

Shizuoka-Ken Kankyō Eisei Kagaku  
Kenkyūsho Hōkoku 56(2013)  
ISSN 1343-246X

# 静岡県環境衛生科学研究所報告

平成 25 年度

Bulletin  
of  
Shizuoka Institute of  
Environment and Hygiene

No.56 2013

静岡県環境衛生科学研究所



## はじめに

昨年9月に公表された「気候変動に関する政府間パネル (IPCC) 第5次評価報告書」では、「気候システムの温暖化については疑う余地がない」とされ、温暖化により、今世紀末には、平均気温が最大で 4.8℃、平均海面水位が最大で 82cm 上昇する可能性があるとされています。

地球温暖化防止に向けた対策は、人類の英知を結集して取り組むべき喫緊の課題であり、本県においても、県内の状況を踏まえた温室効果ガスの排出削減策など、新たな環境施策の展開が求められています。

また、保健衛生の分野においても、マダニ媒介性の重症熱性血小板減少症候群 (SFTS)、学校給食におけるノロウイルス食中毒、冷凍食品への農薬混入事案、危険ドラッグによる事件・事故など、県民の生命や健康を脅かす問題が発生しており、県民の安全・安心を守るための新たな取組が求められています。

こうした中で、静岡県環境衛生科学研究所は、環境と保健衛生の科学的・技術的中核機関として、静岡県の環境と県民の健康を守るための調査研究、試験検査、常時監視などの業務に取り組んでいます。

調査研究においては、ファルマバレープロジェクトの一翼を担う創薬探索、富士山の水資源の有効活用、迅速かつ精度の高い病原微生物の検査法、医薬品・食品等による健康被害に対応するための新たな検査法、大気汚染・水質汚濁の原因となる環境汚染物質などの重要課題ほか、県民生活に密着した課題、将来問題化することが予想される課題について、県民の期待に応えられるよう取り組んでいます。

さらに、大学、病院、国や他の地方自治体等の試験研究機関との共同研究・受託研究を積極的に受け入れ、また、研究アドバイザー(顧問)会議や外部評価委員会といった第三者機関の指導・評価をいただく中で、職員の研究者としての資質向上に努めています。

ここに、平成 25 年度の調査研究の成果を「静岡県環境衛生科学研究所報告 No.56」としてとりまとめましたので、御高覧の上、御指導・御批判を賜れば幸いです。

平成 26 年8月

静岡県環境衛生科学研究所長 山口 英彦



# 目 次

## 論 文

### 環境科学部

- 1 含リン廃棄物を原料にした肥料の有用性の検討  
岩崎泰憲, 鈴木光彰, 古屋洋一, 久米一成 ----- 1
- 2 外来種コモチカワツボの生態調査  
鈴木佐知子, 今津佳子, 古屋洋一, 久米一成 ----- 9

### 微生物部

- 3 ノロウイルスの流行予測に資するモニタリング法の検討  
佐原啓二, 小柳純子, 池ヶ谷朝香, 山田俊博, 長岡宏美,  
川森文彦 ----- 15
- 4 腎臓移植後患者におけるBKウイルス腎症に関する研究  
山田俊博, 小柳純子, 池ヶ谷朝香, 佐原啓二, 川森文彦,  
松尾 研, 森 典子 ----- 19
- 5 静岡県におけるつつが虫病の浸淫状況に関する研究  
池ヶ谷朝香, 小柳純子, 山田俊博, 佐原啓二, 川森文彦 ----- 23
- 6 入浴施設のレジオネラ属菌制御に係る新たな管理方法の検討  
長岡宏美, 高井健太, 牧田幸久, 佐原啓二, 川森文彦 ----- 29
- 7 静岡県における溶血性尿毒症症候群 (HUS) の原因菌の解析と感染源となる食材調査  
柴田真也, 長岡宏美, 川森文彦 ----- 35
- 8 食中毒起因菌迅速検査法の導入に関する研究  
高井健太, 飯田奈都子, 八木美弥, 長岡宏美, 川森文彦 ----- 39

### 医薬食品部

- 9 GC/MSによる指定薬物及び医薬品成分等のスクリーニング分析  
菅野尚子, 上村慎子, 隅 春菜, 岩切靖卓, 渡辺陽子,  
今津佳子, 小和田和宏 ----- 45
- 10 一般用医薬品の開封後の保存安定性について  
渡辺陽子, 隅 春菜, 岩切靖卓, 菅野尚子, 今津佳子,  
小和田和宏 ----- 49

11	簡易懸濁法に関する薬剤情報の構築 隅 春菜, 岩切靖卓, 内田恭之, 渡辺陽子, 菅野尚子, 今津佳子, 小和田和宏, 岩崎剛士, 山崎朝子, 高橋沙由理, 中條倫成, 鈴木崇代 -----	53
12	農産食品中の残留農薬一斉分析法に関する検討 (第2報) 小林千恵, 大坪昌広, 瀧井美樹, 鈴木明子, 小和田和宏 -----	57
13	冷凍食品中のマラチオンの緊急検査について 小林千恵, 大坪昌広, 瀧井美樹, 鈴木明子, 小和田和宏 -----	63
14	残留農薬一斉試験法の妥当性評価について 大坪昌広, 瀧井美樹, 小林千恵, 鈴木明子, 小和田和宏 -----	67
15	ウコン含有健康食品の品質評価 久保山真帆, 横山玲子, 小和田和宏 -----	73
16	味噌に含まれるイソフラボンに関する調査について 横山玲子, 久保山真帆, 小和田和宏 -----	81
17	小学校における生活習慣病予防をテーマとした商品テスト実習講座の実施について 横山玲子, 久保山真帆, 小和田和宏, 植田富美子 -----	87
<b>大気水質部</b>		
18	地下水硝酸性窒素汚染の効率的なモニタリングシステムの開発 清水麻希, 内山道春, 後藤裕康, 鈴木恒雄, 前田有美恵 -----	91
19	ADMER を活用した有害化学物質の環境濃度推定手法の検討について 金子智英, 紅林佑希, 松田健太郎, 三宅健司, 萱沼広行, 瀧本俊晴, 篠原英二郎, 前田有美恵 -----	97
20	静岡県内の微小粒子状物質 (PM <sub>2.5</sub> ) 濃度状況について (第1報) — 質量濃度及び水溶性イオン成分 (2012年度) — 三宅健司, 篠原英二郎, 萱沼広行, 前田有美恵 -----	101
21	近年の静岡県における湿性降下物の状況 松田健太郎, 金子智英, 三宅健司, 紅林佑希, 篠原英二郎, 瀧本俊晴, 萱沼広行, 前田有美恵 -----	107
<b>他誌に発表した論文</b> -----		113
<b>学会・研究会の報告</b> -----		114
<b>表彰等</b> -----		117
<b>学位取得</b> -----		118

# CONTENTS

## PAPERS

### Department of Environment Science

- 1 Study on Effective Utilization of Fertilizers, Making with Phosphorus Wastes  
Yasunori IWASAKI, Mitsuaki SUZUKI, Youichi FURUYA  
and Kazunari KUME ----- 1
  
- 2 Ecological Study of alien species *Potamopyrgus antipodarum*  
Sachiko SUZUKI, Yoshiko IMAZU, Youichi FURUYA,  
and Kazunari KUME ----- 9

### Department of Microbiology

- 3 Investigation on the Adequate Monitoring Method for Prediction  
about Epidemic of Norovirus Infection  
Keiji SAHARA, Junko KOYANAGI, Asaka IKEGAYA,  
Toshihiro YAMADA, Hiromi NAGAOKA and Fumihiko KAWAMORI ----- 15
  
- 4 The Study of BKV-associated Nephropathy in the Renal Transplant Recipient  
Toshihiro YAMADA, Junko KOYANAGI, Asaka IKEGAYA,  
Keiji SAHARA, Fumihiko KAWAMORI, Ken MATSUO  
and Noriko MORI ----- 19
  
- 5 Prevalence of Scrub Typhus in Shizuoka Prefecture  
Asaka IKEGAYA, Junko KOYANAGI, Toshihiro YAMADA,  
Keiji SAHARA and Fumihiko KAWAMORI ----- 23
  
- 6 Study on New Management Method Relating to *Legionella* Control of Bathing Facilities  
Hiromi NAGAOKA, Kenta TAKAI, Yukihisa MAKITA,  
Keiji SAHARA and Fumihiko KAWAMORI ----- 29
  
- 7 Analysis of Pathogen Causing Hemolytic Uremic Syndrome, and  
Study on Foods of Infection Source in Shizuoka Prefecture  
Shinya SHIBATA, Hiromi NAGAOKA and Fumihiko KAWAMORI ----- 35

8 Study on Introduction to Rapid Diagnostic Method of Foodborne Pathogenic Bacteria	
Kenta TAKAI, Natsuko IIDA, Miya YAGI, Hiromi NAGAOKA and Fumihiko KAWAMORI -----	39

## Department of Drug and Food Science

9 Screening Analysis on Designated Substances and Pharmaceutical Adulterants by GC/MS	
Naoko KANNO, Mitsuko KAMIMURA, Haruna SUMI, Yasutaka IWAKIRI, Yoko WATANABE, Yoshiko IMAZU and Kazuhiro OWADA -----	45
10 Study on Stability of Over-the-counter Drug during Storage	
Yoko WATANABE, Haruna SUMI, Yasutaka IWAKIRI, Naoko KANNO, Yoshiko IMAZU and Kazuhiro OWADA -----	49
11 Development of the Drug Information for Simple Suspension Method	
Haruna SUMI, Yasutaka IWAKIRI, Takayuki UCHIDA, Yoko WATANABE, Naoko KANNO, Yoshiko IMAZU, Kazuhiro OWADA, Tsuyoshi IWASAKI, Tomoko YAMAZAKI, Sayuri TAKAHASHI, Michiaki NAKAJO and Takayo SUZUKI -----	53
12 Study of the Simultaneous Analytical Method for Pesticide Residues in Agricultural Products (2nd Report)	
Chie KOBAYASHI, Masahiro OTSUBO, Miki TAKII, Akiko SUZUKI and Kazuhiro OWADA -----	57
13 Urgent Determination of Malathion in Cooled Frozen Foods	
Chie KOBAYASHI, Masahiro OTSUBO, Miki TAKII, Akiko SUZUKI and Kazuhiro OWADA -----	63
14 Validation on Simultaneous Determination for Pesticide Residues	
Masahiro OTSUBO, Miki TAKII, Chie KOBAYASHI, Akiko SUZUKI and Kazuhiro OWADA -----	67
15 Quality Evaluation of Health Foods Containing Turmeric	
Maho KUBOYAMA, Reiko YOKOYAMA and Kazuhiro OWADA -----	73



16 Investigation of Isoflavone Contents in Bean Paste(Miso) Reiko YOKOYAMA, Maho KUBOYAMA and Kazuhiro OWADA -----	81
17 Performing the Goods Test Training Lecture about the Lifestyle-related Disease in the Class of the Primary School Reiko YOKOYAMA, Maho KUBOYAMA, Kazuhiro OWADA and Fumiko UEDA -----	87

## **Department of Pollution Control**

18 Development of Efficient Monitoring System Groundwater Contamination by Nitrate Nitrogen Maki SHIMIZU, Michiharu UCHIYAMA, Hiroyasu GOTO, Tsuneo SUZUKI and Yumie MAEDA -----	91
19 Examination of the Environmental Concentration Presumption Technique of the Hazardous Chemical Substance Using ADMER Tomohide KANEKO, Yuuki KUREBAYASHI, Kentaro MATSUDA, Kenji MIYAKE, Hiroyuki KAYANUMA , Toshiharu TAKIMOTO, Eijiro SHINOHARA and Yumie MAEDA -----	97
20 Study on Concentration of PM <sub>2.5</sub> in the Area of Shizuoka Prefecture (1st Report) - Concentration of PM <sub>2.5</sub> and Water Soluble Ion Component (FY2012) - Kenji MIYAKE, Eijiro SHINOHARA, Hiroyuki KAYANUMA and Yumie MAEDA -----	101
21 Wet Deposition in Shizuoka Prefecture in Recent Years Kentaro MATSUDA, Tomohide KANEKO, Kenji MIYAKE, Yuuki KUREBAYASHI, Eijiro SHINOHARA, Toshiharu TAKIMOTO, Hiroyuki KAYANUMA and Yumie MAEDA -----	107

<b>SUMMARIES OF PAPERS IN OTHER PUBLICATIONS -----</b>	<b>113</b>
--	------------

<b>PRESENTATIONS AT CONFERENCES AND/OR SOCIETY MEETINGS -----</b>	<b>114</b>
---	------------

<b>COMMENDATION -----</b>	<b>117</b>
---------------------------	------------

<b>DOCTRATE -----</b>	<b>118</b>
-----------------------	------------



## 含リン廃棄物を原料にした肥料の有用性の検討

環境科学部 環境科学班 岩崎泰憲, 鈴木光彰, 古屋洋一,  
久米一成

Study on Effective Utilization of Fertilizers, Making with Phosphorus Wastes

Yasunori IWASAKI, Mitsuaki SUZUKI, Youichi FURUYA  
and Kazunari KUME

リン資源リサイクル及び廃棄物量削減を目的とし、県内水産加工所から排出される排水処理汚泥をリン源とした複合肥料を製造し、チンゲンサイ栽培試験によりその有用性について検討を行った。その結果、製造した汚泥複合肥料には肥料効果が認められ、化成肥料として有望であることが示唆された。

他の含リン廃棄物としてコーヒーかすペレット焼却灰に着目した。成分分析より、コーヒーかすペレット焼却灰はリン資源の1つとして有望であり、直接施肥によるチンゲンサイ栽培試験では、肥料効果が認められ、リン酸質肥料として有望であることが示唆された。

Key words: リン資源リサイクル, 排水処理汚泥, 複合肥料, コーヒーかすペレット焼却灰  
phosphorus recycling, treatment waste sludge, compound fertilizer, incineration ash of coffee grounds pellet

### はじめに

リンは総ての生物にとって欠くことのできない「いのちの元素」である。リンがなければ、食糧はもとより、再生可能資源として注目されているバイオマスも、低炭素社会実現への切り札として期待されるバイオ燃料も生産することができなくなる。それ以外に、医薬品、工業、食品製造等、様々な分野で使用されている重要な元素であることが知られている<sup>1,2)</sup>。

今日、生活や社会活動に必要なリンのほとんどは非再生可能資源であるリン鉱石から得られている。日本には天然資源としてリン鉱石を産出する鉱脈は存在しておらず、ほぼ100%を海外からの輸入に依存している。しかしながら、世界的に品質のよいリン鉱石は限られているばかりか、採掘量の増加により、世界的規模で枯渇しつつある。2008年には主要産出国であるアメリカ合衆国や中国による輸出制限等の影響により、リン鉱石価格が高騰し、リンやその化合物の長期的・安定的な確保に

懸念が生じている<sup>1-3)</sup>。このような背景より、国内の使用済リン資源からリンを回収し、再利用する技術が求められている。

静岡県では駿河湾の豊かな水産資源を利用した水産加工業が盛んである。これらの工場から排出される排水処理汚泥の中にはリンを含むものがあるが、リンを回収し、再利用するまでに至っていない。

本研究では、リン資源リサイクル及び廃棄物量の削減を目的に、水産加工所から排出される排水処理汚泥(図1)に含まれるリンに着目し、農業資材としての有用性の検討を行った。前報までの報告で、脱水ケーキ乾燥汚泥を800°C・5時間で熱することで得られる「汚泥焼成灰」にはリン鉱石と同レベルのリンを含有しており、リン鉱石の代替物として有望であること、及び乾燥汚泥・汚泥焼成灰直接施肥によるチンゲンサイ栽培試験では、生育に障害を与えず、肥料効果が認められたことを報告した<sup>4-7)</sup>。本報では、これまでに得た知見をもとに、汚泥焼成灰をリン源とした複合肥料(以下、汚泥複合肥料)を製造し、その有用性について検討を行った。また、水産加工汚泥以外の含リン廃棄物として、バイオマスペレット(ボイラーの燃料)として使用されているコーヒーかすペレットの焼却灰(図2)にも着目し、農業資材としての有用性の検討を行ったので、併せて報告する。



図1 水産加工所から排出される排水処理汚泥



図2 コーヒーかすペレット(左)及びその焼却灰(右)

## 実験方法

### 1 乾燥汚泥及び汚泥焼成灰の製造

#### 1) 乾燥汚泥

本研究で用いた水産加工汚泥は、県内水産加工所から排出された最終汚泥(脱水ケーキ)を用いた。採取した汚泥は、腐敗防止のため、特注の煙突と脱臭装置(株式会社デンケン製白金触媒式脱臭装置 KDF-ES71S)を接続した送風乾燥機(タバイエスペック株式会社製恒温器 PH-201)を用い、120℃で12時間以上乾燥して水分を除去し、乾燥汚泥とした。得られた乾燥汚泥をミキサーで粉碎し、目開き2 mmのふるいを通したものを以下の実験に使用した。

#### 2) 汚泥焼成灰

乾燥汚泥100 gを平底蒸発皿(φ150 mm)に量り取り、ガス置換型電気炉(株式会社デンケン製卓上マッフル炉 KDF-P90G)に8枚積み重ねて空気を5 L/minで導入しながら、800℃にて5時間焼成し、汚泥焼成灰とした。汚泥焼成灰は、放冷後、シリカゲル入りデシケータで保管した。

### 2 汚泥焼成灰の成分及び物性

#### 1) 成分分析

汚泥焼成灰の成分分析は、波長分散型蛍光X線(以下、XRF)装置にて測定した。XRF装置は、理学電気工業株式会社製蛍光X線分析装置 System3270にて測定し、酸化物換算で算出した。

#### 2) 水分、pH、電気伝導率(以下、EC)の測定

水分及びpHの分析は、肥料分析法(農林水産省農業環境技術研究所法(1992年版))<sup>8)</sup>に従い、水分は3.1.1加熱減量法にて、pHは6.1.1ガラス電極法にて測定した。

ECの分析は、土壤環境分析法<sup>9)</sup>4.1.5水浸出法にて測定した。

### 3 汚泥複合肥料及びその対照肥料の製造

汚泥焼成灰を原料とした複合肥料の製造を県内民間企業に依頼した。製造した複合肥料のリン源は汚泥焼成灰、窒素源は硝酸アンモニウム、カリウム源は硫酸カリウムを用いた。また、汚泥複合肥料の対照肥料として、リン源を汚泥焼成灰ではなく、市販肥料のリン源として使用されている一燐安を使用した複合肥料(以下、一燐安肥料)を製造した。

### 4 汚泥複合肥料施肥によるチンゲンサイ栽培試験

#### 1) 生育状況の比較

チンゲンサイを72穴セルトレイにて種より育苗した後、遠州硅砂を充填した1/5000 aポットに、ポット当たり1株で定植した。試験区及び肥料成分量は表1のとおりで、①市販肥料区、②汚泥複合肥料造粒品区、③汚泥複合肥料粉末品区、④一燐安肥料造粒品区、⑤一燐安肥料粉末品区、⑥肥料なし区の計6区を設け、①～⑤の試験区はn=5、⑥の試験区はn=1で試験を行った。施肥量はN-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O:607-520-607 mg/ポット(N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O:30-26-30 kg/10a, 50,000株/10a)を基準として<sup>6,7)</sup>、設定した成分量になるよう各試験区の施肥量を調整した。施肥はチンゲンサイの苗の定植時に表1の半量を元肥として与え、残りの半量は2週間栽培後に与えた。また、表1に示した以外の肥料として、苦土石灰を定植時に3 g/ポットで与えた。チンゲンサイ栽培期間は平成24年11月22日(ポット定植)～平成25年1月6日、水遣りは週2回、1回につき500 mL/ポットで行った。

栽培終了後、チンゲンサイの地上部を採取し、直後の重量と葉の枚数を計測した。

#### 2) チンゲンサイのリン含有率の測定

採取したチンゲンサイを70℃で風乾し、ミキサーで粉碎し、試験区ごとに1つのサンプルとしてまとめ、これを風乾物とした。風乾物0.5 g(肥料なし区に関しては0.05 g)を乾式灰化法<sup>10,11)</sup>に基づき、ガス置換型電気炉にて常温→500℃(2時間30分)→500℃(3時間)、空気導入5 L/minの条件で灰化した。得られた灰化物に0.2 N塩酸20 mLを加えて軽く振り混ぜ、1時間静置し、ろ過(ろ紙:ADVANTEC No.131)後のろ液をリン抽出液とし、ICP発光分析装置(セイコーインスツルメント社製SPS3000)により濃度を測定した。

表 1 汚泥複合施肥によるチンゲンサイ栽培試験

試験区	施肥成分量 (mg)		
	N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O
①市販肥料区	607	520	607
②汚泥複合肥料造粒品区	607	520	607
③汚泥複合肥料粉末品区	607	520	607
④一燐安肥料造粒品区	607	520	607
⑤一燐安肥料粉末品区	607	520	607
⑥肥料なし	0	0	0

5 コーヒーかすペレット焼却灰の成分及び物性

1) 肥料成分 (窒素, リン, カリウム) 分析及び有害金属成分 (カドミウム, 水銀, ひ素, ニッケル, クロム, 鉛) の分析

肥料成分については, 窒素は肥料分析法 (農林水産省 農業環境技術研究所法 (1992 年版) ) の 4.1.1.1 硫酸法にて, リンは 4.2.3 バナドモリブデン酸アンモニウム法にて, カリウムは 4.3.3 原子吸光測光法にて測定した。有害金属成分については, カドミウムは 5.6.1 原子吸光測光法, 水銀は 5.11.1 還元気化法, ひ素は 5.23.1 ジエチルジチオカルバミン酸銀法, ニッケルは 5.20.2 原子吸光測光法, クロムは 5.7.2 原子吸光測光法, 鉛は 5.18.1 原子吸光測光法にて測定した<sup>8)</sup>。

2) 水分, pH, EC の測定

実験方法 2 の 2) と同様に測定した。

6 コーヒーかすペレット焼却灰直接施肥によるチンゲンサイ栽培試験

1) 生育状況の比較

実験方法 4 の 1) と同様にして試験を行った。試験区及び肥料成分量は表 2 のとおりで, ①市販肥料区, ②コーヒーかすペレット焼却灰区, ③肥料なし区の計 3 区を設け, それぞれの試験区で n = 7 にて試験を行った。施肥量は N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O : 607-520-607 mg/ポット (N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O : 30-26-30 kg/10a, 50, 000 株/10a) を基準として, 設定した成分量になるよう各試験区の施肥量を調整した。なお, 肥料施肥量のうち, リンについてはコーヒーかすペレット焼却灰に元々含まれている成分量で育て, 含有量が少ない窒素又はカリウムは市販の普通肥料を与えて補った。施肥はチンゲンサイの苗の定植時に表 2 の半量を元肥として与え, 残りの半量は 3 週間栽培後に与えた。また, 表 2 に示した以外の肥料として, 苦土石灰を 3g/ポットで与えた。チンゲンサイ栽培期間は平成 24 年 12 月 4 日 (ポット定植) ~平成 25 年 1 月 27 日で, 水遣りは週 2 回, 1 回につき 200~500 mL/ポット

で行った。生育状況の比較は実験方法 3 の 2) と同様にして行った。

2) チンゲンサイのリン含有率の測定

実験方法 3 3) と同様にして行った。なお, 本測定では試験区 (n = 7) ごとに 1 つのサンプルとしてまとめず, 各々のチンゲンサイのポットごとに測定を行った。

表 2 コーヒーかすペレット直接施肥によるチンゲンサイ栽培試験の試験区及び施肥量

試験区	施肥成分量 (mg)		
	N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O
①市販肥料区	607 ( 0)*	520 ( 0)	607 ( 0)
②コーヒーかす ペレット焼却灰区	607 ( 36)	520 (520)	607 (359)
③肥料なし	0	0	0

\*: ( ) 内はコーヒーかすペレット焼却灰の成分量を示す

結果および考察

1 乾燥汚泥及び汚泥焼成灰の製造

乾燥汚泥及び汚泥焼成灰を製造した (図 3)。



図 3 乾燥汚泥 (左) 及び汚泥焼成灰 (右)

2 汚泥焼成灰の成分及び物性

1) 成分分析

汚泥焼成灰の元素分析結果を表 3 に示した。汚泥焼成灰中には, ケイ素, リン, アルミニウム, カルシウム, 鉄が多く存在することが確認された。注目しているリンは酸化物 (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) 換算で 12 %含有していた。リン鉱石の平均リン含有率は, 酸化物 (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) 換算で 30 %程度であり<sup>1)</sup>, 本研究で得られた汚泥焼成灰はリン鉱石の 4 割程度のリンを含んでいた。肥料取締法において規制されている有害金属成分 (カドミウム, 水銀, ひ素, ニッケル, クロム, 鉛) については, 不検出もしくは基準値以下であった。

2) 水分, pH, EC の測定

汚泥焼成灰の水分, pH, EC の測定結果を表 4 に示した。pH が高値であると, 複合肥料を製造する際に原料に

含まれる水酸化物とアンモニウム塩が反応してアンモニアを発生する問題が生じるが、汚泥焼成灰は中性付近であり、アンモニアを発生する問題はないと考えられた。

表 3 汚泥焼成灰の成分 (XRF 測定)

成分 (酸化物)	含有率 (%)
Na <sub>2</sub> O	2.6
MgO	1.7
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	9.9
SiO <sub>2</sub>	63
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	12
SO <sub>3</sub>	0.43
K <sub>2</sub> O	2.9
CaO	3.8
TiO <sub>2</sub>	0.23
Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.029
MnO	0.038
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	3.4
NiO	0.013
CuO	0.018
ZnO	0.054
As <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.0044

表 4 汚泥焼成灰の水分, pH, EC

測定項目	結果
水分	0.5 %
pH	7.2
EC	0.37 dS/m

### 3 汚泥複合肥料及びその対照肥料の製造

汚泥複合肥料の写真を図 4 に示した。肥料の形状としては、造粒品 (汚泥複合肥料製造時に造粒助剤を添加し粒状としたもの) と、粉末品 (造粒助剤添加なし) の 2 つの形状の肥料を製造した。また、汚泥複合肥料の対照肥料として一燐安肥料を製造した。一燐安肥料の形状は、汚泥複合肥料と同様に、造粒品及び粉末品の 2 つの形状のとした。それぞれの肥料組成は表 5 のとおりとなった。



