

Shizuoka-Ken Kankyō Eisei Kagaku
Kenkyūsho Hōkoku 47(2004)
ISSN 1343-246X

静岡県環境衛生科学研究所報告

平成16年度

Bulletin
of
Shizuoka Institute of
Environment and Hygiene

No. 47 2004

静岡県環境衛生科学研究所

は し が き

近年、我が国では、内分泌攪乱化学物質（環境ホルモン）など環境に関する問題、高病原性鳥インフルエンザ、ノロウイルスなど感染症に関する問題、残留農薬、牛海綿状脳症（BSE）など食品に関する問題等々、これらがヒトの健康や環境に及ぼす影響が危惧されています。

当研究所は、県民の安全と安心の確保を目指して、環境ホルモン、VOC(揮発性有害化学物質)、地下水の有害化学物質、環境や食品中の残留農薬、医薬品、遺伝子組換え食品、ノロウイルス感染症等々、環境、公衆衛生及び消費生活に関する広域的な調査・研究を行っています。これらの調査・研究の実施に当たっては、学識経験者等で構成された外部評価委員会による評価を受けるなど研究の効率的推進とレベルアップに努めています。

昨年度より富士山麓先端健康産業集積構想（ファルマバレー構想）の推進に向けた創薬探索システムの構築を図るため、医薬品候補化合物の有機合成、化合物のライブラリー作成等新たな業務も実施しています。

また、レジオネラプロジェクト研究終了に伴い、本年度から居住環境プロジェクト研究を立ち上げ、居住環境における有害化学物質の削減を目指した研究など県民生活に密着した問題や将来問題化しそうな課題について県民の期待に応えるよう努めています。

ここに、平成16年度の職員の調査研究成果を「研究所報告」第47号として取りまとめました。本誌を御高覧のうえ、御批判、御指導をいただければ幸いです。

平成17年8月

静岡県環境衛生科学研究所長 小 木 喜 憲

目 次

論 文

微生物部

- 1 野菜・果物における細菌性食品媒介感染症のリスク評価
…………… 佐野世乃, 柏木美智子, 廣井みどり, 川森文彦
三輪憲永, 増田高志, 倉重英明 …………… 1
- 2 MPN-PCR法による食品等の腸炎ビブリオおよび耐熱性溶血毒 (TDH) 産生菌分布調査
と食品中の増殖態度
…………… 三輪憲永, 柏木美智子, 川森文彦, 佐野世乃
廣井みどり, 増田高志, 倉重英明 …………… 7
- 3 迅速パルスフィールド・ゲル電気泳動法による主要食中毒細菌の遺伝子型解析
…………… 川森文彦, 柏木美智子, 廣井みどり, 佐野世乃
三輪憲永, 倉重英明 …………… 13

医薬品生活部

- 4 スキップ試験等の導入に関する研究 (第三報)
…………… 小和田和宏, 栗田浩幸, 植田敦子, 上村慎子
藤原厚子, 石川雅章, 浮島美之 …………… 19
- 5 医薬品等の規格試験法に関する問題点 (第六報)
…………… 小和田和宏, 栗田浩幸, 植田敦子, 上村慎子
藤原厚子, 石川雅章, 浮島美之 …………… 23
- 6 保健所等における外部精度管理調査結果
—ホールピペット及びメスフラスコの取り扱い—
…………… 小和田和宏, 石川雅章, 浮島美之
渡邊正幸, 越智壽美子, 中島美穂, 浅賀彦人
降旗昌彦, 志村将彦, 鈴木東悟 …………… 27

7	院内製剤の品質確保に関する研究（第五報）	
	—院内製剤0.2%塩酸ピペリデン液に関する検討—	
	…………… 植田敦子, 上村慎子, 栗田浩幸, 小和田和宏	
	石川雅章, 藤原厚子, 浮島美之	
	櫻井和子, 青島弘幸, 酒井道雄 ……………	31
8	野菜加工食品等に含まれるカロテノイドの実態調査	
	— β -カロテン, リコペン—	
	…………… 鈴木由利子, 望月大介, 菅野尚子, 浮島美之 ……………	37
9	カテキンを増量した緑茶飲料に関する調査研究	
	—その1 カテキン含有量の特性—	
	…………… 菅野尚子, 望月大介, 鈴木由利子, 浮島美之 ……………	41
10	カテキンを増量した緑茶飲料に関する調査研究	
	—その2 カテキン以外の化学成分について—	
	…………… 菅野尚子, 望月大介, 鈴木由利子, 浮島美之 ……………	47
11	園芸用育苗培土の化学特性及び物理特性	
	…………… 菅野尚子, 望月大介, 鈴木由利子, 浮島美之 ……………	51
12	家具の中に含まれる化学物質過敏症等に関連した化学物質	
	—p-Dichrolobenzene を主成分とする防虫剤及び衣類用収納容器—	
	…………… 望月大介, 菅野尚子, 鈴木由利子, 浮島美之	
	房家正博 ……………	57
13	防犯ブザーの使用実態調査と周波数特性等性能の解析	
	…………… 望月大介, 菅野尚子, 鈴木由利子, 浮島美之 ……………	63

環境科学部

- 14 パッシブサンプラーによる工場周辺の有害大気汚染物質濃度分布調査
..... 房家正博, 村松重諸, 浅岡龍郎
大関麻由果, 大浦 健, 雨谷敬史 69
- 15 ヒト及びメダカのエストロゲン受容体遺伝子導入酵母を用いた酵母ツーハイブリット・アッセイ法による化学物質と環境水のエストロゲン活性の比較
..... 深沢 均, 渡邊雅之 73

大気・水質部

- 16 ため池における茶園からの流出負荷量削減に関する研究
..... 瀧本俊晴, 石渡達也, 岡崎幸司, 河合 涉 79
- 17 エアロゾルの生成・移流に関する研究 (第二報)
—エアロゾル及び含有成分の濃度変動について—
..... 太田良和弘, 篠原英二郎, 増田 一, 鈴木 款 85
- 18 キャニスター法によるテルペン類を含む大気中揮発性有機化合物 (VOCs) の測定方法の検討
..... 太田良和弘, 遠藤 満 91

他誌に発表した論文 97

学会・研究会の報告 101

表彰等 105

CONTENTS

PAPERS

Department of Microbiology

- 1 Investigation of the Conditions of Bacterial Contamination in Fresh Vegetables and Fruits marketed in Shizuoka Prefecture
Y. Sano, M. Kashiwagi, M. Hiroi, F. Kawamori, N. Miwa,
T. Masuda and H. Kurashige ----- 1

- 2 Amount of *Vibrio parahaemolyticus* and Thermostable Direct Hemolysin (TDH)-Producing Organism in Seafood determined by the MPN-PCR Method and Growth Characteristics of *V. parahaemolyticus* in Seafood
N. Miwa, M. Kashiwagi, F. Kawamori, Y. Sano, M. Hiroi,
T. Masuda and H. Kurashige ----- 7

- 3 Genotyping of Major Causal Bacteria of Food Poisoning by Rapid Pulsed-Field Gel Electrophoresis
F. Kawamori, M. Kashiwagi, M. Hiroi, Y. Sano,
N. Miwa and H. Kurashige ----- 13

Department of Pharmaceutics and Consumer Science

- 4 Study on the Introduction of Periodic/Skip Testing (III)
K. Owada, H. Kurita, A. Ueta, M. Kamimura, A. Fujiwara,
M. Ishikawa and Y. Ukishima ----- 19

- 5 Study on Specifications and Test Methods of Drugs (VI)
K. Owada, H. Kurita, A. Ueta, M. Kamimura, A. Fujiwara,
M. Ishikawa and Y. Ukishima ----- 23

- 6 Collaborative Study on the Precision of Measurement Methods and Results in Public Health Center
—Use of Volumetric Glassware, Whole-Pipet and Mess-Flask—
K. Owada, M. Ishikawa, Y. Ukishima, M. Watanabe,
S. Ochi, M. Nakajima, H. Asaka, M. Furihata,
M. Shimura and T. Suzuki ----- 27

7	Study on Quality Assurance of Hospital Preparation (V) —Investigation for 0.2% Biperiden Hydrochloride Solution of Hospital Preparation—	A. Ueta, M. Kamimura, H. Kurita, K. Owada, M. Ishikawa, A. Fujiwara, Y. Ukishima, K. Sakurai, H. Aoshima and M. Sakai	31
8	Survey of Carotenoids in Vegetable Processed Foods — β -Carotene, Lycopene—	Y. Suzuki, D. Mochizuki, N. Kanno and Y. Ukishima	37
9	Investigation Research on the Green Tea Beverages which increased the Quantity of Catechins —The Characteristic of Catechins Contents—	N. Kanno, D. Mochizuki, Y. Suzuki and Y. Ukishima	41
10	Investigation Research on the Green Tea Beverages which increased the Quantity of Catechins —Chemical Composition Other than Catechins—	N. Kanno, D. Mochizuki, Y. Suzuki and Y. Ukishima	47
11	The Chemical Characteristic and the Physical Characteristic of Compost for Horticulture	N. Kanno, D. Mochizuki, Y. Suzuki and Y. Ukishima	51
12	The Chemical Substance Relevant to the Chemical Substance Hypersensitivity included in Furniture —The Insecticide which make p-Dicholobenzene a Principal Component and the Receipt Container for Clothing—	D. Mochizuki, N. Kanno, Y. Suzuki, Y. Ukishima and M. Fusaya	57
13	The Use Survey of a Crime Prevention Buzzer and Analysis of Frequency-Response-Characteristics Equality Ability	D. Mochizuki, N. Kanno, Y. Suzuki and Y. Ukishima	63

Department of Environment Science

- 14 Distribution of Hazardous Air Pollutants Nearby Industries
collected by Passive Sampler
M. Fusaya, S. Muramatsu, T. Asaoka, M. Ohzeki,
T. Ohura and T. Amagai ----- 69
- 15 Estrogenic Activity in the Yeast Two-Hybrid Assay using Recombinant Yeast
containing the Human and Medaka Estrogen Receptor Gene for Chemicals and
Environmental Water Samples
H. Fukazawa and M. Watanabe ----- 73

Department of Pollution Control

- 16 Study on Removal Effect of Runoff Loads from Tea Field in a Pond
T. Takimoto, T. Ishiwata, K. Okazaki and W. Kawai ----- 79
- 17 Study on the Mechanism for the Formation and the Moving State of
Atmospheric Aerosols(II)
—Mass Concentrations and Containing Elements of Aerosols—
K. Ohtara, E. Shinohara, H. Masuda and Y. Suzuki ----- 85
- 18 Measurement of Terpenes and Volatile Organic Compounds(VOCs)
in Ambient Air by Canister Method
K. Ohtara and M. Endo ----- 91

SUMMARIES OF PAPERS IN OTHER PUBLICATIONS ----- 97

PRESENTATIONS AT CONFERENCES AND/OR SOCIETY MEETINGS ----- 101

COMMENDATION ----- 105

野菜・果物における細菌性食品媒介感染症のリスク評価

微生物部 微生物スタッフ 佐野世乃, 柏木美智子, 廣井みどり
川森文彦, 三輪憲永, 増田高志*
倉重英明

Investigation of the Conditions of Bacterial Contamination
in Fresh Vegetables and Fruits marketed in Shizuoka Prefecture

Yono SANŌ, Michiko KASHIWAGI, Midori HIROI,
Fumihiko KAWAMORI, Norinaga MIWA, Takashi MASUDA and Hideaki KURASHIGE

平成15年5月～平成16年11月にかけて県内の店舗等で購入した野菜・果物計200検体(外国産24検体を含む)および動物糞堆肥を含む有機配合肥料12検体について, 一般細菌数, 大腸菌群, 大腸菌, 腸管出血性大腸菌 O157, サルモネラ, リステリア, エルシニア, 赤痢菌の検査を行った。

野菜の一般細菌数は $10^6 \sim 10^7$ CFU/g のものが多く, 一般細菌数が多い検体では大腸菌群陽性のものが多かった。大腸菌群は120検体(64.5%)が陽性であった。外国産野菜では大腸菌群陽性は10検体(71.4%), 大腸菌陽性は3検体(21.4%)で国産検体の大腸菌群陽性率(64.0%), 大腸菌陽性率(5.8%)より高かった。水耕栽培野菜は一般細菌数 10^6 CFU/g以上の検体が77.8%であり, 大腸菌群陽性率も81.5%と高かった。果物は全体的に一般細菌数が少なかったが1検体のみ 10^6 CFU/gに達し大腸菌群も陽性であった。すべての検体で食中毒細菌は検出されなかったが, 大腸菌が13検体(7%)から検出された。

Key Words: 食品媒介感染症, 微生物汚染実態, 生鮮野菜・果物, 水耕栽培野菜, 有機栽培野菜
food-borne infection, actual conditions of bacterial contamination,
fresh vegetables and fruits, hydroponics vegetables, organic vegetables

はじめに

諸外国特に欧米先進国では野菜や果物を原因食品とする細菌, ウイルス, 原虫などによる感染症や食中毒が増加傾向にあり^{1, 2)}青果物から各種の病原微生物の検出報告がある³⁾。最近では2004年9月に英国を中心に患者数が368名にも及ぶレタスが原因食品と思われるサルモネラ食中毒が発生している⁴⁾。一方, 近年わが国では健康志向から有機栽培農作物の需要が高まり, また生野菜の喫食機会の増加, 諸外国からの生鮮野菜の輸入増加などにより, これらの感染症の増加が危惧されている。わが

国では野菜や果物を原因とする感染症は諸外国ほど多くはないが, 細菌性感染症を中心に発生がみられる。そこで, 県内を流通している輸入生鮮野菜・果物および有機野菜, 水耕栽培野菜を中心に各種細菌汚染実態を調査した。また有機栽培で使用される堆肥は熟成が不完全な場合には野菜等の汚染源となり得るため, 動物糞堆肥を含む有機配合肥料についても同様の検査を行った。

材料および方法

1 供試検体

検体は平成15年5月～平成16年11月にかけて, 県内の小売店等で非加熱あるいは軽い湯通し程度で食す可能性のあるものを購入し, 輸入野菜, 水耕栽培野菜, 有機栽培等の特定栽培農作物の表示があるものを中心に検体を選択した。野菜186検体, 果物14検体の計200検体(表1)および動物糞堆肥を含む有機配合肥料12検体を試験に供した。

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市葵区北安東4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-ando, Aoi-ku, Shizuoka 420-8637, Japan)

*静岡県西部食肉衛生検査所

表1 供試検体（野菜・果物）の内訳

分類	国産	輸入*	計
葉菜類	120	2	122
茎菜類	3	3	6
根菜類	17	4	21
果菜類	14	5	19
カット野菜・サラダ	18		18
果物	3	11	14
計	175	25	200

*水耕栽培野菜で種子が外国産のものを含む

2 方法

1) 一般細菌数

検体 25g に Buffered Peptone Water (DIFCO, 以下 BPW) 225ml を添加後ストマッカー処理して 10 倍乳剤を作製し, これを原液としてリン酸緩衝液 (日本水, 以下 PBS) で 6 段階の 10 倍段階希釈をした. 3~6 段階の PBS 希釈液を 1ml ずつシャーレに取り, 標準寒天培地 (日本水) を 15~20ml 分注・混和し, 35°C, 48 時間培養後, 発育した集落数を測定した.

2) 大腸菌群および大腸菌

1) で調製した 1~3 段階の PBS 希釈液を 1ml ずつシャーレに取り, デゾキシコレート寒天培地 (日本水) を 15~20ml 分注・混和し, 35°C, 24 時間培養後, 赤色の定型的集落を確認, 測定した. 野菜・果物のうち 120 検体については集落の確認, 残り 80 検体および有機配合肥料 12 検体については大腸菌群数を測定した.

大腸菌は BPW で調製した検体の 10 倍乳剤 1ml を 10ml の EC 培地に接種後 44.5°C, 24 時間培養し, ガス陽性の培養液については EMB 寒天培地 (日本水) に画線塗抹した. 35°C, 18~24 時間培養後, 定型的集落について性状検査および簡易同定キットの ID テスト EB-20 (日本水) を用いて同定した. 大腸菌と同定された株については病原大腸菌免疫血清 (デンカ生研) を用いて血清型別を行い, 型別されたものについてはさらに Multiplex PCR により STX (Shiga Toxin) 1 及び STX2, eae, bfp, LT, ST の 6 種類の病原因子の遺伝子検出⁵⁾を行った.

3) 赤痢菌

BPW で調製した検体の 10 倍乳剤を 35°C で 18~24 時間前増菌培養後, 培養液 1ml を 10ml の Shigella Broth (栄研化学) に接種し, GasPak (BBL 270304) を用いて嫌気条件下で 44°C, 18~24 時間増菌培養した. 培養液を CHROMagar 0157 TAM 寒天培地 (CHROMagar) および MacConkey 寒天培地 (日本水) に画線塗抹して 35°C, 18~24 時間培養し, 定型的集落については性状検査を行った.

4) サルモネラ

BPW で調製した検体の 10 倍乳剤を 35°C で 18~24 時間前増菌培養後, 10ml のラパポート・バシリアディス培地 (RVS broth, MERCK) に接種して 35°C, 18~24 時間増菌培養した. 培養液 1ml を 10ml の M-broth (DIFCO) に接種して 42°C, 18 時間さらに増菌培養した. 培養液を CHROMagar 0157 TAM 寒天培地および DHL 寒天培地 (日本水) に画線塗抹して 35°C, 18~24 時間培養し, 定型的集落については性状検査を行った.

5) 腸管出血性大腸菌 O157

検体 25g にノボピオシン加 mEC 培地 (MERCK) を 225ml 添加後ストマッカー処理して 10 倍乳剤を作製し, 42°C, 18 時間前増菌培養した. 培養液 1ml を 10ml の CT (CT サプリメント, アスカ純薬) 添加 MacConkey 培地 (DIFCO) に接種し 35°C, 18 時間増菌培養した. この培養液を CHROMagar O157 TAM 寒天培地および CT 添加ソルビートルマッコスキー寒天培地 (CT-SMAC, OXOID) に画線塗抹し, 35°C, 18~24 時間培養し, 定型的集落については性状検査を行った.

6) リステリア

検体 25g に UVM1 培地 (OXOID) 225ml を添加後ストマッカー処理して検体の 10 倍乳剤を作製し, 30°C, 24 時間前増菌培養した. 培養液 1ml を 10ml の UVM2 (OXOID) 培地に接種し, 30°C, 24 時間増菌培養した. 培養液を PALCAM 寒天培地 (MERCK) に画線塗抹して 30°C, 48 時間培養し, 定型的集落については性状検査を行った.

7) エルシニア

検体 25g に Yersinia Selective Enrichment Broth (MERCK) 培地を 225ml 添加後ストマッカー処理して検体の 10 倍乳剤を作製し, 30°C, 24 時間増菌培養した. 培養液を CIN 寒天培地 (DIFCO) に画線塗抹して 25°C, 24~48 時間培養し, 定型的集落については一般性状検査を行った.

結 果

1 野菜

供試した野菜 186 検体全てにおいて食中毒細菌は検出されなかった.

野菜の一般細菌数は $10^6 \sim 10^7$ CFU/g のものも多く, 10^6 CFU/g 以上の検体は 127 検体で野菜全体の 68.3% を占めていた. 10^8 CFU/g の検体はカイワレ, サラダホウレンソウ, トウモロコシ, アルファルファ, モヤシ, オクラで, ほとんどが水耕栽培野菜であった.

大腸菌群は 120 検体 (64.5%) が陽性であった (表 2).

表2 野菜・果物および有機配合肥料の一般細菌数，大腸菌群および大腸菌

検体種別	一般細菌数 (CFU/g)									計	大腸菌群陽性 検体数 (%)	大腸菌陽性 検体数 (%)
	10 ⁰	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸			
葉茎菜類	1	1		2	6	26	35	50	6	127	88 (69.3)	8 (6.3)
根菜類	1						2	5	12	22	15 (68.2)	2 (9.1)
果菜類			2	1	2	3	6	4	1	19	11 (57.9)	3 (15.8)
カット野菜・サラダ	1			2		9	4	2		18	6 (33.3)	
野菜小計	3	1	2	5	8	40	50	68	9	186	120 (64.5)	13 (7.0)
果物	2		5	2	3	1	1			14	1 (7.1)	
合計	5	1	7	7	11	41	51	68	9	200	121 (60.5)	13 (6.5)
有機配合肥料	1				2	3	2	4		12	1 (33.3)	

表3 野菜の一般細菌数および大腸菌群の季節変動

季節	一般細菌数 (CFU/g)									計	大腸菌群陽性 検体数 (%)
	10 ⁰	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸		
春 (3~6月)		1	1	2	1	13	8	3	1	30	17 (56.7)
夏 (7~9月前半)	2				4	11	15	26	5	63	45 (71.4)
秋 (9月後半~11月)	1			1	3	12	15	27	2	61	43 (70.5)
冬 (12~2月)			1	2		4	12	12	1	32	15 (46.9)

大腸菌群数は 10⁴~10⁵CFU/g のものが多く 10⁷CFU/g に達するものが7検体あったが、ほとんどは一般細菌数が高い検体と同一検体であった。また、検体採取季節による一般細菌数の顕著な変動は認められなかったが、大腸菌群陽性率は夏~秋にやや高い傾向があった(表3)。

大腸菌は13検体(7%)から検出され、01が2株(ベビーコーン、みつば)、08が1株(サニーレタス)、020が1株(もやし)、OUT(病原大腸菌免疫血清で型別不能)が9株(モロヘイヤ3株、そばの芽、オクラ各2株、もやし、ベビーリーフ各1株)であった(表2)。特にモロヘイヤ、ソバの芽、オクラでは検査した検体全てが大腸菌群陽性で大腸菌の検出率も高かった。病原大腸菌血清で型別された4株の Multiplex PCR による病原因子の検査では、タイ産ベビーコーンの大腸菌01とサニーレタスの大腸菌08で eae(腸管凝集接着:E. coli attaching and effacing, 以下 eae) 遺伝子が検出された。

2 果物

果物も14検体全てにおいて食中毒細菌は検出されなかった。果物は野菜に比べて一般細菌数が少なかったが、アメリカ産のイチゴで10⁶CFU/g のものがあり、果物の中ではこのイチゴだけが 大腸菌群陽性であったが大腸菌は検出されなかった(表2)。

3 輸入野菜と国産野菜の比較

供試した輸入野菜は、モヤシなど種子が外国産のものを含めて25検体であったが、一般細菌数は全て10⁵CFU/g以上であった。

大腸菌群陽性は10検体(71.4%)、大腸菌陽性は3検体(21.4%)で国産野菜の大腸菌群陽性率(64.0%)、大腸菌陽性率(5.8%)より高かった(表4)。特にオクラは6検体中3検体が外国産で、そのうち2検体から型別不能ではあるが大腸菌が検出された。

4 栽培形態による比較

有機栽培野菜では表示のないものと比較すると顕著な差は認められなかったが、水耕栽培野菜では一般細菌数10⁶CFU/g以上の検体は77.8%であり、大腸菌群陽性率も81.5%と高く、3検体(5.6%)から大腸菌が検出された(表5)。

5 有機配合肥料

有機配合肥料の一般細菌数はほとんどが10⁴~10⁷CFU/gであった。

大腸菌群は発酵牛糞堆肥1検体のみ陽性で、大腸菌および各種食中毒細菌は検出されなかった(表2)。

考 察

今回の調査ではいずれの検体からも食中毒細菌は検

表4 輸入野菜と国産野菜の一般細菌数、大腸菌群および大腸菌の比較

検体	一般細菌数 (CFU/g)										計	大腸菌群陽性 検体数 (%)	大腸菌陽性 検体数 (%)
	10 ⁰	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸				
輸入野菜						2	5	5	2	14	10 (71.4)	3 (21.4)	
国産野菜	3	1	2	5	8	38	45	63	7	172	110(64.0)	10(5.8)	

表5 栽培形態による一般細菌数、大腸菌群および大腸菌の比較

栽培形態	一般細菌数 (CFU/g)										計	大腸菌群陽性 検体数 (%)	大腸菌陽性 検体数 (%)
	10 ⁰	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸				
有機栽培	1		1	1	1	2	3	5		14	8 (57.1)		
水耕栽培		1			2	9	10	27	5	54	44 (81.5)	3 (5.6)	
* 特別栽培	1				3	6	6	4	2	22	12 (54.5)		
表示なし	1		1	4	2	23	31	32	2	96	56 (58.3)	10(10.4)	

* 無農薬無化学肥料, 無農薬, 無化学肥料, 減農薬無化学肥料等の栽培形態の農作物

出されず、県内で流通している生鮮野菜・果物は比較的安全性が高いことが明らかになった。「弁当及び惣菜の衛生規範」⁶⁾では未加熱の生野菜やサラダの一般細菌数は10⁶CFU/g以下が望ましいとされているが、今回の調査では野菜の一般細菌数10⁶CFU/g以上の検体は127検体(68.3%)であり、大腸菌群も120検体(64.5%)陽性と高い値を示し、食中毒菌は検出されなかったものの細菌汚染は激しいことが伺われる。今回、血清型01, 08, 020の大腸菌が検出され一部 eae 遺伝子を持った菌株も検出されたが、eae 遺伝子は病原性機序の一端を担う因子ではあるものの病原性に絶対不可欠なものではないため明らかな病原性株とはいえなかった。

大腸菌が検出された検体を見ると水耕栽培野菜と輸入野菜が多く、これらの野菜では大腸菌群陽性率も高かった。またサニーレタスについては確認が取れなかったが有機栽培されていた可能性が高く、水耕や有機などの栽培形態は生鮮農作物の病原細菌汚染に少なからず影響を与えていると思われた。今回の調査では有機栽培作物との確認を取れなかったものは表示なしとして分類したこともあり有意差は認められなかった。しかし有機栽培用堆肥には低温発酵で作られるものもあり、発酵が不十分な場合は野菜を汚染する危険性が高く、サルモネラ^{7, 8)}やリステリア⁹⁾の検出報告もあるため注意が必要である。

また、市販の輸入生野菜・果物の調査でリステリア菌が検出されたとの報告もあるが¹⁰⁾、県内流通の輸入農作物では大腸菌群陽性率は高いものの病原細菌は検出されなかった。今後は中国等アジア各国からの輸入が多

い冷凍野菜についても培養不能生存菌を考慮に入れた調査を行う必要があると思われる。

微生物学的危害のリスク評価とはその危害が人の健康を害する確率や重篤度を過去の事件の疫学データや汚染実態等から推計することであるが、今回の調査からは県内流通農作物は危害として特定することができなかった。しかし大腸菌の汚染があることは糞便系病原細菌の汚染の可能性を示唆するものであり、仮に0157等の病原性大腸菌が含まれていた場合は調理環境の二次汚染や食中毒発生の原因となる可能性も考えられた。

我が国では野菜自体の病原菌汚染率は低い、一般細菌の汚染は高度であることが明らかにされており⁸⁾、食中毒事件の多くはサラダや漬物等の加工品が原因となっている。しかし、厚生省¹¹⁾、東京都¹²⁾、神戸市¹⁰⁾等の汚染実態調査ではアルファルファ、ミニトマトからサルモネラ、ネギから大腸菌、輸入モヤシからリステリアの検出報告があり、検出数は少ないとはいえ、これらの危害を排除するための対策が必要となってきた。生鮮農作物による食中毒事例の多い米国では早くから生鮮野菜や果物へのHACCP導入も検討され、GAP(適正農作業規範)やGMP(適正製造規範)により生鮮農作物の安全性確保に努めてきた。2003年7月にはFAOとWHOの合同食品規格委員会であるコーデックス委員会において「生鮮果実・野菜についての衛生行動規範」が採択され、現在ではこれが国際的なガイドラインとなっている。一方で、我が国の食品の規格基準は最小限度の衛生条件を示すものであったため、HACCPの考え方を導入しつつ農作物の生産現場に適した衛生的

生産手順の検討がなされ、平成 15 年には農林水産省の補助事業として（社）日本施設園芸協会から「生鮮野菜衛生管理ガイドー生産から消費まで」¹³⁾が発行されている。今後は本県でもこれらを参考に生産者、消費者に生鮮農作物よる食品媒介感染症について再認識させ、それぞれの立場における予防対策を講じることにより「From farm to table」の管理をしていく必要がある。

文 献

- 1) 金子賢一：生食用野菜及び果物が媒介食品となる感染症，食衛誌，**40**(6)，417-425 (1999)
- 2) Beuchat, L. R : Pathogenic microorganisms associated with fesh produce, J. Food Protect., **59**, 204-216 (1996)
- 3) 一色賢司：生産農場から食卓までの微生物学的安全性の確保，日本食品微生物学会雑誌，**17**(1)，31-35 (2000)
- 4) Outbreak of *Salmonella* Newport infection in England, Scotland and Northern Ireland: association with the consumption of lettuce, Commun Dis Rep CDR Weekly, 2004, **14**(41)
- 5) Roberto, V. et al. : Multiplex PCR for Diagnosis of Enteric Infections Associated with Diarrheagenic *Escherichia Coli*, J. Clinical Microbiol. **42** (4) , 1781-1789 (2004)
- 6) 厚生省通達：弁当及びそうざいの衛生規範について，最終改正 平成 7 年 10 月 12 日衛食第 188 号，衛乳第 211 号，衛化第 119 号
- 7) 上田成子 他：有機栽培圃場の野菜および有機肥料の衛生細菌学的研究，防菌防黴，**30** (3)，145-152 (2002)
- 8) 小沼博隆：野菜における微生物汚染状況とその対策，日本食品微生物学会雑誌，**17**(1)，37-41 (2000)
- 9) 宮原美知子他：農作物の病原微生物汚染の検討，20 回日本食品微生物学会学術総会資料，演題 P-28
- 10) 村瀬 稔 他：市販の輸入生野菜および果物における病原菌汚染の実態調査，日本食品微生物学会雑誌，**19**(2)，71-75 (2002)
- 11) 食品中の食中毒菌汚染実態調査報告について，厚労省記者発表資料 (1999~2001)
- 12) 小西典子 他：有機・水耕栽培野菜の食中毒菌汚実態と分離菌株の疫学的解析，日本食品微生物学会雑誌，**18**(1)，9-14 (2001)
- 13) 社団法人 日本施設園芸協作成 (農林水産省補助事業)：生鮮野菜衛生管理ガイドー生産から消費まで，平成 15 年 3 月発行

MPN-PCR 法による食品等の腸炎ビブリオおよび 耐熱性溶血毒 (TDH) 産生菌分布調査と食品中の増殖態度

微生物部 微生物スタッフ 三輪憲永, 柏木美智子, 川森文彦
 佐野世乃, 廣井みどり, 増田高志
 倉重英明

Amount of *Vibrio parahaemolyticus* and Thermostable Direct Hemolysin (TDH)-Producing Organism in Seafood determined by the MPN-PCR Method and Growth Characteristics of *V. parahaemolyticus* in Seafood

Norinaga MIWA, Michiko KASHIWAGI, Fumihiko KAWAMORI,
 Yono SANO, Midori HIROI, Takashi MASUDA and Hideaki KURASHIGE

魚介類中の腸炎ビブリオ総菌数及び耐熱性溶血毒 (TDH) 産生菌数を, MPN-PCR 法により測定した. 生食用魚介類では, 魚類 35 検体中 4 検体 (11.4%), 甲殻類 22 検体中 11 検体 (50.0%), および貝類 34 検体中 30 検体 (88.2%) が腸炎ビブリオ陽性であった. 菌数についてみると, 魚類および甲殻類は全て 10^4 MPN/100 g 以下であったが, 貝類は 11 検体が 10^4 MPN/100 g 以上と汚染が高かった. 加工用では, 魚類 28 検体中 23 検体 (82.1%), 甲殻類 25 検体中 11 検体 (44.0%) および貝類 20 検体中 20 検体 (100%) が腸炎ビブリオ陽性であった. 菌数は生食用より高い傾向で, 特に貝類は過半数が 10^5 MPN/100 g 以上と汚染が著しく高かった. また, 生食用魚介類では全て TDH 産生菌は検出限界以下であったが, 加工用魚介類では, 貝類 7 検体が TDH 遺伝子陽性であった. これらの検体のうち, 4 検体から TDH 産生腸炎ビブリオ (01:K25, 03:K37, 04:K9) が検出された.

魚介類中の腸炎ビブリオの増殖は, 甲殻類, 貝類, 魚類の順で速い傾向がみられたが, 冷蔵および冷凍保存後の魚介類では保存しない場合と比較して増殖が遅れる傾向がみられた.

Key words: 腸炎ビブリオ, 耐熱性溶血毒 (TDH), 魚介類, MPN-PCR

Vibrio parahaemolyticus, thermostable direct hemolysin (TDH), seafood, MPN-PCR

はじめに

腸炎ビブリオ食中毒は, 海産魚介類およびその二次汚染食品を原因として夏期に多発する. 腸炎ビブリオは, 寒冷期の海水からはほとんど検出されないが, 沿岸海域の海泥中やプランクトンなどに付着して生残しており, 海水温の上昇によりプランクトンが繁殖すると共に本菌も増殖し, 海水中に遊出すると考えられている. したがって, 腸炎ビブリオは夏期の沿岸海水に高頻度に分布しており, この時期に沿岸海域で捕獲される魚介類は, 水揚げの段階で

既に本菌に汚染されている確率が高い. このため, 腸炎ビブリオによる食中毒を防止するためには, 夏期の魚介類における腸炎ビブリオの汚染状況を把握し, 本菌の汚染を発症菌量以下にコントロールすることが重要である.

腸炎ビブリオ菌数の測定のために多くの方法が報告されているが, 検出感度の違いのため, 結果は測定方法により異なることが知られている. 増菌培地 (例えばアルカリペプトン水; APW) による培養と, 培養液の選択的な寒天培地 (例えば TCBS 培地) への塗抹培養による MPN 法は, 魚介類中の腸炎ビブリオの菌数測定に広く使用されている^{1,2)}. しかし, 検体によっては共存する腸炎ビブリオ以外の菌の増殖のため本菌の分離が困難であり, 腸炎ビブリオ陽性の試験管から本菌を分離できず, 菌数を実際より少なく測定する可能性がある³⁾. 近年, MPN-PCR 法 (PCR 法による目標菌の特定遺伝子の検出と MPN 法を組み合わせた方法) が環

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市葵区北安東 4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-ando, Aoi-ku, Shizuoka, 420-8637, Japan)

境や魚介類中の腸炎ビブリオの菌数測定のために用いられている^{3,4)}。本法を魚介類中の腸炎ビブリオの菌数測定に用いた場合、多数の供雑菌の中から目的とする低菌数の腸炎ビブリオの遺伝子を検出することができるため、TCBS培地を使用したMPN法より高い測定値を示すと報告されている³⁾。しかし、現在までMPN-PCR法によって測定された魚介類中の腸炎ビブリオ菌数に関する報告はほとんどみあたらない。

本菌の主要な病原因子は耐熱性溶血毒(TDH)であり^{5,6,7)}、食中毒患者からTDH産生菌が優勢に分離されるが、環境中に存在する腸炎ビブリオのほとんどはTDH非産生であるため、食品からTDH産生腸炎ビブリオを分離することは困難とされている^{6,8)}。近年、免疫磁気ビーズ法を用いたTDH産生腸炎ビブリオ分離法が報告されているが⁹⁾、本方法は特定の血清型の菌を特異的に検出することを目的としたもので、広範囲なTDH産生菌の検索には利用できない。このため、魚介類における腸炎ビブリオの汚染状況を調査した報告の多くは、TDH非産生菌を含めた本菌全体を調査したもので、TDH産生菌の汚染状況を調査した報告は少ない。

魚介類中の腸炎ビブリオの増殖態度についてはいくつかの報告がみられるが、1~2種類の魚介類に実験的に菌を接種して増殖状況を調査したものが多く、また、現在の魚介類の流通販売経路では、冷蔵あるいは冷凍保存されていることが多いが、本菌の増殖態度について保存状況による影響を考慮した調査はみあたらない。

私どもは、MPN-PCR法により、市販魚介類における腸炎ビブリオの汚染状況を定量的に調査するとともに、TDH遺伝子を標的としたMPN-PCR法によりTDH産生菌の分布状況を調査した。また、TDH遺伝子陽性検体からTDH産生腸炎ビブリオの検出を試みた。さらに、本菌の増殖態度について、魚介類の種類別に、冷蔵あるいは冷凍の保存状況を考慮して検討した。

材料および方法

1 市販魚介類の腸炎ビブリオ分布調査

1) 材料

平成14年~16年の夏期(7月~9月)に、生食用魚介類91検体(マグロ、カツオ、アジ、タイ、コウイカ、サクラエビ、アマエビ、アカエビ、アオヤギ、アカガイ、トリガイ、ホタテガイ)、及び加工用魚介類73検体(サバ、アジ、イワシ、ブラックタイガー、タイショウエビ、アカエビ、アサリ、ハマグリ)を静岡県内の小売店舗で購入した。

2) 菌数測定

腸炎ビブリオ総菌数およびTDH産生菌数はMPN-PCR法³⁾によって測定した。検体50gを細切して200mlのAPW(OXOID LTD.)に入れ、ストマッカーで30秒間処理後、

数分間静置した。5mlずつ3本のAPW(95ml)に接種し、0.5ml、0.05mlおよび10倍希釈液0.05mlをそれぞれ3本のAPW(10ml)に接種して、35°Cで16~18時間培養した。APW培養液を混和することなく、上部から0.5mlをとり3000×Gで1分間遠心した後、沈査に滅菌蒸留水50μlを添加して100°Cで10分間加熱した。再び3000×Gで1分間遠心し、上清2μlをテンプレートDNAとして用いた。

① 腸炎ビブリオ総菌数

腸炎ビブリオ総菌数は、種特異性の易熱性溶血素遺伝子を目標とするPCR法により測定した¹⁰⁾。反応液は、1/10量の10倍濃度PCR緩衝液(20mM MgCl₂:Ex Taq buffer, 宝酒造株式会社)、200μM dNTPs、1μM プライマー(5'-aaa gcg gat tat gca gaa gca ctg-3', 5'-gct act ttc tag cat ttt ctc tgc-3'), 0.5 units Taq DNA polymeraseの組成で、96ウェルのPCRプレート(Applied Biosystems)により最終液量20μlで反応を行った。反応条件は、94°Cで3分加熱後、94°C 1分、58°C 1分、72°C 1分で30サイクル繰り返し反応させ、最後に72°Cで5分間反応させた。PCR法の結果、易熱性溶血素遺伝子陽性となったAPWの本数からMPN値を計測し、腸炎ビブリオ総菌数とした。

② TDH産生菌数

Karunasagar et al.¹¹⁾の方法に準じてTDH遺伝子検出用のPCR法を実施した。反応液は、1/10量の10倍濃度PCR緩衝液(20mM MgCl₂:Ex Taq buffer, 宝酒造株式会社)、200μM dNTPs、0.5μM プライマー(5'-ttt cat gat tat tca gtt t-3', 5'-ttt gtt gga tat aca cat-3'), 0.5 units Taq DNA polymeraseの組成で、96ウェルのPCRプレートにより最終液量20μlで反応を行った。反応条件は、94°C 1分、55°C 1分、72°C 1分で40サイクル繰り返し反応させた。PCR法でTDH遺伝子陽性となったAPWの本数からMPN値を計測し、TDH産生菌数とした。

3) TDH産生腸炎ビブリオの検索

PCR法でTDH遺伝子陽性となったAPWからTDH産生腸炎ビブリオの検出を試みた。TDH遺伝子陽性APWをTCBS培地に塗抹し、35°Cで18~24時間培養した。TCBS培地上の白糖非分解集落を1検体当たり213~899個釣菌し、クロモアガービブリオ寒天培地(CHROMagar Microbiology)に画線塗抹した。35°Cで18~24時間培養後、藤色の典型的な集落を腸炎ビブリオと推定し、3~6株を1グループとして100°Cで10分間加熱してDNAを抽出し、PCR法によりTDH遺伝子の検出を試みた。TDH遺伝子陽性のグループについて、個々にPCR法を実施してTDH遺伝子陽性株を確定した。TDH遺伝子陽性株について、生化学的性状検査および血清型別試験を実施し、ラテックス凝集反応(KAP-RPLA「生研」:デンカ生研株式会社)によりTDH産生性を確認した。

2 魚介類中の腸炎ビブリオの増殖態度

1) 材料

当所でハマグリから分離した TDH 産生腸炎ビブリオ株 (S02081210 株) を Bacto Heart Infusion Broth (Becton, Dickinson and Company) で 37°C, 15 時間振盪培養後, それぞれ約 10 g のパチマグロ (清水港産, 切身), エビ (ペルシャ湾産, 殻付) およびハマグリ (中国産, 剥き身) に 1 g 当り $10^3 \sim 10^4$ CFU となるように添加した. なお, 検体は冬季に入手し, 腸炎ビブリオの自然汚染のないことを確認した.

2) 方法

検体を 30°C に保存し, 3 時間後, 6 時間後および 9 時間後の腸炎ビブリオ菌数を接種直後の菌数と比較した. 検体に 10 ml の滅菌リン酸緩衝食塩水を加え洗い出した後, 10 倍段階希釈液をクロモアガービブリオ寒天培地に塗抹し, 35°C で 24 時間培養後の典型的な集落数から検体 1 g 当りの腸炎ビブリオ菌数を計測した.

なお, 菌を添加した後, 検体を『保存なし』, 『4°C 24 時間保存』, 『4°C 7 日間保存』, 『-20°C 24 時間保存』, 『-20°C 7 日間保存』の 5 グループに分け, 保存方法別に 5 検体ずつ実施した.

結 果

1 市販魚介類の腸炎ビブリオ分布状況

魚介類中の腸炎ビブリオの分布状況を表 1 に示した. 生食用魚介類では, 魚類 35 検体中 4 検体 (11.4%), 甲殻類 22 検体中 11 検体 (50.0%) および貝類 34 検体中 30 検体 (88.2%) が腸炎ビブリオ陽性であり, 菌数は魚類および甲殻類では全て 10^4 MPN/100 g 以下であったが, 貝類では 11 検体が 10^4 MPN/100 g 以上と汚染が高かった. 加工用では, 魚類 28 検体中 23 検体 (82.1%), 甲殻類 25 検体中 11 検体 (44.0%) および貝類 20 検体中 20 検体 (100%) が腸炎ビブリオ陽性であった. 菌数は全体的に生食用より高い傾向で, 特に貝類は過半数が 10^5 MPN/100 g 以上と汚染が著しく高かった.

魚介類における TDH 産生菌分布状況を表 2 に示した. 生食用では全て TDH 産生菌は検出限界以下であった. 加工用では貝類 7 検体が TDH 産生菌陽性であり, 菌数は 6 検体が $30 \sim 10^2$ MPN/100 g, 1 検体が $10^3 \sim 10^4$ MPN/100 g の範囲であった. これらの検体について, TDH 遺伝子陽性の腸炎ビブリオの分離を試みたところ, 4 検体から TDH 遺伝子陽性腸炎ビブリオ (01:K25, 03:K37, 04:K9) が検出された. また, これらの菌株は逆受身ラテックス凝集反応 (RPLA)

表 1 魚介類における腸炎ビブリオ分布状況

検 体	検体数	陽性数 (%)	菌数 (MPN / 100 g)					
			$30-10^2$	10^2-10^3	10^3-10^4	10^4-10^5	$10^5 <$	
生食用	魚 類	35	4 (11.4)	1	3			
	甲殻類	22	11 (50.0)	7	3	1		
	貝 類	34	30 (88.2)	4	9	6	7	4
加工用	魚 類	28	23 (82.1)	6	4	8	3	2
	甲殻類	25	11 (44.0)	4	3	3	1	
	貝 類	20	20 (100)			2	4	14

表 2 魚介類における TDH 産生菌分布状況

検 体	検体数	陽性数 (%)	菌数 (MPN / 100 g)					
			$30-10^2$	10^2-10^3	10^3-10^4	10^4-10^5	$10^5 <$	
生食用	魚 類	35	0 (0)					
	甲殻類	22	0 (0)					
	貝 類	34	0 (0)					
加工用	魚 類	28	0 (0)					
	甲殻類	25	0 (0)					
	貝 類	20	7 (35.0)	6		1		

により、実際に TDH を産生することを確認した。また、TDH 産生菌陽性の検体における腸炎ビブリオ総菌数は全て 10^5 MPN/100 g 以上であり、腸炎ビブリオの総菌数が高い検体であった。

2 魚介類中の腸炎ビブリオの増殖態度

1) 保存なし

ハマグリ、エビおよびバチマグロにおける腸炎ビブリオの増殖態度を図1に示した。いずれの検体でも 30°C 3 時間保存では腸炎ビブリオの増殖はみられなかった。6 時間後にはハマグリおよびエビでは 10^6 CFU/g 以上のものがみられたのに対し、バチマグロでは全て 10^6 CFU/g 以下と増殖が遅かった。9 時間後にはハマグリおよびエビでは 10^8 CFU/g 以上のものがみられたのに対し、バチマグロでは全て 10^7 CFU/g 以下であった。

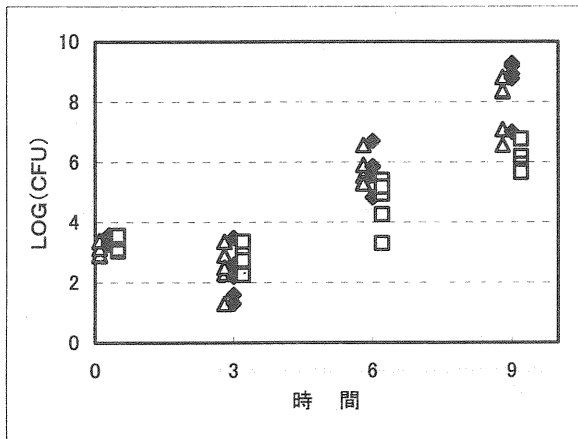


図1 魚介類における腸炎ビブリオの増殖 (30°C)

△：ハマグリ、◆：エビ、□：バチマグロ

2) 4°C および -20°C 保存

4°C および -20°C 保存後のハマグリ、エビおよびバチマグロにおける腸炎ビブリオの増殖態度をそれぞれ図2、図3および図4に示した。

まずハマグリについてみると、 4°C 7 日間保存した検体では菌数の減少がみられたが、他の保存方法では保存による顕著な菌数の減少はみられなかった。 30°C 3 時間では、いずれの保存方法でも腸炎ビブリオの増殖はほとんどみられなかった。6 時間後には 4°C 7 日間保存以外では 10^4 CFU/g 以上となったが、保存無と比較すると増殖が遅れる傾向がみられた。9 時間後には、 4°C 7 日間保存した検体以外は保存無とほぼ同等の増殖がみられたが、 4°C 7 日間保存した検体では顕著な増殖がみられなかった。

エビについてみると、 4°C および -20°C で 7 日間保存することにより若干菌数が減少する傾向がみられた。 30°C 3 時間では、保存方法の違いによる増殖の差は認められなかったが、6 時間および 9 時間後には 4°C および -20°C に保存した検体で保存無の検体と比較して菌の増殖が遅れる

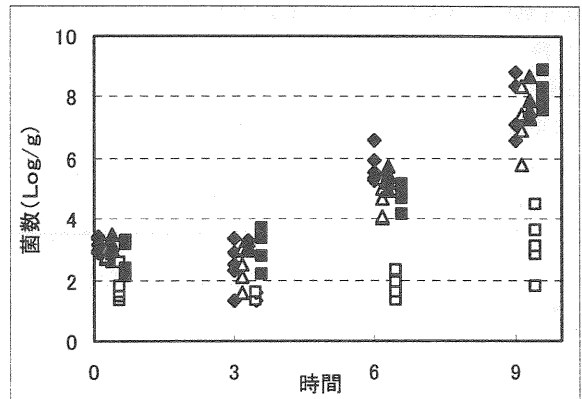


図2 ハマグリにおける 4°C および -20°C 保存後の腸炎ビブリオの増殖 (30°C)

◆：保存なし，△： 4°C 24 時間，▲： -20°C 24 時間
□： 4°C 7 日間，■： -20°C 7 日間

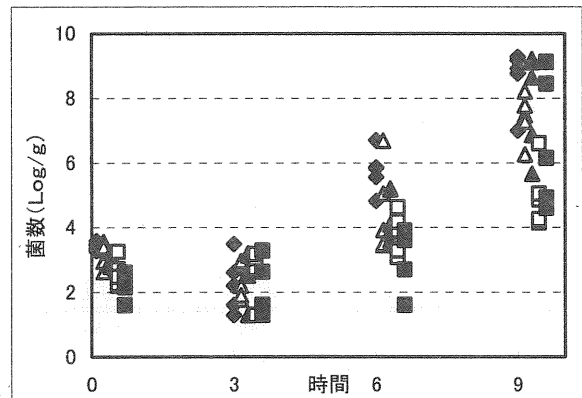


図3 エビにおける 4°C および -20°C 保存後の腸炎ビブリオの増殖 (30°C)

シンボルは図2参照

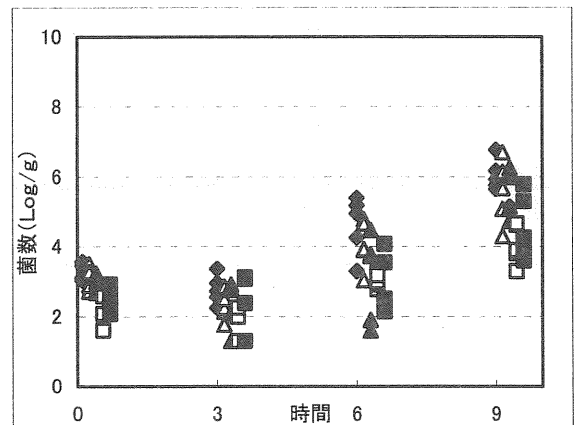


図4 バチマグロにおける 4°C および -20°C 保存後の腸炎ビブリオの増殖 (30°C)

シンボルは図2参照

傾向がみられた。

バチマダロについてみると、4℃および-20℃で7日間に保存することにより若干菌数が減少する傾向がみられた。30℃ 33時間では、保存方法の違いによる増殖の差は認められなかったが、6時間および9時間後には4℃および-20℃に保存した検体で保存無の検体と比較して菌の増殖が遅れる傾向がみられた。

考 察

夏期の魚介類は、水揚げの段階で既に腸炎ビブリオにより汚染されている確率が高く、本菌による食中毒を防止するためには、魚介類における腸炎ビブリオ分布状況を把握し、発症菌量以下にコントロールすることが有効である。

私どもは、市販魚介類を対象にMPN-PCR法により腸炎ビブリオ汚染菌数を測定した。今回の調査では、感度の高いと報告されているMPN-PCR法を用いても、生食用の魚類および甲殻類では、腸炎ビブリオの汚染は比較的lowであった。更に、TDH産生菌は、すべての魚類および甲殻類で検出限界以下であった。腸炎ビブリオの発症菌量に関しては $10^5 \sim 10^7$ 個程度と考えられている^{12, 13)}。また、腸炎ビブリオは、20℃以上では条件を整えば急速に増殖するが、10℃以下では増殖しない^{14, 15)}。生食用魚介類の保存については、食品衛生法の食品、添加物の規格基準¹⁾により保存基準が定められており、『生食用魚介類は、清潔で衛生的な容器包装に入れ、10℃以下で保存しなければならない』と規定されている。厚生労働省の啓蒙活動により、消費者および食品取扱者にとって生食用魚介類は冷蔵あるいは冷凍保存することが常識となっており、20℃以上の環境に長時間放置することは考えにくい。さらに、今回の実験の結果では、検体数は少ないものの、魚類および甲殻類中では30℃で3時間放置しても腸炎ビブリオの急激な増殖はみられず、仮に少々不適切な取扱いがあっても、発症菌量以上に増殖する可能性は少ないと考えられる。したがって、生食用の魚類および甲殻類は腸炎ビブリオ食中毒の原因となる可能性が低いものと推察される。

貝類では魚類および甲殻類と比較して腸炎ビブリオの汚染菌数が高く、これまでの報告^{16, 17)}と同様であった。貝類における腸炎ビブリオ菌数が比較的高い理由は、貝類が周囲の水から細菌を濃縮するためと考えられている¹⁸⁾。今回の調査では生食用貝類からTDH産生菌は検出されなかったが、腸炎ビブリオ総菌数が高い魚介類はTDH産生腸炎ビブリオの陽性率も高い傾向があるという報告がみられる¹⁹⁾。さらに、貝類は周囲の海水中の低濃度のTDH産生腸炎ビブリオを濃縮する可能性がある。今回の限られた調査では、生食用貝類はTDH産生菌陰性であったが、腸炎ビブリオ食中毒の原因食品となるリスクを評価するためには、さらに検体数を増やして調査する必要がある。

