この550mLという溶媒量を希釈方法をスケールダウンして低減化できないかを検討した。

5種類の希釈方法図1を想定し、それぞれの方法で6回繰り返し試料溶液を調製して吸光度を求めた結果を表5に示した。5種の考案希釈方法と製造承認書の6種の方法で得られた平均値の差を検定したが有意な差(危険率1%)は認められず、良好な定量ができたと考えられた。この結果、製造承認書では1回550mLの溶媒を要する試験方法もこれらの希釈方法により150~300mLで、溶媒使用量として製造承認書法に対し27~55%で試験検査が可能となることがわかった。

試料溶液調製時の希釈方法

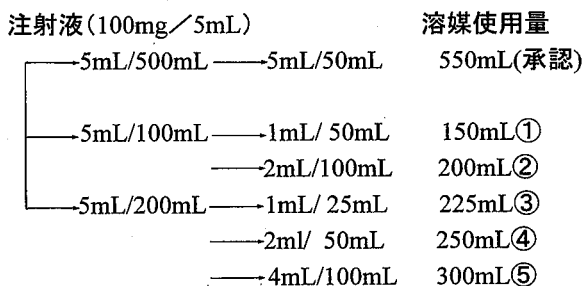


図1 スケール縮小による有機溶媒使用量の低減化(医薬品D)

表5 カラム内径と溶出挙動及び定量値の比較(医薬品C)

	承認	①	②	③	④	⑤
溶解量	500	100	100	200	200	200
希釈法	5/50	1/50	2/100	1/25	2/50	4/100
平均値(n=6)	0.2897	0.2904	0.2897	0.2909	0.2900	0.2894
標準偏差	0.0017	0.0004	0.0009	0.0023	0.0015	0.0009
溶媒量(mL/回)	550	150	200	225	250	300
割合(%)	100	27	36	41	45	55

4 TLCの抽出溶媒及び展開溶媒の種類の変更

TLCによる確認試験の項目の中から、抽出溶媒や展開溶媒に有害といわれているジクロロメタンやトルエン

を用いている医薬品E, F及びGを選び, 別の毒性の少ない溶媒を用いて試験検査ができないかを検討した。

表6に医薬品E, F及びGのTLCに用いる抽出溶媒, 展開溶媒, 検出用試薬(噴霧試薬)を示した。これらの医薬品の原薬の規格が日局に収載されているので, シクロメタンやトルエンを用いない日局の方法をベースに3種の医薬品のTLCによる確認試験を実施した。すなわち, 抽出溶媒としてメタノールを, 展開溶媒には酢酸エチル/強アンモニア混液を, そして, 検出は254nmの紫外線を照射する手法を検討した。その結果, 図2に示したように, 3医薬品ともに有害といわれている溶媒を用いない日局の方法で主成分の確認ができることが明らかとなった。

表6 TLCにおける代替溶媒(抽出, 展開溶媒)の検討(医薬品E, F及びG)

原薬(局方)	医薬品E	医薬品F	医薬品G
抽出溶媒	MeOH	MeOH	シクロメタン+ MeOH
展開溶媒	トルエン+酢 エチ+ジエチ ルアミン	トルエン+酢 エチ+ジエチ ルアミン	ジイソプロピル エーテル+ MeOH+氷酢酸
噴霧試薬	UV 254nm	ドルフ試薬 ドラーゲン	ドルフ試薬 ドラーゲン

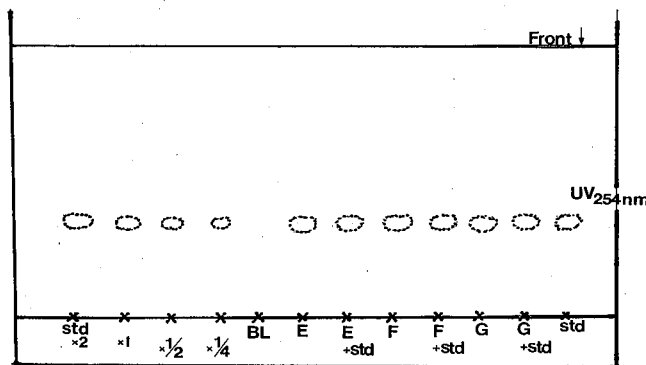


図2 代替溶媒によるTLC確認試験(医薬品E, F及びG)

ま と め

平成11年12月に制定された第13改正日局第二追補では, 残留溶媒試験法が一般試験法に, 医薬品中の残留溶媒ガイドラインや医薬品各条記載例などが参考情報として収載された²⁾。これにより, 医薬品の製造において有機溶媒の使用を避けたり, 医薬品中の残留値を規制することになる。また, 化粧品原料基準の一部改正では, ベ

ンゼンやクロロホルム, 四塩化炭素等を用いた試験方法がエタノールやヘキサン, 酢酸エチル, シクロヘキサン等を用いる試験方法に変わってきている³⁾。

このように, 試験検査においても有害試薬は可能なかぎり排除すべきであると考えられている社会状況の中, 昨年度の調査から県内の87%の医薬品製造所で有害といわれている試薬を試験検査に用いていること, しかし, 65%の製造所では有害試薬の低減化を目的に試験方法の変更を検討していないことがわかった。

今年度, 当スタッフの試みとして試験検査に用いる有機溶媒使用量の低減化を目的にHPLCカラムの長さや内径の変更, 試験方法のスケールダウンを検討した。また, 有害といわれている溶媒を用いないで試験検査ができるようTLCの代替溶媒についても検討した結果, 次のことが明らかとなった。

- 1) HPLCカラムの長さを短くすることにより, 移動相として用いる有機溶媒の量を減らすことが可能である。
- 2) HPLCカラムの内径を小さくすることは, 分離度や再現性等に問題があり, 充填剤の粒子径を検討する等他の要因を合わせて調べる必要があることが示唆された。
- 3) 試料溶液調製において溶媒を比較的多く用いる試験方法の場合, 希釈方法を検討することにより溶媒使用量を削減することが可能であった。
- 4) TLCに用いる抽出溶媒や展開溶媒について代替溶媒を検討することにより, 有害といわれている有機溶媒の使用を避けることが可能な場合がある。

当研究所は環境部の出先機関で, 平成10年度にISO14001の認証を取得した。そのため, 試験検査においても常に環境問題に十分配慮するとともに, 県内医薬品製造所が有害試薬を用いない試験方法の開発と指導を公的機関に求めていることを考え, 今後もこれらの問題に取り組んでいきたい。

参 考 文 献

- 1) 小和田和宏他: 医薬品等の試験検査に係る有害試薬の使用状況調査, 静岡県環境衛生科学研究所報告, 41, 29~34 (1999)
- 2) 厚生省: 第十三改正日本薬局方第二追補, 平成11年12月21日厚生省告示第248号 (1999)
- 3) 厚生省: 化粧品原料基準の一部改正, 平成11年8月6日厚生省告示第181号 (1999)

医薬品等の試験検査結果の信頼性を確保するために (第三報) —業務管理と内部クロスチェック—

医薬品生活部 医薬食品スタッフ 小和田和宏, 堀池あずさ, 馬 渕 博
上村慎子, 高橋 真, 坂根弓子
佐野智子, 永野隆夫, 中村信也

In order to Assure of Reliability for Analysis and Testing of Drugs etc (Part 3)
—Quality Control System and intra-laboratory Quality control—

Kazuhiro OWADA, Azusa HORIIKE, Hiroshi MABUCHI,
Mituko KAMIMURA, Makoto TAKAHASHI, Yumiko SAKANE,
Satoko SANO, Takao NAGANO, and Nobuya NAKAMURA

医薬品等の試験検査結果の信頼性を確保するため、平成7年度から業務管理の方法を検討してきた。これまでに試験品の受入れから試験成績書の発行に至る各作業の記録類、試験検査機器の校正検査手順書等を作成した。平成11年3月31日、静岡県が「医薬品等試験検査業務管理要領」を定めたことにより、これまでの各種記録類を標準作業書 (Standard Operation Procedure, 以下SOPと略す) という形で作成し直し、平成11年7月より業務管理の運用を開始した。また、クロスチェックによる試験検査担当者の内部精度管理にも着手し、試験検査結果の信頼性の確保、向上を目指している。

Key words : 医薬品, 試験検査, 信頼性, 業務管理, 内部クロスチェック
Drugs, Analysis and testing, Reliability, Quality control system,
Intra-laboratory quality control

業務管理をはじめた背景

1) 食品検査の業務管理

平成7年10月、EUに水産食品の輸出を希望する県内の認定加工場に対しEUの査察官が来静した。その際、査察官が県の試験検査機関の検査体制をみたいという希望があり、当所の食品試験検査部門を視察した。これに先立ち、厚生省の担当官が来所し、EU査察官のチェックポイント等を説明した。このときの説明によると、試験検査結果の信頼性を保証するという観点から、試験検査における組織体制や文書化された試験検査手順及び手順に従って実施された試験検査に関する記録類などが必

要とのことであった。

また、食品衛生法の一部改正により、平成9年4月、検疫所や地方自治体の食品衛生検査施設 (衛生研究所、保健所、食肉衛生検査所等) も試験検査業務の管理 (食品GLP) が義務付けられた。

2) 医薬品検査の業務管理

医薬品の試験検査における精度管理については厚生省や国立医薬品食品衛生研究所が中心となってガイドラインを作成するという情報があったが、未だに形にはなっていない。

当所では医薬品等の試験検査結果の信頼性を確保するため、平成7年度から独自に業務管理方法を検討し、これまでに試験品の受入れから試験成績書の発行に至る各作業の記録類¹⁾、試験検査に用いる計器や機器の校正手順書及び報告書^{2, 3)}、製造承認書等の内容検討のための議事録様式⁴⁾を作成した。

平成11年度からはこの試験品や試験検査機器などを取扱う試験検査担当者を対象とした内部精度管理にも取り組みはじめたので、それらの概要を紹介する。

静岡県精度管理委員会と医薬品部会の活動

平成9年6月、静岡県は保健所、食肉衛生検査所及び環境衛生科学研究所が行う試験検査について、体系的な精度管理を行うことにより、試験検査等の精度の信頼性を確保するとともに、試験検査技術の向上を図ることを目的に『検査等精度管理実施要綱』⁵⁾を定めた。この要綱の中に学識経験者や本庁室長、環境衛生科学研究所長等からなる『精度管理委員会』を設けることが示されており、その『検査等精度管理委員会設置運営要領』の中で専門部会を置くよう取り決められている。平成9年度には食品部会及び水道部会が、平成10年度には廃棄物部会及び医薬品部会が、そして、平成11年度には臨床検査部会が設置された。

医薬品部会では医薬品等試験検査業務管理要領及び各種SOPのモデルの作成作業を行った。また、医薬品等試験検査に従事する諸機関の分析精度や正確性の向上を図り、データの信頼性の確保に資することを目的に外部精度管理や外部講師による研修会を開催した。その結果、平成11年3月31日、『医薬品等試験検査業務管理要領』⁶⁾

が、平成11年6月には『医薬品等試験検査施設における試験検査等の業務管理』に係るSOPのモデルが作成された。

当所では平成11年6月25日、『試験品取扱標準作業書』、『医薬品等試験実施標準作業書』、『試薬等管理標準作業書』及び『機械器具保守管理標準作業書』を作成・承認し、平成11年7月1日から運用を開始した。さらに、平成11年6月25日『内部精度管理実施要領』を定め、試験検査結果の規格への適合性や結果の再現性に関する技能を評価し、試験検査担当者の技術レベルの維持、向上を図ることとした。当所における医薬品等試験検査業務管理に係る文書体系図を図1に示した。

各種SOPの食品GLPとの相違点

医薬品の試験検査における業務管理において作成したSOPは、基本的に食品GLPで求められている試験品取扱、試験実施、試薬等管理及び機械器具保守管理の各SOPである。このうち、食品GLPと大きく異なるのは、試験実施SOPの内容及び内部精度管理の実施方法である。

医薬品等の試験検査の場合、試験品が収去され、承認書が送付されて初めて該当品目の試験項目や方法、規格などの情報が入る。また、同じ成分が配合されていても、試験方法が必ずしも同一であるとは限らない。むしろ、製造業者によって試験方法が全く異なると考えた方が適当である。従って、試験実施SOPは食品検査のように予め作成しておくことができず、試験品や承認書を入手して初めて作成できるのである。この点に関しては、試験項目や試験方法、規格等をその都度、記録票に書き写し、他の試験検査担当者によるダブルチェックを受けて試験検査を実施する。また、試験検査実施後も、測定結果や計算の過程、報告値が正しいか、他の試験検査担当者に確認を受けるという体制をSOPに表現することで承認を受けた。

内部精度管理についてはいろいろな方法が考えられた。食品GLPにおける内部精度管理方法としては、標準添加による回収率の確認や複数回実施による再現性試験、試験品を用いないブランク測定等が行われている。

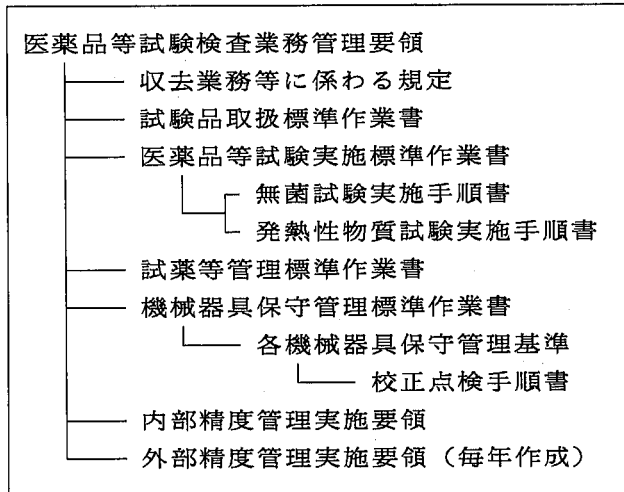


図1 業務管理に関する文書体系図

表1 内部精度管理実施状況（平成11年度）

試験品	医薬品1	医薬品2	医薬品3	医療用具	化粧品原料	部外品
剤型	軟カプセル	素錠	注射剤	カテーテル	粉末	液剤
項目	性状 確認（吸収極大） 重量偏差試験 崩壊試験 定量（HPLC）	確認（定色） 確認（炎色） 確認（TLC） 定量（吸光度）	性状 浸透圧比 不溶性異物 実重量偏差 溶状	吸光度	pH 定量（吸光度）	比重 定量（滴定）

表2 内部精度管理結果 (HPLC定量; 規格93~107%)

検査担当者	A	B	C	D
n = 1	100.2	99.2	99.0	99.2
n = 2	100.3	100.7	99.0	99.3
n = 3	99.8	100.7	99.5	99.8
n = 4	99.6	99.1	100.4	99.8
n = 5	100.0	100.0	99.9	99.8
n = 6	99.5	100.1	99.9	100.1
平均値	99.90	99.97	99.62	99.67
標準偏差	0.32	0.70	0.56	0.34
平均の平均値	99.79			
標準偏差	0.17			

医薬品の試験検査の場合、試験品は各工場均一性を保証されているものであり、有効成分の含量も承認書で規定されている。また、試験方法は分析法バリデーションを実施して作成されていることを考えたとき、複数の試験検査担当者のクロスチェック方式による技能評価の形がふさわしいと思われた。医薬品等製造所における新人教育においても、一定の研修の後、ベテラン職員や過去の実績等と試験検査結果を比較し、一人前と判断されるケースが多いようである。

内部精度管理の実施結果

平成11年度当所で行った内部精度管理の実施状況は表1のとおりである。また、HPLCの定量における内部精度管理結果の例を表2に示した。

試験検査担当者4名の報告値や標準偏差、平均値の平均値及び標準偏差等得られたデータを規格値と比較した。この例の場合、平均値は規格の中央付近にあり、標準偏差からみて規格範囲を逸脱する可能性はないと思われた。また、4名の平均値の差の検定を行ったところ、どの組み合わせをとっても有為な差は認められなかった。

表3 内部精度管理結果の評価 (HPLC定量・その2)

検査担当者		A	B	C	D
保持時間	I S	6.51	6.29	6.51	6.41
	主成分 (条件10分)	10.35	10.49	10.30	10.69
分離度	条件 (Rs 6 以上)	13.1	12.1	13.5	14.4
保持時間変動	I S	±0.01分	±0.01分	±0.02分	±0.01分
	主成分	±0.01分	±0.02分	±0.02分	±0.02分
面積比CV%	標準溶液	0.13%	0.80%	0.26%	0.15%
I S 平均面積	標準溶液	337,352	1,555,699	334,422	1,269,127
	試料溶液	337,992	1,551,501	332,965	1,264,144
I S 面積CV%	試料溶液	0.50%	0.69%	0.80%	0.47%
I S 面積比	試料溶液/標準溶液	100.2%	99.7%	99.6%	99.6%

さらに、HPLC法については、クロマトグラムから得られる保持時間やピーク面積等の情報から分離度や面積の比などを求めて、分析法の前処理の正しさとHPLC操作、手技などを評価することにした(表3)。主成分と内標準物質(I S)の保持時間と保持時間の変動の様子、分離度、標準溶液の面積比CV%等でHPLCの各種条件の設定や安定性が評価できる。また、試料溶液のI S面積のCV%では試料溶液調製時のピペッティング操作や希釈操作の良否が判断でき、試料溶液と標準溶液のI Sの面積比を算出することにより、内標準溶液の添加量の正確さがわかる。今回の調査では、4名とも良好な前処理及びHPLC操作を実施していたことがわかった。

吸光度測定による内部精度管理の結果を表4に示した。試験検査担当者4名の報告値や標準偏差、平均値の平均値及び標準偏差等得られたデータを規格値と比較した。平均値は規格の中央付近にあり、標準偏差も0.4%以下と良好であった。平均値の差の検定を行うと、A、Bの組み合わせ以外は危険率1%で統計処理上有為な差がでてしまうが、標準偏差の小ささからみて規格範囲を逸脱する可能性はないと思われる。吸光度測定において

表4 内部精度管理結果の評価 (吸光度; 規格95~105%)

検査担当者	A	B	C	D
n = 1	100.2	99.2	99.0	99.2
n = 1	99.6	99.4	102.5	100.3
n = 2	99.9	100.2	102.9	100.5
n = 3	100.4	99.7	103.1	100.5
n = 4	100.1	99.6	102.8	100.6
n = 5	100.2	100.3	102.5	100.6
平均値	100.04	99.84	102.76	100.50
標準偏差	0.30	0.39	0.26	0.12
平均の平均値	100.79			
標準偏差	1.35			
吸光度比較(Abs/mg)	0.001228	0.001245	0.001232	0.001239

は、秤量値に対する標準溶液の吸光度 (Abs/mg) を求めて、秤量から希釈、メスアップ操作の良否を判断することができる。4名の秤量値当たりの吸光度はほぼ一致し、操作は良好であったと推察できた。

ま と め

平成7年度より試行錯誤で取り組んできた業務管理を平成11年7月より正式に始めた。医薬品の収去検査は常に“プロ”である医薬品等製造所とクロスチェックを行っているようなものである。収去検査を行う以上、試験検査結果の信頼性を追究し、向上させることは、行政検査機関においても重要なことであると思われる。

また、複数の試験検査担当者によるクロスチェックを行う内部精度管理は誰が試験検査しても同様の結果を出せる、安心して結果を通知できる体制作りを目指したもののといえる。クロスチェックを行う上では、単なる結果の比較だけではなく、分析・測定の過程で試験検査担当者の手技がどの様に検査結果に影響するかを様々な側面から評価することが必要である。今回、秤量、ピペッティング、試薬調製や試験機器操作等による検査結果への影響を調べたが、この様なクロスチェックを行うことにより、試験検査担当者の技術の確認が可能となり、試験検査結果の信頼性確保の一助となるものと考えている。

参 考 文 献

- 1) 小和田和宏他：医薬品等の試験検査結果の信頼性を確保するために(第一報)－1st STEP 記録類の作成－静岡県環境衛生科学研究所報告, 39, 81-85(1997)
- 2) 内海 恵他：医薬品等の試験検査結果の信頼性を確保するために(第二報)－2nd STEP－校正検査手順書及び報告書の作成, 静岡県環境衛生科学研究所報告, 39, 87-91(1997)
- 3) 内田 恵他：医薬品(製剤)に特有な試験検査機器の点検・校正方法の検討, 静岡県環境衛生科学研究所報告, 40, 31-33(1998)
- 4) 内海 恵他：医薬品等の試験検査結果の信頼性を確保するために(第三報)－製造承認書等内容検討様式の作成, 第34回静岡県公衆衛生研究会抄録集, 3-4～3-5, 静岡(1998)
- 5) 静岡県健康福祉部長通知：医薬品等試験検査施設における試験検査等の業務管理について, 平成11年3月31日薬第1097号(1999)
- 6) 静岡県環境部長, 同健康福祉部長通知：検査等精度管理実施要綱, 平成9年6月24日水利第200号及び薬第490号(1997)

医薬品製造所における分析法のバリデーションの 標準的モデルの作成に関する研究

— その1 県内製造所を対象としたアンケート調査 —

医薬品生活部 医薬食品スタッフ 堀池あずさ, 馬 渕 博, 小和田和宏
上村慎子, 高橋 真, 坂根弓子
佐野智子, 永野隆夫

Study on Standard Model for Validation of Analytical Procedures at Drug Manufactures
— Step 1 Research of Opionaire for Validation to Drug Manufactures —

Azusa HORIKE, Hiroshi MABUCHI, Kazuhiro OWADA,
Mitsuko KAMIMURA, Makoto TAKAHASHI, Yumiko SAKANE,
Satoko SANO, and Takao NAGANO

優れた医薬品を開発し、迅速に患者に届けるという国際的ハーモナイゼーションの動きの中で、わが国においても、平成10年4月から新医薬品の承認申請時に「分析法バリデーション」に関する資料の添付が義務付けられた。医薬品の試験に用いられる分析法の信頼性は、今までも検討されてきたことであるが、通知により、これまでばらばらであった用語や定義の統一が図られ、評価方法に用いられる統計手法が示されるようになった。分析法のバリデーションの適切な実施の一助とするために、当スタッフでは標準的モデルの作成に関する研究に取組むこととし、まず初めに県内医薬品製造所におけるバリデーションの実施状況について調査を行ったところ、製造所によりその取組みには大きな差があり、また、大部分が具体的な事例の提示を望んでいることが明らかになった。

Key words : 分析法バリデーション, 分析能パラメータ, システム適合性試験, 教育訓練
Validation of analytical procedures, Validation characteristics, System suitability testing
Instruction and training

はじめに

分析法バリデーションの目的は、「医薬品の試験に用いられる分析法が使用される意図にふさわしいことを立証する」ことであり、言い換えると分析法由来の測定値の誤差をいかに小さくするかということになる。検討が必要な実施項目（分析能パラメータ）¹⁾及びその実施方法²⁾については、すでに通知が出されているが、バリデーションの具体的な手法や評価法については、医薬品や試験法の特性により異なるため一律の基準を決めることができない。

い。また、今後、後発医薬品や一般薬への適用も考えられるため、県内医薬品製造所の品質管理担当者から、日常の品質管理における試験方法のバリデーションに関する相談も増加している。

そこで、県内医薬品製造所を対象としたアンケート調査を実施し、バリデーションの取組みの実態を把握するとともに、アンケート調査結果から提起された分析法バリデーション等実施上の問題点をより明確にするため、製造所数社を訪問し担当者らから聞き取り調査を行ったので、その概要について報告する。

調 査 方 法

1 アンケート調査

調査期間：平成10年7月～9月

調査対象：静岡県内医薬品製造所68社（医療ガス除く）

回答：57社（回答率84%）

調査項目：

- 1) 新医薬品承認申請に関わる分析法バリデーション
- 2) 新医薬品以外の承認申請に関わる分析法バリデーション
- 3) 日常管理における試験法のバリデーション（システム適合性試験等）
- 4) 新規採用の試験担当者等に対する教育訓練

2 聞き取り調査

平成10年5月～6月 静岡県内外医薬品製造所6社

平成10年7月～12月 静岡県内医薬品製造所4社

結果及び考察

1 アンケート調査

1) 新医薬品承認申請に関わる分析法バリデーション

平成10年4月以降に新医薬品の承認申請をした製造所は4社（7%）、準備中が2社（3%）、SOP等作成は1社（2%）にとどまった（図1）。実施施設については、大半が本社・研究所等の開発部門であり、技術移管については当該製造所での実施がほとんどであった。

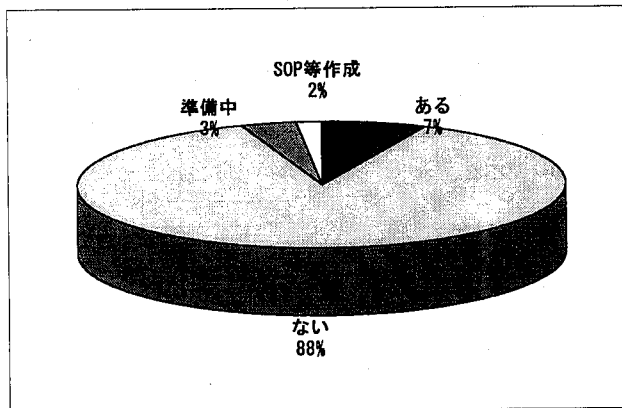


図1 平成10年4月以降に承認申請した新医薬品

室内再現精度の変更条件については、「日と人と機器」を変えているところが11社と最も多かったが、「その他」にあげられたものは「カラム」だけであった（図2）。

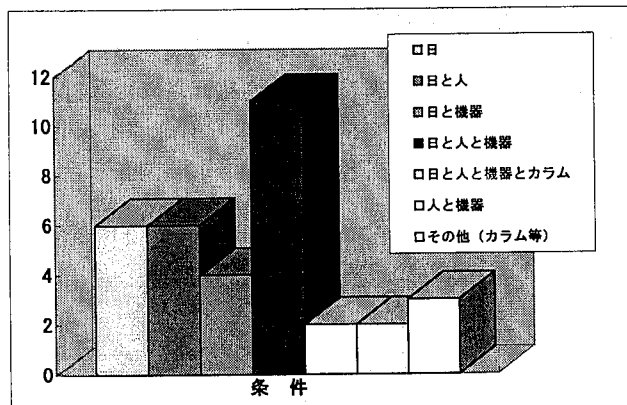


図2 室内再現精度の変更条件

長期に継続して行う品質管理試験という条件において、考えられる変動要因を検討した上で項目を決定することが重要である³⁾。また、「サンプル」を変えているというところがあったが、分析法にはサンプル誤差を持ち込まないようにするので、この変動は試験方法の頑健性としてとらえるべきであろう。

室間再現精度については、通知では薬局方収載時など、分析法の標準化が必要な場合以外はデータの記載を求めていることもあり、68%が必要ないと答えた。単に空間的な「試験室」の違いではなく、試験を行う目的、システムや教育方法等が全く異なる場合の変動と考えると、収去検査においては室間再現精度が重要になる。

真度、併行精度及び室内再現精度を効率的に検討できると奨励されている実験計画法³⁾については、検討中を含め、65%で実施している（すべき）と答えた。実験計画法については変動要因をどのように組み合わせ、その結果をどのように分析するかを計画して行うべきであり、個々の要因が相互に影響する（交互作用）場合に効果的であるといえる。実施上の問題点、苦慮している点として多かったのは、「具体的な方法が不明確であること」、「人、時間、経費がかかる」ということであった。そして、まさしく分析法バリデーションの理念である「自らの責任において設定の妥当性を示す」ことをあげているところもあり、適切な実施についてはかなり頭を悩ませていることがうかがえた。

2) 新医薬品以外の承認申請に関わる分析法バリデーション

主に代替試験法（別法）採用時の試験法のバリデーションについての設問である。実際に承認書を見ていると、機器や分析技術の進歩により、従来の承認書法では現状にそぐわないものもあり、このような場合に別法が添付されていることが多い。

規格試験において何らかの代替法を用いているところは、回答46社のうち36%で、項目では「定量法」が、変更部分では「試験法全体」としたところが最も多かった（図3）。変更の理由では、特異性や精度等の向上、有害

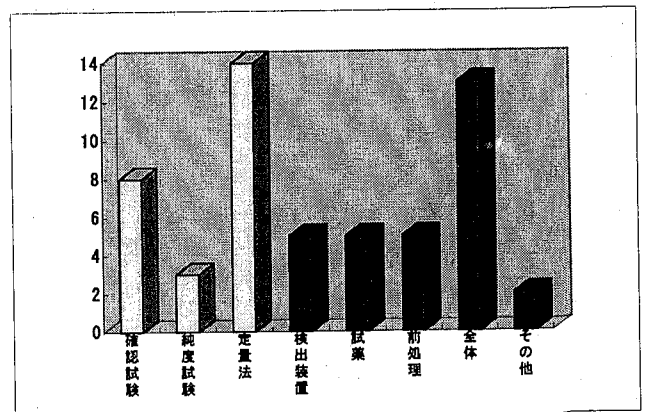


図3 代替法実施の試験項目及び変更部分

試薬の低減、効率化等があげられた。

試験法としての妥当性を確認するためのバリデーションについては、回答25社のうち71%が分析法バリデーションに準ずるとし、代替法として採用するかどうかの基準については60%で設定していた。

その統計手法としては、「承認書法より標準偏差が小さい（精度が高い）」と「二つの平均値の差の検定で有意差なし」が多く、一変申請を行わずに代替法として運用できることを明らかにしておくためと考えられる。主に真度及び精度について基準を設定しているが、特異性についての確認も必要ではないかと考えられる。一変申請予定は、「なし」が40%、「他の変更事項と同時に進行」としたのが36%であった。

3) 日常管理における試験法のバリデーション (システム適合性試験等)

通知では、システム適合性試験のパラメータを確認することにより日常の分析において分析法の妥当性が維持されていることを保証できるとある。また、日局一般試験法液体クロマトグラフ法にも、装置のシステム適合性試験が取り入れられるようになった⁴⁾。

試験の実施時期は、回答した40社のうち、「機器始動時または一分析毎」と答えたものが27社 (67%) あった。また、機器の使用頻度にもよるかと思われるが、システム適合性試験を定期点検的な位置付けと捉えているところも見られた。試験の対象となる機器は、HPLCとGCがほとんどで、HPLCの試験実施台数から、県内製造所の規模が中小から大規模に及んでいること及び医薬品の機器分析の主流がHPLCであることが明らかになった (図4)。

試験を実施している項目では、「分離度」、「シンメトリー係数」、「理論段数」等の日局に示されている項目が多かったが (図5)、中には各ユニットごとの点検校正の項目である「流量」、「圧力」、「ベースライン」等をあげているところもあり、システム適合性試験の概念を取り違えているものと考えられる。

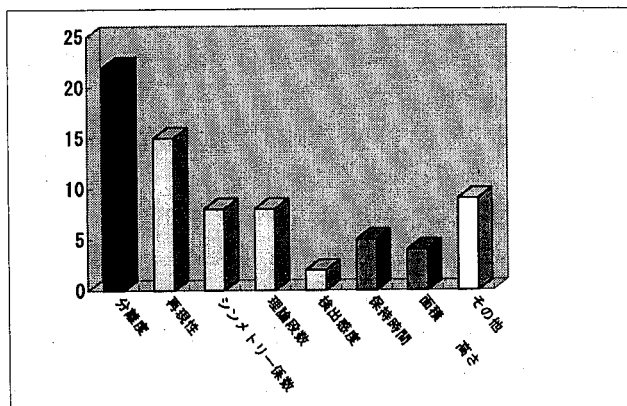


図5 システム適合性試験パラメータ例

不適の場合の対処法は、ほとんど同様の手順を踏んでおり、カラムや移動相を変えても改善されない場合は、機器に原因があるとし点検修理を行う。ここで大切なのは、使用不可を明記し、試験合格確認後に使用再開するといった手順をとることだと考えられる。

4) 新規採用の試験担当者等に対する教育訓練について

「人」の差は室内再現精度の変更条件にも組み込まれる要素であるが、検査者の技能、試験に対する理解力を同水準にするための教育訓練についてたずねた。

その結果、53社から回答があり、教育訓練実施時期で最も多いのは「採用時及び異動時」で、さらに定期的 (3か月、半年毎等) に実施しているところもあった (図6)。新規者に試験を担当させる基準については、特に設定していないと答えたのが50%あり、26%で基準を設定しているとのことであった。その統計的基準としては、「熟練者・実績値との比較で有意差がないこと」、「測定値やCV値の差が基準以内であること」等があげられた。他に、ISO9000シリーズの教育・訓練規定 (職場内教育 (OJT)) に準ずるとしたところもいくつか見受けられた。

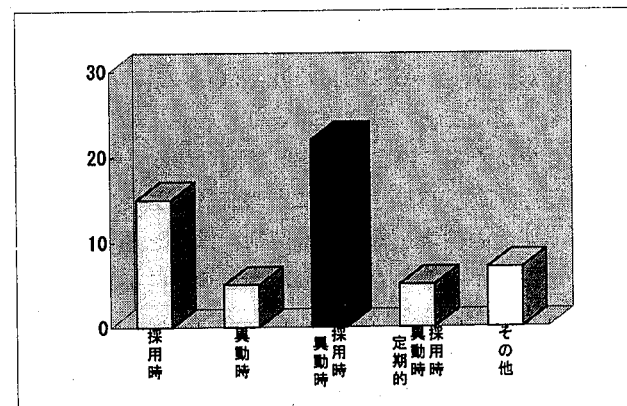


図6 教育訓練実施時期

2 聞き取り調査

アンケート調査をもとに、さらに詳しい状況を把握するために、分析法バリデーションに対する取組みの進ん

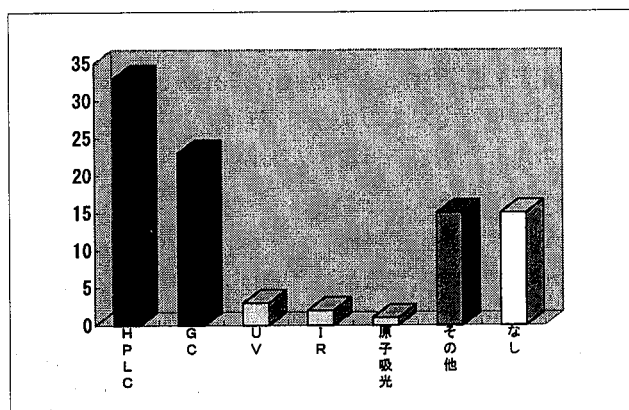


図4 システム適合性試験実施機器

でいると考えられる数か所の製造所を選び、各社からあげられた問題点について、申請事例やSOP等をもとに担当者らと討議を行った。

分析法バリデーションの検討は医薬品開発の各段階に深く関わるものであるため、研究所で示された案を製造所で作り直す作業を繰り返しながらすり合わせを行っている途中であったり、実際に申請事例があっても、まだ国内の他の製造所、海外の製造所との統一が図られていないなど体系的なバリデーション方法を調整中のところが多かった。

以下にアンケート調査及び聞き取り調査から提起された問題点について、パラメータ別に示した。

1) 特異性

①純度試験等において類縁物質（不純物）が入手不可能な場合の実施方法

実際に不純物等の標準品の確保は難しく、不純物は原則的に単離、構造決定して合成するが、合成できない場合は、試料を強制分解させて類縁物質が多く含まれていると思われる部分を使うということであった。

②特異性を分離度だけで評価できないか

分離度だけでは、ピークに他のものが入っていないという証明にはならないこともあるので、代表的なクロマトグラムで、妨害ピークのないことを示すのが一般的である。単一ピークの証明にはフォトダイオードアレイ、質量分析計等が有用である。

2) 直線性及び範囲

①水準数

少なくとも5水準の濃度を用いるとあるが、例えば不純物定量の時などは、範囲が狭いという理由から3点でもいいのではないかという意見が出された。直線を作成する上で「3点」という数を考えたとき、そのうちの1点が大きくはずれてしまうと大きな影響を受けることになり、ばらつきの少ないことを確認してあれば水準数よりも各点での繰り返し数を少なくするほうがよいと考えられる。

②y切片が0（ゼロ）を通ることの確認が必要であるか

y切片の検定を行うと、製剤では0を通らないことがあるとのことであったが、通知では示されておらず特に求める必要はないと考えられる。また分析法によっては0を通らないことが明らかなものもあり、その理由を明確にしておけばよいと考えられる。

3) 真度及び精度

①真度の信頼区間が100%を含まない場合の対応

真度は回収率で表されることが多く、信頼区間を記載することになっているが、この信頼区間が

100%を含まないことを問題点としているところが多く見られた。評価方法としては、真度（回収率）の許容範囲の中に信頼区間が入っていればよいと考えられるが、回収率と信頼区間の評価が分離し、信頼区間が100%を含まないことだけを問題にしているようである。100%を含まない原因としてはHPLC分析等の精度が向上していることが考えられるが、偏りの度合いが許容される程度で、規格の判定には誤りを生じることがないことを説明できれば問題にしないでよいのではないかと考えられる。申請に伴うデータということで肩に力が入りすぎると、適当なばらつきのない不自然なデータになってしまう傾向にあるという。

②精度の標準偏差の信頼区間の評価方法

精度については標準偏差の信頼区間を記載することになっており、評価方法については信頼区間の上限値がその分析法に要求される精度の基準の値以下であればよいと考えられるが、この「要求される精度」の設定には、含量規格値や規格幅を考慮しなければならない。E. Debesisらの「System及びMethodの妥当性の許容限度」の表（例えば、含量規格95~105%では相対標準偏差（R.S.D.）で1.9%）や⁶⁾、増井らの「例えば、相対標準偏差で併行精度±1%、室内再現精度±2%、室間再現精度±3%」という考え方⁶⁾等が示されているが、原薬のように規格幅が狭い場合には、上記の表ではかなり厳しくなること、反対に生薬のように広い場合でもただ大きくすればよいというわけではなく、実際の分析とのかねあいでのどのように設定するかが問題となるため、評価方法は難しいといえる。

③室内再現精度を実験計画法で行うにあたって

今回は実際に実験計画を立てている事例は見られず、実施していない理由としては、計画を立てる煩雑さよりも個々の影響を検討していくほうがむしろ早いということであった。室内再現精度の実施にあたっては、何が一番大きい変動要因であるかを考慮しなければならない。実験計画法はそれぞれの要因が相互に影響するような場合に有効な方法であり、室内再現精度でこのような交互作用が起こる要因がある場合、あるいは影響がわからない場合には実施すべきであろう。

4) 検出限界及び定量限界

検出限界及び定量限界は、純度試験における限度試験（検出限界）及び定量試験（定量限界）で必要となっているが、今回は定量法事例が多かったため、問題点はあまり出されなかったが、レスポンスの標準偏差と検量線の傾きに基づく方法（ $3.3 \times \sigma / S$ (slope) 等）

とS/N比（シグナル対ノイズ）を比較し、差がないことを確認した上で手間のかからないS/N比を採用したいとの意見があった。σやSを推定し計算や外挿によって求めた場合は、その濃度に調製したもので確認することが必要になる。また、S/N比では装置や使用状況により変化するノイズレベルを用いることから、この変動も考慮して検討すべきである。

5) 頑健性

①広範囲にわたる頑健性の検証で項目の漏れをなくすための工夫

測定値に誤差が生じる原因のうち、制御不可能な因による影響を分析法バリデーションで評価するとすれば、頑健性の検討は分析法開発段階において制御可能な因子の変動を把握するために行うものであるといえる。どの分析条件をどの程度変動させるかは、特に影響の大きいと考えられるもの、また、今までのデータから特殊な事例について検討するなど経験を生かすことが漏れをなくす工夫といえる。

②頑健性に関するデータ等、通知に明記されていないものについてどの程度まで添付すべきか

データについては、開発段階から蓄積してあるが、バリデーション用としてどのようにまとめるかが難しいようである。通知では、添付すべきデータとはされていないが、申請時の審査当局とのやりとりの中で提出を求められたときに示せるようにしておくことが必要であると考えられる。

6) システム適合性試験

試験への不適合を人による判定ではなく、試験指図書の中にテーリング係数、分離度、理論段数等を設定し、不適になると系統的にロックされる方法をとっているところもあった。また、海外からの査察において、開発時も日常管理においても行うべきことと指摘されるなど、HPLC法のシステム適合性試験の確立が重要であることがうかがえる。

7) その他

①クロマトグラフ法以外、動物や生物活性で行う試験の実施方法

今回示された事例はほとんどHPLC分析例であった。酵素反応や生物学的試験ではばらつきが大きく、たん白や高分子製剤ではどんなに注意をはらってもコントロールできない誤差があるとのことであった。今後は、このような事例についても積極的に収集していく必要がある。

②申請時データと日常管理の分析結果との差

研究所における「申請のための分析法バリデーション結果」とそれが移管されたあとの「日常管理に

おける分析結果」との間の変動までも考慮するのが真のバリデーションであるといえる。特に不純物等の重要なデータについてはその工場で保管するなどGMP的管理の徹底と、技術移管の際のバリデーションの検討が重要であると考えられる。

③新医薬品と一般医薬品でのバリデーション方法の違い 単成分と複合製剤の分析手法の違いがバリデーション方法にどのような影響を及ぼすか、今後、一般医薬品に適用されることを視野に入れて検討しているところがあった。

ま と め

県内製造所においては、本質をついた質問や、細部にわたる問題点を抱えているところから、通知内容、用語の定義からおぼつかないといったところまで、分析法バリデーションへの取組み、理解度にかかなりの差が見られた。また、大多数が実際のバリデーション事例や各パラメータの評価方法評価基準のガイドライン等が示されることを望んでおり、特に、効率的な実施のため工夫、例えば頑健性評価や室内再現精度等いくつも条件が考えられる要素についての実験計画法の具体的提示が求められていると考えられる。

今後の取組みとして、今回の調査から明らかになった問題点についてさらに検討を進めるとともに、地衛研と行政との連携を深めながら、分析法バリデーションの実施に役立つ事例集等を作成していきたいと考えている。

参 考 文 献

- 1) 分析法バリデーションに関するテキスト（実施項目）について：厚生省薬務局審査課長通知、薬審第755号（1995）
- 2) 分析法バリデーションに関するテキスト（実施方法）について：厚生省医薬安全局審査管理課長通知、医薬審第338号（1997）
- 3) 鹿庭なほ子：分析法バリデーション，第2回分析化学 東京シンポジウム，（社）日本分析化学会関東支部主催（1998）
- 4) 廣川書店：第十三改正日本薬局方解説書，東京（1996）
- 5) 岩上正藏：試験法点検のためのパラメータ(2)HPLCによる定量法を例にして，PHARM TECH JAPAN，12（6），779-786（1996）
- 6) 増井俊夫：GMPテクニカルレポート7 医薬品等の品質保証に係わる精度管理，薬業時報社，東京（1998）

医薬品製造所における分析法のバリデーションの 標準的モデルの作成に関する研究 —その2 分析法バリデーション事例集の作成—

医薬品生活部 医薬食品スタッフ 堀池あずさ, 馬淵 博, 小和田和宏
上村 慎子, 高橋 真, 坂根弓子
佐野智子, 永野隆夫

Study on Standard Model for Validation of Analytical Procedures at Drug Manufactures
—Step 2 Text of Validation of Analytical Procedures for Drug Manufactures—