図 4 汚泥複合肥料 造粒品 (左) 及び粉末品 (右)

表 5 汚泥複合肥料及び一燐安肥料の成分組成

リン源/含有率 (%)		N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O
汚泥	造粒品	7.6	6.6	7.6
	粉末品	8.6	7.4	8.6
一燐安 (対照肥料)	造粒品	16	14	16
	粉末品	16	14	16

### 4 汚泥複合肥料施肥によるチンゲンサイ栽培試験

#### 1) 生育状況の比較

汚泥複合肥料施肥によるチンゲンサイ栽培試験の様子を図 5 に、生育状況の比較を図 6 に示した。造粒品及び粉末品の両方の形状において、汚泥複合肥料区は対照区である市販肥料区及び一燐安肥料区と同程度に成長し (重量及び葉数)、成長阻害を与えなかった。各群の重量及び葉数に対し Tukey の多重検定を行ったが (肥料なし区は除く)、各群に差は認められなかった (有意水準: 5%)。



図 5 汚泥複合肥料施肥によるチンゲンサイ栽培試験の様子

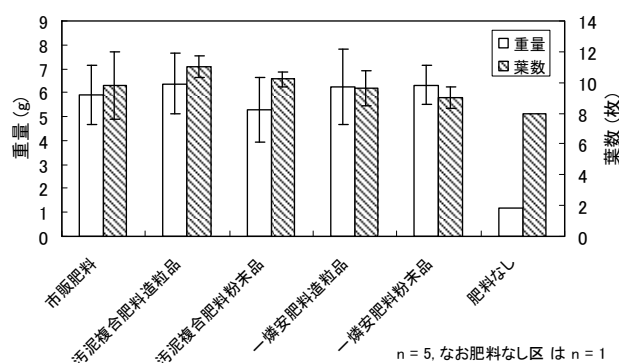


図 6 汚泥複合肥料施肥による栽培試験後のチンゲンサイの重量と葉数

#### 2) チンゲンサイのリン含有率の測定

各試験区のチンゲンサイのリン含有率を図 7 に示した。その結果、造粒品及び粉末品の両方の形状において、汚泥複合肥料区は対照区である市販肥料区及び一



燐安肥料区と同程度のリン含有率となり、可溶性リン酸として対照肥料と遜色なく吸収されたと考えられた。

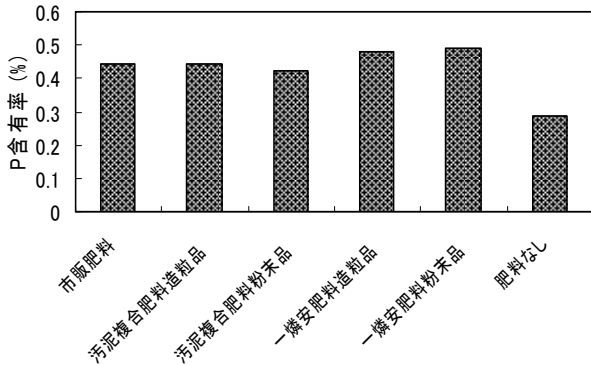


図7 汚泥複合肥料施肥による栽培試験後のチンゲンサイ単位重量当たりのリン含有率

以上の結果より、汚泥複合肥料には複合肥料として肥料効果があり、化成肥料として有望であることが示唆された。

### 5 コーヒーかすペレット焼却灰の成分及び物性

#### 1) 肥料成分及び有害金属成分の分析

コーヒーかすペレット焼却灰の成分分析の結果を表6に示した。注目しているリンは酸化物( $P_2O_5$ )換算で12.9%含有しており、汚泥焼成灰と同様に、リン鉱石の代替物・リン資源の1つとして有望であることが確認された。また、肥料取締法において規制されている有害金属成分(カドミウム、水銀、ヒ素、ニッケル、クロム、鉛)については、不検出もしくは基準値以下であり、農業資材としても有望であることが確認された。

表6 コーヒーかすペレット焼却灰の成分(肥料分析法)

成分	含有率 (%)
T-N	5.5
$P_2O_5$	12.9
$K_2O$	8.9
Cd	< 0.0001
Hg	< 0.00002
As	< 0.0005
Ni	0.005
Cr	0.008
Pb	< 0.001

#### 2) 水分, pH, EC の測定

コーヒーかすペレット焼却灰の水分, pH, EC の測定結果を表7に示した。その結果、コーヒーかすペレット焼却灰のpHは10.7であり、アルカリ性が強いことが判

明した。土壌酸度を矯正するために、アルカリ性の石灰質肥料が多く用いられているが<sup>12)</sup>、当該焼却灰はリン源として使用する以外に、土壌改良資材としての使用も望めるものと考えられた。

表7 コーヒーかすペレット焼却灰の水分, pH, EC

測定項目	結果
水分	5.5%
pH	10.7
EC	13.1 dS/m

### 6 コーヒーかすペレット焼却灰直接施肥によるチンサイ栽培試験

#### 1) 生育状況の比較

コーヒーかすペレット焼却灰をリン源とした当該焼却灰の直接施肥によるチンゲンサイ栽培試験の様子を図8に、生育状況の比較を図9に示した。その結果、コーヒーかすペレット焼却灰区は対照区である市販肥料区よりも有意に大きく成長し(重量及び葉数)、成長阻害を与えなかった。各群の重量及び葉数に対しTukeyの多重検定を行ったところ、各群に有意な差が認められた(有意水準: 5%)。



図8 コーヒーかすペレット焼却灰直接施肥によるチンゲンサイ栽培試験の様子

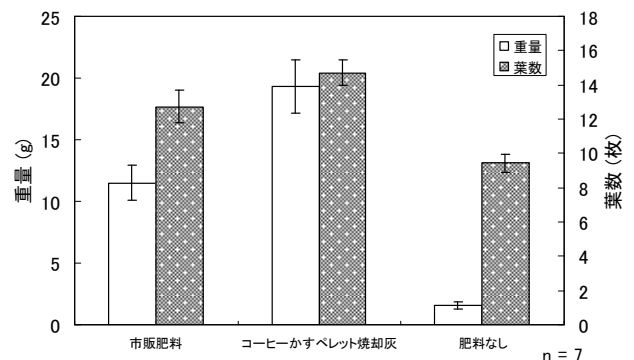


図9 コーヒーかすペレット焼却灰直接施肥による栽培試験後のチンゲンサイの重量と葉数

## 2) チンゲンサイのリン含有率の測定

各試験区のチンゲンサイのリン含有率を図 10 に示した。その結果、コーヒーかすペレット焼却灰区は対照区である市販肥料区及と同程度のリン含有率となり、可溶性リン酸として対照肥料と遜色なく吸収されたと考えられた。各群に対し Tukey の多重検定を行ったところ、市販肥料区-コーヒーかすペレット焼却灰区には有意な差がなく、市販肥料区-肥料なし区及びコーヒーかすペレット焼却灰区-肥料なし区に有意な差が認められた(有意水準: 5%)。

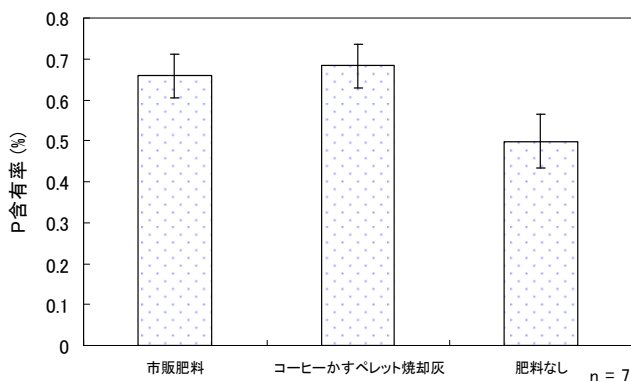


図 10 コーヒーかすペレット焼却灰直接施肥による栽培試験後のチンゲンサイ単位重量当たりのリン含有率

以上の結果及より、コーヒーかすペレット焼却灰にはリン源として肥料効果があり、リン酸質肥料として有望であることが示唆された。

本研究では、リン資源リサイクル及び廃棄物量を削減することを目的に、水産加工所から排出される排水処理汚泥をリン源とした汚泥複合肥料を製造し、その肥料効果を確認することができた。また、コーヒーかすペレット焼却灰はリン資源の1つとして価値があり、リン酸質肥料として有望であることを確認した。

今後は、肥料効果に加え、供給の安定性や製造コストを含めた包括的な評価が必要であると考えられる。リサイクルしたリンの製造コストが天然リン鉱石輸入コストを上回るようであれば、再利用されないまま廃棄物になりかねない。コーヒーかすペレット焼却灰はリン原料とするために、新たに熱エネルギーを加える必要がないことから、経済的にもリン資源として有望である可能性がある。含リン廃棄物をリン源とした肥料の製品化に向け、今後さらに詳細な調査を行う必要がある。

## まとめ

リン資源リサイクル及び廃棄物量を削減することを目的に、水産加工所から排出される排水処理汚泥をリン源とした汚泥複合肥料を製造し、その有用性について検討を行った。また、水産加工汚泥以外の含リン廃棄物として、コーヒーかすペレット焼却灰に着目し、農業資材としての有用性の検討を行った。

- 1 リン源に汚泥焼成灰を、窒素源に硝酸アンモニウムを、カリウム源に硫酸カリウムを用いて、造粒タイプと粉末タイプの2つの形状の汚泥複合肥料を製造した。
  - 2 汚泥複合肥料施肥によるチンゲンサイ栽培試験の結果、対照とした市販肥料及び一隣安肥料で育てた場合と同程度に成長し、成長障害を与えなかった。また、チンゲンサイ単位重量当たりのリン含有率においても市販肥料と一隣安肥料と同程度であり、可溶性リン酸として対照肥料と遜色なく吸収されたと考えられることから、汚泥複合肥料には肥料効果があり、化成肥料として有望であることが示唆された。
  - 3 コーヒーかすペレット焼却灰のリン含有率を調査した結果、 $P_2O_5$ 換算で12.9%含有し、リン資源の1つとして有望であることが確認された。
  - 4 コーヒーかすペレット焼却灰をリン源とした当該焼却灰の直接施肥によるチンゲンサイ栽培試験の結果、対照とした市販肥料で育てた場合より大きく成長し、成長障害を与えなかった。また、チンゲンサイ単位重量当たりのリン含有率においても市販肥料と同程度であり、可溶性リン酸として対照肥料と遜色なく吸収されたと考えられることから、コーヒーかすペレット焼却灰はリン源として肥料効果があり、リン酸質肥料として有望であることが示唆された。
- 今後は、肥料効果に加え、供給の安定性や製造コストを含めた包括的な評価が必要であると考えられ、本研究がリン資源リサイクルの一助となることを期待する。

## 謝辞

本研究を実施するにあたり、水産加工汚泥を提供していただいた水産加工業者、汚泥複合肥料を製造していただいた肥料製造業者、コーヒーかすペレット焼却灰の利用に関して助言をいただいた静岡県工業技術研究所バイオマス循環プロジェクトスタッフ、分析機器の使用許可をいただいた静岡県工業技術研究所沼津工業技術支援センター及び静岡県農林技術研究所果樹研究センターに深く感謝致します。

## 文献

- 1) 大竹久夫: リン資源枯渇危機とはなにか, 1-34, 大



阪大学出版, 大阪 (2011)

- 2) 大竹久夫: リン資源リサイクルを新しいグリーン産業へ, 水環境学会誌, **34** (1), 1 (2011)
- 3) 原田洋平: リン資源の循環と再生利用に関する動向と展望, 水環境学会誌, **34** (1), 2-6 (2011)
- 4) 村松重緒他: 含リン汚泥の新規用途の開発-汚泥焼成灰の諸物性-, 静岡県環境衛生科学研究所報告, **48**, 85-90 (2005)
- 5) 杉浦秀治他: 含リン汚泥の新規用途の開発-汚泥焼成灰の農業資材としての可能性-, 静岡県環境衛生科学研究所報告, **49**, 71-76 (2006)
- 6) 村中康秀他: 含リン汚泥焼成灰の農業資材としての有用性, 静岡県環境衛生科学研究所報告, **50**, 63-68 (2007)
- 7) 中川寛基他: 食品加工所からの汚泥または汚泥焼成灰の農業資材としての有用性の検討, 静岡県環境衛生科学研究所報告, **54**, 1-11 (2011)
- 8) 独立行政法人農林水産消費安全技術センターホームページ: 肥料分析法 (農林水産省農業環境技術研究所法)-1992年版-, [http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub6\\_data/sub6\\_analyze.html](http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub6_data/sub6_analyze.html)
- 9) 土壤環境分析法編集委員会: 土壤環境分析法, 202-204, 博友社, 東京 (1997)
- 10) 作物分析法委員会: 栄養診断のための栽培植物分析測定法, 59-60, 養賢堂, 東京 (1975)
- 11) 西口靖彦他: 飼料中マグネシウム, カリウム, カルシウム含量の迅速測定法, 近中四農研報, **6**, 133-139 (2007)
- 12) 茅野充男他: 植物栄養・肥科学, 176-177, 朝倉書店, 東京 (1993)



## 外来種コモチカワツボの生態調査

環境科学部 環境科学班 鈴木佐知子, 今津佳子\*, 古屋洋一,  
久米一成

Ecological Study of alien species *Potamopyrgus antipodarum*

Sachiko SUZUKI, Yoshiko IMAZU\*, Youichi FURUYA  
and Kazunari KUME

ニュージーランド原産の外来生物であるコモチカワツボは、淡水性巻貝で無性生殖を行うため繁殖力が極めて強いとされ、2000年代から日本各地で分布を拡大しており、2010年時点で、1道1府21県で本種の生息が確認されている。本種の国外からの侵入経路は、海外から輸入されたウナギやマス類などへの混入が疑われ、初期に国内で生息が確認された場所の多くは養魚施設の周辺であった。また、本種はカワニナの代替飼料として意図的に撒かれていた事実も指摘されている。本研究において、文献等により静岡県内で本種の生息が確認された場所、養魚場周辺、ホテルの名所周辺等を調査し、14箇所では本種の生息が確認された。また、本種を餌として飼育したときのゲンジボタルの成育比較試験を実施し、カワニナを餌として飼育したものに比べ、本種を餌としたものの方が、成長が遅くなる傾向が見られた。

Key words: コモチカワツボ, 外来生物, ゲンジボタル

*Potamopyrgus antipodarum*, Non-native species, *Luciola cruciata*

### はじめに

ニュージーランド原産の外来生物であるコモチカワツボは、本種は大きさ4~5mm程度の淡水性巻貝で、無性生殖を行うため繁殖力が極めて強いとされる<sup>1)</sup>。藻やバクテリアを食べて育ち水質汚濁にも強いので、生存に適した環境では、一匹の貝が1年間で数千匹にまで増えると言われている。外来生物法における特定外来生物・要注意外来生物に指定はされていないが、2000年代から日本各地で分布を拡大しており、2010年時点で1道1府21県で本種の生息が確認されている<sup>2)</sup>。本種の国外からの侵入経路は、ニュージーランド、オーストラリアや、ヨーロッパから輸入されたウナギやマス類への混入が疑われ、初期に国内で生息が確認された場所の多くは養魚施設の周辺であった<sup>3)</sup>。その後の国内各地への拡大は、養殖魚に混入しての移動や水草などその他の生物が移植される際に随伴しての分散などが考えられる他、ゲンジボ

タルの増殖を目的として餌として意図的に散布されていた可能性も指摘されている<sup>1)</sup>。

本種の在来生態系へ与える影響は未知の部分が多いが、本県にはウナギやマス類の養魚場が数多く存在し、本種の県内における存在は増田らによって国内の報告事例の初期に報告されている<sup>3)</sup>ことから、爆発的に増殖することによる生態系への影響が懸念される。そのため、本種の拡大防止策の検討を目的として、当所では2012年度から2013年度にかけて、本種の県内の分布状況や生態特性、ゲンジボタルの成育に与える影響に関して調査を行い、若干の知見が得られたので報告する。

### 方法

#### 1 検査法と形態の調査

光学顕微鏡を用いて本種の外見的特長(殻高、殻口、殻や軟体部の形状や色など)を観察し、同定を行った。

#### 2 生息場所の確認調査

##### 1) 定着確認調査

文献等で県内の生息が指摘されていた6箇所(焼津市泉川支流<sup>3)</sup>、柿田川<sup>4)</sup>、狩野川<sup>3)</sup>、天竜川<sup>5)</sup>、掛川市内水路<sup>6)</sup>、袋井市内水路<sup>6)</sup>)について、本種の生息の有無を調査した(2012~2013年度)。

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)

\* : 医薬食品部

## 2) 経月定点調査

コモチカワツボの年間における生態実態を明らかにするため、文献等で生息が指摘されていた場所のひとつである掛川市内の用水路を定点とし、以下の内容で経月調査を行った。

- |  |
|--|
| ① 調査期間：2013年4月～2014年2月   |
| ② 採取方法：調査員2名で、毎月ほぼ同じ場所（1.5m×5m程度の範囲）について30分間調査を行い捕獲したコモチカワツボ、カワニナの個体数を計測 |
| ③ 調査項目：水温、pH、電気伝導率（EC）、水深、流速及び気温   |

## 3 県内分布状況の確認

本種の国内への侵入地として疑われている養魚場周辺の河川、影響が懸念されるホタルの名所周辺の河川等について、本種の生息の有無を確認した（2012～2013年度）。

### 4 コモチカワツボのホタルの育成に与える影響の検討

本種をゲンジボタルの餌として与えた場合、カワニナを餌とした場合に比較して、成長率が低くなり、発光が弱くなるとの報告がある<sup>7)</sup>ため、ゲンジボタルの幼虫にカワニナや本種を給餌し、その成長度合等について比較飼育試験を実施した。孵化直後のゲンジボタルの幼虫を、10cm×20cmのプラスチック製容器（水深約2cm）に15匹ずつ入れ、これを各群2セットずつ用意し、下記2つの条件で飼育した。

餌の貝は不足しないよう注意し、常に生存している貝が十分に容器内に存在するようにした。週1回生存個体数を確認し、体長を測定した。体長測定は幼虫を1匹ずつシャーレに移し、シャーレを方眼紙の上に載せ、幼虫が一番伸びきった際の体長を記録した。

- |   |
|---|
| ① 飼育期間<br>2013年7月2日～2014年1月6日(188日間)                            |
| ② 飼育条件<br>・カワニナを餌として飼育する群 (n=30匹)<br>・コモチカワツボを餌として飼育する群 (n=30匹) |

### 5 生息地域拡大防止策の検討

器具を介した本種の生息域拡大の防止策として、家庭で実施可能な方法で、本種の駆除が可能かどうかを検証するため、乾燥と薬剤等を用いた本種の死滅試験を実施した。乾燥死滅試験では本種を10匹ずつシャーレに載せ、10、20、30、40℃にそれぞれ設定した恒温槽内でシャーレを一定時間静置後、シャーレに水を加え、光学顕微鏡で生存個体数を確認した。薬剤死滅試験では、本種を10

匹ずつシャーレに載せたものにオスバン（塩化ベンザルコニウム10%溶液）、家庭用台所洗剤（界面活性剤43%含む）、消毒用70%エタノールをそれぞれスプレーで噴霧後静置し、水で3回薬剤を洗い流した後に水を与え、同様に生存個体数を光学顕微鏡で確認した。なお、使用する薬剤の選定については文献<sup>9)</sup>を参考にした。

## 結果および考察

### 1 検査法と形態の調査

本種と外観の形態がよく類似している、カワニナの稚貝との簡便な識別方法を表1に示した。この方法を用いて、調査で採取した貝の同定を行った。

表1 コモチカワツボとカワニナの比較

	殻高(mm)	殻口	軟体部の色
カ ワ ツ ボ 	4～5	長円形	頭部背面が黒色で 足は白色
カ ワ ニ ナ 	20～50	ひし型	頭部背面が茶褐色 のまだら模様で 足は褐色

### 2 生息場所の確認調査

#### 1) 定着確認調査

調査結果を図1に示した。天竜川を除く5地点で引き続き生息を確認し、本種がすでに繁殖・定着していることが考えられた。天竜川は長期の豪雨により、増水しやすく川の地形も変わりやすいため、今回の調査では発見できなかったと考えられる。

#### 2) 経月定点調査

調査結果を表2に示す。1年を通して本種の生息が確認された。9月以降本種の数が減少しているのは9月10月の台風による用水路の水位、流速の増大により流された影響と思われる。このことより、本種は個体の比較的大きいカワニナに比べ流されやすく、下流にも容易に生息域を広げる可能性が示唆される。なお、本種の生存個体数の増減による混生するカワニナの生存個体数の影響については、今回の調査では確認できなかった。

表 2 掛川市内水路経月定点調査結果

調査日	気温 (°C)	水温 (°C)	EC (μS/cm)	水深(m)	流速 (m/s)	K(匹)*	N(匹)*
2013/ 4/11	12.5	14.6	179	0.07	0.25	172	-***
5/ 7	21.8	18.3	144	0.15	0.33	112	-***
6/ 5	25.3	19.4	153	0.20	0.48	161	234
7/ 2	28.4	22.0	172	0.25	0.17	232	58
8/26	27.3	23.2	162	0.35	-**	128	256
9/30	27.6	20.3	70	0.15	0.28	75	234
10/22	21.7	17.9	72	0.15	0.42	35	455
11/21	16.6	12.9	82	0.10	0.50	37	383
12/26	14.4	10.1	154	0.15	0.63	69	327
2014/ 1/28	10.4	8.3	157	0.15	0.50	69	261
2/28	18.5	12.7	171	0.10	0.22	42	367

\* : 調査員 2 名で 30 分間調査を行い、捕獲された個体数 (K・コモチカワツボ N・カワニナ)

\*\* : 流れが速く、水位も高かったため、未測定

\*\*\* : 4 月、5 月はカワニナの数については未計測

### 3 県内分布状況の確認

本種の国内への侵入地として疑われる養魚場周辺と、ホタルの成育への影響が懸念される県内各地のホタル名所周辺の河川等について生息状況を調査した結果を図 1 に示す。養魚場周辺は 17 箇所中 3 箇所 (ウナギ 2 箇所, マス 1 箇所), ホタルの名所周辺では 21 箇所中 3 箇所, その他 13 箇所中 3 箇所, 計 9 箇所新たに本種の生息が確認された。養魚場周辺で本種が確認された河川では、確認地点の上流には生息が認められず、下流で生息が認められたことから、本種が魚に混入して養魚場に侵入し

排水口から河川下流に分散された可能性が疑われる。また、ホタルの名所周辺で本種が確認されたことで、これらの地点では本種がゲンジボタルの餌として撒かれた可能性が考えられる。その他本種の生息が確認された地点は用水路、湧水池等、河川の種類は様々であり、水温、pH、電気伝導率 (EC)、水深、流速等も河川により幅があった。共通している点は、その河川の多くでカワニナが混生していた。調査中、付近の方に伺った話によると、ホタルの名所として大々的に整備されてはいないが、地域の方が趣味やボランティアでホタルを飼育している河川の場合、近くの河川でカワニナを捕獲し、ゲンジボタルを飼育する河川に撒いているとのことだった。このような状況では本種がカワニナと間違えて撒かれたり、カワニナを捕獲する河川に本種が混生していた場合、カワニナに混入したり、靴などの器具を介したりして、本種の生息域が拡大する可能性がある。このことを防止するためにも県民に情報提供し、本種の存在を周知させることが重要である。

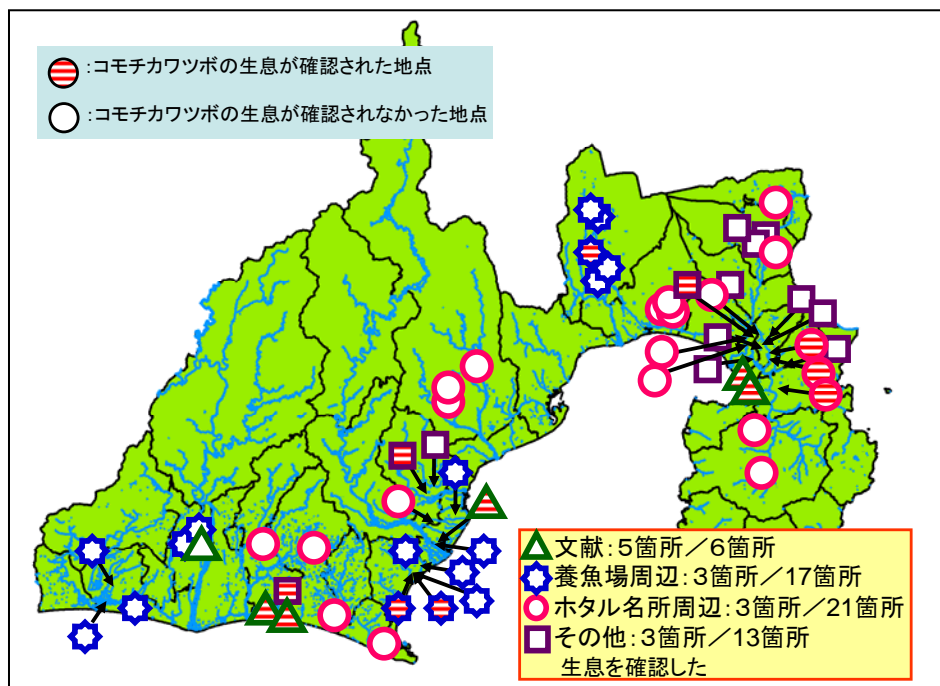


図 1 静岡県内分布状況調査結果 (文献、養魚場、ホタルの名所)