加工用の魚介類についてみると、これまでの報告¹⁷⁾と

同様、貝類の汚染が著しく高く、7検体がTDH遺伝子陽性で、このうち4検体からTDH産生腸炎ビブリオが分離された。これらの検体では、多数のTDH非産生腸炎ビブリオの中に少数のTDH産生腸炎ビブリオが混在しており、これまでの報告¹⁹⁾と同様、TDH産生菌陽性の検体は腸炎ビブリオ総菌数も高い傾向がみられた。したがって、腸炎ビブリオ総菌数の高い食品がTDH産生菌陽性である確率が高く、危険度の高い食品と考えられる。加工用貝類は、基本的に加熱調理されるため、腸炎ビブリオの耐熱性から考えて直接腸炎ビブリオ食中毒の原因となる可能性は少ないものと考えられるが、不適切な調理あるいは加工用貝類から生食用魚介類および他の食品への二次汚染により腸炎ビブリオ食中毒の原因となる可能性が示唆された。

魚介類中の本菌の増殖態度についてみると、甲殻類、貝類、魚類の順に増殖が速かったが、いずれも30℃、3時間では菌の増殖はほとんどみられなかった。さらに、冷蔵あるいは冷凍した検体では増殖が遅れる傾向がみられ、通常の取扱いでは本菌の急激な増殖を許す可能性は少ないものと考えられた。しかし、魚介類中の腸炎ビブリオは30℃保存で急速に増殖するという報告^{14, 20)}もあり、私どもとは異なる結果であった。今回は限られた検体での結果であり、実験的に菌を添加した場合の増殖状況であるため、さらに検体数を増やし、自然汚染の腸炎ビブリオの増殖態度についても検討する必要がある。

今回の調査から、腸炎ビブリオ食中毒の原因食品として、生食用では貝類に注意する必要があると考えられるが、加工用の貝類等から非加熱摂取食品への二次汚染にも注意を払う必要があることが示唆された。また、腸炎ビブリオの総菌数が高い魚介類は、TDH産生腸炎ビブリオの汚染も高い傾向があり、TDH産生腸炎ビブリオを検出することが困難な現状では、腸炎ビブリオ総菌数を指標として魚介類の腸炎ビブリオ汚染をコントロールすることが有効と考えられる。

文 献

- 1) 厚生省：食品、添加物等の規格基準。厚生省告示第370号，昭和34年12月28日
- 2) Food and Drug Administration: Bacteriological Analytical Manual, 8th ed. Chapter 9. AOAC International, Gaithersburg, USA (1998)
- 3) Miwa, N. et al.: Evaluation of MPN method combined with PCR procedure for detection and enumeration of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood. J. Food Hyg. Soc. Jpn. 44: 289-293 (2003)
- 4) Alam, M. J. et al.: Environmental investigation of potentially pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in the Seto-Island Sea, Japan. FEMS Microbiol. Lett. 208, 83-87 (2002)

- 5) Miyamoto, Y. et al.: In vitro hemolytic characteristic of *Vibrio parahaemolyticus*, its close correlation with human pathogenicity. J. Bacteriol., **100**, 1147-1149 (1969)
- 6) Sakazaki, R. et al.: Studies on the enteropathogenic facultatively halophilic bacteria, *Vibrio parahaemolyticus*. III. Enteropathogenicity. Jpn. J. Med. Sci. Biol. **21**, 225-331 (1968)
- 7) Zen-Yoji, H. et al.: Purification and characterization of a hemolysin produced by *Vibrio parahaemolyticus*. J. Infect. Dis., **123**, 665-667 (1971)
- 8) Kudoh, Y. et al.: Epidemiology of food poisoning due to *Vibrio parahaemolyticus* occurring in Tokyo during the last decade, p9-13. In Fujino et al. (ed.) International symposium on *Vibrio parahaemolyticus*. Saikon Publishing Co., Tokyo (1974)
- 9) Tomoyasu, T. et al.: Development of the immunomagnetic enrichment method selective for *Vibrio parahaemolyticus* serotype K and its application to food poisoning study. Appl. Environ. Microbiol., **58**, 2679-2682 (1992)
- 10) Bej, A.K. et al.: Detection of total and hemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus* in shellfish using multiplex PCR amplification of *tl*, *tdh* and *trh*. J. Microbiol. Methods. **36**, 215-225 (1999)
- 11) Karunasagar, I. et al: Rapid polymerase chain reaction method for detection of Kanagawa positive *Vibrio parahaemolyticus* in seafoods. Int. J. Food Microbiol. **31**, 317-323 (1996)
- 12) Sanyal, S. C. et al.: Laboratory infection by *Vibrio parahaemolyticus*. J. Med. Microbiol., **6**, 121-122 (1973)
- 13) Sanyal, S. C. et al.: Human volunteer study on the pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus*. P.227-235. In International Symposium on *Vibrio parahaemolyticus* (Fujino, T., Sakaguchi, G., Sakazaki, R. and Takeda, Y. ed.), Saikon Publishing Co. Tokyo, 227-230 (1974)
- 14) 赤羽荘資他:魚介類の腸炎ビブリオ増殖に及ぼす温度の影響. 静岡県衛生研究所報告, **22**, 51-56 (1979)
- 15) 三輪憲永他:病原ビブリオ食中毒予防に関する基礎的研究. 静岡県衛生環境センター報告, **31**, 7-14 (1988)
- 16) 浅川 豊他:生食用魚介類の腸炎ビブリオ汚染状況調査. 静岡県衛生研究所報告, **19**, 7-11 (1976)
- 17) 竹田晃男他:魚介類における腸炎ビブリオの簡易な定量法の検討. 静岡県衛生環境センター報告, **25**, 29-35 (1982)
- 18) Janda, J.M. et al: Current perspectives on the epidemiology and pathogenesis of clinically significant *Vibrio* spp. Clin. Microbiol. Rev. **1**, 245-267 (1988)
- 19) Hara-Kudo, Y. et al.: Prevalence of pandemic thermostable direct hemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 in seafood and the coastal environment in Japan. Appl. Environ. Microbiol. **69**, 3883-3891 (2003)
- 20) 藤原喜久夫:食品中における病原細菌の消長について. 食品衛生学雑誌, **9**, 81-90 (1968)

迅速パルスフィールド・ゲル電気泳動法による 主要食中毒細菌の遺伝子型解析

微生物部 微生物スタッフ 川森文彦, 柏木美智子, 廣井みどり
佐野世乃, 三輪憲永, 倉重英明

Genotyping of Major Causal Bacteria of Food Poisoning by Rapid Pulsed-Field Gel Electrophoresis

Fumihiko KAWAMORI, Michiko KASHIWAGI, Midori HIROI,
Yono SANNO, Norinaga MIWA and Hideaki KURASHIGE

主要な食中毒細菌の6菌種について、Ribotらの方法に準じた迅速パルスフィールド・ゲル電気泳動(PFGE)法(所要時間:菌が準備できた時点から2日間)を試みたところ、グラム陰性の4菌種(*Campylobacter jejuni*, *Salmonella* Enteritidis, *Escherichia coli* O157, *Vibrio parahaemolyticus*)は、この処理法が適用できることが確認された。しかし、グラム陽性の2菌種(*Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*)は、DNAバンドが不明瞭であったので、achromopeptidase短時間処理を追加したところ、明瞭なDNAバンドがみられるようになった。*S. Enteritidis*と*E. coli* O157については、特定の選択培地上の1集落の菌量からでも良好なPFGE像が得られたので、十分量の菌を確保するための培養時間(18~24時間)を短縮できることが確認された。

静岡県で発生した*S. Enteritidis*起因食中毒25事例(1992~2004年)の患者由来株および散發胃腸炎患者由来の40株(1995~2004年)について迅速PFGE法により分子疫学的解析を行ったところ、2001年以降は、食中毒事例(75%)と散發事例(45%)の多くの株が、特定のパターン(A2型)に分類される傾向が認められた。

Key words: パルスフィールド・ゲル電気泳動, 遺伝子型別, 食中毒細菌, サルモネラ

pulse-field gel electrophoresis(PFGE), genotyping, causal bacteria of food poisoning, *Salmonella*

はじめに

パルスフィールド・ゲル電気泳動(PFGE)法は、同一種の病原菌の遺伝子型を比較する上で最も信頼されている方法であり、国内外を問わず感染源の追求やディフューズアウトブレイクの発見などに幅広く用いられている。PFGE法の欠点は、一般的な操作法¹⁾¹⁾では長時間(菌が準備できた時点から3~4日間)を要することと、常に安定した電気泳動像を得ることが難しいことである。Ribotら²⁾が報告した*Campylobacter jejuni*を対象としたPFGE法は、試験菌が準備された日の翌日には

泳動パターンが確認でき、*C. jejuni*に関しては泳動像も常に鮮明であった。そこで、この方法をベースに、菌体の消化方法を検討し、他の食中毒起因菌にも活用できる迅速PFGE法の確立を試みた。また、この方法を用いて静岡県で最近多発している*Salmonella* Enteritidis起因食中毒⁶⁾について疫学的な解析を行った。

材料および方法

1 Ribotらの方法に準じたPFGE法

1) 供試菌株

2002~2003年に散發胃腸炎患者あるいは食中毒患者から分離された*C. jejuni* S03472株, *S. Enteritidis* S03431株, *Escherichia coli* S03398株(O157:H7 ST2産生), *Vibrio parahaemolyticus* S03477株(O3:K5), *Staphylococcus aureus* S02025株および*Clostridium*

perfringens S02397 株の 6 菌株を供試した。

2) 菌液の準備およびプラグ作製

ブレインハートインヒュージョン寒天培地 (Difco) で 37°C, 20 時間培養 (*C. jejuni* は微好気, *C. perfringens* は嫌気) した 6 菌種について, それぞれ蒸留水で懸濁液を作製した。この菌液を 100 μl ずつ 96 穴平底マイクロプレートのウェルに入れ, マイクロプレートリーダー (Sunrise Rainbow Thermo : Tecan) を用いて 620nm の吸光度が, 0.5~1.2 になるよう調整した。各ウェル (菌液 100 μl) に proteinase K (Roche : 20mg/ml) 10 μl と加熱溶解した SeaKem Gold agarose (Cambrex bio science rockland) 1% TE 溶解液 110 μl を添加・混合し, サンプルプラグキャスト (Bio-Rad) に分注し, 4°C で 5 分静置した。

3) 菌体の消化

プラグを Lysis Buffer (50mM EDTA (pH8.0), 50mM Tris, 1% N-Lauroyl Sarcosin, proteinase K (0.1mg/ml)) 5ml を入れた 50ml チューブに挿入し, 振盪 (150~200rpm) しながら 54°C で 60 分反応させた。次に, Lysis Buffer を抜き取り, 加温した蒸留水 10ml で 1 回, TE 5ml で 3 回, 振盪洗浄 (54°C で 10~60 分) した後, TE を抜き取り, 新しい TE 5ml を加えた。

4) 制限酵素処理

5mm×2.5mm にカットしたプラグを制限酵素用 Buffer 200 μl 入りのマイクロチューブに挿入し, 室温で 5 分静置後, 制限酵素用 Buffer を抜き取り, 制限酵素 (30~40U/試料 : タカラバイオ) を含む Buffer 100 μl を加え, 適温で 2 時間反応させた。なお, 制限酵素は, *C. jejuni*, *S. aureus* および *C. perfringens* については *Sma* I (反応温度 : 25°C) を, *S. Enteritidis* と *E. coli* 0157 では *Xba* I (反応温度 : 37°C) を, *V. parahaemolyticus* では *Sfi* I (反応温度 : 50°C) を用いた。

5) 電気泳動およびゲルの染色

反応の終わったチューブから制限酵素入り Buffer を抜き取り, TE 250 μl を加え, 室温に 5 分置いた。次に, プラグと DNA サイズマーカー (lambda ladder marker : Bio-Rad) をコームの上に乗せ, 余分な TE を拭取り, 5~10 分, 室温で静置した。コームをゲル作製台にセットし, 加温溶解した SeaKem Gold agarose 1% 0.5×TBE 溶解液を静かに流し込み, 凝固したゲルを 0.5×TBE 2,000ml を入れたパルスフィールド・ゲル電気泳動槽 (CHEF-DRIII システム : Bio-Rad) にセットし, 電気泳動 (6V/cm, 2.2~54.2 秒, 19 時間, 14°C) を行った。PFGE が終了したゲルを ethidium bromide 水溶液 (0.5 μg/ml) で 30 分染色し, 蒸留水で 30~60 分洗浄後, 紫外線下で DNA バンドを観察した。

2 Proteinase K と achromopeptidase による菌体消化実験

蒸留水に溶解した前述の 6 菌種の菌液 (OD 620nm:1.3~1.8) を 96 穴平底マイクロプレートに各菌種 3 ウェルずつに分注した。菌種ごとに proteinase K (20mg/ml) 10 μl と achromopeptidase (10 万 unit/ml) 10 μl を添加したもの, proteinase K 10 μl と蒸留水 10 μl を添加したものおよび蒸留水 20 μl を添加したもの (コントロール) の 3 種類を作製し, それぞれのウェルに SeaKem Gold agarose 1% TE 溶解液 120 μl を添加・混合し, サンプルプラグキャストに挿入した。37°C で 15 分静置後, 凝固したプラグを取り出し, コルクボーラーで直径 5mm の円形にカットしたものを, 蒸留水 100 μl を入れた 96 穴平底マイクロプレートに挿入し, 620nm の吸光度を測定した。残りのプラグは, Ribot らの方法に準じて Lysis Buffer で菌体の消化を実施し, 反応時間が 30 分と 60 分の時にプラグをカットし, 吸光度を測定した。

S. aureus と *C. perfringens* については, Lysis Buffer による菌体消化を 60 分行ったプラグについて, 前述の方法で PFGE を実施し, 電気泳動像を比較した。

3 各種寒天平板上の 1 集落からの PFGE 法の試み

カジトン保存培地に 1~3 ヶ月保存した胃腸炎患者由来の *S. Enteritidis* 5 株と *E. coli* 0157 5 株を, それぞれ 6 種類の寒天平板に接種した。培地は, *S. Enteritidis* にはハートインヒュージョン寒天 (HI : 日水), BGM (Difco), DHL (日水), SSB (日水), XLT4 (Merck) およびクロモアガーサルモネラ (CHROMagar) を, *E. coli* 0157 には HI, クロモアガー 0157 TAM (CHROMagar), ソルビトールマッコンキー (Oxoid), DHL, SIB (極東) お

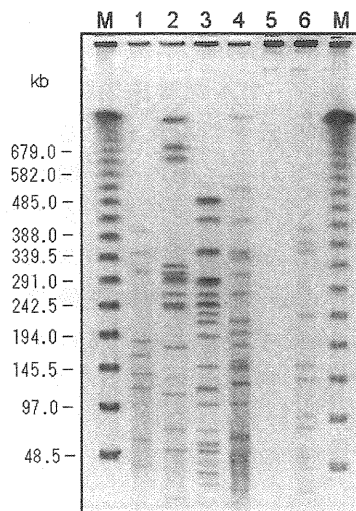


図 1 主要食中毒細菌の Ribot らの方法による PFGE 像
M : lambda ladder marker, 1 : *C. jejuni* (*Sma* I),
2 : *S. Enteritidis* (*Xba* I), 3 : *E. coli* 0157 (*Xba* I),
4 : *V. parahaemolyticus* (*Sfi* I), 5 : *S. aureus* (*Sma* I),
6 : *C. perfringens* (*Sma* I)

よびクロモカルトコリフォーム (Merck) を用いた。菌株を各培地に画線塗抹し、37°Cで20時間培養後、それぞれの平板上の最大単独集落の直径を測定した。また、各菌種1株について、それぞれ4種類の培地上の1集落(最大、単独のもの)からPFGE法を試みた。すなわち、1集落の菌を掻き取り50 μ lの蒸留水で菌液を作製し、proteinase K (20mg/l) 5 μ lおよびSeaKem Gold agarose 1% TE溶解液55 μ lを添加・混合後、サンプルプラグキャストに注入した。プラグ作製以降の操作は、前述のとおり実施した。

4.5. Enteritidis 分離株の PFGE 法による遺伝子型解析

1) 供試菌株

1992年から2004年の間に静岡県内で発生したS. Enteritidis 起因食中毒25事例の患者由来株各1株ならびに1995, 1998, 2001および2004年の散発胃腸炎患者から分離されたS. Enteritidis 40株(各年10株)を供試した。

2) PFGE 法および遺伝子解析法

PFGE法は、制限酵素としてBln IとXba I(ともにタカラバイオ)を用い、前述のRibotらの方法に準じてPFGE法を実施した。得られたPFGEパターンを基に、電気泳動パターン解析ソフト(レーンマルチスクリーナー:アトー)を用いて、NJ法に基づいた系統樹を作成し、遺伝子型の解析を行った。

結果

1 Ribotらの方法に準じたPFGE法の結果

PFGE画像は、図1に示したとおり、グラム陰性の4菌種(C. jejuni, S. Enteritidis, E. coli 0157, V. parahaemolyticus)についてはDNAバンドが明瞭であり、Ribotらの方法を適用できることが確認された。しかし、グラム陽性菌のうちS. aureusについては菌体の消化がほとんどされておらず、DNAバンドはまったく確認できなかった。また、C. perfringensについても菌体消化が不十分でバンドは不明瞭であった。

2 Achromopeptidaseの菌体消化効果

Ribotらの方法(proteinase Kのみ使用)とachromopeptidaseを併用した方法について、プラグの吸光度を指標とした経時的な菌体消化状況を図2に示す。S. EnteritidisとE. coli 0157は、37°Cでのプラグ凝固の過程では、どちらの方法でもまったく吸光度の減少はみられず、Lysis bufferを用いた加温振盪により急激に菌体消化が進行した。V. parahaemolyticusは、両方法ともプラグ凝固工程のみで菌体消化が充分行われた。また、C. jejuniは、菌体の形状が関与しているものと思われるが、十分量の菌をプラグに添加したにも関わらず、吸光

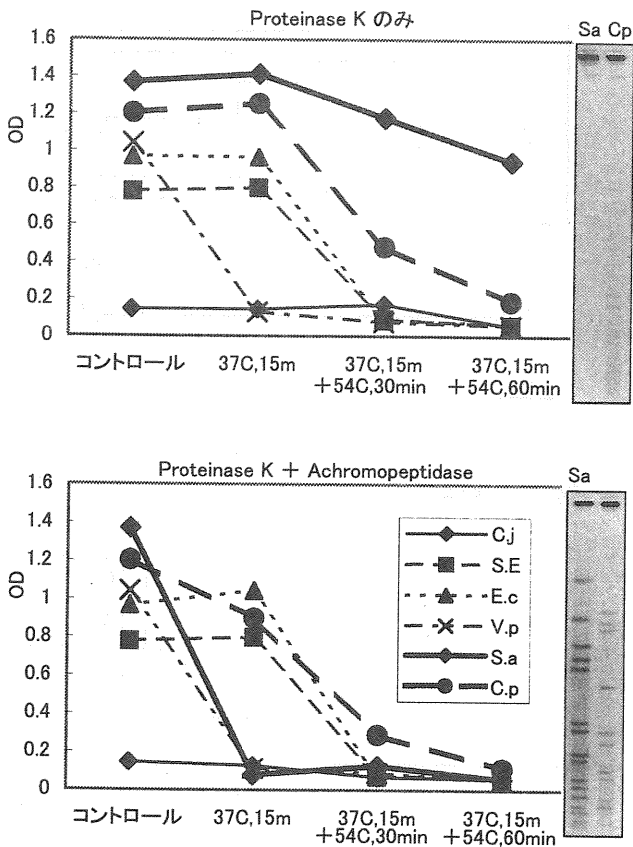


図2 Proteinase Kおよびachromopeptidase処理によるプラグの吸光度変化およびS. aureusとC. perfringensのPFGE画像

C. j: C. jejuni, S. E: S. Enteritidis, E. c: E. coli 0157, V. p: V. parahaemolyticus, S. a: S. aureus, C. p: C. perfringens

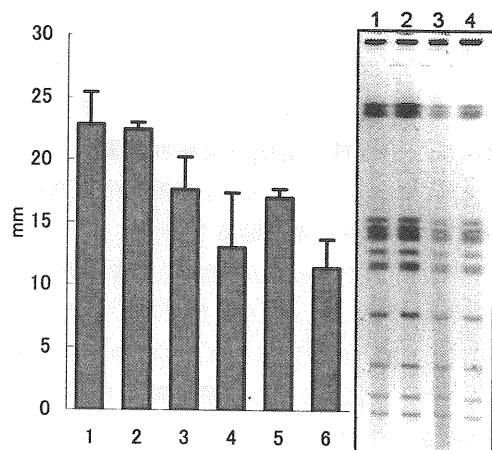


図3 S. Enteritidisの各寒天平板上最大集落の直径(各5株の平均サイズ)

1: ハートインヒュージョン寒天, 2: BGM, 3: DHL, 4: SSB, 5: XLT4, 6: クロモアガーサルモネラ

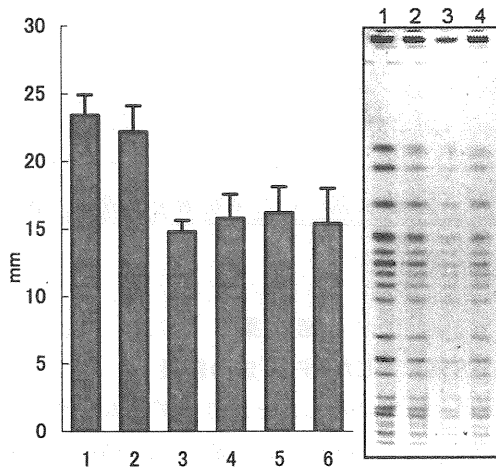


図 4 *E. coli* 0157 の各寒天平板上最大集落の直径 (各 5 株の平均サイズ)
 1: ハートインヒュージョン寒天, 2: クロモアガー 0157 TAM, 3: ソルビトールマッコンキー, 4: DHL, 5: SIB, 6: クロモカルトコリフォーム

度はコントロールでも極めて低く, 菌体消化状況は把握できなかった。

S. aureus と *C. perfringens* は, proteinase K のみの場合, プラグ凝固工程でまったく吸光度の減少は認められなかった。しかし, achromopeptidase を加えた場合は, プラグ凝固工程のみで, *S. aureus* は顕著な吸光度の減少が認められ, *C. perfringens* も吸光度が約 25% 減少し, 両菌種とも Lysis buffer 処理後に菌体の消化が十分行われ, PFGE 後の DNA バンドも明瞭になった。

3 寒天平板上の 1 集落からの PFGE 法の結果

S. Enteritidis, *E. coli* 0157 とともに選択剤の入っていない HI 培地上の集落が最も大きかった (図 3, 図 4)。選択培地で培養した場合は, *S. Enteritidis* は BGM が, *E. coli* 0157 はクロモアガー 0157 TAM が最も集落が大きく, HI に類似した大きさであり, これらの培地上の 1 集落からの PFGE 後の DNA バンドは明瞭であった。

4 *S. Enteritidis* 分離株の遺伝子型解析結果

S. Enteritidis 起因食中毒 25 事例の代表株の PFGE パターンを基にした系統樹を図 5 に示す。 *Bln I* では, 15 株が同一パターンであったが, 他の 10 株はすべて単独のパターンであった。また, *Xba I* では, クラスターが 3 系統 (9 株, 5 株, 5 株) みられ, 6 株のみが単独のパターンを示した。なお, 両方の制限酵素の PFGE パターンを併せて系統樹を作成した場合は, 2 種類のクラスター (A1 型: 5 株, A2 型: 9 株) が認められた。

年次別に食中毒患者由来株の PFGE パターンをみると, A1 型は 2000 年以前の食中毒事例に多かった。一方, A2 型は 2001 年以降の食中毒 12 事例中 9 事例で認められた

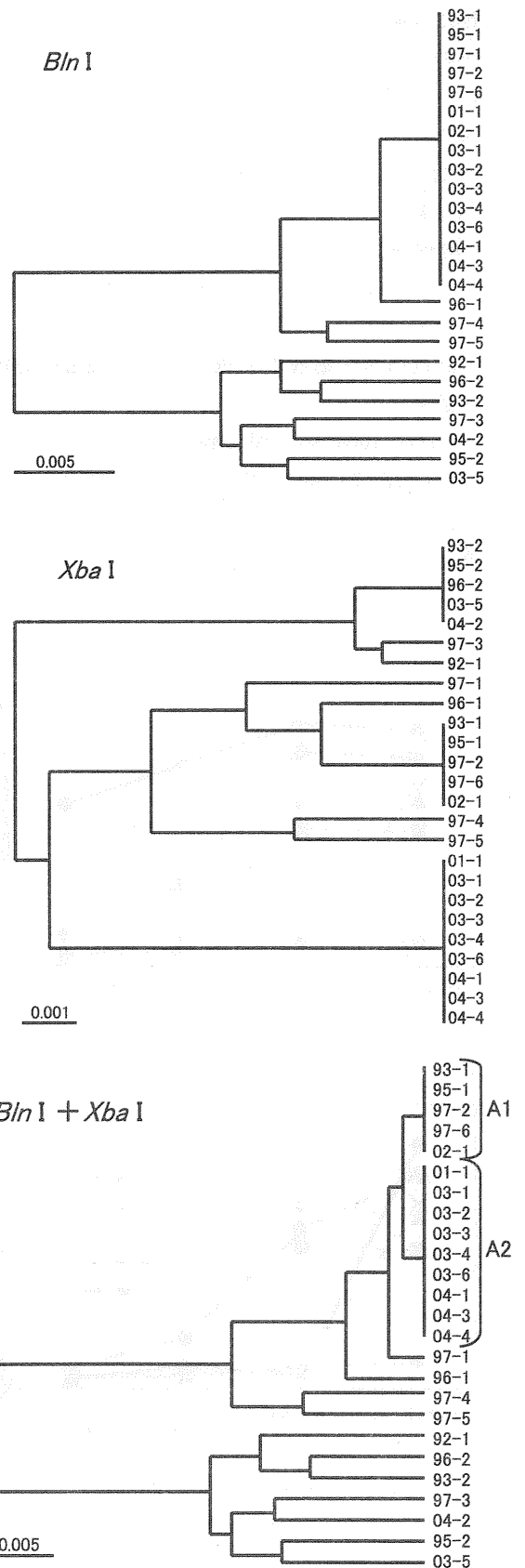


図 5 *S. Enteritidis* 食中毒患者由来株の PFGE パターンに基づく系統樹解析

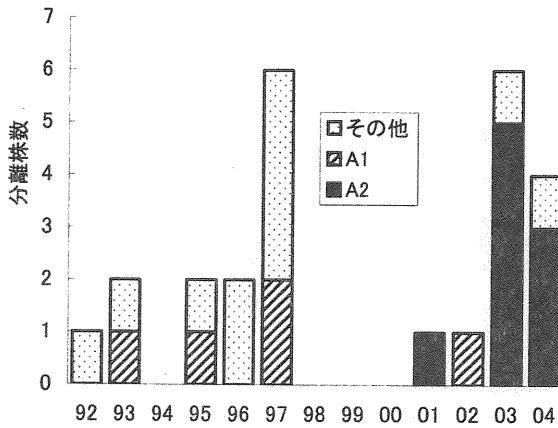


図 6 *S. Enteritidis* 食中毒患者由来株の年次別 PFGE パターンの推移

ことから、A2 型の菌が最近増加しているサルモネラ起因食中毒の主な原因となっていることが示唆された (図 6)。また、散发胃腸炎患者由来株についても、A2 型は、2001 年には 30% (3/10)、2004 年には 60% (6/10) を占め、食中毒事例以外でもこの型が最近の流行株であることが確認された (図 7)。

考 察

今回、対象とした 6 菌種のうち、グラム陰性の 4 菌種については、Ribot らの迅速 PFGE 法が適用できることが確認された。しかし、*S. aureus* と *C. perfringens* については菌体の消化が不十分であったので、グラム陽性菌の菌体消化に用いられることがある achromopeptidase^{5, 8, 9)} の短時間処理を追加したところ、PFGE 像が改善された。この方法は、Ribot らの方法で 4℃ で 5 分行っているプラグ凝固工程を、achromopeptidase 処理も兼ねるよう 37℃ で 15 分に変更しただけなので、全体の所要時間をほとんど変えることなく、グラム陽性菌についても迅速 PFGE 法が可能となった。今回の方法は、試験菌が純培養された時点から 30 時間以内に PFGE 像を得ることができるので、PFGE の解析結果を基に食中毒や集団感染発生時の対策を検討する際は、大変有効な手段に成り得るものと思われる。

グラム陰性菌を対象とした迅速 PFGE 法としては、Gautam²⁾ が菌液を lysozyme と proteinase K で短時間処理した後、プラグを proteinase K で 2 時間処理する方法を報告しているが、今回の方法では、proteinase K のみで 1 時間処理することで菌体は十分消化されることが確認された。また、レンサ球菌については Benson ら¹⁾ が、菌液を lysozyme で 15 分処理した後、プラグ作製時に proteinase K と mutanolysin を添加する方法を報告している。今回の方法は、レンサ球菌に適用できるか検討し

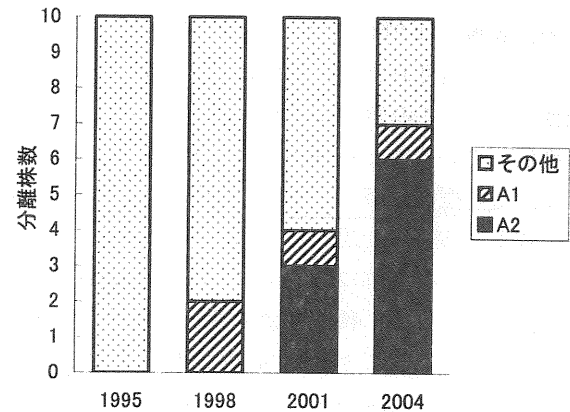


図 7 *S. Enteritidis* 散发胃腸炎患者由来株の年次別 PFGE パターンの推移

ていないが、Benson らの方法に比べ、簡便であり、菌体消化時間が 45 分、短縮されている。

S. Enteritidis と *E. coli* O157 は、ともに保健所からの PFGE 法による解析依頼が多い菌種であるが、分離菌株は通常、保存培地に接種された状態で搬入される。したがって、PFGE 用の十分量の試験菌を得るためには、選択培地での培養と単独コロニーからの純培養の合計 2 日間が必要となる。今回の実験で目的菌種の増殖が良い選択培地を選んだ場合は、1 集落の菌量からでも十分解析可能な PFGE 像が得られたので、これらの菌種に関しては、試験菌の準備が 1 日間短縮できることが確認された。

今回、食中毒患者由来の *S. Enteritidis* 分離株について 2 種類の制限酵素を用いて PFGE 法を実施したが、PFGE パターン数は、*Bln* I (11 型) の方が *Xba* I (9 型) より多かった。他の研究者^{3, 10)} も *Bln* I の方がパターンが細分化されることを報告しているが、今回、*Bln* I で同一パターンとなった 15 株が、*Xba* I で 3 パターンに分類されたことから、両酵素を併用するメリットは大きいものと思われる。

国内で分離された *S. Enteritidis* が、PFGE パターンに基づいた系統樹解析で大きなクラスターを形成するケースはしばしばみられるが^{3, 4, 10)}、今回も 25 株について 2 種類の制限酵素を併用して解析したところ、2 つのクラスター (A1, A2) が確認された。A2 型は、静岡県で 2001 年以降に分離された *S. Enteritidis* の過半数を占めており、分子疫学的解析を行う上で大きな問題となっている。板垣ら³⁾ は、岐阜県で 2000~2004 年に分離された *S. Enteritidis* について *Bln* I で PFGE 解析を行ったところ、36.4% が同一パターン (B1 型) となり、そのほとんどのファージ型が PT47 であることを報告している。板垣らの B1 型と今回の A1, A2 型は、*Bln* I による PFGE パターンが極めて類似しており、2003 年に静岡県で

分離された A2 型の分離株 4 株のファージ型(国立感染症研究所に依頼)は PT47 であったことから、今回の A2 型と岐阜県で確認された B1 型は同一クラスターに属する可能性が高く、この型の *S. Enteritidis* が、東海地域に広く蔓延していることが推測される。今後、他の解析法も用いて、この型の株がすべて同一遺伝子であるのか検討する必要があるものと思われる。

今回は、Ribot らの方法をベースとして迅速 PFGE 法を検討したところ、6 種類の食中毒細菌については従来よりも短時間で実施できる PFGE 法が確立されたので、今後、食中毒や集団感染発生時の分子疫学解析に有効に活用していきたい。また、今回検討しなかった病原細菌についても、応用が可能であるか、今後、検討を続ける予定である。

謝 辞

S. Enteritidis のファージ型別を実施していただいた国立感染症研究所細菌部の泉谷秀昌先生ならびに試験菌の収集に御協力いただいた静岡県内の保健所の関係各位に深く感謝致します。

文 献

- 1) Benson, J. A. et al.: Rapid pulsed-field gel electrophoresis method for group B streptococcus isolates. *J. Clin. Microbiol.*, **39**, 3006-3008 (2001)
- 2) Gauton, R. K.: Rapid pulsed-field gel electrophoresis protocol for typing of *Escherichia coli* O157:H7 and other gram-negative organisms in 1 day. *J. Clin. Microbiol.*, **35**, 2977-2980 (1997)
- 3) 板垣道代他: 2000 年 4 月から 2003 年 3 月に岐阜県において検出された *Salmonella* Enteritidis 株の PFGE 型とファージ型の組み合わせによる疫学解析. *感染症誌*, **78**, 690-698 (2004)
- 4) 北元憲利他: パルスフィールド核酸電気泳動法によるサルモネラ食中毒の分子疫学調査. *感染症誌*, **79**, 122-128 (2005)
- 5) Lenard, R. B. et al.: Comparison of MIDI Sherlock system and pulsed-field gel electrophoresis in characterizing strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from a recent hospital outbreak. *J. Clin. Microbiol.*, **33**, 2723-2727 (1995)
- 6) 増田高志: 静岡県におけるサルモネラ食中毒の現状と 2003 年に発生した *Salmonella* Enteritidis による食中毒の疫学的検討について. 平成 15 年 静岡県の食中毒, 78 - 83 (2004)
- 7) Ribot, E. M. et al.: Rapid pulsed-field gel electrophoresis protocol for subtyping of *Campylobacter jejuni*. *J. Clin. Microbiol.*, **39**, 1889-1894 (2001)
- 8) Sekar, R. et al.: An improved protocol for quantification of freshwater *Actinobacteria* by Fluorescence in situ hybridization. *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**, 2928-2935 (2003)
- 9) Seki, M. et al.: Hydrogen peroxide production in *Streptococcus pyogenes*: involvement of lactate oxidase and coupling with aerobic utilization of lactate. *J. Bacteriol.*, **186**, 2046-2051 (2004)
- 10) Seno, M. et al.: Genotypic diversity of *Salmonella* Enteritidis isolates from sporadic patients in limited area during one year. *J. Infect.*, **49**, 291-296 (2004)
- 11) 和田昭仁他: パルスフィールド電気泳動法 (PFGE) による分子疫学的同定法. *日本細菌学雑誌*, **52**, 763-775 (1997)

スキップ試験等の導入に関する研究 (第三報)

医薬品生活部 医薬食品スタッフ 小和田和宏, 栗田浩幸, 植田敦子
 上村慎子, 藤原厚子, 石川雅章
 浮島美之

Study on the Introduction of Periodic/Skip Testing (III)

Kazuhiro OWADA, Hiroyuki KURITA, Atsuko UETA, Mitsuko KAMIMURA,
 Atsuko FUJIWARA, Masaaki ISHIKAWA and Yoshiyuki UKISHIMA

当研究所では、平成14年度より、スキップ試験等の効率的な導入方法について検討してきた。今年度は、スキップ試験等の導入可能な条件を検討し、「確認試験単純スキップ」及び「定量値代替スキップ」等の事例集(案)を作成した。また、スキップ試験の実施方法や運用方法を規定した「静岡県版ガイドライン(案)」を作成した。一方、厚生労働省ではスキップ試験の運用指針を出さず、GMP事例集改訂版に実施方法のQ&Aを掲載することにより、医薬品製造所の責任で運用を開始させることとした。現在作成中の「静岡県版ガイドライン」や「事例集」は「GMP事例集(改訂版)」を補完するものとして大いに有用であると考えられる。

スキップ試験等を適切に導入した場合は、医薬品製造所においては品質管理部門における試験期間、経費、人件費等の軽減やスムーズな出荷、在庫圧縮、環境対策等にも有効となると考えられる。さらに、スキップ試験等の早期導入及び適切な運用が、県内医薬品製造所の科学的根拠に基づいた品質保証体制や品質管理技術の向上につながれば幸いである。

Key words: 医薬品, 試験検査, スキップ試験, ガイドライン
 drug, analysis and testing, skip testing, prefectural guideline

はじめに

平成11年10月、ICH会議において日米欧3極間で「化学合成医薬品の規格及び試験方法のガイドライン」が最終合意に達した。このガイドラインには定期的試験/スキップ試験等(以下、スキップ試験等と略す)の導入、工程内試験の利用など医薬品の品質保証に関する新しい考え方が含まれていた。これは「医薬品の製造工程を厳しくコントロールすることが品質保証の上で重要であり、これを活

用することにより最終製品の試験検査を軽減し得る」とする欧米における最近の品質保証の考え方によるものである^{1,2)}。さらに、平成13年5月、ICHの合意を受け、厚生労働省から「新医薬品の規格及び試験方法の設定について」が通知された³⁾。我が国では医薬品の製造において、製造承認書に定められた規格の全項目を出荷時に試験検査することになっているが、スキップ試験等の考え方を取り込むため、日本薬局方の通則第4項、製剤総則第6項等を改正するなど法的な根拠も整備された⁴⁾。

承認書における試験項目のうち、ある試験項目については期間毎あるいはロット毎に試験検査をすることで、最終製品の試験検査を軽減する手法として、このスキップ試験等が注目されてきている。

著者らは平成14年度から県内医薬品製造所10社の協力

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

を得て、スキップ試験等の効果的な導入方法を検討してきた。

平成 14 年度はスキップ試験等の導入に対する県内の製剤製造医薬品製造所の考え方をアンケート調査し、スキップ試験等の導入を 77%の医薬品製造所で希望していること、スキップ試験等の導入により試験実施時間が 40～50%短縮できる可能性のあること等を明らかにした⁵⁾。

平成 15 年度はスキップ試験の効率的な運用方法を検討するため、県内の医薬品製造所 10 社の品質管理担当者の協力を得て、スキップ試験検討委員会を設置した。この委員会では、スキップ試験等の適用可能な試験項目の選定、スキップ試験等を適用するための医薬品製造時における GMP 上の条件、運用可能とするために必要な合理的根拠及びデータの収集を行った⁶⁾。

平成 16 年度は、収集した各事例を標準化して事例集を作成するとともに、スキップ試験等の実施方法を県のガイドラインとして作成し、実際に製造所においてスキップ試験等が可能であるかを模擬施行したので、それらの結果について報告する。また、国のスキップ試験等の導入に関する取組み状況等も併せて報告する。

結果及び考察

1 事例集(案)の内容検討及び修正

平成 16 年度は第 2 回スキップ試験等検討委員会を開催し、各事例及び省略の考え方についてディスカッションを行った。

1) 確認試験単純スキップ事例

確認試験のスキップに必要な条件は、

- ①当該成分の定量法等に特異性がある
- ②原薬受入試験で性状及び確認試験が行われている
- ③その原薬の使用が製造記録で確認できる等であるといわれている⁷⁾。

このうち、②及び③は GMP が適切に実施されていることが前提となっており、品質保証体制が十分確保できるシステムがあつてはじめて、本試験省略が可能であることを示している。委員会で特に議論されたのは①の条件で、定量法に特異性がない場合の対応であつた。

定量法に特異性があると広く認識されている HPLC 法や GC 法でなく、UV 法等が採用されている場合にも確認試験の単純スキップが適用可能とならないか、また、適用可能とするためにはどのような根拠を作成したらよいか話し合われた。その結果、UV 法において特異性を評価した事例や製造記録(仕込量)検証による根拠事例が新たに提案された。

原薬の受入試験が確実に実施され、製造記録により仕込みが確認できるならば、製剤においては原薬が他の有効成

分や賦形剤と識別できることで特異性を示せば良いのではないかと考えられる。すなわち、HPLC 法や GC 法以外の方法でも上記条件①を満たす場合が十分考えられる。

2) 定量値代替スキップ事例

製剤の試験検査項目の中で含量均一性試験が規定されている場合において、10 個の含量の平均値を定量値として代替することが可能かどうかを検討した。製造工程のバリデーションにより混合工程の均一性や打錠工程の質量確保および均一性が検証され、製造工程の GMP が十分管理されていれば、含量均一性の平均値は定量値として採用できると予測された。

定量値代替スキップが可能な条件は、

- ①工程のバリデーションの実施
- ②過去の両データを用いた代替の妥当性評価等が挙げられる。

このうち、委員から①の工程のバリデーションについては、混合末の均一性よりも、打錠用顆粒の粒度分布と粒度別の含量を管理するのが重要との意見が出された。特に、含量が低い場合には偏析などの影響を受けるため、粒度別含量は重要な要因になるとの事であつた。②の条件については、用いる統計的手法の選び方やロット数等は各社様々で、今後も引き続き検討する必要がある。

3) スキップ試験事例集(案)の作成

収集した各事例に前述した修正を加えた後、最終的に確認試験単純スキップ 7 事例、定量値代替スキップ事例 5 事例、工程内試験結果の最終製品試験結果への利用 1 事例の計 13 事例を事例集(案)として作成した(表 1)。

表 1 試験省略の根拠事例集(案)の事例内訳

事例 No.	内容	備考
事例 1～3	確認試験単純スキップ ⁸⁾	
事例 4, 5	同上	特異性なし、UV 法採用
事例 6	同上	特異性なし、仕込量検証
事例 7～12	定量値代替スキップ ⁹⁾	
事例 13	工程内試験結果の利用	

2 静岡県版ガイドライン(案)作成

厚生労働省からのスキップ試験等の運用に関する「指針」は出されていないが、県内の医薬品製造所からスキップ試験実施の要望があつた場合、許可権限者である県の審査及び公正な評価が必要になる。そこで、スキップ試験等

の運用方法を静岡県版ガイドライン(案)として定めることとした。その内容は用語の定義に始まり、適用範囲、適用条件、実施頻度、運用方法(スキップ試験等実施ロット及びスキップしたロットの評価)、スキップ試験等の中止と再開等についてである。

作成した事例集(案)及び静岡県版ガイドライン(案)は国立医薬品食品衛生研究所に提出し、指導及び助言を求めた。

3 スキップ試験等の模擬運用

スキップ試験等が医薬品製造所において実際に運用可能であるかを調査するため、県内医薬品製造所2社にシミュレーションを依頼した。

その結果を表2に示したが、確認試験単純スキップが可能と判断されたものはA社で25品目中19品目(76%)で、B社では14品目中8品目(57%)であった。一方、スキップ試験等が不可能と判断された理由は「定量法に特異性がない」ことであった。すなわち、定量法にHPLC法等を採用していない品目が該当すると思われた。前述のとおりUV法等においても特異性を示すことが可能となれば、スキップ試験等が運用可能となる品目数もさらに増えるものと思われる。

定量値代替スキップが採用可能と判断されたものは、A社で0%、B社では100%と大きな違いが認められた。これは、A社では過去の生産ロットにおける含量均一性試験の平均値と定量値の間の相関性がなかったことがその原因であった。しかし、これも統計手法の採用方法によっては可能となるケースがあるものと思われた。

表2 スキップ試験等運用可能と思われる品目数

社名	確認試験単純スキップ	定量値の代替スキップ
A	19/25 (76%)	0/5
B	8/14 (57%)	3/3

4 スキップ試験等導入に向けた環境の変化

1) 実施時期等に対する県内製造所の意見

スキップ試験等の導入時期や製造販売業者の考え方等について、委員9名からの意見をまとめた。すなわち、運用の実施時期等については、国の指針を待つ方が良い(3名)に対し、国の指針を待たずとも県単独施行も可能(6名)が上回った。時期的には平成17年4月の薬事法改正が一段落した後との意見もあったが、県としての体制が整い次第、なるべく早い時期にとの声も多かった。

17年4月以降、薬事法改正により医薬品製造所は製造販売業者からの委託を受けて製造することとなるため、ス

キップ試験等の実施について、業務を委託する製造販売業者側の意向を調査した。その結果、製造販売業者からはスキップ試験等の中止の要求はあるかもしれないが、製造の委託そのものを中止するようなことはないとの意見が多かった。また、製造販売業者の承認(同意)がなければスキップ試験等は実施できないこと、逆に、スキップ実施によるメリットを訴える意見もあった。

2) 国のスキップ試験等に対する考え方の変化(厚生労働科学研究・スキップ試験研究班)

平成16年12月、国立医薬品食品衛生研究所・青柳部長(前出)を座長とする「厚生労働科学研究・スキップ試験導入」の研究班の第1回目の会議が開催された。構成メンバーは国立医薬品食品衛生研究所のほか、厚生労働省、医薬品医療機器総合機構、医薬品製造業者、地方庁、地方衛生研究所等15名で、スキップ試験等の早期導入を目指そうというものである。

この研究会議の中で、スキップ試験等の導入について、以下の方針が示された。

- ①厚生労働省からは「運用指針」を出さない。
- ②本研究班により、含量均一性試験のスキップ試験等の実施方法を定め、「GMP事例集(2005.5月改訂予定)」に掲載する。
- ③GMP事例集の発行により、医薬品製造販売業者の了解のもとに医薬品製造業者はスキップ試験等の運用が可能となる。
- ④スキップの運用開始にあたり、都道府県への申請や届出は不要である。
- ⑤都道府県は医薬品製造業者の更新時等にスキップ試験等の運用状況を査察し、その妥当性を評価する。

おわりに

静岡県では平成14年度からスキップ試験等の導入について取り組んできた。現在、「確認試験単純スキップ」及び「定量値代替スキップ」等が適用可能と判断している。前述のように厚生労働省としてはスキップ試験の運用指針を出さず、改訂するGMP事例集を根拠として、医薬品製造所の責任で運用を開始させるとのことである。

今回、国の研究班より静岡県が検討したスキップ試験等の事例を「GMP事例集(改訂版)」に掲載するため、原案を提出するよう依頼された。今まで静岡県が実施してきた検討内容を研究会議に提案し、「GMP事例集(改訂版)」にQ&Aの形で記載される運びとなった。また、現在作成している「静岡県版ガイドライン」や「事例集」は「GMP事例集(改訂版)」を補完するものとして大いに有用であると考えられる。

スキップ試験等の適切な導入により、医薬品製造所においては品質管理部門の軽減（試験期間，経費，人件費等）やスムーズな出荷，在庫圧縮，環境対策等にも有効となると考えられる。スキップ試験等の早期導入及び適切な運用が県内医薬品製造所の科学的根拠に基づいた品質保証体制，品質管理技術の向上につながれば幸いである。

謝 辞

本研究を行うに当たり，スキップ試験検討委員として協力いただいた小野薬品工業株式会社，科研製薬株式会社，協和醗酵工業株式会社，興和株式会社，静岡フジサワ株式会社，株式会社資生堂，第一製薬株式会社，テルモ株式会社，持田製薬株式会社及び山之内製薬株式会社（以上，アイウエオ順，平成 16 年 4 月現在の社名を記載）の皆様に深謝します。

文 献

- 1) 小嶋茂雄：スキップ試験などに関する厚生科学研究について（PDAシンポジウム資料），国立医薬品食品衛生研究所ホームページ（2002）
- 2) 小嶋茂雄：医薬品の品質保証を巡る新しい考え方—スキップ試験やパラメトリックリリースの適用基準，不純物プロファイルによる品質管理について—，平成 14 年度第 1 回医薬品等製造業者品質管理講習会講演資料，静岡県健康福祉部，静岡県製薬協会（2002）
- 3) 厚生労働省医薬局審査管理課長通知：新医薬品の規格及び試験方法の設定について，平成 13 年 5 月 1 日付医薬審発第 568 号
- 4) 厚生労働省：第十四改正日本薬局方，平成 13 年 3 月 30 日付厚生労働省告示第 111 号
- 5) 小和田和宏他：スキップ試験等の導入に関する研究（第一報）—県内医薬品製造所に対するアンケート調査結果—，静岡県環境衛生科学研究所報告，45，25-29（2002）
- 6) 小和田和宏他：スキップ試験等の導入に関する研究（第二報）—スキップ試験導入のための根拠事例—，静岡県環境衛生科学研究所報告，46，15-18（2003）
- 7) 青柳伸男他：医薬品の品質保証基準及び品質判定システムに関する研究，平成 10 年度～平成 12 年度厚生科学研究（医薬安全総合研究事業）報告書（2001）

医薬品等の規格試験法に関する問題点 (第六報)

医薬品生活部 医薬食品スタッフ 小和田和宏, 栗田浩幸, 植田敦子
上村慎子, 藤原厚子, 石川雅章
浮島美之

Study on the Specifications and Test Methods of Drugs (VI)

Kazuhiro OWADA, Hiroyuki KURITA, Atsuko UETA, Mitsuko KAMIMURA,
Atsuko FUJIWARA, Masaaki ISHIKAWA and Yoshiyuki UKOSHIMA

当研究所では県内で製造(輸入)される,または,県内に流通する医薬品等の収去検査を行い,医薬品等の最終製品の品質や承認(申請)書の「規格及び試験方法」等の妥当性などを評価している。収去検査では「規格及び試験方法」の設定や記載内容に不備があったり,記載された試験方法どおり実施しても期待された結果が得られないことがある。

平成16年度の収去検査においては,容器等への表示の不備に関する事例が2件あった。また,溶出試験において規格外と判定された事例があったが,これは製造所における品質保証体制やそのあり方を考えさせるような事例で,アクションレベルやアラートレベルの設定等に問題があるように思われた。「規格及び試験方法」の設定方法や品質保証体制等に関する問題点等を広く公表することにより,適切な試験方法や規格の設定及び医薬品等製造所の品質管理技術の向上に役立つと考えられる。

Key words : 医薬品, 試験検査, 規格試験法, 製造承認書, 品質管理
drugs, analysis and testing, specification and test method, manufacturing approval,
quality control

はじめに

医薬品は人の生命に大きく関わることから,その有効性や安全性,品質の確保が重要である。当研究所では県内で製造(輸入)される,または,県内に流通する医薬品等の収去検査を実施し,品質評価を行っている。試験検査を実施する過程で,当該品目の製造承認書の「規格及び試験方法」どおり試験検査を行っても,期待された結果が得られないことがある。著者らは収去検査等で生じた問題事例について,これまでも5回にわたり報告してきた¹⁻⁵⁾。

今回は,平成16年度の収去検査の中から問題となった事例を紹介し,医薬品等製造所における試験方法や規格の適

切な設定に役立てるとともに,試験検査や品質管理業務にも役立てれば幸いである。

試験検査方法

1 検体

県内製造(輸入)医薬品,県内流通医薬品,県内製造医薬部外品,国一斉監視指導に伴う医薬品,医療用具等

2 医薬品等の試験検査

各検体の収去時に同時搬入された当該品目の製造(輸入)承認書の「規格及び試験方法」,日本薬局方(以下,日局)⁶⁾,日本薬局方外医薬品規格(以下,局外規)⁷⁾及び医薬品等製造所の製品標準書等に従って実施した。

結果及び考察

1 溶出試験において規格外であった事例

本年度の流通医薬品の収去検査において,内服固形製剤

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市葵区北安東4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-ando, Aoi-ku, Shizuoka, 420-8637, Japan)

の溶出試験で規格外の事例があった。当該製品の溶出試験規格は、「パドル法, 50 回転, 試験液: 水, 30 分間, 溶出率 75%以上」であった。試験結果は表 1 に示したように規格を満たさなかった。

そこで, 試験担当者及び溶出試験器等試験検査の条件を替えて試験したが, 4 回の試験検査結果はほぼ同様であった。この原因としては, 試料(錠剤)がベッセル中で崩壊した後, ベッセルの底にマウントを形成して堆積し, パドルが回転してもマウントの表面しか攪拌されていないことが判明した。当該製品における製造所の最終製品の溶出試験結果は表 2 に示したように, 溶出率 76.1~83.9%と規格(75%以上)の範囲内ではあったが, 下限値付近の測定値であった。

表 1 当該医薬品の溶出試験検査結果

試験回数	1 回目	2 回目	3 回目	4 回目
試験担当者	A	A	A	B
装置	大日本	大日本	富山産業	大日本
ベッセル 1	68.0	72.6	72.5	69.2
ベッセル 2	69.3	75.2	73.6	67.7
ベッセル 3	63.9	69.9	69.4	70.5
ベッセル 4	63.9	74.3	75.3	64.8
ベッセル 5	68.4	74.3	74.4	70.3
ベッセル 6	63.6	73.4	71.3	69.4
規格外ベッセル数	6/6	5/6	5/6	6/6
判定	不適合	不適合	不適合	不適合

表 2 当該医薬品製造所の出荷時の溶出試験結果

ベッセル	溶出率 (%)
1	76.6
2	77.6
3	76.1
4	83.9
5	77.1
6	83.9

当研究所の試験結果により, 静岡県から当該製造所の管轄県に不良医薬品の疑いとして通報した。当該製造所では保存サンプルを再試験した結果, 溶出率 76.2~79.7%であり, 試験規格を満たしていること及び本ロットにおいて溶出率が低かった原因として当該原薬ロットの平均粒子径が大きかったことが考えられるとの連絡があった。