Azusa HORIIKE, Hiroshi MABUCHI, Kazuhiro OWADA,
Mitsuko KAMIMURA, Makoto TAKAHASHI, Yumiko SAKANE,
Satoko SANNO, and Takao NAGANO

県内医薬品製造所を対象とした調査を行った結果, 具体的な分析法バリデーション事例の提示に対する要望が非常に大きいことがわかった。そこで, 次のステップとして, 実際の分析法のバリデーション事例を収集し冊子にまとめることとした。これを契機として, 製造所間あるいは製造所と行政との間での情報交換が活発になされることを期待したい。

Key words : 分析法バリデーション, 真度, 精度, 特異性, 直線性, 範囲, 検出限界, 定量限界
Validation of analytical procedures, Accuracy, Precision, Linearity, Range, Detection limit
Quantitation limit

はじめに

県内医薬品製造所の分析法のバリデーションに関する取組みについてアンケート調査等を行った結果, バリデーション方法の適切性や, 実施の程度についての悩みを抱えている製造所が多いことが明らかになった。

県内には大手製薬会社の工場が多く, 本社・研究所は少ないことから, 平成10年4月以降に承認申請した新医薬品は少なく, 通知に沿った分析法バリデーションの事例を目にする機会はほとんどない。しかし, 製造所に対する聞き取り調査等を行う中で, 新医薬品以外でも, 従来の分析法のバリデーションについて, 通知に準じた形での見直しを行っている製造所や, 事例はなくても実施

手順書(SOP)を作成している製造所もかなりあることがわかった。

本県では平成9年から薬務課(現薬事指導室), 県製薬協会主催の「バリデーション基準運用ガイドライン検討会」を発足させ, 今までに7冊の事例集を発行した。

そこで, この検討会を通じて県内製造所の協力を依頼したところ, 11社から14事例の提供があった。必ずしも通知に沿った形とはなっていないものもあるが, 早急に実際の事例が提示される必要性を痛感したことから, 事例集として作成したのでその概要について報告する。

テキストの構成と事例の概要

14事例のうち, 洗浄バリデーションに関する分析法のバリデーションは, 検討会の本年度のテーマが洗浄バリデーションであることから除外し, 12事例を収載した。

はじめに, 「分析法バリデーションについて」として, 通知に示されている分析法バリデーションの実施項目及び実施内容をまとめた^{1) - 6)}。

新医薬品の承認申請事例はないが、ほぼ通知に準じた形の8事例について「分析法バリデーション事例」とした。実施手順書（SOP）のみの事例が1例、また、試験法の種類では定量法5例のうち、HPLC法が4例、GCが1例であった。また、含量均一性試験及び純度試験がそれぞれ1例ずつで、ともにHPLC事例である。確認試験事例は無かったが、検討が必要なパラメータは特異性の

みであり、定量法にも含まれるものである。

その他に、測定機器の更新や変更に伴うバリデーション、一部変更承認申請時の定量法及び溶出試験法の検討、漢方エキス製剤の事例を「変更時等のバリデーション事例」としてまとめた。それぞれの事例で検討しているパラメータは（表1）のとおりである。

事例集作成にあたり、事例ごとに収載する方法の他に、

表1 事例内容及び実施項目一覧

試験法のタイプ	分析能パラメータ							
	真 度	精 度	特 異 性	直 線 性	範 囲	検 出 限 界	定 量 限 界	頑 健 性
1 分析法バリデーション事例								
1) 事例1 実施手順書（SOP）	○	○	○	○		○	○	○
2) 事例2 錠剤の定量法（HPLC法）	○	○	○	○				
3) 事例3 錠剤の純度試験（HPLC法）			○			○	○	
4) 事例4 注射剤の定量法（HPLC法）	○	○	○	○				
5) 事例5 錠剤の含量均一性試験（HPLC法）	○	○	○	○				
6) 事例6 製剤の定量法（GC法）	○	○	○	○				
7) 事例7 生薬中の成分の定量法（HPLC法）	○	○	○	○				○
8) 事例8 製剤の定量法（HPLC法）	○	○	○	○				
2 変更時等の分析法バリデーション事例								
9) 事例9 測定機器の更新	○	○	○	○				
10) 事例10 測定機器の変更	○	○	○	○				
11) 事例11 試験方法変更（溶出試験及び定量法）	○	○	○	○				
12) 事例12 試験方法変更（漢方エキス製剤の定量法）	○	○	○	○				

表2 事例ごとの一覧表 (例)

事例2 錠剤の定量法 (HPLC法)

パラメータ	実施方法	評価方法	実施結果 (例)	評価水準		
真 度	添加回収試験	個々の回収率	99.7~100.5%	98.0~102.0%		
	3 濃度80,100,120%	全体の回収率の平均値	100.1%	98.5~101.5%		
	3 回繰り返し	真度	0.1			
		真度の95%信頼区間	$-0.02 < \mu < 0.31$	0を含む		
精 度 併 行 室内再現	1 濃度 (100%)	平均値	99.0%	2.0%以下		
	6 回繰り返し	標準偏差	0.39			
		相対標準偏差	0.4%			
	4 試験条件	各条件の	平均値	98.5~99.9%		
	2 試験日				標準偏差	0.17~0.39
	2 試験者				相対標準偏差	0.17~0.40%
	1 濃度 (100%)	全体の	標準偏差	0.32	2.00%以下	
	6 回繰り返し	相対標準偏差	0.33%			
		標準偏差の90%信頼区間	$0.248 \leq \sigma \leq 0.422$ 試験日, 試験者による差を認めない			
	特異性	試料溶解液, 主薬溶液, 内標準溶液, 添加剤溶液, 標準溶液 につき, それぞれ試験	クロマトグラムの観察	妨害ピークがない ことを確認	主薬及び内標準物の 保持時間に妨害ピークを認めない	
主薬と内標準物質との 分離度			19.6	1.5以上		
直線性	最小二乗法 縦軸: ピーク面積比 横軸: 濃度 5 点 (80,90,100,110,120%) 3 回繰り返し	毎回の	0.99997~0.99999 $y=0.01446x$ -0.00108 1.07×10^{-6} ほぼ原点を通る	0.999以上		
		相関係数				
		y 切片				
		回帰直線の傾き				
		残差平方和				
範 囲	80~120%					

表3 パラメータ別の一覧表 (例)

事例1 真度

No.	試験の種類	実施方法	評価方法	実施結果, 評価基準等
1	定量法 HPLC法	添加回収試験 3濃度 (80,100,120%) 3回繰り返し (併行精度と同データ)	個々の回収率 回収率の平均値 (n=9) 標準偏差 相対標準偏差 回収率の95%信頼区間	100%を含む
2	定量法 滴定法	添加回収試験 3濃度 (80,100,120%) 3回繰り返し (併行精度と同データ)	個々の回収率 回収率の平均値 (n=9) 標準偏差 相対標準偏差 回収率の95%信頼区間	100%を含む
3	定量法 HPLC法 (承認書法と迅速 分析法の比較)	添加回収試験 3濃度 (90,100,110%) 3回繰り返し	個々の回収率 回収率の平均値 標準偏差 承認書法の平均値を真値と した真度の95%信頼区間	承認書法の平均値 (n=0) を 含む
4	定量法 HPLC法	添加回収試験 5濃度 (80,90,100,110,120%) 3回繰り返し	個々の回収率 回収率の平均値 回収率の95%信頼区	98.0~102.0%
5	定量法 HPLC法	添加回収試験 3濃度 (80,100,120%) 3回繰り返し (併行精度と同データ)	個々の回収率 回収率の平均値 (n=9) 標準偏差 相対標準偏差 回収率の95%信頼区間	100%を含む
6	定量法 HPLC法	添加回収試験 3濃度 (80,100,120%) 3回繰り返し	各濃度の 平均回収率	99~101%
7	溶出試験	添加回収試験 3濃度 (50,100,120%) 3回繰り返し (併行精度と同データ)	個々の回収率 回収率の平均値 (n=9) 標準偏差 相対標準偏差 真度の95%信頼区間	0を含む

パラメータ別にまとめる方法も案として出されたことから、各事例にはパラメータ、実施方法、評価方法、評価基準の一覧表を添付し、実施内容を簡単に比較できるようにした(表2)。評価基準については必ずしも設定しているわけではないが、基準値に大きな違いは見られなかった。

また「その他の事例」として、実施内容(データ)を収載できなかったものについて、真度、精度、特異性、直線性及び範囲のパラメータ別にまとめたものを添付した(表3)。

今回提供された事例のほとんどがHPLC分析事例であったが、医薬品の定量試験ではHPLC法が大部分を占めていることから、各社の手法を比較検討することにより、標準モデルの作成に役立つと考えられる。今後は事例の少なかった純度試験や確認試験、また、HPLC以外の機器による分析法についても事例を収集し、検討を進めていきたい。

ま と め

本事例集(頁数232頁)は、薬事指導室と連名で「分析法バリデーション事例集」として平成12年3月に発行した。これを450部製本し、薬事指導室を通じ厚生省医薬安全局監視指導課、全国の都道府県薬務主管課及び県内各保健所の各保健所の薬事監視員、また県製薬協会から各会員に配布するとともに、当所からは国立医薬品食品衛生研究所、国立公衆衛生院、全国薬事指導協議会に所属する地方衛生研究所等に送付した。

最近の動向として、国立医薬品食品衛生研究所の鹿庭なほ子先生が実験計画法について詳細な検討内容を報告しており^{8), 9)}、効率的な実験計画の実施が推進されるものと考えられる。また、他県でも富山県が「GMP実施助言モデル事業」の一環として「分析法バリデーション分科会報告集」を作成するなど⁷⁾、全国的にも分析法バリデーションへの関心が高まっている。

本県においても、本年度の医薬品等品質管理研修会で「日常の品質管理における試験法のバリデーション」というテーマで事例発表及び自由討論を行ったところ、80余名の参加者があり活発な意見交換や質疑応答がなされ、研究開発部門のみならず、工場の品質管理部門すな

わち日常管理における試験法のバリデーションが非常に重要であるという意識の向上が感じられた。

分析法のバリデーションに関するアンケート調査から1年以上経過し、県内製造所の取組みはまたそれぞれ進歩していると考えられる。先進的に取組んでいる製造所においては、本事例集に収載された他社の方法と比較することで、またこれから取組む製造所においては、自社の実情にあった事例を参考とすることで、試験の分析法の信頼性を高め、医薬品の品質管理に役立ててほしいと考えている。

参 考 文 献

- 1) 廣川書店：第十三改正日本薬局方解説書，東京(1996)
- 2) 分析法バリデーションに関するテキスト(実施項目)について：厚生省薬務局審査課長通知，薬審第755号(1995)
- 3) 分析法バリデーションに関するテキスト(実施方法)について：厚生省医薬安全局審査管理課長通知，医薬審第338号(1997)
- 4) 新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドラインについて：厚生省薬務局審査課長通知，薬審第877号(1995)
- 5) 鹿庭なほ子：新薬の規格の中の試験法に用いられる分析法のバリデーション，PHARM TECH JAPAN, 13(10), 1403-1413(1997)
- 6) 小嶋茂雄：ICH(医薬品承認審査ハーモナイゼーション国際会議)の動向，AOAC INTERNATIONAL 日本セクション第2回総会・シンポジウム，(1999)
- 7) 富山県薬事研究・分析部会：分析法バリデーション分科会報告集，(1999)
- 8) 鹿庭なほ子他：医薬品の分析法の真度および精度を評価するための実験計画①，PHARM TECH JAPAN, 16(2), 7-15(2000)
- 9) 鹿庭なほ子他：医薬品の分析法の真度および精度を評価するための実験計画②，PHARM TECH JAPAN, 16(3), 33-57(2000)

医薬品溶出試験の規格等に関する検討 (第一報) —問題点の把握とその対応—

医薬品生活部 医薬食品スタッフ 馬 渕 博, 堀池あずさ, 小和田和宏
佐野智子, 永野隆夫
国立公衆衛生院 森川 馨

Study on the Standard of Durg Dissolution Testing (Part 1) — Confirmation of Issues —

Hiroshi MABUCHI, Azusa HORIKE, Kazuhiro OWADA,
Satoko SANO, Takao NAGANO, and Kaoru MORIKAWA

我々は、医療用後発医薬品の再評価事業に10の地衛研の一つとして参加し、製剤の種類によって溶出試験の結果にバラツキが生じることを経験した。本試験は結果に影響を及ぼす変動要因の多いことが知られており、今回、バラツキの少ない再現性の良い結果を得るためにはどのような取り組みが必要かを検討した。フィルムコート錠等を用いて、分析条件の違いによるバラツキの変化を調べた。変動要因として、試験液の液性、パドル回転数、試料の落下位置を検討した。試験液に水を用いた場合、pHにより溶出率に差が認められ、水を用いる場合の液性に注意する必要がある。また試料の落下位置の違いによって溶出率に差が認められ、パドル回転数を上げることによりこの差を抑えることができた。バラツキを認める測定結果が得られる場合は、各々の製剤の有効性、安全性、製剤特性の観点から、その製剤の品質を適切に評価できる試験方法を設定することが必要であると考えた。

Key Words : 溶出試験, 医薬品再評価, 医薬品の試験精度

Dissolution tests, Reevaluation of drugs, Precision of drug tests

はじめに

医薬品の品質は、その有効性・安全性に留意した上で管理されなければならない。医療用後発医薬品の中には、銘柄やロットによって生物学的同等性が確保されていないものがあると考えられている。このため厚生省は、平成10年度よりこれら医薬品の品質を溶出試験により再評価する事業を開始した。

当所は他の9都府県の地方衛生研究所と共に医療用後発医薬品の品質再評価事業に参加し¹⁾、溶出試験の規格策定等に関する検討を行っている。この事業の推進により、先発品と同等の品質が保たれかつ薬価の低い後発医

薬品の普及がなされるならば、保険医療財政の健全化にも貢献できると思われる。

一方、溶出試験は結果に影響を及ぼす変動要因の多いことが知られており²⁾、当所においても、いくつかの疑問点が認められた。具体的には、分析開始後、長時間経過の後も溶出率が100%に達しない事例や素錠では結果にバラツキが生じないものの、フィルムコート錠やカプセル剤などではバラツキを認めることが多かった。分析結果に対する信頼性確保の必要性を痛感している。

今回、溶出試験の疑問点を検討し得られるデータの信頼性を向上させることにより、再評価事業に対して可能な限り積極的に協力するとともに、製薬メーカーにおける品質管理の一助としたい。

(〒420-8637, 静岡市北安東4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-andō, Shizuoka, 420-8637, Japan)

実 験 方 法

1 溶出試験の概要

溶出試験は、内用固形製剤からの主成分の溶出を試験する方法で、試験装置で分類すると、回転バスケット法、パドル法及びフロースルーセル法の3方法が規定されている。³⁾

(図1)に最も汎用されているパドル法の試験装置を示す。パドル法では、医薬品ごとに規定された試験液を容器に取り、液温を $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に保つ。試料一個をベッセル内底の中心部に沈めた後、直ちに規定の回転数で試験を始め、一定時間後に試験液を採取して定量し、表示量に対する溶出率を算出する。

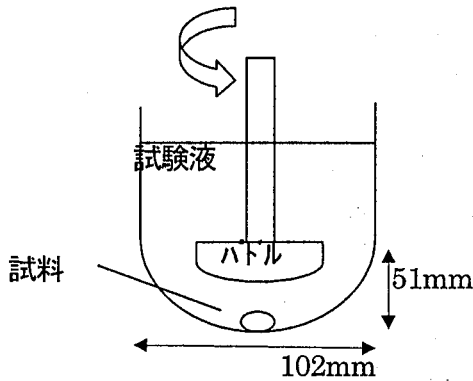


図1 パドル法の試験装置

2 実験方法

試験結果に影響を及ぼすと考えられる試験条件である試験液の液性、パドル回転数及びベッセル中の試料の位置について、これを変動させ、試験結果への影響を検討した。

1) 試験液の液性の検討

試験液である水のpHをpH=6, 7, 8と変動させ試験した。

2) パドル回転数の検討

パドル回転数を40,45,50,55,60回転と変動させ試験した。

3) 試料の落下位置の検討

本来試料はベッセル内底の中心部に沈めた後試験するとされているが、試料をベッセル上部より落下させるため、必ずしも容器中心に落下するとは限らない。そこで試料がベッセルの任意の位置(ベッセルの中心点とその地点から2cm離れた地点の2ヶ所)に落下したと仮定し、その2ヶ所に試料とする錠剤の一面を瞬間接着剤で接着して試験した。

併せて、この2ヶ所に接着した状態で、パドル回転数を変化させた。

結果及び考察

1 試験液の液性について

アテノロール錠を用いて液性を変えて試験した。いずれの液性においても規格(溶出率70%以上)を満たしていた。また、pHを酸性側へ変化させると平均溶出率が上昇するとともに、バラツキは少なくなった(表1)。これはこの医薬品が弱塩基性化合物のため、pHを低下させると溶解度が上昇し、溶出率が高くなりバラツキも減少させるためと考えられる(図2)。

また試験器の適正運転のためには、水のpHにより結果に影響を及ぼす可能性があることを念頭に置き、定期的に試験用水を試験し、品質を確認することが必要と考えられる。

2 パドル回転数について

アテノロール錠を用いてパドル回転数を変化させて試験した。パドル回転数を上昇させると平均溶出率が上昇した(表2)。回転数を上げ、機械的な刺激を増すことにより、溶出は促進されたものと考えられる。

表1 試験液の液性による溶出率への影響

(Apparatus;Paddle-50rpm, Time;30min, Successful standard ;over the limits of 70%)

Test-Liquid	Dissolution percent						Mean	S.D.
	Vessel No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6		
Water pH=6	94.0	90.1	95.4	88.8	90.2	87.0	90.9	3.18
Water pH=7	86.8	89.3	90.1	84.0	93.9	90.2	89.1	3.36
Water pH=8	78.8	85.5	94.0	86.0	75.2	90.3	85.0	7.00

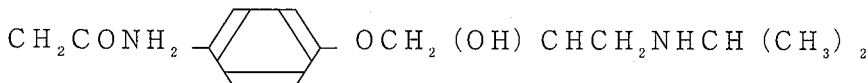


図2 Atenolol

Solubility (g/ml)

pH4.0:0.07, pH6.8:0.02

表2 パドル回転数による溶出率への影響
(Apparatus;Paddle, Test-Liquid;Water,Time;30min)

Paddle-rpm	Dissolution percent						Mean	S.D.
	Vessel No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6		
40	61.9	74.1	81.8	73.4	79.4	68.2	73.1	7.29
45	81.9	76.4	95.0	82.4	85.9	85.3	84.5	6.16
50	85.7	88.4	90.8	77.0	83.2	88.3	85.6	4.94
55	93.3	85.3	94.4	92.4	97.8	94.4	92.9	4.16
60	101.1	103.6	94.2	100.3	102.4	102.8	100.7	3.41

表3 試料の落下位置による溶出率への影響
(Apparatus;Paddle, Test-Liquid;Water)

Subjects	Paddle-rpm	Mean-Dissolution percent ± S.E. (n)		Difference (p=0.05)
		Center	Apart from Center (2cm)	
Atenorol	50	78.8 ± 1.78 (8)	89.4 ± 0.57 (8)	Significant
Atenorol	55	86.1 ± 2.76 (5)	96.6 ± 1.67 (5)	Significant
Atenorol	60	94.7 ± 0.82 (5)	97.9 ± 1.21 (5)	Not- Significant
Minocycline	50	95.6 ± 0.88 (3)	105.6 ± 0.99 (3)	Significant

また、より緩和な条件の方がバラツキは大きくなったが、同じことがpHの測定結果からも言える。試験条件の設定には、より溶出が緩和になる条件の方が製剤間の差を検出できるという考え方が示されているが⁴⁾、緩和な条件ではバラツキが大きくなることありうることに留意すべきであろう。

3 試料の落下位置について

アテノロール錠及びミノサイクリン錠を用いて検討した。いずれの医薬品においても、落下位置により溶出率に影響のあることが認められた。すなわち2cm離れた位置に置いた場合、ベッセルの壁に近づくに従い試験液の流速が高まるため、溶出率が高くなったと推測される(表3)。

また、「試験のバラツキ」は次の式により与えられると考えられる。

「試験のバラツキ」

$$= \text{「製剤のバラツキ」} + \text{「分析のバラツキ」}$$

溶出試験は破壊試験で繰り返して行うことができないため、「試験のバラツキ」を「製剤のバラツキ」と「分析のバラツキ」とに明確に区別することができない。我々が求めているのは「製剤のバラツキ」であるから「分析のバラツキ」を最小とした上で「試験のバラツキ」を測定すべきである。

今、試料の落下位置という「分析のバラツキ」により「試験のバラツキ」が大きくなったので、「分析のバラツキ」を少なくすることを考えた。アテノロール錠について、2ヶ所に接着した状態で、パドル回転数を上昇させた。55回転では依然、溶出率に差が認められたものの、60回転では差が認められなかった(表3)。このことは、パドル回転数を60回転にすることにより、試料の落下位置に由来する「分析のバラツキ」を解消し、「試験のバラツキ」を抑えることができたものと考えられる。

ただし、60回転にすることにより、製剤間の差の検出力が失われては無意味となる。そこで改めてアテノロー

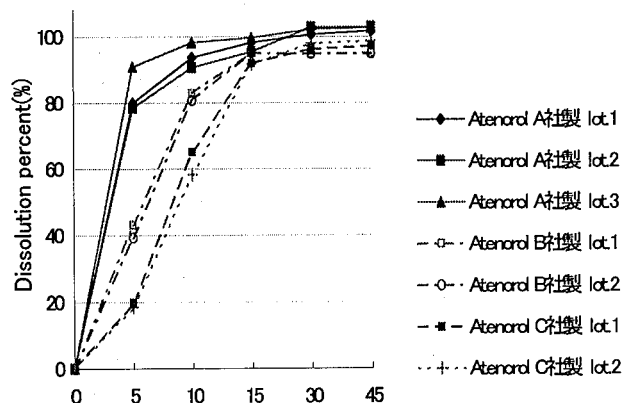


図3 Release Profiles of Atenorol Tablets
(Apparatus;Paddle-60rpm, Test-Liquid;Water,)

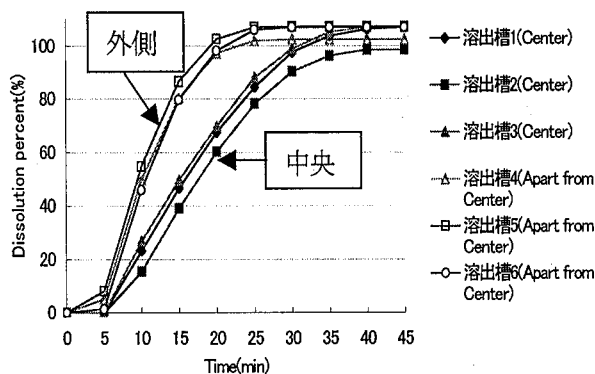


図4 Release Profiles of Minocycline HCl Tablets (Apparatus;Paddle-50rpm, Test-Liquid;Water,)

ル錠の3銘柄7製剤について、60回転で溶出挙動を調べたところ、製剤間、特に銘柄間の差を確認することができた(図3)。アテノロール錠の試験条件は、パドル法50回転と規定されているが、60回転でも試験条件の設定が可能と思われる。

溶出試験に関するガイドライン⁵⁾では、50回転が第一選択とされている。従って50回転で試験し、その結果問題が生じなければ50回転を採用するであろう。しかし、今回の事例のように結果に問題を認める場合は、個々の医薬品の製剤特性を考慮して、試験条件を設定することが重要である。多種多様な医薬品に対して画一的に50回転を設定することは困難と思われる。

また、ミノサイクリン錠について試料を2ヶ所に接着した状態で試験した。溶出の立ち上がり時に、試料の落下位置が影響していた(図4)。

複数点で試験規格を設定する必要がある徐放性製剤では、試料の落下位置による試験結果のバラツキも考慮した上で規格を設定する必要があると考えられる。

なお、今回試験したミノサイクリン錠は速放性製剤であり、30分で溶出率が100%に達していたため、落下位置による影響は少ないと思われる。

ま と め

溶出試験条件を設定するためには、試験法の科学的妥当性を得た上で、個々の医薬品の製剤特性を考慮し有効性や安全性の適切な評価ができる条件設定が重要であると思われる。

また今回の検討により、行政上の適否判定に用いる我々の試験成績の信頼性を向上することができたと考える。

謝 辞

本研究を行うにあたり、貴重なご指導、ご助言を頂きました国立公衆衛生院衛生薬学部森川馨先生に深謝いたします。

参 考 文 献

- 1) 平成10年度医療用後発医薬品再評価品質規格策定事業委託費の交付について：平成10年6月9日付医薬発第531号
- 2) 鹿庭なほ子：試験室共同実験による溶出試験結果の変動性の研究，医薬品研究，28(7)，505-511(1997)
- 3) 第十三改正日本薬局方第二追補：平成11年12月21日付厚生省告示第248号
- 4) 財団法人日本公定書協会：日本薬局方技術情報，167-171，薬業時報社，東京(1998)
- 5) 後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドラインについて：平成9年12月22日付医薬審発第487号

リサイクル商品の品質に関する研究

医薬品生活部 生活科学スタッフ 山口善三郎, 影山知子, 菅野尚子,
中村和光, 永野隆夫

Study on Quality of Recycled Products

Zenzaburō YAMAGUCHI, Tomoko KAGEYAMA, Naoko KANNO, Kazumitsu NAKAMURA,
and Takao NAGANO

ペットボトル再生繊維製品及び再生紙製品について品質, 使い勝手の比較テストを行った。リペットボトル再生繊維及び通常繊維製のワイシャツ類計6検体を対象に, 20回繰返し洗濯した後の吸水速度, 防しわ率, 変退色, 染色堅牢度, 引裂き強さ等を新品時と比較し, また, 光による変退色試験を行った結果, 両製品に品質上の差は見られないことがわかった。9名のモニターを対象にした試着テストの結果においても両製品に大きな違いはなかった。²⁾国内再生紙製, 純パルプ製及びドイツ再生紙製トイレットペーパーについて, 坪量, ほぐれやすさ, 破裂強度, 吸水度等の品質比較試験を行った結果, 国内再生紙品は純パルプ品に比べて, 吸水度以外の項目は同等に近い品質を有していた。39名のモニターを対象にした使用テストでは, 純パルプ品に比べて同等あるいはそれ以上の評価が得られた再生紙品があり, 特にダブルタイプ再生紙品は良いと評価する人が多かった。ドイツ製品は品質, 使用感ともに国内品に比べ低い評価であった。

Key words: リサイクル商品, ペットボトル, 再生繊維, トイレットペーパー, 再生紙
Recycled products, PET bottle, Recycled textures, Toilet paper, Recycled paper

はじめに

近年, 省資源, 環境保護に対する意識の高まりとともに, 資源の有効活用を図ることが社会的課題となっている。このような状況から, 数多くのリサイクル商品が市販されるようになってきているが, 一般消費者にとってはこれらの商品に関する情報が乏しく, あまり普及が図られていないのが現状である。

そこで, リサイクル商品の普及促進を図ることを目的として, ペットボトル再生繊維製品及びトイレットペーパーについて品質, 使い勝手等の比較テストを行い, 一般消費者に有効な情報を提供することとした。

静岡県環境衛生科学研究所
(〒420-8637, 静岡市北安東4-27-2)
Shizuoka Institute of Environment and Hygiene
(4-27-2, Kita-andō, Shizuoka, 420-8637, Japan)

調査方法

1 実施時期

1998年12月~2000年3月

2 テスト対象品目

- 1) ペットボトル再生繊維製ワイシャツ類 (以下, 再生品) 4 銘柄及び通常繊維製ワイシャツ類 (以下, 通常品) 2 銘柄の合計 6 銘柄 (表 1)。
- 2) 使用原料が明らかな再生紙品 8 銘柄, 純パルプ品 2 銘柄及びドイツ製再生紙品 3 銘柄の合計 13 銘柄 (表 2)。

3 テスト項目及び方法

1) ワイシャツ類

①耐洗濯性試験

「JIS L 0217 繊維製品の取扱いに関する表示記号及びその表示方法 洗い方番号103」により20回繰返し洗濯を行った後, 下記, ア)~ク)の項目について新品時との比較テストを行った。

- ア) 外観
しわ、縫製状態等の外観を目視により判定した。
- イ) 収縮率
着丈、袖丈、ユキ丈、肩幅及び胸幅の収縮率を測定した。
- ウ) 吸水速度
JIS L 1096 一般織物試験方法 6.26.1 吸水速度 B法 (パイレック法)
- エ) 防しわ性
JIS L 1059 織物の防しわ性試験方法
- オ) 摩耗強度
JIS L 1096 一般織物試験方法 6.17.1 A-1法 (ユニバーサル形法, 平面法)
- カ) 引裂き強度
JIS L 1096 一般織物試験方法 6.15.5 D法 (ベンジュラム法)
- キ) 変退色
色差計 (CM-2002型 ミノルタ(株)製) を用いて変色度及び退色度を測定した。
- ク) 染色堅ろう度

「JIS L 0844 洗濯に対する染色堅牢度試験方法」を用い、酸性汗及びアルカリ性汗に対する染色堅ろう度を測定した。

②耐光試験
耐光試験機 (島津サンテスタ XF-180CPS 島津製作所製) を用いて401W/m²の光を20及び40時間照射したのちの変退色度を測定した。

③モニターによる試着テスト
当所職員等9名が再生繊維製品 (No.1) 及び通常繊維製品 (No.4) の2銘柄を夏期2.5ヶ月間着用し、着心地、吸汗感、型くずれ等の比較テストを行った。

2) トイレットペーパー

- ①品質試験
 - ア) 坪量
JIS P 8124に示す方法
 - イ) ほぐれやすさ
JIS P 4501 4.5に示す方法 (県富士工業技術センターにおいて測定)
 - ウ) 破裂強さ

表1 ワイシャツ類検体一覧

No	組成	原産国	加工	価格 (円)	備考
1	ポリエステル50%, 綿50%	中国	形態安定	2,900	再生品
2	ポリエステル50%, 綿50%	日本	形態安定	3,900	再生品
3	ポリエステル50%, 綿50%	中国	無	2,900	再生品
4	ポリエステル50%, 綿30%, 麻20%	中国	形態安定	2,900	再生品
5	ポリエステル50%, 綿50%	日本	形態安定	2,900	通常品
6	綿60%, ポリエステル40%	日本	形態安定	3,900	通常品

表2 トイレットペーパー検体一覧

No	分類	原料	タイプ	家庭用品品質表示法		その他の主な表示内容
				寸法	表示者名, 住所	
1	パルプ	パルプ100%	S	114mm×60m	有	蛍光染料使用無, 温水洗浄器適
2	再生紙	上質紙100%	S	114mm×65m	有	JIS・エコマーク, 無漂白, 地球にやさしい再生紙
3	再生紙	オフオス紙60% 牛乳パック30% 上ケント紙10%	S	114m×130m	有	エコ・グリーンマーク, 牛乳パック再利用商品
4	再生紙	雑古紙100%	S	114m×130m	有	エコ・グリーンマーク, 牛乳パック再利用商品
5	再生紙	雑古紙100%	S	114mm×65m	有	エコマーク, 雑古紙100%, 完全無漂白
6	パルプ	パルプ100%	W	114mm×30m	有	蛍光染料使用無, 温水洗浄器適
7	再生紙	新聞紙40% 一般上質紙60%	W	114m×32.5m	有	エコマーク, 新聞古紙再利用
8	再生紙	一般上質紙100%	W	114mm×30m	有	エコマーク, 無漂白, 再生紙100%
9	再生紙	雑古紙100%	W	114mm×30m	有	エコ・グリーンマーク,
10	再生紙	牛乳パック100%	W	114mm×45m	有	牛乳パック100%, 蛍光染料使用無
11	再生紙	(再生紙100%)	S	-	-	-
12	再生紙	(再生紙100%)	S	-	-	-
13	再生紙	(再生紙100%)	W	-	-	-

注1) No1~10は国内製品, No11~13はドイツ製品 注2) S: シングルタイプ, W: ダブルタイプ

JIS P 8112に示す方法（県富士工業技術センターにおいて測定）。

エ) ハンター白色度

JIS P 8123に示す方法（県富士工業技術センターにおいて測定）。

オ) 吸水度

JIS P 8141に示す方法

カ) 引張り強度及び引張り長さ

検体を縦（巻取り）方向に11.4cmの長さに切り取り、クリープメーター測定装置（CR-200D型 サン科学製）を用いて、縦方向の引張り強度及び引張り長さを測定した。ダブルタイプは1枚ずつ別々に測定し、平均した値を測定値とした。

キ) 細菌数および大腸菌群数試験

国内製品10銘柄を対象に、巻き初めから5mまでを取り除いたのち、ハサミで中央部を無菌的に5g採取する。これに生理食塩水45mlを加え、30秒間混合した後、ろ液1mlを採取する。標準寒天培地及びデゾキシコレート培地を用いて35±1℃の条件下で培養し、菌の発育状況を観察した。

②モニターによる使用テスト

当所職員及びその家族等39名にシングル及びダブルタイプ別に国内品5銘柄ずつを各家庭で実際に使用してもらい比較テストを行った。

③価格等の市場調査

2000年3月に静岡及び焼津市内のスーパー、ホームセンター等8店舗において販売されていた製品の種類、価格を調査した。

結果及び考察

1 ワイシャツ類

①耐洗濯性試験（表3）

ア) 外観、収縮率

6銘柄すべての製品で外観上目立った変化は見られず、袖丈、着丈、ユキ丈、肩幅および胸幅にも大きな収縮や伸びは見られなかった。

イ) 吸水速度、防しわ率

銘柄による大きな差は見られなかったが、いずれの銘柄も新品時に比べ吸水速度が大きくなり、逆に、防しわ率は低下する傾向が見られた。

ウ) 摩耗強度、引裂き強度

No.5（通常品）以外の5銘柄は20回洗濯後、約1割程度の摩耗強度の低下が見られた。また、再生品（No.1～4）と通常品（No.6）とでは低下率の違いは見られなかった。No.3（再生品）は他の5銘柄に比べて新品時、20回洗濯後のいずれにおいても2倍以上の摩擦強度を示した。

引裂き強度については、No.5は20回洗濯後に4割程度の低下が見られたが、他の5銘柄はほとんど変化が見られなかった。

エ) 変退色、染色堅ろう度

No.2（再生品）は20回洗濯後においても4～5等級と6検体の中で最も変退色が見られなかった。No.3（再生品）及びNo.5（通常品）は変退色しやすく、特にNo.3は5回の洗濯後でも明らかな変退色が見られた。

染色堅ろう度（汗によって変色や退色、あるいは他の白物を汚染しないか）をテストしたところ、6銘柄とも全く問題は見られなかった。

②耐光試験（表3）

No.1（再生品）及びNo.6（通常品）は40時間照射後でもほとんど変退色が見られず、光に安定であった。

表3 耐洗濯性試験及び耐光試験結果

No	新品時と20回洗濯後の品質比較テスト											光による変退色	
	外観	収縮率	吸水速度 (mm/10min)		防しわ率 (%)		摩耗強度 (回)	引裂き強度 (kgf)		変退色 (等級)	染色堅ろう度	20時間 (等級)	40時間 (等級)
			縦	横	縦	横		縦	横				
1	◎	◎	62	46	84	82	36	1.2	1.9	3-4	◎	5	4-5
			77	62	83	71	33	1.3	1.9				
2	○	◎	15	1	86	85	46	1.0	1.4	4-5	◎	2-3	2
			44	31	82	80	41	0.9	1.4				
3	○	◎	44	35	83	79	95	0.9	1.0	1-2	◎	5	3
			95	79	74	72	88	0.7	1.0				
4	◎	◎	25	38	84	85	34	0.8	1.0	3-4	-	3-4	3
			56	39	81	68	31	0.7	0.9				
5	◎	◎	43	41	77	77	34	1.0	1.3	2-3	-	2-3	0-1
			54	48	69	71	44	0.6	0.7				
6	◎	◎	38	20	89	88	38	0.5	0.8	3-4	◎	4-5	4
			45	29	81	76	34	0.6	0.8				

注1) ◎：変化なし、○：わずかに変化 注2) 表中の数値（上段：新品時の値、下段：20回洗濯時の値）

注3) 防しわ率 (%) の数値は生地を表側と裏側の各測定値を平均した値

注4) 変退色試験の等級は、値が小さいほど変退色していることを示し、4級まではほとんど変退色がないと評価できる

逆にNo.2（再生品）及びNo.5（通常品）は20時間後でも変退色が見られ、特に、No.5は光に対して弱くことがわかった。

③モニターによる使用テスト

モニター9名による試着の結果、再生繊維の方が着心地が堅くごわごわ感を感じる、吸汗性が劣るという少数の意見は見られたが、大部分のモニターは両製品に品質上の差は感じないとの結果であった。

2 トイレットペーパー

①品質試験

ア) 坪量 (表4)

坪量とは1㎡あたりの重さをgで表したもので、値が大きいほど重くなる。国内品ではダブルタイプに比べ、シングルタイプの方が大きい値を示した。シングルタイプ純パルプ品 (No.1) は、再生紙品4銘柄 (No.2~5) の平均値よりも大きかったが、ダブルタイプの場合には逆に純パルプ品 (No.6) に比べ、再生紙品4銘柄 (No.7~10) の平均値の方が大きかった。JIS規格では18g/㎡以上との基準値が定められているが、JIS規格品であるNo.2を含む7銘柄がこの基準値を満たしていた。

一方、ドイツ製シングルタイプ2銘柄 (No.11, 12) は30g/㎡前後の非常に大きい値で、国内品と比較すると非常に重くゴワゴワ感が強かった。

イ) ほぐれやすさ (表4)

純パルプ品 (No.1, 6) 及び一般上質紙や牛乳パックなどグレードの高い原料を使用した再生紙品 (No.2, 8, 10) は非常にほぐれやすく、また製品化がむずかしいとされる新聞紙を原料にしたNo.7もほぐれやすかった。雑古紙100%を原料としたNo.5, 9やオフィス紙等を原料にしたNo.3はほぐれに

くい傾向が見られたが、国内品10銘柄はすべてJIS規格基準値「100秒以内にほぐれること」を満たしており、使用するうえで問題はないと思われる。

一方、ドイツ製3銘柄はいずれも100秒以上かかり、特にNo.11, 12は300秒でもほぐれなかった。これら2銘柄は水洗便器からの配水管や浄化槽などの機能を阻害する可能性も考えられる。

ウ) 破裂強さ (表4)

すべての銘柄がJIS規格基準値 (78kpa以上) を上まわっていた。純パルプ品2銘柄および国内再生紙品8銘柄の平均値に差は見られなかった。シングルタイプ5銘柄 (No.1~5) とダブルタイプ5銘柄 (No.6~10) とを比べると、シングルタイプの方が大きい値を示した。雑古紙100%を原料にしたNo.5, 9の2銘柄は他の銘柄に比べて低い値であり、オフィス紙等を原料としたNo.3は国内品の中では最も高い値を示した。

一方、ドイツ製シングルタイプ (No.11, 12) は国内品に比べ、倍以上の破裂強さを示し、非常に丈夫であることがわかった。

エ) ハンター白色度 (表4)

純パルプ品2銘柄 (No.1, 6) 及び牛乳パック100%を原料にした再生紙品 (No.10) は約90%と大きい白色度を示した。他の再生紙品7銘柄の平均白色度は74.5%で、なかでも雑古紙を原料としたNo.5, 9は特に小さな値を示した。

一方、ドイツ製品3銘柄の平均値は51.8%と、新聞紙の白色度 (52~56%) 以下で、特にNo.12は38.8%と非常に小さい値で、灰色の強い製品であった。

オ) 吸水度 (図1-1, 1-2)

国内品の場合、縦 (巻取り) 方向および横 (紙幅) 方向ともに純パルプ品に比べ再生紙品は吸水性が悪かった。シングルタイプでは雑古紙100%を原料にしたNo.4, 5が、ダブルタイプでは一般上質紙を原料にしたNo.8が低く、原料のグレードと吸水度の大小にはあまり相関性は見られなかった。また、ダブルタイプの場合、純パルプ品、再生紙品ともに1枚時に比べ2枚重ねた時の吸水度は2~3倍高い値を示した。一方、ドイツ製3銘柄は国内再生紙品よりも吸水度が低いことがわかった。

カ) 引張り強度及び引張り長さ (図2-1, 2-2)

紙等を原料としたNo.3、一般上質紙を原料にした2銘柄 (No.2, 8) 及びドイツ製3銘柄 (No.11~13) は大きな引張り強度を示したが、逆に引張り長さは小さく、他の銘柄に比べ伸びにくく切るのに大きな力が必要であった。一方、原料のグレードが

表4 坪量, ほぐれやすさ, 破裂強さ, 白色度試験結果

No	坪量 (g/㎡)	ほぐれやすさ (秒)	破裂強さ (kpa)	白色度 (%)
1	21.6	32	115	88.0
2	21.1	21	112	79.3
3	19.7	54	141	75.6
4	19.1	38	106	78.3
5	18.9	44	80.1	67.9
6	17.1	15	93.5	90.2
7	18.0	25	96.0	72.9
8	17.7	16	97.0	78.1
9	18.3	56	79.6	69.4
10	15.9	26	96.1	90.5
11	29.6	>300	205	52.1
12	30.5	>300	238	38.8
13	17.3	133	116	64.5

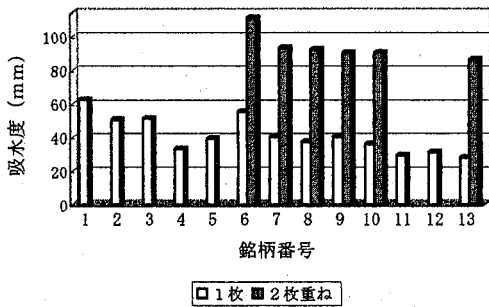


図1-1 吸水度 (縦)

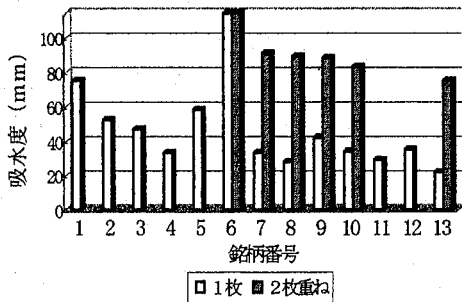


図1-2 吸水度 (横)