#### 4 コモチカワツボのホタルの成育に与える影響の検討

比較成育試験の結果を図2に示す。飼育開始87日目以降、カワニナを餌として育てた幼虫に比べ、コモチカワツボを餌として育てたものの方が、成長が遅くなる傾向が見られた (t 検定)。(188日目体長測定時、カワニナ (平均) : 2.5 mm→24.8 mm, コモチカワツボ (平均) : 2.5 mm→21.8 mm) また188日目に幼虫の体幅を測定したところ、カワニナ (平均) : 4.4 mm, コモチカワツボ (平均) : 2.9 mm とコモチカワツボを餌としたものの方が、体幅が小さくなることが分かった (図3)。なお、幼虫の生存率については大きな違いは見られなかった(188日目測定時、カワニナ 30匹→20匹 : 生存率67%, コモチカワツボ 30匹→19匹 : 生存率63%)。

今回の試験結果の理由としては、本種は栄養分が乏しいという報告<sup>8)</sup>もあるが、貝の殻の口の大きさによる捕

食のしにくさも原因のひとつと思われる。ゲンジボタルは成長するにつれて、自分の体長に合う貝に潜りこみ捕食するが、コモチカワツボは5mm程度の大きさしかなく、終齢近い幼虫では体長が20mm以上あり、貝が小さすぎて捕食しにくい様子が観察された。今回の試験は幼虫段階までの試験であり、成長の遅延もゲンジボタル幼虫の各個体の成長速度に異存している可能性もあり、今回の試験のように一度だけで、生物の成育への影響を評価することはできないため、繰り返し試験を行った上での評価が必要である。

#### 5 生息地域拡大防止策の検討

乾燥死滅試験結果を表3に、薬剤死滅試験の結果を表4に示した。

乾燥死滅試験では、30度以下では死滅に時間を要し、40℃であれば2時間で死滅した。よって、夏場の日なた

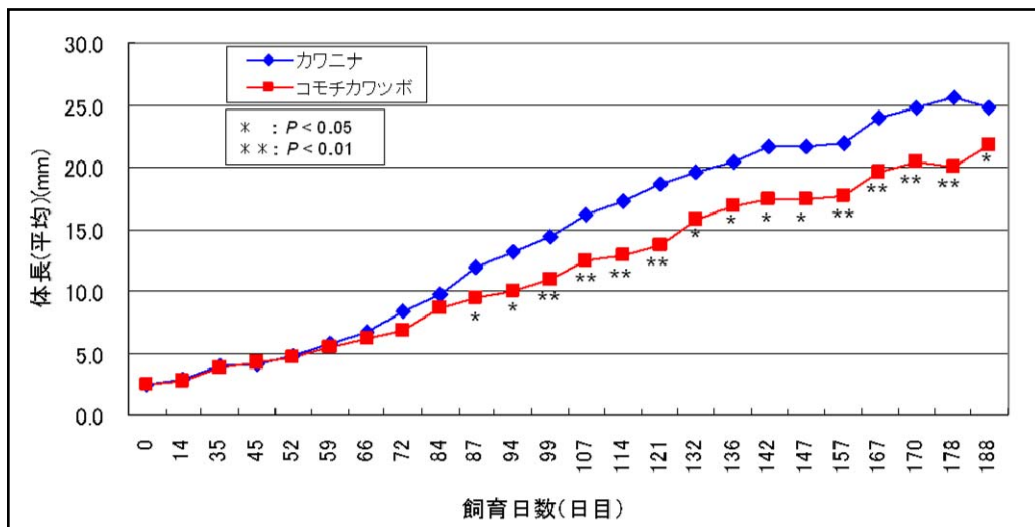


図2 ゲンジボタル体長変化



図3 ゲンジボタル幼虫の写真 (左: カワニナを餌としたもの、右: コモチカワツボを餌としたもの)  
2014年1月22日 (飼育開始後204日目) 撮影

のような環境であれば、使用した器具を2時間以上天日干しすることで本種を死滅させることが可能だと思われる。

表3 乾燥死滅試験結果

温度 (°C)	静置時間 (分)							
	1	2	3	6	12	24	36	48
10	*10	10	10	10	10	5	1	0
20	10	10	10	9	10	5	5	2
30	10	10	10	10	5	0	0	0
40	6	0	0	0				

\*：数値は10匹中生存していた個体数 (匹)

薬剤死滅試験では、河川で使用した器具にオスバンは5パーセント溶液5分以上、台所用洗剤は10パーセント溶液15分以上、消毒用エタノールは10分以上、噴霧し、静置することで本種を死滅させることが可能であった。

表4 薬剤死滅試験結果

薬剤	濃度 (%)	静置時間 (分)				
		5	10	15	30	60
オスバン	1	*3	3	3	2	0
(塩化ベンザル コニウム 1%溶液)	5	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0
	1	10	10	10	9	5
家庭用	5	10	5	3	2	4
台所用洗剤	10	3	5	0	0	0
	30	0	0	0	0	0
消毒用 70%エタノール	5	0	0	0	0	0

\*：数値は10匹中生存していた個体数 (匹)

その他 本種の生息域を広げないためには、本種の生息域の魚や水草などを他の川や池に移植しないこと。ゲンジボタルの成育を目的として、本種を撒かないこと。本種の生息域で使用した器具類は、十分に乾燥させたり、薬剤等で処理したりすることが重要である。これらを踏まえ、本種の特徴や簡便な同定方法、今回検証した死滅方法をまとめ、生息域拡大防止のための啓発資料を作成した。本資料を活用し、広く本種の存在を周知させ、生息域拡大防止に努めていきたい。

### まとめ

静岡県内におけるコモチカワツボの生息状況を確認した結果、既知地点6箇所中5箇所で見逃し生息が確認され、養魚場周辺では17箇所中3箇所、ホテルの名所周辺では21箇所中3箇所、その他13箇所中3箇所、計14箇所の生息が確認された。本種を餌とした場合のゲンジボタルの幼虫の成育に与える影響を調査した結果、カワニナを餌とした場合に比べ、成長が遅くなる傾向が見られた。本種の生息域拡大防止策のひとつとして、本種の駆除方法を検証し、その結果、河川で使用した器具を、

40℃以上2時間乾燥させるか、オスバンは5パーセント溶液5分以上、台所用洗剤は10パーセント溶液15分以上、消毒用エタノールは10分以上、噴霧し、静置することで本種を死滅させることが可能だと分かった。また、今までの調査で得られた情報をまとめ、生息域拡大防止策として啓発資料を作成した。

### 謝辞

今回の研究を遂行するにあたり、本種の生息地点の情報提供、成育試験方法等についての御助言と、ゲンジボタルの幼虫を提供いただき、様々な面で御協力いただきました宍戸正見様に深く感謝申し上げます。

### 文献

- 1) 浦部美佐子：本邦におけるコモチカワツボの現状と課題，陸水学雑誌，68，491-496 (2007)
- 2) 独立行政法人国立環境研究所 侵入生物データベース (<http://www.nies.go.jp/biodiversity/invasive/DB/detail/70260.html>) (2010)
- 3) 増田修他：ヨーロッパ産 *Potamopyrgus jenkinsi* (Smith,1889) に同定されたニホンカワツボとサクヤマカワツボ (前鰓亜綱：ミズツボ科)，兵庫陸水生物，49，1-21 (1998)
- 4) 竹門康弘：柿田川における底生生物群集の構造と特徴，京都大学防災研究所水資源研究センター 一般研究報告 (2000)
- 5) 国土交通省「河川水辺の国勢調査」(狩野川 (2001，2006)，天竜川 (2007))
- 6) 宍戸正見：外来種「コモチカワツボ」の産卵に与える影響，静岡県立横須賀高等学校 (2007)
- 7) 阿部宣男：コモチカワツボの危険性と駆除方法 (<http://hotaruabe.blog72.fc2.com>) (2009)
- 8) Ryan,R.A. et al. : Energy contents of some New Zealand freshwater animals *Anguilla australis*, *Potamopyrgus antipodarum*, *Austridotea annecens*, *Tenagomysis chiltoni*, *Paracalliope fulviatilis*, *Chironomus zealandicus*, *Goniomorphus cotidianus*, *Galaxias maculatus*, and *Retropinna retropinna*, *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 16, 283-287 (1982)





## ノロウイルスの流行予測に資するモニタリング法の検討

微生物部 ウイルス班 佐原啓二, 小柳純子, 池ヶ谷朝香,  
山田俊博, 長岡宏美, 川森文彦

Investigation on the Adequate Monitoring Method for Prediction  
about Epidemic of Norovirus Infection

Keiji SAHARA, Junko KOYANAGI, Asaka IKEGAYA,  
Toshihiro YAMADA, Hiromi NAGAOKA and Fumihiko KAWAMORI

ノロウイルスの流行予測に有用な科学的基礎データとして活用できるモニタリング法を検討した。アサリを検査対象とした結果、ノロウイルス遺伝子の検出率が年により変動する等によりアサリを用いたモニタリング法はノロウイルスの流行予測に適さないと判断された。一方、散発小児患者を検査対象とした結果、ノロウイルス遺伝子の検出が地域の流行ウイルスを先行して検出する傾向が認められ、散発小児患者便を用いたモニタリング法は流行を予測する有用な方法となる可能性が示された。

Key words: ノロウイルス, 流行予測, 遺伝子型, アサリ, 感染性胃腸炎  
norovirus, adequate monitoring, genotype, clam, infectious gastroenteritis

### はじめに

食中毒患者数の大半を占めるノロウイルス食中毒の防止対策として、静岡県では2010年から「ノロウイルス食中毒注意報」の運用を開始した。この発表基準は、感染症発生動向調査における定点あたりの感染性胃腸炎症例数およびノロウイルス食中毒発生件数に基づいているが、より正確に流行を予測できる新たな観測データが求められている。

ノロウイルスの流行規模は年により異なるが、それにはウイルスの抗原性の変化が関与し<sup>1)</sup>、ウイルスの抗原性は遺伝子型と密接に関連するため<sup>2)</sup>、検出された遺伝子型別データを活用することで、ノロウイルスの流行予測に有用な科学的基礎データが得られる可能性があると考えられる。

そこで、ノロウイルス流行をより正確に予測する観測データとして、ノロウイルスが高率に検出される二枚貝および感染性胃腸炎患者を対象にしてモニタリング法の有用性を検討した。

### 方法

#### 1 アサリを対象としたモニタリング法の検討

##### 1) 供試材料

県内産のアサリを対象に、2012年5月～9月および2013年7月～11月、毎月6～12検体、計90検体を用いた。検体は市販品を購入した。

##### 2) ノロウイルス検査法

ノロウイルス検査は、厚生労働省通知<sup>3)</sup>に従い2012年はnested RT-PCR法により実施し、2013年はリアルタイムRT-PCR法により行った。遺伝子型は、ダイレクトシークエンス法で塩基配列を決定し、BLAST検索による相溶性解析により行った。

#### 2 散発小児患者を対象としたモニタリング法の検討

##### 1) 散発小児患者と集団事例の発生時期調査

散発小児患者については、感染症発生動向調査の始まった2001年以降13年間の静岡県における感染性胃腸炎患者の1定点あたりの患者数を週別に集計した。

集団事例については、1997年以降に静岡県内で発生した食中毒のうち病因物質がノロウイルス（小型球形ウイルスを含む）の157事例の発生日を月別に集計した。

##### 2) 供試材料

散発小児患者を対象とした検体は、2013年8月～11月、静岡市内の小児科医院で感染性胃腸炎と診断された患者の糞便または直腸ぬぐい液43検体を用いた。

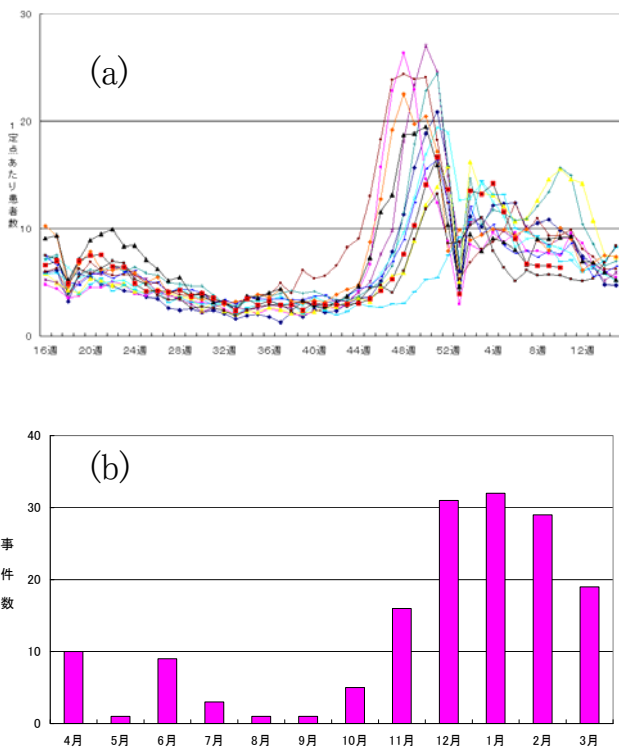


図1 静岡県における感染性胃腸炎患者数 (a) とノロウイルス食中毒発生数 (b) の推移

3) ノロウイルス検査法

検査は厚生労働省通知<sup>3)</sup>に従いリアルタイム RT-PCR法によりノロウイルスおよびサポウイルス検査を行い、検出されたノロウイルスのうち、8株について遺伝子型を調べた。

4) 集団事例の原因ウイルスの遺伝子型

2013年8月～2014年2月、当所に検査依頼のあったノロウイルス集団食中毒事例(疑い事例を含む)のうち、ノロウイルス遺伝子が検出された14事例について、患者から検出されたノロウイルスの遺伝子型を調べた。

結果

1 アサリのモニタリング法の検討

2012年5月、7月～9月に60検体中11検体からノロウイルス遺伝子が検出された。遺伝子型はGII.7が4株、GII.2、GII.14、GII.21が各1株、型別不能が4株であった。2013年は検査した30検体からノロウイルス遺伝子は検出されなかった。

2 散発小児患者便を用いたモニタリング法の検討

1) 散発小児患者と集団事例の発生時期調査

散発小児患者は概ね第46週から第50週(11月中旬～12月中旬)にかけて大きなピークが見られた(図1a)。

表1 感染性胃腸炎と診断された散発小児患者からのウイルス検出状況

検出ウイルス	8月	9月	10月	11月	計
ノロウイルスGI					0
ノロウイルスGII				10	10
サポウイルス			1	5	6
供試検体数	2	3	9	29	43

集団事例は11月から増加し始め1月をピークに4月まで続いた(図1b)。両者を比較すると、散発小児患者の発生のピークは集団事例より1～2カ月先行した。

2) 散発小児患者と集団事例から検出されたノロウイルス遺伝子型の関係

散発小児患者43検体中10検体からノロウイルスGII遺伝子、6検体からサポウイルス遺伝子が検出された(表1)。ノロウイルスは全て11月に検出され、遺伝子型はGII.4が2株、GII.13が4株、GII.6およびGII.14が各1株であった(表2)。

一方、集団事例から検出されたウイルスの遺伝子型はGII.4が9事例、GII.14が2事例、GI.3、GII.3およびGII.7が各1事例であった。2013/14シーズンの集団事例は11月以降に発生し、主流はGII.4、次にGII.14であった(表2)。

考察

ノロウイルスの流行予測に資するモニタリング対象としては、ノロウイルスが高率に検出されるヒトの糞便、下水処理場放流水、二枚貝などが候補となる。今回はまず二枚貝に着目しアサリを検査対象としたところ、2012年は11検体からノロウイルス遺伝子が検出されたが、2013年は全く検出されず、年により検出率に変動が認められた。その要因として、2012年秋と2013年秋の流行規模の違いが反映された可能性、リアルタイムPCR法とnested RT-PCR法の検出感度の差が結果に反映された可能性が考えられた。2013年に採用した方法は実用性を踏まえ変更しており、この方法によりアサリからノロウイルス遺伝子が検出されなかったことから、アサリを対象とした方法はノロウイルスの流行予測に用いるツールとしては適さないと判断された。

ノロウイルスはヒトの腸管にのみ感染するが、特に小児は感受性が高いと考えられるため、今回散発小児患者の発生時期を調べたところ、散発小児患者の発生ピークは集団事例より1～2カ月先行していることが分かった。したがって、10月～11月の散発小児患者の発生立ち上がり時期に原因ウイルスを調べることで、その後発生する

表2 散発小児患者および集団事例から検出されたノロウイルスの遺伝子型

	2013/14年						
	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月
散発小児患者	—*	—	—	G II .4 (2)** G II .6 (1) G II .13 (4) G II .14 (1)	NT***	NT	NT
集団事例	—	—	—	G II .3 (1)	G II .4 (3)	G II .4 (4) G II .7 (1) G II .14 (1)	G I .3 (1) G II .4 (2) G II .14 (1)

\*: 検出せず, \*\*: ( ) 内検出症例数又は事例数, \*\*\*: 実施せず

集団事例の兆候をとらえる可能性が高いと推測された。

2013/14 シーズンは12月以降、集団事例からG II .4 が9事例、G II .14 が2事例から検出され主流となったが、これらの遺伝子型は散発小児患者から11月の時点で既に検出されていた。この結果から、流行シーズン初期に散発小児患者から検出されるノロウイルスの遺伝子型を調べることで、その地域の流行ウイルスを予測できる可能性が示唆された。

散発小児患者から検出されるウイルスの遺伝子型の中には集団事例の原因ウイルスとならない遺伝子型もあり、この中には不顕性感染に終わるものも含まれていると考えられる。また、ノロウイルスはヒトの間での感染と増殖に適応する方向で進化を続けており<sup>4)</sup>、どの遺伝子型が流行するか事前に正確に流行を予測することは難しい。

2013/14 シーズンに散発小児患者および集団事例から検出されたG II .4 の亜型はいずれも2012変異株であった。この変異株が2012年11月以降国内で流行し始め、その後大きな流行を引き起こしている<sup>5)</sup>。2013/14 シーズンのようにこの変異株が検出された場合には、その後の流行を予測する上では有用な情報になると考えられた。

#### まとめ

ノロウイルスの流行予測に有用な科学的基礎データとして活用できるモニタリング法を検討した。

アサリを検査対象にモニタリングした結果、2012年は11検体からノロウイルスが検出されたが、2013年は検出されず、年により検出率に変動が認められたこと等から、

アサリを用いたモニタリング法はノロウイルスの流行予測に適さないと判断された。

一方、散発小児患者を対象にした結果、2013/14 シーズンの本格流行の以前の2013年11月時点において主流となった遺伝子型G II .4 およびG II .14 が検出されており、散発小児患者便を用いたモニタリング法は地域流行を予測する有用な方法となる可能性が示された。

ノロウイルスの本格流行の前に散発小児患者から検出されたウイルスのうち、どの型が流行するか事前に正確に予測するのは難しいが、変異株などの出現時には有用な情報になると考えられた。

#### 謝辞

検体採取にご協力頂いた、うへのやま小児科上山裕巳先生に深謝いたします。

#### 文献

- 1) 本村和嗣他：ノロウイルスのゲノム解析と流行のしくみ、感染症誌, 86, 563-568 (2012)
- 2) 片山和彦：ノロウイルス感染症研究の現状と課題、食品衛生研究, 60, 15-25 (2010)
- 3) 厚生労働省：ノロウイルスの検査法について、平成19年5月14日付食監第0514004号
- 4) 佐藤裕徳：ヒトノロウイルスの生存戦略、ウイルス, 60, 21-32 (2010)
- 5) 田村務：ノロウイルス2012年変異株の流行、平成25年度衛生微生物技術協議会抄録, 41 (2013)



## 腎臓移植後患者におけるBKウイルス腎症に関する研究

微生物部 ウイルス班 山田俊博, 小柳純子, 池ヶ谷朝香  
佐原啓二, 川森文彦  
静岡県立総合病院 腎臓内科 松尾 研, 森 典子

The Study of BKV-associated Nephropathy in the Renal Transplant Recipient

Toshihiro YAMADA, Junko KOYANAGI, Asaka IKEGAYA,  
Keiji SAHARA, Fumihiko KAWAMORI, Ken MATSUO  
and Noriko MORI

腎臓移植後の強い免疫抑制状況では、腎臓に潜伏感染したBKウイルス(BKV)が再活性化し移植後患者にBKV腎症を起こすことが報告されている。今回我々は、腎臓移植後患者のBKV腎症を早期に発見するため、スクリーニング検査として尿中および血漿中のBKV遺伝子を定量的に検出できるリアルタイムPCR法を構築した。この検査法により、尿中で $1.45E+07$  copies/mL、血漿中で $3.90E+04$  copies/mLのBKVが検出されBKV腎症が疑われた症例において、投与薬剤の変更で免疫抑制を下げたことにより、尿中BKV量( $1.96E+02$  copies/mL)の低下が確認された。本症例は、BKV遺伝子定量により早期のBKV腎症を診断し、症状の悪化を防ぐことが可能であったことから、臨床診断に有効に活用されたと考えられた。

Key words: BKウイルス, BKV腎症, 腎臓移植後患者  
BK virus (BKV), BKV-associated nephropathy (BKVN), renal transplant patients

### はじめに

BKウイルス(BKV)は、ポリオーマウイルスに属する二本鎖DNAウイルスで、健常人では不顕性感染が大半を占め、成人の約80~90%が抗体を保有していることが報告されている<sup>1,2)</sup>。腎臓移植後の強い免疫抑制状況では、腎臓に潜伏感染したBKVが再活性化し、1~9%の腎臓移植後患者にBKV腎症を起こすとされている<sup>3-6)</sup>。この腎症は、タクロリムスとミコフェノールが移植後の免疫抑制剤として導入されてから報告されるようになり、その因果関係が指摘されている<sup>7)</sup>。本邦においてもBKV腎症の症例報告がなされているが、急性拒絶との鑑別が困難であることや免疫抑制剤の減量以外に有効な治療法が無いことから、移植腎喪失の原因となり問題となっている。

また、BKV遺伝子型には4つの亜型(I~IV)が存在することが報告されており、本邦ではI型が70~80%で一番多く分布し、増殖力が強いとされている<sup>8,9)</sup>。

今回我々は、腎臓移植後患者のBKV腎症を早期に発見するため、スクリーニング検査として尿中および血漿中のBKV遺伝子をリアルタイムPCR法を用いて定量的に検出した。さらに本ウイルスの遺伝子型検出法を構築し、ドナーとレシピエントの遺伝子型の比較、腎臓移植後患者の遺伝子型分布についても解析した。そして、これら遺伝子定量測定法および遺伝子型解析法を用いて、臨床への応用を試みた。

### 材料および方法

#### 1 供試検体

2012年9月から2013年10月に、静岡県立総合病院腎臓内科を受診した腎臓移植前レシピエント6例、移植後レシピエント58例、腎臓移植ドナー18例の合計82例から採取した尿112検体、血漿79検体の計191検体を対象

とした。

## 2 検体の前処理, 遺伝子抽出

### 1) 尿検体

前回の排尿から2~3時間以上経過後の初尿(出始めの尿)を採取し, 攪拌後その50mLを遠沈(3,200rpm,30min)し回収した上皮細胞を生理食塩水で洗浄後, 200 $\mu$ Lの上皮細胞浮遊液を作製し, 試料として用いた。DNA抽出は, スマイテスト EX R&D(医学生物学研究所)を用い, 得られたDNA沈殿を50 $\mu$ LのDNase/RNaseフリーの滅菌蒸留水に再溶解した。

LightCycler TaqMan Master (ロッシュ), 後者にはPremix

表1 PCR-RFLP法の制限酵素切断パターン

制限酵素	I	II	III	IV
Alu I	193	193	342	342
	149	149	-	-
Rsa I	294	342	212	342
	48	-	130	-

Ex Taq Perfect Real time (TaKaRa) を用いた。

## 4 遺伝子型解析

### 1) PCR-RFLP法

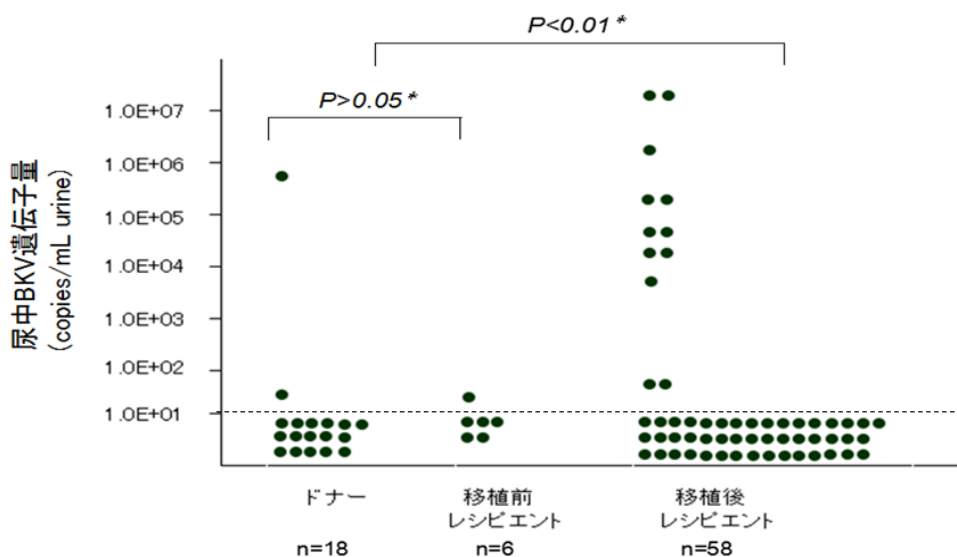


図1 ドナー, レシピエントの尿中BKV遺伝子量

\*Mann-Whitney U-test

### 2) 血漿検体

EDTA-2Kの抗凝固剤を用いて採血し, 分離上清200 $\mu$ Lを血漿試料とした。DNA抽出は尿検体と同様の方法で行った。

### 3 遺伝子定量

BKVのLarge and small T antigen領域を検出するプライマー対(forward: 5'-GCA ATC TAT CCA AAC CAA GGG CTC TT-3'; and reverse: 5'-GGG GCG ACG AGG ATA AAA TGA AGA-3')とプローブ(5'-56-Fam-TTT TTG GAA CAA ATA GGC CAT TCC TTG CAG-3IABkFQ-3')をPriftakisらの方法<sup>10)</sup>を参考に設定した。検量線用標準物質には, プライマー増幅領域のPCR産物を組み込んだBKVプラスミドを日本遺伝子研究所に依頼して作製し, 1.0E+01, 1.0E+02, 1.0E+03, 1.0E+05 copies/PCRの4ポイントを用いた。リアルタイムPCR装置は, LightCycler (ロッシュ)とABI7500 (アプライドバイオシステムズ)の2機種を使用し, DNA増幅試薬キットは, 前者には