溶出試験は溶出試験装置や溶出条件によってデータが変動しやすいといわれている試験法であり^{8~12)}, 出荷時及び保存サンプルにおいて医薬品製造所の試験で合格判

定されたことは問題ないと思われる。しかし, 製造所の出荷判定における品質保証の考え方については課題が残っていると思われた。

課題の一つは出荷時の試験結果判定において, 溶出率 75%以上の規格設定に対し, 76.1, 76.6 等規格範囲の下限付近の結果であった場合, 何らかのアクションの必要はないかという点である。すなわち, 試験結果判定において規格の内側に社内基準(アクションレベル又はアラートレベル)を設定して管理することが必要と考えられる。

二つ目の課題は, 原薬の平均粒子径の管理についてである。今回, 溶出率が低い原因が使用した原薬の平均粒子径にあるとのことであったが, 今回の原薬ロットは平均粒子径が 9.3 μm であり, 受入規格(30 μm 以下)を満たしているものの, 通常のロットより大きいものであった。原薬の受入規格の再検討や, 平均粒子径以外の受入規格(90%粒子径等)の設定の必要があると思われた。

2 紫外吸光度計において吸光度が変化した事例

流通医薬品の確認試験において, 抽出液の紫外吸収スペクトルを測定した際, スペクトルが時間経過とともに変化し, 測定できない事例があった。製造承認書における試験方法は, 錠剤から有効成分をクロロホルム抽出し, 減圧除去した残留物に 0.1N 塩酸を加えて溶解したのち, 紫外吸収スペクトルを測定する方法で, 承認規格は「吸収の極大波長が 250~254nm 及び 293~297nm」と規定されている。本製品を試験した結果, 時間経過とともに高波長側の吸収ピークが徐々に減少し, ピークの肩のようになってしまった。

また, 本製品の同じ有効成分を含有する製剤が局外規⁷⁾に収載されており, 規格範囲が若干異なるが, 原理や方法がほぼ同様の確認試験が規定されており, スペクトルの測定は 10 分以内に行うと規定されている。そこで, 本錠において試料溶液調製後, 直ちに紫外吸収スペクトルを測定したところ, 251nm 及び 294nm に極大吸収を示す吸収スペクトルが測定できた。

当該医薬品製造承認書において, 局外規同様「10 分以内に測定する」旨の注意事項の記載が必要だと思われた。

3 注射剤の実容量の事例

注射剤には日局製剤総則に実容量試験が規定されている⁶⁾。県内製造医薬品の収去検査において容量 200mL の注射剤(輸液)の実容量試験を実施した。製品 10 個について実容量を求め, 平均実容量及び個々の注射剤の表示量及び過量に対する割合を算出したところ, 規格を満たしていた。しかし, 試験に供した後の残りの注射剤の実容量を測定したところ, 実容量が 251mL であるサンプルがあった。

本品の表示量は200mL、過量は2% (4mL) であるため、表示量と過量の和 (204mL) に対し123%を示すものとなる。個々の注射剤は、表示量以上で、表示量と過量の和の115%を超えるものは1個以下という日局の規定は満たしたものの、204mL に対しに251mL は50mL 近くも多く含まれていることになる。

製造管理の面から考えると、個々の実容量は質量で管理され、製造ラインにおいて規格外の製品は排除される体制となっているべきであるが、このような製品が実際に出荷されたことは、何らかの要因でその体制が不十分であったことが窺える。GMPにおけるチェック体制を再確認するのが望ましいと考えられた。

4 製品標準書の計算式の記載が誤っていた事例

承認書における定量法はGC法であるが、製品標準書にHPLC法を別法 (改良法) として採用している製品があった。この別法の計算式が誤っていると思われる事例で、原因は単位の換算の間違いであると考えられる。これは計算式上、標準品を「mg」の単位で、表示量は「g」で代入するため、「mg」から「g」への換算のための係数(1/1000)が考慮されていない単純ミスであった。しかし、医薬品製造所では間違った製品標準書を改訂せず、日常の検査を実施していることになり、製品標準書の目的や意義を十分理解し、計算式ではあるが試験方法の妥当性を再度確認する必要があると思われた。

5 フィルムコート錠の質量偏差試験

流通医薬品であるフィルムコーティング錠の収去検査において、当該製造所の出荷時の試験検査記録の妥当性の確認を行ったところ、質量偏差試験は自主規格であり、日常の出荷時検査は平均質量の管理で行っていると疑われるものがあつた。

この重量偏差試験法は第13改正日局以前は製剤総則において糖衣錠、フィルムコート錠等のコーティング錠は規定しなくても良いとされていたが、第13改正よりフィルムコーティング錠にも適用された⁶⁾。

当該製造所においては20錠の平均質量を範囲を決めて管理 (平均質量: $○○ \pm 5\text{mg}$) しているようであるが、質量偏差は個々の錠剤の質量のばらつきを規定するものであるため、平均質量のみの管理でなく、個々の錠剤のばらつきを考える必要がある。

現在の日局の質量偏差試験は平均推定含量の表示量からの隔たりと個々の含量の推定値のばらつきで判定値を求めて行う方法をとっているため、製造所においてもそれに沿った管理方法を採用するよう望みたい。

6 医薬部外品のHPLC条件の記載方法

医薬部外品は医薬品と比べ多成分が配合されている製品が多く、定量方法にはHPLC法が多用されている。HPLCによる定量法を実施するためにはHPLCの操作条件の記載が必須であるが、医薬部外品の製造承認書の記載には多くの不備が見られる⁵⁾。本年度収去した医薬部外品の承認書にもカラムの長さや内径、粒子径及び充填剤名の記載やカラム恒温槽の温度の記載がない事例があつた。医薬部外品の定量におけるHPLC操作に必要な条件は、承認書に必ず記載することが必要である。さらに、医薬品の試験方法に準じて、標準品の規定やHPLCの分析法を定め、評価した条件が日常の試験検査時に再現されるよう、システムの適合性や再現性等の項目も今後規定されたいことを望みたい。

7 医薬部外品クリーム剤の比重の規格設定について

医薬部外品の承認書において、特に液剤の場合にはpHや比重等の項目が示性値として規定されている場合が多い。本年度の医薬部外品の収去検査において、クリームタイプの製品に比重が設定されていた。比重瓶は先端が細く加工されていて、液状のものは問題ないが、クリームを比重瓶に採取すること、気泡を入れないで均一に詰めることは非常に困難な作業であつた。

クリームにこの比重の試験項目を設定するのが国の方針であるのかは不明であるが、この項目のクリームへの応用が必須なのかも含めて課題があると考えられた。

8 表示に関する事例

本年度の収去検査において、2件の表示に関する問題事例があつた。その2件はいずれも医薬部外品であつた。

ひとつは製造業者の氏名及び住所の表示に関する事項であつた。薬事法では直接の容器又は被包に製造業者の氏名及び住所を記載することになっている¹³⁾が、当該製品は製造所 (工場) のものが記載されていた。これについては保健所に連絡し、調査と処置を行った。

二つ目は直接の容器及び被包、添付文書に虚偽又は誤解を招くおそれのある表現、承認を受けていない効能又は効果と思われる事項が記載されていた事例であつた。これについては、県薬事室に連絡し、管轄保健所とともに対応をしている。

表示事項に関する自主回収も依然として多いようであるが、製造所においては、薬事法に従い適切な表示を行うよう社内の十分な協議、検討が必要である。

まとめ

医薬品、医薬部外品の品質確保はきわめて重要であり、

製造承認書の「規格及び試験方法」はそれを規定するためのものである。著者らは医薬品等が適正に製造管理、品質管理されているか、製造承認書に従って最終製品を試験検査する立場にある。収去検査等を実施している中で、試験操作が良好に実施できない、あるいは、結果判定が明確に行えないなどいくつかの問題事例があった。それらは評価するための試験方法や承認規格設定が適当でない事例や社内の品質管理の方法に関する事例が多かった。

医薬品等の「規格及び試験方法」における問題事例の報告はこれで六報目となる。収去検査等において生じたこれらの承認書の試験方法の設定や記載内容の不備、規格の設定方法に関する問題点等は、なるべく多くの機会に公表することにより、医薬品等製造所において日常の品質管理や試験方法の設定において有効に活用され、また、知事承認品目の審査基準の各県統一にも役立てたいと考える。

文 献

- 1) 山本政利他：医薬品等の規格試験法に関する問題点，静岡県衛生環境センター報告，31，97-101 (1988)
- 2) 小和田和宏他：医薬品等の規格試験法に関する問題点（第二報），静岡県衛生環境センター報告，38，71～77 (1995)
- 3) 小和田和宏他：医薬品等の規格試験法に関する問題点（第三報），静岡県環境衛生科学研究所報告，43，21～24 (2000)
- 4) 小和田和宏他：医薬品等の規格試験法に関する問題点（第四報），静岡県環境衛生科学研究所報告，45，19～24 (2002)
- 5) 小和田和宏他：医薬品等の規格試験法に関する問題点（第五報），静岡県環境衛生科学研究所報告，46，19～22 (2003)
- 6) 厚生労働省：第十四改正日本薬局方，平成13年3月30日付厚生労働省告示第111号
- 7) 日本公定書協会監修：日本薬局方外医薬品成分規格2002，じほう，東京 (2002)
- 8) 渡会美千代他：溶出試験器のカリブレーションパドル回転軸の中心からのずれが市販製剤の溶出率に与える影響一，医薬品研究，33(1)，8-16 (2002)
- 9) 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に関する研究，医薬品研究，28(7)，505-511 (1997)
- 10) 馬淵 博他：医薬品溶出試験の信頼性に関する研究，静岡県環境衛生科学研究所報告，43，29-31 (2001)
- 11) 小和田和宏他：医薬品溶出試験の信頼性に関する研究（第2報），静岡県環境衛生科学研究所報告，44，27-30 (2001)
- 12) 小和田和宏他：医薬品溶出試験の信頼性に関する研究（第3報），静岡県環境衛生科学研究所報告，44，31-34 (2001)
- 13) 薬事法：昭和35年8月10日法律第145号

保健所等における外部精度管理調査結果 —ホールピペット及びメスフラスコの取扱い—

医薬品生活部 医薬食品スタッフ 小和田和宏, 石川雅章, 浮島美之

検査等精度管理委員会医薬品部会 渡邊正幸, 越智壽美子, 中島美穂
 浅賀彦人, 降旗昌彦, 志村将彦
 鈴木東悟

Collaborative Study on the Precision of Measurement Methods and Results in Public Health Center
 — Use of Volumetric Glassware, Whole-Pipet and Mess-Flask —

Kazuhiro OWADA, Masaaki ISHIKAWA, Yoshiyuki UKISHIMA,
 Masayuki WATANABE, Sumiko OCHI, Miho NAKASHIMA, Hirohito ASAKA,
 Masahiko FURIHATA, Masahiko SHIMURA and Tougo SUZUKI

平成15年度検査等精度管理委員会医薬品部会において、保健所等化学検査担当者を対象にガラス製体積計の使用
 方法や注意事項などを再確認することを目的として外部精度管理を実施した。

その結果、1mLホールピペットでは参加者の約80%が最大のばらつきを、また、50mLメスフラスコでは参加者
 の約75%が最小のばらつきを示した。1mLのホールピペットのばらつきには、ピペットからの排出方法が大きな影響を
 与えていた。ホールピペットは、原則として、排出の際には球部を手で温めて行うが、1mLのホールピペットの場合には
 手で温めても排出できないことがあり、今回の精度管理調査においては「ピペッター」等で強制排出する方法が有効であ
 った。1mLホールピペット及び10mLメスフラスコでは数人の参加者がJISの体積の許容公差の範囲から外れた。
 1mLのホールピペットのばらつきは対容量に換算した場合、大きな影響を与えるため、分析法作成や希釈操作には注意
 が必要であることが分かった。また、報告書作成に当たり、転記ミスや計算ミスが多かったことから、試験結果の信頼性
 を保証するため、生データを含めた試験結果のダブルチェック体制を強化する必要性が認められた。

Key words : 保健所, 試験検査, 共同実験, ガラス製体積計, 精度管理
 public health center, analysis and testing, collaborative study, volumetric glassware,
 precision control

はじめに

静岡県では試験検査精度管理委員会の検査等精度管理
 実施要綱に基づき、医薬品等試験検査に従事する保健所等
 の諸機関が、データのばらつきや正確さに関する実態を把
 握し、分析の精度及び正確さの向上を図り、データの信頼

性を確保するために外部精度管理調査を実施している。

本年度の外部精度管理は土井らの報告¹⁾を参考に、日
 常の試験検査でよく用いるガラス製体積計を取り上げ、そ
 れらを用いた場合の体積の正確性や精度等を検証し、使用
 方法や注意事項等を再確認することを目的とした。

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市葵区北安東4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-ando, Aoi-ku, Shizuoka, 420-8637, Japan)

実施方法

外部精度管理調査は平成16年度医薬品部会外部精度管
 理調査実施要領に基づき実施した。

- 1 実施時期 平成16年4～6月
- 2 参加機関 東部, 富士, 志太榛原, 中東遠の4保健所及び環境衛生科学研究所の5機関の理化学部門試験検査担当者全員が参加した。参加者は18名(報告数20)であった。

3 実施方法

- 1) 化学用ガラス製体積計
1mL及び5mLホールピペット, 10mL及び50mLメスフラスコ(いずれもJIS規格A)
- 2) 試料
蒸留水をアスピレーターで5分脱気後, 蓋をし, 前日から測定室(原則として常温に調整)に置いたもの
- 3) 測定方法
各体積計を用いて蒸留水を量りとり, その質量を化学はかりで各10回ずつ測定した。
- 4) 測定室, 蒸留水の温度を調査前後に測定した。

4 データの整理及び解析方法等

- 1) 報告された秤量値及び全質量と容器質量の差(水質量)が適切であることを確認した。また, 化学はかりの打出し結果から転記及び計算ミスがあった場合は訂正したのち, 解析を行った。
- 2) 実体積換算値
水質量を標準温度 20℃における実体積に換算した。なお, 実体積への換算は報告された蒸留水温度の平均値を用い, JIS R-3505 ガラス製体積計(2.1.3)実体積の計算²⁾に従って行った。
- 3) 対容量百分率の算出(実体積換算値/理論容量)
- 4) 異常値の棄却検定
Cochranの方法及びGrubbsの方法を用い, 試験結果はZスコアにより評価した。

結 果

1 実験条件等

- 1) 化学はかりの校正は各機関で実施されていた。
- 2) 測定室及び水の温度
各検査機関の測定室の温度は 20.0～28.5℃, 測定に用いた蒸留水の温度は 20.0～28.0℃であった。そのうち, 1機関は測定室の空調が故障中で蒸留水, 測定室ともに25℃を超える条件(約28℃)であった。
各機関の測定前後の測定室の温度差は 0～1.6℃, 蒸留水の温度差は 0～2.7℃であった。温度差の大きかった機関では測定室の断続的な空調システムが影響していることがわかった。
- 3) 報告値の転記及び計算の正しさ等の確認
秤量値の「転記ミス」が4名(6カ所), 「計算ミス」が2名(2カ所)において認められた。

2 解析結果

各体積計について各測定者の10回の水質量からその実体積換算値, 平均値, 標準偏差及び対容量百分率を求めた。また, 各測定者の10個の実体積換算値及びその平均値をプロットし, JISの体積許容誤差(検定公差)と比較した。

1) 1mLのホールピペットについての解析結果

参加者全体の水実体積の総平均値は 0.99962 ± 0.00745 mLで; 容量(1mL)に対する百分率は $99.962 \pm 0.745\%$ であった。平均値がJISの許容誤差²⁾の範囲(± 0.01 mL)を超えていたのは20名のうちNo.6及びNo.7の2名であった(図1)。

対容量百分率の各平均値をGrubbsの方法により検定し, 危険率1%で棄却されたNo.7及びNo.8を除いた総平均値及び標準偏差からZスコアを求めた結果, Zスコアが ± 2 を超えたのはNo.7, No.8及びNo.15の3名であった。

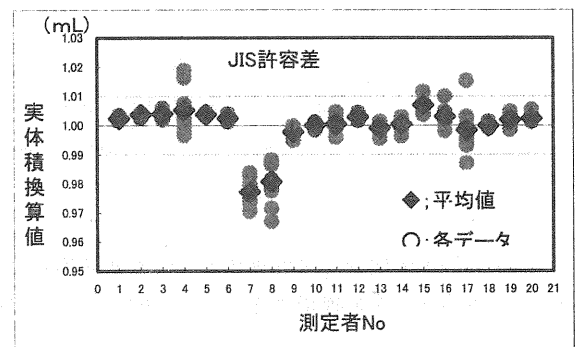


図1 1mLホールピペットの測定結果

2) 5mLのホールピペットについての解析結果

5mLのホールピペットにおける水の実体積の総平均値は 5.00168 ± 0.00692 mLで容量(5mL)に対する百分率は $100.034 \pm 0.138\%$ であった。また, 1名(No.10)がJISの許容誤差の範囲を超えていた(図2)。

対容量百分率の各平均値がGrubbsの方法で棄却されるものはなかった(危険率1%)。20個の総平均値及び標準偏差から求めたZスコアが ± 2 を超えたのはNo.10及びNo.20であった。

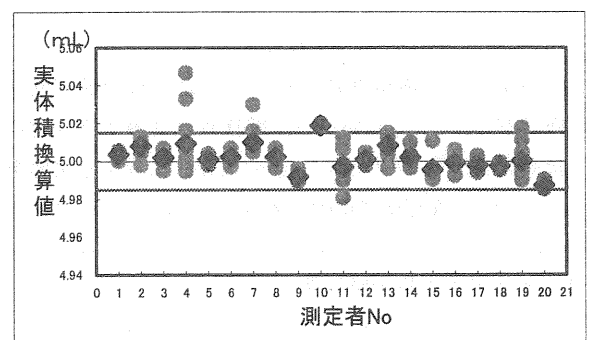


図2 5mLホールピペットの測定結果

3) 10mL のメスフラスコについての解析結果

10mL のメスフラスコにおける水の実体積の総平均値は 10.00312 ± 0.02003 mL で、容量 (10mL) に対する百分率は $100.031 \pm 0.200\%$ であった。10mL のメスフラスコにおいては平均値が JIS の許容誤差の範囲を超えていたのは No. 2, No. 8, No. 10 及び No. 15 の 4 名であった (図3)。

対容量百分率の各平均値は Grubbs の方法で検定により棄却されるものはなく (危険率 1%), Z スコアが ± 2 を超えたのは No. 8 であった。

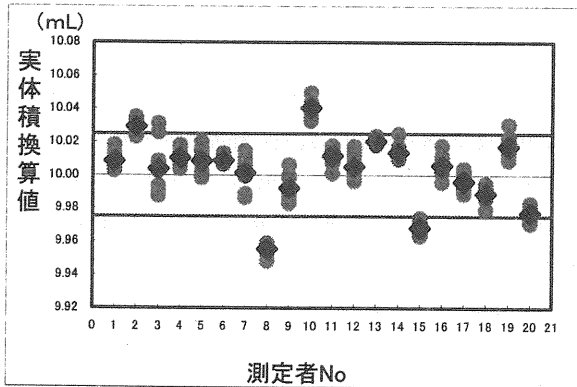


図3 10mL メスフラスコの測定結果

4) 50mL のメスフラスコについての解析結果

50 mL のメスフラスコの水実体積の総平均値は 50.00205 ± 0.03981 mL で、容量 (50mL) に対する百分率は $100.004 \pm 0.080\%$ であった。各平均値は JIS の許容誤差の範囲を超えるものはなかった (図4)。

対容量百分率の各平均値を Grubbs の方法で検定した結果、異常値として棄却されるものはなく (危険率 1%), Z スコアが ± 2 を超えたものもなかった。

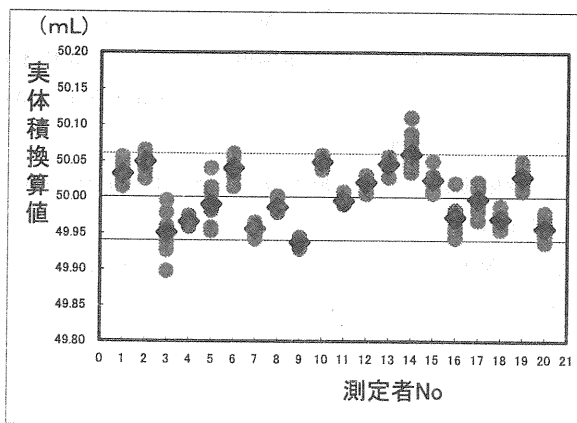


図4 50mL メスフラスコの測定結果

5) 体積計によるばらつきの評価

体積計ごとの実体積の相対標準偏差を求めたところ、1

mL のホールピペットにおいて 20 名中 16 名 (80%) が最大の相対標準偏差を、50mL のメスフラスコにおいて 15 名 (75%) が最小の相対標準偏差を示した。

考 察

1 真度について

各体積計で求めた対容量百分率の総平均値は $99.962 \sim 100.034\%$ であり、理論容量と大きはずれはなく、一般的に正確な操作が行えていた。個々の測定者に着目すると、実体積の平均値が JIS の許容誤差範囲を超えていたのは 1 mL ホールピペットで 2 名、5 mL ホールピペット 1 名、10 mL メスフラスコ 4 名であり、50 mL メスフラスコでは見られなかった。この原因として、1 mL のホールピペットでは内部の空気容積が特に少ないため、手で温めて排出する際の残りがあつたことや、10 mL のメスフラスコにおいてはガラスの擦りの部分や胴の部分に水が付着したこと等が考えられた。

一方、Z スコアが ± 2 を超えたケースが見られたが、今回の調査の場合、JIS の許容誤差範囲内であれば、真度としては問題がないものと考えられる。

2 1mL ホールピペットの使用方法について

局方等ではホールピペットの球部を温めて排出するよう記載されている³⁾が、1 mL の場合は前述したように液が残る場合がある。今回、各測定者に 1 mL ホールピペットの使用方法について確認した結果、ピペッターを用いて強制的に排出する方法と手で温めて排出する方法に 2 分された。両者による測定結果を比較したところ、今回の調査では、対容量百分率の平均値はピペッターを用いるほうがやや高く、標準偏差が小さいことが明らかとなった (表1)。

表1 1mL ホールピペットの排出方法と対容量百分率

排出方法	人数	平均値	標準偏差	CV%
ピペッター	9	100.076	0.192	0.19
温めて出す	9	99.759	1.086	1.09
口で吹出す	2	100.365	—	—

近年は労働衛生上の観点等からピペッティングにピペッターを用いるよう指導されるが、球部を温めて排出するよう設計されたホールピペットをピペッターで操作する場合、その正確性や精度等を確認しておくことも大切と考えられた。

3 体積計の容量と試験法等への影響について

各体積計において理論容量との差が大きかったデータにおいても、理論容量との差は約 $0.02 \sim 0.04$ mL であり、

それは半滴～1滴に相当する量と思われる。平均値及びばらつきが体積計容量に対してどの程度影響するのかを検討するため、各体積計で求められた対容量百分率の範囲を表2に示した。1mLのホールピペットは理論容量が小さいため、わずかなばらつきでも分析に大きな影響を与えることが窺えた。ピペッティングの操作だけで数%の違いが出るようなことは試験検査における精度管理の上で大変重要な意味合いを持つと思われる。また、試験法を作成する際、また希釈する操作においては1mLのホールピペットの使用には十分注意が必要であることが再認識させられた。

表2 各体積計の対容量百分率の範囲

体積計容量	1mL	5mL	10mL	50mL
平均値	100.0	100.0	100.0	100.0
最大値	101.9	100.9	100.5	100.2
最小値	96.7	99.6	99.5	99.8

4 転記ミス等について

今回の精度管理実施に当たり、報告された結果に転記ミスや計算ミスと思われる事例が散見された。現在、静岡県試験検査においては食品G L Pをはじめとした業務管理が導入されているが、正確で信頼性の高い検査結果を保証するため、このような転記ミスや計算ミスをなくし、ダブルチェック体制を十分機能させることが重要であることが改めて明らかとなった。

5 室温、水温等の影響

各検査機関の測定室の温度は20.0～28.5℃、測定に用いた蒸留水の温度は20.0～28.0℃と様々であったが、今回のデータでは測定値に対して温度の影響は特に見られなかった。1つの機関では恒温室は故障のため規定の温度での測定が出来なかったが、局方の試験は原則として常温(15～25℃)で行うこと³⁾が示されており、試験室の空調故障への対応が必要と思われた。

また、別の機関では恒温室の温度及び蒸留水の温度が変化していたとの報告があったが、JIS R-3505 ガラス製体積計 10. 誤差の試験方法(1)試験の条件(1.1)試験場所において、試験は試験中の温度変化が2℃/hを超えない室内で行う旨記載²⁾されており、温度変化のない条件を予め確認しておく必要があったと考えられる。

まとめ

本年度の保健所等外部精度管理では、通常化学検査でよく使用するガラス製体積計の使用法や注意事項などを再確認することを目的に、化学検査担当者の報告した体積

の正確性や精度などについて検証した。

その結果、以下の点が明らかとなった。

- 1) 1mLホールピペットは参加者の約80%が最大のばらつきを示した。
- 2) 1mLのホールピペットのばらつきには、排出方法が大きな影響を与えていた。ホールピペットは、原則として、排出の際には球部を手で温めて行うが、1mLのホールピペットの場合には手で温めても排出できないことがあり、今回の精度管理調査においては「ピペッター」等で強制排出する方法が有効であった。
- 3) 50 mLメスフラスコは参加者の約75%が最小のばらつきを示した。
- 4) 1mLホールピペット、10mLメスフラスコでは人によりJISの体積の許容公差の範囲から外れていた。
- 5) 1mLのホールピペット、10mLのメスフラスコのばらつきは対容量に換算した場合、大きな影響を与えるため、分析法作成や希釈操作には注意が必要であることが分かった。従って、1mLのホールピペットや10mLのメスフラスコの使用は可能な限り避けるのが望ましいと思われた。
- 6) 転記ミスや計算ミスがみられたことから、試験結果の信頼性を保証するため、生データを含めた試験結果のダブルチェック体制を強化する必要性が認められた。

最後に、今回はホールピペット、メスフラスコの使用法という基本的操作法について精度管理を実施したが、1mLのホールピペットの使用法等様々な問題点が明らかとなった。今後、試験検査業務を実施するに当たり、このような問題を十分認識でき、知識の共有ができた今回の外部精度管理は大変有意義なものであった。

文 献

- 1) 土井佳代他：神奈川県内薬事担当者による共同作業結果について、第40回全国衛生化学技術協議会年会講演集、186-187 (2003)
- 2) 日本規格協会：ガラス製体積計 JIS R 3505-1994, JIS (1994)
- 3) 厚生労働省：第十四改正日本薬局方、平成13年3月30日付厚生労働省告示第111号

院内製剤の品質確保に関する研究 (第五報)

一院内製剤 0.2%塩酸ビペリデン液に関する検討一

医薬品生活部 医薬食品スタッフ

植田敦子, 上村慎子, 栗田浩幸
 小和田和宏, 石川雅章, 藤原厚子
 浮島美之

県立こころの医療センター薬剤室

櫻井和子, 青島弘幸, 酒井道雄

Study on Quality Assurance of Hospital Preparation (V)

— Investigation for 0.2% Biperiden Hydrochloride Solution of Hospital Preparation —

Atsuko UETA, Mitsuko KAMIMURA, Hiroyuki KURITA,

Kazuhiro OWADA, Masaaki ISHIKAWA, Atsuko FUJIWARA, Yoshiyuki UKISHIMA,

Kazuko SAKURAI, Hiroyuki AOSHIMA and Michio SAKAI

院内製剤 0.2%塩酸ビペリデン液の調製方法の妥当性及び安定性の検討を行った。調製日の異なる院内製剤 0.2%塩酸ビペリデン液を定量したところ、平均値は 99.2%、相対標準偏差は 1.3%と、含量、ばらつき共に良好であった。これにより調製方法の信頼性が確認でき、安定して供給できることがわかった。また、0.2%塩酸ビペリデン液及び 0.2%塩酸ビペリデン液とハロペリドール液の混合液について、種々の保存条件で安定性評価を行い、調剤室及び患者交付後のそれぞれの最適な保存条件を検討したところ、冷所保存又は遮光保存が長期保存に適していることがわかった。

Key words : 院内製剤, 品質確保, 塩酸ビペリデン液

hospital preparation, quality assurance, Biperiden hydrochloride solution

はじめに

当所では、平成 13 年度から調査研究として、県立総合病院薬剤部と共同で、「院内製剤の品質確保に関する研究」を行い、これまでに多くの知見を得てきた^{1~4)}。院内製剤は患者のさまざまな病態に対応するため、必要不可欠のものであるが^{5, 6)}、法的な位置付けが曖昧で薬事法に基づく規制の対象外で、その品質保証体制に対する課題を抱えている⁷⁾。院内製剤の品質保証体制を確立することにより、製造段階から服用まで途切れることなく、有効性及び安全性を有する医薬品を患者に提供することが可能となる⁸⁾。

今回、新たに県立こころの医療センター薬剤室(以下、薬剤室と略す。)と共同で、院内製剤 0.2%塩酸ビペリデン液の調製方法の妥当性及び安定性を検討したので、その結果を報告する。

実験方法

1 院内製剤 0.2%塩酸ビペリデン液

院内製剤 0.2%塩酸ビペリデン液は、抗精神病薬であるハロペリドール液の副作用予防のために処方される製剤である。薬剤室では市販の散剤を液剤に剤形変更して調製する。

1) 原材料

塩酸ビペリデン 1%細粒 (大日本製薬株式会社製「アキネトン細粒」)

2) 処方及び調製方法

図 1 及び図 2 に示した。

3) 保存方法

薬剤室では、調製した 0.2%塩酸ビペリデン液は遮光瓶に入れ、室温で保存し約 2 ヶ月以内に使用する。さらに、調剤時に市販の 0.2%ハロペリドール液 (大日本製薬株式会社製「セレネース液」) と混合 (混合比は患者ごとに異なるが、0.2%塩酸ビペリデン液:0.2%ハロペリドール液 = 1:1~1:2 が多い。) し、ポリプロピレン製 (以下「PP 製」) と略す。) の投薬瓶 (遮光無) に入れ患者に交付している。なお、患者には特に保存条件を指示していない。

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市葵区北安東 4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-ando, Aoi-ku, Shizuoka 420-8637, Japan)

アキネトン細粒 1%	400 g
乳酸	6mL
p-ヒドロキシ安息香酸メチル	0.50 g
注射用水	q. s
全量	2000mL

図1 0.2%塩酸ピペリデン液の処方

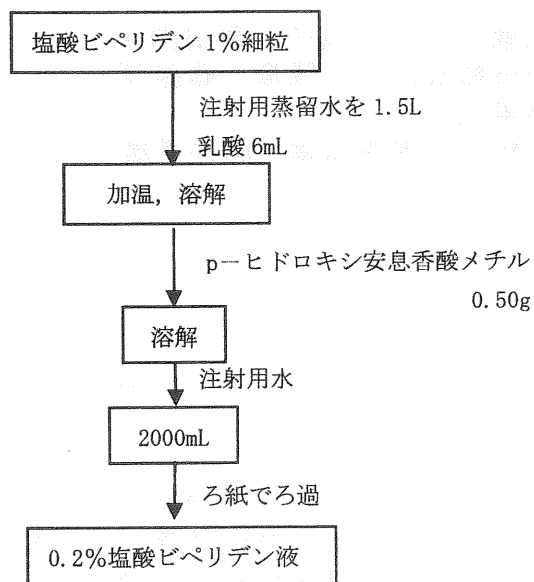


図2 0.2%塩酸ピペリデン液の調製方法

2 定量法

1) 試料溶液の調製

試料 (0.2%塩酸ピペリデン液又は 0.2%塩酸ピペリデン液と 0.2%ハロペリドール液の混合液 (以下「混合液」と略す。)) の塩酸ピペリデン 4mg に対応する量を正確に量り、内標準溶液 10mL を正確に加え、移動相で 100mL とする。これをメンブランフィルター (0.45 μm, 水系) でろ過し、試料溶液とした。

2) 標準溶液の調製

定量用塩酸ピペリデン (大日本製薬株式会社提供) 0.02 g を精密に量り、移動相で正確に 100mL とし塩酸ピペリデン標準原液とする。定量用ハロペリドール (和光特級) 0.04 g を精密に量り、移動相で正確に 100mL としハロペリドール標準原液とする。塩酸ピペリデン標準原液及びハロペリドール標準原液それぞれ 10mL を正確にとり、内標準溶液 5mL を正確に加え移動相で 50mL とし標準溶液とした。

3) 定量

次の条件で液体クロマトグラフ法により試験を行い、内標準物質のピーク面積に対する塩酸ピペリデン及びハロペリドールのピーク面積の比を測定した。

<HPLC 条件>

検出器：紫外吸光度計 (210nm)

カラム：Mightysil RP-18 4.6mm×15cm 5 μm

(関東化学(株)製)

カラム温度：30℃

移動相：0.04mol/L リン酸塩緩衝液 (pH3.0)/メタノール /アセトニトリル混液 (2:1:1)

流量：0.8ml/min

注入量：10 μL

内標準溶液：p-ヒドロキシ安息香酸イソプロピルの移動相溶液 (1→2500)

3 調製方法の妥当性の検討

平成 16 年 5 月 20 日～平成 16 年 11 月 29 日の間に図 2 に示した方法で、薬剤室において調製した 0.2%塩酸ピペリデン液 6 ロットについて定量し、塩酸ピペリデン含量の日間の変動を検討した。

4 保存条件の検討

下記の条件で塩酸ピペリデン含量及びハロペリドール含量を測定し、それぞれの安定性を評価した。

1) 検討条件

①温度 (4℃, 室温) ②遮光の有無 (遮光, 室内光, 直射日光) ③保存容器の材質 (ガラス, PP 製) ④混合液についてはその組成比

温度及び遮光の有無については、実際の保存方法を考慮し、「室温」は実験室において成り行きで保存し、「直射日光」は実験室の窓際で保存した。

2) 保存期間

平成 16 年 6 月 10 日～12 月 8 日 (6 ヶ月間)

結果及び考察

1 定量法の妥当性

前記の定量法について、その妥当性を確認した。

1) 定量法の再現性

標準溶液 (塩酸ピペリデン 0.04mg/mL, ハロペリドール 0.08mg/mL) を用い、内標準物質のピーク面積に対する塩酸ピペリデン及びハロペリドールのピーク面積の比の再現性を確認したところ、相対標準偏差はそれぞれ 0.17, 0.08% と良好な結果が得られた (表 1)。

2) 直線性

塩酸ピペリデン及びハロペリドール混合標準液 (塩酸ピペリデン 0.012～0.12mg/mL, ハロペリドール 0.024～0.24mg/mL) を用い、塩酸ピペリデン及びハロペリドールの検量線を作成したところ、両者ともほぼ原点を通り、相関係数 0.9999 の良好な直線が得られた (図 3, 図 4)。

2 調製方法の妥当性の検討結果

薬剤室で調製した 6 ロットの 0.2%塩酸ピペリデン液について定量を行った結果を表 2 に示した。

6 回の塩酸ピペリデン含量の平均値は 99.2%, 相対標準偏差は 1.32% で含量, ばらつき共に良好であった。一般的な製剤の規格である 90～110% を規格とすると、工程能力指数は 2.54 で、1.33 以上であるため十分に工程は管

理されていることがわかった。これらの結果により、普段行われている調製方法の信頼性が確認できた。

表1 内標準物質のピーク面積に対する塩酸ピペリデン及びハロペリドールのピーク面積比の再現性

	内標準物質に対するピーク面積比	
	塩酸ピペリデン	ハロペリドール
1	0.33814	1.31455
2	0.33825	1.31544
3	0.33831	1.31666
4	0.33686	1.31728
5	0.33824	1.31701
6	0.33846	1.31633
平均	0.33804	1.31621
相対標準偏差	0.17%	0.08%

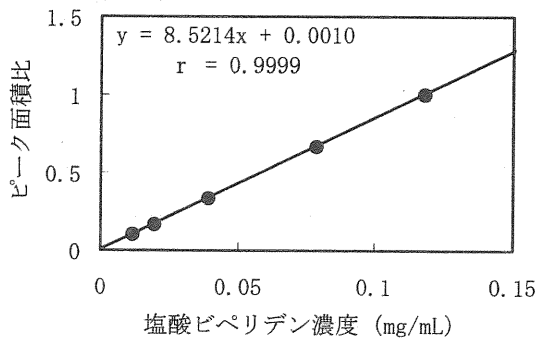


図3 塩酸ピペリデン直線性

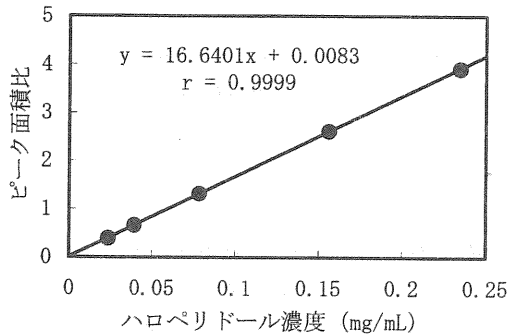


図4 ハロペリドール直線性

3 保存条件の検討

(1) 0.2%塩酸ピペリデン液

0.2%塩酸ピペリデン液について各種保存条件下における182日後の含量を表3に、経時変化を図5に示した。

① 温度

ガラス製及びPP製いずれも室温に比べ冷所保存の方が安定であった。また調剤室での保存を、室温から冷蔵に変えることでより安定性が高まるという結果が得られた。

② 遮光

室温遮光無のNo.5, No.6では、塩酸ピペリデン含量

表2 0.2%塩酸ピペリデン液の定量結果

調製月日	対表示量(%)
5月20日	97.2
6月10日	99.7
7月5日	99.2
8月16日	99.5
10月6日	101.1
11月29日	98.4
平均(%)	99.2
標準偏差	1.31
相対標準偏差(%)	1.32

はそれぞれ約2ヵ月後の57日後に88.8%, 87.8%と90%を下回る結果となり、実験終了の182日後で約80%であった。

さらに室温直射日光のNo.7では、31日後で31.9%, 57日後に3.3%と大きく減少した。これらの結果から、遮光保存の必要性が明らかになった。

③ 容器の材質

保存容器の材質(ガラス製とPP製)による安定性の違いは認められなかった。

また、現行の保存条件のNo.3の室温遮光保存では、塩酸ピペリデン含量は92日後において97.1%, 実験終了の182日後で92.4%であり、使用期間が約2ヶ月以内であることを考えると現在の保存条件で十分に対応できることがわかった。

(2) 混合液

混合液について各種保存条件下における182日後の含量を表4及び経時変化を図6に示した。混合液については現行の投薬瓶であるPP製の容器を使用して検討した。

1) ピペリデン含量

① 温度

いずれの混合比でも室温保存に比べて冷所保存の方が安定で、冷所で保存が必要である。

② 遮光

いずれの混合比でも遮光無に比べて遮光有の方が安定で遮光が必要である。

③ 混合比

混合液の組成比による安定性の違いは認められなかった。

また、患者交付後の現行の保存条件であるNo.10, No.13, No.16において、塩酸ピペリデン含量は31日後ではいずれも約100%, 57日後で93.3%, 94.0%, 93.1%, 92日後で93.1%, 94.9%, 93.0%であったが、119日後では87.2%, 87.5%, 86.3%と90%を下回った。

また、混合液(1:1)を室温遮光で保存したNo.9では、塩酸ピペリデン含量は実験終了の182日後で95.6%であり、4℃遮光で保存したNo.10では実験終了の182日後で98.0%であった。本薬剤の患者への交付は、60日処方や90日処方という長い期間の処方もあり、その

場合には冷所保存や遮光保存が望ましいと考えられた。

2) ハロペリドールの含量

全ての条件において、実験終了の 182 日後まで対表示量約 100%であり、良好な安定性を示した。

表 3 0.2%塩酸ピペリデン液の保存条件及び 182 日後の塩酸ピペリデン含量

No	保存条件			182 日後の含量 対表示量 (%)
	温度	遮光	保存容器 の材質	
1	4℃	有	ガラス製	98.9
2	4℃	有	PP 製	97.6
3	室温	有	ガラス製	92.4
4	室温	有	PP 製	92.3
5	室温	無(室内光)	PP 製	78.9
6	室温	無(室内光)	ガラス製	81.3
7	室温	無(直射日光)	PP 製	-

表 4 混合液の保存条件及び 182 日後の塩酸ピペリデン及びハロペリドール含量

No	保存条件			182 日後の含量 対表示量 (%)		
	温度	遮光	保存容器 の材質	混合比	塩酸 ピペリデン	ハロペリドール
8	4℃	有	PP 製		98.0	100.5
9	室温	有	PP 製	1 : 1	95.6	100.4
10	室温	無*	PP 製		87.0	100.3
11	4℃	有	PP 製		98.1	99.7
12	室温	有	PP 製	1 : 2	95.9	100.0
13	室温	無*	PP 製		87.0	99.4
14	4℃	有	PP 製		96.8	98.6
15	室温	有	PP 製	1 : 4	96.3	99.9
16	室温	無*	PP 製		85.3	99.0

* 遮光無についてはいずれも室内光

まとめ

今回、院内製剤 0.2%塩酸ピペリデン液について調製に係る再現性及び安定性を検討したところ、薬剤室において、0.2%塩酸ピペリデン液は再現性良く調製されていることが確認できた。また、塩酸ピペリデン液の安定性についての検討では、調剤室での保存は現行の保存条件(室温遮光)で十分に対応できるが、冷所保存に替えることでより安定性が高まると考えられた。

さらに、0.2%塩酸ピペリデン液と 0.2%ハロペリドール液の混合液は患者交付後、現行の室温遮光無でも対応できるが、長期間保存する際には遮光又は冷所保存が望ましいことがわかった。今回の検討結果により、薬剤室においては、投薬瓶に「光を避けて保存」のラベルを貼り患者に交付するよう変更がなされた。

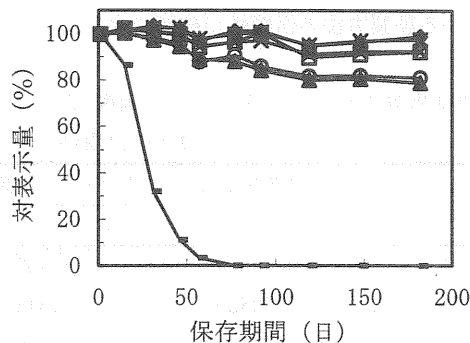


図 5 0.2%塩酸ピペリデン液の安定性

● No. 1 4℃遮光 (ガラス製) ■ No. 2 4℃遮光 (PP製)
 × No. 3 室温遮光 (ガラス製) □ No. 4 室温遮光 (PP製)
 ▲ No. 5 室温遮光無 (PP製) ○ No. 6 室温遮光無 (ガラス製)
 — No. 7 室温直射日光 (PP製)

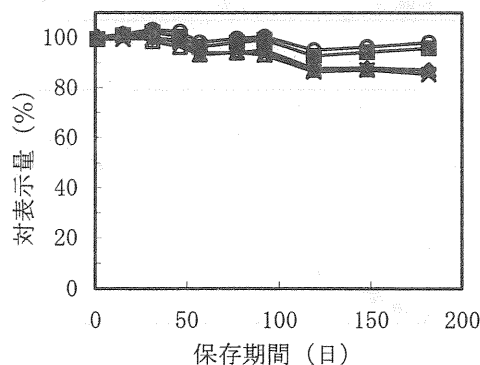


図 6 混合液中の塩酸ピペリデンの安定性

○ No. 8 4℃遮光 (1:1) ■ No. 9 室温遮光 (1:1)
 ▲ No. 10 室温遮光無 (1:1) ◆ No. 13 室温遮光無 (1:2)
 × No. 16 室温遮光無 (1:4)

今回、得られた知見を院内製剤の品質保証システムの確立に役立てていくとともに、他病院等でも院内製剤の品質確保に対する関心がますます高まることを期待する。

文 献

- 1) 植田敦子他：院内製剤の品質確保に関する研究(第一報)－院内製剤ジゴキシン散についての検討－，静岡県環境衛生科学研究所報告，44，35-38 (2001)
- 2) 堀池あずさ他：院内製剤の品質確保に関する研究(第二報)－ワーファリン散予製剤の含量均一性評価－，静岡県環境衛生科学研究所報告，44，39-44 (2001)
- 3) 植田敦子他：院内製剤の品質確保に関する研究(第三報)－院内製剤β-カロチン散の安定性評価－，静岡県環境衛生科学研究所報告，45，31-34 (2002)
- 4) 栗田浩幸他：院内製剤の品質確保に関する研究(第四報)－高カロリー輸液・電解質輸液混合製剤の安定性評価－，静岡県環境衛生科学研究所報告，45，35-40 (2002)
- 5) 松原 肇他：これからの院内製剤のあり方，月刊薬事，37(10)，2179-2186 (1995)

- 6) 郡 修徳他：院内製剤の必要性と現況, 月刊薬事,
37(10), 2135-2140 (1995)
- 7) 後藤伸之他：院内製剤の役割と問題点, ファルマシ
ア, 40(9), 827-831 (2004)
- 8) 徳村忠一：医薬品の安定性と院内製剤, PHARM TECH
JAPAN, 16(5), 769-775 (2000)

... ..
... ..
... ..
... ..
... ..

野菜加工食品等に含まれるカロテノイドの実態調査

— β -カロテン, リコペン —

医薬品生活部 生活科学スタッフ 鈴木由利子, 望月大介, 菅野尚子

浮島美之

Survey of Carotenoids in Vegetable Processed Foods

— β -Carotene, Lycopene —

Yuriko SUZUKI, Daisuke MOCHIZUKI, Naoko KANNO and Yoshiyuki UKISHIMA

近年、緑黄野菜中の β -カロテン以外のカロテノイド類にも抗酸化作用、発ガン抑制作用等の作用があると医学研究者の間で大きく注目されるようになってきた。そこで、トマト加工品、野菜冷凍食品等の野菜加工食品中の β -カロテン、リコペンについて含有量を測定した。その結果、トマト加工品等は生のトマトより多くのリコペン及び β -カロテンを含有しているものが多く、また、野菜冷凍食品中には生の野菜と同じくらい β -カロテンを含んでいることがわかった。これらの加工食品は調理が簡単で便利な食品であり、これらの野菜加工品を使った日常の食生活からカロテノイドを多く摂れると考えられた。

Key words : カロテノイド, β -カロテン, リコペン
carotenoid, β -carotene, lycopene

はじめに

食品には、これまで一般に2つの機能があると考えられてきた。第1の機能は生命の維持のための栄養機能、第2の機能はおいしさを感じさせる感覚機能である。最近、この他に高次の生命活動に対する調節機能、具体的には高血圧、糖尿病予防機能等があることがわかってきた。この第3の機能を有する食品は機能性食品といわれている¹⁾。この第3の機能の中で、抗酸化作用、発がん抑制作用等の機能²⁾を期待されているカロテノイドを含む栄養補助食品及び野菜ジュース等について前報³⁾で報告した。また、NIC(米国国立癌研究所)は、毎日6mgの β -

カロテンを野菜から摂取できるように推奨している。

今回、野菜加工食品のうちトマト加工品⁴⁾や野菜冷凍食品⁵⁾等のリコペンと β -カロテンの含有量を測定し、これらの測定値とJAS規格・含有量表示等の関係についても考察したので、その結果を報告する。

調査方法

1 実施時期

平成16年6月~10月

2 検体

トマト加工品等: 18検体

生トマト: 5検体

野菜冷凍食品: 7検体

レトルトパウチ食品: 1検体

缶詰: 1検体

香辛料: 3検体

生野菜: 3検体

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市葵区北安東4-27-2).