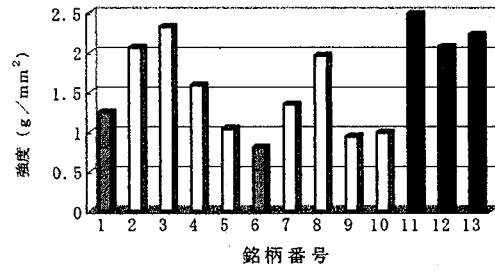


図2-1 引張り強度

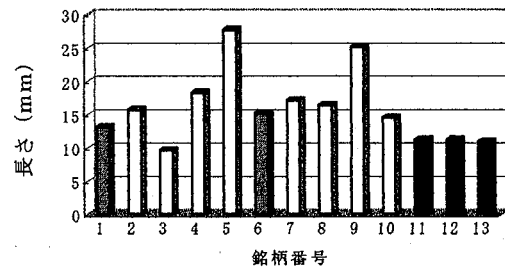


図2-2 引張り長さ

低い雑古紙100%を原料としたNo.5, 9は引張り強度は小さかったが、引っ張り長さは大きく非常に伸びやすかった。

キ) 細菌数および大腸菌群数試験

テストの結果、国内品10銘柄のいずれも一般細菌

の発育は認められず、大腸菌群も陰性であった。

②モニターによる使用テスト (表5)

39名 (男性17人, 女性22人) のモニターを対象に使い勝手の比較テストを行った結果、シングルタイプではNo.1の純パルプ品が最も評価が高かったが、雑

表5 モニターによる使用テスト結果 (国内品: 男女合計39人分を集計)

(単位: 人)

項目	評価	シングルタイプ					ダブルタイプ				
		No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	No.7	No.8	No.9	No.10
ふきとり	良い	24	11	10	14	14	24	17	17	15	26
	普通	6	18	19	12	18	10	17	16	17	8
	悪い	2	3	3	6	0	0	0	1	2	0
吸水性	良い	22	14	9	13	14	25	13	15	11	26
	普通	15	25	26	22	23	8	21	18	21	8
	悪い	2	0	4	4	2	1	0	1	2	0
破れにくさ	良い	23	10	14	12	12	18	13	19	13	22
	普通	14	22	22	15	21	15	18	11	20	11
	悪い	2	7	3	12	6	1	3	4	1	1
引出し易さ	良い	17	12	15	10	11	18	16	17	14	20
	普通	21	26	15	18	23	16	16	16	19	14
	悪い	1	1	9	11	5	0	2	1	1	0
切離し易さ	良い	25	19	16	5	15	25	17	19	18	22
	普通	13	17	15	15	16	9	11	14	13	12
	悪い	1	3	8	19	8	0	6	1	3	0
白さ	良い	20	20	19	20	22	13	16	13	16	16
	白すぎる	5	0	3	3	0	7	1	4	1	5
	黒すぎる	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
	こだわらない	14	19	16	16	17	14	17	17	16	13
柔らかさ	良い	35	25	26	25	35	31	31	24	25	33
	柔らかすぎる	4	9	1	4	2	2	2	3	4	1
	かたすぎる	0	5	12	10	2	1	1	7	5	0
総合評価	良い	28	11	11	11	16	25	11	16	10	28
	普通	11	22	21	15	20	9	23	16	21	6
	悪い	0	6	7	13	3	0	0	2	3	0
今後使用したいかどうか	したい	24	13	15	16	24	31	25	20	22	32
	したくない	8	19	17	16	8	3	9	14	12	2

古紙100%を原料にしたNo.5も好評で、「今後使用したいかどうか」との問いに対しては、No.1と同じ評価が得られた。ダブルタイプでは牛乳パック100%を原料にしたNo.10が最も評価が高かったが、他の再生紙品3銘柄（No.7～9）の評価も高く、いずれの製品もシングルタイプに比べて相対的に高い評価であった。

一方、6名のモニターを対象に実施したドイツ製3銘柄については、「かたすぎる」、「黒すぎる」と評価した人が多く、「今後使用したくない」との回答が多く、日本製品のトイレットペーパーを使いなれている人にとっては使用感が良くないと感じられることがわかった。

③価格等の市場調査

スーパー、ホームセンター等8店舗において販売されていたトイレットペーパーは合計38ブランド、76銘柄、108品であった（同一製品が別の店舗で販売されていた場合、1銘柄、2品と計上）。純パルプ品が11ブランド、30銘柄、54品で、再生紙品が27ブランド、46銘柄、54品であり、ブランド数、銘柄数ともに再生紙品の方が多く販売されていた。

10mあたりの販売価格は2.8～16.6円と6倍程度の開きがあり、再生紙品および純パルプ品の平均価格はそれぞれ4.3円、7.6円と、再生紙品は純パルプ品に比べ半値近い価格であった。

ま と め

ペットボトル再生繊維を使用したワイシャツ類と通常のワイシャツ類との品質比較試験及びモニターによる試着試験を行った結果、両者にほとんど差は見られなかった。国民生活センター等においてジャケット、ブルゾン等を対象にして実施された比較テストにおいても同様の結果が報告されている^{1), 2)}。

回収されたペットボトルの約70%は再生品化されているが、作業着や制服等、自治体や企業向けの販売が中心

で、個人向け商品は少なく、一般消費者が購入しにくいのが現状である。ペットボトルからポリエステル繊維を再生する場合、キャップ、PET以外のボトル等の不純物を、製造工程でいかに取り除くかが重要なカギとなっており、このことが再生コストに大きく影響を及ぼすと言われている。従って、今後、より高品質で安価なペットボトルリサイクル商品の普及を図るためには、メーカーのより積極的な製品化と同時に、一般消費者の正しい分別回収の実践が重要と考えられる。

一方、再生紙を利用したトイレットペーパーは他県の消費生活センターの調査結果^{3), 4), 5)}と同様、今回の調査結果においても、一定以上の品質を持ち、その使用感も純パルプ品に比べて遜色なく、市場調査の結果、価格は純パルプ品の半分以下であることがわかった。また、ドイツの再生紙品に比べはるかに高品質で使いやすかった。

環境保護・資源保護の観点から、今後資源のリサイクル化をより一層進めていくためには、単にペットボトルや紙等の回収に取り組むだけではなく、再製品化されたものを積極的に利用していくことが非常に重要であると思われる。

最後に、本研究の実施にあたり、多大なご協力を頂いた県富士工業技術センター並びに当所微生物部食品微生物スタッフの皆様に深謝いたします。

参 考 文 献

- 1) たしかな目 11, 6-16, 国民生活センター (1996)
- 2) 平成10年度試買テスト結果「再生衣料品」：岐阜県消費生活センター (1998年7月)
- 3) 平成10年3月「リサイクル実態調査」に関する報告書、石川県生活科学センター (1998年3月)
- 4) 平成10年度東北・北海道共同試買テスト「トイレットペーパー」、福島県消費生活センター (1998)
- 5) 平成10年度東北・北海道共同試買テスト「トイレットペーパー」、北海道消費生活センター (1998)

静岡県における特別用途食品の動向及び品質に関する研究

医薬品生活部 生活科学スタッフ 中村和光, 影山知子, 菅野尚子
山口善三郎, 永野隆夫

Condition of Consumption of Foods for Special Dietary Uses in Daily Life and their Quality Level

Kazumitsu NAKAMURA, Tomoko KAGEYAMA, Naoko KANNO,
Zenzaburō YAMAGUCHI, and Takao NAGANO

1996年から導入された特別用途食品に関する市場調査, アンケート調査及び特別用途食品の中の低カロリー食品である卓上用甘味料の分析を行った。これら特別用途食品は病院などでは広く利用されているが, 一般的には粉ミルク程度しか認知されていない。通常の卓上用甘味料においては, 標榜した機能が発揮されない場合もあり, 食味テストにおいて味の面から従来品と差異を感じやすいという意見もあった。アンケートから, 病院関係者や消費者はこれら特別用途食品の効果の情報を求めており, 今後正しい情報を迅速に伝えていく必要がある。

Key words : 特別用途食品, 特定保健用食品, 卓上用甘味料

Approval on foods for special dietary uses, Approval on foods for specified health uses,
Table sugar

はじめに

最近, 健康への関心の高さを反映して, 様々な機能を標榜して販売されている食品が増えている。コーヒーや紅茶に入れる卓上用甘味料もその一つであり, 糖アルコールなどを使用した低カロリーの製品やオリゴ糖を使用しておなかの調子を整える製品なども販売されている。これら特別用途食品は, 大別すると①病者用食品(低ナトリウム食品, 低カロリー食品, 低たんぱく質食品, 高たんぱく質食品, アレルゲン除去食品, 無乳糖食品), ②病者用組み合わせ食品(減塩食調整用組み合わせ食品, 糖尿病食調整用組み合わせ食品, 肝臓病食調整用組み合わせ食品, 成人肥満症食調整用組み合わせ食品), ③妊産婦・授乳婦用粉乳, ④乳児用調整粉乳, ⑤高齢者用食品(そしゃく困

難者用食品, そしゃく・えん下困難者用食品), ⑥特定保健用食品に分かれる。これらが, 実際に静岡県下でどの程度認知され利用されているか, 一般消費者と病院関係者にアンケートを実施した。また, 卓上用甘味料を分析し, 表示と差がないか, 従来品との食味の差はないかどうか調査した。

調査方法

- 1 実施時期
1998年9月～2000年1月
- 2 調査内容
 - 1) 市場での販売状況の実態調査
 - 2) 一般県民を対象にした意識調査
 - 3) 卓上用甘味料の分析
 - 4) 病院関係者などを対象にした意識調査

結果および考察

- 1 市場での販売状況の実態調査
出回っている特別用途食品(調査対象: スーパー等 6

店、薬局6店、健康食品取扱店7店)を調査した結果を表1に示す。

表1 特別用途食品の買える場所

種類	商品数	販売店		
		スーパー	薬局	健康食品取扱店
低ナトリウム食品	5	◎	○	○
低カロリー甘味料	5	◎	◎	
調理用低カロリー油脂	1	◎	○	
妊産婦・授乳婦用粉乳	1		◎	
乳児用調整粉乳	4		◎	
無乳糖食品	3		◎	
乳酸菌類を含む食品	7	◎	◎	
食物繊維類を含む食品	2	○	○	
成人肥満症食組合せ食品	1		○	
その他の特定保健用食品	2	◎	◎	

◎6店のうち4~6店置いてあった

○6店のうち1~2店しか置いていなかった

低ナトリウム食品のうち、減塩しょうゆ(4銘柄)は6店舗中すべてのスーパーで販売されていたが、低ナトリウム食塩(1銘柄)は1店舗でしか販売されていなかった(薬局で1店舗販売されていた)。

低カロリー甘味料(5銘柄)は、すべてのスーパー、薬局で販売されていた。また、調理用低カロリー油脂(1銘柄)は、ほとんどのスーパーで販売されていたが、薬局で販売しているのは1店舗だけであった。

妊産婦・授乳婦用粉乳(1銘柄)、乳児用調整粉乳(4銘柄)および無乳糖食品(3銘柄)はすべての薬局で販売されていた。

乳酸菌類を含む食品(7銘柄)は、すべてのスーパー、ほとんどの薬局で販売されていたが、食物繊維類を含む食品(2銘柄)を販売している店舗は半数程度であった。

健康食品を主に扱う店では、こうした特別用途食品はほとんど販売されておらず、減塩しょうゆ、オリゴ糖類の食品が7店舗中2店舗で販売されているのみであった。

病者用組合せ食品のうち糖尿病食調整用組合せ食品が宅配により、250(R社)~2500(T社)食/週(県内)利用されていた。成人肥満症食調整用組合せ食品(1銘柄)が、1店舗薬局で販売されていた。

類似の表示物に、HACCP(厚生大臣承認)JHFA(栄養補助食品)、OCIA認定(アメリカ)、AI(無農薬)、健康食品、特殊栄養食品などがあった。

2 一般県民を対象にした意識調査

実施時期：平成10年9月上旬

対象：静岡県消費生活モニター200人

結果：178人(回収率89%)から回答を得た。約9割の人が特別用途食品を知っており、最も知られていたのは乳児用調整粉乳で、以下妊産婦・授産婦用粉乳、病者用食品の順であった。今までに利用したことのある人は134人(75.3%)で乳児用調整粉乳が最も利用されており、以下妊産婦・授産婦用粉乳、特定保健用食品の順であった。利用した結果、半数の人が漠然と効果があったと感じていたが残りの半数はあまり効果を感じていなかった。

1) 特別用途食品の認知度について

9割の人が特別用途食品を知っており、一番知られている食品は乳児用調整粉乳で、以下妊産婦・授産婦用粉乳、病者用食品の順であった。

次に、特別用途食品特有の商品への効果の表示をみたことがあるかを尋ねたところ、「おなかの調子を整える」、「虫歯の原因になりにくい」、「ミネラルの吸収を助ける」の表示は半数以上の人が見たことがあるとの回答であった。

また、特別用途食品について4割強の人が実際の商品で、2割強の人が商品の広告で知ったことがわかった。

2) 特別用途食品の利用状況について

今までに特別用途食品を利用したことのある人は134人(75.3%)で、利用した食品としては乳児用調整粉乳が最も多く、次いで妊産婦・授産婦用粉乳、特定保健用食品の順であった。

また、特別用途食品であるかどうかは判らないものの、何らかの効果が記載されている、あるいは特別用途食品のマークが表示されている食品を利用したことのある人が約3割いた。

購入先は一般の食料品店と薬局やドラッグストアが同数に近く、これらでほぼ100%を占めた。

利用に際しては7割の人が効果を期待していたが、実際に利用した結果、半数の人が漠然と効果があったととらえているものの、残りの半数はあまり効果を感じていないようであった。

3) 特別用途食品を利用しない理由について

特別用途食品を利用していない人にその理由を尋ねたところ、「普通の食品と変わらない思うから」が最も多く、次いで「近くで売っていない」、「値段が高い」の順であった。

また、今後利用するかどうかとの質問に対しては、利用するかどうかかわからない人が最も多く、次いで場合によっては利用したいとの回答が続いた。

3 特定保健用食品(乳果オリゴ糖等)、病者用食品(低カロリー甘味料等)の分析

対象商品：静岡市内のスーパーやデパート等で販売さ

れていた病者用食品（低カロリー甘味料等）5検体，特定保健用食品（乳果オリゴ糖等）2検体，参考品2検体（表2）

1) 内容成分

表3に内容成分の検査結果を示した。栄養表示基準では，原材料の内容量が記載されている場合，糖質の場合その分析値との誤差は±20%以内とされているが，No.4以外の8検体はこの基準を満たしていた。

表2 特定保健用食品（乳果オリゴ糖等），病者用食品（低カロリー甘味料等）検体一覧表

No	原材料 (除く香料, 着色料)	内容量	購入価格(円)	100g当 りの価格 (円)	1回 使用量 (g)	1回使用量 当たりの 価格(円)	商品の特徴として表示されている事項
1	粉末還元麦芽糖水飴	10g× 24包	700	292	6	18	病者用食品,低カロリー甘味料, 血糖値を上げる原因にならない, インシュリン分泌刺激しない, 太る原因にならない, お口にやさしく菌の健康を守る
2	D-ソルビトール, サッカリン ナトリウム, グリチルリチン	400g	750	188	3	6	栄養成分(糖質)調整用甘味料
3	エリスリトール ラカンカエキス	330g	900	273	7.5	21	病者用食品, ノンカロリー甘味食品, 肥満症や糖尿病などでカロリー摂取制限を必要とする方に適した食品, 甘さは砂糖の80%
4	還元麦芽糖水飴 サッカリンナトリウム	500g	880	176	6.5	11	病者用食品, 低カロリー甘味料, 虫菌の原因にならず血糖値を上げない性質
5	エリスリトール, ラカンカエキス, ステビアエキス, キサンタンガム	10g× 10個	258	258	13	34	病者用食品, カロリー摂取制限を必要とする方に適した甘味料
6	乳果オリゴ糖	300g	488	163	13	21	特定保健用食品, ビフィズス菌を増やす, カロリーは砂糖の1/3
7	フラクトオリゴ糖シロップ, 乳酸ナ トリウム, アスコルビン酸ナトリウ ム, 乳酸, アスコルビン酸	15g× 30本	1500	333	13	43	特定保健用食品, ビフィズス菌を増やしおなかの調子良好, カロリーは砂糖の27%減
8	グラニュー糖	6g× 100本	288	48	6	3	(参考品)
9	キシリトール アスパルテーム	1.6g× 30本	388	808	1.6	13	(参考品)

表3 内容量分析結果

No	分析成分	表示内容量 (%)	分析値 (%)	表示量に対す る分析値の割 合 (%)	表示糖質量 (%)	表示糖質量に 対する分析値 の割合 (%)
1	粉末還元麦芽糖水飴	100	95.4	95.4	99.5	95.9
2	D-ソルビトール	99.58	93.5	93.9	99	94.4
	サッカリンナトリウム	0.27	0.26	96.3		
3	エリスリトール	99.5	98.2	98.7	99.7	98.5
4	粉末還元麦芽糖水飴	99.45	56.0	56.3	74.8	75.3
	サッカリンナトリウム	0.55	0.54	98.2		
5	エリスリトール		17.4		17.2	101.2
6	乳果オリゴ糖 乳糖	30.2	31.9 48.6	105.6	72	111.8
7	GF2* GF3 GF4 ショ糖	(オリゴ糖 として) 37.3	16.9 16.3 0.099 13.8	(オリゴ糖 として) 89.3	75.3	62.5
8	グラニュー糖	100	100.2	100.2		
9	キシリトール アスパルテーム		97.7 1.54		93.7 5	104.2

*GF2:1-kestose, GF3:nystose, GF4:fructosyl nystose
フラクトオリゴ糖はGF2, GF3, GF4の混合物として計算

病者用食であるNo.4は表示量の80%以下であったが、これは標準品として粉末還元麦芽糖水飴を用いて分析し、粉末還元麦芽糖水飴の含有量として結果を出した。ところが、原材料の表示はこの粉末還元麦芽糖水飴を乾燥させる前の還元麦芽糖水飴として表示されているため、水分含量の違いによる差が出たためと考えられる。

また、特定保健用食品のNo.6と7は原材料に記載されていない糖が検出されたが、これはそれぞれの原料である糖が混入したためである。

今回調査した検体のうち麦芽糖水飴やオリゴ糖は、難消化性の糖質が多く使われていた。これらは程度の差はあるが過剰に摂取すると便が緩む作用がある。一般的に還元麦芽糖水飴は最大無作用量が成人で0.2~0.3g/kg体重なので、体重50kgの人が一度に10g程度摂取すると緩下作用が現れる場合がある。今回調査した製品は主にコーヒーなどに使用することが考えられるので、一度の摂取量は多くても10g以下と仮定できる。よって、これらの製品単独で緩下作用が現れることは少ないと思われる。ただし、最近はこの糖質がチョコレート等の菓子類に使用されていることも多く、それらと組み合わせで摂取した場合は緩下作用が現れることもあり得ると思われる。また、子供はより少ない量で作用が現れやすいう上に糖質を多く求める傾向があるので、最初に使用するときは様子を見ながら行うことが望ましい。

2) エネルギー量

内容成分量の分析結果からエネルギー量を算出した結果を表4に示した。

また、エネルギー量が記載されているものは記載値と分析値を比較した。ただし、No.4とNo.7は、成分の糖質を製造するときの原料および反応副産物が混入しておりそれらを定量していないため計算を行わなかった。

結果、比較したものは全て栄養表示基準で定められた

表4 エネルギー量 (単位:kcal)

No	表示値 (100g当たり)	分析値からの計算 値(100g当たり)	1回使用量当たり のエネルギー量	表示値に対す る割合(%)
1	180	190.8	11.4	106
2	300	282	8.5	94
3	0*	0	0	100
4	140			
5	0	0	0	100
6	230	258.2	25.8	112.3
7	218		29.0	
8	400	400.8	24	100.2
9	300	299	4.8	99.7

*栄養表示基準では、100g当たり5kcal未満ならば0と表示できる。

20%以内に収まっていた。

内容成分の分析結果と併せて考えると、低カロリーが謳い文句として販売されていた製品は以下の2つにタイプに分類できた。すなわち、①糖アルコールやオリゴ糖などの難消化性の糖質を主成分として製品全体のカロリーを下げている製品②難消化性の糖質に高甘味度の甘味料を添加することで1回の使用量を減らし結果的に低カロリーになる製品、である。①にあたるのはNo.1,3,5,6,7であり、②にあたるのがNo.2,4,9である。②にあたる製品のうち還元麦芽糖水飴を使用したNo.4を除けば、100g当たりのカロリーはあまり標準品の砂糖と変わらない。このため、通常の砂糖と同じ感覚で使用すると低カロリーの意味合いがなくなるので、表示の使用量を確認して使用する必要がある。

3) 食味テスト

味のくせは、ラカンカエキスを加えて甘味を増しているものに「くせ」を感じた人が多かった。使用する食品によってはこれらの「くせ」が食品の味に影響することも考えられる。

サッカリンナトリウムを含むものに苦みを感じる人が多く、また、参考品として取り上げたアスパルテームを含むものに、甘みにくどさを感じる人が多かった。

特別用途食品である低カロリー食品は、従来の甘味料と食味が違い、甘みを強く感じない人もおり、その為に使用量を注意しないと実際には低カロリーにならない可能性もある。

4 保健婦、栄養士、病院関係者など専門家を対象にしたアンケート調査

実施時期：1999年10月

対象：静岡県下80ヶ所の病院に勤務する栄養士等

結果：72人(回収率90%)から回答を得た。すべての人が特別用途食品という言葉を知っていた。

特別用途食品のうち、知っているものは「病者用食品」と答えた人が、ほぼ100%、その他「病者用組み合わせ食品」「妊産婦・授乳婦用粉乳」「乳児用調整粉乳」「高齢者用食品」「特定保健用食品」が50~70%であった。

特別用途食品の使用状況は、8割近くの病院で特別用途食品を利用していることがわかった。実際に利用している食品名としては、①「低カロリー食品」(マービー、オリゴメイト、ソルビトール、低カロリーゼリー、低カロリージャム等)、②「低ナトリウム食品」(減塩しょうゆ、減塩ふりかけ、減塩みそ、無塩マヨネーズ等)、③「病者用組み合わせ食品」(糖尿病食組み合わせ、減塩食組み合わせ、アレルギー疾患用等)、④「特定保健用食品」(ヨーグルトなどの乳酸菌飲料)、⑤「高齢者用食品」(トロミアップ、トロメロン、ブレンダー食等)、⑥「乳児用食品」(粉乳等)であった。

また、約6割の病院が退院後に患者に特別用途食品を勧めていることが分かった。

その他、病院食を作る上でHACCPが表示された食品やJHFA、健康食品なども参考にしているかについては、約6割の病院関係者が参考にしていないことが分かった。

特別用途食品に対する要望としては、「もっと詳しく知りたい」が7割あり、その他、「健康食品の実際の効果に対する情報」「遺伝子組換え等の食品の安全性」に対する情報を求める声が多くあった。

ま と め

1 特別用途食品を市場調査したところ、30種類以上の商品がスーパーや薬局で売られていることが分かった。しかし、健康食品を売っている店には特別用途食品は少なく、無農薬野菜や栄養補助食品、いわゆる健康食品が多かった。また、宅配給食サービスにおいて、糖尿病食調整用組合せ食品などを扱う所もあった。

2 一般消費者は、特別用途食品の中でも、いわゆる粉ミルクや特定保健用食品に当たる乳酸菌飲料ような食品は身近に接してはいるものの、特別用途食品という言葉自体はあまり認知されていないことが分かった。

また、今回の調査結果から、特別用途食品とその他のこれに類似した食品（いわゆる健康食品のようなもの）が、混同して認識されている可能性がうかがえた。1990年頃から食品に健康維持や病気予防を期待した商品（例おなかによい〇〇、虫歯にならない〇〇）が話題を集め販売されたが、これらの中には科学的根拠が明確ではなく誤解を招くような商品もあった。このこともあって制度化されたのが特別用途食品の中の「特定保健用食品」で、この食品として許可されたものは、その記載されている機能について科学的に証明されている。

また、このような食品には特定保健用食品である旨やマークが記載されているので、健康が気になる人にとって、商品を選ぶ上で一つの参考になるものと思われる。

3 特別用途食品の中の低カロリー甘味料を調べたところ、麦芽糖水飴やオリゴ糖には緩下作用を有するものがあるが、卓上甘味料として使用する上では特に問題になると思われる製品はなかった。ただし、これらの甘味料は菓子類にも使用されていることが多い

め、そのような製品と一緒に摂取する場合は注意が必要である。

特別用途食品の中の低カロリー甘味料には、甘みを強く感じない人もおり、表示などから使用量を注意しないと実際には低カロリーにならない可能性もあるので注意が必要である。また、砂糖に比べて、味に癖があるものが多く、製品の特徴（ビフィズス菌を増やす等）をよく把握して利用する必要がある。

4 すべての病院関係者（主に栄養士）が特別用途食品を知っていると同時に、8割近い病院で実際に利用していることが分かった。実際に利用している食品としては「低カロリー食品」、「低ナトリウム食品」、「病者用組み合わせ食品」が多く、「特定保健用食品」「高齢者用食品」「乳児用食品」もある程度利用されていた。また、6割の病院関係者が「継続的な食事療法をしやすい」などの理由で退院する患者に勧めていた。逆に勧めていない理由としては、「高価で、食費の高騰になるから」などの意見が見られた。

特別用途食品の利用は進んでいるが、効果に対する情報を求める声が強くなり、また、新しい商品の情報も必要と感じられている。特別用途食品の利用を推進していくには、こうした迅速な情報と効果に対する情報が大事だと思われる。

5 特別用途食品はあくまでも食品であるため、薬のようにこれで病気が治るといったものではない。食物には「栄養補給」という機能、おいしさや満足感を味わう「感覚」という機能の他に、人間の体調を整えたり病気を予防したりする「生体調節」の機能が備わっている。

通常の食生活で様々な食品をバランス良く摂取し、その機能をうまく利用できればそれに越したことはないが、様々な病気により通常の食生活が出来なかったり、バランスの崩れた現在の食生活でその不足分を補う場合には、これらの食品をうまく利用していく必要がある。

文 献

- 1) 浜田晃他：エリスリトールの近況，ジャパンフードサイエンス，11，58-64（1998）
- 2) 国民生活センター：シュガーレスおよび砂糖不使用をうたった食品の商品テスト結果（1998）

災害時用携帯浄水器に関する調査・研究

医薬品生活部 生活科学スタッフ 中村和光, 影山知子, 菅野尚子
山口善三郎, 永野隆夫

Practical Test of Filtration Commodity of Handy Type

Kazumitsu NAKAMURA, Tomoko KAGEYAMA, Naoko KANNO,
Zenzaburō YAMAGUCHI, and Takao NAGANO

携帯用浄水器の使い勝手や浄水性能に関して調査・分析を行った。ポンプ式、ゴム球式に比べ、ストロー式は浄水操作にかなりの力が必要であった。残留塩素、大腸菌群はすべての浄水器において除去された。一般細菌、金属類の除去効率は携帯用浄水器間で差が見られた。ただし、一般細菌に関しては浄水前に殺菌剤を入れることになっており、また、災害時に利用されると考えられる河川水や風呂の残り湯等に高濃度の金属が入っている可能性はほとんどないことから、携帯用浄水器の使用に問題はないと考えられる。携帯用浄水器は、ペットボトルと異なり保管するスペースが少なくすむ利点がある。ただし、アンケート調査の結果、携帯用浄水器の浄水性能に不安を感じる消費者もいることから、今後正しい情報を迅速に提供していく必要がある。

Key words : 携帯用浄水器

Filtration commodity of handy type

はじめに

東海大地震が予想される静岡県においては、災害時の飲料水の確保や生活水の確保が非常に重要な課題である。阪神・淡路大震災の教訓から、特に、災害発生直後2～3日分の飲料水は、各家庭で備蓄しておくことが望ましい。そうした中で、最近、数多くの携帯用浄水器が市販されている。手軽なストロー式のものからポンプ式のものまでであるが、浄水能力に関する情報は多くない。

そこで今回、それぞれの浄水能力や使い勝手を中心にテストを実施した。

調査方法

1 実施時期

1999年9月～2000年3月

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市北安東4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-andō, Shizuoka, 420-8637, Japan)

2 テスト対象品目

市販されている携帯用浄水器9検体を購入した。このうち、「ストロー式浄水器」は2検体、「ポンプ式浄水器」は6検体、「ペットボトルを利用した浄水器」は1検体(表1)。

3 調査項目及び方法

1) 表示内容および取り扱いやすさ等

試買商品9品目について、パッケージや取扱説明書の内容を比較すると共に、実際にモニター6名に浄水してもらい、あつかいやすさ等の比較を行った。

2) 残留塩素試験

上水試験方法に基づき、オルト・トリジン法で行った。使用機器(分光光度計, 日立U-3210)

3) 過マンガン酸カリウム消費量試験

上水試験方法に基づき、滴定法にて行った。使用機器(ウォーターバス, ヤマトBS69)

4) 大腸菌群数, 一般細菌数検査

上水試験方法に基づき一般細菌数の, 食品衛生法に準じて大腸菌群数の検査を行った。

5) 金属類除去試験

風呂の残り湯に、金属類 (Fe, Pb, Cu, Zn) を添加し、携帯用浄水器による除去試験を行った。使用機器 (日立偏光ゼーマン原子吸光分光光度計, Z-6100)

6) アンケート調査

静岡県消費生活モニター (104名) を対象に行った。

結果及び考察

1 表示内容および取り扱いやすさ等

表示内容については、どれも浄水の仕方が分からないということにはなかった。ただし、No 8 は、英語の取扱説明書のみのため、絵で取扱いは分かるが細かい内容は分かりづらかった。また、No 4 には、1分間にどれだけ浄水出来るかの表示が無かった。

それぞれ、「最初の水は捨てて下さい」との説明があり、その量は、200ml~2Lと差があった。浄水し始めてどれくらいで活性炭の色やにごりがなくなるかを調べたところ、No 1, 2, 3, 7は、最初からにごりや活性炭の色は無く、No 4 と 6 は約300ml, No 5 は約500ml, No 8 と 9 は約2Lでにごりや活性炭の色が無くなった。

実際にモニター 6名に携帯用浄水器を使って浄水してもらい、その使い勝手の感想を表 2 にまとめた。No 1, 4, 5, 6, 9 は使いやすいが、No 2, 3, 7, 8 は使いづらいという感想であった。浄水するのに力があるかどうかについては、No 1, 4, 5, 6, 9 はあまり力はいらない、No 2, 3, 7, 8 はかなり力があるという感想であった。特に、口で吸って浄水するストロー式は吸

表 1 試買商品表示一覧表

No.	価格(円)	ろ過材等の種類	ろ過流量 (説明書による)	ろ過能力(L)	謳い文句
1	5,000	中空糸膜フィルター 銀入り繊維状活性炭,殺菌剤	300ml/min	100	手で押し、絞るだけで除菌された浄水になる
2	22,000	特製セラミック	500ml/min	7,000	現在知られている最小のバクテリアも除去
3	2,800	特殊粒状活性炭 コーラルサンド,銀, 粉末殺菌剤	口で吸う	100	この一本があなたを救います
4	4,980	特殊粒状活性炭 コーラルサンド,銀, 粉末殺菌剤	—	100	災害時・非常時に海外旅行に
5	9,500	特殊粒状活性炭 コーラルサンド,銀, 粉末殺菌剤	330ml/min	600	川の水も飲料水に (手軽な携帯用飲料水製造器)
6	11,500	多孔質中空糸膜 抗菌活性炭,殺菌剤	1,000ml/min	500	世界最高レベルの携帯用浄水器
7	4,300	対微生物高性能フィルター	口で吸う	100	アウトドア・防災に最適の高性能浄水ストロー
8	33,000	対微生物高性能フィルター 活性炭フィルター	1,000ml/min	1,500	スペース・シャトルの浄水システムに採用
9	1,480	活性炭,抗菌セラミック 亜硫酸カルシウム	—	1,000	ペットボトルで浄水器を作ろう!

表 2 試買商品の使い勝手

No.	使いやすさ	浄水するための力のかけ方	100mlの浄水を得るための 時間および押す回数
1	使いやすい	容器を押しだけで力はあまりいらない	13~25秒 5~10回押す
2	使いにくい	ポンプを押しするのに少し力がある	17~30秒 15~20回押す
3	使いにくい	水を口で吸うのに、かなり力がある	75~120秒 10~20回、口で吸う
4	使いやすい	ポンプを押しのに力はいらないが、ストロークが短く何回も押さなければならない	13~30秒 35~45回押す
5	使いやすい	ポンプを押しのに力はいらないが、ストロークが短く何回も押さなければならない	19~38秒 35~45回押す
6	使いやすい	ゴム球を押しだけで、力はいらない	10~20秒 15~20回押す
7	使いにくい	水を口で吸うのに、かなり力がある	90~150秒 10~20回、口で吸う
8	使いにくい	ポンプのストロークが長く、力がある	90~150秒 10~15回押す
9	使いやすい	水を上から流すだけなので、まったく力はいらない	10~15秒 —

い込むのにかなり力を要した。また、飲料水としてその本人しか飲むことが出来ない。

ポンプ式、ゴム球式は力はいらぬが、No 4, 5はポンプのストロークが短く何回も押さなければならず、大量の水を得るのには向かない。No 6, 8は浄水時間も短く、大量の水を浄水するのに向いているが、最初の浄水が出てくるまで時間がかかる。また、100ml浄水するのにNo 3, 7は75~150秒かかったが、他は10~40秒であった。

2 残留塩素試験

水道水を原水として、浄水後の残留塩素の測定を行った結果を表3に示す。すべての携帯用浄水器において、残留塩素は検出されなかった。

3 過マンガン酸カリウム消費量試験

本試験に先立ち、蒸留水を浄水器に通し、流出した水を一定量ずつ採取し、過マンガン酸カリウム消費量を測定した。結果を表4に示す。

ストロー式 (No 3, 7) については、300ml目を、それ以外のものは500ml目を最初の検体とした。なお、No

表3 残留塩素試験結果

No.	浄水前(ppm)	浄水後(ppm)	塩素除去率(%)
1	1.2	ND	100
2	1.2	ND	100
3	1.2	ND	100
4	1.2	ND	100
5	1.2	ND	100
6	1.2	ND	100
7	1.2	ND	100
8	1.2	ND	100
9	1.2	ND	100

(ND: 検出しない)

8と9は、500ml目でも、活性炭の流出に伴う黒い色が濃かったので1L目を最初とした。No 8について、1L目で過マンガン酸の色が消えて測定不能だったので、追加試験を行った。

各商品の取扱説明書には、「使用開始時に黒い水が出るがこれは活性炭の色などで安全、色が消えた後に使用してください」と記載されているが、表4の結果から、小容量のものは1リットル程度、大容量のものは5リットル程度流してから使用の方が良いと思われる。

次に、実際に汚れた河川水 (巴川流域、生活雑排水流入部) を浄水した。結果を表5に示す。なお、河川水の過マンガン酸カリウム消費量は、21.9mg/lであった。

中空糸フィルターを使用しているNo 1, 6は、80%以上の汚濁物質を除去でき、河川水の少し黄色味がかかった色も消えた。No 2, 4は50~60%, No 3, 7, 9は20~40%汚濁物質を除去出来た。一方、No 5, 8は、まったく除去されなかった。

有機汚濁物質には溶解性のものとそうでないものがあり、除去効率は原水の性状により異なるが、災害時に利用されると思われる河川水や風呂の残り湯の過マンガン

表5 過マンガン酸カリウム消費量から見た浄水性能

No.	浄水後の過マンガン酸 カリウム消費量 (mg/l)	除去率 (%)
1	3.2	85.4
2	6.1	72.1
3	13.0	40.6
4	10.2	53.4
5	21.9	0.0
6	2.3	89.5
7	16.5	24.7
8	21.9	0.0
9	14.9	32.0

表4 浄水器そのものの過マンガン酸カリウム消費量 (単位 mg/l)

No.	300ml目	500ml目	1 L目	2 L目	4 L目	5 L目
1	—	0.3	ND	—	—	—
2	—	ND	ND	—	—	—
3	4.0	—	ND	—	—	—
4	—	1.1	0.6	—	—	—
5	—	1.4	0.6	—	—	—
6	—	1.8	1.0	—	—	—
7	5.2	—	0.3	—	—	—
8	—	—	>30	21.1	10.7	0.6
9	—	—	1.0	—	—	—

注) —は測定せず

酸カリウム消費量は通常2~3mg/lで、水道水質の基準値(10mg/l以下である)以下であることから、特に問題はないと考える。

4 大腸菌群数, 一般細菌数検査

河川水(安倍川中流, 安西橋付近)と風呂の残り湯を各浄水器により浄水した水の大腸菌群数および一般細菌数の検査を行った。結果を表6に示す。

大腸菌群数は、すべての携帯用浄水器においてマイナスで、水道水の基準をクリアしていた。No1, 3, 4, 6, 7においては、一般細菌数ほとんど除去されていた。一方、No2, 8は70%以上除去されているが、「1mlの検水で形成される集落数が100以下」という水道水の基準は満足していなかった。No5, 9はほとんど除去されておらず、No9は、原水より浄水後に増えていた。これは、No9のペットボトル式浄水器が常に開放状態にあり、室内空気の汚染を強く受ける為と考えられる。ただし、No1, 3, 4, 5, 6には殺菌剤が添付されており、取扱説明書には「原水に殺菌剤を入れた後浄水するよう」記載されている。また、No9には殺菌剤は添付されていないが、家庭にあるハイターなどを利用して殺菌剤を原

水に入れるよう注意書きがある。このことから、No5, 9も原水に殺菌剤を入れた後浄水すれば問題がないと思われる。また、セラミックを使ったNo2や微生物高性能フィルターを使ったNo7, 8は殺菌剤を原水に入れるような記載はされていないが、他と同じように殺菌剤を原水に入れた方がより安全だと考えられる。中空糸フィルターを使用しているNo1と6は、一般細菌数の除去効率が高いことが分かった。No2, 8の浄水システムはNo3, 4とあまり変わらないが、充填材の量が多い分、筒が長い。このことから、試験を繰り返す間に充填材が汚染された可能性がある。従って、一度使用した後は、しっかりと水を切り、中まで乾燥させて保管することが大切と考えられる。

5 金属類除去試験

風呂の残り湯に、各種金属類を水道水質の基準の2倍程度(Pb 0.10ppm, Fe 0.43ppm, Cu 2.08ppm, Zn 2.19ppm)添加し、No1~9の携帯用浄水器で浄水し、日立偏光ゼーマン原子吸光分光光度計(Z-6100)で濃度の変化を測定した。結果を表7に示す。

No1, 2, 7の金属除去率は低かった。No3, 4,

表6 大腸菌群数, 一般細菌数検査結果

No.	河 川 水		風 呂 の 残 り 湯	
	大腸菌群数 原水(+)	一般生菌数 原水(2.3×1,000個/ml)	大腸菌群数 原水(-)	一般生菌数 原水(7.5×1,000,000個/ml)
1	—	0	—	0
2	—	2.2×100	—	2.4×100
3	—	<30	—	<30
4	—	<30	—	<30
5	—	1.4×1,000	—	2.1×1000
6	—	0	—	<30
7	—	<30	—	58
8	—	7.0×100	—	7.0×100
9	—	4.2×10,000	—	1.1×1,000,000

表7 金属類除去率

No.	Fe (0.43ppm)	Pb (0.10ppm)	Cu (2.08ppm)	Zn (2.19ppm)
	水道水基準 (0.3ppm)	水道水基準 (0.05ppm)	水道水基準 (1.0ppm)	水道水基準 (1.0ppm)
1	0.36 (16.7%)	0.10 (0.0%)	2.08 (0.0%)	2.20 (0.0%)
2	0.36 (16.7%)	0.05 (45.0%)	1.18 (43.3%)	1.46 (33.3%)
3	0.06 (86.1%)	0.02 (80.0%)	0.07 (96.4%)	1.18 (46.1%)
4	0.11 (74.5%)	0.01 (90.0%)	0.06 (97.1%)	1.08 (50.7%)
5	0.01 (97.3%)	0.00 (100.0%)	0.02 (99.0%)	0.66 (69.9%)
6	0.06 (86.1%)	0.04 (60.0%)	0.87 (58.2%)	1.47 (32.9%)
7	0.27 (37.5%)	0.10 (0.0%)	1.89 (9.1%)	2.18 (0.5%)
8	0.01 (97.3%)	0.00 (100.0%)	0.01 (99.5%)	1.32 (39.7%)
9	0.05 (88.4%)	0.04 (60.0%)	0.56 (83.1%)	1.05 (52.1%)

注) ()内は除去率

6, 9 はある程度金属が除去されていた。

一方, No 5, 8 はかなり金属が除去されていた。No 1, 2, 7 を除いて水道水質の基準を満足していたが, 亜鉛の除去率は悪く, No 5 以外は基準を満たしていなかった。

これらの携帯用浄水器は, 活性炭, 中空糸膜, セラミックなどを使用しているが, 金属の除去率の高いものは, 活性炭を多く使用している製品であった。そこで, 市販の粒状活性炭を用いて金属の除去率を試験した。結果は, Zn 0.21 (ppm) が 0.11 (ppm) まで, Cu 0.20 (ppm) が 0.05 (ppm) まで低くなった。このことから, 活性炭などにより金属が除去されることが分かる。しかし, 何度か繰り返すと金属の除去率が下がる。これは, 活性炭による金属の除去は, 物理的吸着でそれほど多く金属を吸着出来ない為と思われる。また, 携帯用浄水器の金属除去率は必ずしも一定ではなく, バラツキがある。

ただ, 実際の河川水ならびに風呂の残り湯に, こうした高濃度の金属が入っている可能性はほとんどあり得ないため, 携帯用浄水器の使用には問題はないと考えられる。

6 アンケート結果

アンケート結果から, 携帯用浄水器という言葉は 6 割以上の人が知っていたが, ほとんどの人が使ったことがないことが分かった。また, 3 割の人が本当に浄水出来るか不安に思っていた。

携帯用浄水器は, ペットボトルと異なり保管するスペースが少なくすむ上に, 入浴剤の入っていない風呂の水やトイレのタンク水, 近くの河川水などを浄水できるという意味では便利で実用的と思われる。浄水性能の信頼性が増せば, 浄水能力に不安を持っている消費者も防災用として常備していくと考えられ, その結果, 価格も安くなっていくと思われる。

ま と め

1 表示内容については, どれも浄水の仕方が分からないということにはなかった。実際に携帯用浄水器を使ってみると, ストロー式は, 水を吸うのにかなり力がいる。ポンプ式, ゴム球式は力はいらないが, No 4, 5 はポンプのストロークが短く何回も押さなければならず, 大量の水を得るのには向かない。No 6, 8 は浄水

時間も短く, 大量の水を浄水するのに向いているが, 最初の浄水が出てくるまで時間がかかる。

2 水道水を原水として, 浄水後の残留塩素の測定を行った結果, 試買商品すべて残留塩素は検出されなかった。

3 各商品の取扱説明書には, 「使用開始時に黒い水が出るがこれは活性炭の色などで安全, 色が消えた後に使用してください」との記述があるが, 過マンガン酸カリウム消費量が高い場合があるので, 色が消えてもしばらくは (小容量のものは 1 リットル程度, 大容量のものは 5 リットル程度) 流して使用する方がよい。

4 河川水 (安倍川中流, 安西橋付近) と風呂の残り湯を用いて, 大腸菌群数および一般細菌数の検査を行ったところ, 大腸菌群数は, すべての携帯用浄水器においてマイナスで, 水道水の基準を満足した。