BKVのVP1領域を検出するプライマー対(forward:

5'-CAA GTG CCA AAA CTA CTA AT-3'; and reverse: 5'-TGC ATG AAG GTT AAG CAT GC-3')をTakasakaらの方法<sup>9)</sup>を参考に設定した。増幅装置は, ABI9700(アプライドバイオシステムズ)を用い94 $^{\circ}$ C $\cdot$ 3分処理後, 94 $^{\circ}$ C $\cdot$ 30秒, 55 $^{\circ}$ C $\cdot$ 1分, 72 $^{\circ}$ C $\cdot$ 1分の反応を40サイクル繰り返した後, 72 $^{\circ}$ C $\cdot$ 5分処理した。DNA増幅試薬キットは, Blend Taq Plus (TOYOBO)を使用した。制限酵素は, Alu I (ニッポンジーン)とRsa I (ニッポンジーン)を用い, 37 $^{\circ}$ Cで90分インキュベート後, アガロース・ゲル電気泳動を行い, 切断パターンを確認した(表1)。

### 2) ダイレクトシーケンス法

PCR増幅はPCR-RFLP法で用いたPCR系を使用し, 得られたPCR増幅産物をWizard SV Gel and PCR Clean-UP System(プロメガ)で精製し, DTCS Quick Start Master Mix(ベックマンコールター)とABI9700(アプライ

ドバイオシステムズ)を使用してシーケンス反応を行った。シーケンスデータの解析には、CEQ8000 DNA Analysis System(ベックマンコールター)を用いて 327bp の塩基配列を決定した。次に、塩基配列をDDBJのClustal W (<http://clustalw.ddbj.nig.ac.jp/>)を使用してブートストラップファイルに変換し、Tree Explorer ver.2.12 ([2.5E+03 copies/mL 以上の高い BKV 量 \(3.90E+04 copies/mL\) が確認された。](http://</a></p>
</div>
<div data-bbox=)

### 3 BKV 遺伝子型解析

BKV 陽性 15 例の遺伝子型は、PCR-RFLP 法で 13 例が I 型、2 例が III 型に分類された。さらに 15 例をダイレクトシーケンス法を用いて系統樹解析を行った結果、5 例

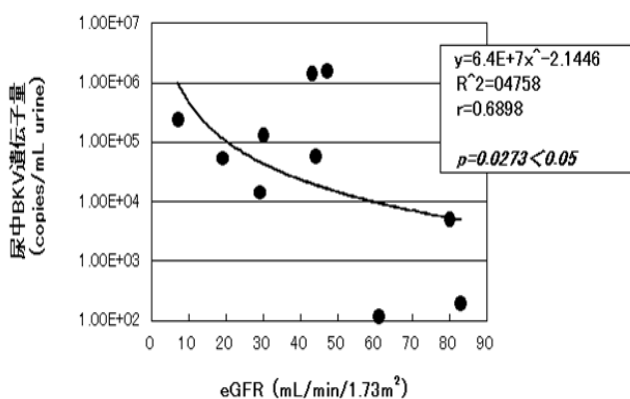


図 2 尿中 BKV 遺伝子量と eGFR の相関性

en.bio-soft.net/tree/Tree Explorer.html) で系統樹作成を行った。

## 結果

### 1 BKV 遺伝子定量法の評価

BKV プラスミド DNA を用いた検量線を 5 回作成し、PCR 効率と検出感度から定量法を評価した。PCR 効率 (Efficiency=10<sup>(-1/slope)</sup>; 1.8 以上で良好) は、LightCycler 系が 1.97±0.04、ABI7500 系が 1.89±0.04 を示し、どちらも良好な結果であった。検出感度は、BKV プラスミドのみを検体としたときは LightCycler、ABI7500 とともに 5.0E+01 copies であり、尿検体では 1.0E+01 copies/mL、血漿では 2.5E+03 copies/mL といずれも十分な値が得られた。

### 2 BKV 遺伝子量

移植前レシピエント、移植後レシピエントおよびドナーにおいて、尿中 BKV が 1.0E+01 copies/mL 以上を示した比率はそれぞれ、16.7% (1/6)、20.7% (12/58)、11.1% (2/18) であった。これらを免疫抑制のない群(ドナー、移植前レシピエント)と免疫抑制のある群(移植後レシピエント)で比較したところ、12.5% (3/24) と 20.7% (12/58) の値を示し、有意差 ( $p < 0.01$ ) が認められた(図 1)。次に、免疫抑制のある群について尿中 BKV 遺伝子量と糸球体濾過量 (eGFR) の回帰分析検定を行ったところ、有意な相関関係 ( $p < 0.05$ ) が認められた(図 2)。また、血漿中 BKV では、移植後レシピエント 1 例で

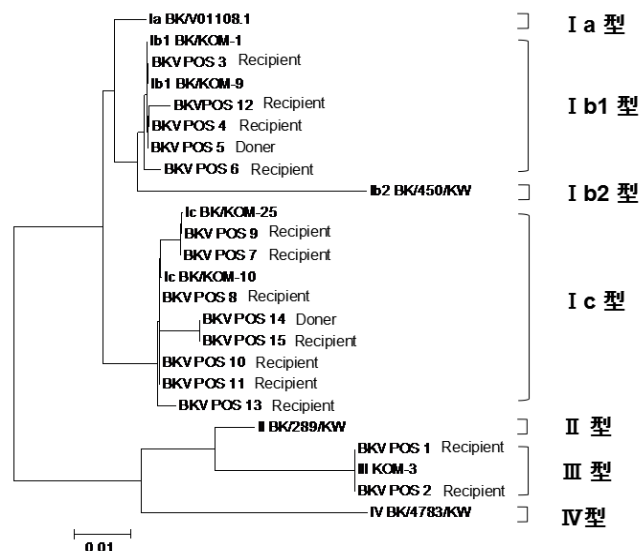


図 3 分子系統樹解析による BKV 遺伝子型別

が I b 1 型, 8 例が I c 型, 2 例が III 型に分類された。また、参照遺伝子との比較により 7 分類 (I a, I b 1, I b 2, I c, II, III, IV) の遺伝子型解析が可能であることが確認された(図 3)。

### 4 BKV 血症により BKV 腎症が疑われた症例

移植後レシピエントの 1 例 (29 才男性, 生体腎移植後 1 年) において、尿中 BKV が 1.45E+07 copies/mL の高値を示し、尿沈渣にウイルス感染細胞が観察され、血漿中からも BKV が 3.90E+04 copies/mL 検出された。BKV 腎症が疑われ、免疫抑制剤の処方を変更 (エベロリムスを追加, タクロリムスを半量) したことにより、尿中 BKV 量は 1.96E+02 copies/mL に低下した。なお、腎生検は患者の同意が得られず未実施であった。

## 考察

本研究により、尿中および血漿中の BKV を検出する良好な遺伝子定量法と 7 種類の BKV 遺伝子型に分類可能な系統樹解析法が構築された。この定量法を用いた検討で、免疫抑制のある群は無い群より有意に尿中 BKV 遺伝子量が高い傾向が認められた。また、尿中 BKV 遺伝子量と eGFR に有意な相関関係が認められ、尿中 BKV 量が高いと eGFR 値が低くなり腎機能が悪くなることが示された。

尿中 BKV 遺伝子量は BKV 腎症の指標として有効であり<sup>3-5)</sup>, 血液中の BKV 遺伝子が 1.0E+04 copies 以上で BKV 腎症発症の可能性が高まり, 移植腎生検による確定が必要とされており<sup>3-5)</sup>, BKV 血症にいたる BKV 尿症の尿中 BKV 量は 1.0E+07 copies/mL 以上とされている<sup>5,11)</sup>. 本研究で確認された BKV 腎症疑い症例においても, 尿中 BKV が 1.45E+07 copies/mL, 血漿中 BKV が 3.90E+04 copies/mL と高値を示し, 薬剤変更を行い免疫抑制を下げたことにより, 尿中 BKV 量の低下が確認された. したがって, 本症例は, BKV 遺伝子定量により早期の BKV 腎症を診断し, 症状の悪化を防ぐことが可能であったケースと考えられ, 臨床診断に有効に活用されたことが示唆された.

BKV 遺伝子型については, 各遺伝子型と病態との関係や, BKV 腎症発症がドナー由来かレシピエント由来かを判断する指標として, 今後の臨床応用が期待される.

#### 謝 辞

本研究を実施するにあたり, 検体の前処理や保存を行っていただいた静岡県立総合病院検査部の臨床検査技師の方々に深謝いたします.

#### 文 献

- 1) Knowles, W. A. et al.: Population-based study of antibody to the human polyomaviruses BKV and JCV and the simian polyomavirus sv40. *J. Med. Virol.*, **71**, 115-123 (2003)
- 2) Stolt, A. et al.: Seroepidemiology of the human polyomavirus. *J. Gen. Virol.*, **84**, 1499-1504 (2003)
- 3) Hirsch, H. H. et al.: Prospective study of polyomavirus type BK replication and nephropathy in renal-transplant recipient. *N. Engl. J. Med.*, **347**, 488-496 (2002)
- 4) Viscount, H. B. et al.: Polyomavirus polymerase chain reaction as a surrogate marker of polyomavirus-associated nephropathy. *Transplant.*, **84**, 340-345 (2007)
- 5) Smith, J. M. et al.: Polyomavirus nephropathy in pediatric kidney transplant recipients. *Am. J. Transplant.*, **4**, 2109-2117 (2004)
- 6) 両角國男他: BK ポリオーマウイルス腎症—新しい腎移植障害—, *今日の移植*, **16**, 379-385 (2003)
- 7) Barri, Y. H. et al.: Polyomaviral infection in renal transplantation the role of immunosuppressive therapy. *Clin. Transplant.*, **15**, 240-246 (2001)
- 8) Zhong, S. et al.: Age-related urinary excretion of BK polyomavirus by nonimmunocompromised individuals. *J.*

*Clin. Microbiol.*, **45**, 193-198 (2007)

- 9) Takasaka, T. et al.: Subtypes of BK virus prevalent in Japan and variation in their transcriptional control region. *J. General. Viology.*, **85**, 2821-2827 (2004)
- 10) Priftakis, P. et al.: BK virus quantification in urine samples of bone marrow transplanted patients is helpful for diagnosis of hemorrhagic cystitis although wide individual variations. *J. Clin. Viology.*, **26**, 71-77 (2003)
- 11) Hirsch, H. H. et al.: Polyomavirus-associated nephropathy in renal transplantation: interdisciplinary analysis and recommendations. *Transplant.*, **79**, 1277-1286 (2005)



## 静岡県におけるつつが虫病の浸淫状況に関する研究

微生物部 ウイルス班 池ヶ谷朝香, 小柳純子, 山田俊博,  
佐原啓二, 川森文彦

Prevalence of Scrub Typhus in Shizuoka Prefecture

Asaka IKEGAYA, Junko KOYANAGI, Toshihiro YAMADA,  
Keiji SAHARA and Fumihiko KAWAMORI

つつが虫病は感染症法による4類感染症で、全国で毎年約400症例の発生があり、静岡県でも年間10症例前後の届出がある。2009年から2010年にかけて、それまで届出がなかった中遠地域で3例の発生が確認された。そこで、中遠地域および以前からの流行地である富士山東山麓を中心に静岡県のつつが虫病の浸淫状況を調査した。その結果、富士山東山麓も依然として感染の機会が高い流行地であることが確認された。また、中遠地域で捕獲した野ネズミからつつが虫病リケッチア (*Orientia tsutsugamushi*) 遺伝子が検出され、抗体の保有も確認されたことから、中遠地域においてもつつが虫病に感染する機会があることが解明された。

Key words: つつが虫病, つつが虫病リケッチア, 野ネズミ, ツツガムシ  
scrub typhus, *Orientia tsutsugamushi*, field rat, chigger

### はじめに

つつが虫病は、ダニの一種であるツツガムシが人を刺咬した際に、*Orientia tsutsugamushi* が体内に入り込み、発熱、発疹等の症状を引き起こし、治療が遅れると死に至ることもある疾患である。感染初期にはテトラサイクリン系の抗生物質が著効を示すため、早期の確定診断が適切な治療につながる。しかし、ツツガムシの大きさは0.2~0.3 mmと小さく、刺咬されたことに気づかず発症するため、発疹性の類似疾患と診断されることも少なくない。そのため、つつが虫病発生のリスクがある地域では、住民や医療関係者がつつが虫病についての意識を高め、感染予防対策を実施することや誤診による重症化を防ぐことが重要となる。

2006年以降、静岡県におけるつつが虫病症例は、富士山東山麓に位置する御殿場市での発生が大半を占めており<sup>1-3)</sup>、次いで浜松市を中心とする西部地域での発生がみられている。しかし、2009年から2010年にかけてそれまで発生のなかった中遠地域での発生が3症例確認された。また、静岡県のつつが虫病の浸淫状況調査は20年以

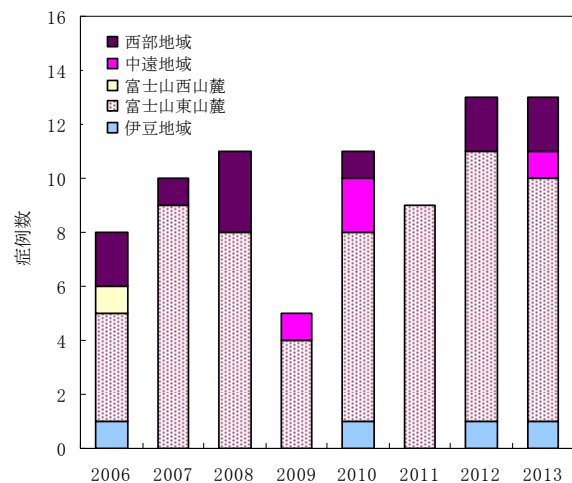


図1 静岡県におけるつつが病患者報告数(年次別)

上行われていないことから<sup>3)</sup>、現在の状況を明らかにするとともに、2009年に初めて発生が確認された中遠地域でのつつが虫病の浸淫状況を解明するため県内の広域で疫学調査を行った。

### 材料および方法

#### 1 野ネズミの捕獲調査

##### 1) 野ネズミの捕獲および採材

2012年10月から2013年12月に静岡県内の11市町において鳥獣捕獲許可取得後、シャーマントラップを用い

て野ネズミの捕獲を実施した。捕獲した野ネズミを解剖し、脾臓を採取した。捕獲時に生存していた個体については心臓採血を行った。

2) *O. tsutsugamushi* 遺伝子検出

摘出した脾臓のうち 10 mg を QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN) の組織用プロトコールに従い DNA を抽出した。抽出 DNA からの遺伝子検出は「リケッチア感染症診断マニュアル」<sup>4)</sup>に従い、*O. tsutsugamushi* 検出用の nested PCR を用いて実施した。また、*O. tsutsugamushi* と紅斑熱群リケッチアを識別できる multiplex real-time PCR<sup>5)</sup>も並行して実施した。

3) 抗体価の測定

採取した血清については、間接蛍光抗体法 (IF 法)<sup>6)</sup>により抗体価の測定を実施した。抗原には Gilliam 株, Karp 株, Kato 株, Kawasaki 株および Kuroki 株の 5 種類を用いた。二次抗体には抗ラット IgG FITC 標識ウサギ血清 (Jackson ImmunoResearch) を用い、血清は PBS(-) で 20 倍および 40 倍に希釈しスクリーニング検査を実施した。

4) 寄生ツツガムシ幼虫の採取・同定

内臓を取り除いた野ネズミの死体を水を入れたシャーレの上に 3 日間吊るし、水面に落下したツツガムシ幼虫をガムクロラル液を用いてスライドグラスに封入し、光学顕微鏡下で形態的特徴を観察し同定した。

2 患者の血液および刺し口痂皮の検査

1) 供試検体

2012 年と 2013 年のつつが虫病届出患者数は、図 1 に示したとおりいずれも 13 人であったが、このうち富士山東山麓の 14 症例および伊豆地域、中遠地域、西部地域各 1 症例、合計 17 症例の検体を入手した。検体の種類は、ペア血清 (血液) が 13 症例、シングル血清 (血液) が 4 症例で、ペア血清 (血液) が入手できた症例のうち 10 症例は刺し口痂皮も検査に供した。

2) *O. tsutsugamushi* 遺伝子検出

急性期の血液が得られた 13 症例については、血液 200  $\mu$ L について QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN) の血液プロトコールに従い DNA を抽出した。また、刺し口痂皮について組織用プロトコールに従い DNA を抽出した。遺伝子検出には、野ネズミと同様、nested PCR および multiplex real-time PCR を用いた。

3) 抗体価の測定

患者の血液から得られた血清は PBS(-) で 20 倍から 2 倍段階希釈を行い、IF 法にて野ネズミの検査と同じリケッチア株を用いて抗体価の測定を実施した。二次抗体には抗ヒト IgG FITC 標識ヤギ血清 (invitrogen) および IgM FITC 標識ヤギ血清 (BIOSOURCE) を用いた。IgM 抗体が陽性またはペア血清で抗体価が 4 倍以上上昇したものを陽性とした。

3 検出された *O. tsutsugamushi* の血清型の解析

Nested PCR で *O. tsutsugamushi* 遺伝子陽性となった検体についてダイレクトシークエンスを行い、Gene Bank に登録されている *O. tsutsugamushi* の 56kDa 外膜蛋白遺伝子と比較を行い分子系統樹を作成し血清型を決定した。

結果

1 野ネズミの捕獲調査結果

1) 野ネズミ捕獲状況

捕獲された野ネズミは、アカネズミ 46 頭、ヒメネズミ 4 頭の計 50 頭であった。捕獲地域は、伊豆地域 (西伊豆町, 松崎町) で 4 頭、富士山東山麓 (御殿場市, 小山町) で 33 頭、富士山西山麓 (富士市, 富士宮市) で 4 頭、中遠地域 (菊川市, 御前崎市, 掛川市, 森町) で 6 頭、西部地域 (浜松市) で 3 頭であった。

2) *O. tsutsugamushi* 遺伝子検出状況

野ネズミ 50 頭中 6 頭 (12%) から nested PCR により

表 1 野ネズミからの *O. tsutsugamushi* 検出状況

調査地域	野ネズミの種類	検体数	陽性数	
			Nested PCR	Multiplex real-time PCR
伊豆地域	アカネズミ	4	1	2
富士山東山麓	アカネズミ	32	5	10
	ヒメネズミ	1	0	0
富士山西山麓	アカネズミ	2	0	1
	ヒメネズミ	2	0	0
中遠地域	アカネズミ	5	0	0
	ヒメネズミ	1	0	0
西部地域	アカネズミ	3	0	0
合計		50	6	13

表2 野ネズミにおける抗体検出数

	検査数	検出数(%)
伊豆地域	3	2(66.7)
富士山東山麓	12	12(100)
富士山西山麓	4	2(50.0)
中遠地域	5	4(80.0)
西部地域	3	2(66.7)
計	27	22(81.5)

*O. tsutsugamushi* 遺伝子が検出された。Multiplex real-time PCR では nested PCR で陽性となった6頭を含む13頭(26%)が陽性で、陽性となったのはすべてアカネズミであった。地域別にみると、*O. tsutsugamushi* が検出されたのはすべて富士川以東のアカネズミであった(表1)。

3) 抗体価測定結果

野ネズミ27頭中22頭(81.5%)から *O. tsutsugamushi* に対する抗体が検出された。地域別の抗体保有率は、富士山東山麓の12頭すべてが陽性(100%)で最も高かった(表2)。

4) 寄生ツツガムシ幼虫の同定

野ネズミから採取されたツツガムシは *O. tsutsugamushi* 媒介種であるタテツツガムシおよびフトゲツツガムシをはじめとし、フジツツガムシ、キタサトツツガムシ、ヤマトツツガムシ、サダスクガーリエップツツガムシおよびタマツツガムシ sp の4属7種2,376匹であった。このうち、アカネズミ46匹からは2,372匹のツツガムシが採取されたが、ヒメネズミ4匹からはフジツ

ツガムシ2匹およびタマツツガムシ sp 4匹の計6匹が採取されただけであった。地域別には、タテツツガムシは富士山東山麓と西部地域で採取され、フトゲツツガムシは富士山東山麓で多く、伊豆地域および富士山西山麓でも採取された(表3)。

2 患者の血液および刺し口痂皮検査結果

1) *O. tsutsugamushi* 遺伝子検出状況

急性期に採取された血液13検体について *O. tsutsugamushi* 遺伝子の検出を行ったところ、8症例が nested PCR で陽性となり、9症例が multiplex real-time PCR で陽性となった。また、急性期血液と刺し口痂皮の両方が採取された10症例の検査結果は、刺し口痂皮では10症例すべてが両PCRで陽性となったのに対し、血液で陽性となったのは nested PCR で6症例、multiplex real-time PCR で7症例であった。

2) 抗体価測定結果

17症例すべてで20倍以上の抗体価が得られ、最も高い抗体価を示した *O. tsutsugamushi* の血清型は、Kawaasaki型が8症例(中遠地域1症例を含む)、Gilliam型とKawasaki型が2症例(西部地域1症例を含む)、Kuroki型が4症例、Karp型とKuroki型が1症例であった。なお、富士山東山麓と伊豆地域の2症例は回復期血清しか得られず、すべての血清型株の対し高い抗体価を示した。

3 検出された *O. tsutsugamushi* の血清型

Nested PCR で陽性となったアカネズミ6頭および患者12症例の *O. tsutsugamushi* の血清型は、Karp型、Kawasaki型およびKuroki型の3種類であった。アカネズミでは

表3 アカネズミからの *O. tsutsugamushi* 媒介ツツガムシ幼虫採取状況

調査地域	検査頭数	寄生ツツガムシ(アカネズミ1頭当たりの寄生数)					計
		タテツツガムシ	フトゲツツガムシ	フジツツガムシ	ヤマトツツガムシ	サダスクガーリエップツツガムシ	
伊豆地域	4	—	12 (3.0)	80 (20.0)	—	25 (6.3)	117 (29.3)
富士山東山麓	32	560 (17.5)	320 (10.0)	569 (17.8)	365 (11.4)	168 (5.3)	1,982 (61.9)
富士山西山麓	2	—	4 (2.0)	19 (9.5)	6 (3.0)	13 (6.5)	42 (21.0)
中遠地域	5	—	—	9 (1.8)	—	1 (0.2)	10 (2.0)
西部地域	3	66 (22.0)	—	27 (9.0)	—	5 (1.7)	98 (32.7)
計	46	626 (17.9)	336 (8.8)	704 (15.3)	371 (10.9)	212 (4.6)	2,249 (48.9)

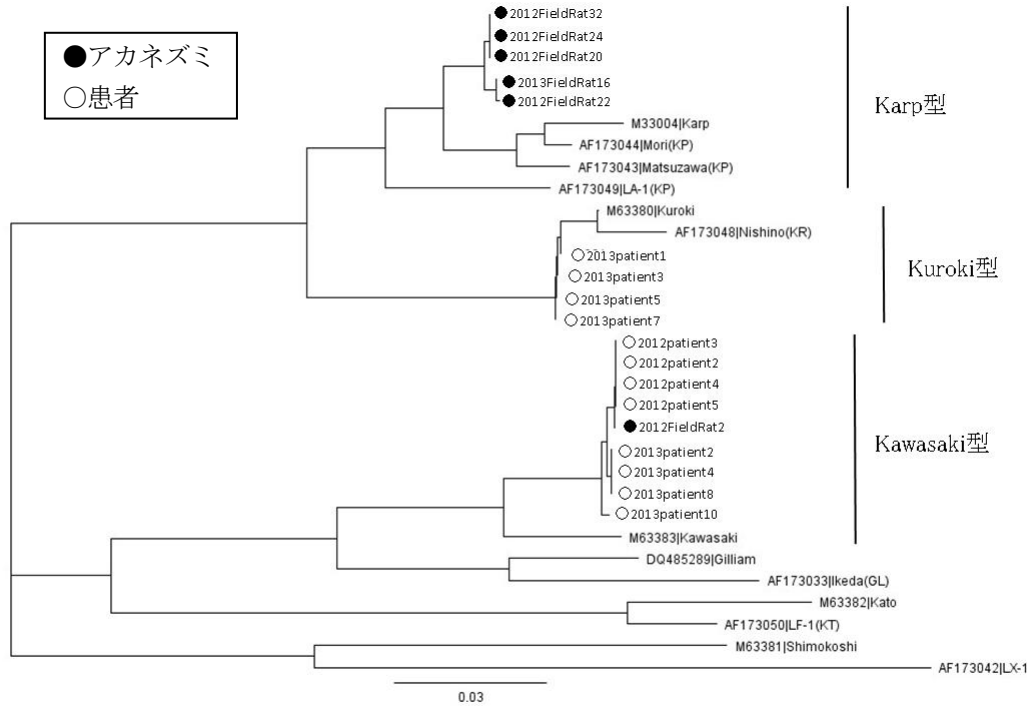


図2 検出された *O. tsutsugamushi* の分子系統樹

表4 検出された *O. tsutsugamushi* の月別分布

		10月			11月			12月
		上旬	中旬	下旬	上旬	中旬	下旬	上旬
Karp型	アカネズミ				●●●●			○
	患者	●		●●●●●	●			◎
Kawasaki型	アカネズミ			●				
	患者	●		●●●●●	●			◎
Kuroki型	患者	●●			●●			