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-ando, Aoi-ku, Shizuoka 420-8637, Japan)

3 調査項目及び方法

1) β -カロテン及びリコペンの測定

分析は厚生省生活衛生局食品保健課新開発食品保健対策室長通知「栄養表示基準の導入に伴う栄養成分等の分析法等について」⁶⁾に準拠した。

HPLC 条件

検出器: フォトダイオードアレイ検出器

カラム: Mightysil RP-18(L)GP 4.6mm×15cm, 5 μ m

カラム温度: 25°C

移動相: アセトニトリル/メタノール/テトラヒドロフラン (55:40:5v/v) (α -トコフェロールを 50 μ g/ml 含む)

流量: 1.2ml/min

2) 糖度の測定

デジタル糖度計 (atago 社製) を用いて測定した。

3) 可溶性固形分の測定

JAS 法⁷⁾に準拠した。

4) 固形量の測定

JAS 法に⁷⁾準拠した。

5) 表示

検体の中には β -カロテンやリコペンの含有量が表示されているものがあり、これらの表示量と測定値とを比較した。また、JAS の品質表示基準とも比較した。

結果及び考察

1 トマト加工品等のリコペンと β -カロテンの含有量

表 1 に示したように、トマト加工品等にはリコペンと β -カロテンが多く含まれており、 β -カロテンよりリコペンのほうが多く含まれていることがわかった。JAS 規格では No. 1~13 のトマト加工品の原料トマトは、トマトの品種と使用するときの色が規定され、「トマトの赤色は赤色のリコペン、黄色のカロテンによるカロテノイド色素であり、特にリコペンの支配を強く受ける」と記載されている⁷⁾。No. 1~6 は、トマトだけを原料としており、No. 7~13 はその他の野菜も原材料として使われていた。リコペン含有量は、JAS 規格のある No. 1~13 は特に高く、No. 14~17 は JAS 規格はないが、JAS 規格で規定されている品種の加工用トマトを使用し⁷⁾、そのリコペン含有量はトマトの使用量に拠っていると考えられた。

また、JAS 規格のない生で販売されているトマト No. 19 (加工用トマト) 及び No. 20~23 (生食用) は、規格のある加工用トマトを使用した No. 1~No. 4 に比べてリコペンの含有量はどれも少なかった。生食用として販売されている大玉トマト No. 20 は「ピンクトマト」といわれ、従来の「赤いトマト」ではないといわれている⁸⁾。

また、中玉及びミニトマト(赤)は、外観は赤く見えても

リコペン含有量は多くはなかった。ミニトマト(黄)はリコペンが特に少なかった。一般にカロテノイドは光や熱により分解しやすいとされているが、JAS 規格に「高度の製造技術によって原料トマトの赤色を失わないように製造されている」と記載されている⁷⁾ことから、熱加工されたトマト加工品でも β -カロテンやリコペンを失わないように製造され、多く含有していたと考えられた。

生食用の甘いトマトの糖度とカロテノイドの関係について検討するために糖度を測定した。表 2 に示したように、生食用のトマトではミニトマトが特に糖度が高く、生で食べたときにおいしく感じるように品種改良されたものであり、赤く見えてもカロテノイドは多くはなかった。

表1 トマト加工品等の測定結果

No	品 名	β -カロテン (μ g/100g)	リコペン (mg/100g)
1	トマト・ジュースづけ 1	538	11.3
2	トマト・ジュースづけ 2	592	12.6
3	トマト・ジュースづけ 3	450	10.7
4	トマト・ピューレーづけ	444	10.4
5	トマトペースト	1225	46.4
6	トマトピューレー	634	21.7
7	トマトケチャップ 1	737	23.2
8	トマトケチャップ 2	610	20.9
9	トマトケチャップ 3	517	20.8
10	トマトケチャップ 4	579	21.9
11	トマトソース	553	19.8
12	トマトソース	476	21.2
13	チリソース	765	18.6
14	トマトミックスソース 1	830	15.9
15	トマトミックスソース 2	478	1.5
16	パスタソース	724	10.1
17	トマトスープ	324	6.3
18	乾燥トマト	605	7.0
19	イタリアントマト(生)	398	6.3
20	生食用トマト(桃太郎)	416	5.8
21	生食用中玉トマト(赤)	657	4.8
22	生食用ミニトマト(赤)	731	3.4
23	生食用ミニトマト(黄)	461	0.1

表 2 生食用トマトの糖度

No.	品名	糖度 (%)
20	生食用トマト (桃太郎)	5.7
21	生食用中玉トマト (赤)	6.3
22	生食用ミニトマト (赤)	7.4
23	生食用ミニトマト (黄)	7.5

2 野菜冷凍食品の β -カロテン

野菜冷凍食品の測定結果を表 3 に示した。ほうれん草とかぼちゃに β -カロテンが多く含まれており、トウモロコシの β -カロテン含有量は少なかった。なお、にんじんの分析で、 α -カロテンを β -カロテンとほぼ同等の面積で確認できた。にんじんには α -カロテンが多く含まれていることもわかった。にんじん以外のものには、ほとんど α -カロテンが含まれていなかった。

また、野菜冷凍食品は季節に関係なく 1 年中手に入り、生鮮野菜が手に入らない時には、これらの野菜冷凍食品から β -カロテンの摂取ができると考えられた。

表 3 野菜冷凍食品の測定結果

No.	品名	β -カロテン ($\mu\text{g}/100\text{g}$)
1	かぼちゃ	4032
2	ミックスベジタブル	494
2-1	* にんじん	1541
2-2	* グリンピース	395
2-3	* トウモロコシ	73
3	ブロッコリー	591
4	アスパラガス	362
5	ほうれん草	5116
6	さやいんげん	476
7	マンゴー	556

* ミックスベジタブルの個々の野菜

3 その他の野菜加工品の β -カロテン

その他の食品として、かぼちゃを使用した加工食品とカロテンに富むといわれるイタリア料理の食材を選んで β -カロテン含有量を測定し、その結果を表 4 に示した。かぼちゃ使用加工食品は、 β -カロテン含有量が多くトマト加工品と同じように β -カロテンを失わないように製造されていると考えられた。また、イタリアン料理によく使われる香辛料やピーマン等の食材にも β -カロテンの含有量が多かった。

最近店頭でよく見かけるカラーピーマンについては、一般によく食べられている緑のピーマンに比べて、赤やオレンジのピーマンのほうがより多くの β -カロテンを

表 4 その他の食品の測定結果

No.	品名	β -カロテン ($\mu\text{g}/100\text{g}$)
1	かぼちゃスープ (レトルト)	2936
2	かぼちゃペースト	3406
3	パプリカ (乾燥香辛料)	7213
4	オレガノ (乾燥香辛料)	1453
5	バジル (乾燥香辛料)	4907
6	ピーマン緑 (生)	183
7	ピーマン赤 (生)	1117
8	ピーマンオレンジ (生)	1257

含有していた。緑色のピーマンは未熟のピーマンであり、成熟によって緑色のクロロフィルが分解され、オレンジ色の β -カロテンが生成される⁹⁾。そのために成熟した赤やオレンジ色のピーマンのほうが緑色のピーマンよりカロテノイドが多いと考えられた。乾燥香辛料のパプリカは、成熟した赤色ピーマンの一種を乾燥して粉末化したものであり、同様に β -カロテンが多いものと考えられた。

カロテノイドは、単独の摂取より野菜成分とともに油で加熱調理して食べたほうがカロテノイドの吸収効率が良いと報告されており^{10,11)}、油で調理して食べる β -カロテンを豊富に含むイタリアン料理は、効率よく β -カロテンが摂取できると考えられる。

4 リコペンと β -カロテンの表示と含有量

表 1 に示したトマト加工品の No. 5, 6, 11 はリコペン含有量の表示があり、100g あたり 44, 20, 19mg と表示されており、測定結果は、46.4, 21.7, 19.8mg/100g であったので、3 つとも表示量を充たしていた。No. 7 は「大さじ 2 杯で 1 個分のトマトのリコペンが含まれています」と表示されており、具体的な数字の表示がなかった。また、表 4 に示したかぼちゃスープにも β -カロテンの表示があり、1 食 125g (本品 1/2 袋) 当り 850 μg と記載されており、表示量は実際の測定値より少なかった。

5 トマト加工品・野菜冷凍食品と JAS 規格との関係

1) トマト加工品

表 5 に示したように、可溶性固形分は主に旨みと関係の深い糖分やアミノ酸及び有機酸などで、JAS 規格で品目ごとにその量が規定されているが、どの加工品も規格を充たしていた。また、表 6 に示したように、トマト・トマトジュースづけ、トマト・ピューレーづけの製品で、

トマトに水を加えていないことを示す固形量の表示のある No. 1~4 についても表示量を充たしていた。

トマトケチャップは特級と標準の規格があり表1のとおり、No. 7~9の特級のトマトケチャップとNo. 10の標準品ではリコペンとβ-カロテンの含有量に差はなかった。

表5 トマト加工品の可溶性固形分

No.	品名	可溶性 形分 (%)	可溶性固形分 の JAS 規格 (%)
5	トマトペースト	26.5	24 以上
6	トマトピューレー	10.3	8~24
7	トマトケチャップ特級 1	32.5	30 以上
8	トマトケチャップ特級 2	31.1	30 以上
9	トマトケチャップ特級 3	31.9	30 以上
10	トマトケチャップ標準 1	32.1	25 以上
11	トマトソース	13.3	9 以上 25 未満
12	トマトソース	14.7	9 以上 25 未満
13	チリソース	30.0	30 以上

表6 トマト加工品の固形量と表示固形量の表示

No.	品名	固形量 (g)	表示固形量 (g)
1	トマト・ジュースづけ 1	247.0	240
2	トマト・ジュースづけ 2	299.0	240
3	トマト・ジュースづけ 3	242.2	240
4	トマト・ピューレーづけ	300.5	300

2) 野菜冷凍食品

表3の野菜冷凍食品は、変色等の変質を防ぐためにブランチング（軽く湯通し）が規定されている。今回調査した7検体すべてに「冷凍前加熱なし」と表示されていたが、生の野菜ではなかった。

まとめ

今回、野菜加工品としてトマト加工品と野菜冷凍食品等を選んでリコペンとβ-カロテンの含有量を測定し、測定値とJAS規格・含有量表示等の関係について考察して次のことがわかった。

- 1 トマト加工品の中でもJAS規格のあるものは、原材料も細かく規定されており、リコペンとβ-カロテンの含有量が多かった。規格のないトマト加工品は、リコペンとβ-カロテンの含有量は必ずしも多くなかった。
- 2 生食用のトマトは、β-カロテンやリコペンの含有量はあまり多くなかった。赤く見えるミニトマトでもリコ

ペン含有量は多くなかった。

- 3 トマト加工品のリコペン含有量表示は、リコペン摂取量の目安になる。
- 4 野菜冷凍食品のβ-カロテン含有量は、ほうれん草とかぼちゃに多く含まれており、にんじんにはα-カロテンも含まれていた。
- 5 イタリアン料理の食材にβ-カロテンが豊富に含まれているものも多く、油で調理して食べるため効率よく摂取できると考えられた。
- 6 リコペンやβ-カロテンが含まれているトマト加工品や野菜冷凍食品は一年中手に入り、生野菜だけでなく、これらの食材からもリコペンやβ-カロテンの摂取ができる。

文 献

- 1) 須見洋行：食品機能学への招待，三共出版
- 2) Joseph Levy and Yoav Sharoni：トマトのリコペンの機能と人の健康に果す役割，F.F.I.，210(1)，49-58 (2005)
- 3) 越智壽美子他：栄養補助食品等に含まれるカロテノイドの実態調査，静岡県環境衛生研究所報告，46，49-52 (2003)
- 4) トマト加工品品質表示基準，平成12年12月19日，農林水産省告示第1632号
- 5) 野菜冷凍食品品質表示基準，平成14年8月19日，農林水産省告示第1358号
- 6) 厚生省生活衛生局食品保健課通知：栄養表示基準の導入に伴う栄養成分等の分析方法等について，平成8年5月23日，衛新第7号
- 7) トマト加工品の日本農林規格，昭和54年10月11日，農林水産省告示第1419号
- 8) 石黒幸雄他：続野菜の色には理由がある，毎日新聞社
- 9) 石黒幸雄他：野菜の色には理由がある，毎日新聞社
- 10) W. Stahl and H. Sies：Uptake of lycopene and its geometrical isomer is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice in humans，J. Nutr.，122(9)，2161-2166 (1992)
- 11) V. Bohm and R. Bitsch：Intestinal absorption of Lycopene from different matrices and interactions to other carotenoids, the lipid status, and the antioxidant capacity of human plasma, Eur. J. Nutr.，38(3)，118-125 (1999)

カテキンを増量した緑茶飲料に関する調査研究

—その1 カテキン含有量の特性—

医薬品生活部 生活科学スタッフ

菅野尚子, 望月大介, 鈴木由利子

浮島美之

Investigation Research on the Green Tea Beverages
which increased the Quantity of Catechins
— The Characteristic of Catechins Contents —

Naoko KANNO, Daisuke MOCHIZUKI, Yuriko SUZUKI and Yoshiyuki UKISHIMA

カテキンを増量した緑茶飲料のカテキン組成及び保管によるカテキン含有量の変化を調査した。カテキンが増量された旨の表示がある緑茶飲料の中で、増量表示のない緑茶飲料より総カテキン量が明らかに低いものが2銘柄あった。また、製造工程における加熱殺菌によって、緑茶飲料中のカテキン類の約半量は主要カテキンのエピ体に変化していた。賞味期限内及び未開栓の状態で、ペットボトル等の容器入り緑茶飲料を数ヶ月間保管する場合は、常温でもカテキン類の品質低下を招くことはないが、可能であれば暗所に置くことが望ましいと考えられた。

Key words: カテキン, 緑茶抽出物, エピメリ化, 加熱殺菌

catechins, green tea extract, epimerization, heating sterilization

はじめに

厚生労働省からカテキンに関する特定保健用食品の許可を受けた緑茶飲料が発売されて以来、カテキンを増量したという同種の緑茶飲料が複数市販されており、生理機能成分としてのカテキンはますます注目を集めている。本報では主要カテキン及びそのエピ体計8成分の含有量及び組成を調査し、緑茶飲料におけるカテキン類の特性を明らかにするとともに、保管中においてカテキン類の含有量に変化がみられないかを確認した。

調査対象および方法

1 調査対象

静岡市内で市販されている、容器入り緑茶飲料 17 銘柄を対象とし、保管試験においては紙パック入りを除く

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市葵区北安東 4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-ando, Aoi-ku, Shizuoka, 420-8637, Japan)

16 銘柄を使用した。各銘柄の内訳を表 1 に示した。表 1 中、「増量」とはカテキンが増量された旨が表示されている銘柄のことで、「増量なし」とはその表示のない銘柄のことである。

2 方法

1) カテキン類の含有量

末松ら¹⁾の方法に従い、水とアセトニトリルの等量混合液を用いて緑茶飲料からカテキン類を抽出し、坂井らの方法²⁾により HPLC で同時分離定量を行った。調査したカテキン類は、エピガロカテキン (EGC), エピカ

表 1 調査対象

	増 量 (銘柄数)	増量なし (銘柄数)
ペットボトル入り	9	6
缶 入 り	1	0
紙パック入り	1	0
含有量調査	11	6
保管試験	10	6

テキン (EC), エピガロカテキンガレート (EGCg), エピカテキンガレート (ECg) の主要カテキン類, 及びそのエピ体 (ガロカテキン (GC), カテキン (C), ガロカテキンガレート (GCg), カテキンガレート (Cg)) の計 8 成分である。なお, 本法によりカフェインも同時定量した。

HPLC 条件

カラム: Mightysil RP-18 GP Aqua (150mm×4.6mm, 関東化学(株)製), 移動相: A 液 (アセトニトリル/水/

りん酸=10/400/0.2) 及び B 液 (メタノール/アセトニトリル/水/りん酸=200/10/400/0.2) のグラジエント [試料注入時 (A100%, B0%), 3 分後 (A90%, B10%), 25 分後 (A0%, B100%), 25~26 分 (A0%, B100%を維持), 35 分後 (A100%, B0%), 35~40 分 (A100%, B0%を維持)], カラム温度: 40℃, 流量: 1ml/min, 検出: UV (波長 230nm), 試料注入量: 10μ

2) 保管中のカテキン含有量の変化

表 2 各カテキンの含有量 (単位: μg/ml)

	増 量 ^{注)}		増 量 な し ^{注)}	
GC	173.4±113.9	78.5~399.9	108.7±14.3	90.1~133.0
EGC	139.3±104.4	38.6~329.4	66.7±12.2	52.3~84.2
C	63.2±47.2	27.2~176.3	36.8±5.3	30.9~42.9
EGCg	144.0±90.5	8.4~309.2	74.7±3.5	71.4~80.4
EC	54.6±38.9	18.0~123.0	24.6±5.5	19.0~33.8
GCg	129.5±91.9	0.0~333.3	76.4±5.6	70.2~85.3
ECg	37.5±27.6	0.0~93.5	15.3±1.8	13.2~18.7
Cg	31.0±23.6	0.0~74.9	17.1±2.3	14.3~20.3
総カテキン量	772.5±389.5	326.6~1517.0	420.5±39.7	364.8~479.5

注) 値は, 左欄が平均値±標準偏差, 右欄が最小値~最大値

表 3 各カテキンの含有割合 (単位: 重量%)

	増 量 ^{注)}		増 量 な し ^{注)}	
GC	22.5±8.6	11.5~43.7	25.8±1.2	24.7~27.7
EGC	17.0±7.4	5.7~32.3	15.8±1.8	13.9~18.8
C	8.1±4.0	4.0~19.3	8.7±0.8	7.7~10.1
EGCg	19.0±6.7	0.9~25.3	17.9±1.0	16.8~19.6
EC	6.7±2.4	3.0~10.6	5.8±0.9	5.1~7.6
GCg	17.8±8.8	0.0~32.7	18.3±2.0	15.7~20.9
ECg	4.8±2.2	0.0~9.1	3.6±0.1	3.5~3.9
Cg	4.3±2.6	0.0~10.4	4.1±0.5	3.2~4.8

注) 値は, 左欄が平均値±標準偏差, 右欄が最小値~最大値

表 4 カテキンが増量された銘柄における各カテキンの含有割合 (単位: 重量%)

	添 加 ^{注)}		添加なし ^{注)}	
GC	18.5±6.0	11.5~27.7	27.2±9.4	20.0~43.7
EGC	16.5±9.2	5.7~32.3	17.5±5.5	12.4~25.6
C	6.5±1.7	4.0~8.4	10.1±5.2	7.0~19.3
EGCg	21.7±3.5	16.6~25.3	10.8±8.6	0.9~22.5
EC	6.3±2.5	3.0~10.2	7.1±2.6	5.1~10.6
GCg	19.8±8.7	7.4~32.7	15.3±9.3	0.0~23.1
ECg	5.8±1.8	3.5~9.1	3.5±2.0	0.0~5.0
Cg	5.0±3.0	1.5~10.4	3.4±2.0	0.0~4.9

注) 値は, 左欄が平均値±標準偏差, 右欄が最小値~最大値

表5 ペットボトル入り銘柄の分類別カテキンの割合 (※単位: 重量%)

	平均値±標準偏差*	変動係数	最小値～最大値**
ピロガロール基を持つ 主要カテキン (EGC+EGCg)	34.2±2.3	6.7	29.3～38.9
ピロガロール基を持つカテキン (EGC+GC+EGCg+GCg)	77.1±1.5	2.0	73.5～79.2
主要カテキンのエピ体 (GC+C+GCg+Cg)	55.4±3.4	6.2	47.9～59.1

未開栓及び賞味期限内である同一製造番号の緑茶飲料を、下記ア～ウの3つの条件下で一定期間保管した後のカテキン含有量を比較した。なお、含有量の測定は上記1)の方法によった。

① 保管条件

- ア 冷蔵庫内 (2°C) に保管
- イ 室温で遮光容器内に保管 (遮光室内保管)
- ウ 室温 (日中は日が差し込む) に放置 (日光室内保管)

② 保管期間

2004年10月19日～2005年1月20日 (3ヶ月間)

結 果

1 カテキン類の含有量

緑茶のカテキン類は、いくつかのポリフェノール化合物の総称で、エピガロカテキン (EGC)、エピカテキン (EC)、エピガロカテキンガラート (EGCg)、エピカテキンガラート (ECg) の4種が主に含まれ (主要カテキン類)、これら主要カテキン類のエピ体であるガロカテキン (GC)、カテキン (C)、ガロカテキンガラート (GCg)、カテキンガラート (Cg) も少量含まれる。表2に、「増量」群 (11銘柄) と「増量なし」群 (6銘柄) に分けて比較した結果を示した。それによると、茶葉浸出液自体は主要カテキン類がほとんどである³⁾のに対し、緑茶飲料にはGC及びGCgをはじめとする主要カテキン類のエピ体がかなりの量含まれていた。また、「増量」群は「増量なし」群に比べ、平均値について8成分すべて高いものの銘柄差も大きく、例えば8成分を合計した「総カテキン量」については、「増量なし」の平均値 420 µg/ml を満たしていない「増量」群が2銘柄あった。これら2銘柄はカテキン含有量の表示がないものの、カテキンが豊富に含まれているかのような認識を消費者に与える恐れがあると考えられた。なお、表示のある銘柄のカテキン量は、表示値のほぼ許容範囲内であった。

また、表3に総カテキン量に対する各カテキン類の

含有割合を示した。全銘柄に共通してピロガロール基を有するGC、EGC、EGCg、GCgの含有割合が高く、中でもGCの割合が最も高いものは12銘柄あったが「増量」群は標準偏差 (ばらつき) が大きく、組成パターンが銘柄間で大きく異なることが推察された。なお、カテキン増量のタイプとしては、緑茶抽出物等を添加したもの (「添加」群, 6銘柄) と茶葉のみで増量したもの (「添加なし」群, 5銘柄) に分けられるので、さらにこれら2つの群の組成比を比較した (表4)。「添加」群は「添加なし」群に比べ平均値でGC及びCの割合が低くEGCg及びECgの割合が高いものの銘柄差も大きいため、今回の調査ではカテキン組成において2つの群の間に明確な違いがあるとはいえなかった。

さらに、ペットボトル入りの銘柄 (15銘柄) における、ピロガロール基を有するカテキン類及び主要カテキンのエピ体の割合をそれぞれ表5に示した。ピロガロール基を有するカテキンは、主要カテキン (EGC及びEGCg) が約34%、エピ体も含めると (EGC、EGCg、GC及びGCg) 約77%であり、各銘柄間でほぼ一定であった。また、主要カテキンのエピ体は約55%と全体の半分以上を占めていた^{3,4)}。このことから、製造工程における加熱殺菌によって緑茶飲料中のカテキンの約半量はエピ体に変化すると考えられ、エピメリ化を考慮するとピロガロール基を有するカテキンは8割弱であり、ピロガロール基を持つ主要カテキンの割合がすべての茶種及びクラスを通して一定であるという後藤らの報告⁵⁾と一致していた。なお、主要カテキンのエピ体の生理機能性についてはまだ研究が着手された段階であるので、今後の解明に期待したい。

ペットボトル入り以外の銘柄については、紙パック入り (1銘柄) のエピ体の割合が27%、缶入り (1銘柄) が63%であった。この違いは紙パック入りの賞味期限が製造後2週間、缶入りが製造後1年間であることから、加熱殺菌の度合い (温度及び時間) の差によるものと推察された⁶⁾。

2 保管中のカテキン含有量の変化

表 6 各保管条件下におけるカテキン類の濃度比 (冷蔵庫内保管を 1 とする)

	遮光室内保管 ^{注)}	日光室内保管 ^{注)}
GC	1.00±0.02	0.98±0.04
EGC	0.99±0.03	0.98±0.03
C	1.00±0.03	0.97±0.03
EGCg	1.03±0.05	0.97±0.05
EC	1.03±0.04	0.96±0.07
GCg	1.01±0.03	0.95±0.06
ECg	1.07±0.05	1.01±0.07
Cg	1.14±0.06	1.03±0.07
総カテキン量	1.01±0.02	0.98±0.04

注) 値は、平均値±標準偏差

3 ヶ月経過後の冷蔵庫内、遮光室内、日光室内の各保管条件下におけるカテキン類の含有量を表 6 に示した。

3 ヶ月間の保管下において、日光室内では ECg 及び Cg を除くカテキンに若干減少する傾向がみられたものの、各カテキン含有量はほとんど差がみられず、かつ銘柄間のばらつきも小さかった。

また、保管試験における、ピロガロール基を有するカテキン類及び主要カテキンのエピ体の割合をそれぞれ表 7 に示した。保管条件が異なっても、ピロガロール基を有するカテキンは主要カテキン (EGC 及び EGCg) が約 34%、エピ体も含める (EGC, EGCg, GC 及び GCg) と約 76~77%、また、主要カテキンのエピ体は約 56%であり、銘柄間の差も少なくほぼ一定であった。このことから、未開栓及び賞味期限内で数ヶ月の保管では、冷蔵庫、遮光室内、日光室内のいずれの条件下においてもエピメリ化によるカテキン組成の変化はほとんど起こらないと考えられた。

今回の調査では秋から冬にかけての試験であり、真夏の保管ではこれと多少異なることも予想されるが、賞味期限内及び未開栓で 3 ヶ月の保管期間では、カテキン類についての品質の低下はほとんどみられないことがわかった。このことから、ペットボトル等の容器入り緑茶飲

料の保管は常温で十分であるが、可能であれば暗所に置くことが好ましいと考えられた。

まとめ

静岡市内で市販されている容器入り緑茶飲料 17 銘柄を対象に、カテキン組成及び保管によるカテキン含有量の変化を調査したところ、以下のことが明らかとなった。

- 1 カテキンが増量された旨の表示がある緑茶飲料は、増量表示のないものに比べ、平均して各カテキンの含有量が高いものの銘柄差も大きく、総カテキン量が増量表示のない緑茶飲料より明らかに低いものが 2 銘柄あった。カテキンは、健康増進法の栄養表示基準における指定栄養成分⁷⁾ではなく、増量した旨の表示は強調表示にはあたらないが、これら 2 銘柄は「カテキンが豊富に含まれている」という実際とは異なる認識を消費者に与える恐れがあるため、明瞭な表示に改善することが望まれた。
- 2 各カテキンの含有割合については共通して GC, EGC, EGCg, GCg が高く、中でも GC の割合が最も高い銘柄は 12 銘柄あった。なお、今回の調査ではカテキン組成において、茶葉のみによる増量タイプと緑茶抽出物等の添加による増量タイプとの間に、明確な違いはみられなかった。
- 3 主要カテキンが殆どである急須の緑茶と異なり、容器入り緑茶飲料は、製造工程における加熱殺菌によってカテキン類の約半量が主要カテキンのエピ体に変化していた。またエピメリ化を考慮すると、ピロガロール基を有するカテキン (EGC, EGCg, GC 及び GCg) の割合は 8 割弱でほぼ一定であった。
- 4 賞味期限内及び未開栓の状態、ペットボトル等の容器入り緑茶飲料を数ヶ月間保管する場合には、保管条件が異なっても各カテキンの含有量及び組成の変化はほとんど起こらなかった。したがって、常温保管でもカテキン類における品質低下を招くことはないが、可能であれば暗所に置くことが好ましいと考えられた。

表 7 保管試験における分類別カテキンの割合 (単位: 重量%)

	冷蔵庫保管 ^{注)}	遮光室内保管 ^{注)}	日光室内保管 ^{注)}
ピロガロール基を持つ	33.7±2.9	33.6±2.7	33.8±3.1
主要カテキン (EGC+EGCg)	(8.7)	(8.2)	(9.1)
ピロガロール基を持つカテキン (EGC+GC+EGCg+GCg)	76.6±2.3	76.0±1.9	76.3±2.3
(EGC+GC+EGCg+GCg)	(3.0)	(2.5)	(3.0)
主要カテキンのエピ体 (GC+C+GCg+Cg)	55.8±3.8	55.7±3.6	55.7±3.9
(GC+C+GCg+Cg)	(6.8)	(6.4)	(7.1)

注) 値は上段; 平均値±標準偏差, 下段; (変動係数)

最後に、カテキン類に関する試験の全般にわたり御指導・御助言をいただきました、(独)農業・生物系特定産業技術研究機構 野菜茶業研究所の木幡勝則先生に感謝いたします。

文 献

- 1) 末松伸一他：緑茶中のカフェイン，カテキン類の測定のための新しい抽出法，食科工誌，42，419-424 (1995)
- 2) 坂井美和他：茶系飲料中のポリフェノール類及びメチルキサンチンの HPLC 分析，日本農芸化学会 1999 年度大会要旨，161 (1999 年 3 月 31 日)
- 3) 小林千種他：茶葉及び茶飲料中のカテキン類，メチルキサンチン類及びアスコルビン酸の分析，東京衛研年報，49，135-143 (1998)
- 4) 木幡勝則他：ペットボトルおよび缶入り緑茶飲料の加温保存中における各種カテキン類および抗酸化能の変化，茶研報，96，69-74 (2003)
- 5) 後藤哲久他：市販緑茶の個別カテキン類とカフェインの分析，茶研報，83，21-28 (1996)
- 6) Ryota SETO et al. : Preparation of Epimers of Tea Catechins by Heat Treatment, Biosci. Biotech. Biochem., 61(9), 1434-1439 (1997)
- 7) 厚生労働省：栄養表示基準，平成 15 年 4 月 24 日付厚生労働省告示第 176 号

カテキンを増量した緑茶飲料に関する調査研究

— その 2 カテキン以外の化学成分について —

医薬品生活部 生活科学スタッフ

菅野尚子, 望月大介, 鈴木由利子

浮島美之

Investigation Research on the Green Tea Beverages
which increased the Quantity of Catechins
— Chemical Composition Other than Catechins —

Naoko KANNO, Daisuke MOCHIZUKI, Yuriko SUZUKI and Yoshiyuki UKISHIMA

前報に引き続きカテキンを増量した緑茶飲料について、カテキン以外の化学成分の含有量を調査した。平成 13 年度調査時に比較して、アミノ酸や緑茶抽出物等の食品添加物を添加することにより特定のアミノ酸が強化された銘柄が複数みられ、ビタミン C の含有量は平均で 2 割ほど高いという結果であった。ほとんどの緑茶飲料のナトリウム含有量は通常の水道水より高めであったが、これは pH 調整剤が添加されていることによるものと推察された。カフェイン含有量は、カテキンが増量された旨の表示がある緑茶飲料で多い傾向がみられ、疾患で服薬中の人や幼児、妊婦等は、これらの飲料を飲みすぎないように注意が必要であると考えられた。

Key words: 遊離アミノ酸, ビタミン C, ナトリウム, カフェイン
free amino acids, vitamin C, sodium, caffeine

はじめに

近年、緑茶抽出物やカテキン、アミノ酸等の食品添加物を添加しこれらの生理機能を強調したものなど、従来の「緑茶飲料」の既成概念にとらわれない、新しいタイプの緑茶飲料が販売されている。このような商品の傾向に対し、従来の緑茶飲料との具体的な相違点や、多量に摂取した場合の弊害の有無等については消費者に十分理解されていない。そこで本報では、カテキン以外の化学成分の含有量を調査することにより、このような商品を効果的に利用する方法や、利用上の留意点を消費者に情報提供することにした。

前報¹⁾において調査した容器入り緑茶飲料 17 銘柄(表 1)とした。なお表 1 中、「添加」とは緑茶及びビタミン C の他に食品添加物(緑茶抽出物等)が添加されている銘柄のことで、「無添加」とはそれらが添加されていない銘柄のことである。

2 方法

1) 遊離アミノ酸

緑茶飲料をポリビニルピロリドン (PVPP) で除タンニン処理した後、後藤らの方法²⁾に従い、オルトフルアルデヒド (OPA) によるプレカラム誘導体化 HPLC 法

調査対象および方法

1 調査対象

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

表 1 調査対象

	増量 (銘柄数)	増量なし (銘柄数)
ペットボトル入り	9	6
缶入り	1	0
紙パック入り	1	0
添加	6	3
無添加	5	3

で分離, 定量した. 調査した遊離アミノ酸は, アスパラギン酸, グルタミン酸, アスパラギン, セリン, グルタミン, アルギニン, テアニン, γ -アミノ酪酸の 8 種であり, 内部標準物質にはグリシルグリシンを用いた.

HPLC 条件

カラム: Develosil ODS-HG-5 (4.6mm×150mm, 野村化学(株)製), 移動相: A 液 [5mM クエン酸緩衝液 (pH=6.0): アセトニトリル=19:1 (v/v)] 及び B 液 [5mM クエン酸緩衝液 (pH=6.0): アセトニトリル=3:7 (v/v)] のグラジエント [試料注入時 (A95%, B5%), 5 分後 (A88%, B12%), 20 分後 (A78%, B22%), 25 分後 (A5%, B95%), その後 35 分まで 25 分後の混合割合を維持, 35.01 分に試料注入時の割合 (A95%, B5%) に戻りその後 45 分まで維持], カラム温度: 40°C, 流量: 1ml/min, 検出: RF (励起波長 340nm, 蛍光波長 450nm), 試料の注入: 反応混合液 (OPA 試薬 200 μ l, メルカプト試薬 200 μ l 及び試料 20 μ l) 中の 5 μ l を直ちに注入

2) ビタミン C

茶の分析法³⁾の 9 (ビタミン C) に記載の方法に従い, HPLC 法により還元型及び酸化型のビタミン C を定量した. 試料は, 緑茶飲料からビタミン C を 2% メタリン酸で室温抽出することにより調製した.

HPLC 条件

カラム: Mightysil RP-18 GP Aqua (250mm×4.6mm, 関東化学(株)), 移動相: 1% メタリン酸水溶液, カラム温度: 25°C, 流量: 1ml/min, 検出: UV (波長 242nm), 試料注入量: 20 μ l

3) ナトリウム

超純水で希釈し, メンブランフィルターでろ過後, イオンクロマトグラフィーによりナトリウムイオンを定量した.

4) カフェイン

表 2 遊離アミノ酸含有量 (単位: μ g/ml)

	平均値±標準偏差	最小値～最大値
Asp	18.2±27.9	5.1～122.0
Glu	23.8±27.4	3.3～99.2
Asn	3.2± 1.8	0.8～ 9.1
Ser	3.6± 2.3	1.2～ 9.1
Gln	7.8± 6.1	2.1～25.0
Arg	15.9±42.3	1.8～178.5
Thea	94.0±53.0	35.4～153.0
GABA	0.7± 0.4	0.3～ 1.1
総アミノ酸量	167.2±109.6	52.8～426.0

前報¹⁾の 2 1) に記載した方法によった.

結 果

1 遊離アミノ酸

煎茶に含まれる主なアミノ酸は, テアニン, グルタミン酸, アスパラギン酸, セリン, アルギニンであり, この 5 種で全アミノ酸量の 90% 近くを占めている. 特にテアニンは, 茶葉中に最も多く含まれているアミノ酸であり, 緑茶の旨味の主体をなしている.

表 2 に各遊離アミノ酸の含有量をまとめた. 平成 13 年度の調査⁴⁾と比較すると, すべての成分において今回の調査の方が含有量は高いが, 銘柄間の差が非常に大きく, 特にアスパラギン酸, グルタミン酸, アルギニン, テアニンでその傾向が顕著であった. これは, 平成 13 年度調査時に比較して, アミノ酸や緑茶抽出物等の食品添加物が添加され, 特定のアミノ酸が強化された銘柄が多いためであると考えられた. そこで, 表 1 に示した「添加」群 (9 銘柄) と「無添加」群 (8 銘柄) に分けて各成分を比較し, その結果を表 3 に示した. いずれのアミノ酸も「無添加」群より「添加」群の方がはるかに多く,

表 3 遊離アミノ酸含有量 (単位: μ g/ml)

	無 添 加 ^{注)}		添 加 ^{注)}	
Asp	8.3±3.3	4.6～14.3	28.8±36.7	4.7～122.0
Glu	9.3±4.8	3.3～18.2	37.8±32.6	4.2～77.2
Asn	2.5±1.3	1.1～4.7	3.5± 1.4	0.8～ 5.1
Ser	2.8±1.7	1.5～6.7	4.6± 2.7	1.2～ 9.1
Gln	4.8±1.9	2.1～8.1	12.6± 8.9	4.7～26.2
Arg	3.5±1.7	2.1～6.9	26.7±57.4	1.8～178.5
Thea	66.7±38.2	35.4～153.0	141.3± 83.7	54.8～198.0
GABA	0.5±0.2	0.3～0.8	0.8± 0.4	0.3～ 1.1
総アミノ酸量	98.3±46.3	52.8～201.4	256.0±127.7	78.2～426.0

注) 値は, 左欄が平均値±標準偏差, 右欄が最小値～最大値

表 4 各成分の含有量

	平均値±標準偏差	最小値～最大値
総ビタミンC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	269.6±123.3	11.0～538.0
ナトリウム ($\text{mg}/100\text{ml}$)	8.3±2.9	0.3～11.6
カフェイン ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	184.4±87.4	102.9～458.0

表 5 カフェインの含有量 (単位: $\mu\text{g}/\text{ml}$)

	平均値±標準偏差	最小値～最大値
増量	216.8±100.9	102.9～458.0
増量なし	145.0±19.1	126.1～178.0

表 6 カフェイン/総カテキン量

	平均値±標準偏差	最小値～最大値
増量・添加 (6 銘柄)	0.16±0.05	0.09～0.21
増量・無添加 (5 銘柄)	0.23±0.03	0.18～0.26
増量なし (6 銘柄)	0.21±0.02	0.20～0.25

また「添加」群は個々のばらつき(標準偏差)も大きかった。このことから、ある特定のアミノ酸を強化することによって、成分的に特徴づけられている銘柄が複数あることが推察された。

2 ビタミン C

ビタミンCは、各種茶の中で緑茶特有の成分と違ってよく、発酵させた紅茶には全く含まれず、半発酵のウーロン茶にもわずかに含有するだけである。栄養機能としては、皮膚や粘膜の健康維持を助けるとともに、抗酸化作用を有することが挙げられる。緑茶飲料には茶葉自体に由来するビタミンCのほかに、食品添加物(酸化防止剤)として添加されている。また、ビタミンCには、酸化型ビタミンC(DAsA)と還元型ビタミンC(AsA)があり、両者とも効力は同じである⁶⁾が、緑茶のビタミンCは、AsAが大部分でありDAsAは少量である。

表4に結果の概要を示したが、平成13年度の調査と比較すると、今回の調査の方が平均で2割ほど高かった。また、原材料名にビタミンCの記載がない1銘柄は、平均値の4%程度であり、茶葉由来のビタミンCもほとんどが消失しているものと考えられた。

3 ナトリウム

表4に結果の概要を示したが、ナトリウム含有量はピ

タミンC無添加の1銘柄を除き5～12 $\text{mg}/100\text{ml}$ であった。静岡県内の水道水のナトリウム濃度は約1 $\text{mg}/100\text{ml}$ であるという杉本らの報告⁶⁾を参考にすると、今回調査した緑茶飲料のナトリウム含有量は、通常の水道水の5～12倍となっていた。この理由としては、緑茶飲料に酸化防止剤としてビタミンCを添加する際、炭酸水素ナトリウム等のpH調整剤を添加している(ただし飲料中にはこの形で残存しないので食品添加物として表示する必要はない⁷⁾)ためではないかと考えられた。なお、最大値の11.6 $\text{mg}/100\text{ml}$ (58 $\text{mg}/1$ 本分500 ml)は、1日の食塩摂取量の指針値10g(ナトリウム換算4g)の約70分の1であり、大量に飲用しなければ食塩摂取量に影響を及ぼす量ではないと考えられた。また、栄養成分表示のある12銘柄はいずれも表示の適合範囲内か、表示より少ない含有量であった。

4 カフェイン

カフェインは、中枢神経を興奮させるため、適量(1～5 mg/kg 体重)摂取した場合には、脳への刺激や、覚醒、強心及び利尿作用等の効果があるが、過量(15～30 mg/kg 体重)の場合には、強い不眠、心悸亢進、けいれん等を起こすことがある⁸⁾。

表4に結果の概要を示した。平均値(184 $\mu\text{g}/\text{ml}$)は500 ml のペットボトル1本分では92 mg であり、コーヒー1杯分(85 $\text{mg}/1$ カップ)よりやや多い量であった。また、カテキン「増量」群では含有量が多い傾向がみられ(表5)、特に最大値の458 $\mu\text{g}/\text{ml}$ は、1本分(350 ml)に換算すると160 mg となり、体重10 kg の子供では過量であると思われた。さらに、疾患で服薬中の人や妊婦等は、健常者よりカフェインが血漿中に長く残存する恐れがあるため、これらの飲料を利用する際は注意が必要であると考えられた。

なお、表6に総カテキン量に対するカフェイン含有量の比(カフェイン/総カテキン量)を示した。ここで「増量・添加」とは、「増量」群のうちの「添加」群(表1参照、6銘柄)のことであり、「増量・無添加」とは「増量」群のうちの「無添加」群(5銘柄)である。「増量・添加」群は他に比べ「カフェイン/総カテキン量」値が低く、緑茶抽出物等の添加による増量タイプは茶葉のみのものと比較し、カテキン量に対するカフェイン含有量が抑えられている傾向がみられた。

まとめ

静岡市内で市販されている容器入り緑茶飲料17銘柄を対象に、カテキン以外の化学成分の含有量を調査したところ、以下のことが明らかとなった。

1 遊離アミノ酸含有量の測定結果から、平成13年度

調査時に比較して、アミノ酸や緑茶抽出物等の食品添加物を添加することにより特定のアミノ酸が強化された銘柄が複数みられることがわかった。

- 2 酸化防止剤としてほとんどの緑茶飲料に添加されているビタミンCの含有量は、平成13年度調査時に比較して、平均で2割ほど高いという結果であった。
- 3 ビタミンC無添加のものを除くほとんどの緑茶飲料のナトリウム含有量は通常の水道水より高めであったが、これは炭酸水素ナトリウム等のpH調整剤が添加されている(表示義務なし)ことによるものと推察された。
- 4 カフェイン含有量は、カテキンが増量された旨の表示がある緑茶飲料で多い傾向がみられ、疾患で服薬中の人や幼児、妊婦等は、これらの飲料を飲みすぎないように注意が必要であると考えられた。なお、緑茶抽出物等の添加による増量タイプのもは茶葉のみのもと比較し、カテキン量に対するカフェイン含有量がやや抑えられている傾向があった。

最後に、緑茶の分析法について御助言をいただきました静岡県茶業試験場の佐田康稔副主任、並びにナトリウムの分析を行って下さった当研究所大気・水質部の増田一主幹に深謝いたします。

文 献

- 1) 菅野尚子他：カテキンを増量した緑茶飲料に関する調査研究 -その1- カテキン含有量の特性-, 静岡県環境衛生科学研究所報告, 47, 43-38 (2004)
- 2) 後藤哲久他：緑茶中の主要アミノ酸のOPAによるプレカラム誘導体化高速液体クロマトグラフィーによる分析, 茶研報, 77, 29-33 (1993)
- 3) 池ヶ谷賢次郎他：茶の分析法, 茶研報, 71, 43-74 (1990)
- 4) 菅野尚子他：ペットボトル入り緑茶飲料の有効成分及び品質保持に関する調査研究 -その1 煎茶浸出液との成分比較-, 静岡県環境衛生科学研究所報告, 44, 57-61 (2001)
- 5) 渕之上康元他：日本茶全書, (社)農山漁村文化協会, 東京 (1999)
- 6) 杉本勝臣他：静岡県の水道水に関する調査研究, 静岡県環境衛生科学研究所報告, 46, 53-57 (2003)
- 7) 厚生省生活衛生局長通知：食品衛生法に基づく添加物の表示等について, 平成8年5月23日付衛化第56号
- 8) 山西貞：お茶の科学, 177-182, 裳華房, 東京 (1992)

園芸用育苗培土の化学特性及び物理特性

医薬品生活部 生活科学スタッフ

菅野尚子, 望月大介, 鈴木由利子
浮島美之

The Chemical Characteristic and the Physical Characteristic of Compost for Horticulture

Naoko KANNO, Daisuke MOCHIZUKI, Yuriko SUZUKI and Yoshiyuki UKISHIMA

市販の園芸用育苗培土を対象に、物理特性及び化学特性の調査、並びに発芽・生育試験を行った。今回調査した全ての培土が微酸性～中性であり、一般植物の用途であれば pH の調整は不要であった。電気伝導度 (EC) は植物体の生長に重要な要素である無機態窒素含量とやや正の相関がみられた。また、コマツナ発芽試験において発芽率が 70% を割る培土は、生育試験の結果も良好ではなかった。一方、発芽率が良好であるが生育試験が良好でない培土は、5 要素含量 (N, P, K, Ca, Mg) が少ないため植物体の生長に追肥が必要であると考えられた。さらに、コマツナ発芽・生育試験において異常症状 (生育遅延等) のあったものは、無機態窒素含量が低い傾向にあった。

Key words : 培土, 電気伝導度, 無機態窒素含量, 発芽・生育試験

compost, electrical conductivity, inorganic nitrogen content, germination test of seeds and the seedling cultivation test

はじめに

近年のガーデニングブームの中、園芸店やホームセンター等では袋から出してすぐに使える培養土 (肥料用語では「園芸用育苗培土」という) が多く販売されている。このような土は、花専用など用途が決められたもの、肥料や根腐れ防止剤が加えられたもの、酸度が調整されたもの等、実にさまざまな種類があり、初心者にはたいへん便利であるが、「種類が豊富すぎてどれを購入したらよいかわからない。」「使ってみたら植物があまり育たなかった。」等の使用者の意見も多く聞かれる¹⁾。そこで、本報ではこれら園芸用育苗培土の物理特性及び化学特性等を調査し、購入時や利用上の留意点を消費者に情報提供することにした。

調査対象および方法

1 調査対象

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市葵区北安東 4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-ando, Aoi-ku, Shizuoka, 420-8637, Japan)

静岡市内で市販されている、園芸用育苗培土 15 銘柄を調査対象とした。なお、商品の表示から用途別に分類すると、植物全般用が 10 銘柄、花用が 4 銘柄、種まき用が 1 銘柄であった。

2 方法

1) 物理特性

①重量

小型自動台ばかり (ヤマト型式承認第 D932 号, 使用範囲 1~20kg, 最小目盛 50g, 平成 14 年検定合格) により、袋のまま測定した。

②容量

1L のメスシリンダーを用いて測定した。

③密度

「重量/容量」を算出した。

④水分

生土 50g を 105℃ で 24 時間以上乾燥させ、乾燥後の重量 (乾土重量) を測定し、(生土重量 (g) - 乾土重量 (g)) / 生土重量 (g) × 100 (重量%) を算出した。

2) 化学特性

①pH 及び pH (KCl)

土壌・養液・作物体 診断マニュアル²⁾ の「(2) 土壌

pHの測定法」に準じた。

②電気伝導度 (EC)

土壌・養液・作物体 診断マニュアル²⁾の「(3) 土壌塩類濃度 (EC) の測定法」に準じた。

③無機態窒素 (NH₄-N 及び NO₃-N)

土壌・養液・作物体 診断マニュアル²⁾の「(4) アンモニア態窒素 (NH₄-N) の測定法」に準じた。なお、触媒は酸化マグネシウムの他にデバルタ合金を用い、蒸留及び滴定はケルダール窒素自動蒸留滴定装置 (ケルテックオート 1035, フォスジャパン(株)) により行った。

④可給態りん酸 (P₂O₅)

土壌・養液・作物体 診断マニュアル²⁾の「(9) 可給態りん酸 (P₂O₅) の測定法」に準じた。

⑤交換性石灰, 交換性苦土, 交換性カリ (CaO, MgO, K₂O)

土壌・養液・作物体 診断マニュアル²⁾の「(8) 交換性石灰, 苦土, カリの測定法 (原子吸光法)」に準じた。

3) コマツナ発芽・生育試験

肥料取締法別添 1 (植物に対する害に関する栽培試験の方法)³⁾に準じた。供試作物はコマツナ (サカタ交配黒みすぎ こまつな, (株)サカタのタネ) とし、試験容器 (ノイバウエルポット) に 25 粒播種し、1 銘柄につき 2 連行った。栽培期間は 2004 年 5 月 24 日～6 月 14 日 (21 日間) とし、発芽試験は播種後 4 日目, 8 日目, 11 日目, 15 日目, 21 日目の発芽率 (%) を、生育試験は 21 日目の葉長 (cm) 及び生体重 (g/鉢) を調査し、その他に生育上異常症状がみられないかを確認した。

4) アサガオ生育試験

各銘柄の培土を用いてアサガオの栽培を行った。発芽用容器 (ノイバウエルポット) あたりアサガオ種子 (曜白大輪あさがお 富士の桃, (株)サカタのタネ) を 5 粒播種し、3 日後に発芽した苗を 18cm ビニール鉢 (鉢底石入り) に 1 鉢につき 1 本移植した。なお、試験は 1 銘柄につき 2 連行い、ほぼ毎日ジョーロによる水やりを行った。栽培期間は 2004 年 6 月 21 日～8 月 27 日 (67 日間) とし、栽培中に咲いた花の数 (開花数) 及び花径 (cm) と、播種後 67 日目のつるの長さ (cm), 葉長 (cm), 葉数を調査した。

結 果

1 物理特性

1) 重量, 容量, 密度

結果の概要を表 1 に示した。容量は、表示の充填時容量より多かったものが 11 銘柄であり、少なかった 4 銘柄のうち最大誤差は -8.5% であった。また、密度は平均で 0.52kg/L であったが、他と比べ極端に小さい銘柄 (0.24kg/L) もあった。

表 1 化学特性及び物理特性

	平均値±標準偏差	最小値	最大値
密度 (kg/L)	0.52±0.09	0.24	0.63
pH	6.60±0.2	6.1	6.9
pH (KCl)	6.20±0.4	5.4	6.7
EC (mS/cm)	1.30±0.97	0.23	4.08
水分 (重量%)	40.2±7.7	24.5	52.7
無機態窒素 (mg/100g)	23.7±27.7	1.3	88.6
可給態りん酸 (mg/100g)	18.9±15.8	2.2	63.3
交換性石灰 (me/100g)	24.0±6.8	14.6	36.1
交換性苦土 (me/100g)	6.9±2.7	3.7	13.2
交換性カリ (me/100g)	7.7±4.0	1.6	17.7

2) 水分

結果の概要を表 1 に示した。1 銘柄を除き 32～53 重量%の水分量であった。水分含量の少ない 1 銘柄 (24.5 重量%) は、軽量化により運搬時等の利便性を図った培土と考えられた。

2 化学特性

1) pH 及び pH (KCl)

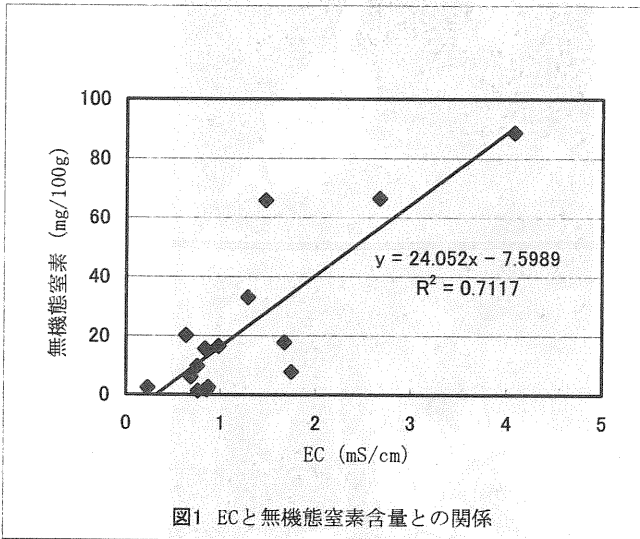
土壌の pH は、そのままでは水素イオンを引き出すための水分が不足しているため測定できず、純水 (蒸留水) または 1N KCl の添加が必要である。pH は通常純水抽出のことを指すが、1N KCl を用いて測定すると (pH (KCl)), 土壌中に隠れていた水素イオンが引き出されるため通常は pH よりも pH (KCl) の方が低い。また両者の差が大きいほど土壌の熟成が進んでいると考えられる⁴⁾。

結果の概要を表 1 に示した。pH が 6.0～6.5 の微酸性が 7 銘柄、pH が 6.5～7.0 の中性が 8 銘柄であった。

2) 電気伝導度 (EC)

EC は土壌中の塩類の濃度指標として用いられ、硝酸態窒素含量との相関が高いので、硝酸態窒素量を推定するのに使用される。EC 値が低すぎれば土壌中の肥料分が少なく生育不良になり、高すぎれば肥料過多で生育障害が起こる⁴⁾。

結果の概要を表 1 に示した。EC の値が最も低い銘柄は



種まき用の培土で「肥料なし」と表示されており、発芽阻害となる肥料分をあえて少なくしていると考えられた。

3) 無機態窒素 (NH₄-N 及び NO₃-N)

窒素は植物体に欠かせないタンパク質の構成成分として重要であり、光合成に必要な葉緑素や各種体内代謝を促進する酵素の構成成分となり、養分吸収や同化作用、茎葉・根の伸長を盛んにする働きがある。窒素が欠乏すると一般的に葉は黄色くなり、大きさも小さく、茎も細くなってしまう。土壌中にある窒素の中で植物が利用できるのは、アンモニア態や硝酸態の窒素であり、これらを総称して無機態窒素という⁴⁾。表1に結果の概要を示した。ECとの関係を見ると、ECと無機態窒素含量の間にはやや正の相関があった(図1)。

4) 可給態りん酸 (P₂O₅)

りん酸も窒素と並び重要な要素の一つで、植物の細胞分裂に大切な働きをしており、開花・結実をよくし、成熟を早め、品質向上に影響を与える。りん酸が欠乏すると発育不良となり、開花や結実も悪くなる⁴⁾。

結果の概要を表1に示した。一般的な野菜類では、可給態りん酸が乾燥土100g当たり10mg以下では生育が悪いという目安があるが⁴⁾、今回の調査で10mg以下のものは、5銘柄あった。

5) 交換性石灰, 交換性苦土, 交換性カリ (CaO, MgO, K₂O)

一般に石灰, 苦土, カリは、それぞれ酸化カルシウム (CaO), 酸化マグネシウム (MgO), 酸化カリウム (K₂O) のことを表し、これらは土壌中で粘土や腐植等が有するマイナスの電荷に引っ張られて吸着・保持され、土壌養液中の水素イオンと置換して溶出し植物の根から吸収される(一部は流失する)。このように土壌から離れて植物に利用されやすい塩基類(石灰, 苦土, カリ等)が交換性塩基である⁴⁾。主にカリウムは根を育て、カルシウム

は酸性の土を中和し、マグネシウムは葉緑素をつくる働きがある。

結果の概要を表1に示した。3成分とも平均値より低いものが5銘柄あった。

3 コマツナ発芽・生育試験

播種後21日目の生育状況を図2に、結果の概要を表2に示した。播種後21日目で発芽率が90%以上であった培土は9銘柄あり、平均で88%と良好な結果であったが、中には70%を割る培土も2銘柄あった。また、生育試験では生体重にばらつきがあり、最大値と最小値は16倍以上の差がみられた。

発芽・生育試験それぞれの結果の良否で分類したものを表3に示した。「発芽試験」の良否は培土の通気性や水はけが、「生育試験」の良否は肥料分が左右している。

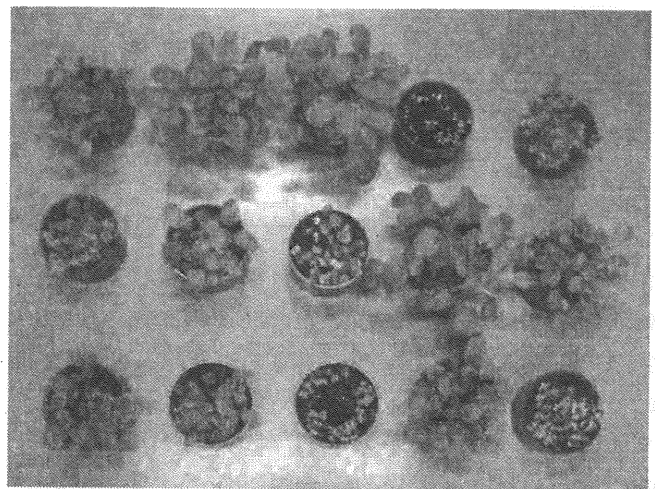


図2 コマツナ発芽・生育試験(播種後21日目)

表2 コマツナ発芽・生育試験

		平均値±標準偏差	最小値	最大値
発芽	4日目 (%)	72±19	34	94
	11日目 (%)	87±12	60	98
	21日目 (%)	88±12	60	100
生育	葉長 (cm)	3.4±1.6	0.8	6.0
	生体重 (g/鉢)	9.3±6.4	1.3	21.2

表3 コマツナ発芽・生育試験結果からみた分類

発芽	生育	銘柄数
○	○	5
○	×	3
×	○	2
×	×	3
分類不可		2

表 4 コマツナ生育試験における異常症状の有無と無機態窒素含量 (mg/100g)

	平均値±標準偏差	最小値	最大値
異常症状あり	5.7±5.6	1.3	16.4
異常症状なし	39.4±30.3	7.8	88.6

表 5 アサガオ生育試験

	平均値±標準偏差	最小値	最大値
開花数	5±4	0	15
花径 (cm)	6.8±3.0	0.0	9.0
つるの長さ (cm)	115± 80	11	268
葉長 (cm)	7.3±2.2	3.6	10.3
葉 数	15± 9	3	32

表 6 アサガオ生育試験結果からみた分類

結果	銘柄数
○	7
△	3
×	5

また過剰な肥料分があると発芽時に根や芽を傷めるため、発芽率が低下する要因ともなる。発芽試験結果が良好で生育試験結果が悪い3銘柄(うち1銘柄は種まき用)は、1株当たりの肥料分が少ないと考えられるが、これらはすべて無機態窒素含量が少なく、種子発芽後さらに植物体を大きく生長させるためには追肥をする必要があると考えられた。また、発芽試験結果が悪いが生育試験結果が良好な2銘柄は、個体数が減った分1株に分配される肥料分が増えたこともあるが、化学特性の結果から肥料分の過多も考えられた。