一般細菌数は, No 1, 3, 4, 6, 7 では, ほとんど除去されていた。No 2, 8 は 70% 以上の除去率であったが, 水道水の基準値を満足していなかった。No 5, 9 はほとんど除去されなかった。しかし, これら携帯用浄水器は殺菌剤が付いているかもしくは殺菌剤を利用するように説明されており, 原水に殺菌剤を入れて浄水すれば問題がないと思われる。セラミックを使った No 2 や対微生物高性能フィルターを使った No 7, 8 は殺菌剤を原水に入れるように特に説明されていないが, 他と同じように殺菌剤を原水に入れた方がより安全だと考えられる。

なお, 使用したまま水を切らずにほっておくと浄水器の中で一般細菌が増殖する可能性があるため, 使用後はしっかり乾燥して保管する必要がある。

5 風呂の残り湯に, 金属類を水道水質の基準の 2 倍程度添加し, 除去効率を測定したところ, 浄水器により除去能力に差が見られたが, 実際の河川水や風呂の残り湯等に, こうした高濃度の金属が入っている可能性はほとんどありえないので, 携帯用浄水器の使用には問題はないと考えられる。

6 阪神・淡路大震災の時の教訓として, 災害発生直後の 2~3 日間の飲料水等の確保は各家庭で準備しておくことが, 大変重要である。そのために, どのような方法が望ましいか, 今後も検討していく必要がある。

無洗米の品質等に関する調査・研究

医薬品生活部 生活科学スタッフ 菅野尚子, 中村和光, 山口善三郎
永野隆夫

Nutrient Substances, Sensory Attributes and Environmental Effects of Polished Rice, MUSENMAI

Naoko KANNO, Kazumitsu NAKAMURA, Zenzaburō YAMAGUCHI,
and Takao NAGANO

環境保護をはじめとして、無洗米を購入することの良さを広く消費者に知ってもらうことを目的に、無洗米の品質や環境に与える影響等の調査を実施した。無洗米の水溶性ビタミンの含有量は、研いだ後の普通米より多い傾向にあり、物理的性状及び試食テストの結果から、無洗米は普通米とほぼ同程度の食味を有すると考えられた。また、無洗米を炊飯前に1回洗った場合でも、汚濁負荷は普通米を研ぐ場合に比べ、3分の1以下に抑えられることがわかった。米の研ぎ汁は、毎日のように家庭から排出されるので、河川等に対する汚濁負荷は高く、それらを低減する意味からも、無洗米を使用することは十分に効果があると思われる。

Key words : 水溶性ビタミン, 食味, 汚濁負荷

Water-soluble Vitamins, Sensory attributes, Pollution loads

はじめに

米を研ぐ必要のない「無洗米」は、昭和50年代に商品として登場したが、食味や価格等の面で消費者には不評で、普及には至らなかった。しかし、無洗化技術の向上により、1991年頃から再び市販され始め、アウトドアに利用したり、利便性を求める消費者のニーズに合わせて、最近では米売り場の一角に無洗米を置くスーパーを見かけるようになった。一方で、「米は研ぐものだ」という意識もまだ根強く、無洗米に対する消費者の抵抗感はぬぐいきれない。そこで、環境保護をはじめとして、無洗米を購入することの良さを広く消費者に知ってもらうことを目的に、無洗米の品質や環境に与える影響の調査を行った。

調査方法

1 テストした検体

静岡県内で市販または製造している、製法の異なる無洗米7検体（うち2000年2月市販予定の試験品1検体）と、無洗化されていない通常の米（以下、普通米）1検体の合計8検体について検討した（表1）。

無洗米の製法は大きく分けて湿式及び乾式の2つがあり、今回は湿式2検体、乾式5検体について試験を行った。また、製造時に出る洗い水やぬかの処理について聞き取り調査を行ったところ、「ぬかを肥料や飼料等に再利用する」が3検体、「ぬかを水分と分離し肥料に再利用する（水分はバクテリア処理後調整池へ）」が1検体等となっていた。

2 調査項目及び方法

1) 水溶性ビタミン

ビタミンB₁、ビタミンB₂及びナイアシン（ニコチン酸及びニコチンアミド）の含有量を測定した。なお、検体（普通米は研いでから乾燥）は粉砕し、35メッシュのふるいを通した。標準品は全て関東化学（株）製を用いた。

表1 検体一覧表

	A	B	C	D	E	F	G	普通米
産地	新潟県	秋田県	秋田県	福島県	宮城県	秋田県	茨城県	岩手県
品種	コシヒカリ	あきたこまち	あきたこまち	コシヒカリ	ひとめぼれ	秋田こまち	コシヒカリ	あきたこまち
産年	H10	H10	H10	H10	H10	H10	H10	H10
正味重量	5 kg	2 kg	2 kg	2 kg	3.6kg	1.5kg	2 kg	2 kg
精米年月日	H11.9.8	H11.8.30	H11.9.4	H11.9.11	H11.9.16	H11.9.13	H11.9.10	H11.9.7
価格 (円)	2,800	1,000	-	1,280	1,645	720	-	960
1 kgあたり	560円	500円	-	640円	457円	480円	-	480円
方式	湿式	湿式	乾式	乾式	乾式	乾式	乾式	-
製法の特徴など	加水精米	水注研米	洗米剤	ブラシ使用	攪拌ロール	米ぬか使用	米摩擦+	-
	仕上げ	及び洗米	(でんぶん)使用		使用		金属ロール使用	
洗い水や	下水へ流す	ぬかは肥料, 水分は	飼料	堆肥の原料	ロールごと	肥料や飼料	精米時	-
ぬかの処理		バクテリア処理			交換		のぬかと同様	

① ビタミンB₁

衛生試験法注解 (1990) 2. 1. 6. 3 (1) 1) [試験溶液の調製] ③に記載の方法に準じ、酵素処理を行い、以下、栄養表示基準²⁾別表第1第3欄に定める方法 (チオクローム法) に準じ、試料を調製及び測定した。

② ビタミンB₂

上記①の酵素処理後の試料を用い、栄養表示基準別表第1第3欄に定める方法 (HPLC法) に準じ、測定を行った。

HPLC条件: カラム, Inertsil ODS-3 (5 μm, 4.6 mm i.d.×150 mm, ジーエルサイエンス (株) 製); 溶離液, 酢酸緩衝溶液 (pH4.5) /メタノール (65:35v/v); カラム温度, 35℃; 流量, 0.8ml/min; 検出, RF (励起波長445nm, 蛍光波長530nm); 試料注入量, 20 μl

③ ナイアシン (ニコチン酸及びニコチンアミド)

栄養表示基準別表第1第3欄に定める方法 (HPLC法) に準じ、試料を調製し、ビタミン分析法³⁾記載の方法に従いHPLC法により、ニコチン酸及びニコチンアミドをそれぞれ定量し、その合計量を求めた。

ニコチン酸のHPLC条件: カラム, Inertsil ODS-3 (5 μm, 4.6mm i.d.×150mm, ジーエルサイエンス (株) 製); 溶離液, 10mMリン酸カリウム緩衝溶液 (pH6.78, 5mM臭化テトラ-n-ブチルアンモニウム含有) /アセトニトリル (9:1v/v); カラム温度, 25℃; 流量, 1.5ml/min; 検出波長, UV260nm; 試料注入量, 20 μl

ニコチンアミドのHPLC条件: カラム, Inertsil ODS-3 (5 μm, 4.6mm i.d.×150mm, ジーエルサイエンス (株) 製); 溶離液, 10mMリン酸カリウム緩衝溶液 (pH3.0) /アセトニトリル (96:4v/v); カラム温度, 25℃; 流量, 0.7ml/min; 検出波長, UV260nm; 試料注入量, 20 μl

2) 物理的性状⁴⁾

各検体 (普通米は計量後研ぎ、水切りする) を水 (検体重量の1.5倍体積量) に30分間浸漬後、電気炊飯器で炊飯、蒸らし (計1時間)、30分間放冷後、ラップで覆いをした。蒸らし終了以降の物理的性状 (硬さ、付着性、凝集性、弾力性及び咀嚼性) の経時変化を、レオメーター (サン科学 (株) 製) で測定し、時間経過による品質劣化の相対的比較を行った。

3) 洗い水 (研ぎ汁) の水質

無洗米 (検体A~G) については、米 (300g) を水 (500ml) で1回洗った。普通米については、米 (300g) を水 (計2リットル) で5回研ぎ、3回洗った。そのときの洗い水 (研ぎ汁) の水質を以下の方法⁵⁾に準じ、測定した。

・COD_{Mn}: JIS K0102 17.

・TN: JIS K0102 45.2 (紫外線吸光度法)

・TP: JIS K0102 46.3.1 (モリブデンブルー吸光度法)

4) 試食テスト

検体CおよびFについてモニターによる試食を行った。Cについては、当所職員 (8名) に2kgずつ配布し、家庭で使用してもらった。Fについては、県民の日 (施設公開) の来所者 (39名) にご飯の試食を依頼し、普通米と比較してもらった。

結果及び考察

1 水溶性ビタミン⁶⁾

これらのビタミンは、余分に摂取された分が体内に蓄積されず全て排泄されるため、毎日摂取する必要がある。また20種以上知られているビタミンの中で、日本人の普通の食事で比較的不足が心配されるビタミンは5種類あ

表2 水溶性ビタミン (100gあたりmg数)

	A	B	C	D	E	F	G	普通米
ビタミンB ₁	0.06	0.07	0.08	0.05	0.14	0.05	0.21	0.02
ビタミンB ₂	0.010	0.008	0.011	0.009	0.012	0.009	0.010	0.008
ナイアシン	0.57	1.21	2.48	1.66	1.97	1.16	1.33	0.88

り、そのうちの3種類がビタミンB₁、ビタミンB₂及びナイアシンである。これらビタミンの含有量について調査した結果を、表2に示した。

1) ビタミンB₁

ビタミンB₁は水に最も溶けやすいビタミンで、穀類のぬかや胚芽等に多く含まれている。糖質の代謝に必要で、欠乏症としては脚気等がよく知られている。

ビタミンB₁について調べた結果、すべての検体が普通米 (0.02mg/100g) より高い値であった。平均は0.09 mg/100gであり、1食分 (80g) に換算すると0.08 mg/1食分となり、これは成人男性の1日の栄養所要量⁷⁾ (0.8~1.0mg) の約10%にあたる。特に高いのはEとGであった。湿式より低い乾式の検体もあったが、湿式 (0.07 mg/100g) より乾式 (0.11 mg/100g) の平均値の方が高くなっていた。

2) ビタミンB₂

ビタミンB₂は牛乳やレバー等に多く含まれ、光に弱く、欠乏症としては口腔や皮膚等の炎症が知られている。

ビタミンB₂について調べた結果、すべての検体が普通米 (0.008mg/100g) と同じか高い値であった。平均は0.010 mg/100gであり、1食分 (80g) に換算すると0.008 mg/1食分となり、これは成人男性の1日の栄養所要量 (1.1~1.4mg) の約6%にあたる。検体間の差は小さかった。湿式 (0.009) より乾式 (0.010) の平均値の方が、若干高くなっていた。

3) ナイアシン (ニコチン酸及びニコチンアミド)

ナイアシンは胚芽や肉、魚等に多く含まれ、加熱調理や保存によっても効力はほとんど失われない。体内の酸化反応に関係し、欠乏症としてはペラグラや皮膚炎が知られている。

ナイアシンについて調べた結果、A (0.57mg/100g) 以外の検体が普通米 (0.88mg/100g) より高い値であった。平均は1.48 mg/100gであり、1食分 (80g) に換算すると1.19 mg/1食分となり、これは成人男性の1日の栄養所要量 (13~17mg) の約8%にあたる。特に高かったのはCとEであった。湿式 (0.89) より乾式 (1.72) の平均値の方が高くなっていたが、湿式より低い乾式の検体もあった。

2 物理的性状

図1は、米飯を評価する最も重要な項目の1つである、「硬さ」について得られたデータを、好ましい硬さとの関係でみたものである^{4), 8)}。図では、8割以上の点が曲線の範囲内に存在し、米飯として好ましいものであると判断された。

そこで、炊き上がり3時間経過後と30時間経過後との間で比較を行った。「硬さ」及び、硬さと同様に重要な「粘り」をみる指標である「付着性」を図2及び図3に示した。図では30時間後/3時間後の値を示し、値が1に近いほど、食味劣化の度合いが小さい、好ましい米飯と考えられる。硬さではBを除き、普通米とほぼ同じか、より好ましいという結果であった。また、付着性ではA、B及びFが普通米より好ましかった。

硬さ、付着性、凝集性、弾力性及び咀嚼性の5つの評

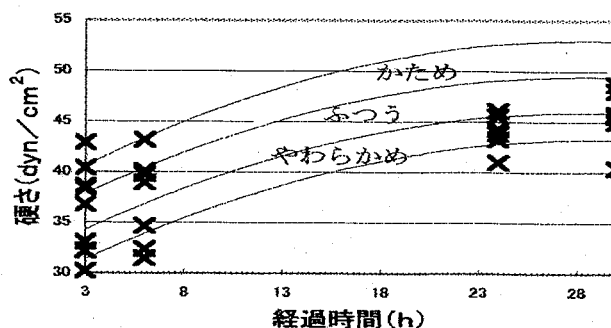


図1 硬さの好みと数値の関係

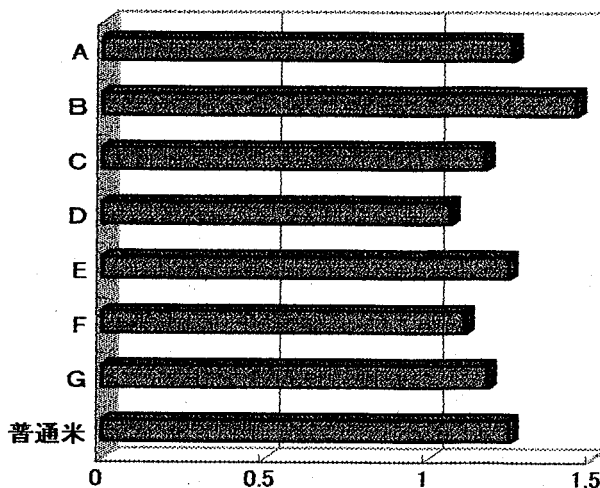


図2 硬さの比較

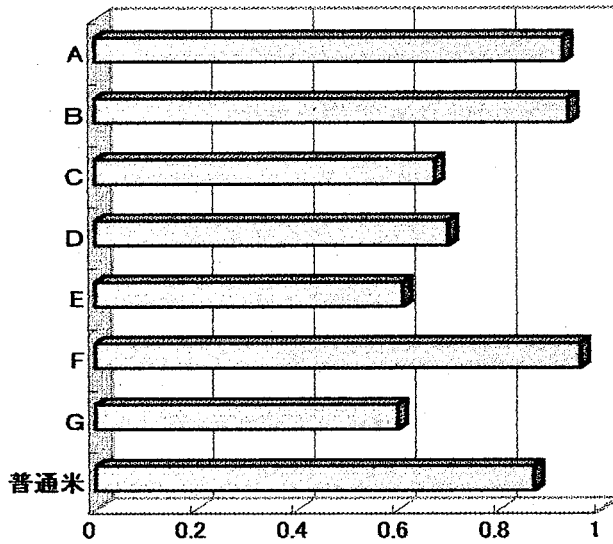


図3 付着性の比較

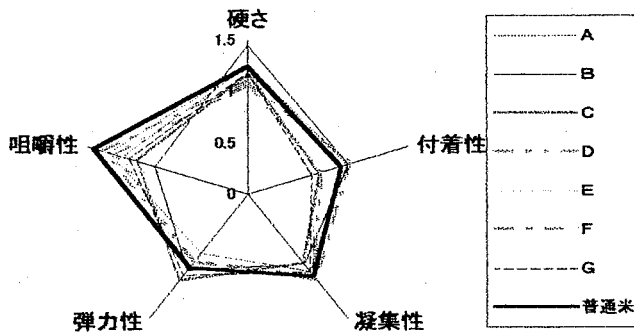


図4 物理的性状の比較

価項目をレーダーチャートで比較したのが、図4である。図では $|1 - (30時間後の値 / 3時間後の値)|$ の絶対値を示し、面積が小さいほど時間経過による食味劣化の度合いが小さいとされており、面積を比較すると、5つの評価項目を総合して普通米よりも特に劣る検体はなかった。

表3 洗い水（研ぎ汁）の水質

検体	COD _{Mn}			TP			TN		
	濃度 (mg/l)	負荷量 (mg)	普通米 に対し	濃度 (mg/l)	負荷量 (mg)	普通米 に対し	濃度 (mg/l)	負荷量 (mg)	普通米 に対し
A	413	207	0.07	5.9	3.0	0.02	12.7	6.3	0.05
B	407	204	0.07	6.1	3.1	0.02	22.7	11.4	0.09
C	1580	790	0.27	52.4	26.2	0.20	47.9	23.9	0.18
D	1270	635	0.22	34.7	17.3	0.13	42.6	21.3	0.16
E	1260	630	0.22	41.2	20.6	0.16	48.5	24.2	0.19
F	297	149	0.05	4.7	2.34	0.02	9.0	4.5	0.03
G	1850	925	0.32	48.1	24.1	0.19	55.3	27.7	0.21
普通米	1450	2900	—	64.2	128.4	—	64.7	129.4	—

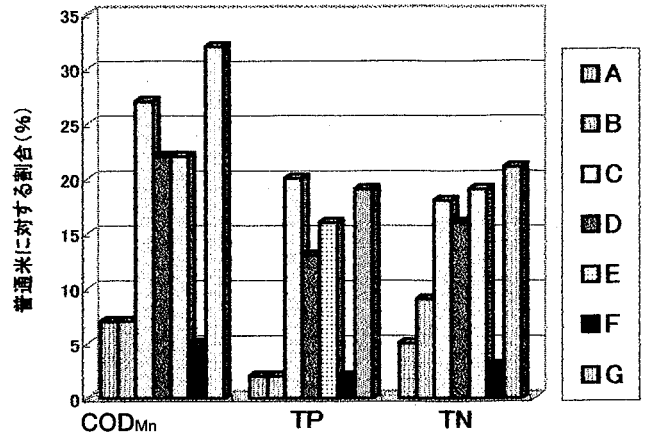


図5 洗い水の比較

3 洗い水（研ぎ汁）の水質

COD_{Mn}、TP及びTNの濃度 (mg/l)、負荷量 (濃度×使用水量, mg) 及び各検体の普通米に対する負荷量の割合を、表3に示した。また、普通米に対する各検体の負荷の割合を表したグラフを、図5に示した。

検体の中でF（乾式製法）がCOD_{Mn}、TP及びTNのいずれも最も低かった。また、無洗米の中では、COD_{Mn}、TP及びTNともに、湿式製法の検体（A及びB）は非常に低く、乾式製法の検体（C～E及びG）は高い傾向にあったが、これは湿式製法のA及びBが、製造時にすでに洗い水を排出していることも影響していると思われる。普通米に対する負荷量の割合は、最大でCOD_{Mn}負荷がGの0.32となっており、無洗米を1回洗ってから使用した場合でも、汚濁負荷は普通米を研いだ場合の3分の1以下に抑えられるといえる。

米の研ぎ汁は、毎日のように家庭から排出されるので、河川等に対する汚濁負荷は高いものと推定される。中でも窒素及びリンの汚濁負荷は、台所排水の中でも高い方で⁹⁾、富栄養化やヘドロの大きな要因につながっている。それを低減する意味からも、無洗米を使用する有用性は十分にあると考えられる。

4 試食テスト

C及びFについて試食テストを行った。その結果、Cについては、「おいしい」または「普通の米と変わらない」と答えた人が4名、「おいしくない」と答えた人が4名だった。また、炊飯前にさっと洗った（気になるので）人が6名、洗わなかった人は2名、水加減は、いつもと同じにした人が5名、少し多め（1.1倍）にした人が3名で、それらと、食味の評価との相関は見られなかった。

Fについては、「普通米よりおいしい」と答えた人が23名、「普通米よりおいしくない」と答えた人が9名、「違いがわからない」と答えた人が7名であった。また、「今後使ってみても良いと思った」との意見を記入した人が16名いた。

ま と め

以上のテスト結果から、次のことがわかった。

- 1 無洗米の水溶性ビタミンの含有量は、研いだ後の普通米より多い傾向にあった。これらのビタミンは、毎日摂取する必要がある、日本人の普通の食事と比較的不足が心配されるものであるため、普通米での食事より多く摂取できるのは、栄養学上の利点といえる。
- 2 物理的性状及び試食テストの結果から、無洗米は普通米とほぼ同程度の食味を有することがわかった。

- 3 無洗米を炊飯前に1回洗った場合でも、汚濁負荷は普通米を研ぐ場合に比べ、3分の1以下に抑えられることが明らかになり、台所排水の汚濁負荷量低減のためにも無洗米を使用することは有用であると考えられる。

文 献

- 1) (社)日本精米工業会：無洗化処理米（無洗米）の動向，精米工業，175，11-15（1999）
- 2) 厚生省告示第146号（平成8年5月20日）
- 3) 日本ビタミン学会：ビタミン分析法，(株)化学同人，京都（1989）
- 4) 貝沼やす子：炊飯時のデンプンの変化と飯の性状，New Food Industry，31，95-78（1989）
- 5) 並木博：詳解 工場排水試験方法 改訂2版，(財)日本規格協会，東京（1993）
- 6) アール・ミンデル：改訂新版ビタミン・バイブル，小学館，東京（1996）
- 7) 香川綾：ダイジェスト板（四訂）食品成分表，女子栄養大学出版部，東京（1989）
- 8) 篠崎隆：商品米飯と素材としてみた米，食糧振興（別刷），46（1993）
- 9) 東京都消費生活総合センター商品テスト課：汚れを流さないために（平成9年5月）

桜えびの栄養成分及び鮮度保持に関する調査・研究

医薬品生活部 生活科学スタッフ 菅野尚子, 中村和光, 山口善三郎
永野隆夫

Study on Nutrient Substances and Freshness Assurance of SAKURAEBI

Naoko KANNO, Kazumitsu NAKAMURA, Zenzaburō YAMAGUCHI,
and Takao NAGANO

桜えびの栄養成分や呈味成分, 家庭での鮮度保持について調査を行った。遊離アミノ酸については, 他のエビ・カニ類に比較してタウリンの含有量が際立って多く, 「生」の解凍品は全体的に冷蔵品より低くなっていた。「生」の核酸関連物質の変化については, ATP及びADPにおいて冷蔵品の方が高い値で推移したが, これは冷蔵保存の方が0℃以下の保存より死後硬直が遅延することに関係しているとみられる。呈味成分 (IMP及びAMP) は, 解凍品の方が高めに推移した。K値は冷蔵品より解凍品の方が低い値で推移していることから, すぐに食さない場合には鮮度保持の面から冷凍するのがよく, また消費者が購入した場合には低温の維持に注意し, その日のうちに食する必要があると考えられた。さらに, 「素干し」を家庭で保存する場合には, 直射日光に当てないようにすることが品質保持の上で重要である。

Key words : 遊離アミノ酸, タウリン, 核酸関連物質, K値, 鮮度

Free amino acids, Taurine, ATP and its related compounds, K value, freshness

はじめに

桜えびは静岡県の特産品であると同時に, 我が国では駿河湾でしか水揚げされない貴重な水産物である。全国的には素干し加工品が多く消費されているほか, 生や釜揚げも県内や京浜地方等で好まれている¹⁾。また, 栄養学的にはカルシウムや, 成人病予防に効果があるとされるタウリンを多く含んでいることでも知られている²⁾。そこで, 桜えびを県の特産品としてアピールし, 消費者に情報提供することを目的として, 栄養成分や旨味成分, 家庭での鮮度保持について調査を行った。

調査方法

1 テストした検体

1) 生桜えび

静岡県環境衛生科学研究所
(〒420-8637, 静岡市北安東4-27-2)
Shizuoka Institute of Environment and Hygiene
(4-27-2, Kita-andō, Shizuoka, 420-8637, Japan)

① 1999年11月8日午後10時, 由比漁港で水揚げ直後の桜えびを採取し, 二分した。一方は保冷剤を用い冷蔵状態で (以下, 冷蔵品とする), 他方はドライアイスにより凍結し冷凍状態で (以下, 冷凍品とする) 搬送した。搬送後は翌11月9日午前9時まで, 冷蔵 (家庭用冷蔵庫にて保存) 及び冷凍状態を保った (秋漁)。

② 静岡市内のスーパーで購入した (春漁, 表1)。

2) 釜揚げ桜えび

静岡市内のスーパーで購入した (表1)。

3) 素干し桜えび

静岡市内のスーパーで購入した (表1)。

2 調査項目

1) 遊離アミノ酸 (タウリン等18種)

生 (春漁, 秋漁 (冷蔵品及び冷凍品を家庭用冷蔵庫で解凍した解凍品)), 釜揚げ及び素干しの5検体について調査した。生桜えびは包丁で細かく切り刻み, 釜揚げ及び素干し桜えびはミルで粉碎し, 水で抽出後, スルホサリチル酸による除蛋白法 (SSA法) により試料を調製し³⁾ アミノ酸分析計 (日立L-8500A型) で測定を行った。

表1 検体一覧表

	生 (春漁)	釜揚げ	素干し
内容量	100 g	60 g	20 g
購入日	H11.7.15	H11.7.11	H11.10.16
購入価格 (税抜き)	433円	298円	278円
消費期限又は賞味期限	H11.7.15	H11.7.14	H12.3.1

2) 核酸関連物質の経時変化 (生桜えび)

上記1) ①の検体を用いた。水揚げ後11時間経過の11月9日午前9時をスタートとし、冷蔵品及び冷凍品 (以下、解凍品) を家庭用冷蔵庫で保存、0, 1, 2, 4, 6, 8, 24及び30時間後の核酸関連物質を定量し、経時変化を調査した。調査した核酸関連物質は、イノシン酸 (IMP), アデノシン三リン酸 (ATP), アデノシン二リン酸 (ADP), アデノシン一リン酸 (AMP), イノシン (HxR) 及びヒポキサンチン (Hx) の6種である。

試料の調製及び測定は次のように行った。生桜えびの頭胸部を取り除き、包丁ですり身状にした試料 (1g) を精秤し、内山らの方法に従い核酸関連物質を抽出し、槌本らの方法を参考にHPLCで測定を行った⁴⁾。

HPLC条件：カラム, Inertsil ODS-3 (5µm, 4.6mm i.d.×250mm, ジーエルサイエンス(株)製) ; 溶離液, 0.05M KH₂PO₄/0.05M K₂HPO₄=50:50 (pH6.78) ; カラム温度, 40℃ ; 流量, 1.0ml/min ; 検出波長, UV254nm ; 試料注入量, 20µl

標準品：IMP, HxR及びHxは和光純薬(株)製, ATP-2Na·3H₂O及びAMPはICN社製, ADP-Na₂·2H₂Oはオリエンタル酵母工業(株)製

3) K値の経時変化 (生桜えび)

2) で測定した核酸関連物質の含有量から、次式により鮮度判定恒数, K値を求め、その経時変化を調査した。

$$K \text{ 値 } (\%) = \frac{HxR + Hx}{ATP + ADP + AMP + IMP + HxR + Hx} \times 100 \dots (1)$$

4) 保存法の違いによる退色の変化 (素干し桜えび)

素干し桜えび (60g) を2分し、一方を直射日光下で、他方を家庭用冷蔵庫で3ヶ月間保存し、1ヶ月毎の色彩の変化を分光測色計 (ミノルタCM-2002) で測定した。

結果及び考察

1 遊離アミノ酸

春漁の生, 秋漁の生 (冷蔵品及び解凍品), 釜揚げ及

表2 遊離アミノ酸 (100gあたりmg数)

	生 (春漁, 解凍品)	生 (秋漁, 冷蔵品)	生 (秋漁, 解凍品)	釜揚げ	素干し
Tau	479	683	648	556	2,130
Asp	13.6	8.8	8.4	14.1	101
Thr	81.3	70.0	51.2	65.7	241
Ser	33.5	33.7	22.8	39.7	165
Glu	66.0	71.5	40.3	65.2	450
Pro	384	394	345	424	1,536
Gly	115	146	147	122	625
Ala	164	133	86.5	106	567
Cys	23.9	15.8	13.2	25.2	113
Val	62.5	44.0	30.5	41.9	242
Met	33.2	27.6	18.7	24.9	117
Ile	37.8	31.2	18.3	23.4	146
Leu	63.3	61.0	37.9	38.1	283
Tyr	42.7	57.1	38.3	34.7	171
Phe	48.9	56.2	39.6	32.1	178
Lys	78.2	75.6	46.3	34.1	310
His	24.3	20.7	13.5	16.2	81.7
Arg	276	535	454	384	1,365
計	2,027	2,465	2,059	2,048	8,821

び素干しの5検体についての調査結果を、表2に示した。各検体に共通して、タウリン、プロリン、グリシン、アラニン及びアルギニンの含有量が多くなっているが、これはエビ・カニ類や貝類等の無脊椎動物に特徴的なものである⁵⁾。桜えびはさらに、他のエビ・カニ類よりタウリンの含有量が際立って多くなっている(タウリン含有量:クルマエビ150mg/100g,ズワイガニ243mg/100g⁵⁾)。また、タウリンに注目すると、素干しは、生や釜揚げの3~4倍の含有量となっている。素干し品は重量が生のおよそ1/3~1/4になることを考えると、生の遊離アミノ酸が素干しにそのまま濃縮されているとみられる。タウリンは、血圧や血液中のコレステロールを下げる作用があり、心筋梗塞や糖尿病等の成人病の予防に有用であるほか、肝機能の改善にも効果があるとされている⁶⁾。

さらに、秋漁が春漁に比べ高めとなっているが、これは漁期の違いではなく、秋漁でたまたま最盛期の新鮮な検体が入手できたためではないかと考えられる^{2), 5)}。魚介類は同じ種類でも時期によって味が異なり、グリコーゲンや脂質とともに遊離アミノ酸等を多く蓄える時期が旬に当たり、味が最も良くなる。また、秋漁では解凍品が冷蔵品に比べ全体的に含有量が低くなっているが、これはドリップによる流出の可能性が考えられる。

2 核酸関連物質の経時変化

魚介類の筋肉中のATPは死後、硬直開始と同時に、次

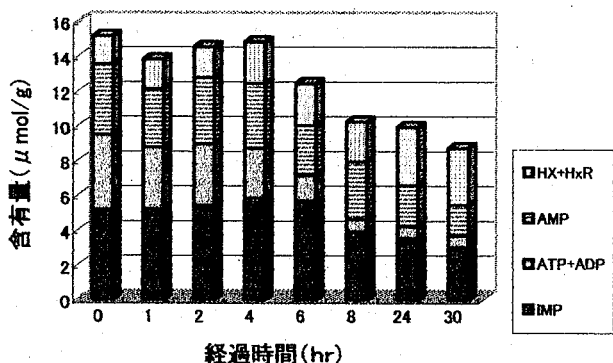


図1 核酸関連物質の変化(冷蔵品)

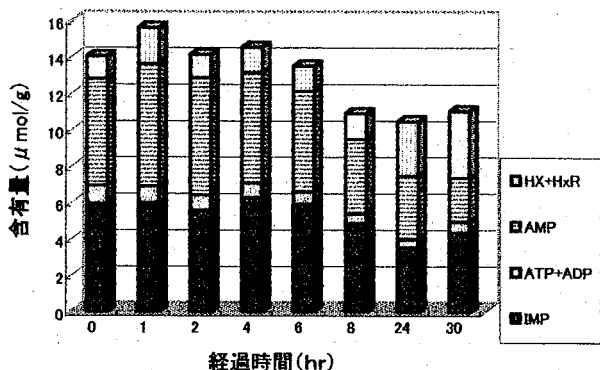


図2 核酸関連物質の変化(解凍品)

のように酵素的に分解される^{7), 8)}。



- ① ② ③ ④ ⑤

①から③までの反応は速やかに進行するが、その後の④の反応は遅いので、魚介類ではIMPが蓄積する頃が美味となる。

各関連物質の経時変化について、冷蔵品を図1に、解凍品を図2に示した。旨味成分として広く知られているIMPは、冷蔵品及び解凍品ともに4時間(水揚げ後15時間)経過後にピークに達し、その後徐々に減少した。グルタミン酸(Glu)との相乗作用により呈味効果があるとされているAMPは、スタート時から減少し続けていた。グラフの変化から、今回の調査では、おいしく食べられるのは硬直中から少なくとも調査開始6時間(水揚げ後17時間)経過あたりまでだろうと推測される。

また、ATP及びADPは、スタート時から6時間(水揚げ後17時間)経過まで、冷蔵品の方が高い値で推移していたが、これはATP関連化合物の消長と死後硬直の関連から、5℃程度の冷蔵保存の方が0℃以下の低温よりATPの減少が緩慢で、硬直も遅延することに関係しているとみられる^{5), 9)}。一方、旨味に關与するIMP及びAMPは、解凍品でより多く蓄積されていたが、解凍品は遊離アミノ酸の含有量では冷蔵品より低いため、単純な呈味の比較はできなかった。硬直を過ぎて軟化が始まる(鮮度の低下)につれ、生成するHxR及びHxについては、冷蔵品の方が高めに増加した。

なお、冷蔵品及び解凍品の総体量は、それまではほぼ一定であったが、8時間(水揚げ後19時間)経過後から低い値で推移した。この原因については定かではないが、保存中にドリップとして流れ出たものを考慮しなかったために起こった分析上の誤差によるものか、Hx以降の分解が起こっていたか等が可能性として考えられる。

3 K値の経時変化

K値は、魚介類に細菌が増殖して初期腐敗が始まるずっと以前の、いわゆる「いきの良さ」を数値で表す鮮度

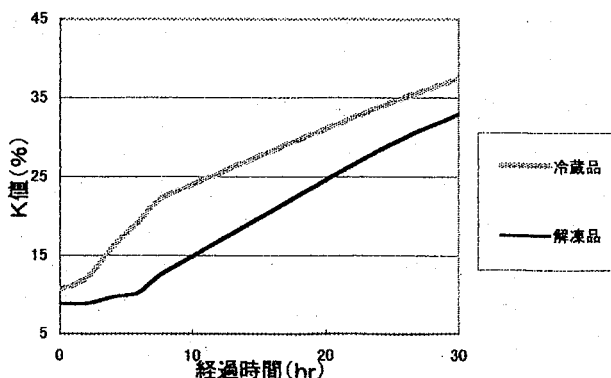


図3 K値の変化

表3 感覚的評価とK値の関係

評価	K値
活漁・活貝	5%前後
刺身用魚介類	20%前後
普通の魚介類	30~50%前後
生鮮魚介類としての 価値が疑わしいもの	60%以上

表4 K値ガイドライン

K値	ガイドライン
20%以下	高鮮度品。刺身で食べられる。
20~40%	良鮮度品。刺身及び生食以外で、 加熱調理して食べられる。
40~60%	あまり鮮度が良くないので 気をつけて食べた方がよい。
61%以上	腐敗が始まるものもある。 鮮度不良なので食べない方がよい。

指標である。上記(2)の分解により、魚介類のいきが良いうちはATPからIMPまでの物質が多く存在し、いきが良くないものにはHxRとHxが多く存在することから、K値は(1)式で表される。冷蔵品及び解凍品の変化を図3に示した。また、一般に流通している魚介類のK値を官能検査の結果と対比し、統計学的に処理を経たものを表3に示した¹⁰⁾。ガイドラインとしては表4のようになっている¹⁰⁾。

それによると、K値が20%以下であれば生食用として食べられると考えられるが、今回の調査では、家庭用冷蔵庫の保存で冷蔵品が6時間(水揚げ後17時間)経過後、解凍品が16時間(水揚げ後27時間)経過後まで、十分に生で食べられたであろうと推測される。また、スタート時点では両者ともK値がほとんど同じ値であるが、冷蔵品より解凍品の方が低い値で推移した。このことから、水揚げ後すぐに食さない場合には、鮮度保持の面から冷凍するのがよいと考えられる。最近では保冷技術が発達し、消費者には適切な温度管理の下、品質の良い生の桜えびが供給されていると思われるが、購入した際はすぐに冷蔵庫で保存するよう心がけ、その日のうちに食する必要があるといえる。

4 保存法の違いによる退色の変化

L*a*b*表色系³⁾による、色度a* (赤さ)及びb* (黄色さ)で退色の変化をみた。ここで、a*は赤、-a*は緑、b*は黄、-b*は青を表す。直射日光下及び冷蔵庫内における、a*及びb*の経時変化を図4に示した。a*については、冷蔵庫保存でほとんど変化がなかったが、直射日光保存では時間経過とともに低下し、赤みが減少していき、両者の差は1ヶ月後から表れた。b*については、直射日光保存の方が若干高いものの、冷蔵庫、直射日光ともに

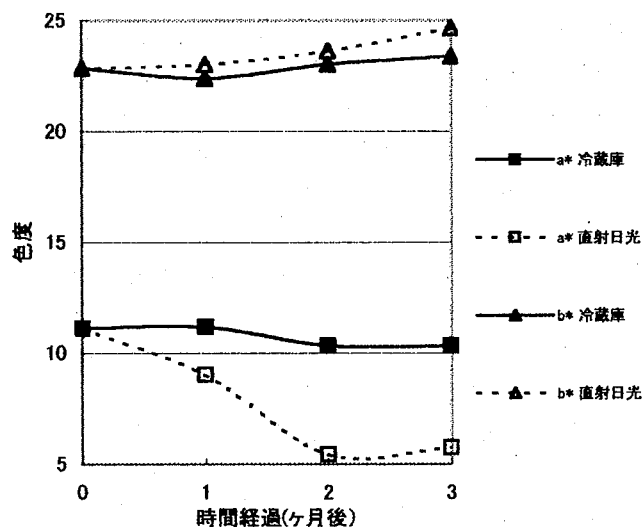


図4 素干しの退色変化

ほとんど大差なく変化した。見た目には直射日光保存の方が黄色く変化したように感じられたが、この場合の变色は赤みが低下したことによるものと考えられた。また、直射日光保存では、1ヶ月後から異臭が感じられた。このことから、素干しを家庭で保存する場合には、直射日光に当てないように注意することが重要であると考えられる。

ま と め

以上のテスト結果から、次のことがわかった。

- 1 桜えびの遊離アミノ酸は、他のエビ・カニ類にみられるように、タウリン、プロリン、グリシン、アラニン及びアルギニンの含有量が多くなっているが、中でもタウリンの含有量は際立って多いことがわかった。また、素干しには遊離アミノ酸がそのまま濃縮されていると考えられる。
- 2 IMPの蓄積の点からみると、おいしく食べられるのは硬直中から調査開始約6時間(水揚げ後17時間)経過した頃までであろうと推測される。また、ATP及びADPは、スタート時から6時間(水揚げ後17時間)経過まで、冷蔵品の方が高い値で推移し、旨味に関与するIMP及びAMPは、解凍品でより多く蓄積されていたが、これは5℃程度の冷蔵保存の方が、0℃以下の低温よりATPの減少が緩慢で、硬直も遅延することに関係しているとみられる。
- 3 K値の変化から、家庭用冷蔵庫の保存では、冷蔵品で6時間(水揚げ後17時間)経過後、解凍品で16時間(水揚げ後27時間)経過後まで十分に生で食べられたであろうと推測される。また、冷蔵品より解凍品の方がK値の変化が低いことから、すぐに食さない場合には鮮度保持の面から冷凍するのがよいと考えられる。さらに、消費者が購入した場合も、低温の維持に注意

し、すぐに冷蔵庫に入れ、その日のうちに食する必要がある。

- 4 素干しを家庭で保存する場合には、直射日光に当てないようにすることが品質保持の上で重要である。

謝 辞

本テストの実施にあたり多大な御助言を頂いた、水産試験場利用普及部の長谷川薫研究主幹、寫本淳司主任研究員及び片瀬紀子氏、並びに検体の採取に御協力を頂いた由比港漁業協同組合の鈴木清晴総務課長に、心より感謝致します。

文 献

- 1) 大森信他：桜えび漁業百年史，静岡県桜えび漁業百周年記念事業実行委員会，静岡（1995）
- 2) 渡辺武明他：静岡県産水産物の栄養成分について，静岡県環境衛生センター報告，31，73-86（1988）
- 3) (社)日本食品科学工学会：新・食品分析法，(株)光琳，東京（1996）
- 4) 植本六良他：動揺の激しい船内でのATP関連化合物の分離定量法—逆相分配カラムによる高速液体カラムクロマトグラフィー法，日本水産学会誌，51，8，1363-1369（1985）
- 5) 鴻巣章二：魚の科学，(株)朝倉書店，東京（1994）
- 6) 科学技術庁資源調査会・資源調査所：改訂日本アミノ酸組成表，大蔵省印刷局，東京（1986）
- 7) 太田静行：水産物の鮮度保持，(株)筑波書房，東京（1990）
- 8) 和田卓他：水産動物の鮮度に関する研究—1 サクラエビの死後変化，静岡県水産試験場研究報告，3，97-106（1969）
- 9) 木村稔他：ホタテガイ貝柱の硬化に与える貯蔵温度の影響，日本水産学会誌，63，4，621-626（1997）
- 10) 市川尚行：魚貝類の鮮度判定恒数K値のガイドラインとオキジメ効果との関連について，New Food Industry，30，8，22-25（1988）

ISO14001の運用と効果

環境科学部 環境情報スタッフ 池谷 静雄

The Activities and its Effects of ISO14001

Shizuo IKETANI

1999年3月1日環境衛生科学研究所は、地方自治体の環境研究所として全国に先がけISO14001の認証を取得した。その後、審査機関による半年後および1年後のサーベイランスを経てシステムの継続的改善を進めている。

ISO14001導入の効果は大きく、職員の環境保全意識の向上をはじめ、法的要求事項の認識、試薬の管理、経費の節減等に有効に機能している。当研究所のEMS（環境マネジメントシステム）構築のノウハウを活かし、県内企業の認証取得を支援するとともに、システムの見直し等によりステップアップを図り、環境負荷の削減に努めていく。

Key words : ISO14001, 地球環境問題, 地方公害研究所のISO14001,
ISO14001, Global environmental matters, ISO14001 at local institute of environment,

はじめに

1980年代後半から、地球温暖化、酸性雨、オゾン層の破壊等にみられる地球規模的な環境汚染が問題となってきた。これらの特徴は、いずれもその汚染の規模が広範であることやその影響が次世代までもおよぶような長期的なものであることがあげられる。

この問題の解決にあたっては、従来の法規制による局所的・地域的な対応では困難であり、事業者が自主的に環境負荷の削減に取り組むことが必要である。そのためには事業者がEMS（環境マネジメントシステム）を構築し、環境管理の概念を事業経営の中に取り込み、組織的かつ計画的に推進していくことが重要である。

ISO14001は、環境マネジメントシステムに関する国際規格であり、環境衛生科学研究所は1999年3月1日に認証

を取得したのでその運用の状況および効果について報告する。

方 法

1 ISO14001の概要

ISO14001は1996年9月に発行した環境マネジメントシステムに関する国際規格であり、規格の要求事項に沿って環境マネジメントシステムを構築していく必要がある。要求事項の概要を図1に示す。

2 環境衛生科学研究所の取り組み

ISO14001認証取得に向けての取り組みは、1997年12月に所長のキックオフ宣言によりスタートした。認証取得までの主なスケジュールを表1に示す。

組織体制は、副所長をEMS統括責任者とし、各スタッフの主幹クラス以上を推進委員とする「EMS推進委員会」を設置した（図2）。またEMS構築の諸事務を担当する事務局は当面二人でスタートした。ISO14001の要求事項に沿ってEMSを構築し、運用していくために以下の手順で作業を実施した。

1) 環境負荷の洗い出し

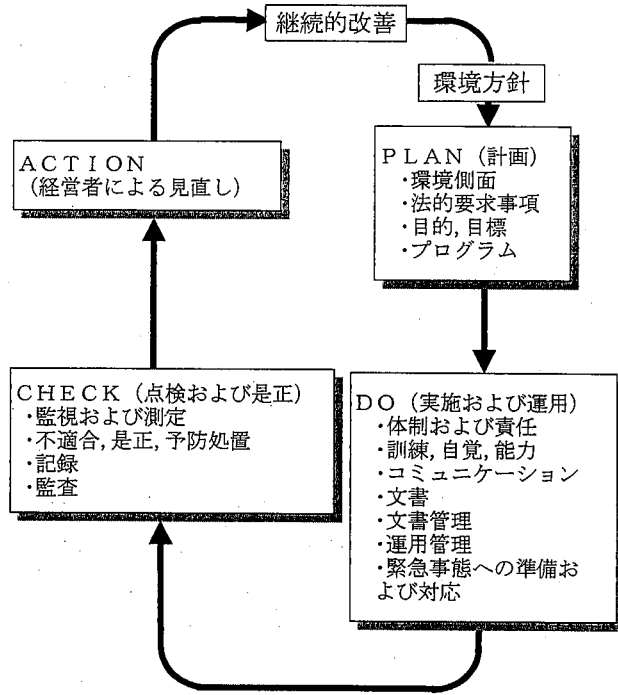


図1 ISO14001の要求事項

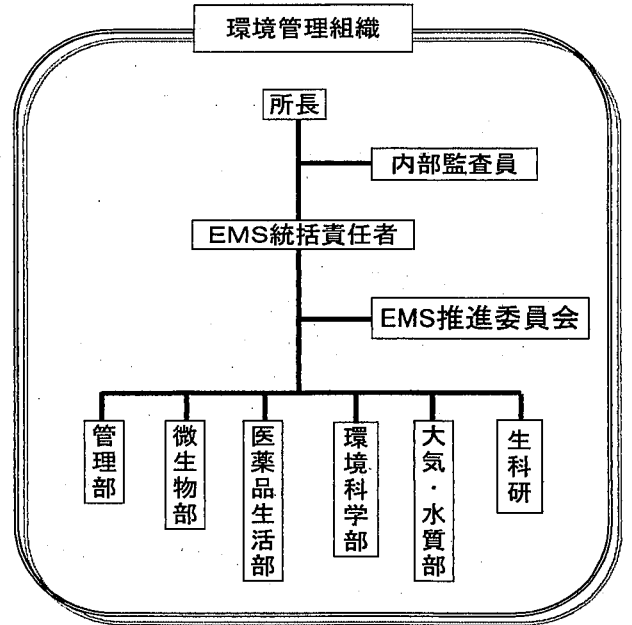


図2 組織体制

表1 認証取得までの主なスケジュール

項目	9年		10年						11年									
	10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月
情報収集, 他機関調査	*	*	*		*		*		*		*							
EMS推進委員会			*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
コメント			*															
職員の啓発, 研修会の開催			*	*	*	*	*		*		*		*		*			
現状把握, 問題点抽出			*	*														
環境側面の洗い出し				*	*	*												
環境影響評価				*	*	*												
環境方針の設定						*	*											
目的, 目標の設定						*	*											
環境マネジメントプログラムの作成						*	*	*										
環境マネジメントマニュアルの作成						*	*	*	*									
各種規定類の作成						*	*	*	*	*								
プログラムの実施および結果の記録										*	*	*	*	*	*	*	*	
内部環境監査の実施											*		*					
最高責任者による見直し											*		*					
是正措置の実施											*	*	*	*				
外部登録審査														*	*			
認証取得																		*

各スタッフの事業単位による工程ごとのインプット, アウトプットの詳細を洗い出した(表2).