注： ○伊豆地域 ●富士山東山麓 ◎中遠地域

Karp型が5頭、Kawasaki型が1頭であった。また、患者はKawasaki型が8症例およびKuroki型が4症例であった(図2)。

これらの *O. tsutsugamushi* の血清型を野ネズミの捕獲時期および患者が発病した時期ごとに分類すると、Karp型は11月以降にアカネズミから検出され、Kawasaki型およびKuroki型は中遠地域の1症例を除き、富士山東山麓の11症例すべてが10月から11月上旬に確認された(表4)。

### 考察

今回調査した5地域のいずれの野ネズミからも *O. tsutsugamushi* 遺伝子あるいは抗体が検出されたこと

から、静岡県の広域において *O. tsutsugamushi* が存在することが明らかとなった。

今回のつつが虫病患者の検査では、急性期血液13検体中PCRで *O. tsutsugamushi* が検出されたのは8検体であったが、刺し口痂皮は10検体すべてが陽性となった。Kurokawaら<sup>7)</sup>は、日本紅斑熱のPCR検査において刺し口痂皮の方が血液よりも検出率が高いことを報告しているが、つつが虫のPCR検査においても刺し口痂皮が検査材料として大変有用であることが本研究で確認された。

わが国において患者から分離された *O. tsutsugamushi* は、Gilliam型、Karp型、Kato型、Kawasaki型、Kuroki型およびShimokoshi型の6種類に分類される。このうち、Gilliam型およびKarp型はフトゲツツガムシ、Kawasaki

型および Kuroki 型はタテツツガムシ, Kato 型はアカツツガムシが媒介する<sup>8,9)</sup>。また, Shimokoshi 型の *O. tsutsugamushi* は, 近年ヒゲツツガムシが媒介することが判明した<sup>10)</sup>。静岡県では, フトゲツツガムシおよびタテツツガムシは多く採取されており, 過去にはヒゲツツガムシも採取されている<sup>1,3)</sup>。本研究では, フトゲツツガムシおよびタテツツガムシは, すべてアカネズミから採取され, ヒメネズミからは採取されなかった。これは, ヒメネズミが樹上でも生活するのに対し, アカネズミは地上で生活するためツツガムシに寄生される機会が多いためと考えられる<sup>11)</sup>。

今回の中遠地域の調査では, つつが虫病患者の推定感染場所での捕獲ができなかったこともあり, 媒介ツツガムシが採取されなかったが, アカネズミは高率に *O. tsutsugamushi* に対する抗体を保有しており, 患者から Kawasaki 型の *O. tsutsugamushi* が検出された。今後この地域における媒介ツツガムシの種類の特定を試みるとともに, つつが虫病の発生に注目していく必要がある。

フトゲツツガムシの幼虫は秋に卵から孵化し, 翌春まで越冬することが知られており春にも採取されるが, タテツツガムシの幼虫は秋から初冬にかけて活動し春には採取されない<sup>1,2,8,9)</sup>。本調査でもフトゲツツガムシ媒介の Karp 型は 11 月上旬以降に検出され, タテツツガムシ媒介の Kawasaki 型および Kuroki 型は主に 10 月上旬から 11 月中旬に検出されたことから, 静岡県では活動時期の異なる 2 種類のツツガムシが *O. tsutsugamushi* を媒介することにより感染の時期が異なることが解明された。なお, 中遠地域は 10~12 月の平均気温が富士山東山麓よりも 2~4°C 高いことから, タテツツガムシの活動時期が長く, 12 月にも患者が発生したと考えられる。以前からの流行地である富士山東山麓は患者も多く, 野ネズミから *O. tsutsugamushi* 遺伝子が検出され, 媒介ツツガムシも多く採取されたことから, 現在もつつが虫病の感染の危険性が高い地域であることが示唆された。また, 新しく患者が発生した中遠地域では本調査中に新たな患者が発生したことや, 野ネズミから *O. tsutsugamushi* 遺伝子が検出されたことから, つつが虫病の感染の機会がある地域であることが確認された。

## 謝 辞

本調査を行うにあたり, 患者の血液および刺し口痂皮検体を提供していただいた自衛隊富士病院の大嶋智先生に深謝いたします。

## 文 献

1) 川森文彦他: 静岡県における恙虫病の実態について,

環境管理技術, 6, 18-24 (1988)

- 2) 内川公人他: 富士山東山麓におけるタテツツガムシ, フトゲツツガムシの分布様式と恙虫相, 衛生動物, 41, 359-368 (1990)
- 3) 川森文彦他: 静岡県における恙虫病の疫学的研究 (1982~1991), ペストロジー学会誌, 7, 25-28 (1992)
- 4) 古屋由美子: ツツガムシ病診断マニュアル「PCR による遺伝子検出法」, リケッチア感染症診断マニュアル, 国立感染症研究所(レファレンス委員会)・地方衛生研究所全国協議会編, 第 1 版, 9-16, 大翔印刷, 東京 (2001)
- 5) 川森文彦他: Multiplex リアルタイム PCR による「つつが虫病」および「紅斑熱」の迅速診断, 感染症誌, 84, 678-679 (2010)
- 6) 古屋由美子: ツツガムシ病診断マニュアル「間接蛍光抗体法 Indirect immunofluorescence assay (IF 法)」, リケッチア感染症診断マニュアル, 国立感染症研究所(レファレンス委員会)・地方衛生研究所全国協議会編, 2-5, 大翔印刷, 東京 (2001)
- 7) Kurokawa, I. et al. : Early diagnosis of Japan spotted fever by PCR using skin samples, J. infect. Chemother. , 19, 628-632 (2013)
- 8) 田原研司他: つつが虫病-多種多様な疫学-, ダニと新興再興感染症, SADI 組織委員会編, 151-164, 白崎印刷, 福井県 (2007)
- 9) 小川基彦: ツツガムシ病, 動物由来感染症-その診断と対策-, 140-145, 真興交易, 東京 (2003)
- 10) Seto, J. et al. : Proposed vector candidate: *Leptotrombidium palpale* for Shimokoshi type *Orientia tsutsugamushi*, Microbiol. Immunol. , 57, 111-117 (2013)
- 11) 北原正宣: 二つの名前をもつヒメネズミ, ネズミ-けものの中の超繁栄者-, 102-108, 自由国民社, 東京 (1986)



## 入浴施設のレジオネラ属菌制御に係る新たな管理方法の検討

微生物部 細菌班

長岡宏美, 高井健太, 牧田幸久,  
佐原啓二, 川森文彦

Study on New Management Method Relating to *Legionella* Control of Bathing Facilities

Hiromi NAGAOKA, Kenta TAKAI, Yukihisa MAKITA,  
Keizi SAHARA and Fumihiko KAWAMORI

レジオネラ症の発生防止対策として重要な入浴施設の衛生対策について検討するため県内入浴施設の衛生実態を調査したところ, 約 30%の浴槽水からレジオネラ属菌が検出され, 検出状況から遊離残留塩素濃度が 0.2mg/L 以上の施設で採水前 1 週間以内に配管洗浄を実施した施設では検出率が低いことが明らかになった. しかし一方で浴槽水がアルカリ泉質の場合には遊離塩素消毒が困難であるため, 塩素注入法に替わる新たな消毒法としてモノクロラミンについて有用性を検討したところ, 濃度を 3mg/L 程度に保持することで高い消毒効果が得られることが確認された. また, 現条例では規制されていない掛け流し式入浴施設についてレジオネラ属菌の汚染状況を調査したところ, 汚染のリスクは循環式の施設と同様であり, その消毒にモノクロラミンが有効であることが実証された.

Key words: レジオネラ属菌, モノクロラミン, 浴槽水, 入浴施設  
*Legionella*, monochloramine, bath water, bathing facilities

### はじめに

2003 年 2 月に公衆浴場における衛生管理要領が改正され, レジオネラ属菌にかかる規制や浴槽水の消毒方法が明記されたが, その後も集団感染事例は引き続き発生しており<sup>1)</sup>, 入浴施設における衛生管理の改善が求められている.

本研究では, 衛生対策を検討するため浴槽水中のレジオネラ菌量を指標に県内入浴施設の衛生実態の把握を試みた.

また, 現行の塩素消毒法は, 遊離残留塩素による不連続点処理が前提となっているが, 泉質によっては浴槽水成分による塩素消費が想定されるので, 不連続点処理による遊離残留塩素の制御は困難である. 米国では, 結合型塩素であるモノクロラミンを配管系におけるバイオフィーム対策として水道水の消毒剤として使用していることから, 本薬剤の入浴施設におけるレジオネラ属菌対策への応用について検証実験を行った.

さらに, 掛け流し式入浴施設のレジオネラ汚染状況について調査するとともに, その消毒にモノクロラミンが有効であるかもあわせて検討した.

### 材料および方法

#### 1 入浴施設の汚染実態調査

供試材料は, 2009 年 4 月から 2013 年 10 月の 5 年間に当研究所に搬入された浴槽水 267 検体を用いた. また, 掛け流し式浴槽に流入する浴槽水 8 検体についても調査した. レジオネラ属菌の分離は国立感染症研究所検出マニュアル<sup>2)</sup>に従い実施した. 即ち, メンブレンフィルター法を用いて検体を濃縮した後, 熱処理して得られた試料を GVPC 培地 (ピオメリュー) で培養し, レジオネラ属菌が疑われたコロニーについて, 実体顕微鏡による斜光観察およびレジオネラ鑑別培地 (極東製薬) を用いて同定した. レジオネラ属菌と同定された分離株については, ラテックス凝集テストとレジオネラ免疫血清を用いて菌種および血清群の同定を行った.

また, レジオネラ属菌が検出された浴槽水については, 採水時に保健所が調査した施設の管理状況, 消毒方法, 浴槽水の pH について解析を行った.

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)

## 2 循環式浴槽におけるモノクロラミン消毒効果の検証

### 1) 循環式モデル浴槽

当研究所に設置した循環ろ過式浴槽を使用した。このモデル浴槽は、砂ろ過装置を含む循環配管と浴槽および加温装置からなり、pH8.4 の井水を満たしてからモノクロラミン消毒を開始した。循環流速を 4m<sup>3</sup>/h とし、湯温 40°C に維持した浴槽水に当研究所職員が入浴することで有機物汚染を負荷した。

モノクロラミンの生成、注入および測定を行う自動化装置を導入し、濃度制御はモノクロラミン濃度に相当する全塩素濃度測定器の測定値により 3mg/L 前後を目標に 14 日間保持した。

### 2) 営業施設における循環浴槽

県内 3 箇所(A:静岡市, B:島田市, C:浜松市)の循環浴槽を使用している入浴施設を対象に実施した。各施設の詳細を表1に示した。

モノクロラミンの生成、注入および測定を行う自動化装置を導入し、濃度制御はモノクロラミン濃度に相当する全塩素濃度測定器の測定値により 3±1 mg/L を目標に保持した。

表1 対象施設の概要

		A	B	C
施設	所在地	静岡市	島田市	浜松市
	分類	公衆浴場	公衆浴場	ホテル
	浴槽	循環式	循環式	循環式
		露天風呂	露天風呂	露天風呂
設	利用者数 (1日あたり)	平均319人	平均587人	平均480人
	泉質名	ナトリウム 炭酸水素塩 温泉	ナトリウム 塩化物温泉	ナトリウム カルシウム 塩化物温泉
質	pH	9.0	7.8	8.2
	硬度	2	298	475

### 3) 検査項目

#### ① 微生物検査

レジオネラ属菌の定量は浴槽水 500mL をメンブランフィルター法により 100 倍に濃縮し、GVPC 寒天培地を用いて分離培養し、100mL あたりの CFU(Colony Forming Unit)を算出した。

さらに、自由生活性アメーバ（大腸菌塗布無栄養寒天培地）および従属栄養細菌（R2A 寒天培地）についても常法により定量した。

#### ② 塩素濃度の定量

モノクロラミンの定量およびモノクロラミン生成にと

もなって生成されるおそれのあるジクロラミン、トリクロラミンの分別定量は DPD/FAS 滴定法に準じて行った。トリクロラミンの濃度測定は HS-GC/MS 法を併用した。これらの塩素濃度測定は、国立保健医療科学院で実施した。

#### ③ 消毒副生成物の定量

塩素消毒を行った水中で検出される消毒副生成物（トリハロメタン類 4 物質およびハロアセトニトリル類 3 物質）の定量については国立保健医療科学院で実施した。

## 3 掛け流し式入浴施設のモノクロラミン消毒効果の検証

### 1) 対象施設

県内の掛け流し式入浴施設を 1 箇所選定した。当該施設の泉質は pH9.0、ナトリウム-硫酸塩温泉で、源泉の揚水量は 10.8m<sup>3</sup>/h で、連続的に源泉タンクに流入し、そこから配管を経由して掛け流し式浴槽に給湯されていた。

### 2) モノクロラミン生成装置

源泉タンク内の温泉水に次亜塩素酸ナトリウムと塩化アンモニウムを水道水に一定比率混合することにより自動生成したモノクロラミンを 3mg/L 前後を目標に自動注入し、2012 年 5 月から 2013 年 12 月までの 20 ヶ月保持した。

### 3) 微生物検査

2 ヶ月ごとに源泉および浴槽水 500mL を採水し、国立感染症研究所検出マニュアル<sup>2)</sup>に従いレジオネラ属菌の分離を実施した。また、死菌を含むレジオネラ属菌の存在を調べるため、国立感染症研究所検出マニュアル<sup>2)</sup>に従い PCR 法によりレジオネラ属菌特異的遺伝子の検出を行った。

## 結果

### 1 入浴施設の汚染実態調査結果

#### 1) レジオネラ属菌検出状況

浴槽水 276 検体中 84 検体 (31.5%) からレジオネラ属菌が検出された。年度別の検出率は各年度とも約 30%で横ばい状態であった(表 2)。菌種別では *Legionella pneumophila* が 82.8%と最も多く検出され、次いで *L. micdadei* (6.0%), *L. lomdimiense* (3.3%), *L. bozemanii* (1.3%), *L. dumoffii* (0.7%)で、6.0%は菌種の同定に至らなかった。検出された *L. pneumophila* の血清群は 10 種類で、1 群(18.5%)、5 群(16.6%)、3 群(11.9%)、および 6 群(10.6%)の検出率が高く、13.2%は群別不能であった。

また、掛け流し式浴槽に流入された浴槽水 8 検体中 5 検体 (62.5%) からもレジオネラ属菌が検出された。



表2 レジオネラ属菌の検出状況

年度	検体数	陽性数 (%)
2009	58	19 (32.8)
2010	48	13 (27.1)
2011	62	22 (35.5)
2012	51	17 (33.3)
2013	48	13 (27.1)
計	267	84 (31.5)

2) 施設の管理状況

浴槽水 267 検体について、遊離残留塩素濃度とレジオネラ属菌検出の状況を表3に示した。0.2mg/Lの遊離残留塩素が確保されていた浴槽水は、確保されていないものに比べ優位にレジオネラ属菌の検出率が低かった(p<0.05)。

また、配管洗浄実施の有無が確認できた 229 検体について、レジオネラ属菌検出状況を解析したところ採水前1週間以内に配管洗浄を実施している施設は、実施していない施設に比べ p<0.05 で有意に検出率が低かった(表4)。

表3 浴槽水の遊離残留塩素濃度とレジオネラ属菌検出状況

遊離残留塩素濃度	検体数	レジオネラ属菌陽性数 (%)
0.2mg/L 以上	193	36 (18.7)
0.2mg/L 未満	74	48 (64.9)

表4 入浴施設における配管洗浄状況とレジオネラ属菌検出状況

採水前1週間の配管洗浄	検体数	レジオネラ属菌陽性数 (%)
実施あり	141	33 (23.4)
実施なし	88	37 (42.0)

3) 浴槽水の pH 別検出状況

採水前1週間以内に配管洗浄を実施し遊離残留塩素濃度も0.2mg/L以上であった69施設における浴槽水 pH 別レジオネラ属菌検出状況を表5に示した。検出率は pH8.5 以上のアルカリ性泉が最も高く、弱アルカリ性泉と中性泉との間に大きな差は認められなかった。

表5 浴槽水の pH 別レジオネラ属菌検出状況

pH	検体数	レジオネラ属菌陽性数 (%)
中性泉(pH6.0~7.4)	16	2 (12.5)
弱アルカリ性泉(pH7.5~8.4)	23	3 (13.0)
アルカリ性泉(pH8.5~)	30	7 (23.3)
計	69	12 (17.4)

2 モノクロラミン消毒効果の検証結果

1) 循環ろ過式浴槽モデル

循環浴槽水におけるモノクロラミン濃度は、12日間延べ11名の入浴による有機物負荷にもかかわらず、ほぼ設定された濃度範囲内で制御できた。また、塩素濃度の低下は緩かで濃度の復帰は10分程度とすばやく行われていた。また、ジクロラミン、トリクロラミンは検出されなかった。その間の浴槽水とろ過器内水のレジオネラ属菌、従属栄養細菌及び自由生活性アメーバはいずれも検出されなかった。

2) 営業施設における循環浴槽 (表6)

① 微生物に対する消毒殺菌効果

レジオネラ属菌の培養では、対象の3施設すべてにおいて試験中レジオネラ属菌は検出されなかった。また、自由生活性アメーバは一切検出されず、従属栄養細菌数は試験期間を通して  $10^1 \sim 10^4$  CFU/mL オーダーの低値に推移した。

② モノクロラミン濃度の推移

モノクロラミン濃度を  $3 \pm 1$  mg/L に保持することを目標として自動制御装置を稼働させたところ、A 施設では目標範囲内を維持することができた。しかし、B 施設ではモノクロラミン濃度が目標範囲を逸脱した。C 施設では全塩素濃度測定器のセンサー調節を毎日実施したところ、試験期間中、目的としたモノクロラミン濃度は制御できた。

③ 消毒副生成物等

結合塩素の1種であるトリクロラミンは、試験期間中3施設全てで検出されなかった。ジクロラミンについては、モノクロラミン濃度が適正に保持されたAおよびC施設では各1回極微量が検出されたただけであったが、モノクロラミン濃度が5mg/Lを超えたB施設ではモノクロラミン濃度に応じてジクロラミンも検出された。

消毒副生成物であるトリハロメタン類4物質およびハロアセトニトリル類3物質の合計は、AおよびC施設では試験前  $22.16 \sim 194.56 \mu\text{g/L}$  に対し、期間中は  $0.19 \sim 3.08 \mu\text{g/L}$  と極めて低く安定していた。一方、モノクロ

ラミン濃度が第4週に最大28.0mg/L 検出されたB施設では、トリハロメタン類4物質およびハロアセトニトリル類3物質が比較的多く検出された。

### 3 掛け流し式入浴施設のモノクロラミン消毒効果の検証

モノクロラミン消毒前の源泉水からはレジオネラ属菌が検出されたが、モノクロラミン注入後の浴槽水からは

レジオネラ属菌は検出されなかった。

一方、レジオネラ属菌の遺伝子検査では、源泉水および浴槽水の両方から検出された(表7)。

表6 営業施設循環式浴槽における検証試験結果

		A 施設	B 施設	C 施設	
モノクロラミン管理	試験期間	6週間	6週間	6週間	
	モノクロラミン濃度保持	2.4~3.9mg/L	0.9~28.0mg/L	2.2~3.4mg/L	
	モノクロラミン自動制御	良好	不適	良好	
微生物検査	レジオネラ属菌	<10CFU/100mL	<10CFU/100mL	<10CFU/100mL	
	アメーバ	不検出	不検出	不検出	
	従属栄養細菌	10 <sup>3</sup> CFU/mL	3週目以降は10 <sup>2</sup> CFU/mL未満	10 <sup>3</sup> CFU/mL	
化学検査	ジクロラミン	0.2mg/L (1/6回検出)	0.2~1.1mg/L (4/6回検出)	0.1mg/L (1/4回検出)	
	トリクロラミン	検出なし	検出なし	検出なし	
	消毒副生成物の生成	試験前	22.16 μg/L	対象浴槽 22.16 μg/L	試験前 194.56 μg/L
		試験中	0.19~0.25 μg/L	試験中 0.59~13.0 μg/L	試験中 0.60~3.08 μg/L

表7 掛け流し式入浴施設における消毒効果の検証結果

検体名	レジオネラ属菌 検査項目	2012年				2013年					
		5月	8月	10月	12月	2月	4月	6月	8月	10月	12月
源泉	分離	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+
	遺伝子	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
浴槽水	分離	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	遺伝子	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-

### 考 察

レジオネラ属菌は環境中に広く存在するため浴槽への混入を防ぐことは極めて困難で、消毒方法を含めた有効な衛生管理を行うことが必須である<sup>3,4)</sup>。

入浴施設におけるレジオネラ属菌の汚染実態を調査したところ、その検出率は5年間にわたり30%前後で推移しており検出率が低下していない実態が明らかになった。また、検出された菌種は *L. pneumophila* をはじめ5菌種が検出され、浴槽水が様々なレジオネラ属菌に汚染されていることが確認された。

入浴施設においては、循環ろ過装置のろ材などがアメ

ーバなどの原生動物の繁殖の場となり、そこにレジオネラ属菌が入り込みアメーバ内で増殖して循環湯とともに浴槽内に侵入することが知られている<sup>3)</sup>。施設の管理状況とレジオネラ属菌検出状況との関連について解析したところ、0.2mg/L以上の遊離残留塩素濃度を保持している施設や採水前1週間以内に配管洗浄を実施している施設はレジオネラ属菌の検出率が低かったことから、配管等の清掃によるバイオフィルムの除去と消毒剤による殺菌の両方が適正管理上重要であることが確認された。

一方、配管洗浄および消毒ともに適正に実施されていたにもかかわらずレジオネラ属菌が検出された12施設

の浴槽水の pH を調査したところ、アルカリ性泉における検出率が高かった。加藤ら<sup>4)</sup>は、温泉水の pH がアルカリ性に傾くと次亜塩素酸系消毒剤の効果が著しく低下することを報告しており、今回の結果からも、アルカリ性泉での遊離塩素系薬剤による消毒が難しいことが示唆された。

これらの結果を踏まえ、本研究では結合型塩素であるモノクロラミンに注目し、その消毒効果について検証した。循環ろ過式浴槽モデルにおける検証では、モノクロラミンの濃度は有機物存在下でもほぼ設定濃度内での制御が可能で、塩素濃度の低下は緩やかであり濃度の復帰もすばやく行われていたことから、本剤は遊離塩素に比べ安定性に優れていると考えられた。また、塩素臭の原因となるジクロラミン、トリクロラミンは検出されず、レジオネラ属菌、従属栄養細菌、自由生活性アメーバはいずれも不検出であったことから、レジオネラ属菌等の制御が可能であることが示唆された。これらの結果から、循環ろ過式浴槽水のモノクロラミン消毒の自動化は、新たな消毒法として期待できるものと考えられる。

営業施設の循環式浴槽における検証では、試験を実施した3施設のいずれからもレジオネラ属菌は検出されず、浴槽水へのモノクロラミンの注入が本菌の殺菌に有効であることが示唆された。

一方、モノクロラミンの濃度管理に関しては、3施設中2施設では自動制御装置による管理が適切に行われたが、1施設では目標範囲を逸脱した。今回の逸脱の原因は、全塩素濃度測定器が計測した値と浴槽水のモノクロラミン濃度との間に誤差を生じたことにある。すなわち、硬度の高い泉質では、全塩素濃度測定器のセンサーにスケールが付着し、感度が低下したためと考えられた。これは、今後モノクロラミン消毒法導入にあたり解決すべき課題である。

また、カルキ臭の主要な原因物質である結合塩素の一種トリクロラミンはその生成を防ぐ必要があるが、モノクロラミン消毒の検証試験中、3施設では全て検出されなかった。同時に、生成させないことが望まれるジクロラミンについても、モノクロラミン濃度が適切に管理されていた施設での生成は極微量であったことから、本剤濃度を適正に保持することで、ジクロラミンの生成を抑えることが可能であることが示唆された。

浴槽水中のモノクロラミン濃度と消毒副生成物発生量との関係を解析したところ、濃度を適正に保持できた2施設では、トリハロメタン類4物質およびハロアセトニトリル3物質の合計が試験前 22.16~194.56  $\mu\text{g/L}$  に対し、試験中は 0.19~3.08  $\mu\text{g/L}$  と極めて低く安定しており、モノクロラミン消毒を適正に実施することにより、消毒

副生成物の生成を低減できるものと推察された。

静岡県公衆浴場施行条例では、汚染のリスクが少ないと考えられている掛け流し式浴槽については消毒方法について管理項目の基準が設けられていない。しかし、今回の汚染実態調査で 62.5%からレジオネラ属菌が検出され、掛け流し式浴槽においても循環式と同様のリスクがあることが示唆された。そこで、掛け流し式浴槽施設にモノクロラミン消毒を試験的に導入したところ、源泉で検出されたレジオネラ属菌が消毒後の浴槽水では不検出となりモノクロラミン消毒が細菌学的に良好な掛け流し式浴槽水の維持に有効であることが示唆された。

本県は多種多様な泉質の源泉を有しており、その泉質によっては、遊離塩素消毒が困難とされることがある。今回はアルカリ泉質について検証し、それらの泉質に対しては循環式および掛け流し式浴槽のいずれにおいてもモノクロラミン濃度を適正に保持することでレジオネラ属菌の消毒殺菌に有効であることが示唆された。今後、遊離塩素消毒が困難なその他の泉質についての消毒法についても検討し、有効な衛生管理方法を構築することが重要であると考えられる。

## 謝 辞

ジクロラミン、トリクロラミンおよび消毒副生成物の定量を実施していただいた国立保健医療科学院および明け流し式浴槽の検証実験にご協力いただいた JA 静岡厚生連リハビリテーション中伊豆温泉病院の関係各位に深く感謝申し上げます。

## 文 献

- 1) 岡田美香他：循環式入浴施設における本邦最大のレジオネラ症集団感染事例 I. 感染症誌, 79, 365-374 (2005)
- 2) 国立感染症研究所：感染症マニュアル レジオネラ症, 平成 23 年 10 月 7 日改訂
- 3) (財)ビル管理教育センター,厚生労働省生活衛生局企画課監修：レジオネラ症防止指針(第3版), 財団法人ビル管理教育センター, 東京都, (2009)
- 4) 加藤尚之他：温泉施設に分布する *Legionella pneumophila* の進入経路の解明に関する研究, 温泉科学, 60, 434-444, (2011)



# 静岡県における溶血性尿毒症症候群 (HUS) の原因菌の解析と 感染源となる食材調査

微生物部 細菌班 柴田真也, 長岡宏美, 川森文彦

Analysis of Pathogen Causing Hemolytic Uremic Syndrome, and  
Study on Foods of Infection Source in Shizuoka Prefecture

Shinya SHIBATA, Hiromi NAGAOKA and Fumihiko KAWAMORI

2004年から2013年に静岡県立こども病院に溶血性尿毒症症候群 (HUS) で入院した患者の保存血清15検体について, 抗大腸菌 LPS 抗体価測定を実施した. その中の一症例は入院時には原因菌の血清型別不明であったが, 今回の検査で O121 が原因菌であったことを確認した. また, 県内産食材を対象にベロ毒素 (VT) 遺伝子の検出をリアルタイム PCR 法で実施し, 97 検体中豚肉 3 検体, 牛肉 2 検体から VT 遺伝子が検出されたが, 腸管出血性大腸菌は分離できなかった.