さらに、異常症状については葉の生育遅延等7銘柄にみられ、異常症状の有無による無機態窒素含量を比較してみると、異常症状のあったものは含量が低い傾向にあった(表4)。

4 アサガオ生育試験

結果の概要を表5に、播種後67日目の生育状況を図3に示した。花が全く咲かなかった2銘柄は、可給態りん酸含量が低い傾向にあったが、含量が低い銘柄でも花が咲いた例もあり、これらは他の要因も重なって生育不良となったものと考えられた。また、各銘柄を試験結果の良否で分類した(表6)。生育が特に良好なものは4銘柄あった。なお、図4及び図5に示すようにアサガオの開花数と葉数・つるの長さは高い相関があり、今回の調査では開花数は植物体の大きさに比例する傾向がみられた。

5 コマツナ発芽・生育試験及びアサガオ生育試験結果と5

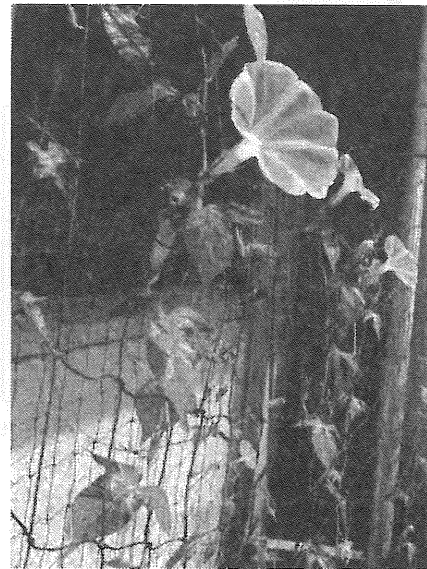


図 3 アサガオ生育試験 (播種後 67 日目)

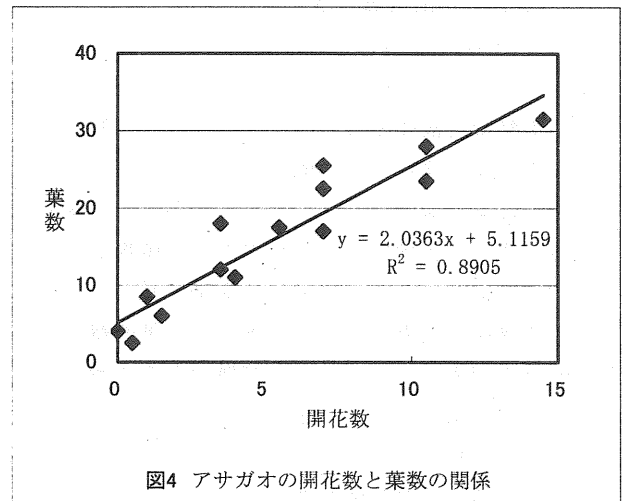


図4 アサガオの開花数と葉数の関係

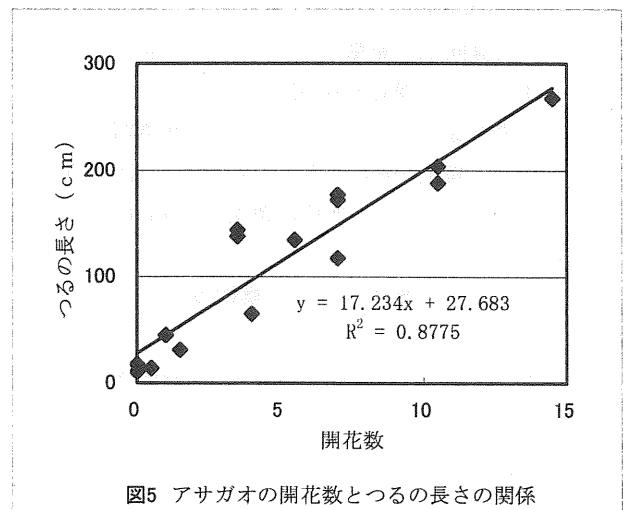


図5 アサガオの開花数とつるの長さの関係

要素含量との関係

各銘柄を3及び4の結果の良否で分類し(表7)、○の数が2個以上の5銘柄を「よい」、×の数が2個以上の6銘柄を「悪い」、その他(いずれにも当てはまらない)4

表 7 発芽・生育試験の総合評価

コマツナ		アサ ガオ	銘柄数
発芽	生育		
○	○	○	4
×	○	○	1
○	×	×	3
×	○	×	1
×	×	○	1
×	×	×	1
分類不可			4

銘柄を「分類不可」として無機態窒素，可給態りん酸，交換性石灰，苦土，カリの5要素含量を比較した(表8)．発芽・生育試験結果が「よい」群は，他の「悪い」及び「分類不可」に比較して，おおむね5要素含量が多い傾向にあり，培土の5要素含量が，植物体の生長に与える影響は大きいものと考えられた．なお，単位価格が1Lあたり20円以下の廉価な培土(3銘柄)はいずれも「悪い」群に属していた．

まとめ

市販の園芸用育苗培土を対象に，物理特性及び化学特性の調査，並びに発芽・生育試験を行ったところ，以下のことがわかった．

- 1 今回調査した全ての銘柄の培土が微酸性～中性であり，一般植物の用途であればpHの調整は不要であると考えられた．
- 2 土壌中の塩類の濃度指標である電気伝導度(EC)は，植物体の生長に重要な要素である無機態窒素含量とやや正の相関がみられた．

- 3 コマツナ発芽試験において発芽率が70%を割る培土が2銘柄あったが，これらは生育試験(コマツナ及びアサガオ)の結果も良好ではなかった．また，単位価格が1Lあたり20円以下の廉価な培土(3銘柄)は，発芽・生育試験の総合評価が悪い傾向がみられた．
- 4 さし木・種まき用の培土(1銘柄)は，発芽率が良好であったものの，生育試験(コマツナ及びアサガオ)は良好ではなく，また5要素含量も低いという結果であった．今回調査したのが1銘柄のみであることから断定はできないが，このような培土は発芽用として最適なものであり，その後の植物体の生長には追肥もしくは移植が必要であると考えられた．
- 5 コマツナ発芽・生育試験において異常症状のあったものは，無機態窒素含量が低い傾向にあった．
- 6 植物体の生長に影響を与える要因は化学特性の他に物理特性も重要であるが，今回の調査では，発芽・生育試験結果が良好な培土はおおむね5要素含量が多い傾向にあり，培土の5要素含量が植物体の生長に与える影響は大きいものと考えられた．

なお，同じ園芸用資材でも肥料は肥料取締法により，ゼオライトやバーミキュライト等の土壌改良剤は政令により規格等が定められているが，これらが含まれている園芸用育苗培土は「家庭園芸肥料・用土協議会」という業界団体の自主基準があるのみで，法律による品質の取り決めがなされていない．例えば，今回調査した15銘柄のうち，協議会の自主表示基準に従って表示がなされているものは6銘柄のみであった．表示のない商品が粗悪品というわけではないものの，購入しようとする培土の品質の良し悪しは外装表示を見ただけではなかなか判別しにくいのが実情である．需要がますます増えつつある

表 8 発芽・生育試験結果で比較した5要素含量(上段は平均値±標準偏差，下段は最小値～最大値)

	よい	悪い	分類不可
無機態窒素	39.8±35.7	15.0±25.5	16.7±11.9
(mg/100g)	7.8~88.6	1.3~65.8	6.1~33.0
可給態りん酸	31.2±20.4	9.9±6.6	17.0±10.5
(mg/100g)	7.5~63.3	2.2~17.4	2.9~28.4
交換性石灰	26.4± 8.3	22.2± 6.5	23.6± 6.1
(me/100g)	17.4~36.1	14.6~29.8	18.5~32.0
交換性苦土	7.9±2.6	5.1±1.3	8.3±3.5
(me/100g)	5.3~11.2	3.7~6.6	5.6~13.2
交換性カリ	8.6±5.9	6.8±3.6	7.9±2.3
(me/100g)	2.5~17.7	1.6~12.5	5.6~10.0

園芸用育苗培土についても、公的基準が定められることが今後望まれる。

最後に、本研究の試験法全般に御助言をいただきました静岡県農業試験場土壌肥料部の山本光宣副主任に深謝いたします。

文 献

- 1) 主婦の友社：育て上手になるための土・肥料・水やり，46，(株)主婦の友社，東京（2002）
- 2) 静岡県農業技術課：土壌・養液・作物体 診断マニュアル（第3版），静岡（1996）
- 3) 農林水産省農蚕園芸局長通達：肥料取締法の一部改正に伴う今後の肥料取締りについて，昭和 59 年 4 月 18 日付 59 農蚕第 1943 号
- 4) 藤原俊六郎他：土壌診断の方法と活用，87-103，(社)農山漁村文化協会，東京（1996）

家具の中に含まれる化学物質過敏症等に関連した化学物質 — p-Dichrolobenzene を主成分とする防虫剤及び衣類用収納容器 —

医薬品生活部 生活科学スタッフ 望月大介, 菅野尚子, 鈴木由利子
浮島美之
環境科学部 環境科学スタッフ 房家正博

The Chemical Substance Relevant to the Chemical Substance Hypersensitivity included in Furniture
— The Insecticide which make p-Dichrolobenzene a Principal Component and the Receipt Container for Clothing —

Daisuke MOCHIZUKI, Naoko KANNO, Yuriko SUZUKI, Yoshiyuki UKISHIMA and Masahiro FUSAYA

シックハウス症候群の原因物質の中でも、住宅の高気密化に伴い被害件数が増加している p-Dichrolobenzene を主成分とする防虫剤を取り上げ、当該防虫剤を使用した 4 種類の衣類用収納容器において、材質や気密度の違いによる容器内及び室内（押入れ内）空気への揮散状況を、測定により比較した。p-DCB の揮散濃度は温度の上昇により指数関数的に上昇した。また、主に接着剤などを使用せずに組立てた収納容器では、容器外への揮散の割合が大きかった。一方、収納した衣類に吸着した p-Dichrolobenzene は、数日の日陰干しで概ね放散された。

Key words: 化学物質過敏症, パラジクロロベンゼン, 防虫剤, 収納容器

chemical substance hypersensitivity, p-Dichrolobenzene, insecticide, receipt container

はじめに

1990 年代後半より、室内においてホルムアルデヒドなどの化学物質による過敏症が問題となっている¹⁾。この原因物質の一つである p-Dichlorobenzene（パラジクロロベンゼン、以下 p-DCB とする）は、特異な芳香と殺虫作用を持つことから、衣類用の防虫剤やトイレの消臭剤などに利用されている。しかし、最近の住宅の高気密化に伴い、空気中に昇華しやすい p-DCB は高濃度になりやすく、そのため過敏症などの健康影響が懸念されたため、平成 12 年 6 月に厚生省（現在の厚生労働省）により室内空気中濃度に対する指針値が出された^{2~4)}。

防虫剤は、衣類の長期保存の際、様々な収納容器などに用いられるが、収納容器の中には気密性の良くないものもあり、高濃度の防虫剤成分が室内等に放散されることが考えられる。また、防虫剤成分は収納している衣類にも吸着するため、収納容器から取り出してそのまま着用すると、

皮膚への接触や吸入などにより人体がかなりの防虫剤成分の曝露を受けることが考えられる⁵⁾。

そこで、今回材質や形状の異なる 4 種類の収納容器を用い、p-DCB を主成分とする防虫剤を用いた時の容器内濃度、押入れ内濃度を測定した。また、衣料品を防虫剤とともに収納容器へ入れた場合における衣料品への p-DCB の吸着量と日陰干しによる残存量を、綿製のバスタオルを使って試験した。

調査方法

1 実施時期

平成 16 年 9 月から平成 17 年 1 月まで

2 調査対象

静岡市内で販売されている、以下の商品を調査に用いた。

1) 衣類用収納容器 4 銘柄

容器 A: プラスチック製・ふた式

容器 B: プラスチック製・引き出し式

容器 C: 木製・引き出し式

容器 D: ダンボール紙製・ふた式

表1 空気捕集の概要

測定種目	捕集管	捕集方法	捕集時間	捕集量	捕集期間
揮散濃度 収納容器内	SKC社製 ヤシ殻活性炭 150mg	手動ポンプ GASTEC社製 100mL/min	2~ 10min	200~ 1000mL	投入直前、投入1日後、2日後、 3日後、7日後
揮散濃度 押入れ内	SUPELCO社製 Carbosive S-III 300mg	自動ポンプ 柴田科学製 0.5L/min	24hr	約 720L	投入1日前~直前、投入直後~1日後、 1日後~2日後、2日後~3日後、 6日後~7日後
吸着・残存量 デシケータ内 (バスタオル)	SKC社製 ヤシ殻活性炭 150mg	自動ポンプ 柴田科学製 0.5L/min	4~ 6min	2~3L	取り出し直後(日陰干し直前)、 日陰干し1日後、2日後、3日後

ターム	揮散濃度 捕集・測定期間	吸着・残存量 捕集・測定期間	容器	防虫剤 Q	実容積 L	使用量	平均室温 (揮散濃度) ℃	平均室温 (移染測定) ℃
第1ターム	9/7~9/14	9/14~9/17	A	標準量*1	70	10包 (80g)	27.9	25.3
第2ターム	9/28~10/5	10/5~10/8	C	標準量	20	3包 (24g)	26.7	23.5
第3ターム	10/19~10/26	10/26~10/29	B	標準量	60	8包 (64g)	22.2	20.5
第4ターム	11/2~11/9	11/9~11/12	D	標準量	40	6包 (48g)	21.8	22.0
第5ターム	11/16~11/23	11/23~11/26	A	標準量 の半量	70	10包 (80g)	19.9	19.8
第6ターム	11/30~12/7	12/7~12/10	A	標準量	70	10包 (80g)	18.6	18.5
第7ターム	12/14~12/21	—*2	A×2	標準量 ×2*2	70×2	10包×2 (160g)	17.6	—*2

*1 メーカー記載の使用量の目安(50Lで7包(約56g)、75Lで10包(約80g))に従った。

*2 容器Aを2箱使用。各箱での使用量が標準量のため、容器内濃度測定及び移染・残存量測定は省略。

このうち、容器Cと容器Dについては、いずれも購入後、当研究所で取扱説明書のとおり組み立てて使用した。

2) 衣類用防虫剤

和紙に包まれており、袋から取り出してすぐに使用できるタイプのものだった。

3 調査項目及び方法

1) 温度とp-DCB揮散濃度との関係

恒温室内に置いた容器Aの中に、防虫剤(メーカー記載の標準量)を入れ密閉し、10℃、15℃、20℃、25℃及び30℃の各恒温条件下で24時間揮散させた時の容器A内のp-DCB揮散濃度を、水素炎検出器付きガスクロマトグラフ装置(日立製作所製、以下GC/FIDとする)を用いて測定した。以下にGC/FIDの条件を示す。

カラム: SUPELCO製 SPB-5 (内径0.53μm, 長さ30m, 膜厚1μm)

温度: カラム60℃, 注入口200℃, 検出器220℃

カラム流量: 約57mL/min (流圧: 2.0kgf/cm²)

測定時間: 15min (p-DCBの保持時間: 約8.5~9.5min)

注入量: 1.0μL~5.0μL

定量下限値: 3μg/mL / 検出下限値: 1μg/mL

2) 容器内及び押入れ内におけるp-DCB揮散濃度測定

試験方法は、「室内空气中化学物質の室内濃度指針値及び標準的測定方法について」(平成12年6月30日生衛発

第1093号)などを参考とした⁴⁻⁷⁾(測定日程、条件などは表1に示す。)

容器A~D内に、100%綿製のバスタオルを5枚並べ⁶⁾、防虫剤をバスタオルの上に均等に乘せ、ふたを閉じ、これを押入れの所定の場所に置いた。その後、収納容器内の空気と押入れ内の空気を捕集し、これを試料とした。この捕集した試料(捕集剤)をサンプル瓶に詰め、二硫化炭素1mLを加え泡が出なくなるまでよく振り混ぜて抽出した後、GC/FIDを用いて測定し、揮散濃度を算出した。なお、GC/FIDの条件については1)に記載したとおりである。

3) 収納している衣類への吸着量と日陰干しによる残存量

上記2)の試験において、防虫剤を入れてから7日後、バスタオルを取り出し、そのうち1枚を真空デシケータ(容量約10L)内に入れて、密栓状態で30分間バスタオルに吸着されたp-DCBを放散させ、その空気を捕集した。残りのバスタオルはハンガーにつるして日陰干しを行い、同様にデシケータ内に入れ、捕集を行った(詳細は表1を参照)。この捕集した試料(捕集剤)をサンプル瓶に詰め、二硫化炭素1mLを加え泡が出なくなるまでよく振り混ぜて抽出した後、GC/FIDを用いて測定し、吸着量又は残存量を算出した。なお、GC/FIDの条件については1)に記載したとおりである。

結果及び考察

1 温度とp-DCB揮散濃度との関係

測定結果の対数値と温度との関係には正の相関がみられた。このことから、図1に示すとおり温度が高いほど指数関数的に容器A内の揮散濃度が高くなることがわかった。

2 容器内及び押入れ内におけるp-DCB揮散濃度測定

1) 収納容器別の揮散濃度

押入れ内での揮散濃度については表2に、容器内での揮散濃度については表3に示す。また、上記1の回帰グラフから20℃の揮散濃度を基準に補正したグラフをそれぞれ

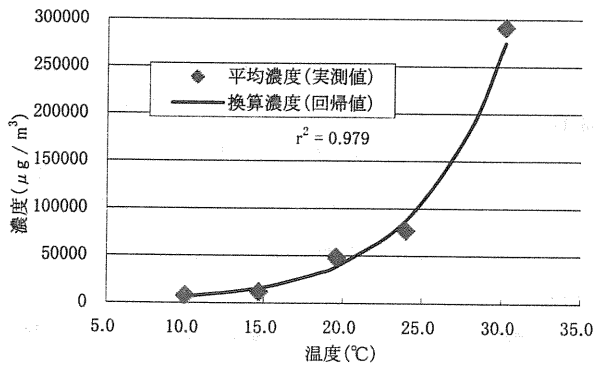


図1 温度とp-DCB揮散濃度との関係

表2 収納容器別押入れ内p-DCB揮散濃度

経過日数(日)	0	1	2	3	7
容器A・夏					
平均室温 °C	27.5	28.0	28.0	28.0	28.0
p-DCB含有量 μg/m³	0.0	4174.2	6642.7	6533.0	9775.7
容器A・冬					
平均室温 °C	19.0	19.0	19.0	18.0	18.0
p-DCB含有量 μg/m³	0.0	393.8	909.9	1023.1	1090.4
容器B					
平均室温 °C	20.5	22.0	22.5	23.0	23.0
p-DCB含有量 μg/m³	0.0	417.5	1123.3	1574.7	1722.9
容器C					
平均室温 °C	26.0	28.0	27.5	26.5	25.5
p-DCB含有量 μg/m³	0.0	72.3	490.3	490.0	247.6
容器D					
平均室温 °C	21.0	22.0	22.0	22.0	22.0
p-DCB含有量 μg/m³	0.0	1859.0	2144.1	1674.9	1860.8

表3 収納容器別容器内p-DCB揮散濃度

経過日数(日)	0	1	2	3	7
容器A・夏					
平均室温 °C	28.0	28.0	28.0	28.0	28.0
p-DCB含有量 ×10³ μg/m³	0	2636	2941	2793	2564
容器A・冬					
平均室温 °C	19.0	20.0	18.0	18.0	18.0
p-DCB含有量 ×10³ μg/m³	0	717	899	872	1101
容器B					
平均室温 °C	22.0	22.0	23.0	23.0	23.0
p-DCB含有量 ×10³ μg/m³	0	908	1122	1192	1795
容器C					
平均室温 °C	28.0	28.0	27.0	27.0	25.0
p-DCB含有量 ×10³ μg/m³	0	762	639	688	1072
容器D					
平均室温 °C	21.0	22.0	22.0	22.0	22.0
p-DCB含有量 ×10³ μg/m³	0	399	352	379	267

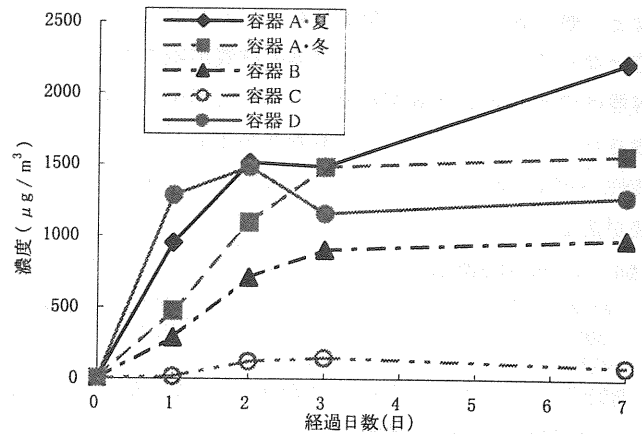


図2 収納容器別押入れ内p-DCB揮散濃度 (20℃補正值)

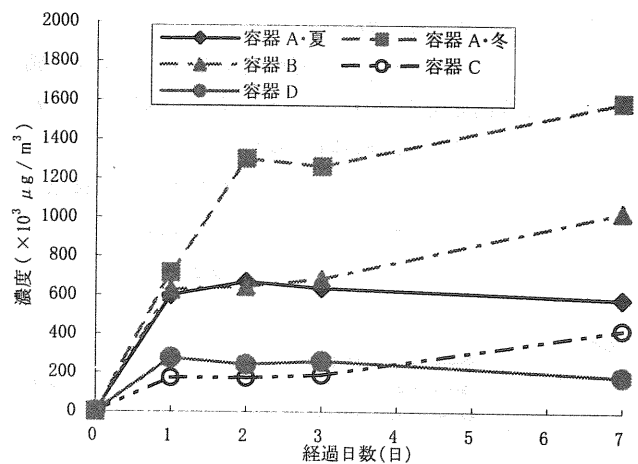


図3 収納容器別容器内p-DCB揮散濃度 (20℃補正值)

図2 (押入れ内) 及び図3 (容器内) に示す。そして、測定結果を基に計算した、容器内に対する押入れ内(収納容器1Lあたりの換算値)の揮散濃度比を表4に示す。

夏に測定した容器Aについては、他の容器よりも押入れ内、収納容器内ともに非常に高い揮散濃度を示した。参考までに、押入れ内揮散濃度測定の結果をp-DCBの室内濃度指針値(240 μg/m³)³⁾と比較すると、夏測定時の容器Aの7日目における押入れ内揮散濃度は、室内濃度指針値の約40倍であった。このように、夏に防虫剤を収納容器内へ補充する際は、押入れ内が高濃度になっていることに十分留意し、押入れを含む室内を換気した上で作業を行う必要があると考えられた。

また、表4より容器Dについては他の容器よりも押入れ内への揮散濃度比が高いことがわかった。この理由として、1つは容器の気密性が低く、p-DCBが容器外に揮散しやすいことが挙げられた。この容器は紙製で、接着剤などを使わずに、プラスチック製の止め具を用いて組立てたものであるため、取っ手部分や箱の角の部分、そして箱とふたの間

など、他の容器よりも隙間が多く、p-DCB がもれやすい構造となっていた。もう1つは、容器の材質が紙であるので、容器内のp-DCBが紙繊維の隙間を縫って通過し容器外へ放散され、このため容器外の揮散濃度が相対的に高くなる可能性が考えられたが、このことについては今後確認する必要がある。

表4 各容器の揮散濃度比*

収納容器	容器A・夏	容器A・冬	容器B	容器C	容器D
形状	ふた式	ふた式	引出し式	引出し式	ふた式
材質	プラスチック	プラスチック	プラスチック	木	ダンボール紙
濃度比*	1.57-3.78	0.54-1.19	0.53-1.53	0.33-2.65	7.62-12.01

* 揮散濃度比 = 容器内揮散濃度に対する
 押入れ内揮散濃度 (容器Lあたりの換算値) の比
 この値が大きいほど押入れ内濃度揮散が相対的に高いことを表している。
 容器A・冬測定時の7日目の揮散濃度比を基準とし、
 これを1とした時の各測定期間での揮散濃度比の幅で示している。

2) 季節間での揮散濃度比較

同じ容器Aで、夏と冬にそれぞれ測定を行った結果、図3より収納容器内濃度を20℃における濃度に換算して比較した場合、冬測定時が夏測定時の概ね2倍程度となった。これは、夏に測定した際、容器内の揮散濃度が1日目以降頭打ちの状態にあり(表2)、また押入れ内揮散濃度が3日目から7日目にかけて更に上昇した(表3)ことから、容

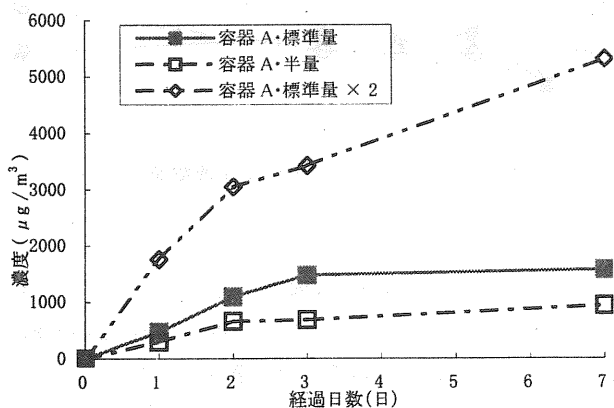


図4 防虫時使用量別押入れ内p-DCB揮散濃度 (20℃補正值)

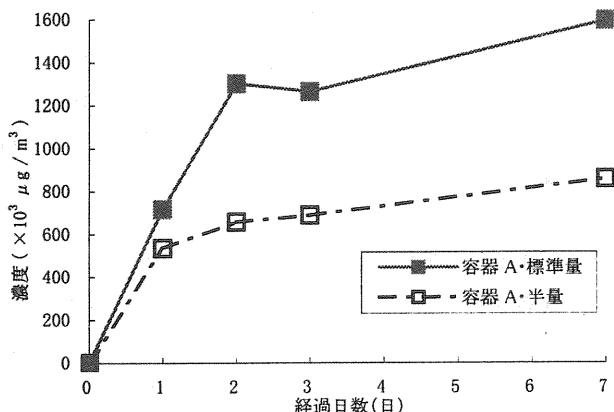


図5 防虫剤使用量別収納容器内p-DCB揮散濃度 (20℃補正值)

表5 バスタオルへのp-DCB吸着量及び日陰干し後の残存量

経過日数(日)	0	1	2	3
容器A・夏標準量				
平均室温	26.0	24.0	25.0	26.0
p-DCB含有量 ng	953.6	41.5	11.1	< 10
容器A・冬標準量				
平均室温	19.0	19.0	18.0	18.0
p-DCB含有量 ng	407.9	N.D.	N.D.	N.D.
容器A・冬半量				
測定室温	20.0	20.0	19.0	20.0
p-DCB含有量 ng	168.3	N.D.	N.D.	N.D.
容器B				
平均室温	22.0	20.0	20.0	20.0
p-DCB含有量 ng	1105.1	< 10	< 10	N.D.
容器C				
平均室温	22.0	24.0	24.0	24.0
p-DCB含有量 ng	325.3	< 10	N.D.	N.D.
容器D				
平均室温	22.0	22.0	22.0	22.0
p-DCB含有量 ng	131.9	< 10	N.D.	N.D.

* 「< 10」は定量下限未満、「N.D.」は検出下限未満

器内でp-DCB揮散濃度が平衡に達する期間が短かったためと推察された。

また、表4から冬測定時よりも夏測定時において揮散濃度比が高いことがわかった。これも、夏測定時に平衡に達した容器内のp-DCBが、容器外に過剰に放散されたためと考えられた。

3) 防虫剤使用量別の揮散濃度

上記1を基に温度補正した揮散濃度をそれぞれ図4(押入れ内)、図5(容器内)に示す。

今回の結果からは、p-DCBの揮散濃度と防虫剤の使用量との間に、ほぼ比例の関係があった。

3 収納している衣類への吸着量と日陰干しによる残存量

測定結果を表5に示す。全ての容器の中に入っていたバスタオルについて、取り出した直後はp-DCBの吸着がみられたが、日陰干しを行うと、2~3日後にはほとんどの検体でp-DCBの残存がみられず、ほぼ放散されることがわかった。ただ、もし取り出した後すぐに使用する必要がある場合は、風通しの良い場所につるせばより早く放散されるものと考えられた⁶⁾。

まとめ

以上の結果より推察できた、p-DCBを主成分とする防虫剤を使用する際の留意点などは以下のとおりである。

- 1) 気密性の低い収納容器を用いて衣類を保存する際には、容器をカバーなどで覆ったり、隙間をガムテープなどでふさぐなど、容器からの揮散を防ぐ工夫をすることが大切である。
- 2) 主に夏に防虫剤を収納容器内へ補充する際は、押入れを含む室内を十分に換気した上で行うのが望ましい。
- 3) 収納容器から取り出した衣類はすぐに使用せずに、日陰

又は風通しの良い場所に数日間つるすのが望ましい。

- 4) 表示をよく読み、メーカー記載の標準使用量以上は使用しないこと。

文 献

- 1) 危害情報からみた最近のシックハウスについて，国民生活センター（2002）
- 2) 市川 勇，松村 年郎：室内空気環境基準の現状，衛生化学，**43**（3），162-173（1997）
- 3) 厚生労働省医薬局審査管理課化学物質安全対策室：シックハウス（室内空気汚染）問題に関する検討会—第6回～第7回のおまとめ，厚生労働省（2001）
- 4) 吉田 精作，田口 修三，田中 之雄：室内農薬汚染—ハウスダストに残留するダイアジノン，ペリメトリン及びパラジクロロベンゼン—，大阪府立公衆衛生研究所報，**40**，33-36（2002）
- 5) 川田 常人，平松 佐穂：室内環境汚染について(2)，高知県衛生研究所報，**46**，73-79（2000）
- 6) 商品テスト・シリーズ「衣類用防虫剤・トイレ用防臭剤」，東京都消費生活総合センター（2002）
- 7) 雨谷 敬史，大浦 健，烏蘭 参丹：パッシブサンプラーを用いた揮発性有機ハロゲン化合物の多成分分析法，生活環境中の汚染物質測定マニュアル（改訂版），221-241（2004）

防犯ブザーの使用実態調査と周波数特性等性能の解析

医薬品生活部 生活科学スタッフ 望月大介, 菅野尚子, 鈴木由利子
 浮島美之

The Use Survey of a Crime Prevention Buzzer and
 Analysis of Frequency-Response-Characteristics Equality Ability

Daisuke MOCHIZUKI, Naoko KANNO, Yuriko SUZUKI and Yoshiyuki UKISHIMA

子供や女性を標的とした犯罪が増えており、その被害防止対策が重要な課題となっている。そこで、防犯の道具として多用されている防犯ブザーについて、性能及び防犯効果を探るべく各種テストを行った。その結果、防犯ブザーの音が銘柄間で統一されておらず、その音を聞いて助ける立場になる人々に、防犯ブザーの音として認知されにくい現状もあることが判明した。また、防犯ブザーの使用テストの結果、防犯ブザーの携帯・使用中にいくつか不具合のあることもわかった。

Key words: 防犯ブザー, 音 (音量, 音色), 認知, 周波数分析

crime prevention buzzer, sound (volume, timbre), cognition, frequency analysis

はじめに

近年、子供や女性を標的とした傷害事件が相次ぎ、社会的な関心を呼んでいる¹⁾。これらの犯罪による被害を防止する対策が重要な課題となっており、その一つの道具として、大音量を発することで周囲に知らせるといった目的を持つ「防犯ブザー」の需要が増えている。この防犯ブザーについて、その普及の現状や問題点を把握し、消費者に広く情報提供を行う目的で、アンケート調査及び各種性能テストを行った。

調査方法

1 実施時期

2004年9月から2005年1月まで

2 調査対象

静岡県内で販売されている防犯ブザー 8 銘柄を調査に用いた。

3 調査項目及び方法

表示について詳細に調査するとともに、アンケート調査

及び各種性能測定を行った。

1) 防犯ブザーに関するアンケート調査

静岡県消費生活モニター及び静岡県職員を対象に、防犯ブザーに関するアンケート調査を行い、消費生活モニター107名、県職員1,369名の、合計1,476名から回答を得た。

2) 音量測定及び音質 (音色) の周波数解析

① 音質 (音色) の周波数解析

測定場所: 研究所内の半無響室

システム: 1/3 オクターブ周波数解析ユニット

(1/3 オクターブ周波数分析器 SA-27 (株式会社 RION 製), 精密騒音計 NL-10A (株式会社 RION 製), MS-DOS パソコン (解析用) 及びプリンター)

検体を、騒音計から1m離れた台の上に、スピーカー部分を騒音計の方向にまっすぐに向けた状態で置いた (置けないものでキーホルダーがついている検体については、支柱を用意してつり下げた)。騒音計を「A 特性, FAST 特性」に設定し、検体のピンを抜き、開始から30秒間の音のデータを収録した。この得られたデータを基に1/3 オクターブ周波数分析を行い、各周波数における音の強さを解析した。また、銘柄ごと音圧レベルの高かった上位5つの周波数帯域について、その経時変化を解析した。なお、測定前及び測定後に暗騒音を測定し、暗騒

音が測定結果に影響しないことを確認した（これ以降の音響測定でも同様に行った）。

② 音量測定及び距離による音の減衰

測定場所及びシステムについては、上記①のとおりである。

検体を、騒音計から 10cm, 1m, 2m 及び 5m 離れた台の上に、上記①と同様の状態で置いた。騒音計を「A 特性、FAST 特性」に設定し、検体のピンを抜き、開始から 30 秒間の音のデータを収録し、それぞれの A 特性等価音圧レベルを求めた。

③ 建物外からの音に対して、窓を隔てた建物内での音の聞こえ方

検体設置場所：研究所裏庭（駐車場）

測定場所：研究所 1 階

システム：上記①のとおり

検体を手に持ち、騒音計から 10m 離れたところで、スピーカー部分を騒音計の方向にまっすぐに向け、防犯ブザーと騒音計が概ね水平の位置に来るように防犯ブザーを設置した。騒音計は「A 特性、FAST 特性」に設定した。はじめに測定室の窓を最大限開けた状態で検体のピンを抜き、開始から 30 秒間の音のデータを収録し、A 特性等価音圧レベルを求めた。次に窓を完全に閉めた状態

で同様の操作を行い、A 特性等価音圧レベルを求めた。

3) 電池消耗度測定

① 連続使用による電池寿命測定

測定場所：研究所内の半無響室

システム：精密騒音計 NL-10A (株RION 製)

レベルレコーダー LR-04 (株RION 製)

検体を、騒音計から 1m 離れた台の上に、上記 2) の①と同様の状態で置いた。騒音計を「A 特性、FAST 特性」に設定し、検体のピンを抜き、開始からの音のデータをレベルレコーダーにて記録した。なお、測定中に「音圧レベルの急激な低下が見られた時」または「音圧レベル幅が大きくなり始めた時」または「初期音圧レベルより 10dB 低下した時（初期音圧レベルが 90dB 以上の防犯ブザーについては 80dB）」を今回の測定における電池寿命とした。

② 毎日動作確認を行った際の電池消耗度測定

音量測定場所及びシステムについては、上記①のとおりである。

5 ヶ月間、毎日 1 回 15 秒間ずつ検体のピンを抜いて（或いはボタンを押して）音を鳴らした。音量測定は毎週火曜日と金曜日に行った。騒音計から 1m 離れた台の上に、上記 2) の①と同様の状態で置いた。騒音計を「A 特性、

表1 主要な表示一覧

項目	銘柄記号	A	B *1	C	D	E	F	G *1	H	
基本性能	電池	CR2016 ×2	単4 ×2	単5 ×2	単4 ×2	LR44 ×3	単5 ×1	単4 ×2	単4 ×2	
	音量	約120dB	約80dB /2 m	105dB 以上	105dB /1 m	約105dB	約85dB /1 m	—	97dB /1 m	
	寸法	—	薄さ 17 mm	H50× W42× D22(mm)	H75× W45× D30(mm)	H60× W38× D25(mm)	H70× W45× D20(mm)	—	—	
	重量	—	—	約45g (電池含む)	約36g (電池含まず)	約35g (電池含む)	約40g (電池含む)	—	—	
	本体の材質	—	—	ABS樹脂	—	—	—	—	—	
	光機能	LED	(なし)	ライト	ライト	(なし)	(なし)	ライト	(なし)	
	電池消耗(連続使用)	約110分	約2時間 (マンガン)	20分以上 (マンガン)	約30分 (警報 アラーム &ライト)	—	約50分 (アルカリ) 約5分 (マンガン)	—	約5時間 (アルカリ)	
	製造国	中国	中国	—	中国	中国	中国	中国	中国	
	基本操作及び確認	動作確認(購入時)	○	—	○	—	—	—	○	—
		動作確認(携帯前)	—	○	○	—	—	○	—	○
使用方法		○	○	○	○	○	○	○	○(使用例)	
電池交換方法		○	○	○	○	○	○	○	○	
電池交換時期		—	1回/年	—	—	小さく なったり 不安定に なったら	鳴らなくな ったら	鳴らない 時	1回/年	
注意事項	大音量・耳元注意	—	—	○	○	○	○	—	○	
	乾電池(+)	—	—	○	○	○	○	○	○	
	乾電池(長時間不使用時)	—	—	—	—	○	—	—	○	
	雨、水等注意	—	○	○	○	○	○	○	—	
	落下注意	—	—	○	—	—	○	—	—	
高温下保存注意	—	—	○	○	○	—	—	—		

*1 この他にパッケージに「(財)全国防犯協会連合会 推薦」と記載がある。

FAST 特性」に設定し、検体のピンを抜き、開始から 15 秒間の音のデータをレベルレコーダーにて記録した。なお、測定した音圧レベルが「初回測定時の音圧レベルよりも 10dB 以上低下した時」を今回の測定における電池寿命とした。

4) 携帯・使用テスト

20~50 代の研究所女性職員 16 名を対象に、以下の①~③のテストを行い、それぞれの銘柄について評価を行ってもらった。

① 携帯テスト

防犯ブザー 8 銘柄を交代で 1 週間ずつ携帯してもらい、その使い勝手などを調査した。

② 動作確認

携帯テストの期間中に 1 回以上、検体のピンを抜いて（またはボタンを押して）数秒間鳴らしてもらった。また、同時に音を聴いてもらい、音量や音質について調査した。

③ 電池交換

携帯テストの期間中に 1 回以上、添付の説明書に従って電池交換を行ってもらった。

5) 音に関する認知テスト

20~50 代の一般の男女 53 名を対象に行った。

防犯ブザー 3 種類を含む 12 種類の音を予め録音したものを、MD コンポシステム (Panasonic 製) のスピーカーを通じて 10 秒間流し、流れた音がどのような音であるかを回答してもらった。この際、モニターには防犯ブザーのテストである旨を知らせずに行った。

結果及び考察

1 表示

調査した防犯ブザーの表示について、その一覧を表 1 に示した。メーカー名及び所在地、電池の種類及び個数、光機能、使用方法及び電池の交換方法についてはどの銘柄にも記載があった。その一方、音量や寸法、電池消耗時間及び電池交換時期などの記載については、銘柄間で記載の方法がまちまちであった。このことは、消費者が商品を選ぶ際にも単純な比較ができないなどの不都合が生じることが推測された。また、音量、寸法、重量、本体の材質、電池消耗、原産国、動作確認、電池交換時期、主な注意事項の各項目で記載がなかった銘柄があった。現在は防犯ブザーの表示に関する規制はないが、これらの表示不備については、今後メーカー側で改善するべきであると考えられた。

2 防犯ブザーに関するアンケート結果 (抜粋)

1) 防犯ブザーの所持状況

回答 1,476 名中、回答者本人が持っているのは 106 名 (7.2%)、家族の誰かが持っているのは「(回答者が) 持た

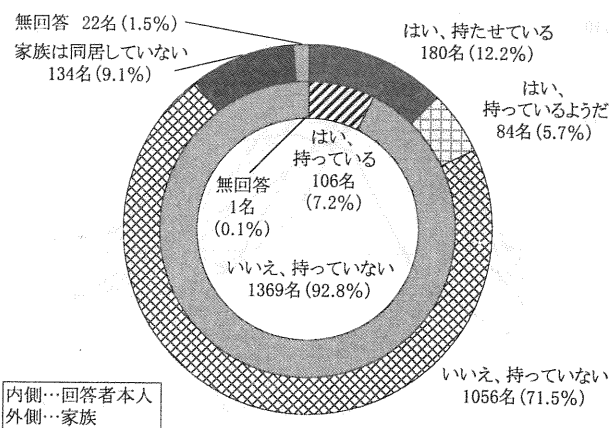


図1 防犯ブザーの所持状況

せている」、「(回答者以外の家族が) 持っているようだ」を合わせて 264 名 (17.9%) だった (図 1)。また、回答者本人が防犯ブザーを持たない理由として、回答 1,369 名中 941 名 (68.7%) が「持つ必要がないから」と回答した。

2) 携帯中の不具合について

上記 1) で、「持っている」又は「(回答者が) 持たせている」と回答した 265 名 (両方回答した 21 名を含む)のうち、「鳴らすつもりがないのに、勝手に鳴ってしまった」が 70 名 (26.4%) で最も多く、以下「(形が大きすぎたり小さすぎたりして) 扱いにくい」57 名 (21.5%)、「本体を落としやすい、本体が落ちやすい」30 名 (11.3%) などだった (図 2)。

また、その他の意見としては、「ランドセルにつけても、背負ったままでは使いにくい」、「ひも (ストラップ) の長さが合わない、ひもが切れる」、「子供が (いたずらなどで) 遊んでしまう」などがあつた。一方、「特に困ったことはない」と回答した人は 107 名 (40.4%) だった。

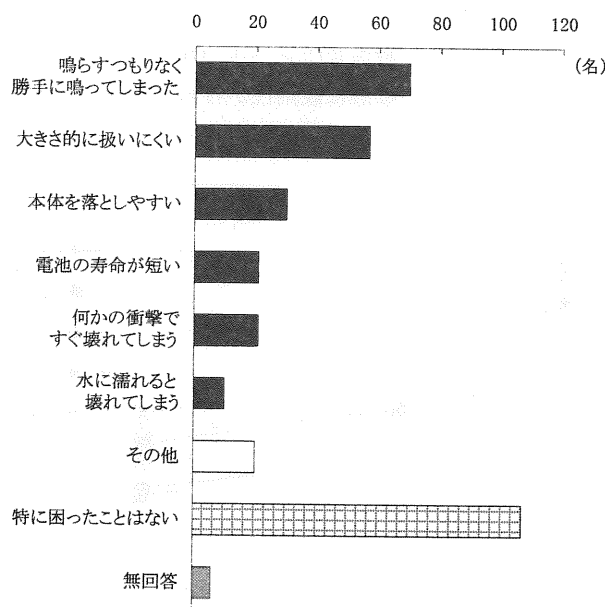


図2 防犯ブザー携帯中の不具合 (複数回答)

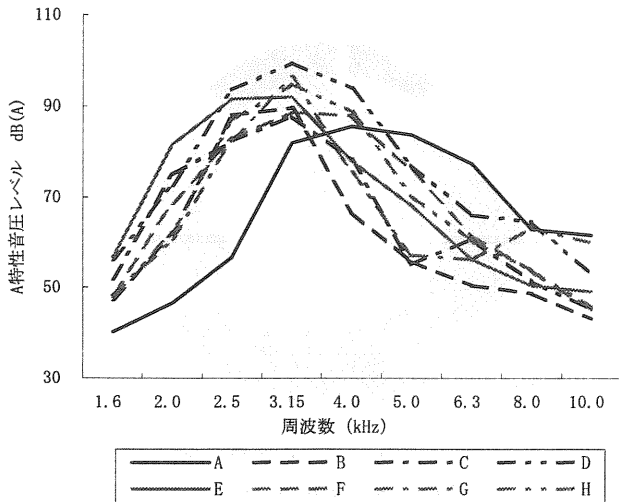


図3 防犯ブザーの音の周波数パターン (A特性)

3) 地域 (町内会など) での防犯に関する取組みについて

回答 1,476 名中、「取組みがある」と回答した人は 247 名 (16.7%) だった。この 247 名のうち、防犯ブザーに関する取組みについて聞いたところ、27 名 (10.9%) が「取組みがある」と回答したが、111 名 (44.9%) は「あるかどうかわからない」と回答した。

3 音量測定及び音色 (音質) の周波数解析

1) 音色 (音質) の周波数解析

各銘柄の音の周波数パターン (1.6~10.0kHz) を図3に示す。卓越周波数 (最も音圧レベルが高い周波数帯域) については、7 銘柄で 3.15kHz だったが、銘柄 A のみ 4.0kHz だった。また、グラフの山の形については、比較的鋭い銘柄と比較的なだらかな銘柄とが存在した。総合的に見ると、銘柄 B-E 間、銘柄 C-G 間、銘柄 D-H 間で、それぞれ似た周波数パターンを示したが、これら銘柄間の A 特性音圧レベルは異なっていた。

また、30 秒間での A 特性音圧レベルの経時変化については、全ての銘柄で音の波形に規則性がみられたが、その波長や振幅などは銘柄によってまちまちだった。

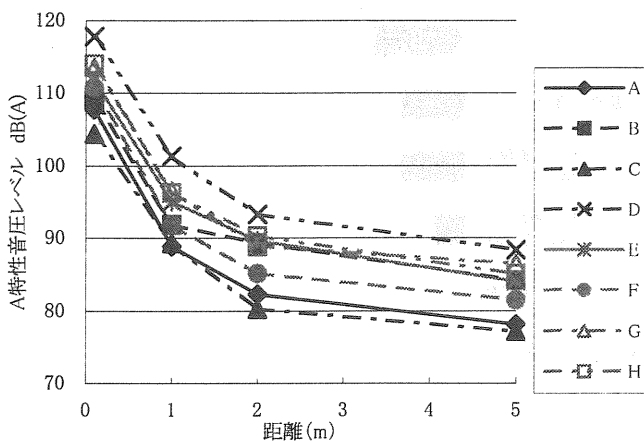


図4 防犯ブザーの音の距離減衰 (A特性)

2) 音量測定及び距離による音の減衰 (図4)

10cm 離れた場所では 104.4dB(A)~119.6dB(A)であったが、距離が大きくなるにつれ、1m では 15dB(A)~20dB(A)の減衰、2m では 20dB(A)~25dB(A)の減衰、そして 5m では 30dB(A)弱の減衰がみられた。

3) 建物外からの音に対して、窓を隔てた建物内での音の聞こえ方

窓を開けた状態で測定した際、62.1dB(A)~74.9dB(A)であった A 特性音圧レベルが、窓を閉めた状態では 42.4dB(A)~54.4dB(A)と、20dB(A)前後減衰し、人が小声で話す程度の音量となった。

以上 1)~3) より、遠くで防犯ブザーを聞けば小さな音となり、また屋外の音を窓を隔てて聴くとかなり小さく聞こえたことから、対策の一つとして今以上に防犯ブザーの音量を大きくすることが考えられたが、間近 (距離 10cm) で 100dB(A)以上の音圧レベルがあることを考慮すると、これ以上の音量の増加は、聴覚障害などの問題があるため望めないと推察された。その一方で、今回の測定結果から、銘柄によって音色が異なっていることから、パトカーや救急車のサイレンのように、小さな音量でも受け手側にははっきりと認知してもらうためには、防犯ブザーの音に関する統一的な規格を設けることが必要であると考えられた。

4 電池消耗度測定

1) 連続使用による電池寿命測定

基本的にボタン電池使用の銘柄は寿命が長く、乾電池使用の銘柄は基本的に寿命が長かった。ただ、同じ乾電池使用でも、音と連動してライトが点滅する銘柄 D については他よりも寿命が短かった。なお、アルカリ電池で連続使用した場合の電池寿命の表示があった銘柄については、どの銘柄も記載された時間より長い時間鳴り続けた。

2) 毎日動作確認を行った際の電池消耗度測定

5ヶ月目に 1 銘柄 1 検体で急激な音圧レベルの低下があり、また 5ヶ月目に起電力の低下が 1 銘柄 1 検体でみられたが、その他の 10 銘柄 18 検体については、5ヶ月以上経過しても電池寿命とならなかった。

5 携帯・使用テスト

1) 携帯テスト

16 名による携帯テストを実施したが、平均携帯回数は 4.8~6.0 回、また 1 回の平均携帯時間は 6.4~10.2 時間だった。

携帯する際はバッグに取り付けるモニターが多かったが、8 銘柄中 5 銘柄では、「(形が) 大きい」と回答したモニターがいた。また 5 銘柄では、携帯中にピンが抜けたりボタンが押されてしまい、不用意に音が鳴ってしまったと回答したモニターがいた。

2) 動作確認

平均確認回数は1.4~5.8回、1回の平均鳴動時間は3.9~6.5秒だった。全ての銘柄で確認時しっかりと鳴っており、またほとんどのモニターが、「(ピンの抜き差しなどが)スムーズに出来た」と回答した。

一方、音の大きさ、音の高さ及び音のインパクトを通して、「この音は防犯ブザーの音である」と確認してもらえるか聞いたところ、8銘柄中6銘柄で「思わない」と回答したモニターがあり、その理由の大半は「音のインパクトに満足がいけない」と回答した。

3) 電池交換

平均交換回数は全ての銘柄で1.0回、1回の平均交換時間は3.5分~9.9分だった。

交換の作業に手間取ったモニターが多く、全員が「手間だった」と回答した銘柄もあった。また、電池ボックスの「+」と「-」の判断については、8銘柄中6銘柄で「すぐに判断できなかった」と回答したモニターがいた。

以上1)~3)より、防犯ブザーが携帯中に不用意に音が鳴ってしまったり、電池交換に手間がかかるなどの機器本体の不具合があることがわかった。防犯ブザーを製造する際には、携帯中に簡単にピンが抜けたりボタンが押されたりしないよう、必要な強度を保つように改善することが望ましい。また、電池の出し入れを簡単にしたり、ブザー本体がスムーズにはめ合わせられるよう、電池を交換しやすい構造に改善することが望まれた。

6 音に関する認知テスト

表2に示したように、防犯ブザーを除く9種類の音については正答率が高かったが、防犯ブザーについては、いずれも正答率が25%未満であり、特にそのうちの1種(銘柄A)は正答率が1.9%と極めて低い状態にあり、本来助ける側になるはずの聞き手にはほとんど認知されない可能性があると考えられた。また、防犯ブザーの誤答の内容から、「おもちゃの音」、「携帯電話の着信音」、「目覚まし時計の音」、「虫の鳴き声」など、生活の中にある電子音等と似ていて区別がつきにくく、また何の音か答えられなかった人も多かった。

防犯ブザーの音が聞き手側にはっきりと認知され、それにより危険を察知し行動を起こしてもらうことで初めて防犯ブザーとしての存在意義を成し得る。そのためには、防犯ブザーを携帯・使用する人だけでなく、音の受け手である地域の住民にも防犯ブザーの存在や音色を知ってもらう必要があると考えられた。

表2 音の認知テスト結果

音の種類	正答	(正答率)	誤答	回答不能
防犯ブザー(平均)	7.0	(13.2%)	32.0	14.0
銘柄A	1	(1.9%)	32	20
銘柄B	7	(13.2%)	32	14
銘柄C	13	(24.5%)	32	8
その他の生活音(平均)	50.3	(95.0%)	2.3	0.3
雷鳴	44	(83.0%)	9	0
(秋の)虫の鳴き声	45	(84.9%)	8	0
水の流れる音	51	(96.2%)	2	0
うぐいすの鳴き声	51	(96.2%)	1	1
犬の鳴き声	51	(96.2%)	0	2
消防車のサイレン	52	(98.1%)	1	0
電車の走行音	53	(100.0%)	0	0
救急車のサイレン	53	(100.0%)	0	0
電話の呼び鈴	53	(100.0%)	0	0

まとめ

一連の調査及びテストを通じて明らかになった防犯ブザーの課題等については、次のとおりである。

- 1) 表示に不備がある項目や銘柄間で表現が統一されていない項目などについては、今後メーカー側で改善することが望ましい。
- 2) 携帯・使用テストからわかった、電池交換のやりにくさや不用意に音が鳴ってしまうなどの機器本体の不具合については、今後メーカー側で改良・改善することが望ましい。
- 3) 防犯ブザーには特に「決まった音」がない。最近の住宅の防音化を考慮に入れた時、小さな音でも瞬時に「これは防犯ブザーの音だ」とわかるためにも、銘柄間で防犯ブザーの音質(音色)についての統一規格を設けることが望ましい。
- 4) 使用する人だけでなく、助ける側の人にも防犯ブザーの性能や音色などを周知する必要がある。防犯組織などで防犯ブザーの実音を聞かせる「実音デモ」を行ったりすることで、防犯ブザーの音をはっきりと認知されるよう、地域全体に広めることが望ましい。

文献

- 1) 法務省法務総合研究所：平成14年版 犯罪白書，第5編(2002)

パッシブサンプラーによる工場周辺の 有害大気汚染物質濃度分布調査

環境科学スタッフ

房家正博, 村松重緒, 浅岡龍郎

静岡県立大学

大関麻由果, 大浦 健, 雨谷敬史

Distribution of Hazardous Air Pollutants Nearby Industries collected by Passive Sampler

Masahiro FUSAYA, Shigeo MURAMATSU, Tatsuro ASAOKA,
 Mayuka OHZEKI, Takeshi OHURA and Takashi AMAGAI

分子拡散を利用したパッシブサンプリング法の一般環境への適用性を検討するために、PRTR 法対象事業所周辺での有害大気汚染物質の濃度分布調査を実施した。

その結果、テトラクロロエチレンのように発生源が限られている物質については、当日の風配図に従った濃度分布図が得られた。また、ホルムアルデヒドは排出量が少なく、移動発生源や周辺工場からも排出している物質であるため、はっきりとした分布を得ることができなかった。さらに、トルエン、クロロホルムなどについても排出の多い区域の濃度が高くなり、各物質の測定結果がその排出情報に応じた濃度分布を示したことから、パッシブサンプリング法による測定が一般環境に適用できることを認めた。

Key words: 有害大気汚染物質, パッシブサンプラー, PRTR 制度, 濃度分布

hazardous air pollutant, passive sampler, PRTR system, distribution of concentration

はじめに

PRTR 法で指定された有害大気汚染物質については、工場から環境に排出される量などが届出されることになった。しかし、届出の数値は実測値ではなく、非意図的生成物の排出も含めて、排出実態が明らかでない場合が多い。また、それらの物質を精度よく簡便に測定する手法は確立されておらず、周辺への影響についての実態も明らかでない場合が多い。

我々はこれまでに、各種有害化学物質について多地点同時サンプリングによる濃度分布図の作成を行ってきた¹⁻⁴⁾。しかし、サンプリングをアクティブサンプリング法で実施してきたため、測定地点数分のポンプとそれを動かす電池が必要であった。

有機溶剤用のパッシブサンプラーを屋外での調査に用いた例⁵⁻⁶⁾は報告されているが、アルデヒド類の

パッシブサンプラーを適用した報告例はほとんどみられない。これは、一般環境中のホルムアルデヒド、アセトアルデヒド以外のアルデヒド濃度が低いため、パッシブサンプリングで検出するのが困難なことがその一つの要因と考えられる。

我々は、アルデヒド類のパッシブサンプラーを用いた簡易採取法⁷⁾とその高感度分析法⁸⁻¹⁰⁾についても検討し、パッシブサンプリングでもアクティブサンプリングと同様に多種のアルデヒド類を測定しうる方法を確立してきた。

そこで、この手法の一般環境への適用性を検討するために、PRTR 法対象事業所周辺の有害大気汚染物質濃度調査を行ったので報告する。

調査方法

1 試薬・器具

アセトニトリル：高速液体クロマトグラフ用，トルエン-d8：大気汚染物質測定用，二硫化炭素：作業環境測定用（いずれも和光純薬工業製）

HPLC：LC-10Avp シリーズ（島津製作所製）GC/MS：

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市葵区北安東 4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-ando, Aoi-ku, Shizuoka, 420-8637, Japan)

HP6890/HP5972 (Hewlett Packard 製), GC/ECD : HP5890 series II (Hewlett Packard 製)
 パッシブサンプリング用カートリッジ : パッシブガスチューブ (有機溶剤用) 及び DNPH パッシブガスチューブ (アルデヒド・ケトン用) (柴田科学製)

2 試験方法

2.1 測定地点および測定時期

富士市田子の浦港付近の東西方向 7km (A~I), 南北方向に 4.5km (1~14) について, 500m メッシュに区切り, そのうちの 33 メッシュ (図 1: 上部が北) で 2004 年 3 月, 5 月, 8 月 (アルデヒド類は 9 月), 11 月に調査した. 調査対象区域の各メッシュ名を A-1, I-14 のように設定した. ここで, サンプリングを行ったメッシュは星印で示した.