2) 環境影響評価

洗い出しの結果をもとにインプットで約20項目, アウトプットで約100項目の環境側面を抽出し, インプットについては「環境に及ぼす影響」を考慮して重み付けを行った. アウトプットについては「定常時」, 「非定常時」, 「緊急時」の3区分に分け, それぞれ「発生の可

能性」および「影響の重大性」について重み付けを行った. このようにして得られた環境側面の評価点のうち一定点数以上の項目を著しい環境側面として特定した(表3).

3) 環境方針の決定

基本的な活動の理念と具体的な7項目の基本方針をEMSの最高責任者である所長が決定した(図3). 当研究所は試験研究業務をメインに実施していることから,

表2 環境影響評価洗出し表 (抜粋)

番号	工程フロー	使用機器等	使用場所	インプット物質	使用量(年)	単位	アウトプット物質	廃棄量	単位
1	COD分析								
1	検体採取	自動車		燃料	2000	リットル	排気ガス		
2	分析								
	試料採取	ホルビペット	水質分析室	ガラス	30	本	ガラス	3	本
	▼								
	三角プラスチック300ml	三角プラスチック	水質分析室	ガラス	10	個	ガラス	1	個
	←水100mlメスアップ								
	←硝酸銀	メスピペット	水質分析室	硝酸銀	100	g	硝酸銀	20	g
				ガラス	30	本	ガラス	3	本
	←硫酸(1+2)10ml	メスピペット	水質分析室	硫酸	3	リットル	硫酸	0.5	リットル
				ガラス	25	本	ガラス	3	本
	▼								
	攪拌(10~30分)	スターラー	水質分析室	電気					
	▼KMnO4 10ml	ホルビペット	水質分析室	KMnO4	100	g	KMnO4	5	g
	加熱								
	沸騰水中30分	加熱釜	水質分析室	都市ガス					
	←しゅう酸Na 10ml	ホルビペット	水質分析室	しゅう酸Na					
			水質分析室	ガラス					
	▼								
	逆滴定(KMnO4)	ドジマット							

表3 環境影響評価データ表 (アウトプット定常時) (抜粋)

番号	環境側面	環境影響	発生の可能性			影響の重要性										合計	評価	
			発生の可能性 A	対処の 可能性 B	A, B 組合せ C	法令 a	自主 基準 b	緊急 措置 c	地域 住民 d	損害 賠償 e	対外 関心 f	有害 物質 g	物質 の量 h	影響 規模 i	影響 期間 j			D
1	検体採取																	
1)	自動車の運転	地球温暖化	A2	B2	3	1	0	0	0	0	1	1	0	1	1	5	15	
		大気汚染	A2	B2	3	1	0	0	0	0	1	1	0	1	1	4	12	
		酸性雨	A2	B2	3	1	0	0	0	0	1	1	0	1	1	4	12	
		騒音, 振動	A2	B2	3	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	4	12	
2	検査の実施																	
1)	有機溶媒の排出	オゾン層破壊	A2	B1	2	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	4	8	
		地球温暖化	A2	B2	3	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	4	12	
		大気汚染	A2	B2	3	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	4	12	
		悪臭	A2	B1	2	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	3	6	
2)	各種ガスの排出	地球温暖化	A2	B2	3	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	4	12	
		大気汚染	A2	B2	3	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	4	12	
		悪臭	A2	B1	2	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	4	12	
3	器具の洗浄																	
1)	汚水及び洗剤の排出	水質汚濁	A3	B1	3	1												

基本理念

当所では、職員が環境保全の重要性を認識し、静岡県の良好な環境の保全に貢献するように環境保全活動を行う

基本方針

- ① 全員参加
- ② 法令等の遵守
- ③ 省資源・省エネルギーの推進
- ④ 環境への安全性配慮
- ⑤ 廃棄物の適正処理
- ⑥ 地域社会への貢献
- ⑦ 目的・目標の見直し

図3 環境方針 (骨格)

薬品等の適正管理を掲げ、さらに県内企業へのEMSの導入促進を支援することを環境方針の特色としている。

4) 目的・目標・プログラムの設定
 環境方針および環境影響評価結果に基づき、中期的な3年間の目的および単年度ごとの達成目標を示した。(表4)。さらに目的・目標を達成するための具体的な行動、責任者等をプログラムに盛り込んだ。

5) 文書類の整備
 ISO14001では、EMSの構築に際し取り決めた事項を手順化する文書の整備が要求されている。最上位文書として環境マネジメントマニュアルを作成しシステムの骨格を示した。また二次文書として20種類の規定類を作成し各種手順を示した。さらに三次文書としてこれらに関係する記録類を整備した(図4)。

6) システムの運用
 目的・目標を達成するためプログラムに従って全員で取り組み、その評価をEMS推進委員会で行った。また

表 4 目 的

番号	項 目	目 的
1	省資源 (電力の節減)	平成12年度までに2%削減 (平成9年度を基準)
2	省資源(空調用 都市ガスの節減)	平成12年度までに2%削減 (平成9年度を基準)
3	省資源 (紙の使用量の節減)	平成12年度までに10%削減 (平成9年度を基準)
4	廃棄物の排出量 の削減	平成12年度までに6%削減 (平成10年度を基準)
5	緊急時における 大気汚染の防止	薬品戸棚の地震対策 ガスボンベの転倒防止対策 耐震薬品庫の整備 ガスボンベの集中管理

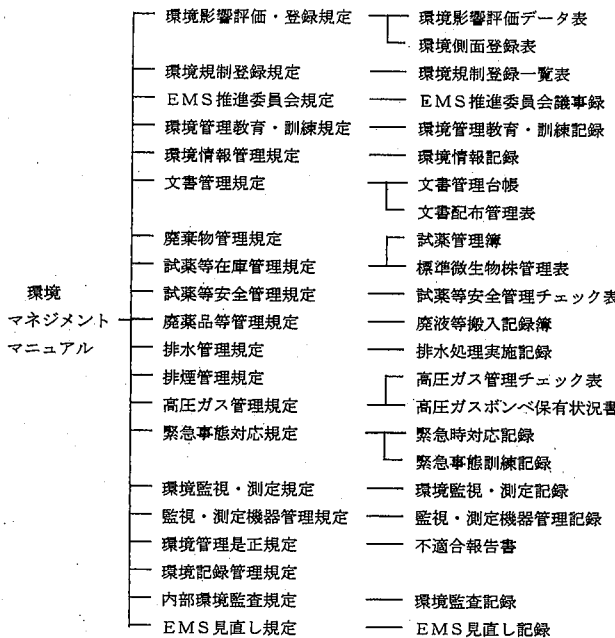


図 4 文書体系

教育訓練をはじめとしてEMSに関する活動はすべて記録し、規定に従って保存している。

7) 内部監査

取組みの内容がISO14001の要求事項を満足し、適切に運用されているか否かをチェックするため内部監査が必要である。内部監査員は大気・水質部長をリーダーとする4人のメンバーで構成されており、細かな事項までチェックし評価を行っている。定期的実施される内部監査では毎回10~20項目あまりの指摘事項が有り、これらについては規定に従って改善対策を立て、その完了をEMS統括責任者が確認している。

8) 外部審査

このようなシステムの構築・運用に対して外部の認証機関の登録審査を受け、1999年3月1日に認証を取得し

た。さらに1999年9月および2000年2月に定期サーベイランスを受けた。その結果軽微な指摘事項はあるものの当研究所のEMSが適切に運用されていることが実証された。

結果および考察

1 ISO14001導入の効果

ISO14001を導入し、EMSの活動をしていくなかで次のような効果が得られた。

1) 環境に対する職員の意識の向上

電気、都市ガス、紙の使用量節減等の省資源対策および廃棄物の削減などについては県全体で実践してきたことであるが、目的意識を持ち具体的なプログラムに従って実行することで、より効果的に行うことが可能となった。ISO14001導入を契機に職員一人ひとりがその活動の意味を再認識できたと考えている。

2) 法的要求事項の認識

法律・条例等の遵守はISO14001以前の問題であるが、従来はその対応および管理が必ずしも体系的に網羅されたものではなかった。法的要求事項を整理し、当研究所への適用の可否および適合状況のチェックをシステムとして実施することにより、もれなくかつ関係者全員に周知させることが可能となった。

3) 試薬管理の徹底

化学分析に伴う試薬類の管理については「毒物及び劇物取締法」他で細かく規制されており、各セクションごとにその対応を図ってきたところであるが、薬品に関する三つの規定すなわち「試薬等在庫管理規定」、「試薬等安全管理規定」および「廃薬品等管理規定」に従い、研究所全体で試薬の購入から在庫量の把握、使用量の把握、廃棄に至るまでのプロセスを統一して行うことで管理の徹底が図られた。

4) 経済効果

電気、都市ガス、紙の使用量節減については原則として平成9年度の量をベースとしており、平成9年度と10年度の使用量の実績を表5に示す。

金額に換算すれば平成10年度は電気で約85万円、都市ガスで約28万円、紙で約8万円、合計約120万円の節減を達成している。これらの実績は当初の目標を大幅に上回っ

表 5 平成9年度および10年度の実績

項 目	使用量(H9年)	使用量(H10年)	前年比	金額(円)
電 力	1,207千KWH	1,155千KWH	△4.3%	△846,000
都市ガス	92,452㎡	77,594㎡	△16.1%	△275,000
用 紙	5,037Kg	4,571Kg	△9.3%	△79,000
合 計	-	-	-	△1,200,000

ており、今後このペースで継続できるか否かは不確定であるが、気を緩めることなく努力していきたいと考えている。

5) 県内企業への窓口相談

県内企業へのEMS導入促進の事業については、平成11年4月から「EMS導入相談窓口」を設け、企業からの認証取得に関する具体的な問合せあるいはシステムの運用に関する相談などに対して当研究所の認証取得のノウハウを活用し、支援を行っている。

また、当研究所で実施した「ISO14001導入促進研究会」には県内114の企業が参加しており、認証取得への準備を進めている。

2 今後の展望

ISO14001はPlan（計画）、Do（実施および運用）、Check（点検および是正）、Action（見直し）のPDCAサイクルに基づいて、継続的な改善を実施していくことを要求している。

従って「認証取得」は当研究所の目的ではなく本来の環境管理活動のスタートとして考えるべきであり、今後、技術的・経済的に可能な範囲でシステムのステップアップを図り、活動を進めていくことが重要である。また環

境マネジメントプログラムの実践行動の積み重ねにより省資源、省エネルギー、廃棄物対策等についても着実に効果が得られるものと考えている。

さらに県内企業の認証取得を支援し、自主的な環境負荷の削減を促すことにより、従来の立入検査等による規制業務の大幅な省力化が可能となり、環境行政の効率アップを期待するところである。

ま と め

- ・環境衛生科学研究所が1999年3月1日にISO14001の認証を取得し、その後の定期的なサーベイランスを経て環境負荷の削減を進めている。
- ・ISO14001の導入は環境に対する意識の向上、法的要求事項の認識、経費節減等に有効に機能している。
- ・見直し等によりシステムのステップアップを図り、継続的改善に努めていく。
- ・EMS構築のノウハウを活かし、県内企業の認証取得を支援する。

なお、本稿は全国公害研会誌VOL.24 No.4 1999に掲載したものを加筆した。

環境教育プログラムの研究開発及び提供

環境科学部 環境情報スタッフ 桑田昇一, 藤田友司, 前嶋孝明

Research and Development of Environmental Education Program and its Offer

Shoichi KUMETA, Tomoji FUJITA, and Takaaki MAEJIMA

今日の環境問題は、大量生産・大量消費・大量廃棄型の社会経済活動やライフスタイルに起因しているところ
が大きい。こうした危機的状態に対処するためには、持続可能な社会の実現に向け、現在の社会経済活動やライフ
スタイル、そしてそれを支える社会システムそのものを見直すことが必要である。

そのような現状の中、県民の環境問題への関心は高まりつつあり、環境保全が必要だという理解は進んでい
るが、環境保全のための具体的な行動に結びついていない。これは、「めんどくさい」、「自分だけがや
っても仕方ない」、「どうしたらいいかわからない」等の思いによると考えられる。

したがって、今回の研究では、環境教育の考え方の検証から始め、実際に、行動まで導くような環境教育プ
ログラムを数本試行した。その結果、効果も見られたが、反面、反省点もあった。

今後は、環境教育プログラムを利用した環境学習会、環境学習リーダー養成講座等を開催し、県民の環境学
習推進を支援していく必要があると思われる。

Key words : 環境教育, 環境学習, 体験的学習, 感性

Environmental education, Environmental study, Practical study, Sensitivity

はじめに

最近、環境への関心の高まりや学校教育における総合
的な学習の時間の導入等により、にわか環境教育・学習
が取り上げられている。

当研究所では県民の環境学習推進の支援として、環境
学習資器材の提供、学校からの依頼による環境学習会の
開催及び環境NGOとのパートナーシップの模索など
を行っている。

しかし、これらは平成11年度から環境庁の総合環境学
習ゾーン・モデル事業の拠点として活動を始めたからで
あり、それ以前はほとんど環境教育・学習に関する業務は行
っていなかった。

そのため、本研究テーマが決定された際、環境教育・学
習について基本的な考え方の構築が不足していた。

本来は、環境教育・学習の基本的な考え方があって、そ
のうえで研究所としては何をすべきか考え、こういった
ことを研究してみようという流れがあるはずだが、いき
なり、それを飛ばして環境教育プログラム（以下「プロ
グラム」という）を開発して、提供するという課題を与
えられた。

当初は既存のプログラムを収集・分析し、まとめること
に徹していたが、2年目からは環境教育・学習に対する自
分なりの考え方を固め、実際にプログラムを体験してみ
た。

そして、既存の環境プログラムを参考にし、研究所と
してのプログラムを試作し、試行した。

なお、研究所では教える側も学ぶ側も自ら学ぶという
主体性を重視し、環境学習という言葉を中心に使っ
ている。

今回は研究テーマに併せて、あえて環境教育という言
葉で統一した。

調査方法

1 既存の環境教育プログラムの調査・分析

まず、プログラムと呼ばれているものにはどんなものがあるか、他県の環境学習ハンドブック及び研究報告書、雑誌、新聞を参考に調査を行い、体系・対象・活動場所別に分類をした。

2 環境教育プログラムの体験

環境教育を研究するにあたって重要なことは、自ら体を動かし体験することである。本を読んだり机上の空論を述べても少しも進まない。そのため、いくつかの環境教育の場に参加し、プログラムを体験した。

参加したのは、星空観察会、水生生物による水質調査、ネイチャーゲーム、エコミュージアム、ワークショップなどである。主催者は環境NGO、国、自治体である。

3 環境教育プログラムの試作と試行

環境教育プログラムを調査、体験していくことによって、環境教育として効果的なのは体験的学習であるという1つの結論に達した。そのため、体験型を中心としたプログラムを作成し、小中学校にて試行した。

そのほかにも学校、消費者団体に対してもプログラムの提供を行ったり、環境NGOとシンポジウムを開催した。

結果及び考察

1 既存の環境教育プログラムの調査・分析

既存のプログラム132本について調査整理を行い、活動形態・活動対象・活動場所別に分類をした。

活動の形態別に分類した結果、体験を通して学ぶものが最も多く55%、ついで絵を描いたり、ものを製作したりする創作活動が20%を占めた。

また、五感を使って感受性を高めるものが13%、大気や水質の測定をするものなど実験を通して学ぶものが12%を占めた。

この分類からいえることは、どれも知識詰め込み型の学習ではなく、自ら体を動かし体験を通して学ぶというものが多く、これは、環境教育を考える上で、体験的学習が効果的であると考えられているからだろう。

次に、活動の対象別に分類した結果を(図1)に示した。

これはプログラムが何を対象としたかを分類したものであるが、1つのプログラムが1つの対象とは限らず複数の対象にまたがっていることが多かった(e.g. 廃棄物を対象としたプログラムはゴミのほか、リサイクル、エネルギー問題も絡んでくる)。

分類の項目が適切とはいえないが、非常に対象は多岐

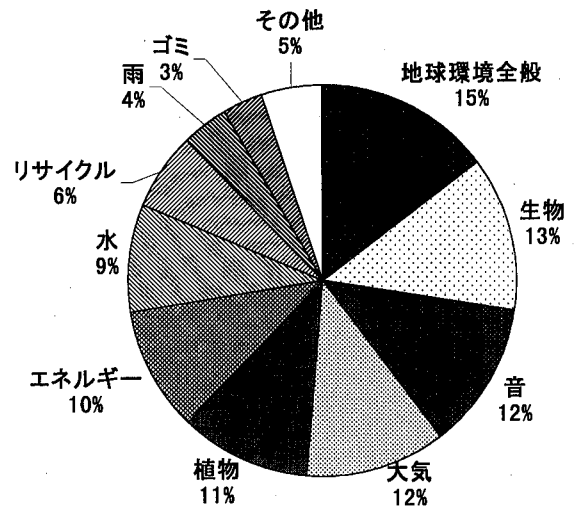


図1 活動対象別

にわたっていた。これは、現在の環境問題が、複雑・多様化しているためだと考えられる。

また、対象は身近な問題が多く、環境問題の主な原因が私たちのライフスタイルにあることも意味している。

最後に活動場所別に分類した。その結果、屋内で活動するものが59%、屋外で活動するものが33%、どちらでも活動できるものが8%を占めた。意外と屋内で活動するものが多かったが、これは今回調査した文献等が生活系(生活スタイルから環境問題を考えるもの)を主眼としたプログラムが多かったためである。

一般には自然系(自然の中から環境問題へつなげていくもの)のプログラムが多い。これは、自然体験を通して学ぶ方が楽しく学べ、かつ、教えやすいということであろう。

自然の中から環境問題を考えていくと原因は生活スタイルにつながっていくし、生活スタイルから環境問題を考えていくと自然の破壊へとつながっていく。したがって、自然系、生活系どちらのプログラムが重要というわけではなく、それぞれお互いに密接なつながりがあり、それぞれをうまく活用していくことが重要である。

この後、実際にプログラムを体験したり、試作・試行するに従い分かってきたことは、ここで調査したプログラムは1つのアクティビティであり、プログラムそのものではない。

環境教育の最終目的は豊かな感性を持ち、自ら環境問題に対して行動できる人間を育てることであると思う。

環境問題に関心を持ち、実体を知り、環境問題を自分のこととしてとらえ、自ら行動に移るという一連の流れを導くきっかけになるのがプログラムである。

自然観察、ゴミの量調査、水質調査などはそれ自体は環境教育の1アクティビティとして有効であるが、単なる自然観察や環境調査で終わっており、環境保全目的とした行動に結びつけることに至っていない。

したがって、アクティビティを組み合わせ、行動に結びつく目的に合ったプログラムを作ることが必要である。

2 環境教育プログラムの体験

プログラムを検討する場合、文献を読んで想像するだけでは効果、参加者の気持ちの変化などをとらえることはできない。そこで次のような環境教育の場に参加し、プログラムの在り方を検討した。

1) 水生生物による水質調査

環境NGO主催の調査会に参加したほか、自らいくつかの河川において調査を行った。

調査方法は、水辺に生息する多くの生物のうち、水生昆虫の幼虫等の生物が、水質の変化に敏感で、その地点の水質によって生息する生物の種類や数が増減するという特性により、河川の水質を評価しようとするものである。この調査法は、高価な器具やBOD（生物化学的酸素要求量）等のような化学的分析のための特別な技術を要しないことから、誰でも調査を行うことができ、得られた結果は直感的に理解することが容易である。

具体的には、Ⅰきれいな水、Ⅱ少し汚れた水、Ⅲきたない水、Ⅳ大変きたない水の4つの水質階級に判定するものである。

この調査は生物を捕獲して、観察することがメインであるため、子供たちには非常に人気があり、大人でも十分楽しむことができる。さらに、調査を通じて身近な自然に接し、水質の状況を知ることにより環境問題への関心を高める良い機会にもなる。

ただ、参加したどの水生生物調査にもいえることであるが、自然観察に終わってしまっており、どうして川は汚れてしまったのか、汚さないためにはどうしたらよいのかという行動に結びつく環境教育の域まで達していない。

しかし、水の大切さや生活排水と川の汚れについて考えるプログラムの1つのアクティビティとしては非常に効果的である。

2) エコミュージアム

『エコミュージアム』とは、フランスのアンリ・リビエールによって考え出された新しい形の博物館である。これは、エコロジー（生態学）とミュージアム（博物館）を組み合わせた言葉で、地域の自然・歴史・文化そして人々の生活全てを対象としている。それは、空と緑と水に囲まれたまさに『屋根のない博物館』といえる。

藁科エコミュージアム研究会主催のエコ・ミュージアム入門講座に参加した。1泊2日の日程で、静岡市の榎尾青少年の家を中心に行われた。榎尾地区は藁科川上流の山間中腹に位置していて、林業・お茶・椎茸栽培等を主体とした集落である。入門講座の日程を（表1）に示

した。

表1 エコ・ミュージアム入門講座内容

《1日目》

- ・講演：フランスにおける「エコ・ミュージアム」の実態
- ・講演：山の宝、あなたで変わる
- ・藁科の方々と囲んで、フリートーク（昔話、昔の生活など）

《2日目》

- ・藁科周辺の歴史的景観について説明
- ・班に分かれて山里周辺を実際に探訪
- ・山里周辺を歩いてみてそれぞれが感じたこと、エコミュージアムの可能性について討論

参加して印象に残ったことは、「ただの田舎などどこにもないという発想」と「環境NGOの知識と経験」であった。

まず「ただの田舎などどこにもないという発想」であるが、2日目のフィールドワークで山里を歩いてみると、何気ない風景の中に発見することがたくさんある。

山道は事前に話を聞いておくと昔の人の生活が感じられると同時に、よく見ると様々な珍しい植物がある。集落に行けば、石垣は天然のピオトープである。

ちょっとしたほころも実は長い歴史があり、その言い伝えを聞くと妙にただのほころが光り輝いてくる。集落の人はみんな親切でいろいろなお話をしてくれる。

地域の住んでいる人にとっては大したものではなくても、外の人から見るとすばらしいものに映る。こういった視点で見たことのなかった私にはとても驚きであった。

エコミュージアムによって、地域全体の環境を保全し、エコツアーなどで外からの人を呼び込むことによって、地域の活性化も図ることができ、農林水産業の活性化にもつながっていくと思う。

規模が大きく、即プログラムとして使えるものではないが、有効なものであることは間違いない。

ただし、問題点として、外の人を呼び込むことにより単なる観光地化するのではないか、地元の人の意向をどう酌むか（外部の人間が勝手にやっていたいものなのか）などが挙げられる。

次に「環境NGOの知識と経験」であるが、環境NGOは情報・知識ともに豊富で、まさにその道のスペシャリストであり、これを活かさない手はないと思った。

今後、研究所にて環境教育を展開していく場合、企画・実施面において活躍が大いに期待できる。研究所はそれらのコーディネーター役を担うべきである。

3) ネイチャーゲーム

1979年、米国のナチュラルリスト、ジョセフコーネル氏

により発表された五感を使って自然を直接体験するプログラム（野外活動）である。ネイチャーゲームには現在100種類以上の活動があり、四季折々に子供と大人と一緒に自然とふれあうことができる。

ネイチャーゲームの目的は「自然への気づき」である。「自然への気づき」とは、五感で自然を感じ、心と体で直接体験することによって、豊かな感受性を育て、自然と自分が一体であることに気づくことである。

日本平ネイチャーゲームの会主催「ネイチャーゲーム冬の会」に参加した。当日行ったプログラムは次の3つ。

- ・動物あてゲーム：ある動物のヒントを出し、その動物を当てるもの。
- ・フィールドパターン：自然の中に隠れたいろいろな形や模様を探すゲーム。渡されたカードに○△□☆WX Yなどの記号が描いてあり、それと同じ形のものを自然の中で探すもの。
- ・木のシルエット：自分の好きな木を体で表現し、他人に当ててもらおうもの。

プログラムの中で、導入部分の環境への関心・気づきや自然体験のアクティビティとして使うことが有効である。

4) ワークショップ

ワークショップとはある目的について、グループで作業を行うものである。したがって、厳密に言えばプログラムを活かす手法ともいえる。

(表2) にワークショップの一例を示した。

①アイスブレイク 緊張の解きほぐす、ゲーム、自己紹介など。
↓
②テーマに関してグループワーク KJ法等によりテーマについて、全員が話し合う。
↓
③KJ法とは、込み入った考えを整理したり、より新しいアイデアを生み出す方法として、グループワークにより、意見や結果を附箋やカラーマジックを使い、模造紙に図やイラストを使ってまとめる。
↓
④各グループごとに発表
↓
⑤シェアリング 簡単なワークシートを使った個人の「ふりかえり」と話し合いによる他者との「わかちあい」を行う。

ワークショップの特色は、グループで作業を行うことにより、全員がアイデアを考えたり育てたりすることに参加でき、お互いに価値観を共有することができることである。

また、自分自身が参加できるという楽しみがあり、成

し遂げられた充実感は気持ちを高め、その後の行動にもつながっていく。

プログラムを考える際、ワークショップ形式を取り入れていく必要がある。実際、この後述することであるが、研究所で試作したプログラムもワークショップ形式を中心としている。

その他に静岡市内で行われた星空観察会に参加した。観察会では、天体望遠鏡にて季節の星座及び月、木星、土星などの身近な天体の観察を行った。

光害や大気の状態等の環境問題を学ぶ1つのアクティビティとしては使えるだろう。

3 環境教育プログラムの試作と試行

プログラムの調査・分析及び体験を通して、プログラムの在り方を考えた。

- ・環境に関心を持ち、環境に対する人間の責任と役割を理解し、環境保全活動に参加する態度や問題解決に資する能力を育成することを通して、一人ひとりを具体的な行動に導くものであること。
- ・知識はあっても具体的な行動に結びつかないのは、環境問題を他人事としてとらえているためである。したがって、他者の立場になって考えることができるような感性を育てること。

『「知る」ことは『感じる』ことの半分も重要ではない』
レイチェル・カーソン著作「センス・オブ・ワンダー」より

- ・身近な自然や人との付き合い、心の琴線に触れるような豊かな体験を取り込むことにより感性を育てるものであること。
- ・参加者の自主性を重視し、答を押し付けるものではないこと。環境教育において間違った答はない。
- ・楽しく行うものであること。

以上のことを念頭にいくつかのプログラムを試作し、試行した。

1) 水と私たちの生活

水と人間、そして人間生活が水に与える影響について知らせることにより、自分を守るために水を守る必要性を意識させ、水を守るためには、現在の生活様式を改め、破壊されつつある生態系を保全しなければならないことを学んでもらうプログラム。

県内の小学校1校及び中学校3校にて環境学習会を行った時に使用した。具体的な内容を(表3)に示した。

小学生と中学生では多少反応の違いが見られたが、次のことがいえる。

- ・体験の学習は子供たちの興味を引いていた。特に、水生生物の観察及びワークショップは「おもしろかった」、

表3 水と私たちの生活

- ①アイスブレイク (導入)
 - ・ジャンケン列車, 宇宙船地球号, カクテルパーティー等参加者の年齢, 人数, プログラム等により決定する.
- ↓
- ②水と人間の関係 (対話・クイズ形式, パネル使用)
 - ・人間の1日の水の摂取量及び排出量
 - ・人間及び食べ物の含水量
 - ・人間は水なしで何日生きられるか
 - ・水の三態及び働き
- ↓
- ③ビデオ「水生生物から川のごれを調べよう」
 - ・水生生物及び調査法の紹介
- ↓
- ④水生生物の観察
 - ・会場近辺の河川において採取した水生生物を観察し, その河川の水質階級を判定する.
- ↓
- ⑤ワークショップ
 - ・班に分かれて, 川を汚している原因は何か, 川を汚さないためにはどうしたら良いか話し合い, 模造紙に図やイラストを使ってまとめる
 - ・各班話し合いの結果を発表する.
- ↓
- ⑥シェアリング
 - ・ふりかえりシートを使い, 個人でふりかえりを行う.

「興味深かった」という意見が多かった.

- ・ワークショップでは子供たちが自主的に話し合った班がよいまとめ方をしていた. 反面, 教師が関与しすぎてしまった班は, 子供たちの主体性に欠けたまともになっていた.
- ファシリテーター (ワークショップの流れを作る役) は, 参加者自身の気づきをうながしたり, 話し合いの流れを作るのが役目. 基本的に介入は禁物.
- ・水生生物調査はフィールドでやりたいという意見も多かったし, そのほうが効果的であると思う (時間の都合でできなかった). 自然体験が不足した.
- ・水と人間の関係の学習では対話・クイズ方式を採用し, かつ, イラストパネルを使ったため, 集中が途切れることなく行うことができた.
- ・ビデオは一方的な学習になってしまうため, 集中が途切れたり, 興味が薄かったので途中から廃止した.
- ・アイスブレイクは参加者の年齢, 人数, プログラムの内容, 場所により行うアクティビティを決めるが, 主催側の思うとおりにいかないものが多く, 選択が難しい.
- ・ふりかえりでは数値で6段階に評価するタイプと文章を完成させるタイプ (私が学んだことは○○○です, など○○○を言葉で埋める) の2種類のふりかえりシートを使った.

この方法は, 主催者側が参加者の考え方や気持ちの変化を分析できるが, 環境教育のふりかえりになっていない.

今日感じたこと, 学んだこと, 気づいたことなど気持ちの高まりをみんなで話し合い, 分かち合うことがふりかえりである. 今後はふりかえりシートを記入するだけではなく, 話し合いを加えるべきだろう.

次にふりかえりシートを使って, プログラム終了後の反応・効果を分析した.

(図2) に参加者の興味を引いたアクティビティについての質問結果を示した. なお, 参加者は中学3年生である.

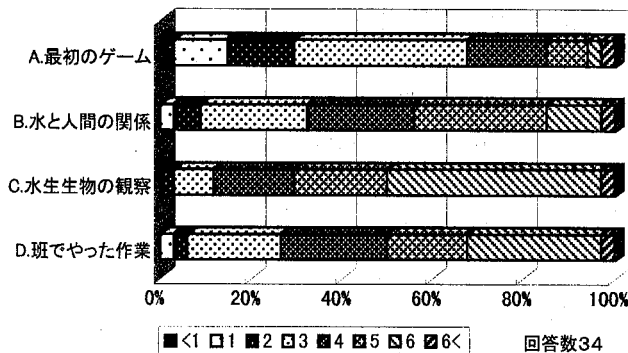


図2 あなたが興味を持ったことは…

水生生物の観察は, 5以上が70%を占めた. 班でやった作業と水と人間の関係は5以上が半数を占めた. 特に, 班でやった作業については最高点の6をつけた生徒が多かった. やはり, みんなで作業をしたり, 体験を共有することは楽しいことなのだろう. 最初のゲームは, 70%近くが興味がない又はどちらかという興味がないの回答であった. アイスブレイクはその時々によって評価が変わり, 好評のときもあるが, 今回は適していなかったことを示している.

次に「環境問題が起きているのが分かっているけど, 一人ひとりが地球を守っていくための行動をしないのはなぜだと思いますか。」という質問をした.

以下集計結果 (数字は回答数を表す: 回答者数34)

・面倒くさい, 大変だから	8
・一人ひとりが環境問題を身近な問題に感じていない, 他人事に思っている人が多い	5
・これくらいならいいだろう, 少しぐらいならいいだろうと思っているから	3
・自分ひとりでやっても改善しないから	2
・国がなっていないから	2
・こんなに汚いとは知らないから	2
・みんないいかげんだから	1
・行動しても何ももらえないから	1
・いいものがたくさんあるから	1
・そう思っているけどできないから	1
・分からない 2, その他 2, 無回答 4	

やはり、環境問題は他人事であると考えているため、面倒くさい、大変でできないという意見が多かった。また、少しぐらいならいいだろうという危機感の無さや自分ひとりだけやってもしかたがないという無力感を持っている生徒もいた。これらは他者の立場にたって物事を考える感性が乏しいためであろう。したがって、自然や人との付き合い、豊かな経験の機会を増やしていかなければならない。

反面、非常に危機感をもっており、一人ひとりが環境問題を自覚していかなければならないと考えている生徒もいた。特に他人事に思っている人が多いと的確に分析している子がおり、今後こういう子を増やしていくためにも環境教育は不可欠であると感じた。

次に、「私が学んだことやこれからやってみようと思ったことは」という問いかけをした結果を示す。対象は小学校4・5年生及びその保護者である。

(生徒)	
・ゴミを捨てない、減らす、ゴミ拾い	25
・川や海を汚さない、大切にする	19
・水生生物を観察する	13
・家庭排水、きたない水を流さない	8
・油を流さない	5
・水を大切にする	4
・リサイクル	3
・川の汚染原因	2
・人間の体と水の関係	2
・環境や公害の勉強をする	2
・工業排水を減らす	1
・ない	3
(保護者)	
・家庭排水に気をつける	10
・水生生物の観察	3
・子どもと環境について話し合う、活動する	3
・川や海を汚さない、大切にする	2
・ゴミやタバコの吸殻を捨てない、拾う	2
・水の使い方	1
・環境学習について	1
・地球環境問題は他人事ではないため、自分も気をつける	1
・川の汚染	1

生徒は、ゴミを捨てないという意見が圧倒的に多かった。短時間ではあるが、今までにない体験をし、一時的かもしれないが考えることができたと思われる。

保護者は、家庭排水を流さないという意見が多かったが、環境について子どもと話をし、活動するという意見があった。親子で環境について学ぶことを実施し、その効果をみる必要がある。

2) 地球環境問題と身近な環境問題

今日の環境問題は、一企業や産業、一地域の問題から

地球規模の問題へと変化しており、その多くは、私たちの日常生活、事業者の通常の事業活動から生ずる環境への負荷によって生じている。

身近な環境問題と自分のライフスタイルとの関係を見直し、その先が地球環境問題へとつながってくることを認識してもらい、自分にできることは何か考えさせるプログラム、高等学校理科教諭の参加によるプログラムを(表4)に示す。

表4 地球を守るためには

- ①アイスブレイク (導入)
 - ・自己紹介シート (2つの窓) を実施。
- ↓
- ②身近な環境問題を考える (ワークショップ形式)
 - ・身近な環境問題を考え、附箋に書き出す
 - ・全員の意見をラベリングしながら話し合い、分類する
 - ・その対策を考える
 - ・模造紙に附箋やカラーマジックを使い、図やイラストでまとめる

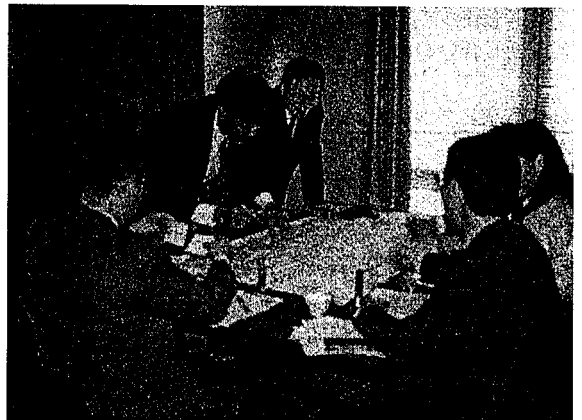


図3 ワークショップの状況

- ↓
 - ③地球規模での環境問題と自分の位置を知る (ワークショップ形式)
 - ・地球規模の環境問題の洗い出し
 - ・先に討論した身近な環境問題が地球規模の環境問題に通じていることを考える
 - ↓
 - ④シェアリング
 - ・ふりかえりシートを使い、個人でふりかえりを行う。
- ※なお③は時間の都合により行えなかった

ふりかえり時にプログラムを体験し感じたこと、気づいたこと、興味があったことなどを書いてもらった。

その結果、全体的にワークショップに関する評価が高く、興味があったと答えた人は約80%になった。また、学校の授業に取り入れることを考えている教諭もいた。

環境教育の手法を学んだだけでなく、自分自身の環境学習にもなったという意見もあった。学校は外部からの

情報を欲しており、環境教育の情報提供をしていくことが必要だと感じた。

反面、高等学校における環境教育に限界を感じている教諭もいた。高校生ぐらいになると自分の価値観が固まってきており、このようなプログラムでは変えることはできないし、今の受験勉強を中心とした教育制度では行う余裕がないという意見もあった。

やはり、早い時期からの環境教育、できれば幼児期からの環境教育が必要である。

3) その他

紙面の都合により詳細は略すが、次のようなプログラムを実施した。

- ・環境NGO（麻機自然観察会）に講師を依頼し、中学生を対象とした、自然観察から環境について考えるプログラムを麻機遊水地で行った。
- ・小学校社会科の体験的授業のカリキュラムを共同で検討し、河川調査（COD・DO）やガムテープを使った大気汚染調査及び生徒の行動に結びつく流れをつくることなどを提案した。
- ・消費者団体の酸性雨調査において、研修会の開催及びpH試験紙による調査法を提供した。
- ・環境NGOと「しずおかミズアオイシンポジウム」を開催し、地域の自然を見直し、再度環境について考える機会を提供した。

ま と め

- 1 環境教育を行ううえで大切なことは、知ることでなく感じることで、豊かな感性を育てることである。
- 2 そのためには、豊かな体験や人との付き合いが必要となる。それには体験型のプログラムが効果的であ

る。

- 3 現状の自然観察や自然体験はプログラムの1アクティビティにはなりえるが、観察や体験に留まっており、環境保全に対する具体的な行動まで導くものになっていない。したがって、いくつかのアクティビティをうまく組み合わせ、行動に導くプログラムを考える必要がある。
- 4 研究所で試作したプログラムは効果があったが、失敗もあった。プログラムを考える場合、基本となるプログラム（水、ゴミ、生態系など）を作成し、参加者や場所、実施結果によってアレンジを加え行うことがよいと考える。
- 5 今後、研究所としては、一人でも多くの環境に関心を持ち、自ら何をすべきか考えられる人を育成する必要がある。プログラムを利用した環境学習リーダー養成講座、環境学習講座（一般向け・親子向けなど）を行う必要がある。そのためには、豊富な知識や経験を有している環境NGOとのパートナーシップが不可欠である。また、学校、地域、企業との連携も考えていく必要がある。

参 考 文 献

- 1) 小野三津子：つながりひろがれ環境学習，ぎょうせい，(1996)
- 2) 中央環境審議会：これからの環境教育・環境学習－持続可能な社会をめざして－，(1999)
- 3) 千葉県環境調整課：環境学習ガイドブック，(1994)
- 4) 山梨県環境科学研究所：環境教育成果集第2号，(1999)