Key words: 腸管出血性大腸菌, 溶血性尿毒症症候群, LPS 抗体, VT 遺伝子  
enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC), hemolytic uremic syndrome (HUS),  
lipopolysaccharide antibody, verotoxin gene

## はじめに

腸管出血性大腸菌 (以下 EHEC) 感染症は, 全国で毎年 4,000 人前後が感染し, そのうちの 6 割強が有症者となる. また重症化した場合, 溶血性尿毒症症候群 (以下 HUS) 等を発症し 2~5% は急性期に死亡する重要な疾患である. EHEC 感染症は本県でも毎年数十名が発症し, 数例で HUS の発症がみられる. HUS は, EHEC から産生されるベロ毒素 (以下 VT) により毛細血管が障害され, 腎不全から尿毒症を発症する疾患である. HUS は主に小児の EHEC 感染症に引き続き発症することが多いが, 中には原因菌の血清型が不明な症例が見受けられる. そこで, HUS 患者の原因菌解明を目的に, HUS 患者の血清について, 抗大腸菌 LPS 抗体の測定を行った.

さらに, 県内の EHEC 感染症の予防に役立てるため, 市

場に流通する県内産食肉と野菜について, EHEC 汚染状況を調査した.

## 材料および方法

### 1 検査材料

1) 抗大腸菌 LPS 抗体価測定用患者血清

静岡県立こども病院に 2004 年から 2013 年に HUS で入院した患者 15 名 (男 8 名, 女 7 名) の保存血清を供試した.

2) VT 遺伝子の検出用検体

2012 年 4 月から 2014 年 1 月の期間に, 県内産の食肉 50 検体および野菜 47 検体を供試した.

### 2 抗大腸菌 LPS 抗体価測定法

抗原液の調整と抗体価の測定は, 近藤ら<sup>1)</sup>の方法で実施した. なお抗原液は, 過去に静岡県内で患者から分離された EHEC 株 (O157, O26, O103, O111, O121, O145, O165) を, TSA 培地に塗抹して 37°C で 1 晩培養し, 菌懸濁液を加熱遠心処理したものを用いた (図 1).

患者血清はガラス試験管を用いて, 10 倍から 1,280 倍

まで希釈し、丸底(U底)96 穴マイクロプレートに抗原液 25 $\mu$ L と希釈血清 25 $\mu$ L を加え、プレートミキサーで十分に混合した。52 $^{\circ}$ Cで1時間静置後、室温で1晩静置して、凝集の有無を確認し、凝集が確認された最高希釈倍数を抗体価とした。抗体価が 160 倍以上を示した検体を陽性、40~80 倍を疑陽性、20 倍以下を陰性と判定した。

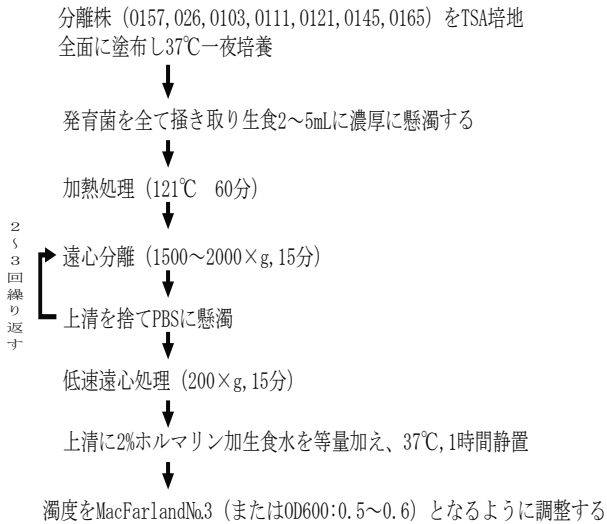


図 1 抗原液の調整

### 3 食材からの VT 遺伝子検出法

#### 1) リアルタイム PCR 法

食品 25g を mEC 培地 225mL で 42 $^{\circ}$ C 18~24 時間培養し、培養液 100 $\mu$ L をアルカリ熱抽出法で DNA 抽出し、抽出液 5 $\mu$ L を検体とした。VT 遺伝子検出には CycleavePCR<sup>®</sup>O157(VT gene) Screening Kit Ver.2.0 (タカラ・バイオ) を使用し、ThermalCycler Dice<sup>®</sup>Real Time System (タカラ・バイオ) でリアルタイム PCR を行った (図 2)。

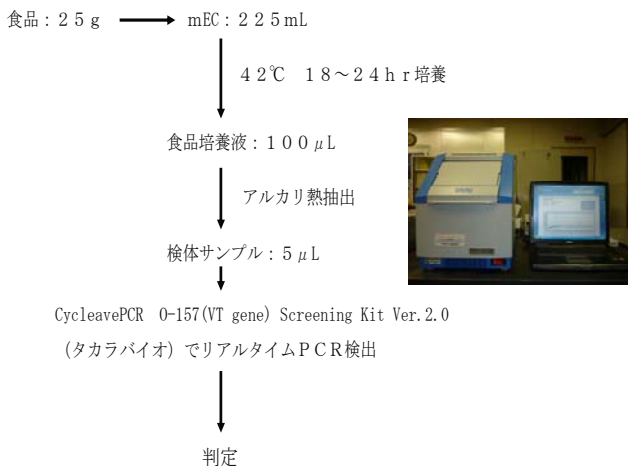


図 2 リアルタイム PCR 法のフローチャート

#### 2) EMA-PCR 法

リアルタイム PCR 法では死菌由来 DNA も検出するため、生菌由来 DNA を選択に検出する ethidium monoazide-PCR 法 (以下 EMA-PCR 法) を実施した。DNA 抽出の前に Viable Bacteria Selection Kit for PCR (タカラバイオ)<sup>2)</sup> を用い、EMA 処理と照射のステップを加え、リアルタイム PCR 法による VT 遺伝子の検出を行った (図 3)。

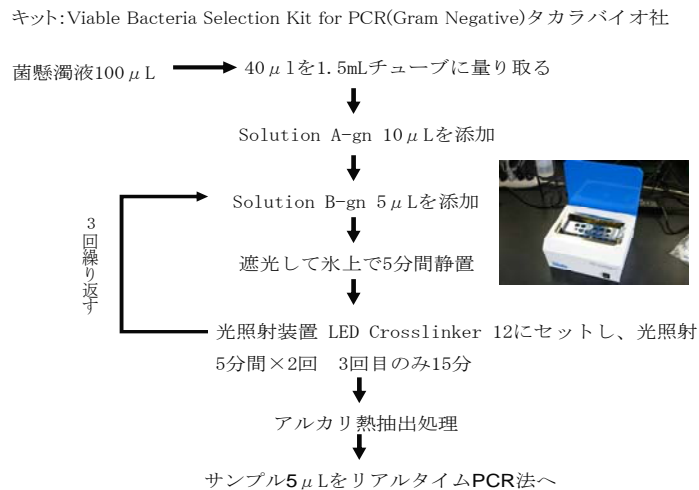


図 3 EMA 処理の手順

### 結果

#### 1 HUS 患者の抗大腸菌 LPS 抗体価

県立こども病院・腎臓内科に 2004 年から 2013 年の 10 年間に HUS で入院した患者 15 名について抗大腸菌 LPS 抗体価の測定を行った。その結果、O157 感染患者では、陽性 4 検体、擬陽性 7 検体、陰性 1 検体であり、O111 感染患者 1 名は擬陽性、O165 感染患者は陰性であった (表 1)。また、1 事例 (患者 F) については原因菌が分離されず血清抗体価も未検査のため、入院時は「病原性大腸菌 (-)」で処理されていたが、O121 に対して 640 倍と高い抗体価を示した (図 4)。

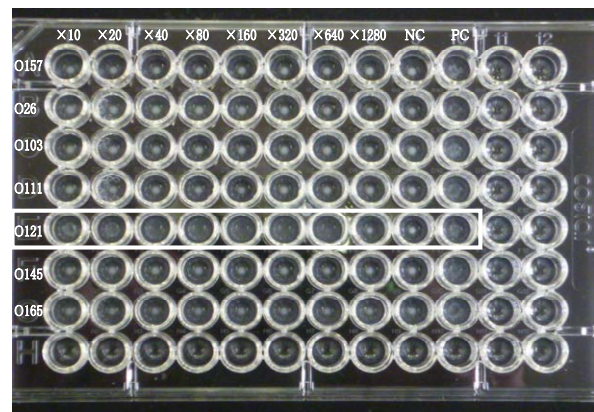


図 4 患者 F の抗大腸菌 LPS 抗体測定マイクロプレート

表1 HUS患者血清における抗大腸菌LPS抗体価測定結果

患者	抗体価							こども病院で確定された原因菌
	O157	O26	O103	O111	O121	O145	O165	
A	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	O165
B	×80	N.T*	N.T	N.T	N.T	N.T	N.T	O157
C	×40	N.T	N.T	N.T	N.T	N.T	N.T	O157
D	<10	<10	<10	×40	<10	<10	<10	O111
E	×40	N.T	N.T	N.T	N.T	N.T	N.T	O157
F	<10	<10	<10	<10	×640	<10	<10	-
G	×320	N.T	N.T	N.T	N.T	N.T	N.T	O157
H	×160	N.T	N.T	N.T	N.T	N.T	N.T	O157
I	×40	N.T	N.T	N.T	N.T	N.T	N.T	O157
J	×160	N.T	N.T	N.T	N.T	N.T	N.T	O157
K	×80	N.T	N.T	N.T	N.T	N.T	N.T	O157
L	×80	N.T	N.T	N.T	N.T	N.T	N.T	O157
M	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	O157
N	×80	N.T	N.T	N.T	N.T	N.T	N.T	O157
O	×320	N.T	N.T	N.T	N.T	N.T	N.T	O157

\*N.T:検査せず

## 2 県内産食材からのVT遺伝子検出状況

県内産食材 97 検体中豚肉 3 検体, 牛肉 2 検体から VT 遺伝子が検出された (表 2). VT 遺伝子陽性の検体については菌の分離を試みたが, いずれの検体からも VT 遺伝子陽性菌は分離されなかった. 陽性となった検体のうち 4 検体についてリアルタイム PCR 法と EMA-PCR 法を行ったところ, 2 検体は EMA 処理により陰性となった.

## 考 察

今回, 研究対象とした医療機関の HUS 患者は他院からの転院が大半であり, 入院時にはすでに抗生剤が投与されていることが多いため, 実際に患者から EHEC が分離されるケースは稀である. したがって, 抗大腸菌 LPS 抗体価の測定により診断される症例が大半を占める<sup>3)</sup>. O157 の抗体価の測定については検出キットがあるが, その他の血清型については抗原液を自家調整する必要があるため, 臨床の現場では O157 以外の血清型の抗体価測定は実施されていないのが現状である. 今回, 保存血清で O121 の抗体価上昇を確認し, 原因菌の特定に至ったことから, 血清中抗大腸菌 LPS 抗体価の測定は原因菌の特定に有用であることが示唆された. 今後は当所から O157 以外の血清型の抗体価の測定について, 臨床の現場での活用を提案していきたい.

県内産食材の EHEC の汚染状況調査では, 野菜類については安全性が確認されたが, 食肉については 50 検体中 5 検体から VT 遺伝子が検出された. VT 遺伝子陽性となった検体のうち, 豚肉 3 検体は同じ店舗で販売されていたことから, 汚染源が同一である可能性が示唆された. また, 今回は VT 遺伝子陽性検体について EMR-PCR

表2 県内産食材からのVT遺伝子検出状況

食材	検体数	VT遺伝子陽性数
肉類		
豚	30	2
牛豚合挽き	1	0
牛	16	1
鶏	3	0
野菜		
キャベツ	4	0
レタス	4	0
ハウレンソウ	4	0
白菜	6	0
小松菜	3	0
水菜	2	0
葉ダイコン	1	0
キュウリ	2	0
葉ネギ	1	0
白ネギ	2	0
長ネギ	1	0
根深ネギ	2	0
ジャガイモ	2	0
サツマイモ	1	0
サトイモ	1	0
エビイモ	1	0
ごぼう	1	0
かいわれ	2	0
スプラウト系	3	0
もやし	3	0
豆苗	1	0
計	97	3

法を行ったところ一部の検体は陰性となったが, これらの検体については死菌由来の DNA を検出したものであると考えられる.

EHEC 感染症患者は, 生食用食肉の規格基準の設定や牛の肝臓を生食用として販売・提供が禁止されたことなどが功を奏し 2012 年は減少したが, 2013 年は一転感染者数が増加した. 本研究においても豚肉から VT 遺伝子が検出されたことから, 今後も EHEC 感染症の発生状況を注意深く見守る必要があると思われる.

## 謝 辞

患者血清の検査にあたり, 検体の御提供をいただいた県立こども病院腎臓内科, 同診療支援部臨床検査室の皆様には深く感謝いたします.

## 文 献

- 1) 近藤文雄他: 腸管出血性大腸菌が産生するベロ毒素の検査法, 日本質量分析学会誌, 51,114-118(2003)
- 2) タカラバイオ株式会社: PCR/qPCR による生菌由来 DNA の選択的検出, TaKaRa, 東京, 14-22(2013)
- 3) 五十嵐隆他: 溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドライン, 溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドライン作製班改訂, 東京, 7-9(2013)





## 食中毒起因菌迅速検査法の導入に関する研究

微生物部 細菌班 高井健太, 飯田奈都子, 八木美弥\*,  
長岡宏美, 川森文彦

Study on Introduction to Rapid Diagnostic Method  
of Foodborne Pathogenic Bacteria

Kenta TAKAI, Natsuko IIDA, Miya YAGI,  
Hiromi NAGAOKA and Fumihiko KAWAMORI

リアルタイム PCR 法を用いた一斉迅速検査法の食中毒疑い事例への導入を試みたところ, 食中毒起因菌が分離された 8 事例中 5 事例では, 分離された菌種と同種の病原体遺伝子が検出され, 行政判断を迅速に行うための一助となった。また, 本法を食品検体へ応用するための食品の前処理方法として, 腸管出血性大腸菌, 黄色ブドウ球菌, サルモネラ属菌, カンピロバクターおよび腸炎ビブリオの 5 菌種について, Percoll による密度勾配遠心分離法を検討したところ, 食材よりも Percoll の密度が高い液層でこれらの細菌が効率良く回収できることが解明された。

Key words: 食中毒起因菌, リアルタイム PCR 法, 密度勾配遠心分離法  
foodborne pathogenic bacteria, real-time PCR analysis, density gradient centrifugation

### はじめに

食中毒を疑う事例が起きた場合, その拡大・再発防止には迅速な原因究明が求められる。細菌性食中毒の検査には培養法が公定法として存在するが, 培養法は結果が得られるまでに 3~6 日の期間を必要とし, さらに, 菌種ごとに検査法が異なるために煩雑な作業を要し, 培地や試薬に多くの費用がかかる。そこで, 検査の迅速化・省力化を図るために, 我々は, リアルタイム PCR 法を用いた一斉迅速スクリーニング検査法 (以下リアルタイム PCR 法) を確立した<sup>1)</sup>。本研究では, 本法を実際の食中毒疑い事例に導入し, その有用性を検討した。

食中毒と判断する根拠として, 原因と思われる食品からの食中毒起因菌検出も重要である。食品検体から病原細菌の DNA を抽出する場合, 食品成分の影響を考慮する必要がある。そのため, 前処理段階で食品検体中の夾雑物を除去し, 効率良く目的の病原細菌を回収することが望まれる。試料中の細胞やオルガネラ等の分離法の一つとして, Percoll を用いた密度勾配遠心分離法 (Density

Gradient Centrifugation; DGC) がある。Percoll は, 低粘度, 無毒, 生体膜に浸透しないコロイド状媒体であり, 遠心操作中に自己勾配を形成する性質を持っているため, 生物的活性を保持する細胞を単離することが可能な媒体として多くの実験で使用されている。さらに Araki ら<sup>2)</sup>は, マイクロピペットを用いた Percoll DGC について検討し, 操作性や回収率について良好な結果を報告している。

そこで, 迅速検査法を食品検体に応用するために, Percoll DGC を用いた前処理法による食中毒起因菌の添加回収試験を行い, 操作性, 生菌回収率, 各密度層への分布パターンについて調べた。さらに, 食中毒起因菌を添加した模擬検体についても添加回収試験を行い, 実用性を検討した。

### 材料および方法

#### 1 食中毒疑い事例への導入

##### 1) 供試材料

2012 年 7 月~10 月および 2013 年 4 月~12 月に静岡県内で発生した食中毒疑い事例 12 事例の患者便 61 検体を供試した。

##### 2) リアルタイム PCR 法

QIAamp DNA Stool Mini Kit (QIAGEN) を用いて糞便から抽出した DNA について, 表 1 に示す遺伝子を標的としたリアルタイム PCR 法を行った。反応液組成は, A~

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)  
\*: 静岡県中部健康福祉センター

H の反応系についてそれぞれ、×2 SYBR Premix DimerEraser (TaKaRa) 10 μL, 2 種類のプライマー (10 μM) forward および reverse を各 0.8 μL, ROX Reference Dye II 0.4 μL, 滅菌蒸留水 4.4 μL および DNA 抽出液 2 μL に調製し, PCR 反応液 20 μL を作製した. 装置は 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems) を使用し, 反応条件は, 95°C 30 秒加熱後, 95°C 5 秒, 60°C 34 秒を 30 サイクルで行い, 融解曲線分析で Tm 値を求めた. 得られた結果について, 培養法 (保健所 細菌検査課で実施) と比較し, その有用性を検討した.

## 2 食品の前処理方法の検討

### 1) 食中毒起因菌の Percoll DGC

#### ① 試験菌液の調整

試験菌は, 主要食中毒起因菌である腸管出血性大腸菌 (*Escherichia coli* O157:H7), 黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*), サルモネラ属菌 (*Salmonella* Typhimurium), カンピロバクター (*Campylobacter jejuni*), 腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus*) を使用した. 各試験菌液の調製は, 0.1% Tween80 加増菌培養液 (カンピロバクターはプレストン培地, 腸炎ビブリオは 2% NaCl 加アルカリペプトン水, その他は TSB 培地) で増菌培養後, 滅菌した 0.1% Tween80 加 0.15M NaCl 溶液を用いて段階希釈し, 各菌が 10<sup>2</sup> CFU/200 μL となるように調製した.

#### ② 密度勾配遠心分離管の作製

Percoll PLUS (1.130±0.005g/mL) (GE Healthcare) と滅菌した 1.0% Tween80 加 1.5M NaCl 溶液を 9:1 の割合で混合し, 100v/v% 原液とした. 次に, この 100v/v% 原液を 0.1% Tween80 加 0.15M NaCl 溶液を用いて, 75, 50 および 25v/v% になるように希釈した. DGC の密度勾配は, 最初に 100v/v% 原液をマイクロピペットで 200 μL 採取し, 2.0mL マイクロチューブの底部に注入し, 続いて各密度の溶液を 200 μL ずつ密度の高い順に, 境界面を乱さないようにマイクロチューブの内壁に沿って積層した.

#### ③ DGC の実施

試験菌液 200 μL をあらかじめ調製した密度勾配の最上層に, 密度勾配の液面が乱れないようマイクロピペットの先端をマイクロチューブ内壁に付けて積層した. 遠心分離 (4°C, 2,300×g, 30 分間) 後, 最上層から 200 μL ずつマイクロピペットでゆっくり吸引し, 各分画を 2 枚の非選択性の平板培地 (カンピロバクターは血液寒天培地, 腸炎ビブリオは 2% NaCl 加標準寒天培地, それ以外は標準寒天培地) に 100 μL ずつ塗抹し, 37°C で 20±2 時間 (カンピロバクターは 48 時間) 培養し, コロニー数を測定した. 以上の試験を, 各食中毒起因菌につき 3 回行った.

#### 2) 模擬検体の Percoll DGC

食品は, 豚の生レバーを用いた. レバー 25g を採取し, フィルタ付ストマッカー用袋に入れ, 0.1% Tween80 加 0.15M NaCl 溶液 225mL を加えて, 60 秒間ストマッキン

表 1 培養法と Duplex SYBR Green リアルタイム PCR 法の標的病因物質

反応系		対象微生物	標的遺伝子	培養法対象菌種*
A	1	ウェルシュ菌	<i>cpe</i>	○
	2	リステリア菌	<i>hly</i>	
B	3	カンピロバクター・ジェジュニ	specific DNA	○
	4	腸管出血性大腸菌 (Stx2)	<i>stx2</i>	○
C	5	腸管出血性大腸菌、病原性大腸菌	<i>eaeA</i>	○
	6	赤痢菌、細胞侵入性大腸菌	<i>virA</i>	○
D	7	嘔吐毒産生セレウス菌	<i>ces</i>	○
	8	毒素産生大腸菌 (易熱性)	<i>lt</i>	
E	9	耐熱性溶血毒産生腸炎ビブリオ	<i>tdh</i>	○
	10	毒素産生大腸菌 (耐熱性)	<i>st</i>	
F	11	黄色ブドウ球菌	<i>femB</i>	○
	12	エルシニア菌	<i>yadA</i>	○
G	13	腸管凝集接着性大腸菌	<i>astA</i>	
	14	腸管出血性大腸菌 (Stx1)	<i>stx1</i>	○
H	15	サルモネラ菌	<i>invA</i>	○
	16	下痢毒産生セレウス菌	<i>nheB</i>	○

\*保健所細菌検査課で通常行う培養法の対象となる項目

表 2 食中毒疑い事例における検査法別の食中毒起因菌検出状況

事例	検体数	リアルタイム PCR 法		培養法	
		結果	陽性数	結果	陽性数
A	5	サルモネラ属菌	3	サルモネラ属菌	5
		腸管凝集接着性大腸菌	2	黄色ブドウ球菌	1
B	8	黄色ブドウ球菌	4	黄色ブドウ球菌	8
		病原性大腸菌	2	セレウス菌	1
C	2	陰 性		病原性大腸菌 O6	1
D	5	腸管凝集接着性大腸菌	1	病原性大腸菌 O55	1
		カンピロバクター・ジエジエ	1	カンピロバクター・ジエジエ	1
E	5	腸管凝集接着性大腸菌	1	病原性大腸菌 O1	1
				黄色ブドウ球菌	2
F	5	黄色ブドウ球菌	1	黄色ブドウ球菌	1
		腸管凝集接着性大腸菌	1		
G	7	陰 性		黄色ブドウ球菌	1
H~K	19	陰 性		陰 性	
L	5	エルシニア菌	1	黄色ブドウ球菌	1
		カンピロバクター・ジエジエ	1	カンピロバクター・ジエジエ	1
		腸管凝集接着性大腸菌	1		

グし、食品試料液とした。試験菌としてサルモネラ属菌を用い、食品試料液中に  $10^2 \sim 10^3$  CFU/mL となるように添加し、模擬検体とした。この検体 200  $\mu$ L を用いて、前述の菌液と同様の方法で Percoll DGC を行い、各分画の菌数を測定した。なお、使用した豚の生レバーは、あらかじめサルモネラ属菌が検出されないことを確認した（一般生菌数は  $1.3 \times 10^5$  CFU/g）。

## 結 果

### 1 食中毒疑い事例における培養法とリアルタイム PCR 法による食中毒起因菌検出結果

患者便 61 検体について、リアルタイム PCR 法を行い、培養法の検出結果を比較した（表 2）。12 事例中 5 事例（事例 A, B, D, F, L）では、リアルタイム PCR 法で検出された標的遺伝子と同一の菌種が培養法でも検出された。これらの事例では、検出された食中毒起因菌遺伝子の情報を還元することにより、培養法でのターゲットを絞ることができたため、通常より 1~3 日早く原因菌を分離・同定することができた。また、4 事例（事例 H, I, J, K）は、リアルタイム PCR 法、培養法ともに病因菌は検出されず、両検査法の検出結果は一致したが、3 事例（事例 C, E, G）の検出結果は一致しなかった。

### 2 食品の前処理方法の検討結果

#### 1) 食中毒起因菌の Percoll DGC

各食中毒起因菌について、Percoll DGC 後の各密度層の

生菌数を測定した（表 3）。全生菌回収率は、サルモネラ属菌 91.4%、腸管出血性大腸菌 102.6%、黄色ブドウ球菌 95.9%、カンピロバクター 74.8% および腸炎ビブリオ 97% であった。各密度層の分布パターンとしては、サルモネラ属菌、腸管出血性大腸菌および腸炎ビブリオは 50v/v% 層において最大数（63, 54.3, 66.5%）が回収され、次に生菌回収率の高かった 75v/v% 層と合わせると、この 2 分画の回収率は全回収率の 80% 以上に達した。カンピロバクターは 75v/v% 層で最大数（58%）が得られ、次に生菌回収率の高かった 50v/v% 層と合わせると 85.4% であった。黄色ブドウ球菌の分布パターンは、100v/v% 層で最大数の生菌を回収し（52.7%）、次に生菌回収率の高かった 75v/v% 層と合わせると 80.5% であった。