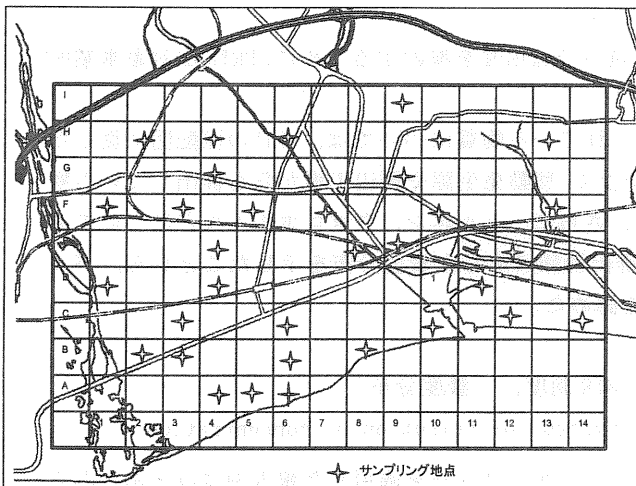


図 1 メッシュ区分と測定地点の概略

2.2 採取方法

2 種類のパッシブサンプラーを樹木やフェンス等に設置 (図 2) して 24 時間採取した. なお 6~7 地点に 1 個の割合でトラベルブランクの測定を行った.



図 2 サンプリング風景

2.3 測定方法

アルデヒド類 : チューブを切断し, 粉末を試験管に取出し, 30%アセトニトリル溶液 2.0ml で抽出し, HPLC 大量導入法により測定した.

有機溶剤類 : チューブを切断し, 粉末を試験管に取出し, 内部標準物質を含む蒸留二硫化炭素約 2ml で抽出. GC/MS 及び GC-ECD を用いて測定した¹¹⁾.

2.4 捕集量から濃度への換算

別にアクティブサンプリングと並行測定して求めた換算式^{10,12)}によって濃度を求めた.

2.5 コンターによる濃度分布図の作成

Gsharp version 2.0 (日本電子計算機) を用いて濃度分布図を作成した.

結果と考察

1 測定結果の概要

本調査では 27 物質について測定したが, ここでは PRTR 法の第 1 種指定化学物質で, この地域で特徴的な排出があるホルムアルデヒド, テトラクロロエチレン, トルエン及びクロロホルムについて解析を行った.

ホルムアルデヒド排出事業所 (届出 6t/y) は図 1 の A-5 に, テトラクロロエチレン (届出 49t/y) は C-8 に位置する. また, トルエンは製紙工場からの排出が多く, 富士市全体の大気への排出は 1400t/年以上となっており, 本調査対象区域では東側 (9~14) のメッシュに多く存在している. クロロホルムは製紙工場の塩素系漂白剤による非意図的生成 (届出 34t/y) として 2 社が排出を届出しており, E-13 の排水処理施設やその放流口となる C-11 付近での高濃度が予測される.

調査地点 F-7 の風配図 (測定日の平均) を図 3 に示した. 富士市の冬季の主風向は北北西, 夏季の主風向は南~南南西であることや, 一日の海風・陸風の変化によって得られた風配といえる. 調査区域はほぼ平地であることから, この風配が適用できると考える.

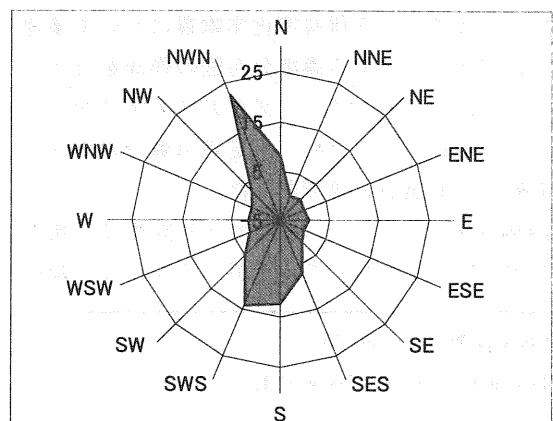


図 3 測定日の平均風配図

各物質の測定結果を表1に示した。各地点ごとの平均値から求めた幾何平均値は、ホルムアルデヒドの場合 $2.70 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、最大値地点は排出事業所に近いB-6の $3.36 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (幾何平均値の約1.2倍)であった。ホルムアルデヒドの濃度分布図(図4)でも排出源の東側がやや高くなっているように見えるが、他の地点との濃度差が少なく、発生源の影響として評価することは困難であった。

表1 各物質の濃度(平均値*) 単位: $\mu\text{g}/\text{m}^3$

地点番号	ホルムアルデヒド	テトラクロエチレン	トルエン	クロロホルム
A-4	2.63	0.081	9.21	0.117
A-5	2.59	0.082	7.85	0.134
A-6	2.87	0.090	9.95	0.122
B-2	2.47	0.220	6.73	0.096
B-3	2.57	0.090	13.8	0.491
B-6	3.34	0.094	9.29	0.147
B-8	2.87	2.45	11.5	0.134
C-3	2.43	0.075	6.63	0.089
C-6	3.03	0.081	8.95	0.134
C-10	2.34	0.102	11.0	0.190
C-12	2.52	0.091	12.8	0.492
C-14	2.38	0.088	38.2	1.35
D-1	2.15	0.068	6.25	0.101
D-4	2.76	0.077	9.92	0.139
D-11	2.98	0.116	17.0	0.632
E-4	2.70	0.089	7.31	0.112
E-8	2.91	0.494	15.2	0.170
E-9	3.36	0.152	12.0	0.198
E-12	2.70	0.096	33.7	0.225
F-1	2.13	0.070	5.94	0.148
F-3	2.36	0.121	7.99	0.128
F-5	3.07	0.098	12.3	0.166
F-7	3.31	0.191	19.3	0.227
F-10	3.02	0.151	18.8	0.337
F-13	3.29	0.094	21.6	0.510
G-4	2.41	0.099	17.4	0.173
G-9	3.35	0.272	17.6	0.197
H-2	2.21	0.079	6.09	0.105
H-4	2.99	0.108	12.7	0.207
H-6	2.91	0.157	16.3	0.194
H-10	3.20	0.166	22.1	0.179
H-13	2.29	0.077	21.7	0.243
I-9	1.83	0.169	11.4	0.139
MAX	3.36	2.45	38.2	1.35
MIN	1.83	0.068	5.94	0.089
GEOMEAN	2.70	0.123	12.3	0.192

* : 4回の測定値の算術平均値

テトラクロロエチレンの幾何平均値は $0.123 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、最大値はB-8の $2.45 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (幾何平均値の約20倍)であった。これは事業所のあるC-8の南側であり、北風の場合にこの事業所の影響を受けることになる。さらにE-8の $0.49 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、G-9の $0.27 \mu\text{g}/\text{m}^3$ など南風の場合に濃度が高くなる地点の濃度も比較的高濃度であった。テトラクロロエチレンの濃度分布図を図5に示した。テトラクロロエチレンはその

使用・排出をしている事業所以外からの影響は少ないことから、PRTR届出事業所の影響を検知できたものとする。

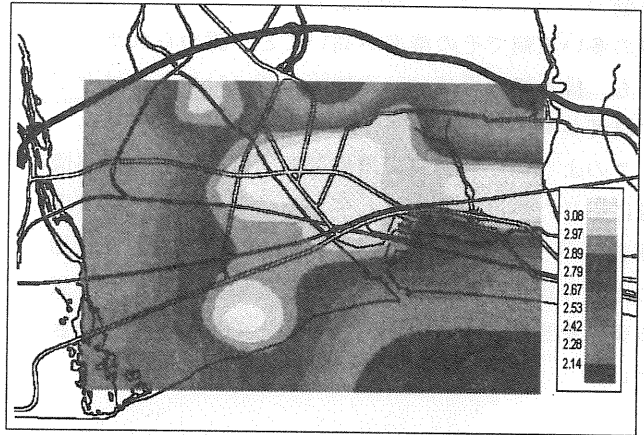


図4 ホルムアルデヒドの濃度分布図

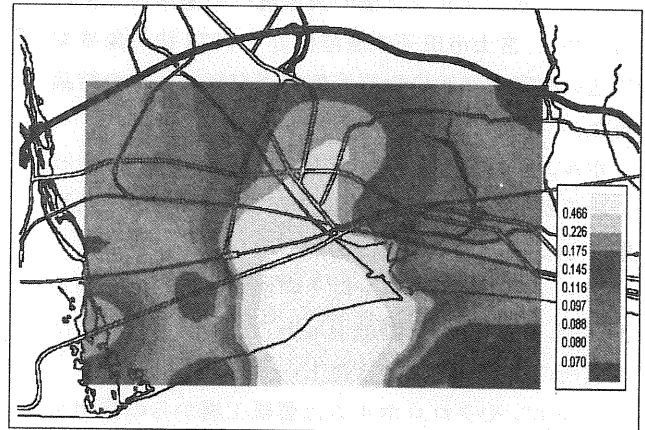


図5 テトラクロロエチレンの濃度分布図

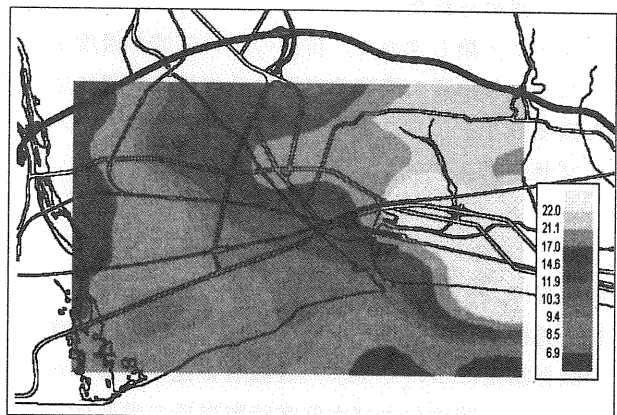


図6 トルエンの濃度分布図

トルエンの幾何平均値は $12.3 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であるが、東側(9~14)のメッシュ(12地点)の平均値は $19.8 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、西側(1~8)のメッシュ(21地点)の平均値は $10.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、排出源の多い東側でその濃度が高いことが認められた。トルエンの濃度分布図(図6)でも排出源の多い東側が高くなっていることが判る。

クロロホルムもトルエンと同様に製紙工場からの排出が主体と考えられる。クロロホルムの幾何平均値は $0.192 \mu\text{g}/\text{m}^3$ で、東側のメッシュは $0.409 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、西側のメッシュは $0.160 \mu\text{g}/\text{m}^3$ となり、やはり排出源の多い東側でその濃度が高いことが認められた。しかも、排水処理場(E-13)や放流口(C-11)のある付近での濃度が高いことも確認された。

このように、各物質の濃度分布図はそれらの排出情報に応じた濃度分布を示していることから、一般環境調査にパッシブサンプリング法が適用できることを認めた。今後は、拡散計算プログラムに発生源情報や気象条件を当てはめて計算した結果との比較をしていきたい。

まとめ

パッシブサンプリング法の実環境への適用性を検討するために、富士市田子の浦港付近でPRTR法対象事業所周辺の有害大気汚染物質濃度調査を行い、次の結論を得た。

- 1) ホルムアルデヒドは排出源の東側がやや高くなっているが、他の地点との濃度差が少なく、発生源の影響として評価することは困難であった。
- 2) テトラクロロエチレンはその使用・排出している事業所以外からの影響は少ないことから、PRTR届出事業所の影響を検知できたものとする。
- 3) トルエンやクロロホルムは製紙工場からの排出が主体と考えられ、排出源の多い東側でその濃度が高いことが認められた。
- 4) アルデヒド類も含めて、排出の多い区域の濃度が高くなり、各物質の濃度分布図はその排出情報に応じた濃度分布を示したことから、一般環境調査にパッシブサンプリング法を適用できることを認めた。

文献

- 1) 房家正博, 雨谷敬史, 大浦健, 杉山智彦, 杉崎充, 松下秀鶴: 富士市における有害大気汚染物質濃度の調査結果について (1) - 各種有害化学物質の汚染状況, 相関性および大気常時監視局の地域代表性についての検討 -, 環境化学, 11, 525-537 (2001)
- 2) 房家正博, 篠原英二郎, 雨谷敬史, 大浦健, 杉山智彦, 杉崎充, 村上篤司, 松下秀鶴: 富士市における有害大気汚染物質濃度の調査結果について (2) - 各種有害化学物質の濃度分布図の作成と汚染原因の推定 -, 環境化学, 11, 539-547 (2001)
- 3) 房家正博, 篠原英二郎, 杉崎充, 雨谷敬史, 大浦健, 杉山智彦, 村上篤司, 松下秀鶴: 静岡県清水市における大気汚染実態調査結果について (その3) アルデヒド類と有機ハロゲン化合物, 第10回環境化学討論会, 松山 (2000)
- 4) 房家正博, 篠原英二郎, 松下秀鶴, 雨谷敬史, 大浦健, 村上篤司, 杉山智彦: 静岡市における大気汚染実態調査結果 (その3) アルデヒドと有機ハロゲン化合物, 第11回環境化学討論会, 箱根 (2002)
- 5) 情野正道, 佐藤慎二, 森野美鶴ほか: 低沸点有機塩素化合物の発生源周辺の大気汚染濃度とその発癌性リスク評価, 仙台市衛生研究所報, 25, 173-179 (1995)
- 6) 山口貴史, 山口安宣, 林治稔ほか: 廃棄物処分場から発生する揮発性有機化合物の簡易測定法の検討, 全国環境研会誌, 29(4), 190-195 (2004)
- 7) 房家正博, 古屋佳宏, 松下秀鶴, 野田高広, 大浦健, 雨谷敬史: アルデヒドのパッシブサンプリング法の検討, 静岡県環境衛生科学研究所年報, 45, 57-60 (2002)
- 8) 鈴木守正, 房家正博, 大浦健, 雨谷敬史, 松下秀鶴: アルデヒド類のパッシブサンプリング-高感度分析手法の開発, 平成15年度室内環境学会研究発表会, 東京 (2003)
- 9) 房家正博, 鈴木守正, 浅岡龍郎, 松下秀鶴, 大浦健, 雨谷敬史: アルデヒド類-DNPH誘導体のHPLC高感度分析法について, 静岡県環境衛生科学研究所年報, 46, 75-78 (2003)
- 10) Masahiro Fusaya, Takeshi Ohura, Morimasa Suzuki, Takashi Amagai and Hidetsuru Matsushita: Development of Highly Sensitive Method for Determining Atmospheric Carbonyl Compounds by Passive Sampler and Application of the Method to a Survey of Indoor Air. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 84, 1035-1044 (2004).
- 11) 雨谷敬史, 大浦健, 房家正博, 松下秀鶴: 静岡県静岡市における大気汚染実態調査結果 (その3) ベンゼン及びその誘導体と揮発性有機ハロゲン化合物, 第44回大気環境学会, 京都 (2003)
- 12) 鈴木守正, 房家正博, 浅岡龍郎, 松下秀鶴, 大浦健, 雨谷敬史: アルデヒド類のパッシブサンプリング法の適用性について, 静岡県環境衛生科学研究所年報, 46, 79-82 (2003)

ヒト及びメダカのエストロゲン受容体遺伝子導入酵母を用いた酵母ツーハイブリッド・アッセイ法による 化学物質と環境水のエストロゲン活性の比較

環境科学スタッフ 深澤 均, 渡邊雅之

Estrogenic Activity in the Yeast Two-Hybrid Assay using Recombinant Yeast containing the Human and Medaka Estrogen Receptor Gene for Chemicals and Environmental Water Samples

Hitoshi FUKAZAWA and Masayuki WATANABE

環境ホルモン物質の生態系への影響を把握する目的で、hER α 及びmER α の受容体をそれぞれ導入した酵母ツーハイブリッド・アッセイ試験系で、化学物質と県内の環境水のエストロゲン活性を測定した。その結果、感熱紙に用いられる化学物質や植物エストロゲンに対してmER α 試験系はhER α 試験系より活性が低濃度で発現する傾向が認められた。また環境水においてhER α とmER α 試験系でエストロゲン活性の強度に相違が認められた。

これらの結果から水環境中のエストロゲン活性試験をhER α 試験系とmER α 試験系で併行して行い、活性発現の相異をみることは、その活性の寄与が人畜由来のE2類か人工化学物質由来によるのか推測も可能となり、水環境中のエストロゲンの実態把握や活性の原因物質の究明に有効であることが確認された。

Key words: 環境ホルモン物質, 酵母ツーハイブリッド・アッセイ, エストロゲン活性
endocrine disrupters, yeast two-hybrid assay method, estrogenic activity

はじめに

環境ホルモン物質による汚染の生態系への影響を評価するには、その環境中における環境ホルモン物質の存在状況や活性強度を明らかにすることが求められる。環境ホルモン物質の活性を試験管内で試験する系は、受容体結合試験、酵母を用いたレポータ遺伝子発現試験、酵母を用いたツーハイブリッド試験、MCF-7細胞を用いた細胞増殖試験等ある¹⁾が、これら試験法は元来、化学物質の活性のスクリーニング試験に開発されたものであり、必ずしも環境試料への適用を意図されたものではない。環境ホルモン物質の活性をスクリーニングする方法のうち酵母ツーハイブリッド・アッセイ法²⁾は、多数の検体を簡便な操作で迅速に感度良く試験できるという特長を有しており、環境試料である

一般河川水、工場排水、産廃処分場の浸出水等に応用されている。

最近alkylphenol類がヒメダカに対して比較的高いエストロゲン活性を示すことが報告されたことから、西川ら³⁾はヒトのエストロゲン受容体(hER α , hER β)遺伝子とメダカ(*Oryzias latipes*)のエストロゲン受容体(mER α , mER β , mER γ)遺伝子を導入した酵母アッセイ法において上記受容体の相違による活性の比較を行った。その結果、alkylphenol類がmER α ではhER α に比べ感受性が高くなり、エストロゲン作用は生物種間及び受容体タイプにより感受性の違いがあることを認めた。そして生態系への影響を評価するにはヒト以外のERを用いた試験も必要であると指摘した。さらに白石ら⁴⁾は種々の環境水・排水にこのhER α とmER α の両受容体を用いた試験系を併用し、両受容体の感受性の違いを考慮することにより、水環境中で活性を示す物質が人畜由来の17 β -エストラジオール(E2)か人工化学物質か推測でき、環境水中のエストロゲン活性の特性がより詳細に評価出来る可能性を報告して

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市葵区北安東4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-ando, Aoi-ku, Shizuoka, 420-8637, Japan)

いる。

本研究では hER α と mER α の両試験系を用いエストロゲン活性の測定を、①環境中へ排出される可能性のある化学物質と②静岡県内の環境水について実施し、それぞれのエストロゲン活性の発現強度を比較検討した。その結果、両試験系の併用は従来の hER α 試験系からの結果から得られる情報に加え、化学物質と環境水のエストロゲン活性の把握に有用な情報が得られることが確かめられたので報告する。

調査方法

1 被験物質

試験には、感熱紙の関連試薬 14 種のうち、bisphenol A (BPA : 環境分析用), benzyl 4-hydroxybenzoate, p-terphenyl (特級), phenyl 1-hydroxy-2-naphthoate (1 級) は関東化学製, triphenylmethane, 4-benzylbiphenyl (特級), o-terphenyl, m-terphenyl, dibenzylterephthalate, bis(4-hydroxyphenyl)sulfone [bisphenol S (BPS): 1 級] は和光純薬製、及び benzyl 2-naphthylether は Avocado Research Chemicals Ltd を用いた。4-hydroxyphenyl 4-isopropoxyphenyl sulfone (monoisopropyl-BPS), bis(4-isopropoxyphenyl)sulfone (diisopropyl-BPS) 及び 1,2-bis(3-methylphenoxy)ethane は既報⁵⁾ により合成・精製したものをを用いた。植物性のフラボノイド類 6 種のうち、chrysin (>98%) は Lancaster lab 製を、apigenin (>98%), daidzein (>95%), genistein (>96%), naringenin (>90%) 及び (+)-catechin (>95%) は東京化成製を用いた。

2 環境水の前処理

環境水試料は、450℃で熱処理しアセトン洗浄したガラス繊維ろ紙 (GF/C, 45mm ϕ , Whatman 製) を用いる過した。次いで予めジクロロメタン、メタノール各 10 ml ずつで洗浄し、精製水 30mL でコンディショニングした固相ディスク (C18FF, 47mm ϕ , 3M 製) に吸引マニホールド (3M 製) を用いてろ液 500ml を通水した。固相ディスクを精製水で洗浄、減圧脱水後、ガラス製シャーレに移し、ホットプレートで 37℃, 1 時間乾燥させた。次いでジクロロメタン 8ml (4ml \times 2 回) で溶出し、溶出液を窒素気流下蒸発乾固した。エストロゲン活性の測定日まで -20℃で凍結保存しアッセイ測定用検体とした。

3 エストロゲン活性の測定

被験物質及び環境水を前処理したアッセイ測定用検体はジメチルスルフォキシド (DMSO) で溶解し、濃度

調整したものを試験液とした。エストロゲン活性の測定は、西川ら⁶⁾ の酵母ツーハイブリッド法により作成した遺伝子組換え酵母エストロゲン活性試験法を 96 ウェルマイクロプレートと化学発光法の採用により迅速且つ鋭敏に測定できるよう白石ら²⁾ が開発した酵母ツーハイブリッド・アッセイ法で測定した。また、代謝物によるエストロゲン活性をも検討するため、試験液そのままの試験 (-S9 試験) に加えて、ラット肝 S9 により 37℃, 1 時間処理した試料について行う試験 (+S9 試験) を併せて行った。

4 発光細菌毒性試験

急性毒性試験は試験液を前記 2 と同様な操作で調製し、「発光細菌 *Photobacterium phosphoreum* を用いた発光細菌毒性試験」⁷⁾ (以下 P.B. test と表記) により行った。

5 溶解性有機体炭素 (TOC) の測定

環境水の TOC はガラス繊維ろ紙 (GF/C, Whatman 製) で浮遊物質 (SS) をろ過後、TOC-5000A (島津製) を用いて測定した。

結果と考察

1 化学物質のエストロゲン活性

著者らは今までに古紙再生工場排水中に排出される BPA は古紙原料中に混入した感熱紙に由来すること、また感熱紙が古紙中に混入されると、感熱紙中に用いられている BPA 以外の化学物質も、古紙再生紙工場の排水中に排出されていく可能性があることを報告^{5, 8)} してきた。またフラボノイドは大豆やお茶等の植物性食品に含まれていることから生活排水中に排出される可能性がある。今回エストロゲン活性の測定に供した物質はこのように環境中に排出される可能性のあるものを選び、感熱紙に関連した 14 化合物と植物エストロゲン物質であるフラボノイド 6 種の計 20 物質である。

感熱紙中には顕色剤、発色増感剤や染料原料等の化学物質が用いられている^{9, 10)}。顕色剤として主に BPA が使用されていたが 2000 年以降は BPS や monoisopropyl-BPS 等が代替品として用いられている⁵⁾。Diisopropyl-BPS は BPS から monoisopropyl-BPS を合成する際、isopropyl 化が進行して得られた物質であり、感熱紙には用いられていないが活性比較のため測定した。Triphenylmethane は発色染料の基本骨格を成すものである。Terphenyl は m-体が増感剤として用いられているが、o-, p-体はその異性体であることから同時にアッセイにかけた。その他は実際に感熱紙の薬品として用いられているものである。

供試した 20 物質の mER α と mER α 試験系におけるエ

表1 感熱紙関連物質とフラボノイドのエストロゲン活性と急性毒性

No.	compound	estrogenic activity (EC ₁₀ : nM) [*]		relative activity (bisphenolA) (-S9, hERα = 1.0)		P.B.test (IC ₅₀ : nM) ^{**}	
		hERα	mERα	hERα	mERα		
		-S9	+S9	-S9	+S9		
1	bisphenol A	-S9	6,100	2,000	1.0	3.0	—
		+S9	— ^{***}	2,900		2.1	
2	bisphenol S	-S9	—	—			—
		+S9	—	—			
3	monoisopropyl of bisphenol S	-S9	—	—			—
		+S9	—	—			
4	diisopropyl of bisphenol S	-S9	—	—			—
		+S9	—	—			
5	benzyl 4-hydroxybenzoate	-S9	1,800	250	3.3	24.2	2,200
		+S9	—	—			
6	triphenylmethane	-S9	—	930		6.6	—
		+S9	1,500	300	4.1	20.4	
7	o-terphenyl	-S9	4,600	1,400	1.3	4.3	—
		+S9	4,400	240	1.4	25.4	
8	m-terphenyl	-S9	—	—			—
		+S9	—	2,200		2.7	
9	p-terphenyl	-S9	—	—			—
		+S9	—	—			
10	phenyl 1-hydroxy-2-naphthoate	-S9	—	—			1,700
		+S9	—	—			
11	benzyl 2-naphthylether	-S9	—	—			9,700
		+S9	—	—			
12	4-benzylbiphenyl	-S9	—	—			6,400
		+S9	—	4,200		1.5	
13	1,2-bis(3-methylphenoxy)ethane	-S9	—	—			—
		+S9	—	—			
14	dibenzyl terephthalate	-S9	—	—			—
		+S9	—	—			
15	genistein	-S9	312	160	19.6	38.1	—
		+S9	1,385	1,787	4.4	3.4	
16	naringenin	-S9	—	1,527		4.0	—
		+S9	—	—			
17	apigenin	-S9	—	1,023		6.0	—
		+S9	—	—			
18	chrysin	-S9	—	1,031		5.9	—
		+S9	—	—			
19	daidzein	-S9	—	—			—
		+S9	—	—			
20	(+)catechin	-S9	—	—			—
		+S9	—	—			

*) EX10 はブランク値の 10 倍の化学発光強度を示す濃度を表す。

**) IC₅₀ は発光細菌の 50% 生育阻害を示す濃度を表す。

***) — は < 10, 000nM で活性が認められないことを示す。

エストロゲン・アゴニスト活性の測定結果を表1に示す。エストロゲン活性をブランク値に対し 10 倍の強度を示す濃度 (EC₁₀) の値とともに 物質間の相対的な活性強度を示すため、BPA の hERα 試験系の -S9 試験における活性を 1.0 として、それぞれ EC₁₀ から換算して相対活性強度を求め示した。

感熱紙に関する化学物質 (表1, No. 1~14) の hERα と mERα 試験系による結果より、活性のあった 6 物

質のいずれも mERα で活性が強いことが認められた。またこの 6 物質のうち -S9 試験に対し +S9 試験で BPA と benzyl 4-hydroxybenzoate は活性が弱いか認められなくなっていたが、他は活性が強まっていた。一般的にエストロゲン活性を示す物質はフェノール性水酸基を有し、そのパラ位に疎水性基が存在することが重要であると指摘されている¹¹⁾。本研究で対象にした物質でフェノール性水酸基を有する化合物のうち BPA と

benzyl 4-hydroxybenzoate は活性を示したが、BPS と monoisopropyl-BPS は活性を示さなかった。したがってエストロゲン活性の発現にはフェノール性水酸基のみならず他の部位の寄与もかなりあると考えられる。またフェノール性水酸基を有していない triphenylmethane, o- 及び m-terphenyl, 4-benzylbiphenyl は+S9 試験で活性が強まるということが認められた。これはこれら物質と化学構造の類似している diphenyl, diphenylmethane と methoxychlor は proestrogen であり、ラット肝のミクロゾームによりそれぞれ水酸化体が生成され活性を示すという報告^{12,13)}があることから、同様にこれら物質が S9 代謝酵素の処理により水酸化体が生成したためと推測された。

フラボノイド (表1, No. 15~20) に関しては mER α 試験系では6種のうち4種で活性が認められ、その活性の強さは-S9 試験で genistein > apigenin = chrysin = naringenin であり、daidzein と catechin は活性が認められなかった。hER α 試験系は genistein 1種のみ活性が認められた。+S9 試験系では genistein が hER α と mER α 試験系で-S9 試験に比し活性の低下がみられ、その他はいずれも活性が認められなかった。

今回の酵母ツーハイブリッド・アッセイ法によるエストロゲン活性のアッセイ結果で、化学物質は mER α

試験系において hER α 試験系より活性が強く発現しやすいことが示唆された。このことはノニルフェノール (NP) 等のアルキルフェノール類において、mER α の試験系で活性が発現し易いという白石らの報告⁴⁾と同様な傾向であった。

2 環境水のエストロゲン活性

環境水調査は静岡県内の14地点で採水した。環境水調査は2003年8月、10月、12月の計3回実施し、その hER α と mER α 両試験系によるエストロゲン活性、急性毒性の指標となる発光細菌毒性 (P.B. test) 及び有機汚濁の指標である TOC の測定結果を表2に示す。これらの調査地点のうち一般河川 (表2, R-1~R-7) は過去の県内における化学物質の汚染実態調査で化学物質の検出率の高い河川と、平成13年度におけるPRTR法に基づく化学物質の排出量の届け出調査で算出量の多い河川を選択し、それぞれ下流部の橋で採水した。また前述したように製紙工場排水中からBPAが高濃度で検出されたことからその排水の影響を把握するため、その排水に関連した水域 (表2, E-1, E-2, R-3, P-1, P-2) についても採水した。

環境水のエストロゲン活性の測定結果から、製紙排水が流入した地点に大きな特徴が見られた。すなわち、これら地点では hER α 試験で活性の発現が認められな

表2 感熱紙関連物質とフラボノイドのエストロゲン活性と急性毒性

No.	Sampling Points		estrogenic activity									P.B.test (IC ₅₀ ;C.R.) ^{***)}			TOC (ppm)		
			test type	humanER α (ppt as E2)			medakaER α (ppt as E2)			Aug.	Oct.	Dec.	Aug.	Oct.	Dec.		
				Aug.	Oct.	Dec.	Aug.	Oct.	Dec.								
1	R-1	River	(-S9)	— ^{*)}	—	0.2	— ^{*)}	—	—	— ^{**)}	—	—	2	2	2		
			(+S9)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	2	3	
2	R-2	River	(-S9)	—	0.2	—	—	7.4	1.2	—	—	—	3	2	3		
			(+S9)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
3	R-3	River	(-S9)	—	—	0.1	4.3	3.1	3.1	51	69	35	10	7	9		
			(+S9)	—	—	—	5.2	—	3.0	—	—	—	—	—	—	—	
4	R-4	River	(-S9)	—	—	—	—	—	2.2	—	—	—	1	2	1		
			(+S9)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
5	E-1	Effluent	(-S9)	—	—	—	13	14	19	21	22	15	25	28	37		
			(+S9)	—	—	—	14	5.5	10	—	—	—	—	—	—	—	
6	E-2	Effluent	(-S9)	—	—	—	5.7	22	11	31	29	20	29	38	47		
			(+S9)	—	—	—	13	12	11	—	—	—	—	—	—	—	
7	P-1	Port	(-S9)	—	—	—	5.1	7.1	7.0	55	36	43	12	16	14		
			(+S9)	—	—	—	7.3	4.7	4.8	—	—	—	—	—	—	—	
8	P-2	Port	(-S9)	—	—	—	3.5	3.1	3.6	63	46	43	9	8	9		
			(+S9)	—	—	—	3.5	0.6	1.2	—	—	—	—	—	—	—	
9	R-5	River	(-S9)	0.5	0.1	0.5	2.2	1.6	2.3	—	73	—	4	4	4		
			(+S9)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
10	R-6	River	(-S9)	—	—	—	—	—	—	—	79	—	2	3	1		
			(+S9)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
11	R-7	River	(-S9)	0.3	—	1.9	—	—	3.8	—	—	—	2	2	3		
			(+S9)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

*) — : <0.1ppt, **) — : >100 C.R.

***) IC₅₀;C.R. は発光細菌の50%生育阻害を示す試料の濃縮度を表す。

かったが、mER α 試験系では強い活性を示したことである。製紙排水の流入割合が大である工場専用排水はその末端排出口（表2, E-1 と E-2）を経由して港内へ排出されている。P-1 は港内のほぼ中央付近岸壁地点で、P-2 は港出口（灯台付近岸壁地点）であり、それぞれ E-1 と E-2 の下流域にありそれらの影響を受けている。R-3 は港内に注ぐ河川であるが、E-1 の近傍にあることから満潮時には逆流によりその水質の影響を受けている。製紙排水が流入した E-1 地点の 12 月調査時のエストロゲン活性と発光細菌毒性を図 1(a) に示す。表 2 と 図 1(a) で示したようにこの製紙排水が流入した地点ではエストロゲン活性が mER α 試験系のみで認められ、hER α 試験で認められなかった。その理由は、試料中に hER α 試験で活性を示す物質が存在しなかったのではなく、hER α 試験系に対しアゴニスト作用の発現を抑制する物質が存在していたことを確認した。具体的には、実際に製紙排水中に含まれており、エストロゲン活性を有している BPA をこの実排水へ添加した実験系で活性の発現を検討した。その結果、排水を調査方法 2 の項の操作により 100 倍濃縮した検液（濃縮度（C.R.）=100）に BPA を 50 μ M になるように添加した試験で、BPA の DMSO 溶液で発現する活性強度が抑制されることを確かめた。そしてこの排水中に含まれているアゴニスト活性の抑制物質は樹脂酸であるデヒドロアピエチン酸（DHA）であることを同定確認した。DHA はアピエチン酸の関連物質とともに製紙工程でサイズ剤として幅広く用いられている¹⁴⁾ ことから、紙製品を新たに製造する場合でも、古紙原料を再利用する場合でも排水中に排出されると推測された。実排水中の DHA の濃度は測定してないが、排水を調査方法 2 の項で記載した方法で前処理し、ジクロロメタンで調製した検液の GC/MS のクロマト上の成分ピーク強度から BPA と同程度の濃度で存在しているものと推測された。また、mER α の試験系においてはこの DHA はアゴニスト活性の抑制作用は示さないことを確認した。このように、両試験のうち製紙排水中には hER α 試験系でのみ、エストロゲン活性の発現を抑制する物質が存在することが確かめられた。このことから異なる試験系の併用は意義あることと考えられる。また著者らは現在 mER α 試験系で活性を示す物質を分画操作等により検索を行っているところである。

次に特徴の見られた地点は R-5 であり、+S9 試験において活性はいずれも認められなかったが、-S9 試験においては 3 回の調査とも hER α と mER α 両試験系で全て弱い活性が認められた。このことからこの地点の上流部に何らかの恒常的な発生源が存在することが示

唆された。当河川は上流域から住宅地や工場の共存する市街化地域をなだらかに流下しており、下流部の測定地点までに衛生プラント排水や工場排水等も流入している。当地点の 12 月調査時のエストロゲン活性と発光細菌毒性を図 1(b) に示す。

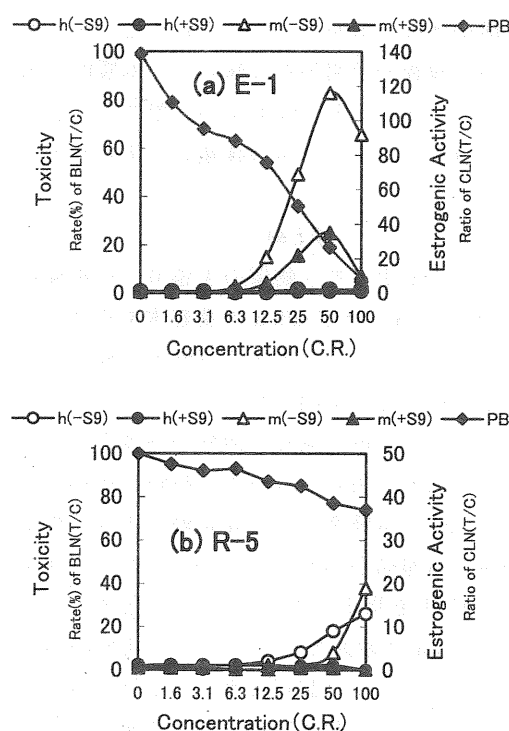


図 1 地点(a)E-1 と(b)R-5 における水試料中のエストロゲン活性と急性毒性
横軸は試料の濃縮倍数 (C.R.) を示す。
右側縦軸はエストロゲン活性を示す。
左側縦軸は発光細菌 (P.B.) の生育率を示す

この R-5 地点に現れているエストロゲン活性は、-S9 試験で活性がみられるが+S9 試験で活性が消失していること、hER α 試験系で立ち上がりがなだらかであり mER α 試験系と高濃縮側で交差する活性発現のパターンが見られた。この特徴は白石らの報告⁴⁾にある活性発現のパターンと類似していることから、この地点のエストロゲン活性は E2 の寄与が高いものと推察された。その他の地点は弱い活性の認められたが大きな特徴は見られなかった。

このように環境水の hER α と mER α 両試験系による測定において、エストロゲン活性が異なって発現していることが認められた。このことは前項の 1 で記したように化学物質そのものの両試験系によるエストロゲン活性の発現に相違が認められたことと同様な現象であった。この両試験系を併用したアッセイで hER α と mER α 両試験系の活性発現の相違を利用することにより、

一方の試験系では現れない特性を他方の試験系で検出可能なこともあり、水環境中で活性を示す原因物質の予測や検索には有効であると考えられた。

一方バイオアッセイは毒性の把握が総括的に出来ることがその特徴である反面、用いる試験系が異なると毒性の評価も異なることが指摘されている。そして試験系を増やせば、情報も多く得られることが当然予測されるが、経費や手間等を加味して、本質的な水質評価にアッセイとしてどの試験系が必要で且つ有効であるのか判断することも今後の課題と考えられる。

まとめ

本研究は、環境ホルモン物質の生態系への影響を把握する目的で、hER α 及びmER α の受容体をそれぞれ導入した酵母ツーハイブリッド・アッセイ試験系で、工場排水や生活排水等に排出される可能性のある化学物質のエストロゲン活性を測定し活性の強度を求めた。その結果、感熱紙に用いられる化学物質や植物エストロゲンではmER α 試験系はhER α 試験系より活性が低濃度で発現する傾向があることがわかった。また県内の環境水の活性を測定したところ、環境水においてhER α 及びmER α 試験系でエストロゲン活性の強度に相違が認められた。特に製紙排水が含まれる場合は、mER α 試験系はhER α 試験系より活性が強く発現する傾向があった。

これらの結果は環境ホルモン物質による水環境中の生態系への影響、すなわち水生生物、特に魚類への影響を見る場合には、試験系の受容体にhER α よりmER α を用いる方が感度良く測定できる可能性が示唆された。そしてhER α 試験系とmER α 試験系を併行して行い、活性発現の相違をみることにより、人畜由来のE2類か人工化学物質由来によるのか推測も可能となり、水環境中のエストロゲン活性の実態把握や活性の原因物質の究明に有用な情報を与えることが期待された。

謝辞

本研究は(独)国立環境研究所との共同研究の一部をまとめたものである。御指導いただいた白石不二雄先生に深謝いたします。

文献

- 1) 井上 達：内分泌攪乱化学物質の生物試験研究法、3-47、シュプリンガー・フェアラーク東京(株)、東京(2000)
- 2) 白石不二雄他：酵母 Two-hybrid System による簡便なエストロゲンアッセイ系の開発、環境化学、

- 10, 57-64 (2000)
- 3) 西川智浩他：ヒト及びメダカの各種エストロゲン受容体組み換え酵母による内分泌かく乱物質の感受性比較、第8回バイオアッセイ研究会・日本環境毒性学会合同研究発表会講演要旨集、34-35 (2002)
- 4) 白石不二雄他：メダカのエストロゲン受容体遺伝子導入酵母を用いるエストロゲンアッセイ法の水環境試料への適用、第12回環境化学討論会講演要旨集、58-59 (2003)
- 5) 渡邊雅之他：離解処理により古紙から発生するビスフェノールA等の化学物質の分析とエストロゲン活性、環境化学、14, 65-71 (2004)
- 6) Nishikawa, J. et al.: New screening methods for chemicals with hormonal activities using interaction of nuclear hormone receptor with coactivator. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **154**, 76-83 (1999)
- 7) 白石不二雄他：酵母を用いたエストロゲン・アンタゴニストアッセイ系の開発と有機スズへの応用。環境化学、11, 65-73 (2001)
- 8) Fukazawa, H. et al.: Formation of chlorinated derivatives of bisphenol A in waste paper recycling plants and their estrogenic activities. *J. Health Sci.*, **48**, 242-249 (2002)
- 9) PSE シリーズ編纂委員会編：特殊機能紙 2001, 214-242, 紙業タイムス社、東京(2001)
- 10) 紙と加工の薬品事典編集委員会編：紙と加工の薬品事典, 284, テックタイムス、東京(1991)
- 11) Nisihara, T. et al.: Estrogenic activities of 517 chemicals by yeast two-hybrid assay. *J. Health Sci.*, **46**, 282-298 (2000)
- 12) Kitamura, S. et al.: Metabolic activation of proestrogenic diphenyl and related compounds by rat liver microsomes. *J. Health Sci.*, **49**, 298-310 (2003)
- 13) Kupfer, D. et al.: Metabolic activation of pesticides with proestrogenic activity. *Federation Proceedings*, **46**, 1864-1869 (1987)
- 14) D.F.Zinkel et al.: Naval Stores: Production • Chemistry • Utilization, Pulp Chemical Association, NY(1989): 長谷川吉弘, 松の化学生産・化学・用途(上), 747-814, ハリマ化成(株), 大阪(1993)

ため池における茶園からの流出負荷量削減に関する研究

大気・水質部 水質環境スタッフ 瀧本俊晴, 石渡達也, 岡崎幸司

河合 渉

Study on Removal Effect of Runoff Loads from Tea Field in a Pond

Toshiharu TAKIMOTO, Tatsuya ISHIWATA, Kouji OKAZAKI and Wataru KAWAI

茶園からの施肥に伴う流出物質の実態やその特性を把握するとともに、茶園周辺に存在するため池での水質浄化機能について調査を行った。茶園からの流出窒素の形態は大部分が硝酸性窒素であり、その濃度は茶園の形状あるいは気象条件により変わることが判明した。流出物質では硫酸イオンが最も高く、各流出物質の濃度比はおおよそ一定であった。また、滞留時間の長いため池は、硝酸性窒素、各種イオンの浄化機能を有し、流出物質の有効な除去手段となることを確認した。

Key words : 茶園, 施肥, 窒素, 流出負荷

tea field, fertilization, nitrogen, runoff loads

はじめに

茶園では、高品質の茶葉を生産するため多量（年間540kg/ha前後¹⁾）の窒素肥料が施肥されている。施肥された窒素は、その多くがアンモニア性窒素から硝酸性窒素へと形態を変え地表水、地下水に流出していると考えられ、県内の一部の地域では施肥由来と思われる硝酸性窒素による地下水汚染が顕在化している。こうしたことから、茶園からの施肥に伴う流出物質の実態やその特性を把握するとともに、茶園周辺に存在するため池での水質浄化機能について調査を行ったのでその結果を報告する。

調査方法

1 調査方法及び調査時期等

調査は菊川町と大東町に位置する2ヶ所のため池（T池, Y池；図1）において、茶園からのため池への流入水及び流出水について行った。ため池の水理諸元を表1に示した。調査時期等は次のとおりである。

調査時期等：2004年4月～2005年3月、約2回/月

調査地点：T池流入1地点, 流出1地点

Y池流入2地点, 流出1地点

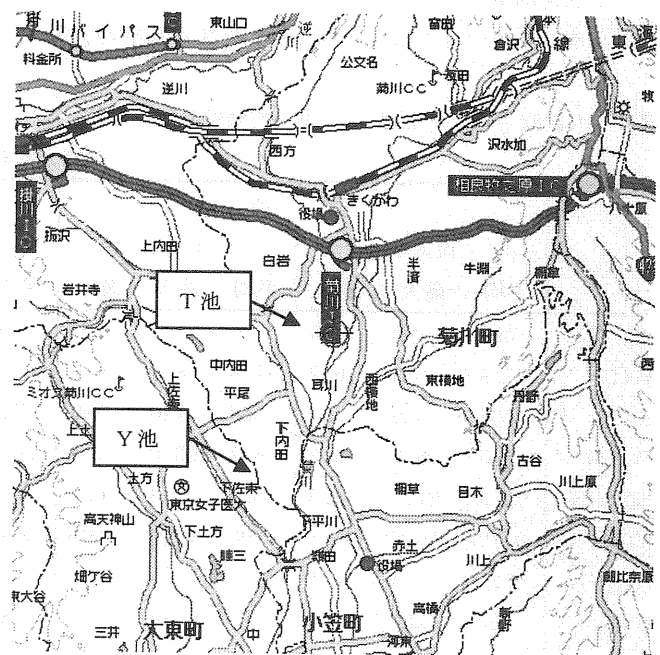


図1 調査位置図

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市葵区北安東4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-ando, Aoi-ku, Shizuoka, 420-8637, Japan)

表1 ため池の諸元

	水面積 (m ²)	容量 (m ³)	茶園面積 (ha)	林地面積 (ha)
T 池	2900	2900	8.66	3.11
Y 池	550	240	7.20	1.07

2 調査項目及び分析方法

調査項目及び分析方法を表2に示した。

表2 調査項目及び分析方法

調査項目	分析方法
pH	pH計
EC	EC計
T-N	紫外吸光光度法
NO ₃ -N	イオンクロマトグラフ法
NO ₂ -N	"
NH ₄ -N	"
硫酸イオン	"
塩素イオン	"
ナトリウムイオン	"
カルシウムイオン	"
カリウムイオン	"
マグネシウムイオン	"

結果及び考察

1 水質測定結果

T池及びY池の流入水及び流出水の年間水質平均値等

表3 水質測定結果総括表 (年間平均値等)

単位：流量はml/秒，ECはμs/cm，NO₃-N以下はmg/l

	T 池						Y 池								
	流入水			流出水			流入水①			流入水②			流出水		
	平均	最大	最小	平均	最大	最小	平均	最大	最小	平均	最大	最小	平均	最大	最小
流量	397	45000	36	—	—	—	100	20000	5	451	48000	63	551	68000	68
pH	7.9	8.3	6.2	7.8	8.7	6.6	7.3	8.1	6.6	7.4	8.3	5.7	7.6	9.5	6.2
EC	766	939	334	568	726	390	720	859	518	522	618	358	519	655	373
T-N	13.5	29.2	4.5	6.7	23.0	1.3	18.2	26.0	9.9	17.9	24.9	11.6	13.5	23.6	5.7
NO ₃ -N	12.5	27.2	4.3	5.7	22.3	<0.1	17.6	25.3	9.8	17.1	24.7	10.8	12.2	21.9	2.5
NO ₂ -N	0.10	0.18	<0.08	0.08	0.10	<0.08	0.09	0.14	<0.08	0.08	0.12	<0.08	0.09	0.10	<0.08
NH ₄ -N	0.24	1.14	<0.1	0.27	0.92	<0.1	0.16	0.41	<0.1	0.15	0.49	<0.1	0.25	1.12	<0.1
SO ₄ ²⁻	205	280	76	133	186	80	185	288	101	154	231	74	150	227	77
Cl ⁻	12.2	15.7	6.7	10.8	15.1	8.1	14.6	25.0	9.9	11.5	17.3	7.7	11.3	15.4	7.0
Na ⁺	11.3	16.2	6.1	11.1	14.4	7.2	12.3	15.1	7.9	11.0	14.8	6.3	10.8	14.0	5.9
Ca ²⁺	99	135	41	66	89	22	98	140	47	53	76	31	56	76	33
K ⁺	12.4	17.6	6.3	9.4	14.1	6.8	13.6	16.5	11.0	9.3	11.5	7.5	9.9	12.2	7.6
Mg ²⁺	31	39	13	22	30	15	25	39	15	24	32	12	22	29	12

を表3に示した。

茶園からのため池への流入水と流出水についての水質は次のとおりであった。

1) pH, EC

ため池への流入水及び流出水のpH, ECの経月変化を図2, 3に示した。

茶園土壌は、畝間でpHが2.6~3.6²⁾の強酸性といわれており、その排水は酸性^{3), 4)}であることが報告されている。しかし、両ため池への流入水のpHは5.7~8.3(平均T池7.9, Y池7.4)で年間を通してほぼアルカリ性であった。これは、両池とも茶園からため池に流入する水路がコンクリート製であり、この影響のためであったと思われる。また、流量が少なくなるほどpHが高くなる傾向にあった。環境基準(類型D農業用水6.0~8.5)との比較ではおおそ基準を満足していた。

T池の流出水のpHは、6.6~8.7で年間を通してほぼ環境基準内であった。Y池の流出水のpHは、6.2~9.5と変動が大きかったものの、大部分の期間で環境基準内であった。

ため池への流入水及び流出水のECは、年間を通して非常に高い値を示し、330~940μs/cmであった。10月の降雨時(調査3日前に186mmの降雨)には、雨水により希釈されて低下する傾向を示した。おおそT池の流出水は流入水よりも低く推移し、ため池で浄化機能が働いていることをうかがわせたが、Y池では流入水と流出水で明確な違いはみられなかった。