干潟モデルの設計に関する研究 —浜名湖の干潟の浄化能力について—

大気・水質部 水質環境スタッフ 鈴木孝雄, 田口弘道, 杉本勝臣
滝本俊晴, 平井一行, 室伏由紀
味岡嘉輝, 石渡達也

Studies on designs of tidal flat models

—Purification capacity of tidal flats in the Lake Hamana—

Takao SUZUI, Hiromichi TAGUCHI, Katsuomi SUGIMOTO, Toshiharu TAKIMOTO,
Yuki MUROFUSHI, Yoshiteru AJIOKA, and Tatsuya ISHIWATA

浜名湖の水質浄化に一定の役割を果たしていると考えられる干潟について、その基礎的な構造や機能を有機物浄化量を評価する観点から調査を行い、水生動植物を活用した浜名湖の水質浄化技術開発のプレ研究として、効果的な干潟の構成要素を検討した。試みに、調査した干潟から有機物浄化量を推定したところ浜名湖への流入炭素負荷量の約0.9%程度であった。

Key words : 干潟, 浄化量, 呼吸量, 浜名湖

Tidal flat, Purification magnitude, Respiration rate, The Lake Hamana

はじめに

干潟^{1) 2)}は昔からレクリエーションや潮干狩りを楽しむ場所であると共に、漁業の場であり、水産生物の繁殖、育成の場として活用されてきた。しかし、沿岸域開発により多くの干潟が埋め立ての対象となり、日本では昭和20年代から昭和53年までに40%が消滅したとされる。このような中で、水鳥と湿地に関する国際会議が開かれ、一般には「ラムサール条約」と呼ばれる国際条約が結ばれるなど、湿地や干潟の重要性が改めて注目されている。

干潟の浄化能力を評価する手法が検討されている^{3) 4) 5)}が李ら⁶⁾は干潟の創出ならびに管理手法に関する基礎的知見を得るため、干潟の物理化学的、生物学的な構造と有機物分解機能を人工及び自然干潟について比較し両者のちがいが及び浄化能力をもとめた。

浜名湖では浜名湖浄化対策として陸域からの汚濁物質

の削減など各種の対策を実施しているが、一部の地点において環境基準が未達成となっている。石渡らは、自然浄化能力として期待される干潟の役割を浜名湖の水質浄化の一手段と考えて、李らの研究を参考に干潟の構造、機能等を調査し、基礎的知見を得るとともに浄化能力の評価を試みた。この調査を継続すると共に、水生動植物を活用した浜名湖水質浄化技術のプロジェクト研究のプレ研究として、効果的な干潟の構成要素を検討した。

実験方法

1. 研究対象干潟

浜名湖岸の多くは直立護岸であるが、湖南部には護岸の海側に、干潟や浅海域が存在している。研究対象干潟は図1に示す弁天島東側の水路脇の蓬莱園前（以下蓬莱園前干潟と呼ぶ）と村櫛海岸（以下村櫛干潟と呼ぶ）の2ヵ所を前回調査に続いて選んだ。蓬莱園前干潟はアサリの養殖場の一部となっている。村櫛干潟は村櫛半島の西に位置し、湖中央に面している。調査は、1999年6月から2000年3月にかけて行った。

2. 浄化量の推定

浄化量の推定は、李らの手法に準拠して行った。

すなわち干潟の浄化能力は、干潟上での物質循環は定常

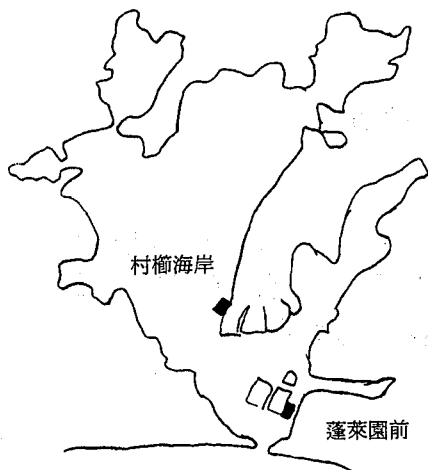


図1 浜名湖

状態にあり干潟への炭素の持ち込みと持ち出しは等しいと考え、干潟からの炭素の持ち出しを定量化し算定した。干潟からの炭素の持ち出しは土壤中の付着藻類、細菌、メイオVENTス、マクロVENTスの呼吸による二酸化炭素の大気中への拡散によるものとした。

海水由来及び付着藻類が生産した有機物は海水の浸透の認められない土壌深部にはほとんど供給されないことから、今回は浄化の起こる土壌の深さを海水の透水層とし、透水層に棲息する細菌やメイオVENTスが浄化に関与しているものとした。マクロVENTスは深さに関係なく土壌中に存在するので全マクロVENTスが関与するとした。

3. 土壌の採取

土壌は大潮時の高潮位と低潮位のほぼ中間点で採取した。内径10.5cmのポリカーボネート製円筒を用いて原則として深さ30cmまでの土壌試料を採取した。採取した試料は実験目的によりそのまま、または深さ別に分割して実験室に持ち帰った。

4. 土壌の物理化学的な特性

干潟土壌の物理化学的な特性を調べるために粒径分布、有機炭素量、強熱減量、酸化還元電位を測定した。粒径分布は土壌試料を蒸留水で洗浄脱塩した後30%過酸化水素水を加え一昼夜放置して有機物を分解し乾燥した。土壌試料をふるい法でレキ (>4.75mm)、細レキ (2.0~4.75mm)、粗砂 (0.425~2.0mm)、細砂 (0.075~0.425mm)、シルト (<0.075mm) の五種類に分けた。また中央粒径はJISA1204の粒径加算曲線表より求めた。

有機炭素量は、105℃で2時間乾燥させ2mmメッシュのふるいでふるった土壌試料をWalkley法⁹⁾により測定した。

強熱減量は、105℃で乾燥した土壌試料の重量を測定し、さらに600±25℃で加熱し重量の減少を乾燥土壌の重量に対する百分率で表した。

酸化還元電位は、円筒管で採取した土壌を実験室に持ち帰り、湿泥10gに純水25mlを加え、4℃で6時間密封して安定させた後、東亜電波製ポータブルORP計 (RM12P) で測定した。

5. 土壌の水理学的な特性

地下水位測定は、干潟に穴の開いた円筒管を突刺し地下水が十分見えるまで内部の土壌を取り除き、干潮時間を中心に地下水位を測定した。

透水性は変水位透水試験法⁹⁾により測定した。柱状のまま持ち帰った土壌試料の入ったカラムを100メッシュのふるいの上に立て土壌表面から約20cmになるよう蒸留水を入れて水位低下速度を測定して透水定数k (cm/sec)を次式より求めた。測定では、まず30cmの土壌試料の透水試験を行った後、底から5cmずつ取り除き順に透水試験を行った。

$$k = (aL / A (t_2 - t_1)) \log (h_2 - h_1)$$

ここで、 a : カラムの断面積 (cm²)

L : 試料土の長さ (cm)

A : 試料土の断面積 (cm²)

h₁ : 時間 t₁ のカラム内の水位 (cm)

h₂ : 時間 t₂ のカラム内の水位 (cm)

6. マクロVENTスの個体数と種の同定

マクロVENTスの計数用土壌は25×25×25cmのコドラートを用いて採取した。現場で1mmのふるいにかけて残ったものを直ちにホルマリン10% (v/v) で固定した。実験室に持ち帰りマクロVENTスを分別し同定、個体数の計数、現存量の測定を行った。現存量は、貝類の殻を除き105℃で乾燥させ重量とした。

7. 呼吸速度の測定

付着藻類、細菌及びメイオVENTスの呼吸速度は二酸化炭素の発生量から求めた。30mlのバイアル瓶にVENTスを除いた土壌5gと緩衝液15mlを入れて密栓する。緩衝液は0.2Mトリス (ヒドロキシメチル) アミノメタンを人工海水で4倍希釈した後、pH7.9に調整した。これを20℃の恒温室で24時間攪拌した後、遠心分離 (1600rpm, KUBOTA KN-45) し、その上澄み液から緩衝液中の無機炭素をShimadzu TOC-5000Aで測定した。気相中の無機炭素量は無視⁷⁾して呼吸速度は乾燥試料重量1g当たり1日に発生する二酸化炭素量として示した。

結果と考察

1. 干潟の物理化学的構造

表1に両干潟の深度別土壌の粒径分布を示す。蓬萊園前干潟は、れきが20cmから30cm層で19%を示しているのが特徴的である。シルトは1.4から2.4%で見た目より

表1 土壌の粒径分布

蓬萊園前干潟 検体層cm	平均値 単位：%					中央粒径mm
	>4.25mm れき	4.75~2.0mm 細れき	0.2~0.425mm 粗い砂	0.425~0.075mm 細砂	0.075> mm シルト	
0~2	0.7	0.1	29.4	68.4	1.4	0.31
2~5	0.0	0.3	34.0	64.0	1.6	0.33
5~10	0.5	0.5	33.9	63.4	1.7	0.34
10~15	0.2	0.8	29.3	67.6	2.0	0.31
15~20	1.1	1.3	28.2	67.6	1.8	0.31
20~25	19.0	3.8	29.1	45.7	2.4	0.46
25~30	18.7	3.1	33.0	42.9	2.2	0.51

蓬萊園前干潟 検体層cm	平均値 単位：%					中央粒径mm
	>4.25mm れき	4.75~2.0mm 細れき	0.2~0.425mm 粗い砂	0.425~0.075mm 細砂	0.075> mm シルト	
0~2	0.1	0.1	27.5	71.0	1.2	0.30
2~5	0.1	0.0	31.1	67.7	1.1	0.33
5~10	0.0	0.1	23.1	76.0	0.8	0.28
10~15	0.2	0.1	21.8	77.1	0.9	0.27
15~20	0.1	0.3	29.8	68.9	1.0	0.31
20~25	1.8	0.2	26.4	70.1	1.4	0.30
25~30	0.3	0.4	30.8	67.4	1.0	0.32

少ない。20cmまでは、60%以上が細砂であった。村櫛干潟では、いずれの層も細砂が67%から76%、粗砂が22%から31%を占め、平均して細砂と粗砂で98%を占めた。蓬萊園前干潟と村櫛干潟とを比較すると、蓬萊園前干潟は平均してシルトが1.9%に対し村櫛干潟は1%で、蓬萊園前干潟はやや泥質的であるのに対し、村櫛干潟は砂質的であり、これが後述する透水率に関係している¹⁰⁾と思われる。

表2に土壌中の有機炭素量、表3に強熱減量を示す。

表2 有機炭素量

検体層cm	単位：mgC/g	
	蓬萊園前干潟	村櫛干潟
0~2	1.41	0.64
2~5	1.04	0.73
5~10	0.68	0.35
10~15	0.56	1.13
15~20	1.78	1.72
20~25	1.76	2.66
25~30	1.70	2.39

有機炭素量は蓬萊園前干潟で深さ10cm前後で小さくなり、表層は1.4mgC/g、15cmから30cmまで1.7mgC/g程度であった。村櫛干潟では、5cmから10cm層で低く、それ以降、深くなるに従って大きくなる傾向を示した。強熱減量は蓬萊園前干潟で1.2%から2.0%、村櫛干潟では0.8%から1.1%を示し、蓬萊園前干潟の方がやや高い値を示した。

表4に土壌の酸化還元電位を示す。酸化還元電位は、必ずしも酸素濃度と正確な対応をしないが、底泥中の微

表3 干潟の強熱減量

検体層cm	単位：%	
	蓬萊園前干潟	村櫛干潟
0~2	1.4	0.8
2~5	1.8	0.9
5~10	2.0	1.0
10~15	1.8	0.9
15~20	1.2	1.0
20~25	1.6	1.1
25~30	1.2	1.0

表4 干潟土壌の酸化還元電位

干潟名 検体層cm	蓬萊園前干潟		村櫛干潟		
	1999/12	2000/01	1999/09	1999/12	2000/01
0~2	503	299	484	544	441
2~5	499	329	248	529	410
5~10	491	341	225	527	389
10~15	481	352	334	522	393
15~20	475	353	380	519	397
20~25	468	347	407	502	395
25~30	463	343	408	500	394

単位：mV

生物群集によるエネルギー代謝の様式と一定の関係を示すことから、好気性・嫌気性細菌の生息にとって重要な環境条件を表す指標として重要な測定項目であると考えられている。

6月に行った現地での分析は、正しいデータが得られず、持ち帰って行うこととした。9月の村櫛干潟の結果は表層で484mVあるが、2～5cm、5～10cmで248、225mVと低下し、その後再び高い酸化還元電位が見られた。この5cm前後の層に還元状態を示す黒い層が生じており、海岸には、アナアオサが腐敗して異臭を放っている環境からすると、表層は海水中の溶存酸素によって好気的な環境にあるが、中層では腐敗した有機物により嫌気状態になり、下層で再び好気的環境に変化しているのではないかと思われた。その後、12月と1月の調査の結果は、いずれも表層がやや高く、低層がやや低い結果ではあるが大きな変化は見られず、アナアオサ等の有機物も見られないことから、有機物供給そのものが絶えて、好気的環境にあると思われた。蓬萊園前干潟は99年12月と2000年1月に測定を行ったが、12月が503mVか

ら深くなるに従って徐々に低下して463mVを示したのに対し、1月は299mVから徐々に高くなり10mから15cmで352mVを示し以後ほぼ同じ値であった。アナアオサの繁茂する時期から腐敗に至る過程をより細かく調査し、有機物供給と干潟の酸化還元電位との関係を調査する必要がある。

2. 干潟土壌の水理学的な特性

表5に透水係数を示す。蓬萊園前干潟で0～5cmで0.004、それ以深で0.009～0.025cm/s、村櫛干潟ではそれぞれ0.027、0.036～0.093cm/sであり村櫛干潟の方が大きい傾向は昨年の結果と同じであるが、透水係数そのものはやや小さい結果となった。

干潮時の地下水位の低下は村櫛干潟で70mm、蓬萊園前干潟で29mmであった。この深さが干潟土壌への海水の侵入する範囲で海水中の有機物の分解に寄与している領域と考え、この値を浄化能力の算出に用いた。

3. マクロベントスの現存量

マクロベントスの現存量を表6に示す。アサリの養殖域と重なった6月の蓬萊園前干潟を除いても、村櫛干潟より蓬萊園前干潟の方が多く、平均4.7g/m²であった。種としては、蓬萊園前干潟でアサリ、ウミニナ、モモノハナガイ、ニホンスナモグリ等が見られ、村櫛干潟ではヒメシラトリガイ、ホンヤドカリ、アサリ、ゴカイ、ウメノハナガイ等が見られた。粒径分布との関係で見ると、やや泥質的な蓬萊園前干潟が多く、砂質的な村櫛干潟が少ない結果となった。種数は、ほぼ同じである。

現存量の結果を文献値⁷⁾を用いて呼吸量として見ると蓬萊園前干潟で47mgC/m²・dから216mgC/m²・d(6月

表5 干潟土壌の透水係数

検体層 cm	単位：cm/sec	
	蓬萊園前干潟	村櫛干潟
0～5	0.004	0.027
0～10	0.009	0.036
0～15	0.011	0.041
0～20	0.015	0.043
0～25	0.020	0.053
0～30	0.025	0.093

表6-1 マクロベントスの現存量

調査日	単位：g dry/m ²					
	蓬萊園前干潟			村櫛干潟		
	軟体動物	節足動物	多毛類	軟体動物	節足動物	多毛類
1999/06/14	140.3	—	—	0.3	—	—
1999/09/06	*	*	*	5.6	3.6	9.6
1999/12/06	6.6	3.8	1.4	2.4**	—	0.3
2000/01/18	1.4	1.4	—	0.8	—	0.8
2000/03/16	2.2	—	—	0.3	0.3	0.2

表6-2 マクロベントスの炭素換算現存量

調査日	単位：mgC/m ²					
	蓬萊園前干潟			村櫛干潟		
	軟体動物	節足動物	多毛類	軟体動物	節足動物	多毛類
1999/06/14	32980	—	—	75	—	—
1999/09/06	*	*	*	1316	1494	2794
1999/12/06	1542	1594	419	564	—	93
2000/01/18	338	598	—	118	—	233
2000/03/16	526	—	—	75	133	47

注1) *欠測 注2) **6.11gのツメタガイは除いた

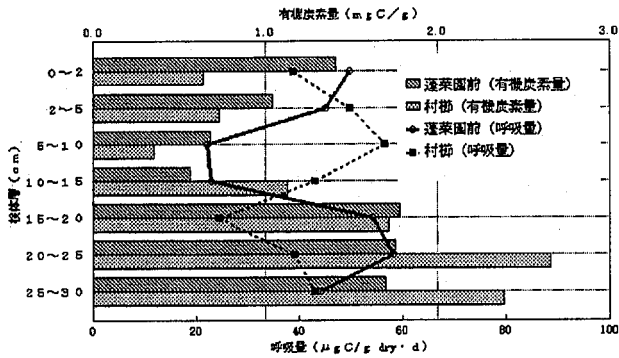


図2 干潟土壌中の呼吸量の有機炭素量

を除く), 村櫛干潟で $8 \text{ mgC/m}^2 \cdot \text{d}$ から $247 \text{ mgC/m}^2 \cdot \text{d}$ となった。

マクロベントス現存量の季節変動を村櫛干潟で見ると, 6月が非常に少なく, 9月に多く, 12月, 1月, 3月と減少している。12月の村櫛干潟で軟体動物のツメタガイがコドラート内に採取された。全体化して考える上で支障となるので計算から除いたが, 干潟を代表する採取法等を検討する必要がある。

4. 干潟土壌中の呼吸量

図2に干潟土壌中の付着藻類, 細菌とメイオベントスを合わせた深さ別の呼吸量と有機炭素量を示す。蓬萊園前干潟では深さ10cm前後で $22, 23 \mu\text{g C/g dry}$ と低く, 表層と25cm前後で $45 \sim 58 \mu\text{g C/g dry}$ と高くなっている。一方, 村櫛干潟は, 表層がやや低く, 5cm前後で $50 \sim 57 \mu\text{g C/g dry}$ と高くなり, 再び20cm前後で $24 \mu\text{g C/g dry}$ と低くなっている。ちょうど10cmほど深さをずらすとほぼ重なる傾向を示した。特に, 蓬萊園前干潟の土壌中の呼吸量と, 有機炭素量とは良く一致した傾向を示した。このことから, 呼吸量を把握することは, 付着藻類, 細菌, メイオベントスの生物活性をはかる指標として有用であると思われる。

そこで, 干潟土壌中の呼吸量と地下水位から透水層における 1 m^2 当たり1日の呼吸量を計算すると蓬萊園前干潟で 1673 mgC , 村櫛干潟で 4462 mgC となった。

5. 干潟の浄化量

浄化量は干潟土壌中の細菌等の呼吸量とマクロベントスの呼吸量から求めた。干潟としての浄化量は, 蓬萊園前干潟では 1 m^2 当たり1日 $1720 \sim 5097 \text{ mgC}$ となったが, 6月のデータを除けば $1720 \sim 1889 \text{ mgC}$ であり, 村櫛干潟では $4469 \sim 4708 \text{ mgC}$ と蓬萊園前干潟の約2倍となった。透水層の大きさが大きく関与する結果となった。前年度調査で用いた概算の面積を元にその浄化量を求めると1日当たりそれぞれ約 9 kgC , 41 kgC となり, 浜名湖への流入炭素負荷量を1日当たり $5680.3 \text{ kgC}^{11)}$ として(ここで炭素変換係数 $0.86 \text{ C/COD}^{12)}$ を用いた) 試算すると約0.9%となった。これは昨年調査のおよそ2倍にあ

たるが, 調査時期や, 調査地点のずれなどであり得る差と思われた。浜名湖全体を考えるには, より多くの地点と十分な測定回数が必要と思われた。

6. 今後の研究課題

浜名湖における干潟の浄化量を検討するには, 例えば東京湾における調査¹²⁾ に見られるように干潮時に水面上に露出しないとしても「生物量は沖合部よりも干潟部の方が豊かである」との結果からすると, $0 \sim 2 \text{ m}$ と $2 \text{ m} \sim$ 以深とに分けて生物量を調査することも必要ではないかと思われる。

また, 人口干潟を検討するにあたっては, マクロベントス等の生物種を確保した上で, 透水性を考慮した造成を検討する必要がある。その点では, 地下水位, 勾配, 構成するシルト成分等を目的とする干潟の役割に合わせた検討が必要と考える。干潟の持つ役割を大別すると水質浄化と生物多様性の確保であると考えられ, 特に後者を考えるとき干潟における生物生態構造や食物連鎖等について, 浜名湖内の地域特性を配慮した調査, 研究が必要となる。さらに干潟の生物相を論じる上で, 干潟の前面海域や干潟の後背地の状況を勘案した総合的な視点での検討が望まれる。浜名湖の干潟を流入河川域, 奥まった潟部分, 潮流, 波等の影響を受けやすい前浜など干潟地形のタイプや汽水湖としての特性も論ずる必要がある。

ま と め

干潟の物理化学的構造は, シルト質の多い蓬萊園前干潟の方が村櫛干潟より有機炭素, 強熱減量ともに大きい結果となった。透水係数は, 村櫛干潟の方が大きく, 地下水位も村櫛干潟の方が低下した。

干潟の浄化量は, 浜名湖流入負荷の0.9%と試算され, 前年度調査より約2倍大きい結果となった。干潟の浄化能力を過大に評価することはできないが, 干潟が浄化や生物多様性の確保に貢献していることは明らかであり, より効果的な干潟を作るため水生動植物を活用した水質浄化技術として浜名湖における干潟の研究をさらに進める必要がある。

参 考 文 献

- 1) 栗原: 干潟は生きている, 岩波書店, 12
- 2) 日本水産学会編, 水域の自然作用と浄化, 恒星社厚生閣, 111
- 3) 木村他: 東京都環境科学研究所年報, 1992, 89
- 4) 倉田: 瀬戸内海, 4, 76 (1995)
- 5) Dye, A.H.: Coastal and Shelf Science, 13, 671 (1981)
- 6) McLachlon et al.: Proc. Europ. Mar. Bio. Symp.

- 1990, 356
- 7) 李他, 水環境学会誌, 20 (3), 175 (1997) ; 21 (3), 149 (1998)
- 8) 日本水産資源保護協会編, 水質汚濁調査指針, 246
- 9) 土質工学会編, 土質工学ハンドブック, 土質工学会, 65
- 10) 時岡他, 海の生態学, 築地書店, 279
- 11) 静岡県, 浜名湖水質環境管理計画 (第2次), 1993, 61
- 12) 七都県市首脳会議環境問題対策委員会水質改善専門部会, 水環境学会誌, 24 (3), 149 (1999)

深層水中の深度別微量成分に関する研究 —駿河湾深層水の水質に関する研究—

大気・水質部 水質環境スタッフ 平井一行, 田口弘道, 鈴木孝雄
微生物部 環境微生物スタッフ 杉本勝臣, 瀧本俊晴, 守屋司子
環境科学部 環境科学スタッフ 増田教子, 杉山寛治, 郷田淑明
秋山真人
横山玲子

Studies on the Trace Ingredients containing Deep Sea Water at different Depth
— Studies on the Quality of Deep Sea Water in the Suruga Bay —

Kazuyuki HIRAI, Hiromichi TAGUCHI, Takao SUZUI, Katsuomi SUGIMOTO,
Toshiharu TAKIMOTO, Noriko MORIYA, Kyoko MASUDA, Kanji SUGIYAMA,
Yoshiaki GŌDA, Masato AKIYAMA, and Reiko YOKOYAMA

The Suruga bay is located in Shizuoka Prefecture and opening to the Pacific Ocean. This bay is so deep and steep that we can pump up the deep sea water which is beyond the reach of sunlight, deeper than 200m depth easily. It is known that its water quality are clean, cold and rich in nutrients, so, in Shizuoka Prefecture, researchers have been exploring its potential as industrial resources. But before processing the deep sea water, we must know its quantity of the chemical substances decided by Water Pollution Control Law for human health. As a result of analysis of the deep sea water in the Suruga bay, it was clarified that chemical substances and pathogenic bacteria were not found in comparison with environmental quality standard and water quality standard for drinking water.

キーワード 深層水, 水質, 駿河湾
Deep sea water, Water quality, Suruga bay

はじめに

駿河湾は表面積2300Km², 最深部が2500mに達する開放性の湾である。沖合いには黒潮が流れ、開放性の同湾の形状から黒潮の分枝流がしばしば流入する。水深が深いことからその鉛直方向の水塊構造は複雑で、300m以浅では黒潮系水が、300-800mには親潮系水が存在すると考えられている¹⁾。

深層水は基礎生産が盛んな有光層より深い、水深200~300m以深の水で、低温、富栄養、清浄という特性があることが一般的に知られている²⁾。静岡県でもそれら

の特性を生かして藻類の増殖、食品への利用などが検討されている³⁾。平成13年度には深層水の取水施設が完成し、毎日、大量の水が供給可能になる予定であるが、取水予定海域での深層水の水質、特に安全性に関する検討は極めて少ない。そこで駿河湾の深層水を環境庁告示の人の健康の保護に関する環境基準⁴⁾の項目等に関して分析し、また、含まれる細菌数を測定し、各基準値と比較することで、安全性を検証することを試みた。

材料及び方法

採水地点を図1に、採水点別の分析項目を表1に、分析方法を表2に示した。

結果

採水点別のCODの結果を表3に、報告下限値である0.5mg/l未滿の結果を0として求めた採水点別のCODの

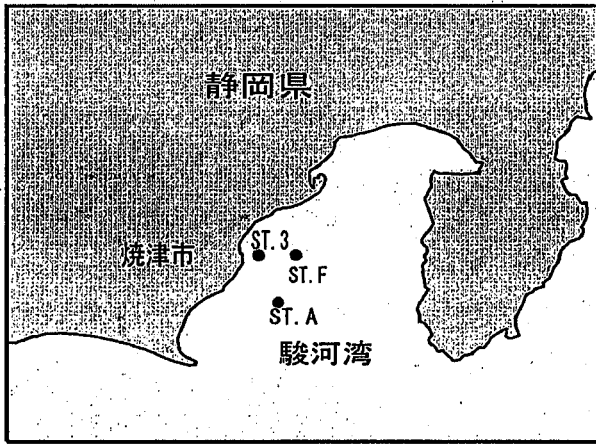


図1 採水地点

(ST. A : 34° 51.0' N, 138° 23.0' E
 ST. F : 34° 45.5' N, 138° 25.5' E
 ST. 3 : 34° 51.0' N, 138° 28.0' E)

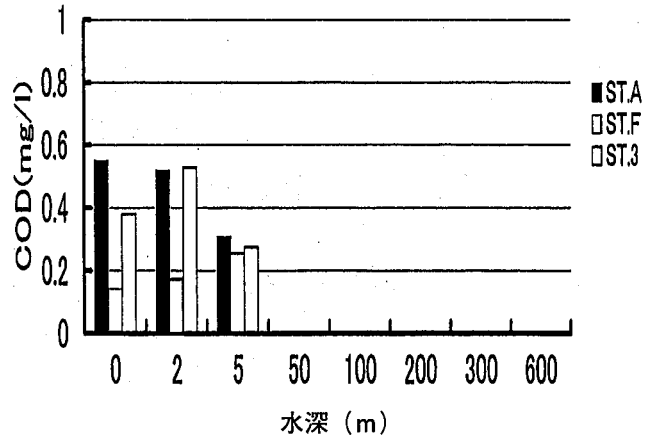


図2 採水点別のCODの平均

表1 採水水深と分析項目

station	A					F							3														
	0	2	5	300	600	0	2	5	50	100	200	300	600	0	2	5	10	20	50	70	100	125	150	200	300		
採水方法	B	K	K	N	N	B	K	K	N	N	N	N	N	B	K	K	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
COD	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	
カドミウム																											△
全シアン																											△
鉛																											△
六価クロム																											△
ヒ素																											△
総水銀																											△
PCB																											△
ジクロロメタン																											△
四塩化炭素																											△
1, 2-ジクロロエタン																											△
1, 1-ジクロロエチレン																											△
シス1, 2-ジクロロエチレン																											△
1, 1, 1-トリクロロエタン																											△
1, 1, 2-トリクロロエタン																											△
テトラクロロエチレン																											△
トリクロロエチレン																											△
1, 3-ジクロロプロペン																											△
チウラム																											△
シマジン																											△
チオベンカルブ																											△
ベンゼン																											△
セレン																											△
TBT																											□
TPT																											□
一般細菌														◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎
大腸菌群														◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎
腸炎ビブリオ														◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎

注：Bはポリエチレンのバケツ，Kは北原式の採水器，Nはニスキン採水器を示す
 ◎は8月12日，10月14日，12月8日，2月17日
 ○は8月12日，10月14日，12月8日
 △は10月14日，12月8日
 □は10月14日に採水し分析した

表2 分析方法

項目	分析方法
COD	JIS K0102 17 (100℃における過マンガン酸カリウムによる酸素消費量)
カドミウム	JIS K0102 55.1 (フレイム原子吸光法)
金シアン	JIS K0102 38.3 (4-ピリジンカルボン酸-ピラゾン吸光光度法)
鉛	JIS K0102 54.1 (フレイム原子吸光法)
六価クロム	JIS K0102 65.2.1 (ジフェニルカルバジド吸光光度法)
ヒ素	JIS K0102 61.2 (水素化物発生原子吸光法)
総水銀	JIS K0102 66.1.1 (還元気化原子吸光法)
PCB	昭和46年環境庁告示第59号付表3 (ガスクロマト法)
ジクロロメタン	JIS K0125 5.1 (パージ・トラップ-ガスクロマトグラフ-質量分析法)
四塩化炭素	JIS K0125 5.1 (パージ・トラップ-ガスクロマトグラフ-質量分析法)
1, 2-ジクロロエタン	JIS K0125 5.1 (パージ・トラップ-ガスクロマトグラフ-質量分析法)
1, 1-ジクロロエチレン	JIS K0125 5.1 (パージ・トラップ-ガスクロマトグラフ-質量分析法)
シス1, 2-ジクロロエチレン	JIS K0125 5.1 (パージ・トラップ-ガスクロマトグラフ-質量分析法)
1, 1, 1-トリクロロエタン	JIS K0125 5.1 (パージ・トラップ-ガスクロマトグラフ-質量分析法)
1, 1, 2-トリクロロエタン	JIS K0125 5.1 (パージ・トラップ-ガスクロマトグラフ-質量分析法)
テトラクロロエチレン	JIS K0125 5.1 (パージ・トラップ-ガスクロマトグラフ-質量分析法)
トリクロロエチレン	JIS K0125 5.1 (パージ・トラップ-ガスクロマトグラフ-質量分析法)
1, 3-ジクロロプロペン	JIS K0125 5.1 (パージ・トラップ-ガスクロマトグラフ-質量分析法)
チウラム	固層抽出-高速液体クロマトグラフ法
シマジン	固層抽出-ガスクロマトグラフ-質量分析法
チオベンカルブ	固層抽出-ガスクロマトグラフ-質量分析法
ベンゼン	JIS K0125 5.1 (パージ・トラップ-ガスクロマトグラフ-質量分析法)
セレン	JIS K0102 67.3 (水素化合物発生原子吸光法)
TBT	溶媒抽出-ガスクロマトグラフ法
TPT	溶媒抽出-ガスクロマトグラフ法
一般細菌	1%食塩加標準寒天培地を用いた混釈培養法
大腸菌群	CF寒天培地を用いた混釈培養法
腸炎ビブリオ	アルカリペプトン水を用いたMPN3本法

表3 COD分析表

station	水深(m)	(単位: mg/l)			
		8月12日	10月14日	12月8日	2月17日
A	0	1.0	0.5	0.7	0.5
A	2	0.7	0.7	0.6	<0.5
A	5	0.5	<0.5	0.7	<0.5
A	300	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
A	600	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
F	0	<0.5	<0.5	0.6	<0.5
F	2	<0.5	<0.5	0.7	<0.5
F	5	<0.5	0.5	0.5	<0.5
F	50	<0.5	<0.5	0.5	<0.5
F	100	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
F	200	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
F	300	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
F	600	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
3	0	0.9	<0.5	0.7	<0.5
3	2	0.5	0.6	0.9	0.6
3	5	0.5	0.6	<0.5	<0.5
3	300	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5

平均を図2に示した。CODは極めて低く、特にST.A, ST.F, ST.3はともにCODの平均で0.6mg/l未満であった。また、ST.Fの水深300m, 600m, およびST.3の水深300mで実施した、人の健康の保護に関する項目の分析の結果を表4に示した。いずれの項目もすべての調査回次において報告下限値を下回った。また、環境ホルモンの1種と考えられるTBT, TPTも10月14日の調査では検出されなかった(表5)。

一般細菌は8月12日と12月8日では0~5mで15~20,000個/ml, 10月14日と2月17日では各水深から2~6,800個/mlが検出された。大腸菌群は10月14日の2mで1個/ml検出されたが、それ以外の水深では検出されなかった。腸炎ビブリオは10月14日の0mで150個/100ml検出されたが、それ以外の水深では検出されなかった(表6)。

表4 人の健康の保護に関する項目に係る分析表

(単位: mg/l)

station 月日	F						3	
	8月12日		10月14日		12月8日		10月14日	12月8日
水深 (m)	300	600	300	600	300	600	300	300
カドミウム	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
全シアン	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
鉛	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
六価クロム	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
ヒ素	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
総水銀	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005
PCB	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005
ジクロロメタン	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002
四塩化炭素	<0.0002	<0.0002	<0.0002	<0.0002	<0.0002	<0.0002	<0.0002	<0.0002
1, 2-ジクロロエタン	<0.0004	<0.0004	<0.0004	<0.0004	<0.0004	<0.0004	<0.0004	<0.0004
1, 1-ジクロロエチレン	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002
シス1, 2-ジクロロエチレン	<0.004	<0.004	<0.004	<0.004	<0.004	<0.004	<0.004	<0.004
1, 1, 1-トリクロロエタン	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005
1, 1, 2-トリクロロエタン	<0.0006	<0.0006	<0.0006	<0.0006	<0.0006	<0.0006	<0.0006	<0.0006
テトラクロロエチレン	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005
トリクロロエチレン	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002
1, 3-ジクロロプロペン	<0.0002	<0.0002	<0.0002	<0.0002	<0.0002	<0.0002	<0.0002	<0.0002
チウラム	<0.0006	<0.0006	<0.0006	<0.0006	<0.0006	<0.0006	<0.0006	<0.0006
シマジン	<0.0003	<0.0003	<0.0003	<0.0003	<0.0003	<0.0003	<0.0003	<0.0003
チオベンカルブ	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002
ベンゼン	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
セレン	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002

表5 10月14日に採水した深層水のTBT, TPT分析表

(単位: $\mu\text{g/l}$)

station	水深 (m)	TBT	TPT
F	300	<0.003	<0.005
F	600	<0.003	<0.005
3	300	<0.003	<0.005

表6 ST.3における一般細菌, 大腸菌群, 腸炎ビブリオの検出状況 (一般細菌, 大腸菌群単位: inds/ml, 腸炎ビブリオ単位: inds/100ml)

月日 水深 (m)	8月12日			10月14日			12月8日			2月17日		
	一般細菌	大腸菌群	腸炎ビブリオ	一般細菌	大腸菌群	腸炎ビブリオ	一般細菌	大腸菌群	腸炎ビブリオ	一般細菌	大腸菌群	腸炎ビブリオ
0	20,000	0	0	920	0	150	15	0	0	40	0	0
2	0	0	0	1,100	1	0	250	0	0	78	0	0
5	0	0	0	190	0	0	130	0	0	34	0	0
10	0	0	0	53	0	0	0	0	0	2	0	0
20	0	0	0	300	0	0	0	0	0	15	0	0
50	0	0	0	122	0	0	0	0	0	3	0	0
70	0	0	0	220	0	0	0	0	0	10	0	0
100	0	0	0	20	0	0	0	0	0	6	0	0
125	0	0	0	6,800	0	0	0	0	0	10	0	0
150	0	0	0	12	0	0	0	0	0	—	—	—
200	0	0	0	12	0	0	0	0	0	14	0	0
300	0	0	0	4	0	0	0	0	0	107	0	0

注) —は未採水

考 察

CODは酸化される有機物と無機物の総量を反映するが⁵⁾、全調査海域で低く、中でも300mと600mにおける海水では極めて低かったことから、それらの清浄性が確認された。また、人の健康の保護に関する項目もすべて報告下限値を下回っており、さらに、ST.3の300mでは大腸菌群、腸炎ビブリオは検出されず、一般細菌も概ね100個/ml以下であった。これらのことから、取水が予定されているSTFの600mとST.3の300mの海水は人の健康の保護に関する環境基準⁴⁾、水道法施行規則水質基準に関する省令の基準⁴⁾と比較してもそれぞれ下回っており、清浄かつ安全性であることが示唆された。

参 考 文 献

- 1) 東海大学海洋学部編：新盤・駿河湾の自然，1-343，静岡新聞社，静岡（1996）
- 2) 海洋温度差研究会：総合成果報告書，119-141（1994）
- 3) 静岡県：駿河湾深層水利用可能性調査報告書，1-110，（1999）
- 4) 環境六法：中央法規出版会，501-744，東京（1997）
- 5) 日本海洋学会 沿岸海洋研究部会編：日本全国沿岸海洋誌，429-472，東海大学出版会（1985）

静岡県内の有害大気汚染物質調査 —優先取組物質（19物質）の状況について—

大気・水質部 大気・騒音環境スタッフ 太田良和弘, 田端孝光*, 萱沼広行
矢嶋 雅, 篠原英二郎, 永田嘉七
竹下昭二, 味岡義輝

Research on Hazardous Air Pollutants in Shizuoka Prefecture
—Research on HAPs of 19—

Kazuhiro OTARA, Takamitsu TABATA*, Hiroyuki KAYANUMA,
Masashi YAJIMA, Eijiro SHINOHARA, Kashichi NAGATA,
Shōji TAKESITA, and Yoshiteru AJIOKA

1998年から1999年の2年間、静岡県内の有害大気汚染物質の環境濃度を調査した結果、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレンは環境基準を達成しているが、ベンゼンはモニタリングを実施した4測点中3測点で環境基準値以上であった。ベンゼンをはじめとして、濃度の高かった揮発性有機化合物（1,3-ブタジエン、アクリロニトリル、クロロホルム）について、各測点ごとに汚染の状況を統計的に解析し、その特徴を調べた。

Key words: 有害大気汚染物質, 揮発性有機化合物, クラスタ分析

Hazardous air pollutants (HAPs), Volatile organic compounds (VOCs), Cluster analysis

はじめに

優先的に対策に取り組むべき有害大気汚染物質として国が示した22物質の内、本県ではベンゼン等揮発性有機化合物（以下VOCsという）9物質について1997年から大気環境モニタリングを開始した。1998年にはモニタリング手法¹⁾が定められたアルデヒド類、重金属類等9物質を加え18物質をモニタリング対象とした。これらの結果については前報で報告した。^{2)~4)}

1999年はこれら項目に加え、1999年3月付けで新たにモニタリング手法が定められた酸化エチレンを調査項目

に追加し、19物質のモニタリングを行った。今回、その状況と共に、大気環境基準値等を超過しているVOCs 4物質について1998年からの2年間の結果を基に各測点ごとに汚染の状況を解析し、その特徴を調べたので併せて報告する。

調査方法

1 調査期間

1999年1月～1999年12月の期間で、VOCsは毎月1回、アルデヒド類、重金属類等は4回/年モニタリングを行った。

2 調査地点及び測定回数

調査地点は前報³⁾と同様に以下のA～Dである。

- A 自排三島局 VOCs (1回/月)
- B 鷹岡公民館 VOCs (1回/月) その他 (4回/年)
- C 島田市役所 VOCs (1回/月) その他 (4回/年)
- D 磐田市役所 VOCs (1回/月)

ここで、その他とは、アルデヒド類、重金属類、水銀、ベンゾ(a)ピレン、酸化エチレンの計10物質を示す。た

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市北安東4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene
(4-27-2, Kita-andō, Shizuoka, 420-8637, Japan)

*静岡県浜松工業技術センター

*Hamamatsu Industrial Research Institute of Shizuoka
Prefecture

だし、酸化エチレンは6月からの3回/年である。

3 調査対象項目

- 1) VOCs：塩化ビニルモノマー，1,3-ブタジエン
アクリロニトリル，ジクロロメタン
クロロホルム，1,2-ジクロロエタン
ベンゼン，トリクロロエチレン
テトラクロロエチレンの9物質
 - 2) アルデヒド類：アセトアルデヒド
ホルムアルデヒドの2物質
 - 3) 重金属類：ニッケル，ヒ素，ベリリウム，マンガン
全クロムの5物質
 - 4) 水銀
 - 5) ベンゾ(a)ピレン
 - 6) 酸化エチレン
- 4 分析方法^{1)~5)}
有害大気汚染物質測定方法マニュアル¹⁾ (以下マニュアルという) による方法を採用した。
- 1) ~ 5)：前報⁴⁾と同様である。
 - 6) 酸化エチレン：固相 (臭化水素酸含浸グラファイトカーボン系吸着材) 誘導体化捕集-溶媒抽出-ガスクロマトグラフ質量分析法

調査結果及び考察

1 環境基準等の評価

静岡県内4測点におけるVOCs (9物質) の1999年の年平均値等の結果を表1に、B、C測点におけるアルデヒド類等 (10物質) の結果を表2に示した。

環境基準が定められている3物質 (以下、環境基準項目) の濃度を年平均値でみると、ベンゼン濃度は、C測点を除いて環境基準値 ($3\mu\text{g}/\text{m}^3$) を超過していた。トリクロロエチレン (以下TCEという) とテトラクロロエチレン (以下PCEという) の濃度は、全て基準の1/100以下で全国平均より低い傾向であった。

環境基準が定められてない15物質について参考値と比較すると、表1より1,3-ブタジエン濃度が全測点で、アクリロニトリル (以下ANという) 濃度がA、B測点で、クロロホルム (以下CFという) 濃度がB、D測点で、参考値を超過していた。また、表2よりホルムアルデヒドの濃度がB、C測点で参考値を超過していた。

酸化エチレンに関しては比較すべき参考値が設定されていない。濃度範囲は2測点含めて $0.03\sim 0.27\mu\text{g}/\text{m}^3$ で、マニュアルに示された目標定量下限値 ($0.01\mu\text{g}/\text{m}^3$) より高く、分析精度の確保は充分可能であった。

2 経月変化

環境基準を超過しているベンゼンの経月変化を図1に示した。

道路沿道のA測点では、ベンゼン濃度が $3.5\sim 8.4\mu\text{g}/\text{m}^3$ と高濃度に分布し、昨年と同様、毎月、環境基準を超過していた⁴⁾。唯一、年平均値が環境基準を超過しなかったC測点でも、月によっては環境基準を上回る値が観測されており、全般的に県内のベンゼン濃度は、環境基準と同程度の濃度域で推移していることが示唆される。

一方、季節変動については昨年と同様、ベンゼン及び他のVOCsとも明確な傾向はみられなかった。⁴⁾

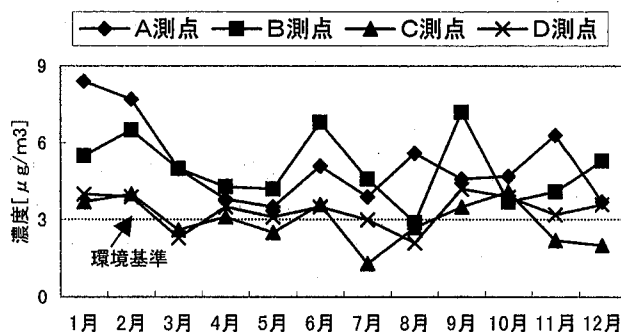


図1 ベンゼン濃度の経月変化 (1999年)

3 経年変化

酸化エチレンを除く18物質の1998年平均値に対する1999年平均値の推移割合を表3に示した。

環境基準項目については、ベンゼンはほぼ横ばい、他の2物質については、D測点のPCE濃度が1割程度増加した以外は減少傾向を示した。TCE、PCEとも法規制により代替品への移行が一部で行われているため減少傾向を示したと考えられる。

表3のうち、3割以上の変動を示したものについては特別に明示した。VOCsのモニタリング回数 (12回/年) に対し、その他の物質は4回/年と少ないため変動が3割を超えるものが多く、年平均値としての妥当性を考慮するとモニタリング回数を増やす必要がある。一方、VOCsについても塩化ビニルモノマー、AN、CF、1,2-ジクロロエタンに関しては、推移が大きかった。これに関しては物質によっては、モニタリング手法に関する問題点が指摘されているもの、コンタミネーションを受けやすいもの等があり、さらに長期のモニタリングにより濃度推移の傾向を把握すると共に、モニタリング手法そのものの信頼性を検討していく必要がある。

4 統計的手法による汚染状況の分類

各測点の汚染要因を推定するために、統計的手法により汚染状況を分類した。はじめに汚染の地域的拡がりを、「風速と汚染質の相関」、「汚染質のばらつき」の2つの観点から推定した。次に、有害大気汚染物質の代表的な汚染要因である移動発生源からの影響をクラスター分析により判定した。

表1 各測点におけるVOCs (9物質) の年間測定結果 (1999年1月~12月)

単位: $\mu\text{g}/\text{m}^3$

汚染物質名	A		B		C		D		基準値等	全国平均 ⁶⁾	B.G. ⁷⁾
塩化ビニルモノマー	0.022	143	0.019	82	0.013	94	0.023	95	1 **	0.11	0.035
	0.001ND~	0.10	0.001ND~	0.049	0.001ND~	0.038	0.001ND~	0.067		0.009~2.2	
1, 3-ブタジエン	0.66!	38	0.42!	30	0.25!	38	0.27!	36	0.04 *	0.28	0.049
	0.38~	1.1	0.25~	0.60	0.12~	0.40	0.13~	0.41		0.003~1.3	
アクリロニトリル	0.14!	69	0.41!	61	0.042	67	0.039	60	0.1 *	0.18	0.050
	0.025~	0.37	0.067~	0.92	0.004~	0.092	0.0035~	0.082		0.005~1.1	
ジクロロメタン	4.9	46	3.7	26	2.7	57	3.9	31	20 *	3.5	0.89
	2.4~	9.0	2.0~	5.4	0.65~	6.1	1.5~	5.5		0.06~110	
クロロホルム	0.19	43	0.53!	24	0.19	69	0.58!	109	0.4 *	0.47	0.19
	0.060~	0.29	0.37~	0.83	0.004~	0.45	0.012~	2.1		0.041~16	
1, 2-ジクロロエタン	0.16	63	0.13	58	0.11	79	0.11	78	0.4 *	0.19	0.13
	0.040~	0.29	0.015~	0.28	0.002~	0.24	0.0015~	0.24		0.025~2.6	
ベンゼン	5.2!	30	5.0!	26	2.9	30	3.4!	20	3	3.0	0.80
	3.5	8.4	2.9~	7.2	1.3~	4.1	2.1~	4.2		0.92~11	
トリクロロエチレン	0.81	79	1.4	55	0.47	72	0.70	71	200	1.5	0.082
	0.15~	2.0	0.47~	2.7	0.11~	1.1	0.19~	2.0		0.049~12	
テトラクロロエチレン	0.35	71	0.49	67	0.22	94	0.36	95	200	1.0	0.19
	0.056~	0.79	0.16~	1.3	1.5~	4.6	0.040~	1.2		0.056~11	

注1) 上段の左に平均値・右に変動係数(CV%)を, 下段に最小・最大値を示した.