#### 2) 模擬検体の Percoll DGC

豚生レバーとサルモネラ属菌を用いた Percoll DGC による添加回収試験では、全体の生菌回収率は平均 85.8% であった（表 4）。分布パターンは、50v/v% 層、75v/v% 層の順で高い回収率を示し、この両分画の全生菌回収率は 79.7% であった（図 1）。DGC 後のマイクロチューブの観察では、最上層から 25v/v% 層までは食品成分が混在していたが、50~100v/v% 層には食品成分は含まれず、無色透明であった。

## 考 察

食中毒が発生した場合、速やかな行政判断が重要であ

表3 Percoll DGCによる食中毒起因菌の添加回収実験結果

食中毒起因菌	添加菌数 (CFU)	試行	各 Percoll 密度 (v/v%) の検出菌数 (CFU)					総菌数	回収率 (%)
			0	25	50	75	100		
サルモネラ属菌	671	1	0	59	377	137	37	610	90.9
		2	4	54	366	145	42	611	91.1
		3	0	39	418	139	33	619	92.3
平均菌数 (CFU)			1.3	50.6	387.0	140.3	37.3	613.3	
各密度の菌数/総菌数			0.002	0.083	0.631	0.229	0.061		
腸管出血性大腸菌	240	1	0	12	93	64	30	199	82.9
		2	0	9	164	79	30	282	117.5
		3	0	22	144	70	22	258	107.5
平均菌数 (CFU)			0	14.3	133.7	71.0	27.3	246.3	
各密度の菌数/総菌数			0	0.058	0.543	0.288	0.111		
黄色ブドウ球菌	292	1	2	9	15	67	148	241	82.5
		2	12	5	88	82	175	362	124.0
		3	10	7	15	85	120	237	81.2
平均菌数 (CFU)			8.0	7.0	39.3	78.0	147.7	280.0	
各密度の菌数/総菌数			0.026	0.025	0.140	0.279	0.528		
カンピロバクター	172	1	2	10	26	80	14	132	76.7
		2	2	8	42	62	8	122	70.9
		3	0	0	38	82	12	132	76.7
平均菌数 (CFU)			1.3	6.0	35.3	74.7	11.3	128.7	
各密度の菌数/総菌数			0.010	0.047	0.274	0.580	0.088		
腸炎ビブリオ	188	1	0	3	128	33	18	182	96.8
		2	0	1	130	53	13	197	104.8
		3	0	4	106	45	13	168	89.4
平均菌数 (CFU)			0	2.7	121.3	43.7	14.7	182.3	
各密度の菌数/総菌数			0	0.015	0.665	0.240	0.081		

表4 Percoll DGCによる模擬検体中のサルモネラ属菌の添加回収実験結果

模擬検体	添加菌 (CFU)	試行	各 Percoll 密度 (v/v%) の検出菌数 (CFU)					総数	回収率 (%)
			0	25	50	75	100		
豚生レバー	188	1	3	8	82	48	12	153	81.4
		2	11	9	93	32	11	156	83.0
+サルモネラ属菌	113	3	6	17	43	17	9	92	81.4
		4	1	13	64	28	4	110	97.3

り、そのためには迅速な検査が求められる。細菌性食中毒検査における培養法は、生菌を検出をするという点で最も信頼が置かれている。しかし迅速性には欠けており、菌種ごとに異なる培地や試薬に多くの費用がかかり、操作も煩雑である。そこで、本研究では、リアルタイムPCR法を用いた食中毒起因菌の迅速検査法を導入し、その結果を還元することにより、培養法の迅速化に反映させる

ことを目指した。

今回対象とした12事例中5事例で、原因と思われる食中毒起因菌の遺伝子を検出し、その結果を還元することで培養法の迅速化を図ることができた。このことから、リアルタイムPCR法を食中毒事例に導入することは有用であると考えられる。

一方、3事例においては、培養法とリアルタイムPCR

法の検出結果が異なっていた。そのうち1事例は、培養法では黄色ブドウ球菌が検出され、リアルタイムPCR法では検出されなかった事例であるが、細胞壁の構造上グラム陽性菌のDNAがグラム陰性菌に比して抽出されづらいことが両検査法の検出結果が相異した原因であると思われる。また、2事例は、培養法では病原性大腸菌が検出され、リアルタイムPCR法では検出されなかった事例であるが、培養法では、病原大腸菌免疫血清「生研」（デンカ生研）のいずれかの血清型に凝集のあった菌を一律「病原性大腸菌」として判断するため、その中には病原性遺伝子を持たない菌も含まれ、それらの菌はリアルタイムPCR法では陰性を示したことが推察される。

食品検体の前処理方法については、Percoll DGCの有用性について検討を行ったが、マイクロピペットを用いた密度勾配の各層の調整は、操作が簡便で、遠心分離も低速で済むことから、日常的な検査に適していると考えられる。今回実施した菌数範囲（ $10^2$ CFU/200 $\mu$ L）では、サルモネラ属菌、腸管出血性大腸菌、黄色ブドウ球菌および腸炎ビブリオで90%以上の回収率を示し、模擬検体に適用した場合も85.8%と高率に回収された。このことから、Percoll DGCの操作によって、生菌の増殖機能をはじめ生物的活性が損なわれる可能性が低いことが示唆された。カンピロバクターの生菌全回収率が、他の4菌種よりも若干低値だった理由としては、カンピロバクターが好気性細菌で環境適応域がせまいため、一連の操作中に、一部の菌が死滅あるいは培養不能な状態となった可能性が考えられる。各密度層への生菌の分布パターンからは、菌種によって細菌の回収に適した密度層が異なることが分かり、高い分布率を示した2分画を採取することにより、全生菌の80%以上を回収することが可能であった。そのため、様々な食中毒起因菌について、あらかじめ分布パターンを把握しておくことが重要であり、それに従って回収することによって、効率的な回収が可能となることが示唆された。Fukushimaら<sup>3)</sup>は、様々な食品検体の浮遊密度を測定し、多くが1.025g/mL以下と、細菌の浮遊密度より低値であったことを報告しているが、今回の模擬検体を用いた実験でも、Percoll DGC後、食品成分は最上層から25v/v%層（約1.025g/mL）に分布し、細菌が多く分布する密度層とは重複していなかった。このことから、本研究で実施したPercoll DGCは、食品検体中の夾雑物を簡便に除去し、目的の細菌を効率よく回収するために、有用な方法である可能性が示唆された。しかし、市場には様々な食品が流通しているため、今後、実際の検査でPercoll DGCを適用するためには、多種多様な食品で対応の可否を検討し、さらにデータを集積する必要があると思われる。

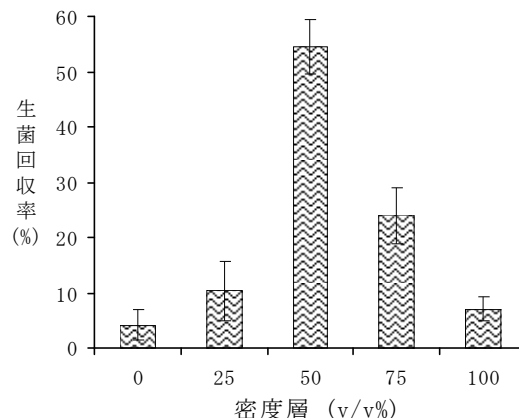


図1 模擬検体のPercoll DGC後の分画別サルモネラ属菌回収率

### 文献

- 1) 飯田奈都子他: リアルタイムPCR法による食中毒起因菌の一斉迅速スクリーニング法の検討, 静岡県環境衛生科学研究所報告, **53**, 19-24 (2010)
- 2) Araki, E. et al.: Quantitative separation of viable microbial cells from non-filterable food by Percoll gradient centrifugation, *Bokin Bobai*, **38**, 21-27 (2010)
- 3) Fukushima, H. et al.: Rapid separation and concentration of food-borne pathogens in food samples prior to quantification by viable-cell counting and real-time PCR, *Appl. Environ. Microbiol.*, **73**, 92-100 (2007)



## GC/MS による指定薬物及び医薬品成分等の スクリーニング分析

医薬食品部 医薬班 菅野尚子, 上村慎子\*, 隅 春菜,  
岩切靖卓, 渡辺陽子, 今津佳子,  
小和田和宏

Screening Analysis on Designated Substances  
and Pharmaceutical Adulterants by GC/MS

Naoko KANNO, Mitsuko KAMIMURA, Haruna SUMI,  
Yasutaka IWAKIRI, Yoko WATANABE, Yoshiko IMAZU  
and Kazuhiro OWADA

GC/MS を用いた医薬品成分等のスクリーニング分析法の検討を行い、調査した医薬品成分の大部分において良好な添加回収率が得られた。本分析法は、特に痩身用健康食品から検出されることの多い、比較的低沸点の医薬品成分の分析には、精度が高いスクリーニング試験として十分に機能しうるものと考えられた。また、本法の試料溶液は、当研究所の LC/MS を用いたスクリーニング分析法で調製する試料溶液を 10 倍程度希釈すればよいため、試買検査で必須の LC/MS 法と同時並行で本法の検査を実施することが可能であり、医薬品成分の迅速で正確な特定につながることを期待された。

Key words: 指定薬物, 医薬品成分, GC/MS, スクリーニング分析  
designated substance, pharmaceutical adulterant, gas chromatograph mass spectrometry,  
screening analysis

### はじめに

近年、幻覚や興奮作用を起こす違法ドラッグによる健康被害や車の暴走事件等が急増し、薬物の乱用が社会問題化している<sup>1)</sup>。厚生労働省では、平成 19 年度に「指定薬物」制度を施行し<sup>2)</sup>、また平成 25 年 3 月及び平成 26 年 1 月には、包括指定によって広範囲の化合物を規制する<sup>3,4)</sup>など、取締りの強化を図っている。当研究所には、地方衛生研究所としてこれら指定薬物に加え、医薬品成分を含有する、いわゆる健康食品による健康被害が発生した場合にも、迅速に原因物質を特定する対応が求められている。

当研究所はこれまで、LC/MS による指定薬物及び医薬品成分等のスクリーニング分析法<sup>5)</sup>の標準作業書を整備し、試買検査等において活用してきた。また、指定薬物の検査ではこの LC/MS によるスクリーニング法と GC/MS を用い

た通知法<sup>6)</sup>との併用でより高精度な分析を実施している。したがって、医薬品成分等の混入が疑われる危機管理事案への対応においても、LC/MS と GC/MS の併用により迅速で精度の高いスクリーニング試験を総合的に行うことが可能となると考え、GC/MS を用いた医薬品成分等のスクリーニング分析法を検討し、試買検査への適用を試みたので報告する。

### 方法

#### 1 標準物質および試薬

医薬品成分 (36 成分, 表 1) は試薬特級を標準物質として用いたほか、メタノールは LC/MS 用を使用した。その他の試薬は特級またはそれ以上のものを使用した。

#### 2 医薬品成分の添加回収試験

指定薬物の分析法<sup>6)</sup>を参考に、下記に示す方法で試験を行った。試験は 3 回繰り返し行い、平均添加回収率 (%)

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)

\*: 静岡県工業技術研究所

表1 調査した医薬品成分

1	p-アセトフェネチン (フェナセチン)	19	トリミプラミンマレイン酸塩
2	アマンタジン塩酸塩	20	N-ニトロソフェンフルラミン
3	アミピリン (ジエチルアミンピリン)	21	ニフェジピン
4	イソクスブリン塩酸塩	22	パパベリン塩酸塩
5	イミプラミン塩酸塩	23	ヒドロキシジニ塩酸塩
6	エテンザミド	24	ビペリデン塩酸塩
7	カルバマゼピン	25	フェンフルラミン
8	グアイフェネシン	26	フルオキセチン塩酸塩
9	クレマスチンフマル酸塩	27	プロカイン塩酸塩
10	クロルフェニラミンマレイン酸塩	28	プロゲステロン
11	ケトチフェンフマル酸塩	29	(±)-プロプラノロール塩酸塩
12	ジフェンヒドラミン塩酸塩	30	ブロムヘキシソリン塩酸塩
13	シブトラミン塩酸塩	31	ペントキシフィリン
14	シンナリジン	32	マジンドール
15	スルフィンピラゾン	33	ミノキシジル
16	チクロピジン塩酸塩	34	メキシレチン塩酸塩
17	テトラカイン塩酸塩	35	メラトニン
18	トリヘキシフェニル塩酸塩	36	ヨヒンビン塩酸塩

表2 添加回収試験用試料

名称	形状	原材料
A 混合茶	植物 乾燥体	杜仲茶, ギネマシルベスタ, 烏龍茶, オオバコ種皮, どくだみ, ハスの葉, カンゾウ, ハトムギ, 高麗人参葉, ハブ茶
B コラーゲン 加工食品	粉末	コラーゲンペプチド, 粉糖, レモン果汁, デキストリン, でん粉, イヌリン, ミカンの皮, 酸味料, ヒアルロン酸, 香料, 酵素処理ヘスペリジン, N-アセチルグルコサミン, 増粘剤

および相対標準偏差 (%) を算出した。なお、カフェインを保持時間基準成分として用いた。

1) 標準溶液の調製

医薬品標準物質(36成分, 表1)およびカフェインは, メタノールに溶解し 2mg/mL の溶液を調製し, さらにメタノールで希釈して 20 μg/mL の標準溶液とした。

2) 添加回収試験用試料溶液の調製

上記各標準溶液を 11~13成分の3つのグループに分け, グループごとに各標準溶液 1mL およびカフェイン 1mL を量り, 減圧乾固し, 試料(表2) 100mg を加えた。これにメタノール 1mL を加え, 超音波で 5 分間処理し, 抽出液を 0.45 μm のメンブランフィルターでろ過した。さらにメタノールで 10 倍に希釈し, 試料溶液とした。

3) GC/MS 測定条件

装置: VARIAN 450-GC および 240-MS  
 カラム: DB-1MS (30m×0.25mm.i.d., 膜厚 0.25 μm)  
 キャリアガス: ヘリウム, 0.7mL/min  
 注入口温度: 200°C, スプリットレス  
 イオン化法: EI 法  
 カラム温度: 80°C(1min)-5°C/min-190°C(15min)-  
 10°C/min-310°C(10min)

3 平成 25 年度医薬品類似食品等試買検査への適用

静岡県内で購入したハーブ製品 15 品目および痩身用健康食品 28 品目(表3)について, 厚生労働省通知<sup>6)</sup>に基づき次のとおり試料溶液を調製した。

植物乾燥体(茶葉)についてはフィンガーマッシャーで

表3 試買検査の品目

	形状	品目数
ハーブ製品	植物乾燥体	15
痩身用健康食品 (28 品目)	植物乾燥体	4
	錠剤	16
	ハードカプセル	4
	液剤	2
	粉末	2

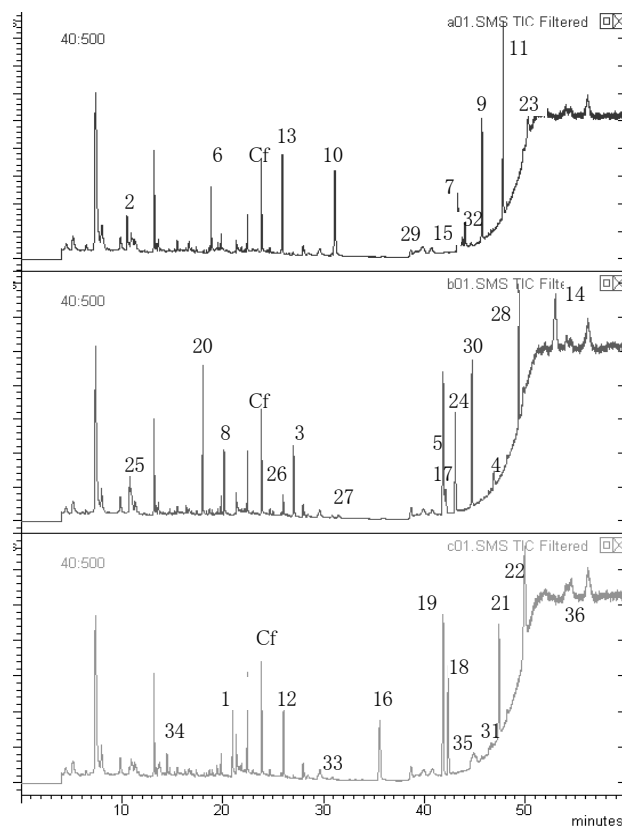


図1 添加回収試料の GC/MS クロマトグラム (TIC)  
(試料 B, Cf: カフェイン)



粉碎し、錠剤についてはそのものを、ハードカプセルについては内容物を乳鉢で粉碎した。また、液剤は乾固し、粉末はそのまま用いた。これら試料200mgにメタノール2mLを加え5分間超音波抽出し、0.45 $\mu$ mメンブランフィルターでろ過した後、メタノールで10倍程度に希釈し試料溶液とした。

これら試料溶液について、上記2-3)GC/MS測定条件と同一条件で測定を行った。なお、保持時間の基準成分として、ハーブ製品の測定には5-MeO-DMTを、痩身用健康食品にはカフェインを用いた。

### 結果および考察

#### 1 医薬品成分の添加回収試験

添加回収試験の代表的クロマトグラムを図1に示した。ピーク番号は、表1に示した医薬品成分の番号に対応し、

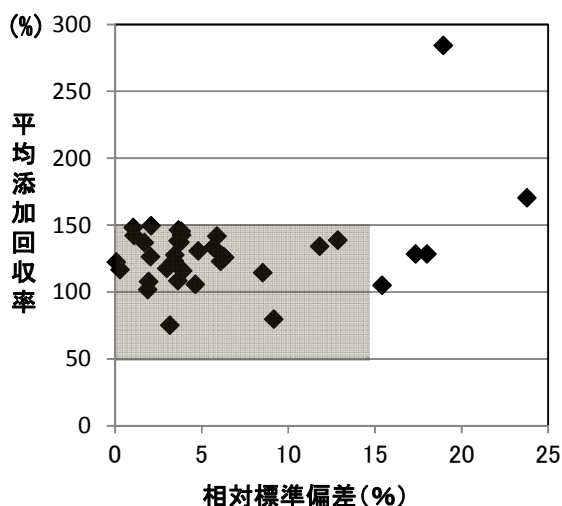


図2 試料Aの添加回収試験結果 (n=3)

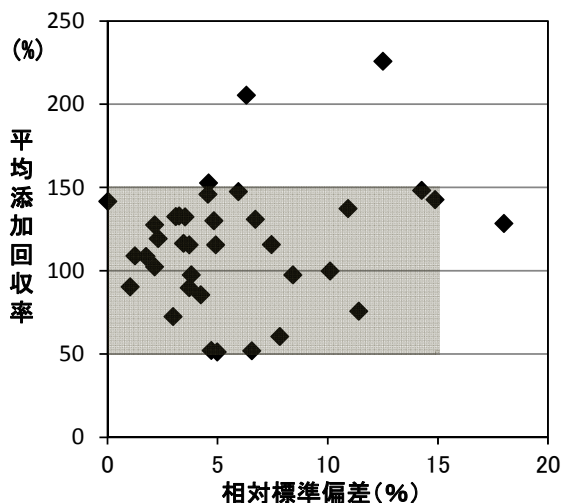


図3 試料Bの添加回収試験結果 (n=3)

医薬品成分の濃度は試料1g当たり200 $\mu$ gである。この量は、カプセル1錠が約500mg、茶葉の1回の使用量が約5gと考えると、健康食品1試料に医薬品成分が0.1~1mg程度含まれていることになり、スクリーニング法としては適切な濃度であると考えられた。

試料Aおよび試料Bを用いた添加回収試験の結果を図2および図3に示した。平均添加回収率が50~150%でかつ相対標準偏差が15%以内を妥当性評価の目安とすると、試料Aは36成分中31成分が、試料Bは32成分がこの範囲を満たした。また、平均添加回収率の妥当性評価の範囲を外れているものは各試料とも2成分(計4成分)であった。このことから本分析法は、いわゆる健康食品等から検出された事例のあるフェンフルラミン、シブトラミン、ヨヒンビン等を含む、少なくとも32成分に適用できることがわかった。

#### 2 平成25年度医薬品類似食品等試買検査への適用

上記の試験結果から、本分析法が医薬品成分等の一斉分析に適用することが可能であると判断されたので、実際のハーブ製品および痩身用健康食品の試買検査においてLC/MS法と併用して検査した。その結果、ハーブ製品2品目において保持時間12.4分にピークが検出され(図4)、相対保持時間及びマススペクトル(m/z:123, 95, 75, 58)が国通知の4-フルオロメトカチノンのデータ<sup>7)</sup>と一致した。また、LC/MS法においても相対保持時間、分子量関連イオンのピーク、UVの極大吸収波長が指定薬物である4-フルオロメトカチノンと一致したため、国から標準品を入手し確認作業を行った。

なお、痩身用健康食品28品目については、茶葉由来と思われるカフェインのピークを検出した品目はあったも

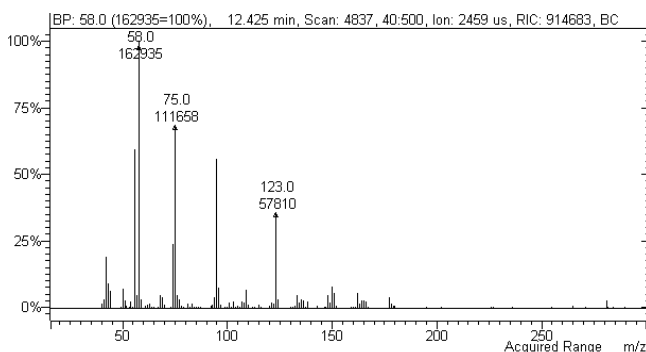


図4 ハーブ製品から検出された保持時間12.4分のピークのマスペクトル

の、医薬品成分は検出されなかった。

### まとめ

GC/MS を用いた医薬品成分等のスクリーニング分析法の検討を行い、調査した医薬品成分の大部分において良好な添加回収率が得られた。強壮用健康食品において検出事例の多いED 治療薬類似成分やステロイド等の高沸点化合物については、通常の分析条件では測定が難しく、場合によっては誘導体化が必要であるが、今回のような痩身用健康食品から検出されることの多い比較的低沸点の医薬品成分の分析には、本分析法は精度の高いスクリーニング試験として十分に機能しうるものであると考えられた。本法に適用する試料溶液は、当研究所で別途定めた LC/MS 用の試料溶液を 10 倍程度希釈すればよいため、LC/MS 法および本 GC/MS 法の併用により、指定薬物に加え、いわゆる健康食品中の医薬品成分を迅速に精度良く試験できることがわかった。

今後は医薬品成分の本法によるスクリーニング試験実施の操作手順書を整備し、試験検査に活用する予定である。

### 文 献

- 1) 厚生労働省医薬食品局 監視指導・麻薬対策課：薬物乱用の現状と対策，平成 26 年 2 月
- 2) 平成 19 年厚生労働省令第 14 号，平成 19 年 4 月 1 日施行
- 3) 平成 25 年厚生労働省令第 19 号，平成 25 年 3 月 22 日施行
- 4) 平成 25 年厚生労働省令第 128 号，平成 26 年 1 月 12 日施行
- 5) 栗田浩幸他：いわゆる健康食品中の医薬品成分の LC/MS による迅速分析，静岡県環境衛生科学研究所報告，49，31-35（2006）
- 6) 厚生労働省通知：指定薬物の分析法について，平成 19 年 5 月 21 日，薬食監麻発第 0521002 号
- 7) 厚生労働省通知：指定薬物の測定結果等について，平成 23 年 10 月 14 日，薬食監麻発 1014 第 3 号

## 一般用医薬品の開封後の保存安定性について

医薬食品部 医薬班 渡辺陽子, 隅 春菜, 岩切靖卓,  
菅野尚子, 今津佳子, 小和田和宏

Study on Stability of Over-the-counter Drug during Storage

Yoko WATANABE, Haruna SUMI, Yasutaka IWAKIRI,  
Naoko KANNO, Yoshiko IMAZU and Kazuhiro OWADA

一般用医薬品であるアスピリン含有製剤 (330mg 錠) について, 家庭での開封後の保存を想定した条件において保存試験を実施した. 静岡県の梅雨期から夏期の気候を想定した条件では, 3ヶ月後も含量及び溶出性に含量に変化は認められなかったが, 真夏の炎天下の車中での保存を想定した過酷な条件においては, アスピリン含量の低下及び溶出性の低下が認められ, 高温高湿度での保存には注意が必要であることが分かった.

また, 保存前の開封直後の製剤において, 銘柄間で溶出挙動に差が認められた. 同成分を同一含量含む製剤であっても, 溶出挙動が異なることがあるため, 薬局等における販売時の情報提供においては注意する必要がある.

Key words: 一般用医薬品, アスピリン, 保存安定性, 溶出挙動  
over-the-counter drug, aspirin, stability during storage, dissolution behavior

### はじめに

近年, 医療費の増大等を背景に, セルフメディケーション (自分自身の健康に責任を持ち, 軽度な身体の不調は自分で手当てすること) の考え方が普及しつつある<sup>1)</sup>. 一般用医薬品 (OTC 医薬品) は, 薬局・薬店等において薬剤師等から提供された情報に基づき, 消費者が自ら選択し使用する医薬品であり, セルフメディケーションの一手段として保健衛生の向上に大きな役割を果たしている.

しかし, 医療用医薬品に比べて, 一般用医薬品は添付文書以外に販売者や消費者が利用できる情報が少ないのが現状である. また, 一般用医薬品は症状発現時に頓服的に使用されることが多く, 開封後も家庭内で長期間に渡って保管されうるが, 保存条件によっては, 医薬品の成分が変質し, 分解することもあり, 効果面で悪影響を及ぼすおそれがある.

そこで今回, 一般用医薬品であるアスピリン含有製剤について, 保存安定性に関する調査を行った.