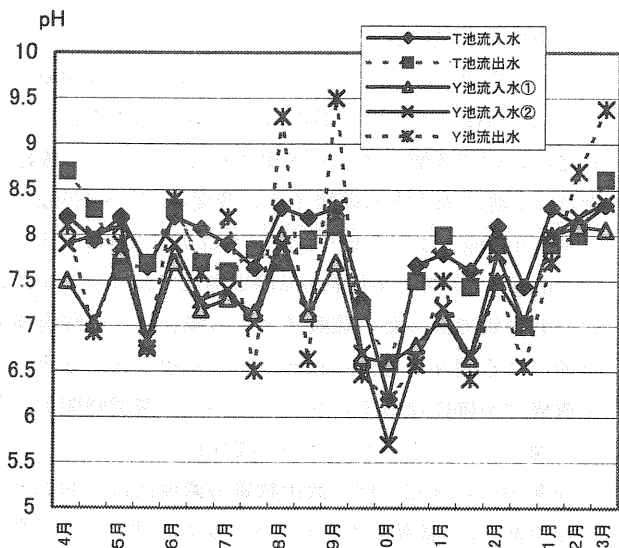


図2 ため池における流入水，流出水のpH

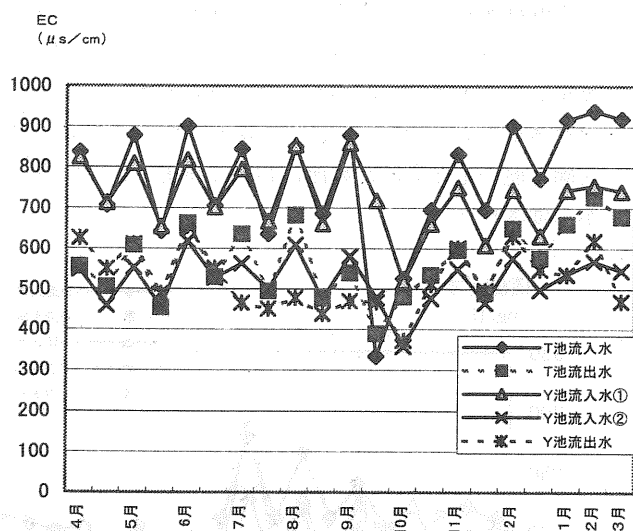


図3 ため池における流入水，流出水のEC

2) 硝酸性窒素

① 窒素の形態

硝酸性窒素と亜硝酸性窒素の合計が環境基準（10mg/l）として定められている。茶園から各ため池への流入水におけるその割合は、硝酸性窒素が約90%以上の高い割合であり、環境基準に起因している物質は大部分が硝酸性窒素であり、茶園からの流出窒素の形態は大部分が硝酸性窒素であることが判明した。

② 硝酸性窒素濃度

ため池への流入水及び流出水の硝酸性窒素の濃度を図4に示した。

茶園からT池に流入する硝酸性窒素濃度は、4.3～27.2mg/l（平均12.5mg/l）であり、調査期間の約半程度は環境基準値を下回っていた。環境基準値を下回

った時期は夏場に多かったがその原因は不明であった。T池の流出水は、 $<0.1\sim 22.3\text{mg/l}$ （平均 5.7mg/l ）であり、10、11月を除き環境基準値を下回っていた。10、11月は降雨により流入水量が $1.5\sim 4.5\text{L/秒}$ と多くなるとともに流入濃度も高くなり、ため池での滞留時間減少により高くなったと思われる。T池からの流出水は年間を通して大部分の時期で環境基準値を下回っていた。また、平均で約54%除去されており、ため池における硝酸性窒素の浄化機能が確認できた。

Y池に流入する硝酸性窒素濃度は、 $9.8\sim 25.3\text{mg/l}$ （平均 $17.6, 17.1\text{mg/l}$ ）であり、ほぼ年間を通して環境基準値を超過していた。Y池の流出水は、 $2.5\sim 21.9\text{mg/l}$ （平均 12.2mg/l ）であり、調査時期の4割程度は環境基準値を下回っていた。また、平均で約30%除去されており、ため池の浄化機能が確認できた。

ため池における窒素浄化能は、水生植物等による吸収及び脱窒（硝酸態窒素が微生物の働きで還元されて窒素ガスになる現象）に由来すると考えられている³⁾。T池とY池を比較した場合、T池が高い浄化機能をみせたが、これはT池には水生植物（ヨシ等）が繁茂していたこと、また、流量平均値（T池： 0.4L/秒 ，Y池： 0.55L/秒 ）で滞留時間を比較した場合、T池約84日、Y池約4.3日とT池がかなり長かったためと思われる。なお、文献5)によれば、丹野池の滞留時間は40日⁵⁾であり、T池はこの約2倍であった。

調査期間中、T池への流入水の硝酸性窒素は、降雨の後に濃度の増加が観察され、降雨量の少ない時期やため池への流入水量が少ない時期には濃度は減少する傾向にあった（図5）。T池における流量と硝酸性窒素の関係は次式で表すことができた。

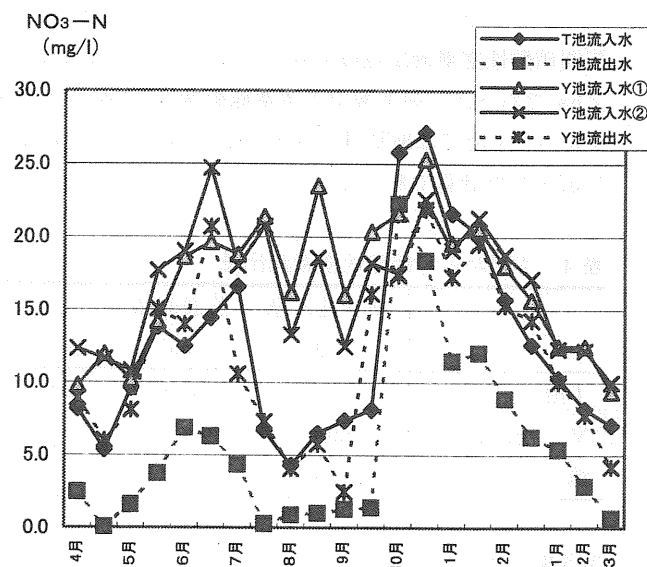


図4 ため池における流入水，流出水の硝酸性窒素

$$C = 1.487Q^{0.3443} \quad (R = 0.867)$$

C : 硝酸性窒素濃度 (mg/l)

Q : 流量 (ml/s)

しかし、Y池ではこのような傾向はみられなかった。山本⁴⁾らは丹野池で硝酸性窒素は降雨があると低下し、梅雨期には降雨による希釈で平均濃度の1/2までに低下したとしているが、両池に流入する硝酸性窒素濃度変動パターンが異なっていたり、T池では降雨によりその濃度が増加していることから、流出する硝酸性窒素濃度は茶園の形状や気象条件により変わることが判明した。

硝酸性窒素(mg/l)

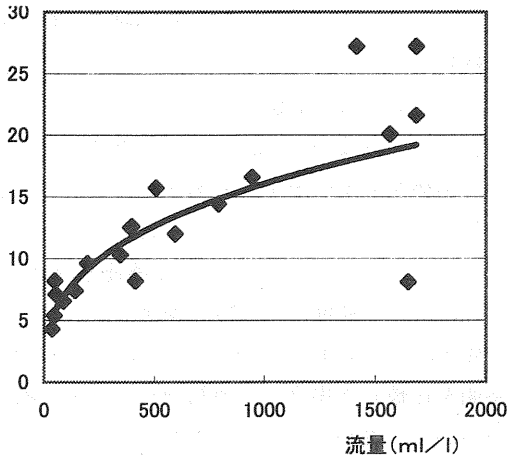


図5 T池における流量と硝酸性窒素濃度

③茶園からの硝酸性窒素流出量

ため池への流入水質及び流量から調査期間中に茶園から流出した硝酸性窒素量を算出した(表4)。調査はほぼ月2回行っており、それぞれの水質及び流量が半月間続くものと仮定した。T池及びY池へ流入する茶園からの年間硝酸性窒素流出量はそれぞれ201.3kg/ha, 281.5kg/haであった。両茶園での窒素施肥量は540kg/h前後であり、T池では施肥量の37%が、Y池では52%が系外に流出した計算であった。

表4 茶園からの硝酸性窒素流出量

	窒素流出量 (kg)	茶園面積 (ha)	原単位 (kg/ha)
T池	1743.0	8.66	201.3
Y 流入水①	638.0	7.20	281.5
池 流入水②	1389.0		

3)各種イオンについて

各種イオンのなかで最も高い濃度であった硫酸イオン

を図6に示した。

茶園からT池に流入する硫酸イオン濃度は、76~280mg/l(平均205mg/l)であり、流出水は80~160mg/l(平均133mg/l)で、平均約35%除去されており、ため池において硫酸イオンも浄化されていることが確認できた。Y池に流入する硫酸イオン濃度は、74~288mg/l(平均162mg/l)であり、流出水は77~227mg/l(平均152mg/l)で、平均約6%除去されており、T池に比較し低い値であった。硫酸イオンの減少は、硫酸塩還元細菌による関与が考えられるが、ため池におけるその浄化機構は明確になっていない。しかし、滞留時間がひとつの因子となっていることが示唆された。

茶園からの施肥に伴う流出物質の濃度比は、おおよそ一定であり、(塩素イオン・ナトリウムイオン・カリウムイオン):マグネシウムイオン:カルシウムイオン:硫酸イオン=1:2~3:5~10:14~18であった。

滞留時間の長いT池について各種イオンの除去率をみると、塩素イオン:11.4%、ナトリウムイオン:0.9%、カルシウムイオン:34.3%、カリウムイオン:23.4%、マグネシウムイオン:27.4%であり、ナトリウムイオンを除く他のイオンはため池において浄化されていることが示唆された。

硫酸イオン
(mg/l)

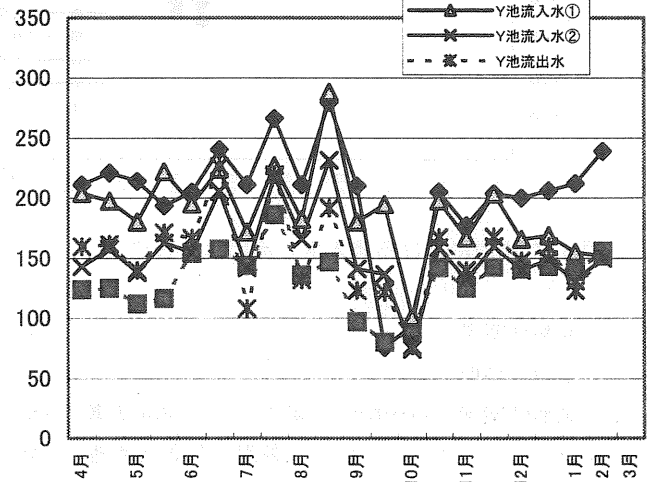


図6 硫酸イオンの濃度変化

2 降雨に伴う水質変動特性

16年8月23日の午後から24日の早朝にかけて48mm(最大時間雨量26mm)の降雨があった。23日の降雨前と降雨後の24日の12時から数時間間隔で両池の流入水について、降雨に伴う各種イオンの水質変動を調査した(図7, 8)。降雨に伴って茶園からの流出物質の濃度は変化し

ていた。両池で共通した挙動は、硝酸性窒素、カリウムイオンは降雨により濃度が上昇しその後暫減する傾向にあった。カルシウムイオン、マグネシウムイオンは、降雨により濃度が減少しその後暫増する傾向にあった。一方両池で異なった挙動は、硫酸イオンはY池では減少し暫増したが、T池では横ばいであった。塩素イオンはT池では濃度が上昇しその後暫減する傾向にあったが、Y池では横ばいであった。ナトリウムイオンはT池では減少したが、Y池では上昇しその後暫減する傾向にあった。

硝酸性窒素は、降雨により濃度が上昇するとともに流量も増加することから、今後茶園からの硝酸性窒素負荷量を算出するためには降雨時調査も行う必要があることを確認した。

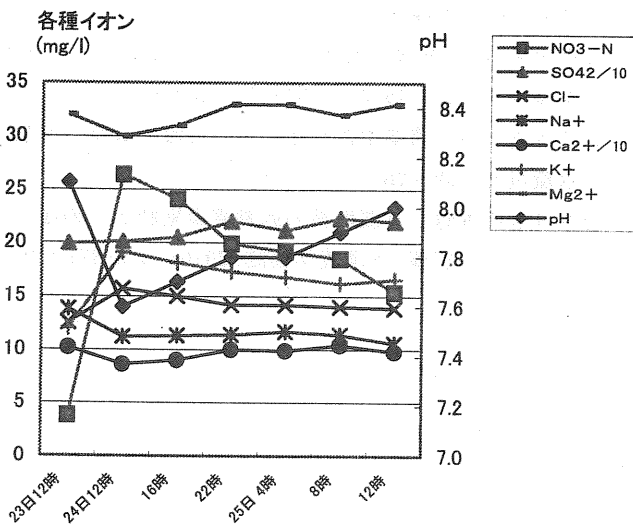


図7 降雨に伴う水質変動 (T池流入水)

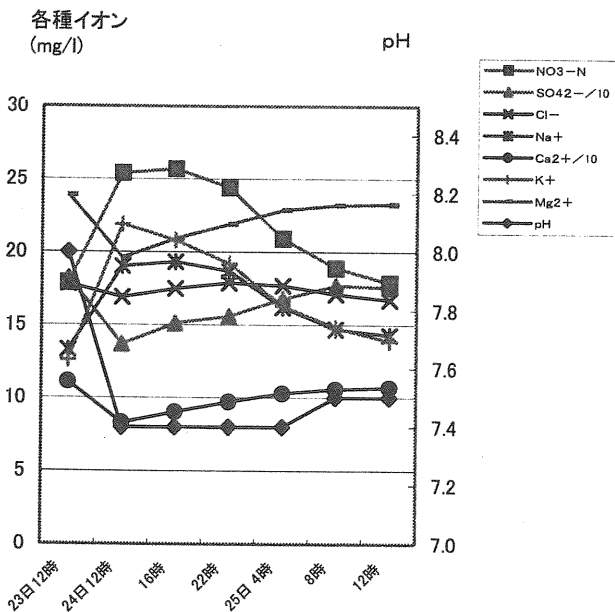


図8 降雨に伴う水質変動 (Y池流入水①)

3 施肥減少による水質変化

T池流域の茶園での窒素施肥量は、平成15年66kg/10a、平成16年54kg/10aであり、この1年で12kg/10aの窒素施肥量を減少した。平成15年に茶業試験場においてT池への流入水の硝酸性窒素濃度を調査していたため、今回の調査結果と比較しその水質変化を検討した。水質の比較表を表5に、水質変化を図9に示した。施肥量を減少した16年は、平均水質で2.1mg/l、最大値で5.6mg/l減少した。しかし、前述したとおり茶園から流出する硝酸性窒素濃度については茶園の形状、気象条件に大きく左右されることから、この減少が必ずしも減肥によるものであると断定できなかった。

表5 水質比較表 (硝酸性窒素 mg/l)

	平均水質	最大値	最小値
15年	14.0	32.8	1.3
16年	11.9	27.2	1.3

硝酸性窒素 (mg/l)

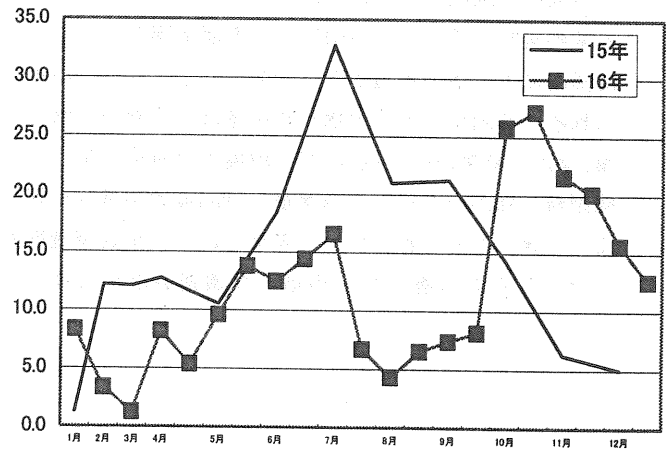


図9 減肥による水質変化

まとめ

茶園からの施肥に伴う流出物質の実態やその特性を把握するとともに、茶園周辺に存在するため池での水質浄化能について調査を行った結果、次のことが明らかになった。

- 1) 環境基準に起因している物質は大部分が硝酸性窒素であった。
- 2) 茶園からの流出水の硝酸性窒素濃度は、4.3~27.2mg/lであり、茶園の形態によっては大部分の時期で環境基準値を超過していた。しかし、ため池において約30~54%除去されており、ため池における硝酸性窒素の浄化機能を確認できた。この浄化機能はため池での滞留時間

が一つの因子になっていることが示唆された。

3) 茶園からの施肥に伴う流出物質では硫酸イオンが最も高く、流出物質の濃度比はおおよそ一定であり、(塩素イオン・ナトリウムイオン・カリウムイオン) : マグネシウムイオン : カルシウムイオン : 硫酸イオン = 1 : 2~3 : 5~10 : 14~18 であった。

4) 滞留時間の長いため池では、ナトリウムイオンを除く他のイオンも減少しており、なかでも硫酸イオン、カルシウムイオンの除去率が高かった。各種イオンの除去は滞留時間が一つの因子になっていることが示唆された。

5) 降雨に伴って茶園からの流出物質の濃度は変化する。硝酸性窒素、カリウムイオンは降雨により濃度が上昇しその後暫減する傾向にあった。カルシウムイオン、マグネシウムイオンは、降雨により濃度が減少しその後暫増する傾向にあった。

6) 減肥による茶園からの水質変化を検討した結果、平均水質で 2.1mg/L, 最大値で 5.6mg/L 減少した。しかし、この減少が必ずしも減肥によるものと断定できなかった。

茶園への施肥により系外に流出する物質は、湧水により常時溶脱するもの、降雨により表面土壌から、あるいは降雨により地下浸透水として溶脱するパターンが考えられる。茶園からの流出物質負荷量は、茶園の形態(土壌、湧水の有無、緩効性肥料等の環境保全対策)、晴天時、降雨時、降雨パターン(降水量、時間最大雨量等)等により大きく左右されることが考えられ、流出負荷量把握にはこれらを考慮したきめ細かな調査が求められる。

また、ため池はある程度の滞留時間がえられるならば、低コストで有効な茶園からの流出物質の有効な除去手段になると思われ、水質浄化機能の積極的な活用が期待される。

謝 辞

本調査研究においてご支援ご指導を賜りました茶業試験場中村茂和氏に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 静岡県農林水産部: 静岡県土壌肥料ハンドブック, 159, 静岡 (2002)
- 2) 静岡県農業試験場: 土壌環境基礎調査(定点調査)成績書, 中部地域, 1-55, 静岡 (1992)
- 3) 小川祐美他: 茶栽培流域における水質変動のモデル化, 環境科学会誌, 15(3), 163-172 (2002)
- 4) 山本富久他: 農業用ため池における流出負荷の削減, 水環境学会誌, 28(1), 29-36 (2005)
- 5) 中曾根英雄他: 茶園地帯の過剰窒素施肥がため池の水質に及ぼす影響, 水環境学会誌, 23(6), 375-377 (2002)

エアロゾルの生成・移流に関する研究 (第二報)

- エアロゾル及び含有成分の濃度変動について -

大気・水質部 大気・騒音環境スタッフ

太田良和弘, 篠原英二郎, 増田 一

静岡大学 理学部 生物地球環境科学科

鈴木 款

Study on the Mechanism for the Formation and the Moving State of Atmospheric Aerosols (II)
- Mass Concentrations and Containing Elements of Aerosols -

Kazuhiro OHTARA, Eijiro SHINOHARA, Hajime MASUDA and Yoshimi SUZUKI

静岡県内の清浄地域, 一般環境及び道路沿道でエアロゾル及び含有成分濃度を調査し, 日変動, 濃度分布, 生成に関する特徴を検討した.

エアロゾル平均濃度は日本の浮遊粒子状物質の環境基準より低い濃度レベルであった. 微小粒子状物質平均濃度は全地点で米国の PM2.5 環境基準を超過する濃度レベルであった.

微小粒子中の含有成分は, 有機炭素, 元素状炭素, 硫酸イオン, アンモニウムイオン, 硝酸イオンが 7 割以上を占め, これらがエアロゾルの生成・移流機構を検討する上で重要な因子であることがわかった. また, 硫酸イオンは非海塩起源の硫酸アンモニウム塩として存在しており, 濃度分布は全局的あるいはより広範囲な移流機構に支配されていることがわかった.

Key words: PM2.5, 微小粒子, 元素状炭素, 有機炭素, 水溶性イオン

PM2.5, fine particles, elemental carbon, organic carbon, water soluble ions

はじめに

日本では, 大気中の粒径 $10\mu\text{m}$ 以下の粒子を対象とした浮遊粒子状物質 (SPM) について, 環境基準が定められている. しかし, 最近の疫学調査によればより微小側の健康影響が大きいことが認められ¹⁾, 米国においては $10\mu\text{m}$ 以下の粒子状物質 (PM10) の環境基準に加え粒径 $2.5\mu\text{m}$ 以下の粒子状物質 (PM2.5) の環境基準が制定されている²⁾. 国内においても PM2.5 の環境基準制定について検討され³⁾, 静岡県では 2003 年度より大気常時監視測定局の代表点で調査を開始し, 米国の環境基準を上回る汚染状況が確認された⁴⁾. 2003 年度には静岡県内の代表点に加え山間部 (清浄地域) において大気中粒子状物質 (エアロゾル) を粒径毎に細かく採取し, 広域的な濃度

分布状況と二山形の粒径分布の特徴を確認するとともに, エアロゾル含有成分の主要成分が炭素成分と硫酸塩であることを前報で報告した⁵⁾.

今回, 粒径別採取を PM10 及び PM2.5 に限定し前報と同様な調査を行い, エアロゾル及び含有成分濃度の日変動と濃度分布を把握するとともに, 大気常時監視測定項目を含めた相関分析により, エアロゾルの生成に関する特徴について検討を行ったので報告する.

調査方法

1 調査期間

春期: 2004 年 5 月 14 日 9:20 ~ 5 月 21 日 10:00

夏期: 2004 年 9 月 10 日 9:00 ~ 9 月 17 日 9:45

冬期: 2004 年 11 月 11 日 9:00 ~ 11 月 18 日 10:00

2 調査地点

調査地点を図 1 に示した. なお, 図中の記号は以下の調査地点の位置を表す.

C (市街地): 島田市役所大気測定局

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市葵区北安東 4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-ando, Aoi-ku, Shizuoka 420-8637, Japan)

R (道路沿道) : 自排藤枝大気測定局 (国道 1 号沿線)
L (山間部) : 井川県民の森 (標高 1400m)

3 試料採取方法

1) 粒子状物質

3 段分級用の各ステージに石英繊維ろ紙を装着したアンダーセンサンプラ (東京ダイレック製 : AN-200) をアルミニウム製シェルタ内に設置し, 流量 28.3L/min で約 24 時間吸引採取した. なお, 積算流量はマスフローメータ (STEC 製 : SEF-51) により温度・気圧補正した.

2) 気象観測

市街地及び道路沿道の気象状況は, 常時監視測定器及び気象官署の気象情報を参考にし, 山間部については, ポータブル型気象観測ステーション (Phoenix Grant 製 : Mini-Met03) を利用した⁵⁾.

4 調査項目及び分析方法

1) エアロゾル濃度

調査に用いたろ紙は, 温度 20℃, 相対湿度 50% 条件下で 24~48 時間かけ恒量としたのち, 0.01mg の感度で精秤した. 得られた試料のうち, 粒径 2.1μm 以下のものを微小粒子, 粒径 2.1~11μm 以下ものを粗大粒子, 微小粒子と粗大粒子をあわせたものをエアロゾルとした. 分析方法は前報と同様である⁵⁾.

2) 炭素成分濃度

得られた試料の 1/4 カットをそれぞれ元素状炭素濃度 (EC) 及び総炭素濃度の分析に供した. 総炭素濃度から EC を差し引いたものを有機炭素濃度 (OC) とした⁶⁾. 分析方法は前報と同様である⁵⁾.

3) 水溶性成分濃度

得られた試料の 1/2 カットを短冊状にカットし, 20ml の超純水で 30 分間超音波抽出した. 抽出液を孔径 0.2μm の親水性 PTFE メンブレンろ紙 (アドバンテック東洋製 : DISMIC-25HP) でろ過した後⁷⁾, 高速イオンクロマトグラフ (日本ダイオネクス製 : DX-500) により, 陽イオン 3 成分 (Na⁺, NH₄⁺, Ca²⁺), 陰イオン 3 成分 (Cl⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻) を定量した⁸⁾.

結果及び考察

1 気象概況

1) 春期⁹⁾ (5 月 14 日 ~ 5 月 21 日)

期間の前半は低気圧や前線が通過したため晴と雨が繰り返されたが, 後半は本州の南海上に前線が停滞し雨となり, 最終日は台風 2 号の影響で豪雨となった.

2) 夏期⁹⁾ (9 月 10 日 ~ 9 月 17 日)

初日は本州南海上から湿った空気が流れ込み雨だったが以降, 高気圧に覆われ晴れて気温の高い日が多かった.

3) 冬期⁹⁾ (11 月 11 日 ~ 11 月 18 日)

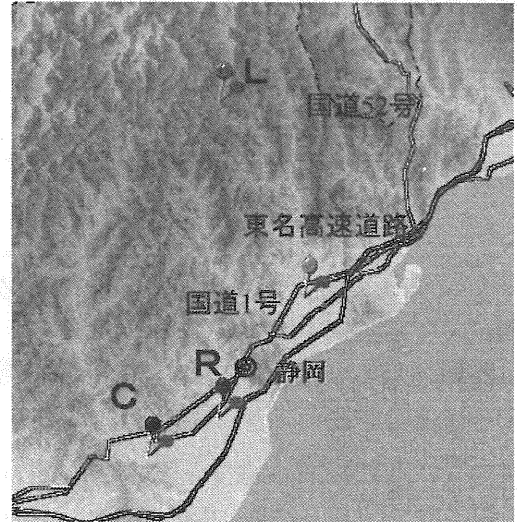


図 1 調査地点

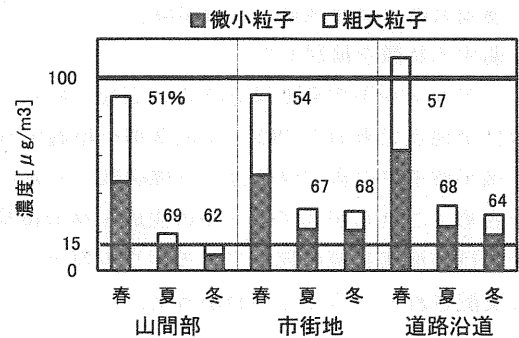


図 2 エアロゾル濃度結果

低気圧と高気圧が交互に通過し, 期間の始めと中間に雨となった他は概ね晴れた.

2 エアロゾル及び含有成分

1) エアロゾル濃度 (濃度単位 μg/m³)

各地点・期間毎のエアロゾル濃度の平均値を図 2 に示した. 定義が若干異なるが, 従来の SPM の環境基準(100)及び PM2.5 の米国 EPA の年平均値 15 を図中に目盛線で表示した. また, エアロゾル中の微小粒子の割合 (%) も図中に数値で示した.

春期は全般的にエアロゾル及び微小粒子とも高濃度 (それぞれ 90~110, 46~62) となったが, 非常に降水量が多い期間であったため通常の状態とは考えにくく, 含水分を正の誤差として評価した可能性がある. 夏期及び冬期については, エアロゾルは 13~34 でどの地点も環境基準より低い濃度レベルであった. しかし, 微小粒子は, 夏期及び冬期の山間部 (それぞれ 13, 8) を除き, 19~23 で PM2.5 基準より高い濃度レベルであった. これは前報と同様な傾向であり, 図中に示した微小粒子の割合

からわかるように、エアロゾルの大半が微小粒子で構成されており、エアロゾル濃度を低減化するためには微小粒子濃度を低減化することが重要であるということが確認された⁵⁾。

2) 含有成分

各地点・期間毎における微小粒子中の含有成分濃度割合を図3に示した。なお、春期は前述のとおり含水分の正誤差を勘案し参考にし以降の論述からは除外した。濃度割合が最も大きいのは、山間部及び市街地は SO_4^{2-} で、それぞれ10~46、11~35%であった。道路沿道はOCで濃度割合は18~36%であった。全般的にはどの地点も SO_4^{2-} 、OC、ECの割合が大きかった。検討した含有成分12項目で微小粒子の約8割を占め、このうち、 SO_4^{2-} 、OC、EC、 NH_4^+ 及び NO_3^- で全体の7割以上を占めるため、

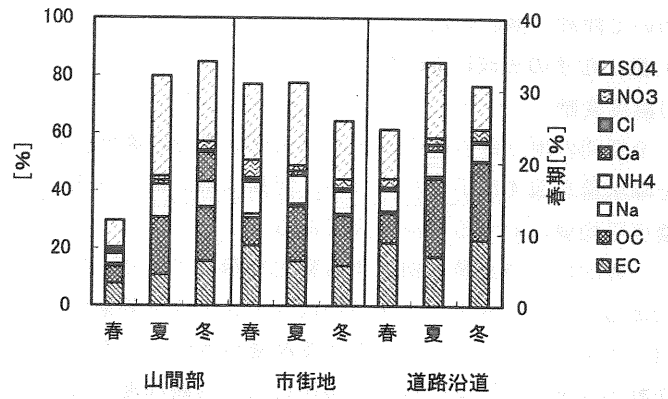


図3 粒子状物質含有成分濃度割合（微小粒子）

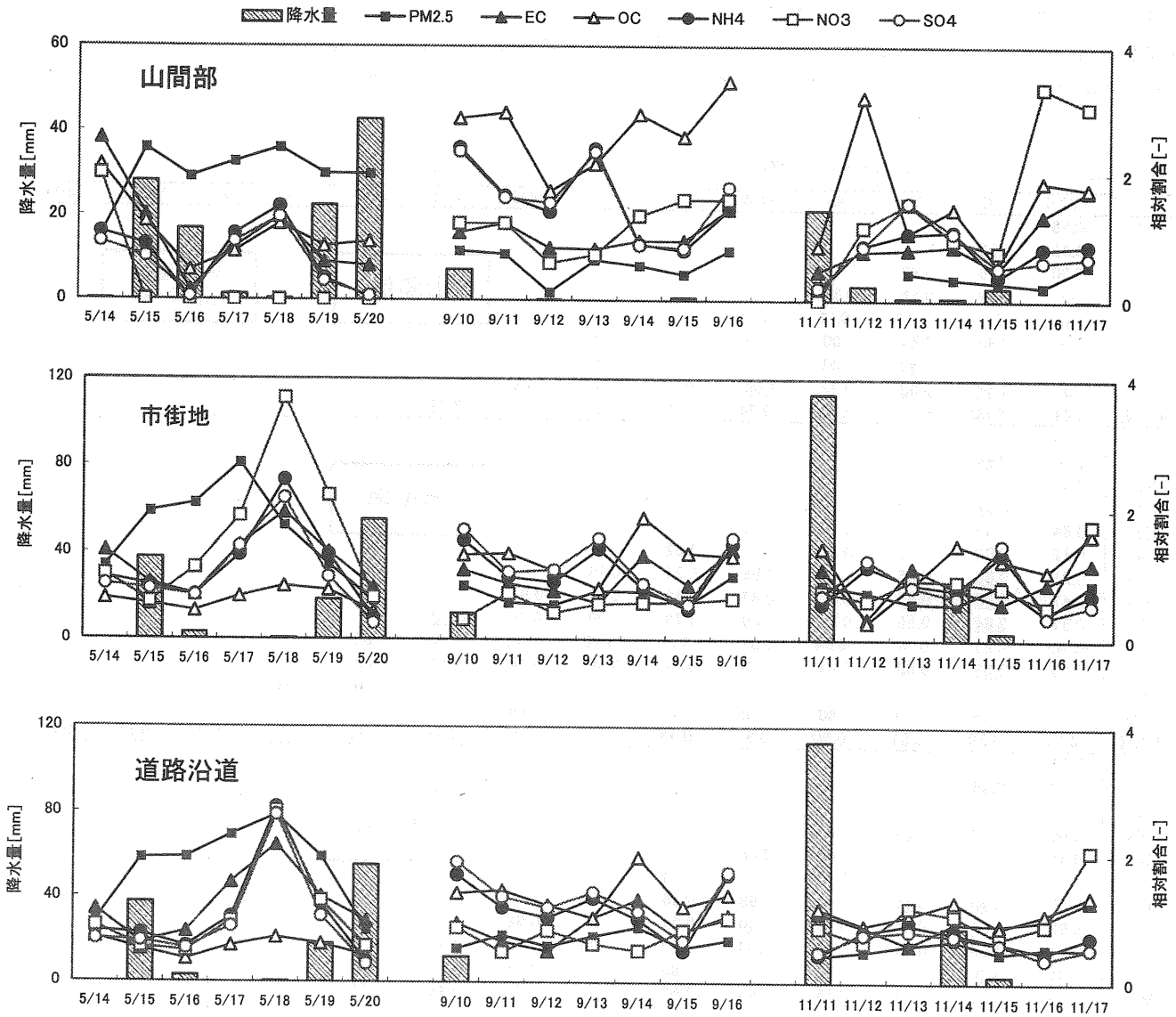


図4 濃度変動割合と降水量（微小粒子）

これらの主要 5 成分により微小粒子の生成と濃度分布について詳細に検討した。

3 微小粒子の生成について

1) 濃度変動

全期間の地点毎の微小粒子及び主要 5 成分の濃度変動と降水量を図 4 に示した。なお、変動は地点毎の各成分濃度平均値に対する相対割合である。

一般的に、降水量に相反する変化を示しており、降雨によるウォッシュアウトあるいはレインアウト効果が作用したと考えられる¹⁰⁾。特に降水量が多かった春期の変動が顕著で、水溶性成分は降雨により痕跡程度となることがあった。

地点別の傾向として、山間部は各成分の絶対量は少ないが濃度変動は大きく、粒子状成分の生成と消失がはっきり表れた。市街地及び道路沿道は同様な濃度変動であったが、変化の度合いは道路沿道のほうが大きかった。

期間別の傾向として、山間部で OC, SO₄²⁻, NH₄⁺ が夏期に顕著に濃度上昇していた。OC, SO₄²⁻ はそれぞれ大気

中の有機性ガス、硫酸化合物が光化学反応により生成する「二次粒子」の代表成分であり、山間部は二次粒子の影響が大きいことが想定される¹¹⁾。道路沿道や市街地も同様な傾向であったが濃度変動は小さかった。

濃度変動を統計的に評価するため、各地点毎に含有成分や降水量及び大気常時監視測定項目の 24 時間平均値を 7 組ずつ、(冬期は PM2.5 に欠測があるため 6 組ずつ) 全期間で 20 組のデータとし、相関分析により得られた相関係数から 5% 有意差検定 (n=20: 有意水準 r₂₀=0.444) を行った¹²⁾。全期間の地点別相関行列を表 1 に示した。降水量と各項目の相関係数はほとんどが負の値を示し、前述の雨水による効果が表れていた。

2) 水溶性成分

微小粒子中の組成割合が大きい SO₄²⁻ の生成について検討した。全地点・期間で共通して SO₄²⁻ と NH₄⁺ に正相関があった (r₂₀>0.97)。また、冬期には市街地で NH₄⁺ に加え Na⁺ や Ca²⁺ とともに正相関があった (r₆>0.90)。一例として市街地の春期・夏期及び冬期の SO₄²⁻ イオン当

表 1 地点別測定項目間相関行列 (全期間)

	PM2.5	EC	OC	Na	NH4	Ca	Cl	NO3	SO4	SO2	Ox	NOx	NMHC	SPM
EC	-0.56													
OC	-0.63	0.98												
Na	-0.90	0.86	0.88											
NH4	0.09	0.69	0.56	0.33										
Ca	-0.04	-0.18	-0.13	-0.11	-0.22									
Cl	-0.91	0.84	0.87	1.00	0.29	-0.10								
NO3	-0.91	0.84	0.87	1.00	0.29	-0.10	1.00							
SO4	0.08	0.66	0.53	0.32	1.00	-0.23	0.28	0.28						
降水量	0.24	-0.50	-0.35	-0.45	-0.74	0.11	-0.43	-0.43	-0.77					
山間部														
EC	0.14													
OC	0.14	0.94												
Na	0.86	0.17	0.10											
NH4	0.29	0.92	0.90	0.18										
Ca	0.84	0.36	0.28	0.88	0.32									
Cl	0.82	0.00	0.02	0.87	0.18	0.62								
NO3	0.21	0.88	0.86	0.21	0.96	0.24	0.28							
SO4	0.47	0.90	0.84	0.37	0.97	0.52	0.32	0.91						
SO2	0.57	0.64	0.59	0.37	0.60	0.73	0.09	0.38	0.70					
Ox	-0.49	0.23	0.19	-0.64	0.06	-0.28	-0.90	-0.15	-0.03	0.35				
NOx	0.25	0.69	0.69	0.44	0.70	0.41	0.50	0.84	0.69	0.22	-0.46			
NMHC	0.10	0.43	0.39	0.13	0.19	0.32	-0.31	0.01	0.23	0.60	0.59	-0.17		
SPM	0.59	0.85	0.80	0.60	0.88	0.65	0.50	0.86	0.94	0.65	-0.21	0.75	0.31	
降水量	-0.54	-0.58	-0.51	-0.60	-0.57	-0.48	-0.43	-0.54	-0.64	-0.43	0.18	-0.35	-0.54	-0.80
市街地														
EC	0.55													
OC	0.20	0.68												
Na	0.13	0.36	-0.32											
NH4	0.69	0.87	0.67	0.07										
Ca	0.66	0.91	0.53	0.48	0.88									
Cl	-0.43	-0.15	-0.56	0.70	-0.31	-0.06								
NO3	0.57	0.90	0.68	0.11	0.98	0.86	-0.20							
SO4	0.68	0.86	0.64	0.10	1.00	0.89	-0.27	0.98						
SO2	0.26	0.66	0.74	0.18	0.49	0.67	-0.36	0.46	0.47					
NOx	0.61	0.89	0.27	0.62	0.70	0.83	0.11	0.73	0.71	0.38				
NMHC	0.16	0.83	0.44	0.53	0.49	0.62	0.20	0.60	0.48	0.44		0.84		
SPM	0.76	0.94	0.65	0.22	0.91	0.91	-0.37	0.89	0.90	0.64		0.84	0.64	
降水量	-0.50	-0.53	-0.48	0.09	-0.47	-0.45	0.69	-0.41	-0.46	-0.61		-0.40	-0.26	-0.68
道路沿道														

注: 危険率5%で有意性が認められたものは太字, 本文中で参照したものは下線で示した

量濃度（濃度単位：neq/m³）⁸⁾ に対する NH₄⁺、Na⁺、Ca²⁺のイオン当量濃度の散布図を図5に示した。春期や夏期は地点にかかわらず、SO₄²⁻とNH₄⁺の散布図の傾きが1に近いことから、SO₄²⁻とNH₄⁺が1対1で対応しており、微小粒子中で(NH₄)₂SO₄として存在することがわかる。冬期はこのうちの一部がCaSO₄、Ca(HSO₄)₂、Na₂SO₄等として存在していると想定される⁷⁾。

SO₄²⁻の生成要因として考えられるのは自然起源（海塩起源）であるが、微小粒子中の海塩性硫酸イオン濃度⁵⁾は最大で4%程度しか存在しておらず、海塩起源とはいえない。次に大気中の硫黄酸化物の化学反応であるが、市街地は二酸化硫黄とSO₄²⁻に正相関がある(r₂₀=0.70)のに対し、道路沿道では明確な相関はなく（山間部は二酸化硫黄データ無し）、一概にその地点のSO₂がSO₄²⁻生成に関与しているとはいえない。

3) 炭素成分

全地点・期間で共通してECと正相関があったのはOC、NH₄⁺、SO₄²⁻、NO₃⁻で(r₂₀>0.64)、特にNO₃⁻(r₂₀>0.84)と良い相関が得られた。また、データの無い山間部を除いた市街地及び道路沿道ではECとNO_xについても正相関

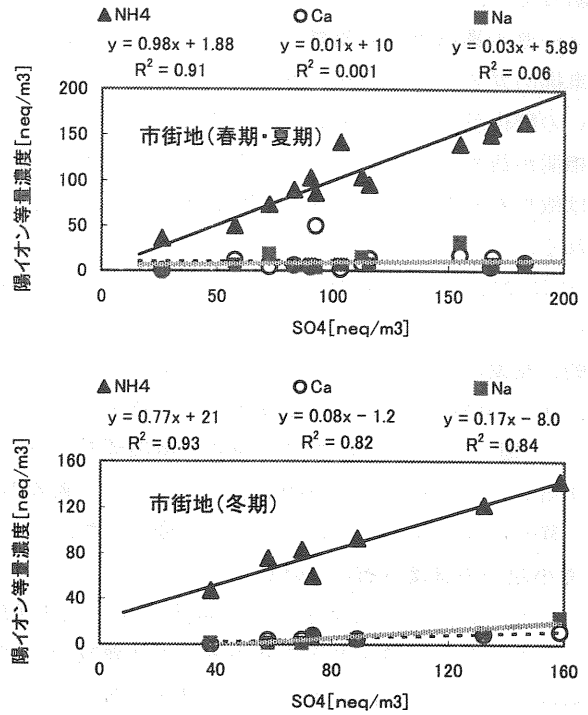


図5 微小粒子中のイオン当量関係

表2 期間別測定項目間相関行列（主要5成分）

		市街地					道路沿道				
		EC	OC	NO3	NH4	SO4	EC	OC	NO3	NH4	SO4
山間部 (春期)	EC	<u>0.42</u>	0.32	-0.01	0.21	0.20	<u>0.12</u>	<u>0.75</u>	0.19	0.19	0.17
	OC	0.33	<u>0.24</u>	-0.09	0.11	0.07	0.05	<u>0.70</u>	0.15	0.12	0.10
	NO3	0.15	0.04	<u>-0.23</u>	-0.11	-0.12	-0.08	0.50	<u>-0.10</u>	-0.14	-0.15
	NH4	<u>0.81</u>	<u>0.71</u>	0.55	<u>0.75</u>	<u>0.81</u>	0.64	<u>0.84</u>	0.64	<u>0.70</u>	<u>0.69</u>
	SO4	<u>0.84</u>	0.72	0.59	<u>0.78</u>	<u>0.83</u>	<u>0.69</u>	<u>0.84</u>	<u>0.68</u>	<u>0.73</u>	<u>0.72</u>
市街地 (春期)	EC						<u>0.94</u>	<u>0.89</u>	<u>0.89</u>	<u>0.88</u>	<u>0.86</u>
	OC	<u>0.94</u>					<u>0.83</u>	<u>0.86</u>	<u>0.84</u>	<u>0.85</u>	<u>0.81</u>
	NO3	<u>0.88</u>	<u>0.86</u>			10%有意性 r ₇ =0.669	<u>0.94</u>	0.59	<u>0.95</u>	<u>0.94</u>	<u>0.94</u>
	NH4	<u>0.92</u>	<u>0.90</u>	<u>0.96</u>			<u>0.90</u>	<u>0.72</u>	<u>0.95</u>	<u>0.98</u>	<u>0.97</u>
	SO4	<u>0.90</u>	<u>0.84</u>	<u>0.91</u>	<u>0.97</u>		<u>0.89</u>	<u>0.67</u>	<u>0.88</u>	<u>0.93</u>	<u>0.92</u>
山間部 (夏期)	EC	<u>0.66</u>	0.24	0.42	0.38	0.31	<u>0.14</u>	0.22	0.35	0.54	0.51
	OC	<u>0.81</u>	<u>0.57</u>	0.42	0.26	0.16	0.53	<u>0.52</u>	0.13	0.41	0.38
	NO3	<u>0.69</u>	0.61	<u>0.41</u>	-0.16	-0.25	0.41	0.40	0.26	-0.04	-0.07
	NH4	-0.35	-0.62	-0.42	<u>0.82</u>	<u>0.85</u>	-0.04	-0.42	0.02	<u>0.71</u>	<u>0.75</u>
	SO4	-0.25	-0.66	-0.39	<u>0.90</u>	<u>0.93</u>	-0.05	-0.47	0.19	<u>0.80</u>	<u>0.82</u>
市街地 (夏期)	EC						<u>0.59</u>	<u>0.73</u>	0.29	0.36	0.32
	OC	<u>0.74</u>					0.49	<u>0.94</u>	-0.24	-0.19	-0.19
	NO3	0.10	0.18			10%有意性 r ₇ =0.669	0.12	0.13	<u>-0.37</u>	-0.24	-0.31
	NH4	0.17	-0.38	-0.28			0.26	-0.18	0.31	<u>0.97</u>	<u>0.95</u>
	SO4	0.10	-0.44	-0.36	<u>0.99</u>		0.20	-0.23	0.32	<u>0.95</u>	<u>0.94</u>
山間部 (冬期)	EC	<u>0.43</u>	0.27	0.60	-0.45	-0.64	<u>0.49</u>	0.61	<u>0.80</u>	0.12	-0.29
	OC	0.37	<u>0.20</u>	0.29	-0.70	<u>-0.86</u>	0.38	<u>0.67</u>	0.57	0.00	-0.33
	NO3	0.25	-0.07	<u>0.31</u>	-0.39	-0.56	0.25	0.29	<u>0.55</u>	0.05	-0.36
	NH4	0.17	-0.19	0.27	<u>-0.14</u>	-0.40	-0.32	0.40	0.44	<u>0.73</u>	0.50
	SO4	0.15	-0.50	0.11	0.16	-0.03	-0.72	0.05	0.20	<u>0.91</u>	<u>0.82</u>
市街地 (冬期)	EC						<u>0.20</u>	0.60	0.66	0.14	-0.04
	OC	0.08					<u>0.86</u>	<u>0.67</u>	0.46	-0.21	-0.24
	NO3	0.49	0.59			10%有意性 r ₆ =0.729	0.50	0.64	<u>0.94</u>	0.43	0.18
	NH4	-0.60	-0.10	0.08			-0.33	-0.58	-0.22	<u>0.40</u>	0.53
	SO4	-0.61	-0.15	-0.10	<u>0.95</u>		-0.33	-0.71	-0.41	0.18	0.39

注:危険率10%で有意性が認められたものは太字,本文中で参照したものは下線で示した

があった ($r_{20} > 0.69$). EC は一般的に移動発生源, 特にディーゼル排出ガスの指標とされており¹³⁾, 同じく自動車排出ガスの主要成分である NOx との正相関, 並びに NOx の酸化反応により生成すると想定される NO_3^- との正相関が認められたことから, 今回検討した地点においては微小粒子中の EC は主に自動車排出ガス由来と考えられる.

OC については, EC, NO_3^- ($r_{20} > 0.68$) との正相関はあったが, SO_4^{2-} や NH_4^+ とは明確な相関はなかった. 一般的に夏期には光化学反応による二次粒子の生成が顕著で, OC が有機性, SO_4^{2-} が無機性の二次粒子とされている¹²⁾. 図 4 より夏期における両者の増加傾向は明らかであるが, 両者に有意な相関がないことから, 両者の生成・移流機構が異なっていることが示唆された.

4 微小粒子の濃度分布について

EC, OC, NO_3^- が正相関を示し, SO_4^{2-} , NH_4^+ が硫酸アンモニウムとして存在することから, より地域的な状況を除けば主要 5 成分は大きく二つの濃度分布に分類できると考えられる. このことを広域分布の観点から検討するために, 期間・成分毎に地点間の相関分析により得られた相関係数から 10% 有意差検定 ($n=7, r_7=0.669; n=6, r_6=0.729$) を行った. 期間別の地点間相関行列を表 2 に示した. EC, OC, NO_3^- の相関行列 27 対の組合せ中で, 正相関は市街地と道路沿道の OC と NO_3^- を主とした 6 組のみであった. これに対し SO_4^{2-} と NH_4^+ は相関行列 18 対の組合せ中, 冬期の 4 組を除き全て正相関を示した. これより自動車由来の可能性が強い EC, OC, NO_3^- のグループは, より地域的な発生源をもった成分であることがわかる. 一方, SO_4^{2-} , NH_4^+ のグループは冬期を除き広域に分布しており, 広範囲な移流機構に支配されていると考えられる.

まとめ

静岡県内の山間部 (清浄地域), 市街地 (一般環境) 及び道路沿道でエアロゾルと含有成分濃度を春期, 夏期及び冬期に調査した結果, 以下のことがわかった.

- 1) 山間部, 市街地及び道路沿道のエアロゾル平均濃度は 43, 53, $58 \mu\text{g}/\text{m}^3$, 微小粒子状物質平均濃度が 23, 31, $35 \mu\text{g}/\text{m}^3$ で, 全地点で日本の浮遊粒子状物質の環境基準より低い濃度レベルであるが, 米国の PM2.5 環境基準を超過する濃度レベルである.
- 2) 微小粒子中の含有成分は, 硫酸イオン, 有機炭素, 元素炭素, アンモニウムイオン, 硝酸イオンで 7 割以上を占め, エアロゾルの生成・移流機構を検討する上で重要な因子である.
- 3) 微小粒子中の水溶性成分のうち, 主要なものは硫酸ア

ンモニウム塩であり, 海塩とは異なる起源のものである.

- 4) 炭素成分及び硝酸イオンは自動車排出ガス等の化石燃料燃焼を起源とし, より地域的な濃度分布を示す.

- 5) 硫酸アンモニウム塩の濃度分布は全県的あるいはより広範囲な移流機構に支配されている.

今回, 微小粒子の生成と濃度分布状況について知見を得ることができた. 濃度割合が最も大きい硫酸アンモニウム塩については広範囲な移流機構に支配されているため適切な追跡因子を選定し移流機構を検討する必要がある. また, 炭素成分等と自動車排出ガスとの関係は, 確定できれば地域的なエアロゾルの低減策につながることから, より詳細な検討を行う必要がある.

謝 辞

この研究を実施するにあたり, 静岡大学理学部鈴木研究室の田中英貴氏, 中村泰裕氏, 村川耕作氏には, 現地調査, 分析等, 様々な場面で御助力をいただいた. ここに, 深く感謝の意を表します.