注2) 平均値は, 検出下限未満の場合, 検出下限値の1/2として計算した.(定量下限値に3/20を乗算する)

注3) 平均値が基準値等を超過したものは!を記した

*: EPA発ガン性10の-5乗リスク濃度を用いた(参考値)

** : オランダ大気環境目標濃度を用いた(参考値)

*** : WHO欧州事務局ガイドライン(参考値)

全国平均: 平成10年度有害大気汚染物質モニタリング調査結果について(平成11年10月19日環境庁大気保全局大気規制課まとめ)

B.G.(バックグラウンド): 平成9年度有害大気汚染物質モニタリング調査結果について(平成10年7月16日環境庁大気保全局大気規制課まとめ)

表2 B・C測点におけるアルデヒド類等(10物質)の年4回測定結果(1999年1月~12月)

単位: ng/m^3 (アルデヒド類, 酸化エチレンは $\mu\text{g}/\text{m}^3$)

汚染物質名	B		C		基準値等	全国平均 ⁶⁾	B.G. ⁷⁾
アセトアルデヒド	5.0	94	2.2	30	5 **	2.9	1.4
	2.2~	12	1.6~	2.9		0.53~10	
ホルムアルデヒド	4.3!	53	3.0!	41	0.8 *	3.3	1.5
	2.4~	7.6	1.6~	4.5		0.58~14	
ニッケル	9.8	15	3.6	46	40 *	5.8	1.5
	7.9~	11	1.9~	5.9		1.4~36	
ひ素	1.2	27	1.4	53	2 *	2.0	1.8
	0.82~	1.6	0.66~	2.5		0.22~15	
ベリリウム	0.022	111	0.022	125	4 *	0.058	-
	0.003ND~	0.057	0.02ND~	0.063		0.0069~0.53	
マンガン	28	69	18	79	1000 ***	30	9.0
	6.2~	45	3.0~	31		3.1~160	
全クロム	4.1!	56	2.1!	68	0.8 *	5.5	1.6
	2.2~	7.2	1.0~	4.1	(6価)	0.43~29	
水銀	2.2	54	2.0	60	1000 ***	2.7	-
	0.93~	3.5	1.0~	3.8		0.27~8.6	
ベンゾ(a)ピレン	0.89	43	0.45	63	1 **	0.76	-
	0.48~	1.4	0.24~	0.85		0.05~8.1	
酸化エチレン	0.20	38	0.082	93	-	-	-
	0.12~	0.27	0.030~	0.17			

1) 汚染の分布の推定

基準値等を超過していたベンゼン, 1,3-ブタジエン, AN, CFについて, それぞれの1998年~1999年の2年間の測定値のばらつきと, 対応する測定時間の大気常時監視測定データから算出した平均風速との相関を求め, 分類した結果を表4に示した.

判定の基準は, 10%有意水準での風速との相関の有意性(○●or△▲), 測定値が10%の誤差を含むと仮定したときの変動係数の大小(○△or●▲), それぞれの組

み合わせ4種類で分類した. この分類は, 風速との相関が小さいものほど汚染の地域的拡がりが高く, ばらつきが小さいものほど汚染が恒常的(または汚染の方向性を限定できない)であると考えられる. すなわち,

- ①●: 汚染の拡がり狭く, 汚染に方向性無し(移動発生源由来の可能性有り)
- ②○: 汚染の拡がり狭く, 汚染に方向性有り(規模の小さい固定発生源の可能性有り, または測定精度

が低い)

- ③▲：汚染の拡がりが高く、汚染に方向性無し（汚染が慢性的で由来不明）
- ④△：汚染の拡がりが高く、汚染に方向性有り（規模の大きい固定発生源の可能性有り、または測定精度が低い）と判定する。

判定した結果、各測点毎を比較すると明らかにB測点の特徴が他の測点と異なることがわかる。汚染が広域的でかつ慢性的と判定した結果が多く、総合的な低減策が必要であると考えられる。

その他、A測点とC測点については、汚染分布の特徴が類似していることから、同種の汚染源の存在が考えられる。A測点は自動車排ガス測定局であり、窒素酸化物、硫黄酸化物等の大気常時監視項目については移動発生源の影響を大きく反映する環境にある。これらと同様に、A測点がベンゼン等有害大気汚染物質についても移動発生源の影響を反映した環境にあると考えると、特徴の類似したC測点の汚染源は、主に移動発生源であると推定される。

また、唯一はっきりとした固定発生源が認められる⁴⁾ AN (A, B測点付近に存在) については明確な傾向は得られなかった。この手法では測定値のばらつきを真値のばらつきと仮定しているが、1,3-ブタジエン, AN, CFに関しては、濃度レベルそのものが低いこと、モニタリング手法に関する問題点が指摘されているもの、コンタミネーションを受けやすいものがあり、誤った判定を行う危険性がある。これらの物質については分析精度をより向上させる必要がある。

2) クラスタ分析による分類

各測点のVOCsの1999年値、対応する測定時間の大気常時監視測定データから算出した平均風速及び一酸化窒素(以下NOという)濃度の平均値、全11項目×12変数(データ数132)によりクラスタ分析を行った結果をそれぞれ図2～5に示した。なお、クラスタ分析には青森県環境保健センター 早狩 進氏作成・提供の解析ソ

表3 各測点におけるVOCa(18物質)の年平均値の推移割合(1998～1999年)

汚染物質名	1999年平均値/1998年平均値			
	A	B	C	D
塩化ビニルモノマー	0.7	0.9	0.5↓↓	0.1↓↓
1, 3-ブタジエン	0.9	0.9	1.1↑	1.1↑
アクリロニトリル	0.5↓↓	0.8	0.8	1.1↑
ジクロロメタン	1.3↑	0.9	1.1↑	1.0
クロロホルム	0.6↓↓	0.7	0.6↓↓	1.6↑↑
1, 2-ジクロロエタン	1.3↑	0.8	1.4↑↑	1.3↑↑
ベンゼン	1.0	1.0↑	1.0	1.1↑
トリクロロエチレン	0.9	0.9	0.8	0.9
テトラクロロエチレン	0.8	0.7	0.8	1.1↑
アセトアルデヒド		0.8	0.4↓↓	
ホルムアルデヒド		0.8	0.5↓↓	
ニッケル		1.4↑↑	0.8	
ひ素		0.9	0.7↓↓	
ベリリウム		1.5↑↑	0.3↓↓	
マンガン		1.1↑	1.1↑	
全クロム		1.4↑↑	0.9	
水銀		3.7↑↑	1.0	
ベンゾ(a)ピレン		1.1↑	1.1↑	

数値：基準値等超過
 ↑：30%未満の増加
 ↑↑：30%以上の増加
 ↓↓：30%以上の減少

フトを用い、最短距離法による結合、類似度計算にはピアソンの相関係数(1-相関係数の絶対値)を用いた。

この分類では、ベンゼン, 1,3-ブタジエン, NOが移動発生源(ここでは自動車とする)から排出されること⁸⁾から、その主たる汚染因子(以下自動車因子という)と仮定し、その測点での自動車排出ガスの影響の度合いを推定するものである。図2, 図4, よりA, C測点は相関係数0.7以上で自動車因子の類似度が高かった。この両測点では手法1)でも汚染分布に類似性がみられたことから汚染由来が自動車排ガスである可能性が大きい。

これに対し、B, D測点では比較的自動車因子の類似度は低く、自動車排ガス以外の汚染由来が考えられる。

この手法に関しては、データ数の増加により信頼性が

表4 VOCs(4物質)濃度と風速による各測点の分類(1998年1月～1999年12月)

汚染物質名	A			B			C			D		
	r	CV%	判定	r	CV%	判定	r	CV%	判定	r	CV%	判定
ベンゼン	-0.56	24	●	-0.10	24	▲	-0.62	33	●	-0.61	22	●
1, 3-ブタジエン	-0.42	35	●	0.19	33	▲	-0.40	50	●	-0.07	52	△
アクリロニトリル	-0.01	131	△	0.21	65	△	-0.36	96	○	-0.28	101	△
クロロホルム	-0.03	77	△	-0.35	45	●	-0.14	82	△	-0.29	102	△

r(相関係数)：10%有意水準で|r|>0.35で「有意」(=「高相関」, 有意でない場合「低相関」とする)
 便宜上、CV%(変動係数)>50をばらつき「大」とした
 ●：高相関, ばらつき小 ▲：低相関, ばらつき小
 ○：高相関, ばらつき大 △：低相関, ばらつき大

より高まるので今後もデータを蓄積し同様の検討を行う予定である。また今回設定した自動車因子のように、汚染由来が限定しやすい項目が増えれば判定をより正確に行える⁹⁾ため、より多成分の測定を同時に行える測定方法を検討し、解析に反映させていきたいと考えている。

ま と め

- 1) ベンゼン濃度は、1測点を除く3測点で環境基準を超過していた。トリクロロエチレンとテトラクロロエチレンの濃度は、全て基準の1/100以下で全国平均より低い傾向であった。
- 2) 1,3-ブタジエンは全測点で、アクリロニトリルはA, B測点で、クロロホルムはB, D測点で、ホルムアルデヒドはB, C測点で、大気環境濃度が参考値を超過していた。
- 3) 環境基準項目の2年間の経年変化は、ベンゼンはほぼ横ばい、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレンについては、ほぼ減少傾向を示した。
- 4) A, C測点のベンゼンに関する主たる汚染由来は移動発生源であると推定された。

文 献

- 1) 環境庁：有害大気汚染物質測定方法マニュアル 平成9年2月制定，平成10年1月，平成11年3月一部改訂
- 2) 田端孝光 他：静岡県環境衛生科学研究所報告，39, 161-163 (1996)
- 3) 田端孝光 他：静岡県環境衛生科学研究所報告，40, 99-102 (1997)
- 4) 田端孝光 他：静岡県環境衛生科学研究所報告，41, 85-89 (1998)
- 5) 有害大気汚染物質測定の実績編集委員会編：有害大気汚染物質測定の実績 平成9年6月
- 6) 平成10年度有害大気汚染物質モニタリング調査結果について 平成11年10月19日大気保全局大気規制課まとめ 一般環境のデータ
- 7) 平成9年度有害大気汚染物質モニタリング調査結果について 平成10年7月16日大気保全局大気規制課まとめ 一般環境のデータ
- 8) 吉野 昇 他：自動車からの微量化学物質の排出状況と環境濃度への影響について，東京都環境科学研究所年報，141-152 (1998)
- 9) 長田健太郎：道路沿道におけるVOCの挙動とその解析，大気環境学会年会講演要旨集，40, 256 (1999)

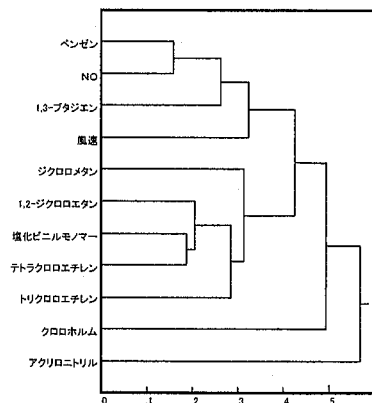


図2 A測点のデンドログラム

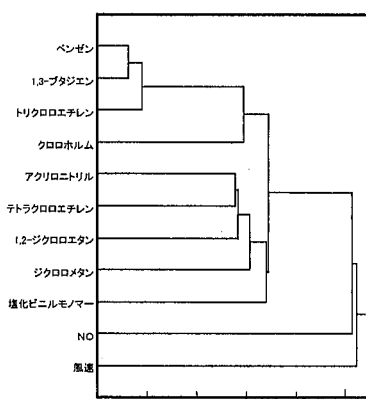


図3 B測点のデンドログラム

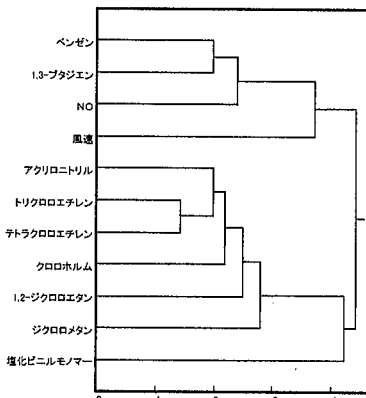


図4 C測点のデンドログラム

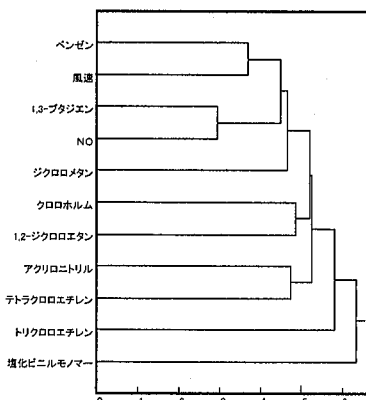


図5 D測点のデンドログラム

臭気指数による悪臭規制の検討

大気・水質部 大気・騒音環境スタッフ 永田嘉七, 矢嶋 雅, 太田良和弘
篠原英二郎, 萱沼広行, 竹下昭二
味岡嘉輝

Study on Odor Regulation by Odor Index

Kashichi NAGATA, Mashashi YAZIMA, Kazuhiro ŌTARA,
Eijiro SHINOHARA, Hiroyuki KAYANUMA, Shōji TAKESHITA,
and Yoshiteru AJIOKA

静岡県における臭気指数規制実施の前段階として本県の代表的悪臭発生事業場について、臭気指数と特定悪臭物質の濃度についての比較検討を行った。その結果、嗅覚測定法の方が物質濃度測定法よりもにおいをより適切に評価でき、悪臭苦情に対応できると思われる結果が得られた。さらに臭気指数規制の実施予定地域で嗅覚による臭気調査を実施し、業種のちがいによる臭気の実態の違いと特徴を調べた。

Key Words: 臭気指数規制, 嗅覚測定法, 物質濃度測定法

Odor regulation by odor Index, Odor measurement method by olfaction

Substance measuring method

はじめに

1996年4月1日に悪臭防止法が改正され、嗅覚を用いた規制方式を導入することが可能となった。機器分析は、特定悪臭物質として指定されている物質の濃度が精度良く求められ、除去効率等を求めるのに適しているが、機器が高価であったり、専門的な技術が必要であったりする。一方、嗅覚測定法は、複合臭や特定悪臭物質以外の悪臭にも対応でき、パネル、実験室の確保ができれば、高度な機器が不要でまた手法が簡便であり有用な方法とされている。

本県においても、臭気指数規制導入を検討するため1997年度と1998年度に、悪臭発生の代表的11業種の臭気調査を行い、嗅覚測定法と従来の特定悪臭物質濃度測定法との比較検討を行った。

また1999年度は臭気指数規制の実施予定地域で嗅覚測

定法による臭気調査を実施し、臭気の実態を業種ごとに取りまとめ業種のちがいによる臭気指数のちがいと特徴について調べた。

調査方法

1 調査期間

調査は1997年から1999年まで実施した。

1) 悪臭発生業種別調査

1997年6月～8月

1998年6月～8月

2) 臭気指数規制実施予定地域調査

1999年7月～10月

2 調査対象

1) 悪臭発生業種別調査

静岡県における悪臭発生の代表的業種である畜産事業場(養牛業, 養豚業, 養鶏業), 飼料・肥料製造業, 魚腸骨処理場, 化成場, 水産食料品製造業, パルプ製造業(KP, SCP), 塗装業及びし尿処理施設の11業種11事業場を調査対象とした。

2) 臭気指数規制実施予定地域調査

悪臭苦情のあるまたは強いにおいを排出している

27事業場（敷地境界で54検体の測定）を調査対象とした。

3 測定方法

1) 試料採取

悪臭発生業種別調査では、試料臭気採取は各事業場においてそれぞれ敷地境界及び発生源近傍で行った。

臭気指数規制実施予定地域調査では、事業場の敷地境界で試料臭気を採取した。

2) 特定悪臭物質の分析項目

アンモニア、トリメチルアミン、硫化水素、メチルメルカプタン、硫化メチル、二硫化メチル、プロピオン酸、n-酪酸、i-吉草酸、n-吉草酸、有機溶剤6物質（塗装業のみ）

3) 特定悪臭物質の濃度の測定

悪臭防止法に定められている測定方法¹⁾（ガスクロマトグラフ等機器分析）で行った。

4) 嗅覚による臭気指数等の測定

環境庁のマニュアル²⁾に準じて行った。

調査結果及び考察

1 悪臭発生業種別調査

調査結果は既報^{3), 4), 5)}にまとめた。

1) 臭気指数と物質濃度測定値の比較

①臭気強度換算による比較

嗅覚試験測定値（臭気指数）は以下の計算式（環境庁昭和56年度報告書）により臭気強度に換算した。（以下「嗅覚臭気強度」という。）

$$Y = 0.125 \times Z + 1.25$$

（Y：臭気強度，Z：臭気指数）

一方、特定悪臭物質の濃度は、環境庁の通知による方法で臭気強度に換算した。（以下「物質臭気強度」という。）

11業種の結果では、すべての業種で、嗅覚臭気強度は各物質の物質臭気強度を上回っているか、一部分のみ同程度であり、臭気の強さの感知については、人の鼻がセンサーとして優れていると考えられる。

②臭気指数（以下に示す実臭気指数及び計算臭気指数）による比較

臭気が単一成分で成り立っている場合、計算臭気濃度を次式で定義する。

$$\text{計算臭気濃度} = \frac{\text{その物質の濃度 (ppm)}}{\text{その物質の嗅覚閾値濃度 (ppm)}} \quad (1)$$

また複合臭の場合、臭気成分物質間の相互作用がないものとし、相加作用のみ考え、(1)式を拡張した(2)式で計算臭気濃度を定義する。

$$\text{計算臭気濃度} = \sum (C_i / C_{i,th}) \quad (2)$$

ただし C_i : 検出された物質の濃度 (ppm)

$C_{i,th}$: 検出された物質の嗅覚閾値濃度

(ppm)

さらに、(1)式及び(2)式の両辺の対数をとって10倍したものを計算臭気指数と定義する。

図1で各業種の臭気指数の実測値（実臭気指数）を横軸にとり、(1)式及び(2)式による計算値（計算臭気指数）を縦軸にとった結果を示した。図1中の系列1は臭気成分全体を(2)式によって評価した計算臭気指数と実臭気指数との関係、系列2は(1)式を使って求めた検出された物質ごとの計算臭気指数のうち最大のものと実臭気指数との関係を示す。

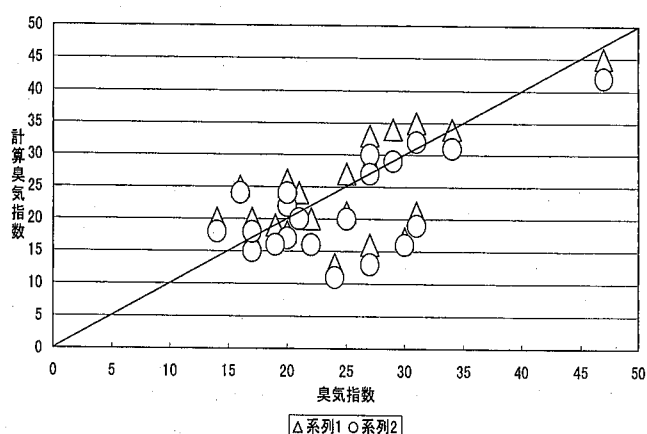


図1 臭気指数と計算臭気指数

検出された物質の計算臭気指数の最大値は、臭気成分物質の全体の計算臭気指数よりもやや低めであるが系列1と系列2では大きな差は見られなかった。

実臭気指数と計算臭気指数との関係は、一部の試料を除いて概ね直線関係が成り立っていると考えられる。直線関係から大きく外れ、実臭気指数が計算臭気指数よりも高かった業種は鯉節を製造する水産加工業、SCP製造業及び塗装業であった。水産加工業では、鯉節製造の焙乾工程で製品をいぶす煙が実臭気指数にプラスに大きく影響したと考えられる。またSCP製造業や塗装業は検出された物質以外の物質が臭気にプラスの効果及ぼしたものと推定される。

また他方、計算臭気指数のほうが実臭気指数より高いものは、養鶏業等であった。この場合、硫化メチルが多く検出されたが(1)式で定義したように計算臭気指数は嗅覚閾値が重要である。硫化メチルの場合、嗅覚閾値は環境庁の値（臭気強度1の値）では0.0001ppm、永田らの値⁶⁾は0.003ppmと30倍の違いがある。

嗅覚測定法で求めた永田らの嗅覚閾値を用いると直線に近づくので、嗅覚閾値としては永田らの値のほうが適切と推定される。今後、嗅覚閾値が大きく異なるものについては検討が必要と思われる。

以上のように、これらの結果は、特定悪臭物質濃度に

表1 臭気指数規制実施予定地域調査結果 (敷地境界)

業 種	臭気濃度	臭気指数	臭気強度	備 考
養 牛 業	10未満, 49 (30)	10未満, 17 (14)	2, 2.5	
養 豚 業	35, 56 (46)	15, 17 (16)	3, 3.5	
	38, 200 (119)	16, 23 (20)	3.5, 4	
	13, 44 (29))	11, 16 (14)	2.5, 3	
まとめ	13~200 (64)	11~23 (16)		
養 鶏 業	10未満, 37 (24)	10未満, 16 (13)	2.5, 3	
	120, 260 (190)	21, 24 (23)	3.5, 3.5	
	まとめ	10未満, 260 (107)	10未満, 24 (18)	
水産食料品	10未満, 17 (14)	10未満, 12 (11)	2, 2	
	しらす干し	10未満, 23 (17)	10未満, 14 (12)	2, 3
	まとめ	10未満~23 (15)	10未満~14 (12)	
	かつお節 (燻しあり)	130 (130)	21 (21)	4, 4
製 造 業	かつお節 (燻しなし)	10未満, 16 (13)	10未満, 12 (11)	2.5, 2.5
	佃煮	39, 230 (131)	16, 24 (20)	3, 3.5
	調味料	10未満, 21 (16)	10未満, 13 (12)	2.5, 2.5
	こんにゃく	12, 37 (25)	11, 16 (14)	2.5, 2.5
	弁当・惣菜	39, 41 (40)	16 (16)	2, 2
堆肥製造業	49, 970 (510)	17, 30 (24)	3, 4	
	56, 320 (188)	17, 25 (21)	4, 4	
	まとめ	49~970 (350)	17~30 (22)	
医薬品製造業	10未満, 23 (17)	10未満, 14 (12)	2, 2	
電気部品製造業	10未満, 45 (28)	10未満, 17 (14)	2, 2.5	
合板製造業	10未満, 22 (16)	10未満, 13 (12)	2, 2	
鋳物 (アルミ) 製造業	32, 33 (33)	15 (15)	3, 3	
	33, 90 (62)	15, 20 (18)	2.5, 3.5	
	まとめ	32~90 (47)	15~20 (16)	
し尿処理施設	10未満, 13 (12)	10未満, 11 (11)	2, 2	
	45, 56 (51)	17, 17 (17)	2.5, 2.5	
	まとめ	10未満~56 (32)	10未満~17 (17)	
塗 装 業	木工	53, 66 (60)	17, 18 (18)	3, 3
		27, 37 (32)	14, 16 (15)	2.5, 3
	金属	45, 560 (300)	17, 27 (22)	3, 4
		42, 208 (130)	16, 23 (20)	3, 4
	まとめ	27~560 (130)	14~27 (19)	

注) () 内の数字は平均値である。

よる臭いの評価よりも嗅覚測定法による臭いの評価のほうが適切に臭気の実態を把握できるものと考えられる。

2 臭気指数規制実施予定地域調査

臭気測定調査結果を表1に示した。

堆肥製造業で臭気指数が特に高い事業場があった。また水産食料品製造業、畜産農業や塗装業について臭気指

数の高い事業場があった。

ま と め

静岡県内で、悪臭苦情の発生する可能性のある事業場等の調査を行い、次の結果が得られた。

(1) 特定悪臭物質の濃度による臭いの評価に比べ、嗅

覚測定法の方がより適切で、苦情等の現実に合った評価ができるものと考えられた。

- (2) 臭気指数実施予定地域調査では、堆肥製造業で臭気指数の特に高い事業場があり、水産食料品製造業、畜産農業および塗装業について臭気指数の高い事業場があった。

文 献

- 1) ハンドブック悪臭防止法, 251-303 (1999)
- 2) 環境庁大気保全局大気生活環境室編：嗅覚測定法マ

ニュアル (1996)

- 3) 永田嘉七他：嗅覚測定法による臭気の評価, 静岡県環境衛生科学研究所報告, 40, 113-117 (1997)
- 4) 永田嘉七他：臭気指数による悪臭規制の検討, 静岡県環境衛生科学研究所報告, 41, 91-96 (1998)
- 5) 永田嘉七他：嗅覚測定法と物質濃度測定法との比較, 第12回臭気学会講演要旨集, 26-27 (1999)
- 6) 永田好男他：三点比較式臭袋法による臭気物質の閾値測定結果, 第29回大気汚染学会講演要旨集, 528, (1988)

コーヒー抽出に起因する着色排水の調査

大気・水質部 技術指導スタッフ 諸星龍範, 中村茂和, 久保山成基
中山洋, 遠藤満, 増田一
小原九一, 味岡嘉輝, 三好廣志
志村修*

Research on Expelled Water Colored with Coffee

Tatsunori MOROHOSHI, Shigekazu NAKAMURA, Shigeki KUBOYAMA,
Hiroshi NAKAYAMA, Mitsuru ENDŌ, Hajime MASUDA,
Kuichi KOHARA, Yoshiteru AJIOKA, Hiroshi MIYOSHI,
and Osamu SHIMURA*

近年、環境に対する関心が高まりつつあり、環境水質の評価にあたって色や臭いも重要な要素となってきている。また、着色排水の色の測定方法についてはいくつかあるが、現在有効な方法はない。そこで今回はコーヒー製造工場からの排水を対象として、既存の排水処理と脱色状況を把握するとともに、官能測定法の1つである希釈法¹⁾及び機器測定法の1つであり、JISK0102に規定する色度座標 x , y 及び刺激値 Y によって色度として表示する²⁾2つの方法で色の測定を行った。その結果、コーヒーによる着色排水の測定に関しては、希釈法による測定が有効ではないかという結論を得た。

Key words : 脱色, 着色度, 刺激値, 刺激純度

Decolorization, Coloration, Excitation, Excitation purity

はじめに

近年、環境に対する関心が増している中で、環境水質の評価はpH, BOD, SS等だけでなく、色や臭いも重要な要素となっている。特に水の着色は住民が容易に感知できることから苦情の対象となりやすく、対応に苦慮しているのが現状である。

現在、着色排水の色の測定方法についてはいくつかあるが、全ての色についての測定が可能で、感覚的にも分

かりやすく再現性に優れた方法はない。そこで今回はコーヒー製造工場からの脱色処理排水を対象として、色の測定方法等について検討した。

調査方法

1 調査対象工場

コーヒーを製造している県内の3工場(A, B, C)を対象に調査を行った。各工場ともコーヒーを製造している際の排水を採取した。

対象工場の調査時の操業状況及び採水地点は次のとおりである。

A工場は採水時、缶コーヒーを日産180万本製造しており、排水量は平均約1,200m³である。処理方法としては、原水をpH7~8程度に調整した後、ばっ気槽に入れ約12時間処理を行う。このばっ気槽内にオゾンを経約2ppmになるように空気と合わせて吹き込む。この処理のためにこの工場では、既存のばっ気槽の改良を行った。具体的にはブローアを能力の大きな物に代え、吹出し口

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市北安東4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-andō, Shizuoka, 420-8637, Japan)

*静岡県環境衛生科学研究所東部支所

*Eastern Branch Office of Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

表1 測定の結果の一覧

採水工場名・地点	pH	SS	COD	TOC	BOD	JISK0102に基づく色度測定法				
						希釈法 着色度	色度座標	刺激値 (%)	主波長 (nm)	刺激純度 (%)
A工場原水	7.47	38	104	92.13	120	71	(0.368,0.372)	37.0	577.7	30.5
A工場放流水	7.40	1	7.70	13.36	30.8	14	(0.332,0.341)	85.9	573.7	11.8
B工場原水	6.20	807	3527	3413	2173	3548	(0.486,0.436)	1.1	582.5	78.8
B工場沈殿槽前	7.32	191	629	435.2	149	1413	(0.424,0.407)	1.8	581.4	53.1
B工場放流水	6.81	1	21.2	21.26	5.2	28	(0.340,0.353)	84.5	573.3	16.9
C工場原水	10.58	33	649	461.1	478	562	(0.383,0.380)	3.5	579.6	36.5
C工場沈殿槽上水	8.37	7	47.2	41.65	3.0	141	(0.478,0.444)	43.6	581.4	78.3
C工場放流水	8.62	11	46.4	41.33	3.2	141	(0.479,0.444)	43.0	581.4	78.8

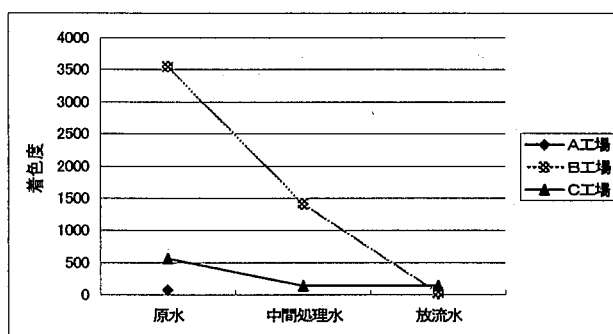


図1 着色度

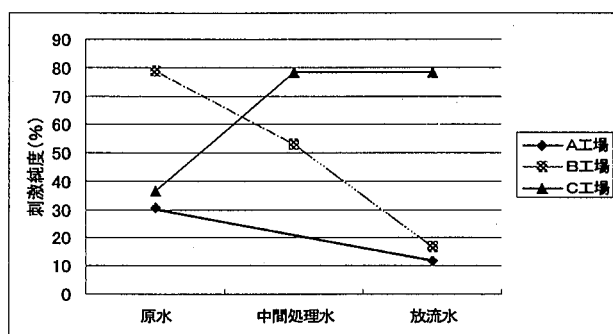


図2 刺激純度

を下からのスクリー式にしてオゾンが溶け込みやすいようにした。その後最終沈殿槽で自然沈降させて放流する。採水はpHを調整する前の原水と最終沈殿槽を出た後の放流水を採取した。

B工場は採水時、業務用に濃縮されたコーヒーを日産20t製造しており、排水量は平均約270m³であるが、実際に処理されるのは120m³である。残りの150m³は冷却水であり、処理水と合わせて放流されている。処理方法としては、前凝集沈殿、活性汚泥処理、最終沈殿槽で重力沈降分離を行い、ポリ鉄を約750kg/dayと凝集剤を入れ沈殿させている。採水は前凝集沈殿槽の手前の原水と活性汚泥処理され、ポリ鉄注入前の沈殿槽の上水及び冷却水合流前の放流水を採取した。

C工場は採水時、缶コーヒーを日産120万本製造しており、排水量は平均約800m³である。処理方法としては、原水をpH7～8程度に調整した後、活性汚泥処理を行い、沈殿槽の上水を急速ろ過、滅菌して放流している。放流の際、他の排水処理水と合流しているため約2,600m³の排水量がある。採水はpH調整前の原水と沈殿槽の上水及び他の処理水と合流する手前の放流水を採取した。

2 分析項目および分析方法

排水の着色測定の方法は、官能測定法の1つである希釈法及び機器測定法の1つであり、JISK0102に規定する色度座標x、y及び刺激値Yによって色度として表示する2つの方法で測定した。

なお、透過率の測定はパーキンエルマーLambda11分光光度計を用いた。

希釈法の測定方法は以下のとおりである。

- 1) 検水を10倍、100倍、・・・と10倍列希釈検体を作成し、30cm透視度計（底の標識板は黒線のない、白色のもの）の30cmの目盛りまで入れる。
- 2) 蒸留水を30cmの目盛りまで入れた基準透視度計と1で作成したものを並べ、白色蛍光灯の光が等しく当たる状態で上から目視をして着色を比較し、「区別可能」な最大希釈検体を決定する。
- 3) 2)で決定した最大希釈検体を用いて透視度計に1, 2, 4, 8, 16倍の2倍列希釈検体を作成する。
- 4) 5人の測定者で各2倍列希釈検体と基準透視度計との着色を比較して、「区別可能」、「区別不能」を判定する。測定者ごとの希釈倍率を常用対数値として次式により算出する。

$$\text{常用対数値} = (\log a_1 + \log a_2) / 2$$

「a₁」は「区別可能」の最大希釈倍率、「a₂」は「区別不能」の最小希釈倍率のこと。

- 5) 各測定者の常用対数値のうち最大値と最小値を1つずつ除き、残りの三者の平均値C_mを求め、次式に

より着色度を求める。

$$\text{着色度} = 10^{\text{cm}}$$

pH, SS, COD, BODはJISK0102に規定する方法で行い、TOCはSHIMADZU TOC-500A TOC測定機を用いて行った。

調査結果および考察

1 着色測定の結果について

希釈法による着色度の結果は、A, B, Cの全ての工場において、原水に比べ放流水の着色度は、程度の差はあるものの減少した。本法の特徴として、希釈により排水の明度が著しく増加し、色相及び彩度は認識ができなくなるまで低下するため、色の3属性のうち明度を中心に比較する方法である。このことから、3工場からの排水の着色度の減少については、主として明度が増加したことを示唆している。

色度座標 x , y 及び刺激値 Y によって色度として表示する方法では、A, B, Cの3工場において、刺激値 Y は増加した。このことについては、刺激値 Y が増加したことにより、排水の明度が上がったことを示している。つまり排水における反射率の増加を示唆している。主波長については、全て黄色の色相を示す571~586nmの範囲に入っている。この事は今回の脱色では大きく色相の変化するような化学反応が起きていないことを表している。刺激純度についてはA, B工場では原水に比べ放流水の刺激純度は減少したが、C工場においては逆に増加した結果となった。A, B工場の排水については彩度(あざやかさ)が下がり、C工場の排水については逆に彩度が上がったことを意味する結果となった。これらを総合してみると脱色処理を行っているA, B工場については、原水に比べ放流水の明度も上がり、色自身も刺激純度が小さくなっていることから白色に近づいていると考えられるが、通常の排水処理のみのC工場では、明度はある程度上がっているが刺激純度が逆に高くなっていることから、色自身については原水よりも放流水の方が黄色い発色をしているということが分かる。

2 その他の分析項目について

pHについては、A, B工場における原水、放流水等安定した値を示した。C工場の原水のpH値が他の工場と比較して高い値を示した。このことについては、アルカリ洗浄排水によるものと考えられる。また、放流水についても高い値を示したが、他の排水処理水と合流し排出されるため、問題はなかった。

TOC, COD, BODについては、A, B, Cの3工場において、原水に比べ放流水の値が低い値を示していた。これは排水処理により排水中における有機物等が分解されたことが分かる。

以上の事から脱色処理は通常の排水処理に悪影響を与えていないといえる。

3 排水処理方法について

A工場では、化学的方法の1つであるオゾン法と生物学的的方法の1つである標準活性汚泥法を組み合わせた方法を導入している。この処理により原水から放流水への着色度は80.2%減少した。BOD除去率は74.3%でCOD除去率の92.5%に比べやや劣った。

B工場では標準活性汚泥処理した後、物理化学的方法の1つである凝集沈殿方法を導入している。この処理により原水から放流水への着色度は99.2%減少し、かなり高い率で脱色されたことが分かった。BOD, COD除去率は99.7%, 99.3%と高い値を示した。

C工場では標準活性汚泥処理及び急速ろ過を行っている。この処理により原水から放流水への着色度は74.8%減少した。BOD, COD除去率については99.3%, 92.8%と高い値を示した。

以上の事から、原水から放流水への着色度の減少率から考えると、B工場の処理方法が一番高い値を示し、次いでA工場、C工場となった。また、COD除去率については、3つの工場の差はなかったが、BOD除去率については、A工場が他の工場に比べやや劣っており、オゾンによる影響と推測されるが、今後の検討を要する。

ま と め

今回の実験結果より、JISK0102で規定する分析方法は、光学機器を使用するため再現性もよく、測定者による誤差も小さいと考えられるが、3種類の変数で表現しているため色の差の検討が難しく、測定値の変化に対して、目視した場合にどれくらいの差を示しているかがはっきりしないという欠点がある。

これに対し希釈法は、官能法であるため測定者による誤差が起りやすく、機器を使う方法に比べ再現性は劣ると考えられる。しかし、求められた結果は、試料をその結果の倍率まで薄めると目視による確認ができなくなるという人の感覚に即したものであり、公共水域に排出するときの河川水等による希釈効果などを簡単に利用できる。またこの方法は、色の種類に関わらず全色についての総合判断であるため、その他の色の排水の測定や処理によって排水の色が変化したときの比較にも有効と考えられた。

また排水処理方法について、B工場で導入されている方法は、脱色、BOD・COD除去からみて有効な方法であると考えられるが、ポリ鉄によるスラッジの発生という問題があり、これをどう解決するかが処理を導入する際の鍵になると考えられる。A工場で導入されているオゾンを利用した方法は、維持管理費のほとんどを占め

る電気代の問題はあるが、スラッジの発生がなく、二次公害の心配がないという有利性はあると考えられる。

今回のテーマである苦情などへの対応として2つの測定方法を考える場合は、人の感覚に近い形で数値化している希釈法の方が、J I S法よりも有効と考える。また、この測定法で求めた着色度の値と放流先の河川水量から放流先の着色度が分かる。今後この希釈法で行う場合は、測定条件を一定にし、再現性を高めることが重要である。

文 献

- 1) 三好康彦他：排水の着色測定の方法と問題点，公害と対策，27 (8)，3-10 (1991)
- 2) 日本工業規格：J I S K 0102工場排水試験方法 (1998)

西部（小笠）地域の窒素による地下水等汚染調査（第2報）

西部支所

中島二夫, 河合 渉, 小池 明

永谷隆行, 梅原 鎬市

和歌山大学

井伊博行, 田中豊和

Survey on Contamination of Nitrate in Groundwater

Tsugio NAKAJIMA, Wataru KAWAI, Akira KOIKE,
Takayuki NAGATANI, Kōichi UMEHARA, Hiroyuki II,
and Toyokazu TANAKA

K町およびO町の地下水（井戸水）とため池および河川の前年度の調査結果から、硝酸性窒素による汚染が認められ、汚染源は、地表から供給されると推定された。今年度、さらに追跡調査を行ったところ、一部の地域でpHの上昇と硝酸性窒素の減少が認められた。この水質の改善は、農耕地に対する窒素施肥量の減少によるものと推定された。

Key words: 地下水, ため池, 硝酸, 硫酸, 窒素肥料

Groundwater, Tameike, Nitrate, Sulfate, Nitrogenfertilizer

はじめに

硝酸性窒素による地下水の汚染は、ため池を酸性化し、魚やその他の生物の生存を不可能にするとともに、地下水を飲用不可能とする。硝酸性窒素による汚染の状況を把握し、汚染原因を明らかにし、汚染対策をすることにより、池には魚が住み、地下水を飲用可能にする必要がある。このため本調査を実施した。

調査方法

1 調査期間

1998年4月から1999年12月

1999年度は、4月から12月までの各月一回合計9回調査した。

2 調査地点

1999年度は、静岡県のK町とO町内の井戸14地点(K1,K2,K3,K4,K5,K6,K7,K8,K9,K10,k11,k12,O1,O2), ため

池4地点(T池, WO池, WK池, Y池), 河川5地点(流入河川のT川, WO川, Y川と一級河川のG川, H川)の合計23地点を調査した。

3 調査項目および分析方法

pH, 酸化還元電位(ORP), 電気伝導度(EC)は、それぞれpHメーター(ガラス電極法), ORP計, ECメーターを用いて現地で測定した。

その他の項目は、検水をポリ瓶に採水し実験室に持ち帰り分析した。

その他の項目は、溶存酸素(DO), 硝酸性窒素(NO_3^- -N), アンモニウムイオン(NH_4^+), 亜硝酸性窒素(NO_2^- -N), 硫酸イオン(SO_4^{2-}), ニッケル(Ni), ホウ素(B), コバルト(Co), アルミニウム(Al), 塩素イオン(Cl^-), ナトリウムイオン(Na^+), カリウムイオン(K^+), カルシウムイオン(Ca^{2+}), マグネシウムイオン(Mg^{2+}), マンガンイオン(Mn^{2+}), 炭酸イオン(HCO_3^-)であり、分析方法は、表1によった。

調査結果および考察

1 各地点のpH

前年度¹⁾と今年度のpHの調査結果を図1~2に示した。

各測定地点のpHの平均値は、いずれもpH7以下であり、

表1 分析方法

項目	分析方法
pH	ガラス電極法
EC	電気伝導度計
ORP	ORP計
DO	ウインクラー・アジ化ナトリウム変法
NO ₃ -N	イオンクロマトグラフィー
NH ₄ ⁺	〃
NO ₂ ⁻	〃
SO ₄ ²⁻	〃
Cl ⁻	〃
Ni, B	ICP発光分析法
Co, Al	〃
Mn ²⁺	〃
Na ⁺ , K ⁺	イオンクロマトグラフィー
Ca ²⁺ , Mg ²⁺	〃
HCO ₃ ⁻	硫酸滴定法

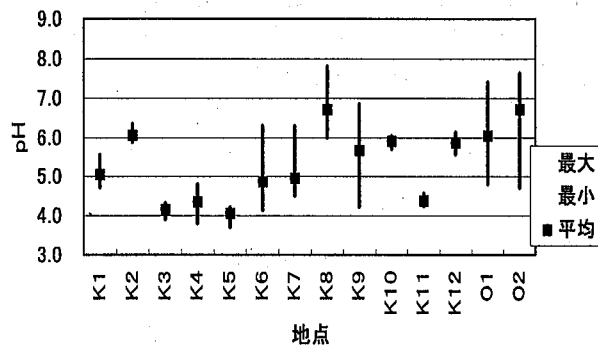


図1 井戸水のpH

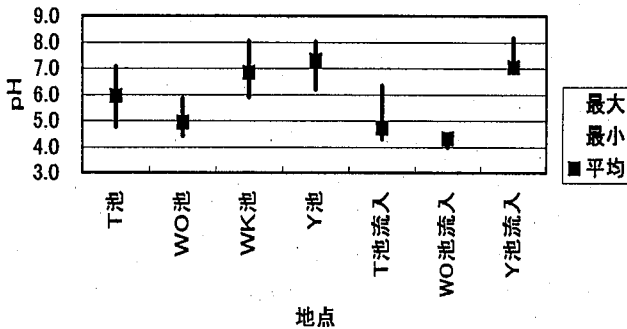


図2 ため池と流入河川のpH

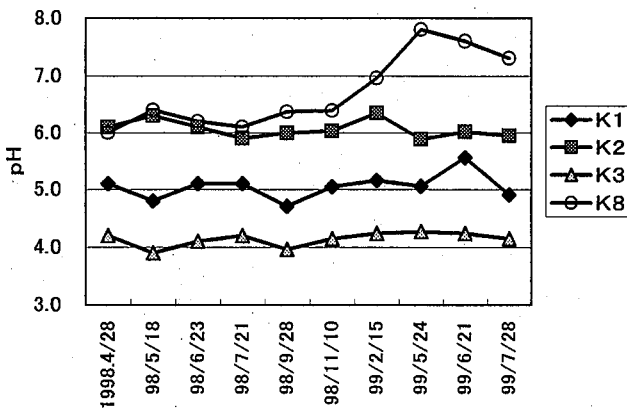


図3 pHの経時変化 (井戸)

地下水の酸性化が認められた。

また、2つのため池と、これらのため池に流入する2河川は、河川的环境基準を超えていた。酸性化が認められたため池や河川の周囲は、樹園地であった。

2 pHの経時変化

調査を開始した前年度¹⁾から今年度にかけて、pHの経時変化を図3～6に示した。調査した井戸のうち、K4, K5, K8の3地点は、調査開始時に比べ、pHが上昇する傾向が認められた。また、調査した4つのため池は、いずれも調査開始時に比べ、pHが上昇する傾向が認められた。

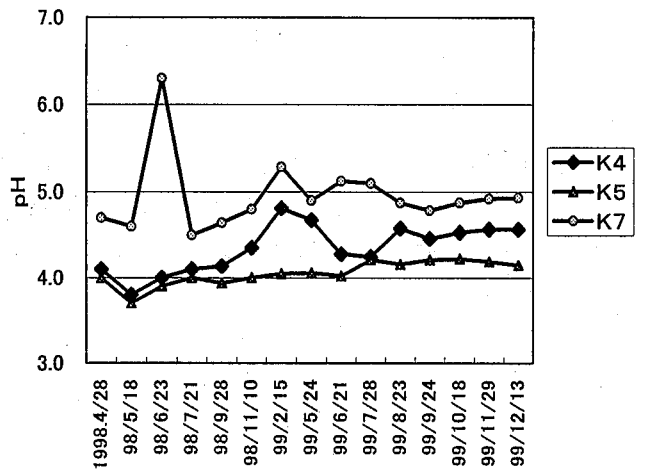


図4 pHの経時変化 (井戸)

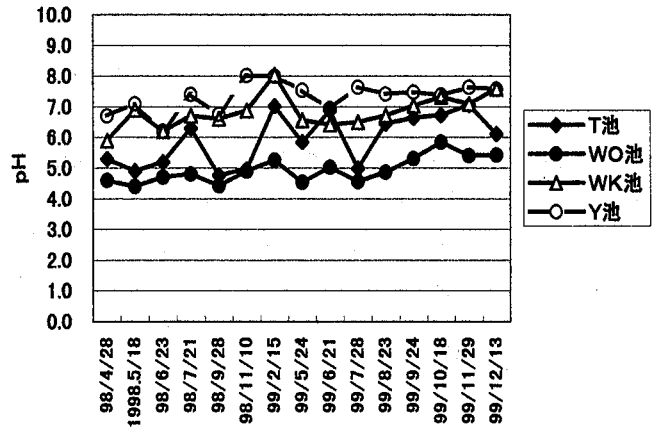


図5 pHの経時変化 (ため池)

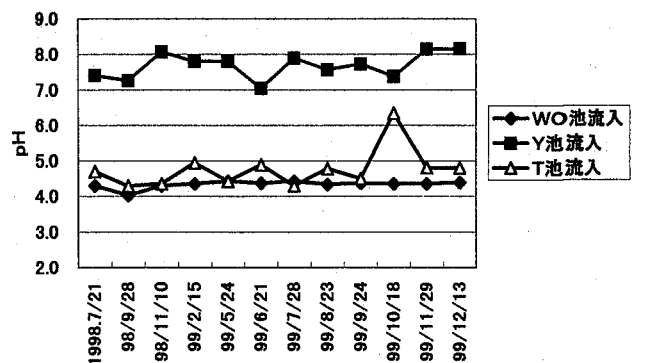


図6 pHの経時変化 (流入河川)

3 硝酸性窒素

硝酸性窒素の調査結果を図7～8に示した。

各測定点の値と地下水の環境基準 (NO₃-N 10mg/l以下)と比較した。調査した14地点の井戸のうち10地点が、基準を超えていた。また、調査した4つのため池の年間平均値は、いずれも10mg/lを超えていた。前年と同様に、硝酸性窒素による地下水とため池の汚染が確認された。

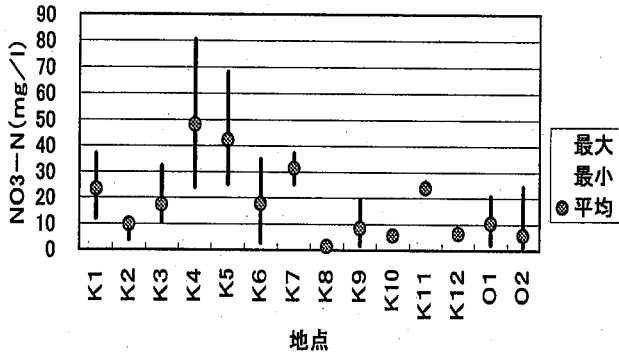


図7 井戸水のNO₃-N

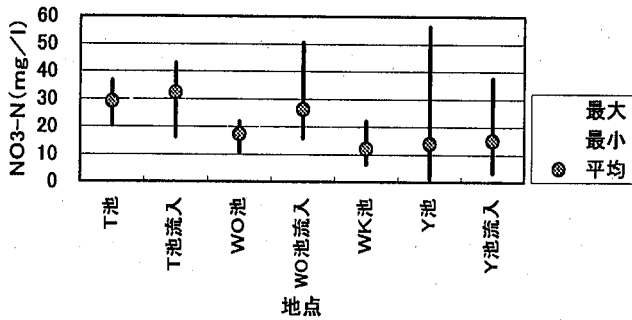


図8 ため池と流入河川のNO₃-N

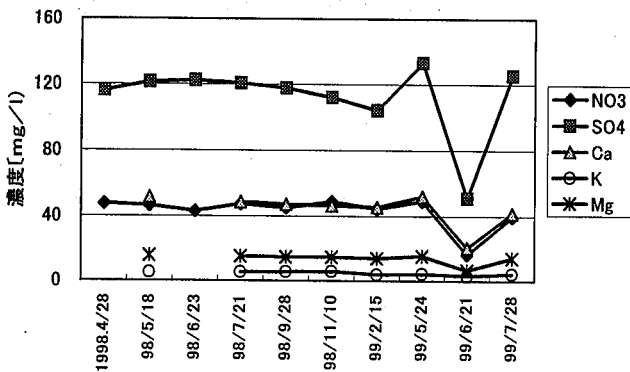


図9 水質の経時変化 (井戸K2)

4 水質の経時変化

井戸K2, 井戸K4およびWO池の水質の経時変化をそれぞれ図9, 図10, 図11に示した。また、調査地域で最も広く栽培されている作物の施肥設計²⁾の経年変化を図12に示した。

pHの変化が少なかった井戸K2は、水質組成も同様に

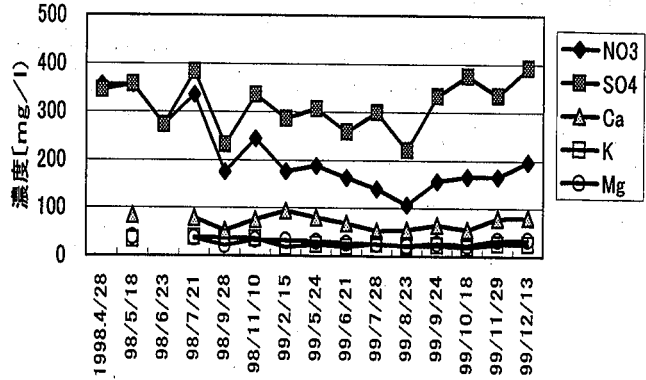


図10 水質の経時変化 (井戸K4)

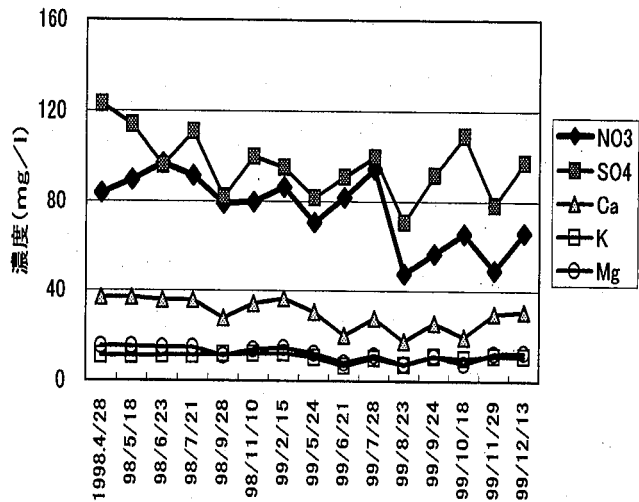


図11 水質の経時変化 (WO池)

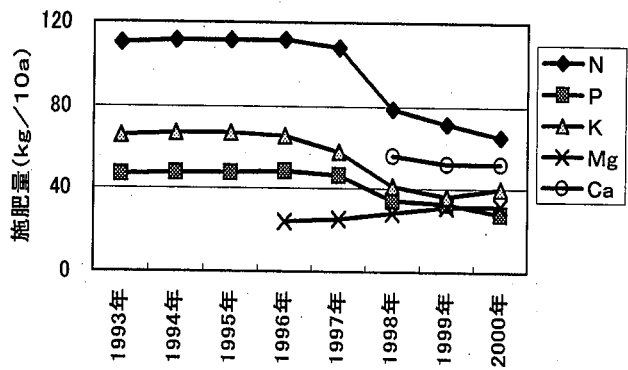


図12 施肥設計書 (標準コース)

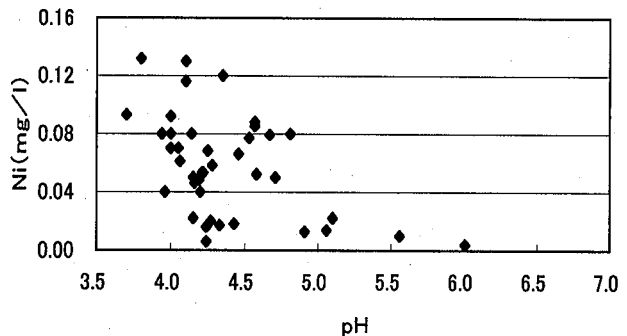


図13 pHとニッケルイオンとの関係

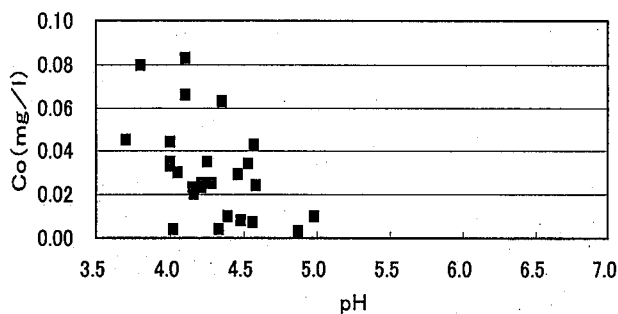


図14 pHとコバルトイオンとの関係

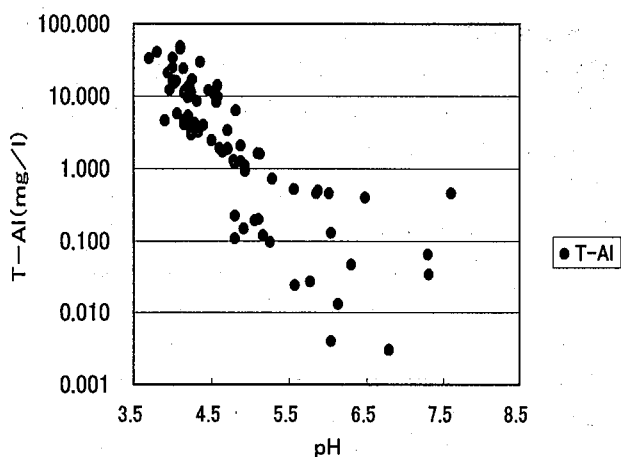


図15 pHとアルミニウムとの関係

変化がなかった。これに対し、pHが上がった井戸K4やWO池は、いずれも、硝酸イオンが減少していた。なお、他のpHが上がった井戸や池も硝酸イオンが減少していた。これは、調査地域の窒素施肥量が、減少したためと推定された。

5 金属類

井戸水のpHとニッケルイオン、コバルトおよびアルミニウムの関係をそれぞれ、図13、図14、図15に示した。

上記の3種類の金属は、pHが4.5以下の井戸水で検出された。これらの金属が地下水中に含まれていることは、人体や植物に有害な作用を及ぼす可能性があり、今後、発生源や溶出機構を明らかにするとともに、これらの金属の低減化の技術を開発する必要があると思われる。

ま と め

- 1 硝酸性窒素による地下水とため池の酸性化が、前年度と同様に認められた。しかし、一部の地域では、酸性化の改善と硝酸性窒素の減少が認められた。これは、窒素施肥量の減少によるもの推定された。
- 2 酸性の地下水から、ニッケル、コバルトおよびアルミニウムが検出された。今後、これらの金属の発生源と溶出機構を明らかにし、低減化の技術を開発する必要があると思われる。

文 献

- 1) 中島二夫他：西部（小笠）地域の窒素による地下水等汚染調査（第1報），静岡県環境衛生科学研究所報告，41，113-117（1998）
- 2) JA遠州夢咲：年間施肥設計書（1993）；前掲書（1994）；前掲書（1995）；前掲書（1996）；前掲書（1997）；前掲書（1998）；前掲書（1999）；前掲書（2000）

他誌に発表した論文

微生物部

1) 浜名湖産二枚貝の麻痺性貝毒による毒化

成田 弘子, 中村 信也, 窪田 勉
杉山 寛治, 影山 知子, 野口 玉雄
Mycotoxins, 48, 9~14 (1999)

In September, 1996, paralytic toxicity was detected in cultured oyster *Crassostrea gigas* and short necked clam *Tapes japonica* from Hamanako, Shizuoka Prefecture concomitantly with the appearance of the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella*. The toxicities were 7.9 MU/g for oyster and 10.2 MU/g for short necked clam.

The toxin of the bivalves in Hamanako was found to be comprised GTX2 and GTX3 as major component.

2) 犬と猫のkokshiera症

長岡 宏美, 山本 茂貴
獣医畜産新報, 52, 935~938 (1999)

kokshiera症は、わが国においては emerging disease である。われわれは、本症を人獣共通感染として捉え、特に伴侶動物と人との関係について疫学調査を行ってきた。その結果、犬および猫のkokshiera症が国内に広く分布していることが明らかになった。さらに、飼育動物を含めた家族内感染が成立すること、人と動物相互が感染源となり得ること、人と動物共通の生活環境に感染サイクルが形成される可能性が強く示唆された。

3) Bacteriological investigation of an outbreak of *Clostridium perfringens* food poisoning caused by Japanese food without animal protein

Norinaga Miwa, Takashi Masuda, Katsuya Terai, Asako Kawamura, Kazuhiro Otani, Hideki Miyamoto
International Journal of Food Microbiology, 49, 103-106 (1999)

An outbreak of *Clostridium perfringens* food poisoning occurred in senior citizen's home in Japan. Japanese food, spinach boiled with fried bean curd, was considered to be the causative food as a result of the detection of the *C. perfringens* enterotoxin gene by nested PCR. The number of enterotoxin-positive *C. perfringens* was enumerated as 4.3×10^6 /g in the causative food by the MPN method combined with nested PCR. By cultivation,

enterotoxin-positive *C. perfringens* was isolated from all the fecal specimens of patients tested and the causative food. The isolates from patients were serotypable, heat-resistant and the majority produced enterotoxin. However most isolates from the causative food were nonserotypable, enterotoxin-negative and heat-sensitive.

4) Molecular typing of *Escherichia coli* O157:H7 (H-) isolates from cattle in Japan

M. AKIBA, T. MASUDA, T. SAMESHIMA,
K. KATSUDA AND M. NAKAZAWA
Epidemiol. Infect., 122, 337-341 (1999)

A total of 77 *Escherichia coli* O157:H7 (H-) isolates from cattle in Japan were investigated by molecular biological methods. Most of these isolates (43 isolates) possessed the stx2 gene, but not stx1. Fifteen bacteriophage types and 50 pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) profiles were observed. One isolate was indistinguishable from the human outbreak strain by these methods. This indicates that cattle must be considered as a possible source of human *E. coli* O157:H7 infection in Japan.

5) 静岡県内の知的障害更正施設における赤痢アメーバの感染状況

寺井 克哉, 増田 高志, 宮本 秀樹
感染症学雑誌, 73, 626~627 (1999)

赤痢アメーバ *Entamoeba histolytica* 感染のハイリスクグループとして知られている知的障害者更正施設を対象とした広範囲の疫学調査はあまり行われていない。そこで、我々は県内9カ所の知的障害者更正施設入所者516人の糞便について鏡検法と培養法の併用により *E. histolytica* の保有状況を調査した。

その結果、鏡検法において1施設の4人から *E. histolytica* / *dispar* 嚢子が検出され、培養法においても鏡検法陽性の4人から栄養型が検出された。栄養型は遺伝子増幅法 (PCR法) により、すべて *E. histolytica* と同定され、検出率は全入所者で0.8% (4/516)、陽性施設入所者で4.2% (4/96) であった。陽性者4人は全て無症候性のシスト (嚢子) キャリアで、他の入所者と比べて特に清潔観念がない入所者であったことから、入所者の有する特異癖 (異食、弄便) により感染したものと推察された。

6) 食中毒由来の *Salmonella Enteritidis* の解析

川村朝子, 寺井克哉, 三輪憲永
増田高志, 宮本秀樹, 中村信也
泉谷秀昌, 寺嶋淳

食品衛生研究 7月号, 85~90 (1999)

過去9年間(1989~1997)に当所で検査を実施した食中毒および散発下痢症患者由来のサルモネラ1,218株の血清型は, *S. Enteritidis* (SE) が490株と最も多く, 次に *S. Typhimurium* (ST) の195株であった。

また, 最近3年間(1995~1997年)の食中毒由来のSE85株(13件)について, 薬剤感受性試験, フェージ型別, パルスフィールド電気泳動(PFGE)パターンによる型別を行った。その結果, フェージ型とPFGEパターンはそれぞれ同一事例内ではほぼ同じ型を示し, 疫学マーカーとして有用と思われた。しかし, これら型別の間に有意な関連性は認められなかった。

医薬品生活部

1) 静岡県環境衛生科学研究所のISO14001認証取得の経緯について

永野隆夫
生活と環境, 10, (1999)

静岡県環境衛生科学研究所は, 平成11年3月, 本県の公的試験研究機関として初めてISO14001の認証を取得した。これは, 環境マネジメントシステム(以下EMS)推進事業の一環として平成10年度における環境部の主要事業の1つとして, 以下の目的をもって実施されたものである。

- (1) 中小企業に対するEMS構築のノウハウの取得。
- (2) 当所がEMSを構築することにより事業者への普及を図る。
- (3) EMSを導入することにより環境負荷の低減を図る。
- (4) 効率的な業務を推進する。

環境科学部

1) 臭気センサーによる複合臭気の評価手法の検討(Ⅲ) 悪臭現場などでの連続測定結果の評価と問題点について

房家正博, 雨谷敬史, 松下秀鶴
相馬光之
大気環境学会誌, 34(4), 289-298 (1999)

金属酸化物半導体式臭気センサーXP-329Sを用いて, ステンレス製の臭気試験室内で経時的に濃度変化する臭気を測定したとき, および, 実際の悪臭現場に当該臭気センサーを一週間程度設置して連続測定したときの, 臭

気センサー指示値と臭気物質濃度との関係や, 臭気センサーの応答特性などについて検討した。

その結果, 臭気センサーに対して定期的な感度の確認と正確なゼロ調整を行えば, クラフトパルプ(KP)工場やし尿処理施設での試験結果から, そこで測定される臭気物質の濃度から臭気センサー指示値を予測することが可能であることを認めた。また, 臭気物質の成分組成が一定しているKP工場においては, そのセンサー指示値から臭気物質濃度を予測することが可能であることを認めた。また, 臭気試験室での試験結果では空気清浄機の脱臭フィルターにより生成された二次生成物の存在を臭気センサー指示値と機器分析結果によって実証することができた。このことは, 物質濃度測定を行った成分以外の物質の存在を, 臭気センサーを用いて推察できることを示している。

2) 静岡県環境衛生科学研究所におけるISO14001の取り組みと効果

池谷静雄
全国公害研会誌, 24(4), 41~47 (1999)

静岡県環境衛生科学研究所は, 1999年3月1日に地方自治体の環境研究所として全国に先駆けてISO14001の認証を取得した。ISO14001導入の効果は大きく, 職員の環境保全意識の向上, 法的要求事項の認識, 試薬の管理, 経費の節減等に有効に機能している。また当研究所のEMS(環境マネジメントシステム)構築のノウハウを活かし, 県内企業のISO14001の認証取得を積極的に支援していくとともに, 見直し等によりシステムのステップアップを図り, 継続的改善に取り組み, 環境負荷の削減に努めていく。

大気・水質部

1) Fishing Grounds of Spotted Mackerel and its Water Temperature in the Izu Islands Waters

Kazuyuki HIRAI
Bulletin of the Japanese Society of Fisheries Oceanography, 63(4), 119-204 (1999)

Scoop net and pole-and-line fishings for the spotted mackerel (*Scomber australasicus*) were operated in the waters around the northern Izu Islands. Fishing grounds were usually located in the coastal side of the Kuroshio current axis with occasional occurrence in the offshore side of the axis. Sea surface temperature of the fishing grounds ranged from 15-28 °C, which corresponded to 13-23 °C at 50-100m deep. Since the waters of the optimal temperature for the spotted mackerels reported in the East China Sea were observed around the northern Izu

Islands all year round, the mackerels were assumed to stay in these waters throughout a year changing their locations with shifts of the Kuroshio current axis.

2) On the Characteristics of Catch of the Pelagic Fishes based on Water Temperature at Large Set-net

Kazuyuki HIRAI and Noriaki KAWAI
Bulletin of the Shizuoka Prefectural Fisheries
Experiment Station, 35, 1-6 (2000)

Sixteen large set-nets at the coast of Shizuoka

prefecture catch many pelagic fishes which have own suitable water temperature for its inhabitation. For the management of that fisheries, it is important to know the mechanism of the arrival to the coast caused by the change of sea water temperature. By the continuous observation of sea water temperature at 10m depth, the pattern which pelagic fishes arrive to the coast was classified eight groups. The daily sea water temperature on catch observing at large set-nets was different in similar species subtly and decreased by growth especially in case of Yellow tail.

学会・研究会の報告

管理部

1) 静岡県のSTEC感染症の疫学的解析 (3報)

宮本秀樹
第4回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム
1999.6 (大阪)

2) 静岡県における食中毒・感染症の最近の動向

宮本秀樹, 寺井克哉, 川村朝子
三輪憲永, 増田高志, 杉枝正明
第45回東海公衆衛生学会 1999.7, (名古屋)

3) 静岡県の食中毒・感染症の分子疫学的解析

宮本秀樹
第58回日本公衆衛生学会 1999.10, (大分)

4) 静岡県及び全国の感染症発生動向分析

宮本秀樹
第36回静岡県公衆衛生研究会 2000.2, (静岡)

微生物部

1) イヌとネコのコクシエラ症 (Q熱)

長岡宏美, 山本茂貴
第127回日本獣医学会 1999.4, (相模原)

2) レジオネラ症患者の検査と疫学的調査

杉山寛治, 増田教子, 郷田淑明
秋山真人, 宮本秀樹, 中村信也
第45回東海公衆衛生学会 1999.7, (名古屋)

3) 夏季に起きたB型インフルエンザの集団発生

佐原啓二, 杉枝正明, 長岡宏美

三輪好伸, 宮本秀樹, 秋山真人
第45回東海公衆衛生学会 1999.7, (名古屋)

4) 集団給食を原因として発生したウェルシュ菌による食中毒の細菌学的検討

三輪憲永, 川村朝子, 寺井克哉
増田高志, 宮本秀樹, 中村信也
大谷和弘, 堀井千恵子, 森主博貴
田中洋子
第45回東海公衆衛生学会 1999.7, (名古屋)

5) 食中毒事例の患者等における糞便中のSRSVの消長

佐原啓二, 杉枝正明, 長岡宏美
三輪好伸, 宮本秀樹, 秋山真人
新美洋, 樽林富雄, 石神勝幸
漆畑健, 中澤美歌乃, 藤井正司
池端昭男
全食協第39回関東ブロック研修大会 1999.9,
(藤沢)

6) 牛乳におけるQ熱のリスクアセスメントに関する検討

長岡宏美, 佐原啓二, 三輪好伸
杉枝正明, 秋山真人, 宮本秀樹
中村信也, 山本茂貴
全食協第39回関東ブロック研修大会 1999.9,
(藤沢)

7) SRSV遺伝子の検出用プライマーの検討

杉枝正明, 佐原啓二, 長岡宏美
三輪好伸, 宮本秀樹, 秋山真人
内藤博敬, 森田全

- 第14回関東甲信静支部ウイルス研究会
1999.9, (山梨)
- 8) 静岡県で1998年の非流行期とその後の流行シーズンに分離されたB型インフルエンザウイルスの疫学的解析
佐原啓二, 杉枝正明, 長岡宏美
三輪好伸, 宮本秀樹, 秋山真人
中島節子, 根路銘令子
第14回関東甲信静支部ウイルス研究会
1999.9, (山梨)
- 9) PCR を利用した海水からのTDH 産生腸炎ビブリオの検出
杉山寛治, 増田教子, 郷田淑明
秋山真人, 宮本秀樹, 中村信也
第20回日本食品微生物学会 1999.10, (盛岡)
- 10) 卵黄反応陰性黄色ブドウ球菌による食中毒事例
三輪憲永, 川村朝子, 増田高志
秋山真人, 花枝清, 匂坂博美
八木美弥, 向後勝成
第20回日本食品微生物学会 1999.10, (盛岡)
- 11) ウシにおける *Coxiella burnetii* 感染様式に関する研究
長岡宏美, 佐原啓二, 三輪好伸
杉枝正明, 秋山真人, 山本茂貴
第128回日本獣医学会 1999.10, (熊本)
- 12) *C. burnetii* 感染者の呈する症状についての一考察
長岡宏美, 佐原啓二, 三輪好伸
杉枝正明, 秋山真人, 原元彦
山本茂貴
第6回リケッチア研究会 1999.11, (東京)
- 13) 食中毒事例の患者等における糞便中のSRSVの消長
佐原啓二, 杉枝正明, 長岡宏美
三輪好伸, 宮本秀樹, 秋山真人
新美洋, 樽林富雄, 石神勝幸
漆畑健, 中澤美歌乃, 藤井正司
池端昭男
全国食品衛生監視員協議会研修会 1999.11.
(東京)
- 14) 牛乳におけるQ熱のリスクアセスメントに関する検討
長岡宏美, 佐原啓二, 三輪好伸
- 杉枝正明, 秋山真人, 宮本秀樹
中村信也, 山本茂貴
全国食品衛生監視員協議会研修会 1999.11.
(東京)
- 15) オゾン水の眼科術前消毒への応用—有効性について
斎藤克也, 柏木賢治, 高橋博
石嶋清隆, 飯島裕幸, 塚原重雄
林達敏, 秋山真人, 三輪好伸
星昭二
第23回日本眼科手術学会 2000.1, (名古屋)
- 16) オゾン水の眼科術前消毒への応用—安全性について
柏木賢治, 齊藤克也, 高橋博
石嶋清隆, 飯島裕幸, 塚原重雄
林達敏, 秋山真人, 三輪好伸
星昭二
第23回日本眼科手術学会 2000.1, (名古屋)
- 17) インフルエンザウイルスに対する県民の年齢別抗体保有状況
佐原啓二, 杉枝正明, 長岡宏美
三輪好伸, 秋山真人
第36回静岡県公衆衛生研究会 2000.2, (静岡)
- 18) 眼科疾患の起因ウイルス検索と迅速同定法
三輪好伸, 杉枝正明, 佐原啓二
長岡宏美, 秋山真人, 石川靖彦
第36回静岡県公衆衛生研究会 2000.2, (静岡)
- 19) ペロ毒素産生性大腸菌 [O103:H2] による家族内感染例とその疫学的検討
増田高志, 川村朝子, 三輪憲永
秋山真人
第36回静岡県公衆衛生研究会 2000.2, (静岡)
- 20) 海水・海泥からの耐熱性溶血毒産生腸炎ビブリオの検出
杉山寛治, 増田教子, 郷田淑明
秋山真人
第36回静岡県公衆衛生研究会 2000.2. (静岡)

21) 浜名湖産二枚貝の麻痺性貝毒調査
増田教子, 杉山寛治, 郷田淑明
秋山真人, 中村信也
第36回静岡県公衆衛生研究会 2000.2, (静岡)

22) 静岡県で分離された *Salmonella* Oranienburg の分析
川村朝子, 三輪憲永, 増田高志
秋山真人
第36回静岡県公衆衛生研究会 2000.2, (静岡)

23) 市販チーズにおける *Coxiella burnetii* 汚染の実態調査
長岡宏美, 佐原啓二, 三輪好伸
杉枝正明, 秋山真人
第36回静岡県公衆衛生研究会 2000.2, (静岡)

24) 食中毒由来の *Salmonella* Enteritidis の解析
川村朝子, 寺井克哉, 三輪憲永
増田高志, 秋山真人
平成11年度日本獣医公衆衛生学会年次大会
2000.2, (静岡)

25) 牛乳等における *C. burnetii* 汚染状況
長岡宏美, 佐原啓二, 三輪好伸
杉枝正明, 秋山真人, 山本茂貴
平成11年度日本獣医公衆衛生学会年次大会
2000.2, (静岡)

26) 昼食弁当中の『いり卵』を原因食品とする卵黄反応陰性黄色ブドウ球菌による食中毒
三輪憲永, 川村朝子, 増田高志
秋山真人
平成11年度日本獣医公衆衛生学会年次大会
2000.2, (静岡)

27) 海水・海泥からの耐熱性溶血毒産生腸炎ピブリオの検出
杉山寛治, 増田教子, 川村朝子
郷田淑明, 秋山真人
第12回地研関東甲信静支部細菌部会研究会
2000.2, (川崎)

28) VTEC [O103:H2] による家族内感染例
川村朝子, 三輪憲永, 増田高志

秋山真人
第12回地研関東甲信静支部細菌部会研究会
2000.2, (川崎)

医薬品生活部

1) 試験研究機関におけるISO14001認証取得事例
永野隆夫
平成11年度第1回医薬品等製造業者品質管理講習会 1999.9, (静岡)

2) スプレー式ヘアカラーについて
中村和光
第34回全国商品テスト機関連絡会議 1999.9, (東京)

3) 医薬品等の試験検査結果の信頼性を確保するために
(第3報)
— 新人職員への教育訓練と内部精度管理 —

小和田和宏, 堀池あずさ, 馬淵博
上村慎子, 高橋真, 坂根弓子
佐野智子, 永野隆夫
第36回全国衛生化学技術協議会年会
1999.11, (福岡)

4) 溶出試験法のバリデーションについて
馬淵博, 堀池あずさ, 小和田和宏
佐野智子, 永野隆夫, 森川馨
第36回全国衛生化学技術協議会年会
1999.11, (福岡)

5) 日常管理における試験方法のバリデーションについて
堀池あずさ, 小和田和宏, 馬淵博
佐野智子, 上村慎子, 高橋真
坂根弓子, 永野隆夫, 森川馨
第36回全国衛生化学技術協議会年会
1999.11, (福岡)

6) 農産食品中の残留農薬スクリーニング法の検討
高橋真, 上村慎子, 坂根弓子
堀池あずさ, 馬淵博, 小和田和宏
佐野智子, 永野隆夫
第36回全国衛生化学技術協議会年会
1999.11, (福岡)

7) 試験研究機関におけるISO14001認証取得事例
永野隆夫

- 環境科学会1999年会シンポジウム 1999.11,
(豊橋)
- 8) 試験研究機関におけるISO14001認証取得事例
永野隆夫
第36回全国薬事指導協議会 1999.12, (三重)
- 9) 試験研究機関におけるISO14001認証取得事例
永野隆夫
全国公害研協議会ISO 小委員会 1999.12,
(大阪)
- 10) 医薬品等の試験検査結果の信頼性を確保するために
小和田和宏, 堀池あずさ, 馬淵 博
上村慎子, 高橋 真, 坂根弓子
佐野智子, 永野隆夫
第36回静岡県公衆衛生研究会 2000.2, (静岡)
- 11) 医薬品溶出試験の問題点の把握とその対応
馬淵 博, 堀池あずさ, 小和田和宏
佐野智子, 永野隆夫
第36回静岡県公衆衛生研究会 2000.2, (静岡)
- 12) 医薬品収去検査における試験方法の変動要因について
堀池あずさ, 小和田和宏, 馬淵 博
佐野智子, 永野隆夫
第36回静岡県公衆衛生研究会 2000.2, (静岡)
- 13) 医薬品等の試験検査に係る有害試薬の低減化の試み
小和田和宏, 堀池あずさ, 馬淵 博
佐野智子, 永野隆夫
第36回静岡県公衆衛生研究会 2000.2, (静岡)
- 14) ISO14001認証取得への取り組みについて
馬淵 博, 久保山成基, 三輪好伸
池谷静雄, 永野隆夫
第36回静岡県公衆衛生研究会 2000.2, (静岡)
- 15) 県内流通農産品中の残留農薬について
坂根弓子, 上村慎子, 高橋 真
佐野智子, 堀池あずさ, 馬淵 博
- 小和田和宏, 永野隆夫
第36回静岡県公衆衛生研究会 2000.2, (静岡)
- 16) 医薬品製造業等からの相談事例とその対応について
小和田和宏
平成11年度地方衛生研究所全国協議会関東甲
信静支部理化学部会 2000.2, (宇都宮)
- 17) 無洗米について
菅野尚子
第29回関東甲信越静商品テスト機関ブロック
連絡会議 2000.2, (水戸)
- 18) 試験結果の信頼性を確保するために
小和田和宏
平成11年度第2回医薬品等製造業者品質管理
講習会 2000.2, (静岡)
- 19) 溶出試験の問題点の把握とその対応
馬淵 博, 堀池あずさ, 小和田和宏
佐野智子, 永野隆夫, 森川 馨
日本薬学会第120年会 2000.3, (岐阜)
- 20) 医薬品収去検査における試験方法の変動要因について
堀池あずさ, 小和田和宏, 馬淵 博
佐野智子, 永野隆夫, 森川 馨
日本薬学会第120年会 2000.3, (岐阜)
- 環境科学部**
- 1) 空気清浄機による臭気物質の除去効果と脱臭フィルターとの関連について
房家正博, 雨谷敬史, 松下秀鶴, 相馬光之
第40回大気環境学会年会 1999.9, (三重県)
- 2) 静岡環境衛生科学研究所におけるISO14001導入の効果について
池谷静雄
第26回環境保全・公害防止研究発表会
1999.11, (名古屋)
- 大気・水質部**
- 1) 嗅覚測定法と物質濃度との比較
永田嘉七
臭気学会 1999.6, (東京)

- 2) 静岡県の有害大気汚染物質取組状況について
太田良和弘
東海地区公害試験研究機関会議大気分科会
1999.6, (名古屋)
- 3) 富士山水ヶ塚公園 (二合目) における大気環境調査について
篠原英二郎
全公研関東甲信静支部大気部会 1999.6, (前橋)
- 4) 新幹線騒音の測定手法について
萱沼広行
全公研関東甲信静支部騒音・振動部会
1999.7, (土浦)
- 5) 工場騒音の1日の変動と評価
竹下昭二
第45回東海公衆衛生学会 1999.7, (名古屋)
- 6) 環境基準未達成域の原因究明調査
-牛淵川について-
鈴木孝雄
全国公害研協議会関東甲信静支部水質専門部会 1999.8, (長野)
- 7) LxからLAeqを求める簡便法について
竹下昭二
日本騒音制御工学会平成11年度研究発表会
1999.9, (東京)
- 8) 新幹線鉄道騒音の評価手法の検討
萱沼広行
東海地区公害試験研究機関会議騒音・振動分科会 1999.11, (四日市)
- 9) 河川の底質サンプリング法について
太田良和弘
東海地区公害試験研究機関会議化学物質分科会 2000.2, (名古屋)

表 彰 等

微生物部

- 1) 静岡県知事表彰 (平成11年度 職員表彰)
「犬や猫に優しい繁殖制限に関する研究」
平成11年10月28日
佐原啓二
- 2) 全国食品衛生監視員協議会長表彰 (平成11年度 感謝状)
平成11年11月11日
増田高志
- 3) 厚生省生活衛生局長表彰 (全国食品衛生監視員協議会研修会優秀演題)
「食中毒事例の患者等における糞便中のSRSVの消長」
平成11年11月12日
佐原啓二, 杉枝正明, 長岡宏美
三輪好伸, 宮本秀樹, 秋山真人
新美 洋, 樽林富雄, 石神勝幸
漆畑 健, 中澤美歌乃, 藤井正司
池端昭男
- 4) 静岡県公衆衛生研究会 会長表彰 (優秀演題)
「ペロ毒素産生性大腸菌 [O103:H2] による家族内感染例とその疫学的検討」
平成12年2月4日
増田高志, 川村朝子, 三輪憲永
秋山真人
- 5) 静岡県公衆衛生研究会 会長表彰 (優秀演題)
「インフルエンザウイルスに対する県民の年齢別抗体保有状況」
平成12年2月4日
佐原啓二, 杉枝正明, 長岡宏美
三輪好伸, 秋山真人

医薬品生活部

- 1) 静岡県公衆衛生研究会 会長表彰 (優秀演題)
「医薬品等の試験検査結果の信頼性を確保するために」
平成12年2月4日
小和田和宏, 堀池あずさ, 馬淵 博
上村慎子, 高橋 真, 坂根弓子
佐野智子, 永野隆夫

環境科学部

1) 第6回環境化学論文賞

空気清浄機から発生するオゾンとその室内濃度に与える要因

平成12年7月7日 (北九州市)

房家正博, 雨谷敬史, 松下秀鶴

相馬光之

編集委員

池 谷 清 貴
小和田 和 宏
上 村 慎 子
佐 原 啓 二
杉 浦 秀 治
竹 下 昭 二
中 村 和 光
三 好 廣 志

静岡県環境衛生科学研究所報告

(第42号)

平成12年10月30日発行

編集発行 静岡県環境衛生科学研究所
静岡市北安東4丁目27-2
電 話 (054) 245-0201(代)

E-mailアドレス

eikanctr@shizuokanet.ne.jp

インターネットホームページ

<http://www2.shizuokanet.ne.jp/eikanctr>

印刷所 東洋印刷(株) 静岡支社
静岡市中村町217 静和ビル2F
電話 (054) 282-4764(代)