文 献

- 1) 横山栄二他: 大気中微小粒子の環境・健康影響, (財) 日本環境衛生センター, 平成 12 年 12 月 (2000)
- 2) Environmental Protection Agency: National Ambient Air Quality Standards for Particulate Matter; Final Rule, Federal Register, 62, 138 July (1997)
- 3) 根津豊彦他: 大気中微小粒子 (PM2.5) 質量濃度の測定, 大気環境学会誌, 37, A1-A12 (2002)
- 4) 篠原英二郎他: 静岡県内の PM2.5 に関する調査, 静岡県環境衛生科学研究所報告, 45, 69-76 (2002)
- 5) 太田良和弘他: エアロゾルの生成・移流に関する研究 (1), 静岡県環境衛生科学研究所報告, 46, 97-101 (2003)
- 6) 横堀尚之: 大気・降水中の炭素質エアロゾルの動態, 静岡大学理学部修士論文, 1-145 (1998)
- 7) 関東地方環境対策推進本部大気環境部会: 平成 14 年度浮遊粒子状物質合同調査報告書, 東京 (2004)
- 8) 環境庁: 酸性雨調査法, 東京 (1993)
- 9) 静岡地方気象台: 静岡県の気象概況, 静岡 (2004)
- 10) 桃谷辰也: 山岳域における大気中エアロゾルの化学成分の挙動, 静岡大学理学部修士論文, 1-110 (2001)
- 11) 藤森利美: 分析技術者のための統計的方法, 293-384, 日本環境測定分析協会, 東京 (1995)
- 12) 秋元 肇他: 対流圏大気の化学と地球環境, 学会出版センター, 東京 (2002)
- 13) 溝畑 朗: 粒子状大気汚染物質の化学組成, 大気汚染学会誌, 21, 83-103 (1986)

キャニスター法によるテルペン類を含む大気中揮発性有機化合物 (VOCs) の測定方法の検討

大気・水質部 大気・騒音環境スタッフ 太田良和弘, 遠藤 満

Measurement of Terpenes and Volatile Organic Compounds (VOCs)
 in Ambient Air by Canister Method

Kazuhiro OHTARA and Mitsuru ENDO

キャニスター法により植物起源の代表成分であるテルペン類を含む揮発性有機化合物 (VOCs) の多成分同時測定方法を検討した。

テルペン類のキャニスター法による分析精度は定量範囲 0~約 500ppt で良好な直線性が得られ, 標準試料の保存安定性は 1 ヶ月以上確保されていた。

テルペン類を含む VOCs ガスに高濃度オゾンガスを混合すると, ミルセンや一部フロン類等, 明らかに減少傾向を示す不安定な物質があるため, キャニスター内での安定性確保のためのオゾン除去剤を検討し, L-アスコルビン酸の有効性を確認した。

Key words: テルペン類, 揮発性有機化合物, キャニスター, オゾン, オキシダント
 terpenes, volatile organic compounds, canister, ozone, oxidant

はじめに

大気中の揮発性有機化合物 (VOCs) は, 有害大気汚染物質の一部として常時監視される一方, 光化学オキシダント (Ox) や浮遊粒子状物質 (SPM) の原因物質として排出抑制が検討されている¹⁾. Ox や SPM は汚染が都市域にとどまらず広域にわたる場合が多いため, その原因物質の VOCs の濃度分布, 反応性及び由来 (人為または自然) を把握する必要がある。

VOCs の測定手法に関しては, 主に人為由来成分について有害大気汚染物質モニタリングの公定法²⁾としてキャニスター採取法が広く普及している。一方, 自然由来 VOCs の代表的なものとして植物起源のテルペン類があげられ³⁾, 一般的には TENAX 等の吸着管を用いた測定手法により大気中濃度が測定されている⁴⁻⁶⁾が, サンプルリングに動力電源を必要とするという制限がある。

キャニスター採取法のうち, 減圧採取法は吸着管法と比較して動作電源不要で採取場所に制限がなく, サンプルリングが容易に行えるため, 山岳域など VOCs の広域分布を把握するのに有用である。しかし, 植物起源の VOCs 測定への応用例はない。今回テルペン類を含む VOCs について, 反応性の高いオゾンガスに対する保存安定性を主体にキャニスター減圧採取法による測定手法を検討したので報告する。

方 法

1 対象物質

自然由来 VOCs (BVOC) の代表としてイソプレン, α -ピネン, ミルセン, d-リモネン, p-シメンのテルペン類 5 成分を選定した。これらの物性及び質量分析における SIM 法のモニターイオン等を表 1 に示した^{3), 7)}。また, 人為由来の VOCs (VOC) の代表として米国 EPA の T0-14 成分⁸⁾を選定した。物性等は環境省の有害大気汚染物質測定方法マニュアル「大気中のベンゼン等揮発性有機化合物 (VOCs) の多成分同時測定方法」²⁾ (公定法) 及び既報のとおりである⁸⁾。

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市葵区北安東 4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-ando, Aoi-ku, Shizuoka 420-8637, Japan)

表 1 テルペン類の物理的性質等

化合物名	化学式	分子量	沸点 (°C)	密度(at20°C) (g/cm ³)	MS質量数(m/z)		備考 (存在)
					定量用	確認用	
Isoprene	C ₅ H ₈	68.1	34	0.68	67	68	全樹木, 天然ゴム
α-Pinene	C ₁₀ H ₁₆	136	156	0.86	93	91	全樹木
α-Myrcene	C ₁₀ H ₁₆	136	167	0.80	68	79	針葉樹
Limonene	C ₁₀ H ₁₆	136	176	0.84	68	93	柑橘類他
p-Cymene	C ₁₀ H ₁₄	134	177	0.86	119	91	草木類

2 実験方法

1) 標準物質

BVOC は和光純薬製の純度 90~100% の試薬をヘキサン溶媒 (残留農薬測定用) の混合標準原液として調整し, 使用の都度キャニスターに分取し, 約 0.1ppm の標準原ガス (窒素バランス) とした。VOC は市販の 44 成分混合標準ガス (住友精化製 HAPs-J44; 濃度約 0.1ppm) を使用した。

2) 精度管理

標準原ガスを段階的に希釈調整した標準ガスを用いて公定法²⁾による検量線の直線性, 定量下限値等を確認した。また, 標準ガスの保存安定性を約 1ヶ月間確認した¹⁰⁾。

なお, GC/MS の分析条件は表 2 のとおりである。

3) オゾンガス安定性試験

BVOC 及び VOC 標準ガス (各約 0.25ppb 相当) へオゾンガス約 120ppb 相当を混合したものの回収率及び保存安定性を確認した。なお, オゾンガスの混入方法は, あらかじめ水と標準ガスを混入し 50kPa 程度まで希釈したキャニスターに, オゾンガス発生装置 (Dylec 製; MODEL-1400) より生成した約 480ppb のオゾンガスをシリンジで注入後, 窒素ガスで 200kPa に調整した。発生させたオゾンガスには VOCs のコンタミネーションがあるため, ブランク補正した。

次に妨害オゾン除去のため, 代表的な還元剤として L-アスコルビン酸¹¹⁾ (和光純薬製; 特級) を市販シリンジ型固相抽出チューブ (SUPELCO 製; 容量 6ml, 材質ポリプロピレン) に約 1g 充填した物 (AA スクラバ) と, 市販のアルデヒド類採取用ヨウ化カリウムオゾンスクラバ (Waters 製; Sep-Pak オゾンスクラバ) (KI スクラバ) を検討した。なお, 手法は, キャニスターへの標準ガス及びオゾンガス添加時にスクラバを介して調整した試料により回収率とその後の保存安定性で評価した。

4) 実試料への適用

公定法による試料採取測定と並行して, スクラバを介して採取測定し, 両者の相対較差を評価した⁹⁾。

表 2 GC/MS の分析条件

GC/MS	: GC-17A/GCMS-QP5000Ver.2(Shimadzu)
Column	: RTX-624 (60m × 0.25mm I.D. df=1.4 μm; RESTEK)
Column temp.	: 35°C(7min)→5°C/min→100°C→12°C/min →160°C→15°C/min→220°C(10min)
Carrier gas	: He(110kPa)
Injection mode	: Direct injection
Interface temp.	: 250°C
Ionization method	: EI(70eV)
SIM interval	: 0.2sec

表 3 テルペン類の分析精度 (混合標準ガス)

化合物名	検量線 寄与率	検量線		定量下限		操作BL μg/m ³	保存 安定性
		濃度範囲(ppt)	ppt(at20°C)	μg/m ³	μg/m ³		
Isoprene	1.000	0~886	19	0.055	0	0.95	
α-Pinene	0.998	0~531	2.4	0.013	0	0.95	
α-Myrcene	1.000	0~550	15	0.082	0	1.05	
Limonene	0.997	0~549	3.6	0.021	0	0.97	
p-Cymene	0.997	0~585	7.9	0.044	0	0.94	

注: 保存安定性は調整濃度(約250ppt)から1ヶ月経過後の相対割合

結果及び考察

1 BVOC 精度管理

BVOC 標準ガスによる精度管理結果を表 3 に示した。検量線の寄与率は定量範囲 0~約 500ppt で 0.997 以上, 繰り返し分析による定量下限値は, イソプレン, ミルセンが 20ppt, その他が 10ppt 程度であった。保存安定性は, 調整当初を 1 とした場合の相対割合で示してあり, 公定法による回収率の許容範囲が 2 割である²⁾ ことから, 変動割合の許容範囲にも適用した。以後, 保存安定性, 回収率の判定は 2 割を基準とした。混入物のない BVOC 標準ガスは, 35 日間経過後も 0.94~1.05 で良好な安定性を示した。

2 オゾンガス安定性

VOCs 標準及びオゾン混入ガスの保存安定性試験結果とオゾンスクラバの選定試験結果を表 4 に示した。公定

表 4 VOCs とオゾン混合ガスの添加回収・保存安定性試験

分類	化合物名*1	BVOC+VOC+O ₃ (3種MIX)				AAスクラバー3種MIX				KISスクラバー3種MIX			
		回収率 (%)	相対割合変化*2		安定性評価*3	回収率 (%)	相対割合変化		安定性評価	回収率 (%)	相対割合変化		安定性評価
			最小	最大			最小	最大			最小	最大	
B VOC テルペン類 (植物起源)	Isoprene	103	0.77	~ 1.10	○	98	0.97	~ 1.00	◎	97	0.96	~ 1.03	◎
	α-Pinene	116	0.96	~ 1.16	◎	106	1.04	~ 1.12	◎	122	1.19	~ 1.28	×
	α-Myrcene	108	0.69	~ 1.18	△	115	0.96	~ 1.15	◎	122	1.10	~ 1.22	×
	Limonene	128	0.97	~ 1.28	×	114	0.82	~ 1.14	◎	232	2.20	~ 2.59	×
	p-Cymene	110	0.93	~ 1.19	◎	102	1.00	~ 1.04	◎	121	1.17	~ 1.25	×
V OC 有害大気 汚染物質 (優先取組)	塩化ビニルモノマー	103	0.74	~ 1.03	○	102	1.02	~ 1.19	◎	99	0.99	~ 1.12	◎
	1,3-ブタジエン	106	0.53	~ 1.06	△	100	0.90	~ 1.15	◎	112	1.06	~ 1.26	△
	ジクロロメタン	117	0.71	~ 1.17	△	89	0.89	~ 1.20	◎	84	0.84	~ 1.18	◎
	アクリロニトリル	102	0.67	~ 1.02	△	93	0.87	~ 1.02	◎	87	0.83	~ 1.00	◎
	クロロホルム	120	0.73	~ 1.20	○	91	0.91	~ 1.19	◎	84	0.84	~ 1.17	◎
	ベンゼン	115	0.87	~ 1.15	◎	88	0.88	~ 1.07	◎	86	0.86	~ 1.08	◎
	1,2-ジクロロエタン	105	0.68	~ 1.05	△	96	0.96	~ 1.04	◎	90	0.90	~ 1.04	◎
	トリクロロエチレン	155	0.63	~ 1.55	×	90	0.90	~ 1.31	○	77	0.77	~ 1.32	×
テトラクロロエチレン	128	0.79	~ 1.28	×	91	0.91	~ 1.23	○	88	0.79	~ 1.28	△	
V OC 不安定 成分	Freon 12	110	0.60	~ 1.10	△	91	0.91	~ 1.16	◎	86	0.86	~ 1.14	◎
	Freon 114	99	0.57	~ 0.99	△	74	0.74	~ 0.99	×	79	0.79	~ 1.05	◎
	塩化メチル	104	0.73	~ 1.04	△	100	0.96	~ 1.08	◎	95	0.93	~ 1.06	◎
	Methyl bromide	120	0.63	~ 1.20	△	86	0.86	~ 1.19	◎	82	0.82	~ 1.18	◎
	クロロエタン	111	0.64	~ 1.11	△	94	1.02	~ 1.12	◎	90	0.90	~ 1.11	◎
	Freon 11	131	0.56	~ 1.31	×	87	0.87	~ 1.23	△	81	0.81	~ 1.22	△
	Freon 113	120	0.63	~ 1.20	△	91	0.91	~ 1.22	△	86	0.86	~ 1.22	△
	1,1-ジクロロエチレン	126	0.66	~ 1.26	×	84	1.15	~ 1.38	△	80	0.80	~ 1.36	△
	1,1-ジクロロエタン	110	0.62	~ 1.10	△	95	0.95	~ 1.11	◎	91	0.91	~ 1.11	◎
	cis-1,2-ジクロロエチレン	91	0.48	~ 0.91	△	64	0.64	~ 0.93	×	58	0.58	~ 0.90	×
	1,1,1-トリクロロエタン	134	0.61	~ 1.34	△	83	0.83	~ 1.11	◎	67	0.67	~ 1.36	×
	四塩化炭素	152	0.66	~ 1.52	×	95	0.84	~ 1.39	○	84	0.84	~ 1.34	△
	1,1,2-トリクロロエタン	122	0.79	~ 1.22	×	89	0.89	~ 1.11	◎	83	0.83	~ 1.21	△
	1,1,2,2-テトラクロロエタン	117	0.65	~ 1.17	△	85	0.85	~ 1.11	◎	81	0.81	~ 1.13	◎
	m-Dichlorobenzene	123	0.75	~ 1.23	×	84	0.84	~ 1.07	◎	85	0.85	~ 1.14	◎
	p-ジクロロベンゼン	121	0.76	~ 1.21	×	82	0.82	~ 1.05	◎	82	0.82	~ 1.11	◎
	塩化ベンジル	131	0.45	~ 1.31	×	117	0.61	~ 1.17	○	132	0.81	~ 1.32	×
	1,2,4-トリクロロベンゼン	65	0.31	~ 0.71	×	96	0.38	~ 0.96	△	194	0.97	~ 1.99	×
	Hexachlorobutadiene	107	0.61	~ 1.07	△	73	0.73	~ 0.91	×	87	0.87	~ 1.11	×
	V OC 安定 成分	塩化アリル	119	0.77	~ 1.19	○	113	1.13	~ 1.28	△	124	1.08	~ 1.24
1,2-ジクロロプロパン		115	0.80	~ 1.15	◎	96	1.05	~ 1.15	◎	91	0.91	~ 1.15	◎
cis-1,3-Dichloropropene		112	0.82	~ 1.12	◎	97	1.05	~ 1.13	◎	94	0.94	~ 1.13	◎
トルエン		105	1.02	~ 1.07	◎	100	1.03	~ 1.05	◎	106	1.06	~ 1.12	◎
trans-1,3-Dichloropropene		111	0.76	~ 1.11	○	99	1.04	~ 1.12	◎	97	0.97	~ 1.23	○
二臭化エチレン		119	0.75	~ 1.19	○	88	0.88	~ 1.19	◎	85	0.85	~ 1.19	◎
クロロベンゼン		115	0.84	~ 1.15	◎	93	1.04	~ 1.12	◎	92	0.92	~ 1.15	◎
エチルベンゼン		107	1.01	~ 1.11	◎	98	1.00	~ 1.03	◎	101	1.01	~ 1.11	◎
キシレン類(m,p-)		106	1.00	~ 1.06	◎	96	0.97	~ 0.99	◎	99	0.99	~ 1.09	◎
o-キシレン		106	0.98	~ 1.06	◎	96	0.98	~ 0.98	◎	100	1.00	~ 1.10	◎
スチレン		106	0.96	~ 1.06	◎	95	0.85	~ 0.95	◎	99	0.94	~ 1.04	◎
4-ethyltoluene		100	0.95	~ 1.00	◎	97	0.93	~ 0.97	◎	119	1.14	~ 1.19	◎
1,3,5-トリメチルベンゼン		98	0.91	~ 0.98	◎	91	0.87	~ 0.91	◎	101	0.97	~ 1.01	◎
1,2,4-トリメチルベンゼン		97	0.91	~ 0.97	◎	91	0.86	~ 0.91	◎	103	0.97	~ 1.03	◎
o-ジクロロベンゼン		118	0.74	~ 1.18	◎	81	0.81	~ 1.03	◎	84	0.84	~ 1.11	◎

*1: 化合物名は有害大気汚染物質のプライオリティリストに掲載されている物質についてはその表記に従った。
 *2: 相対割合変化は混合ガス調整時の濃度(250ppt)から, 1, 7, 14, 30日経過後の濃度割合の変動幅
 *3: 安定性評価は相対割合変動の許容範囲を2割とし, 経過日数及び回収率により安定性を以下のように区分
 ◎:「30日間安定」, ○:「14日間安定」, △:「7日間安定」, ×:「不安定(回収率が許容範囲から20%超過)」

法による保存安定性の目安は1週間とされている²⁾ことから、表中で「×」をつけたリモネンを含めた11物質は高濃度オゾンガス混入により回収率または7日間後の保存安定性の観点で分析精度が不十分であった。また、ミルセンを含めた16物質は、調整後7日間までは相対割合変化が2割以内であるが、明らかに時系列な減少傾向を示しており実用性に乏しいため、妨害オゾン除去の必要性が確認された。

3 オゾンスクラバの選定

表4よりAAスクラバを利用した場合、回収率は、Freon 114, cis-1,2-ジクロロエチレン, Hexachlorobutadieneを除き、良好な結果が得られた。また、オゾンガスに対して不安定な物質のうち、全BVOC及び表中「△」をつけた5物質以外は2週間以上の保存安定性を確保できた。

一方、KIスクラバを利用した場合、回収率が58~220%で、分析精度が悪化するものが生じ実用性に乏しかった。

このことから、スクラバを利用することにより回収率が悪くなる物質も一部あるが、オゾンガスに対する安定性の観点から、サンプリング中に高濃度オゾンの共存が想定される場合にはAAスクラバが有用であることがわかった。

4 実試料への適用例

公定法及びAAスクラバを利用した採取器具の並行測定結果と相対較差を表5に示した。公定法による二重測定の誤差許容範囲が3割である²⁾ことから、相対較差の判断基準を3割とした。リモネン、クロロエタン、p-ジクロロベンゼンは相対格差3割以上でAAスクラバを利用すると濃度が高くなった。その他は相対格差3割以内であったが、記載した38物質中、32物質がスクラバを装着したほうの濃度が高かった。この結果からAAスクラバを利用しても物理的吸着による損失は無く、サンプリング中及び保管中の酸化物質による損失を防ぐ効果が期待できた。

まとめ

キャニスター減圧採取法により植物起源の代表成分であるテルペン類を含む揮発性有機化合物(VOCs)の多成分同時測定方法を検討し以下の結果を得た。

- 1)テルペン類の分析精度は定量範囲数ppt~約500pptで良好な直線性が得られ、標準試料の保存安定性は1ヶ月以上確保されていた。
- 2)テルペン類を含むVOCsガスに高濃度オゾンガスを混合すると、ミルセンや一部フロン類等、明らかに減少傾向を示す不安定な物質があった。
- 3)テルペン類を含むVOCsガスのキャニスター内での安定性確保のためのオゾン除去剤として、L-アスコルビン

表5 実試料への適用例 (AAスクラバ利用効果)

分類	化合物名	濃度(μg/m ³)*1		相対較差(%)*2
		無	有	
BVOC	Isoprene	0.29	0.30	2.8
	α-Pinene	3.7	4.2	12
	α-Myrcene	0.13	0.16	18
	Limonene	3.2	8.1	151
	p-Cymene	0.15	0.16	7.2
VOC (優先)	塩化ビニルモノマー	0.03	0.03	2.0
	1,3-ブタジエン	0.24	0.26	7.7
	ジクロロメタン	1.8	1.8	1.8
	アクリロニトリル	0.06	0.07	29
	クロロホルム	0.15	0.16	8.5
	ベンゼン	1.5	1.8	16
	1,2-ジクロロエタン	0.05	0.06	15
	トリクロロエチレン	0.40	0.49	22
	テトラクロロエチレン	0.20	0.22	8.0
	Freon 12	2.5	2.6	3.5
	Freon 114	0.05	0.06	30
	Methyl bromide	0.10	0.11	10
	Freon 11	1.4	1.5	2.6
Freon 113	0.61	0.60	-1.0	
VOC	1,1-ジクロロエタン	0.02	0.02	5.1
	1,1,1-トリクロロエタン	0.32	0.26	-18
	四塩化炭素	0.66	0.68	2.4
	塩化ベンジル	2.1	2.5	19
	塩化メチル	1.1	1.2	5.9
	クロロエタン	0.04	0.07	82
	塩化アリル	0.41	0.46	12
	1,2-ジクロロプロパン	0.03	0.04	21
	トルエン	14	14	-0.4
	クロロベンゼン	0.04	0.04	16
	エチルベンゼン	2.3	2.4	6.2
	キシレン類(m,p-)	3.1	3.3	3.4
	o-キシレン	1.3	1.3	-0.2
	スチレン	0.33	0.41	22
	4-ethyltoluene	0.62	0.67	6.8
1,3,5-トリメチルベンゼン	0.75	0.72	-4.5	
1,2,4-トリメチルベンゼン	2.5	2.3	-9.9	
p-ジクロロベンゼン	0.68	1.4	102	
o-ジクロロベンゼン	0.06	0.07	21	

*1: 公定法による試料を「無」、AAスクラバを利用し採取した試料を「有」とした
 *2: 相対較差は公定法に対するAAスクラバ利用試料の較差を百分率で表した
 *3: 実測値が検出下限以上のものを記載した

酸が有効であった。

今回検討した手法により、テルペン類を含むVOCs測定中のオゾン等の酸化物質による損失を防ぐ効果が期待できる。今後は、実試料への適用事例を増やし測定方法の妥当性を確認するとともに、この方法を用いて大気中のVOCs濃度分布と、オゾン、SPMとの反応機構について検討する。

なお、今回の結果の一部は第45回大気環境学会年会で発表した。

文 献

- 1) 環境省環境管理局：新しい揮発性有機化合物 (VOC) 排出抑制の制度，大気環境学会誌，**39**，A79-A86 (2004)
- 2) 環境省環境管理局大気環境課：有害大気汚染物質測定方法マニュアル - 大気中のベンゼン等揮発性有機化合物 (VOCs) の多成分同時測定方法 - (2003)
- 3) 谷田貝光克：森林が放出する揮発性物質とその効用，臭気の研究，**21**，249-257 (1990)
- 4) 横内陽子他：大気中モノテルペンの挙動に関する研究，国立公害研究所研究報告，**76** (1985)
- 5) 笹井春雄他：環境大気中のテルペンの挙動，長野県衛公研報告，**11**，12-15 (1988)
- 6) 須山芳明他：テルペン類の光化学反応性に関する研究，神奈川県環境科学センター研究報告，**20**，7-14 (1997)
- 7) 化学大辞典編集委員会：化学大辞典，共立出版，東京 (1963)
- 8) U. S. EPA : Determination of volatile organic compounds (VOCs) in ambient air using SUMMA polished canister sampling and gas chromatographic (GC) analysis. (T0-14), (1988)
- 9) 太田良和弘他：大気中揮発性有機化合物の測定法の検討，静岡県環境衛生科学研究所報告，**42**，5-10 (1999)
- 10) 長谷川敦子他：キャニスター-GC/MS による環境大気中 VOCs 測定法の検証，第7回環境化学討論会講演要旨集，94-95 (1998)
- 11) Y. Inomata. et al. : Simultaneous measurement of volatile organic compounds using ascorbic acid for oxidant removal and gas chromatography-flame photometric detection, J. Chromatogr, **A864**, 111-119 (1999)

他誌に発表した論文

環境科学部

- 1) Characteristics of Particle Matter and Associated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Indoor and Outdoor Air in Two Cities in Shizuoka, Japan.

Atmospheric Environment, **38**, 2045-2054 (2004)

Takeshi Ohura, Takashi Amagai, Tomohiko Sugiyama, Masahiro Fusaya and Hidetsuru Matsushita

Indoor and outdoor concentrations of particle matter and associated polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in summer and winter in two industrial cities in Shizuoka, Japan, were determined. Fine particles (PM_{2.5}) accounted for 44%-56% of the total suspended particle matter. Most (>80%) of the PAHs associated with the particles were in the PM_{2.5} fraction. The concentration of PAHs, but not particles, was elevated in winter. A strong correlation ($p < 0.01$) between indoor and outdoor air was found for almost PAHs measured, but not for particles. Ratios of indoor to outdoor PAH concentrations showed that the indoor PAHs were mostly from outdoor sources, and the trends were especially noticeable in winter. In spite of the high contribution of PAHs to PM_{2.5}, no significant correlation was found between the concentration of PM_{2.5} and the associated PAH concentration either indoors or outdoors. Outdoors, individual relative PAH concentrations (normalized to benzo[*e*]pyrene concentration) were greater in winter than in summer for light molecular PAHs (~4 rings), as well as for benzo[*a*]pyrene (BaP), whereas the seasonal differences for other heavy molecular PAHs (except BaP) were negligible. This suggested that the contributions of decay reactions such as photodegradation were relatively small for the heavy molecular PAHs. Carcinogenic risks associated with the inhalation of indoor PAHs were assessed, and BaP showed the greatest contribution (51%-64%) to the total carcinogenic risk.

- 2) Development of a highly sensitive method for determining atmospheric carbonyl compounds by passive sampling and application of the method to a survey of indoor air.

Intern. J. Environ. Anal. Chem. **84**, 1035-1044 (2004)

Masahiro Fusaya, Takeshi Ohura, Morimasa Suzuki, Takashi Amagai and Hidetsuru Matsushita:

A simple, highly sensitive analytical method for measuring many kinds of carbonyls in air using a passive sampler containing a sorbent (silica gel) coated with 2,4-dinitrophenylhydrazine have been developed. The carbonyls collected by the sampler were extracted with a solvent, and the extracts were subjected to high-performance liquid chromatography (HPLC; UV detection) without first being concentrated. In this method, the condition for the large amount injection is examined, resulting at least 20 times as sensitive as ordinary HPLC methods. The air concentrations of nine carbonyls collected by passive sampling over a period of 24 h were estimated by means of conversion equations derived from the results of active sampling; $c = 10^{[1 \log(\gamma) - b] / a}$, where c is carbonyl concentration in air ($\cdot \text{g}/\text{m}^3$); γ is carbonyl amount collected by the passive sampler ($\cdot \text{g}$), and a and b are constants for each carbonyl compound. The calculated air concentrations were consistent with the concentrations measured by active sampling. This method may be useful for determining personal exposure to ambient carbonyls.

- 3) 製紙スラッジ焼却灰の紙へのリサイクル技術の開発

村松重緒, 日吉公男

Journal of the Society of Inorganic Materials, Japan **12**, 106-114 (2005)

製紙スラッジ (PS) の紙へのリサイクルを目的として焼成条件を検討した。PS の焼成条件と反応生成物との関係を調べ、これらの結果を基に、PS 焼却灰を再生

紙の填料や顔料として再利用するための適正条件を決定した。

高白色度の PS 焼却灰は、一般的な焼成方法では、高温（700℃以上）、長時間（5 時間以上）で得られた。しかしながら、硬度の高いゲーレンナイトが生成してしまうため、スラリー化時の pH、EC も増大し、PS 焼却灰の製紙用填料や顔料としての利用は困難であった。

PS の主成分について、加熱時の変化を熱分析により調べた。ゲーレンナイトは PS 中のカオリンと炭酸カルシウムから、それらが熱を受けてメタカオリンと酸化カルシウムに変化した後、生成したと推察された。カオリンのメタカオリン化は雰囲気依存しないため、400℃以上において防ぐことができないが、炭酸カルシウムの脱炭酸抑制は二酸化炭素分圧に依存するため、雰囲気制御により抑制可能であった。すなわち、炭酸カルシウムの脱炭酸温度は、二酸化炭素濃度が 100% で 900℃、10% で 800℃まで上昇した。

以上の結果から、紙へのリサイクルを目的とした PS の焼成条件を確立した。焼成温度が 700~750℃、空気（酸素濃度に 0%）中の二酸化炭素濃度を 10% とすれば良いことが明らかとなった。

微生物部

1) 迅速検査キット「シングルパスカンピロバクター」を用いた鶏糞便からのカンピロバクター直接検出の試み

川森文彦, 佐野世乃, 三輪憲永, 増田高志
静岡県獣医師会会報 28, 36-39 (2004)

10 鶏群中 7 鶏群からカンピロバクターが分離され、陽性鶏群では、各々 10 検体すべての糞便から本菌が確認され、糞便中の菌数（平均 $2.5 \times 10^7/g$ ）も多いことが確認された。そこで、本菌を短時間で検出する検査キット「シングルパスカンピロバクター」を用い、鶏糞便からの本菌の直接検出を試みた。糞便中の大型細菌や夾雑物を減少させつつカンピロバクターを濃縮するために遠心操作を組み合わせた方法を考案し、10 鶏群の糞便検体について検査したところ、1 鶏群以外はカンピロバクターの分離成績と一致した。この直接検出法は、培養法に比べ、精度と感度は劣るが、現場検査室における汚染鶏群のスクリーニング検査法として有効な手段であると思われる。

2) ヒト、家畜および食肉から分離されたカンピロバクターの薬剤感受性

川森文彦, 久島昇平, 有田世乃, 増田高志,
秋山真人, 重茂克彦, 品川邦汎
日本食品微生物学会雑誌 21, 131-137 (2004)

C. jejuni 352 株（胃腸炎患者由来；65 株、鶏および処理施設由来；245 株、牛由来；42 株）、*C. coli* 16 株（鶏および処理施設由来；9 株、牛由来；6 株、豚由来；1 株）および *C. fetus* 29 株（すべて牛由来株）について、8 種類の抗生物質に対する感受性を調べた。

3 菌種の耐性株の出現率は、TC で 27.6~75.0%、NA で 30.1~100%、CPFX で 27.6~62.5% と高率であったが、GM、IPM および CP に対する耐性株の出現率は 0~1.1% と低かった。EM 耐性株の出現率は、*C. jejuni* が 5.4%、*C. fetus* が 3.4% と低かったが、*C. coli* では 43.8% と高率であった。

NA と CPFX に対する *C. jejuni* の耐性株の割合は、患者由来株（46.2% および 44.6%）が、鶏由来株（27.8% および 26.1%）と牛由来株（19.0% および 16.7%）に比べ、有意に高い値を示した。*C. jejuni* における ABPC 耐性株の出現率は、患者由来株と鶏由来株が 20% 前後であったのに対し、牛由来株はすべて感受性を示した。カンピロバクター腸炎の治療薬として最も重要な EM と、近年、耐性株の増加が問題となっている CPFX などの FQ 剤については、今後も継続的に耐性株の出現率に注目していく必要があると思われる。

3) 腸炎患者、犬、猫および野鳥におけるカンピロバクターおよびヘリコバクターの保有状況ならびに分離法の検討

川森文彦, 有田世乃, 西尾智裕, 三輪憲永,
増田高志, 秋山真人
日本獣医師会雑誌 57, 455-459 (2004)

3 種類の分離法（CCDA 培地、CAT 培地、フィルター法）を用いてカンピロバクターとヘリコバクターの検出を試みたところ、腸炎患者では、*Campylobacter jejuni* が 5.3%（16/303）から分離された。犬（110 頭）と猫（40 頭）では、*C. jejuni* は犬 2 頭（1.8%）から分離されただけであったが、*C. upsaliensis* が高率（犬 51.8%、猫 25.0%）に分離された。また、猫からは *C. helveticus* も 3 頭（7.5%）から確認された。ドバト 75 羽からは *C. jejuni*（29.3%）が、野生カモ 20 羽からは *C. jejuni*（15.0%）と *C. coli*（45.0%）が検出された。*C. jejuni* については分離法による検出率の差は小さかったが、*C. upsaliensis* の分離効率は CAT 培地とフィルター法が優れていた。ヘリコバクターは、すべてフィルター法のみで検出され、犬（2.7%）と猫（17.5%）からの分離株は *Helicobacter canis* であることが確認されたが、野生カモから分離された 1 株については種を確定することができなかった。

4) Analysis of Influenza Viruses Isolated in Off-Seasons and The Following Epidemic Seasons in Shizuoka Prefecture, Japan

International Congress Series 1263 , 360-363 (2004)

Keiji Sahara¹, Megumi Inayoshi¹, Masaaki Sugieda¹, Setsuko Nakajima²

¹Department of Microbiology, Shizuoka Institute of Environment and Hygiene, Shizuoka, Japan

²Department of Virology, Medical School, Nagoya City University, Nagoya, Japan

Abstract. The community surveillance of influenza virus performed in Shizuoka prefecture, Japan, during the period from April 1997 to March 2003 has detected influenza B virus infections in the summers of 1998 and 2000. Influenza B viruses belonging to B/Victoria/2/87-lineage caused an outbreak among school children in the summer of 1998, and the viruses belonging to the same lineage were predominantly isolated during the following epidemic. On the other hand, an influenza B virus belonging to B/Yamagata/16/88-lineage was isolated from a traveler in the summer of 2000, and the viruses belonging to the same lineage were predominantly isolated during the following epidemic.

The off-season viruses were antigenically similar to the following epidemic viruses in both instances. However, the nucleotide sequence analysis showed that the off-season viruses were not close to the epidemic viruses except one virus from a sporadic case. The results indicated that the off-season viruses do not always become the parental viruses for the following influenza season.

5) Characterization of *Ehrlichia* Species from *Ixodes ovatus* Ticks at the Foot of Mt. Fuji, in Japan

Microbiology and Immunology, 48(10) , 737-745 (2004)

Megumi Inayoshi, Hirotaka Naitou, Fumihiko Kawamori, Toshiyuki Masuzawa, and Norio Ohashi

A total of 390 adult ticks (288 *Ixodes ovatus* and 102 *I. persulcatus*) collected at the foot of Mt. Fuji and two near cities in Shizuoka prefecture, Japan, were examined for *Ehrlichia* infection by isolation with laboratory mice from whole tick tissues.

Ehrlichial DNAs were detected from spleens of mice inoculated with tissues from *I. ovatus*, but not *I. persulcatus*. The prevalence of the ehrlichiae in the ticks was estimated to be ca. 3%. The 16S rDNA analysis revealed that the sequences of 8 ehrlichial isolates (termed "Shizuoka" isolates) obtained were identical, and were very similar, but not identical, to those of two *Ehrlichia* species strain variants recently isolated in Japan, followed by *E. chaffeensis* in the US. Analysis of parts of the *omp-1* multigene family specific for monocytic ehrlichiosis agents showed that the Shizuoka isolates were distinct from other ehrlichial organisms. The Shizuoka isolates caused death in immunocompetent laboratory mice, suggesting that they are highly pathogenic in mice. The data show that the Shizuoka isolates are likely to be a new strain variant of *Ehrlichia* species in Japan. Further characterization and surveillance will be required in Japan, due to the presence of these human ehrlichiosis agent-like organisms.

レジオネラプロジェクト

1) レジオネラ肺炎の集団発生事例と臨床症状

佐藤雅樹, 源馬 均, 千田金吾
本多康希, 安田和雅, 八木 健
永山雅晴, 吉富 淳, 柳瀬賢次
橋爪一光, 山田勝康, 野田康信
金井美穂, 志村昌大, 渡邊憲治
杉山寛治, 成田喜代司, 守屋武

化学療法の領域 20 (4), 60~64 (2004)

民間の循環式温泉レジャー施設が2000年2月に開業し、直後の3月から22例のレジオネラ症が集団発症した。

主因は循環浴槽水の塩素消毒装置ノズルの目詰まりであり、加えて水交換頻度が少なく、気泡湯に循環浴槽水を使用したことが被害の拡大につながった。患者の平均年齢は67.0歳で半数の患者が基礎疾患を有していた。男女比は10:1と男性が多かった。尿中抗原は陽性率が高く診断確定に有用であり、その経時的推移は病勢を反映していた。レジオネラ症流行の報道以前に受診した患者では、半数以上にセフェム系抗生物質の単独投与が選択されていたが、報道後にはすべての症例でマクロライドを含む治療が行われており、患者発生情報の重要性が明らかであった。

2) 実験用循環式浴槽水浄化装置を用いた自然汚染, 無殺菌状況下におけるレジオネラ属菌の消長

大畑克彦, 鈴木光彰, 杉山寛治,
江塚安伸, 曾布川尚民

日本防菌防黴学会誌 32, 593-600 (2004)

静岡県では「レジオネラ汚染のない安全, 安心な浴槽水の創出」を目指したプロジェクト研究を行っている。そこで実験用循環式浴槽水浄化装置を構築し, 無殺菌状況下で循環濾過を行った浴槽水について, 自然汚染によるレジオネラ属菌等の経時的推移を調べた。その結果, 一般細菌等が殺菌停止1日後にほぼ最高の菌数まで増殖し, 過マンガン酸カリウム消費量の減少が認められた。殺菌停止2日後にはアメーバが出現し, 3日後にその数は循環期間中, 最高の値に達した。レジオネラ属菌は, 殺菌停止5日後には浴槽水等において 10^5 CFU/100mlという最高菌数値が確認された。これらのことより, 無殺菌状況下の循環浴槽水中における短期間での急激なレジオネラの増殖および本菌と他の微生物間における食物連鎖的関係が示唆された。また濾過材が本菌増殖の温床となり, 浴槽水への新たな汚染源となっていることもわかった。

大気・水質部

1) 静岡市内の河川中におけるノニルフェノール等の実態と非イオン界面活性剤中の成分

岡崎幸司

用水と廃水 46(5), 402-407 (2004)

ノニルフェノールポリエトキシレート (NPE) は, 好氣的生物処理により生分解され, モノエトキシレートやジエトキシレートといったエトキシ類を生成し, さらに, 嫌氣的生分解によってノニルフェノール (NP) が生じるといわれているが, 今回調査した2工場のうちの1工場の生物処理施設以外には明らかな好氣的あるいは嫌氣的条件は見当たらなかった。

そこで, 2工場で使用しているNPE中のNP, エトキシ類を測定したところ, どちらのNPE中からもNPやエトキシ類が検出された。NPE中のNP, エトキシ類の濃度割合と排水処理工程水中の濃度割合を比較すると, ほぼ同じであった。

これらのことから, 両工場の排水中のNP, エトキシ類はNPEが分解したものではなく, NPEの成分として含まれているNP, エトキシ類である可能性が高い。

学会・研究会の報告

環境科学部

- 1) パッシブサンプラーによる工場周辺の有害大気汚染物質濃度分布簡易測定法
房家正博, 鈴木守正, 大関麻由果, 大浦健,
雨谷敬史, 松下秀鶴
第 13 回環境化学討論会 2004. 7. 7~9 (静岡)
- 2) アルデヒド用パッシブサンプラーからの抽出・前処理手法の検討
房家正博, 鈴木守正, 大浦健, 雨谷敬史,
松下秀鶴
第 13 回環境化学討論会 2004. 7. 7~9 (静岡)
- 3) アルデヒド類の個人曝露量と室内濃度との関係
房家正博, 村松重緒, 大浦健, 雨谷敬史
平成 16 年度室内環境学会
2004. 10. 9~11 (東京)
- 4) パッシブサンプリングによるアルデヒド類の室内発生源の探索
村松重緒, 房家正博, 大浦健, 雨谷敬史
平成 16 年度室内環境学会
2004. 10. 9~11 (東京)
- 5) 製紙スラッジ (PS) 焼却灰の紙へのリサイクル技術の開発
村松重緒, 日吉公男
平成 16 年度産業技術連携推進会議エネルギー・環境部会合同分科会研究発表会
2004. 10. 14~15 (水戸)
- 6) 静岡県富士市における大気汚染実態調査 (その 1, アルデヒド)
大関麻由果, 雨谷敬史, 大浦健, 北澤敦,
村松重緒, 房家正博
第 45 回大気環境学会 2004. 10. 20~22 (秋田)
- 7) 静岡県富士市における大気汚染実態調査 (その 2, ベンゼン及びその誘導体)
雨谷敬史, 大関麻由果, 北澤敦, 大浦健,
村松重緒, 房家正博
第 45 回大気環境学会 2004. 10. 20~22 (秋田)
- 8) 静岡県富士市における大気汚染実態調査 (その 3, 揮発性有機塩素化合物)
大浦健, 雨谷敬史, 大関麻由果, 北澤敦,
村松重緒, 房家正博
第 45 回大気環境学会 2004. 10. 20~22 (秋田)
- 9) ある生活排水路における水質のエストロゲン活性
深澤均, 渡邊雅之
平成 16 年度東海地区環境試験研究機関会議
2005. 1. 21 (名古屋)
- 10) 製紙スラッジ (PS) 焼却灰の紙へのリサイクル技術の開発
村松重緒, 日吉公男
平成 16 年度廃棄物研究発表会
2005. 1. 25 (東京)

微生物部

- 1) 豚およびブロイラー由来の黄色ブドウ球菌における薬剤感受性調査
廣井みどり, 郷田淑明, 土屋清次
日本獣医公衆衛生学会 (中部) 2004. 8. 29 (岐阜)
- 2) 静岡県で分離された A 型インフルエンザのノイロミダーゼ (NA) 亜型の型別
稲吉 恵, 足立 聡, 三輪好伸, 杉枝正明,
倉重英明
第 19 回関東甲信静ウイルス研究会
2004. 9. 30 (横浜市)
- 3) 散発及び集団発生事例から検出された Norovirus について
三輪好伸, 稲吉 恵, 足立 聡, 杉枝正明,
倉重英明
第 19 回関東甲信静ウイルス研究会
2004. 10. 1 (横浜市)
- 4) リアルタイム PCR 法による *Campylobacter jejuni* の菌数測定
川森文彦
第 87 回日本細菌学会関東支部総会
2004. 11. 6 (東京)

- 5) リアルタイム PCR 法による *Campylobacter jejuni* の迅速検出法の検討
川森文彦, 柏木美智子, 廣井みどり, 佐野世乃,
三輪憲永, 倉重英明
第 41 回静岡県公衆衛生研究会 2005. 2. 9 (静岡)
- 6) 静岡県内を流通している生鮮野菜および果物の微生物汚染状況
佐野世乃, 柏木美智子, 廣井みどり, 川森文彦,
三輪憲永, 倉重英明, 増田高志
第 41 回静岡県公衆衛生研究会 2005. 2. 9 (静岡)
- 7) 静岡県におけるインフルエンザ感受性調査 (インフルエンザ流行予測事業)
足立 聡, 稲吉 恵, 三輪好伸, 杉枝正明,
倉重英明
第 41 回静岡県公衆衛生研究会 2005. 2. 9 (静岡)
- 8) 富士山麓に生息するマダニが保有するエーリキア細菌について
稲吉 恵, 足立 聡, 三輪好伸, 杉枝正明,
倉重英明
第 41 回静岡県公衆衛生研究会 2005. 2. 9 (静岡)
- 9) 腸炎患者, 犬, 猫および野鳥におけるカンピロバクターおよびヘリコバクターの保有状況ならびに分離法の検討
川森文彦, 有田世乃, 西尾智裕, 三輪憲永,
増田高志, 秋山真人
日本獣医師会学会年次大会 2005. 2. 10 (新潟)
- 3) モデル浴槽での光触媒殺菌及び銀イオン殺菌の効果
鈴木光彰, 大畑克彦, 倉重英明, 江塚安伸,
曾布川尚民, 杉山寛治
日本防菌防黴学会第 31 回年次大会
2004. 5. 27 (東京)
- 4) イムノクロマト法による環境水からのレジオネラ属菌迅速検出
杉山寛治, 大畑克彦, 鈴木光彰, 徳山千佳,
望月 剛, 難波靖治
第 7 回日本水環境学会シンポジウム 2004. 9. 13
(東京)
- 5) 入浴施設におけるレジオネラ汚染の重要管理点と対策
杉山寛治, 大畑克彦, 鈴木光彰, 倉重英明,
下河原江里子, 泉山信司, 八木田健司,
遠藤卓郎, 江塚安伸, 曾布川尚民,
第 41 回静岡県公衆衛生研究会 2005. 2. 9 (静岡)
- 6) 循環濾過式浴槽水におけるレジオネラ汚染の重要管理点と対策
杉山寛治, 大畑克彦, 鈴木光彰, 倉重英明,
下河原江里子, 泉山信司, 八木田健司,
遠藤卓郎
第 17 回地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究会 2005. 2. 18 (千葉市)
- 7) 米国におけるスパおよびプールのレジオネラ対策を含む衛生管理の現状
大畑克彦
第 17 回地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究会 2005. 2. 18 (千葉市)
- 8) 米国におけるスパおよびプールのレジオネラ対策を含む衛生管理について
大畑克彦
第 26 回全国環境衛生職員団体協議会関東ブロック会研究発表会 2005. 3. 18 (静岡)

レジオネラプロジェクト

- 1) 循環式浴槽水を用いた濾過器内の高濃度次亜塩素酸洗剤によるレジオネラ除菌効果
大畑克彦, 鈴木光彰, 倉重英明, 下河原江里子,
泉山信司, 八木田健司, 遠藤卓郎, 江塚安伸,
曾布川尚民, 杉山寛治
日本防菌防黴学会第 31 回年次大会
2004. 5. 27 (東京)
- 2) 浴槽水のレジオネラおよび微生物迅速, 定量検出法
杉山寛治, 大畑克彦, 鈴木光彰, 徳山千佳,
倉重英明, 望月 剛, 難波靖治
日本防菌防黴学会第 31 回年次大会
2004. 5. 27 (東京)
- 1) ヘッドホン及びイヤホン
望月大介
平成 16 年度消費生活センター等との中部・北陸ブロック連絡会議
2004. 7. 6 (名古屋)

医薬品生活部

- 2) スキップ試験の導入に向けた取り組み状況について
小和田和宏, 栗田浩幸, 植田敦子, 上村慎子,
藤原厚子, 石川雅章, 浮島美之
第 41 回全国薬事指導協議会総会
2004. 10. 29 (徳島)
- 3) 農産食品中の残留農薬一斉分析におけるトリプルステ
ージ LC/MS/MS の活用
高橋真, 寺沢真木子, 横山玲子, 石川雅章,
浮島美之, 山下敬子
日本食品衛生学会第 88 回学術講演会
2004. 11. 11 (広島)
- 4) 医薬品, 医薬部外品製造承認 (申請) 書における規
格及び試験方法の問題事例
小和田和宏, 栗田浩幸, 植田敦子, 上村慎子,
藤原厚子, 石川雅章, 浮島美之
第 41 回全国衛生化学技術協議会年会
2004. 11. 19 (甲府)
- 5) 後発医薬品の現状と課題
栗田浩幸, 上村慎子, 植田敦子, 小和田和宏,
渡邊正幸, 石川雅章, 浮島美之
第 41 回全国衛生化学技術協議会年会
2004. 11. 19 (甲府)
- 6) スキップ試験導入のための根拠作成事例
小和田和宏, 上村慎子, 植田敦子, 栗田浩幸,
藤原厚子, 渡邊正幸, 石川雅章, 浮島美之
第 37 回東海薬剤師学術大会
2004. 12. 5 (名古屋)
- 7) 農産食品中の残留農薬一斉分析におけるトリプルステ
ージ LC/MS/MS の活用
高橋真, 寺沢真木子, 横山玲子, 石川雅章,
浮島美之, 山下敬子
第 37 回東海薬剤師学術大会
2004. 12. 5 (名古屋)
- 8) スキップ試験導入のための根拠作成事例
小和田和宏, 栗田浩幸, 植田敦子, 上村慎子,
藤原厚子, 石川雅章, 渡邊正幸, 浮島美之
第 41 回静岡県公衆衛生研究会
2005. 2. 9 (静岡)
- 9) 医薬品等品質管理研修について
植田敦子, 上村慎子, 栗田浩幸, 小和田和宏,
藤原厚子, 石川雅章, 浮島美之
第 41 回静岡県公衆衛生研究会
2005. 2. 9 (静岡)
- 10) ガラス製体積計の取扱に関する外部精度管理調査結
果
小和田和宏, 浮島美之, 渡邊正幸, 越智壽美子,
石川雅章, 中島美穂, 浅賀彦人, 降旗昌彦,
志村将彦, 鈴木東悟
第 41 回静岡県公衆衛生研究会
2005. 2. 9 (静岡)
- 11) 後発医薬品の現状と課題
栗田浩幸, 上村慎子, 植田敦子, 小和田和宏,
石川雅章, 渡邊正幸, 浮島美之
第 41 回静岡県公衆衛生研究会
2005. 2. 9 (静岡)
- 12) 院内製剤の品質確保に関する研究ーウリナスタチン
膾坐剤についての検討ー
上村慎子, 植田敦子, 栗田浩幸, 小和田和宏,
石川雅章, 渡邊正幸, 藤原厚子, 浮島美之,
柏木美智子, 三輪憲永, 南 智, 岩崎剛士,
鍋田いづみ, 杉田真由, 見崎芳枝
第 41 回静岡県公衆衛生研究会
2005. 2. 9 (静岡)
- 13) 院内製剤の品質確保に関する研究ー塩酸ピペリデン
液に関する検討ー
植田敦子, 上村慎子, 栗田浩幸, 小和田和宏,
藤原厚子, 石川雅章, 浮島美之, 櫻井和子,
青島弘幸, 酒井道雄
第 41 回静岡県公衆衛生研究会
2005. 2. 9 (静岡)
- 14) 環境衛生科学研究所におけるファルマバレー構想創
薬探索研究
鈴木正人, 小郷尚久, 坂本裕子, 渥美加代子,
石川雅章, 浮島美之
第 41 回静岡県公衆衛生研究会
2005. 2. 9 (静岡)

- 15) 農産食品中の残留農薬一斉分析におけるトリプルステージ LC/MS/MS の活用
高橋真, 寺沢真木子, 横山玲子, 石川雅章,
浮島美之, 山下敬子
第 41 回静岡県公衆衛生研究会
2005. 2. 9 (静岡)
- 16) うなぎ中のエンフロキサシン分析法への LC/MS/MS の活用
寺沢真木子, 高橋真, 横山玲子, 石川雅章,
浮島美之, 渡邊正幸, 山下敬子
第 41 回静岡県公衆衛生研究会
2005. 2. 9 (静岡)
- 17) 収納容器の違いによる p-ジクロロベンゼンを主成分とする防虫剤の濃度比較
望月大介, 菅野尚子, 鈴木由利子, 浮島美之
第 41 回静岡県公衆衛生研究会
2005. 2. 9 (静岡)
- 18) 抗酸化作用, 抗がん作用等の機能が期待されるカロテノイドの食品中の定量結果について
鈴木由利子, 望月大介, 菅野尚子, 浮島美之
第 41 回静岡県公衆衛生研究会
2005. 2. 9 (静岡)
- 19) 院内製剤の品質確保に関する研究—ウリナスタチン膾坐剤についての検討—
上村慎子, 植田敦子, 栗田浩幸, 小和田和宏,
石川雅章, 渡邊正幸, 藤原厚子, 浮島美之,
柏木美智子, 三輪憲永, 南 智, 岩崎剛士,
鍋田いづみ, 杉田真由, 見崎芳枝
平成 16 年度地方衛生研究所全国協議会関東甲信
静支部第 17 回理化学研究部会研究会
2005. 2. 25 (静岡)
- 20) 医薬品等品質管理研修について
植田敦子, 上村慎子, 栗田浩幸, 小和田和宏,
藤原厚子, 石川雅章, 浮島美之, 矢崎彬雄
平成 16 年度地方衛生研究所全国協議会関東甲信
静支部第 17 回理化学研究部会研究会
2005. 2. 25 (静岡)

大気・水質部

- 1) 静岡県内における環境中のダイオキシン濃度と発生源の現状
三好廣志
平成 16 年度環境研究交流しずおか集会
2004. 7. 9 (静岡)
- 2) 2000 年度静岡県 PRTR データの解析結果
篠原英二郎
第 45 回大気環境学会
2004. 10. 21 (秋田)
- 3) キャニスター法によるテルペン類及び VOCs の測定方法の検討
太田良和弘
第 45 回大気環境学会
2004. 10. 21 (秋田)
- 4) 静岡市内の河川におけるノニルフェノール等の実態と非イオン界面活性剤中の成分
岡崎幸司
第 31 回環境保全・公害防止研究発表会
2004. 1. 14 (東京)
- 5) 公共用水域における水質事故(水質汚濁)での原因究明について—農薬による魚類へい死事故での対応
河合 渉
平成 16 年度東海地区環境試験研究機関会議水質分科会
2004. 11. 17 (各務原市)
- 6) 静岡県におけるオキシダント濃度
篠原英二郎
平成 16 年度「日本における光化学オキシダント濃度等の動態解明に関する研究」第 2 回研究会
2005. 1. 21 (京都)
- 7) 関東における大気エアロゾルのキャラクタリゼーション—平成 15 年度—
篠原英二郎
平成 16 年度関東地方環境対策推進本部大気環境部会浮遊粒子状物質調査会議講演会
2005. 3. 11 (東京)

表 彰 等

環境科学部

- 1) 静岡県紙パルプ技術協会平成 15 年度技術賞
平成 16 年 6 月 4 日
村松 重緒

微生物部

- 1) 地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部長表彰
平成 16 年 6 月 23 日
三輪憲永
- 2) 静岡県公衆衛生研究会 会長表彰（優秀演題）
「リアルタイム PCR 法による *Campylobacter jejuni*
の迅速検出法の検討」
平成 17 年 2 月 9 日
川森文彦，柏木美智子，廣井みどり，佐野世乃，
三輪憲永，倉重英明
- 3) 獣医学術奨励賞（公衆衛生部門学術賞）
「腸炎患者，犬，猫および野鳥におけるカンピロバ
クターおよびヘリコバクターの保有状況ならびに分
離法の検討」
平成 17 年 2 月 11 日
川森文彦，有田世乃，西尾智裕，三輪憲永，
増田高志，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）
「スキップ試験導入のための根拠作成事例」
平成 17 年 2 月 9 日
小和田和宏，栗田浩幸，植田敦子，
上村慎子，藤原厚子，石川雅章，
渡邊正幸，浮島美之

西部支所

- 1) 全国環境研究協議会 関東甲信静支部長表彰
平成 17 年 1 月 24 日
中島二夫

編集委員

阿形 敏明 (管理部)
浅岡 龍郎 (環境科学部)
増田 高志 (微生物部)
山本 政利 (医薬品生活部)
竹下 昭二 (大気・水質部)
池谷 静雄 (管理部)
渡邊 雅之 (環境科学部)
大畑 克彦 (微生物部)
栗田 浩幸 (医薬品生活部)
遠藤 満 (大気・水質部)
田口 弘道 (東部支所)
小原 九一 (西部支所)

静岡県環境衛生科学研究所報告
(第47号)

平成17年8月15日

編集発行 静岡県環境衛生科学研究所
静岡市葵区北安東4丁目27-2
電話 (054) 245-0201 (代)

E-mail kanki@pref.shizuoka.lg.jp

インターネットホームページ

<http://www6.shizuokanet.ne.jp/eikanctr>

印刷所 有限会社東海美術社
静岡市葵区古庄2丁目3-21
電話 (054) 263-1700 (代)



R100

古紙配合率100%再生紙を使用しています

この報告書に使用した本文用紙は、従来の再生紙と異なり製紙スラッジ(PS)から回収した粘土鉱物を紙にリサイクルした再生紙を使用しています。PSは、紙の製造時に発生し、通常は焼却処分されていますが、静岡県のプロジェクト研究により、紙にリサイクルできるようになりました。