### 方法

#### 1 試験製剤

県内のドラッグストアで市販されている一般用医薬品であるアスピリン含有製剤 (330mg 錠) 4 銘柄各 1 ロット (製剤 A~D) を試験製剤とした. また, 溶出試験の参考製剤として, 医療用アスピリン含有製剤 (330mg 錠) を用いた.

#### 2 定量法

##### 1) 標準溶液等の調製

定量用アスピリン (試薬特級; 和光純薬工業株式会社製) 150 mg 及び定量用サリチル酸 (試薬特級; 和光純薬工業株式会社製) 50mg を精密に量り, それぞれ希釈溶媒に溶かし, 希釈溶媒でそれぞれ正確に 50mL とし, 標準原液とした. 各標準原液 2mL を正確にとり, それぞれに内標準溶液 2mL を正確に加えて希釈溶媒で 20mL とし, アスピリン標準溶液及びサリチル酸標準溶液とした.

希釈溶媒は薄めたリン酸 (1→1000) /アセトニトリル混液 (1:1) を使用し, 内標準溶液はパラオキシン安息香酸メチルの希釈溶媒溶液 (8→100000) を用いた.

##### 2) 試料溶液の調製

試験製剤 1 錠に希釈溶媒 50mL を加えて錠剤が崩壊するまで振り混ぜた後, 5 分間超音波処理し, 希釈溶媒で正確に 100mL とした. この液を遠心分離 (3000rpm, 5

分間)し、孔径 $0.45\mu\text{m}$ メンブランフィルターでろ過し、初めのろ液 $2\text{mL}$ を除き、次のろ液 $2\text{mL}$ を正確にとり、内標準溶液 $2\text{mL}$ を正確に加えて希釈溶媒で $20\text{mL}$ とし、試料溶液とした ( $n=3$ )。

## 2) 液体クロマトグラフィーによる分析

試料溶液及び標準溶液それぞれ $10\mu\text{L}$ につき、次の条件で液体クロマトグラフィーにより試験を行い、アスピリン含量及びサリチル酸含量を算出した。

検出器：紫外吸光度計 (測定波長： $280\text{nm}$ )

カラム：Mightysil RP-18 GP,  $4.6\text{mm}\times 15\text{cm}$ , ODS  $5\mu\text{m}$   
(関東化学株式会社製)

カラム温度： $40^\circ\text{C}$

移動相：薄めたリン酸 (1→1000) / アセトニトリル混液 (7 : 3)

流量： $1.5\text{mL}/\text{分}$

## 3 溶出試験

溶出試験器は全自動溶出試験装置 RT-3 (株式会社大日本精機製) を使用し、溶出試験は日本薬局方<sup>2)</sup> 及び日本薬局方外医薬品規格第三部<sup>3)</sup> の医療用アスピリン含有製剤 ( $330\text{mg}$ 錠) の試験方法に準じて実施した。溶出試験液には水  $900\text{mL}$  を用い、パドル法により毎分 50 回転で試験を行った。試験開始 5, 10, 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300 及び 360 分後に溶出液  $10\text{mL}$  をとり、孔径  $0.45\mu\text{m}$  メンブランフィルターでろ過し、初めのろ液  $6\text{mL}$  を除き、次のろ液を採取し、定量法に準じて溶出液中のアスピリン含量を測定した ( $n=6$ )。サリチル酸含量はアスピリンの濃度に換算してアスピリンの表示量に対する量 (%) として求めた。

溶出挙動の類似性の判定は、「後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドライン」<sup>4)</sup> の判定基準に準じて、平均溶出率の差又は  $f_2$  関数の値を比較した。ただし、安定性試験における溶出液の採取時間は、5, 10, 15, 30, 60 及び 120 分とした。

## 4 安定性試験

安定性試験器は LH33-12P (ナガノサイエンス株式会社製) を使用し、温度  $30^\circ\text{C}$ 、相対湿度 80% の定値運転とし、試験製剤は開封して PTP 包装の状態 で 1 年間保存した。

また、安定性試験器 LH21-11M (ナガノサイエンス株式会社製) を使用し、相対湿度 80%、温度は  $60^\circ\text{C}$  又は  $70^\circ\text{C}$  の定値運転で、試験製剤を PTP 包装の状態 で 7 時間保存した。

## 結果および考察

### 1 試験製剤の溶出挙動

一般用アスピリン含有製剤 4 銘柄 (製剤 A~D) 及び

医療用アスピリン含有製剤 ( $330\text{mg}$ 錠) について、試験 6 時間までの溶出挙動を求め、図 1 に示した。一般用医薬品であるアスピリン含有製剤については溶出規格が設定されていないが、医療用に比べて溶出速度が遅く、医療用アスピリン含有製剤 ( $330\text{mg}$ 錠) の溶出規格「15 分 85%以上」を満たしたのは医療用のみで、一般用 4 銘柄でこの規格を満たすものはなかった。製剤 A は試験時間 6 時間以内に溶出率は 85% を示したが、製剤 B~D は製剤 A と比較して溶出が遅かった。

製剤 A を標準製剤、試験時間を 6 時間とし、平均溶出率の差又は  $f_2$  関数の値の比較により製剤 B~D の類似性の判定を行ったところ、製剤 A に対して、製剤 B は「類似」、製剤 C 及び D は「類似でない」と判定された。なお、製剤 B~D は、ドラッグストアの店頭で製剤 A と同成分を同一含量含む低価格品として販売されているものである。

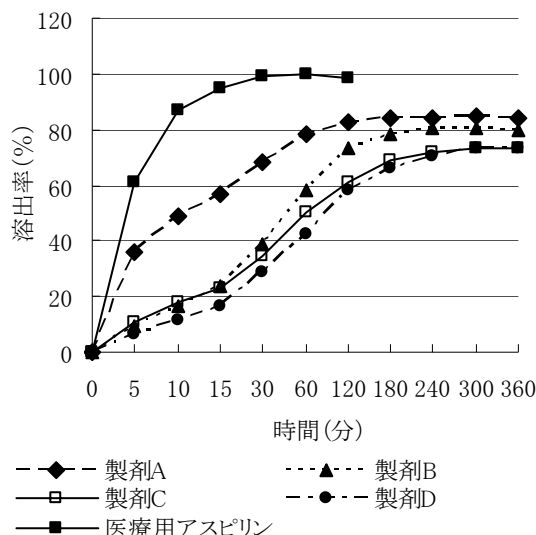


図 1 アスピリン含有製剤  $330\text{mg}$  錠の溶出挙動

薬物の吸収、生物学的利用性は薬物の溶解状態に大きく依存するため、銘柄間で溶出挙動が類似でない場合には、生物学的非同等性が生じている可能性がある。一般用医薬品の溶出挙動に関する報告は少ないが、スイッチ OTC 医薬品とそれに対応する医療用医薬品において溶出挙動に差が認められたという報告がされている<sup>5)</sup>。このように同一成分含量の製剤であっても銘柄間に差があることがあるため、薬局等における販売時の情報提供においては留意が必要である。

### 2 保存による含量の変化

事前調査において、アスピリン含有製剤 ( $330\text{mg}$ 錠)

は高温高湿度条件で含量が低下したことから、保存条件は県内の梅雨期から夏期の気候<sup>6)</sup>を想定した温度 30℃、相対湿度 80%とした。保存形態は市場に流通している箱に入った最終包装形態ではなく、外箱から出した PTP 包装の状態とし、アスピリン含量及びサリチル酸含量をそれぞれの保存前と比較した。3ヶ月保存したところ含量に変化が認められなかったため、引き続き1年間まで保存を続けた。図2に示したように、1年後にアスピリン含量は製剤A～Dにおいて3～6%程度低下した。その一方で、図3に示したように、分解生成物であるサリチル酸の含量増加が認められた。

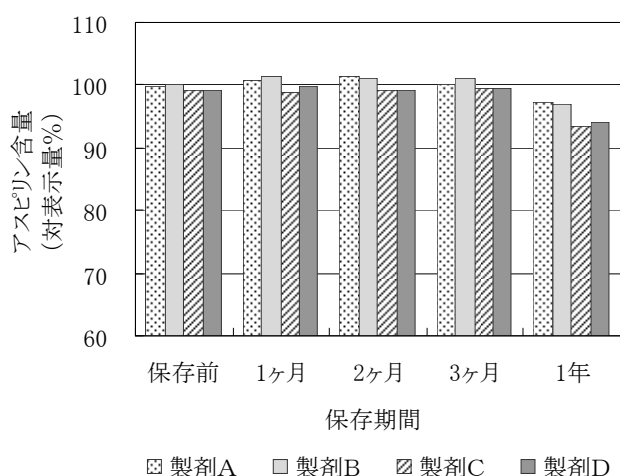


図2 アスピリン含量の変化 (温度 30℃, 相対湿度 80%)

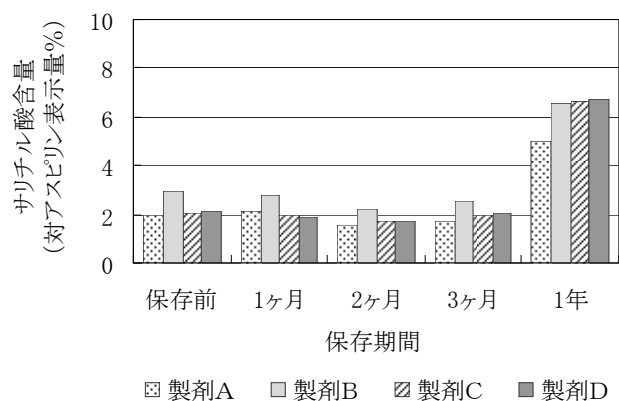


図3 サリチル酸含量の変化 (温度 30℃, 相対湿度 80%)

アスピリンは、湿った空气中で徐々に加水分解し、サリチル酸及び酢酸になることが知られており、当研究所においても、院内製剤のアスピリン製剤 (散剤) が温度 30℃, 相対湿度 80%で 90 日間保存した場合にアスピリン含量が顕著に低下することを報告している<sup>7)</sup>。今回、

同様の条件下で一般用医薬品のアスピリン含有製剤 (錠剤) を保存したが、3ヶ月後に顕著な含量低下は認められなかった。これは、病院内で分包された散剤に比べて、錠剤そのもの及び PTP 包装材の防湿効果が高かったことによるものと考えられる。しかし、1年間の保存では、アスピリンの分解によるサリチル酸の含量増加が認められたため、錠剤であっても高温高湿度での長期保存には注意が必要である。湿気の影響を受けやすい薬剤の保存は、乾燥剤と同封することが有効と考える<sup>8)</sup>。

### 3 保存による溶出挙動の変化

含量の場合と同様に温度 30℃, 相対湿度 80%で保存し、各製剤の溶出挙動を調べたところ、含量と同様に 3ヶ月後に溶出性の変化が認められなかったため、1年後まで保存を続けたが、いずれの製剤でも保存前と比較して溶出挙動に大きな変化は認められなかった。

### 4 過酷条件での含量及び溶出挙動の変化

真夏の昼間、屋外に駐車した時の車内温度を調べたところ、80℃以上になることが分かった。そこで車内での放置を想定して、温度 60℃又は 70℃, 相対湿度 80%として 7 時間保存し、各製剤の含量と溶出挙動を保存前と比較した。その結果、60℃保存ではいずれの製剤においても保存前と比べて含量及び溶出挙動に変化は認められなかったが、70℃保存では、図4に示したようにアスピリン含量の低下が認められ、また図5に示したように製剤B～Dの3銘柄で溶出性の低下が認められた。

製剤B～Dにおいては、溶出試験時にペッセル内での錠剤の崩壊性の遅延が観察されたため、溶出性の低下はアスピリン含量の低下によるものだけではなく、高温高湿度により製剤が変質したことによるものと考えられる。PTP包装は1錠が1ポケットに収納されているが、外部からの湿度の影響を受けやすい包装形態の一つであり、ポケットを形成するプラスチックシートには透湿性があるといわれる<sup>9)</sup>。70℃での保存試験中において、PTP包装材の全体的なゆがみが認められたため、包装材が変質して透湿性を高め、ポケットに収納されている錠剤の品質に影響を与えた可能性がある。

溶出性は、原料、添加剤、製造方法等の違いによって変動しやすく、保存環境によっても影響を受けやすい。今回検討した錠剤とは剤形が異なるが、ドライシロップを炎天下の車中に放置すると薬剤が固結し溶出速度が遅くなるとの報告がされており、その原因として高温による添加剤の物性変化の関与が示唆されている<sup>10)</sup>。製剤Aと製剤B～Dとでは添加剤が一部異なっているため、製剤B～Dでは添加剤の物性が変化して崩壊性が低下し、

溶出性の遅延、溶出挙動の変化が生じたものと推察される。

医薬品製造販売業者は、医薬品成分の変質や分解を防ぐために剤形そのものや PTP 包装材に防湿性等を高める様々な工夫を施しているが<sup>11)</sup>、高温高湿度の過酷な条件下ではそれらが変質し、製剤の品質に影響を与えることがあるため、医薬品を車内等の過酷な条件で保存しないように注意する必要がある。

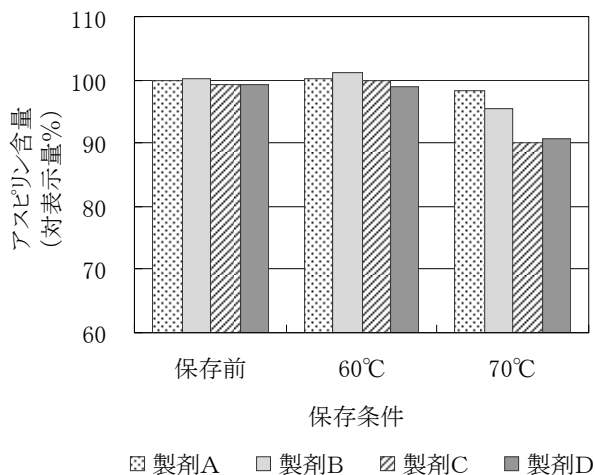


図4 アスピリン含量の変化 (温度 60°C 又は 70°C)

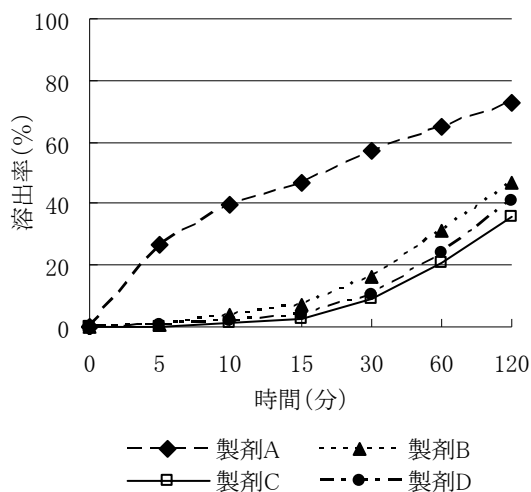


図5 70°C保存後の溶出挙動

### まとめ

一般用医薬品のアスピリン含有製剤 (330mg 錠) について、有効成分の吸収の指標として溶出性を調べたところ、銘柄間で溶出挙動に差があることが分かった。また、真夏の炎天下の車中での保存を想定した温度 70°C、相対湿度 80% の条件で 7 時間保存した場合に、含量及び溶出

性の低下が認められた。溶出性が低下すると、消化管内での溶出速度が低下する可能性があるため、高温高湿度下での医薬品の保存には注意する必要がある。

一般用医薬品の販売方法の見直し、医療用成分のスイッチ OTC 化等が進められる中で、消費者が選択できる医薬品の成分、剤形、容器、銘柄等はますます増えていくものと予想される。自己の健康に高い関心を持ち、自ら医薬品を選択し活用しようとする消費者に対して、薬剤師等の販売者は、医薬品の適正使用のための情報を提供する義務がある。しかし、消費者向けに記載された添付文書のほか販売者が利用できる情報は少ない。今後、医薬品製造販売業者から薬剤師等の販売者に向けての情報も増えていくことを期待する。

### 文献

- 1) 厚生労働省：政策レポート 一般用医薬品販売制度の改正について、  
<http://www.mhlw.go.jp/seisaku/2009/06/02.html>
- 2) 厚生労働省：第十六改正日本薬局方，平成 23 年 3 月 24 日付厚生労働省告示第 65 号
- 3) 厚生労働省医薬局：日本薬局方外医薬品規格第三部（一部改正），平成 13 年 7 月 3 日付医薬発第 719 号
- 4) 厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知：後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドライン等の一部改正について，平成 24 年 2 月 29 日，薬食審査発 0229 第 10 号
- 5) 鈴木一衛他：医療用医薬品と一般用医薬品のブチルスコポラミン臭化物の溶出挙動の比較，薬学雑誌，131，1645-1651 (2011)
- 6) 気象庁：過去の気象データ検索，  
<http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrm/index.php>
- 7) 黒見公一他：院内製剤の品質確保に関する研究（第七報）—アスピリン製剤に関する検討—，静岡県環境衛生科学研究所報告，49，23-26 (2006)
- 8) 上村慎子他：医薬品の溶出性の安定性に関する研究—PTP 包装医薬品の加湿保存による変化—，静岡県環境衛生科学研究所報告，54，47-49 (2011)
- 9) 大久保恒夫他：平成 18 年度「日本薬局方の試験法に関する研究」研究報告—製剤総則に関わる容器試験法（水蒸気透過性試験法）に関する検討—，医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス，45 (2)，155-165 (2014)
- 10) 松本康弘他：クラリシッドドライシロップ 10% 小児用の熱変性（第 2 報），日本薬剤師会雑誌，64 (6)，21-23 (2012)
- 11) 宮崎利夫他：薬の辞典，274-281，株式会社朝倉書店，東京 (2007)

## 簡易懸濁法に関する薬剤情報の構築

医薬食品部 医薬班

隅 春菜, 岩切靖卓, 内田恭之\*,  
渡辺陽子, 菅野尚子, 今津佳子,  
小和田和宏

静岡県立総合病院 薬剤部

岩崎剛士, 山崎朝子, 高橋沙由理,  
中條倫成, 鈴木崇代

Development of the Drug Information for Simple Suspension Method

Haruna SUMI, Yasutaka IWAKIRI, Takayuki UCHIDA,  
Yoko WATANABE, Naoko KANNO, Yoshiko IMAZU,  
Kazuhiro OWADA, Tsuyoshi IWASAKI, Tomoko YAMAZAKI,  
Sayuri TAKAHASHI, Michiaki NAKAJO and Takayo SUZUKI

経管投与を行っている患者の薬剤投与には、薬剤を粉末化した後懸濁して経管投与する「粉碎法」が行われてきたが、近年、粉末化せず水（55℃）で薬剤を崩壊・懸濁して経管投与する、より簡便な「簡易懸濁法」が広く用いられている。

静岡県立総合病院の処方せんにおいて粉碎が指示されていた7薬剤について、「粉碎法」から「簡易懸濁法」への変更に伴う主薬の投与量の変化を検討したところ、すべての薬剤において、「粉碎法」から「簡易懸濁法」へ変更することにより、投与量の増加が認められた。医療機関等において、これまでの方法を変更し新たな方法を適用する際には、方法変更による影響を評価することが重要と考えられた。

Key words: 簡易懸濁法, 投与量変化, 経管投与

simple suspension method, change of the dosage, feeding tube

### はじめに

医療機関において、経口栄養摂取が困難な場合にはチューブを介した経管栄養が行われる。これまで経管栄養を行っている患者の薬剤投与には、薬剤を粉末化した後懸濁して経管投与する「粉碎法」が行われてきたが、近年、より簡便な「簡易懸濁法」が広く用いられている(図1)。「簡易懸濁法」は、錠剤やカプセル剤を粉末にせず、そのまま水(約55℃)に入れて攪拌・放置(10分間)し薬剤を崩壊・懸濁させ、経管チューブから投与する方法である<sup>1)</sup>。「簡易懸濁法」は従来の「粉碎法」に比べ「チューブの閉塞が少ない」、「適応可能な薬剤数が多い」、「調剤等によるロスが少ない」等のメリットがあることから、医療機関だけでなく、介護施設や在宅医療の場でも利用

が進んでいる。

静岡県立総合病院(以下、「総合病院」)では、一部の薬剤に対してのみ「簡易懸濁法」を取り入れているが、今後、より多くの薬剤に対して「粉碎法」から「簡易懸濁法」に変更することを計画している。医療現場において投与方法の変更による影響を評価することは大変重要であることから、医療安全や医薬品の適正使用に資することを目的に、総合病院と共同して簡易懸濁法への変更についての科学的データを収集し、評価を行った。

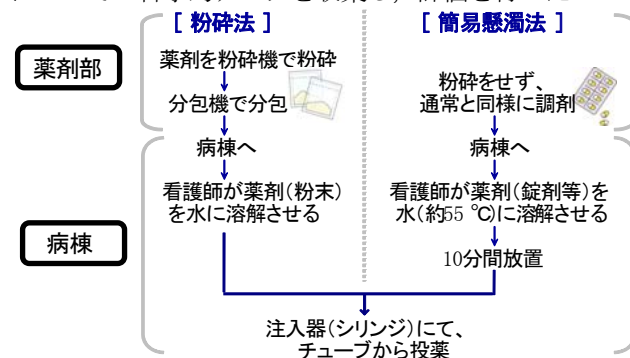


図1 粉碎法と簡易懸濁法の比較

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)

\* : 静岡県健康福祉部生活衛生局薬事課



## 方法

### 1 総合病院での粉碎調剤の状況把握

総合病院において、粉碎調剤の指示があった薬剤を抽出し集計した。

### 2 「簡易懸濁法」への変更による投与量変化

「粉碎法」で調製した薬剤と「簡易懸濁法」で調製した薬剤について、主薬の含量を液体クロマトグラフィー（HPLC）で定量した。実験のフローチャートを図2に、HPLCの分析条件を表1に示した。

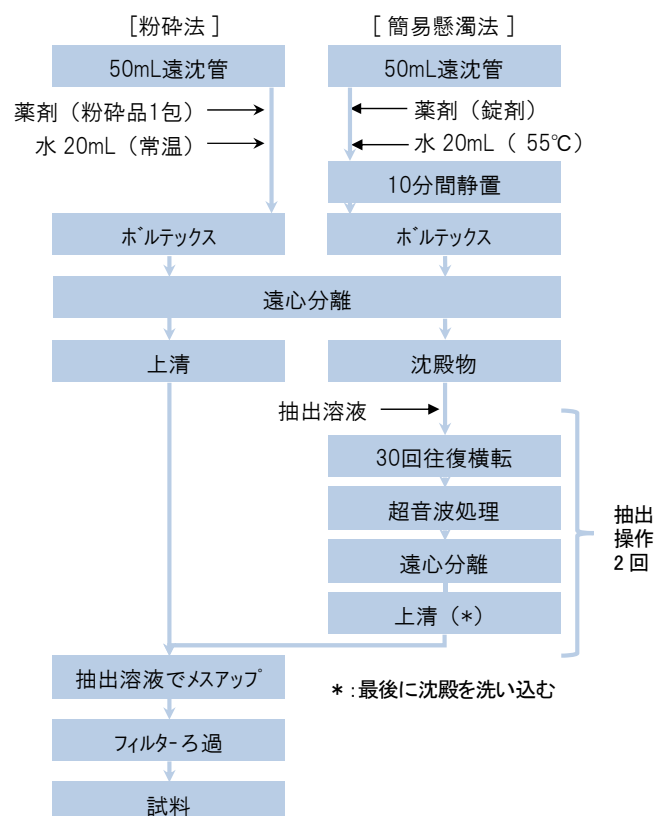


図2 「投与量変化」実験フローチャート

### 3 器具による投与量の違い

経管投与で薬剤の溶解・懸濁に使用される器具（図3）は複数あり、そのいずれかを使用して薬剤が投与されている。そのため、薬剤の調製に使用する器具による投与量の違いをHPLCで評価した。



図3 使用する器具

表1 各薬剤のHPLC-UVでの測定条件

薬剤名 (一般名)	移動相	カラム 温度 (°C)	波長 (nm)
ワ-ファリン (ワ-ファリンカリウム)	メタノール/水/リン酸混液 (700:300:1)	35	283
デ-イバン (バルサルタン)	水/アセトニトリル/酢酸(100) 混液(500:500:1)	25	225
フ-ジ-ール (メトコダ-ゾ-ール)	水/メタノール混液(4:1)	25	320
ア-チ-スト (カルバ-ジ-ロール)	メタノール/リン酸塩緩衝液 <sup>*1</sup> 混液(11:9)	40	240
チ-ラ-ジ-ンS (リボチロキシン ナトリウム)	メタノール/水/リン酸混液 (1340:660:1)	25	227
リビ-トル (アルバ-スタチン カルシウム)	クエン酸溶液 <sup>*2</sup> /アセトニトリル /THF 混液(53:27:20)	30	244
バ-ツ-フ-ォ-錠 (ア-ロビ-ヘ-リン 塩酸塩)	1-オクタンスルホン酸ナトリウム含有 リン酸緩衝液/ アセトニトリル混液 <sup>*3</sup>	40	210

\*1) リン酸塩緩衝液: リン酸二水素ナトリウム 2.7g を水に溶かし 1000mL とした液に、リン酸水素二ナトリウム 0.7g を水に溶かして 200mL とした液を加えて pH5.0 に調整する。

\*2) クエン酸溶液: クエン酸一水和物 10.5g に水 900mL を加え溶解し、アンモニア水 (28) で pH4.0 に調整後、水で 1000mL とする。

\*3) 1-オクタンスルホン酸ナトリウム含有リン酸緩衝液/アセトニトリル混液: リン酸二水素ナトリウム 2.21g 及び 1-オクタンスルホン酸ナトリウム 1.51g を水 650mL に溶かし、リン酸を加えて pH3.2 に調整した液に、アセトニトリル 350mL を加える。

## 結果および考察

### 1 総合病院での粉碎調剤の状況把握

総合病院において粉碎が指示されていた薬剤のうち、処方回数が多かった薬剤について、「粉碎法」から「簡易懸濁法」への変更に伴う投与量変化を検討する薬剤として表1に示す薬剤を選定した。

### 2 「簡易懸濁法」への変更による投与量変化

「粉碎法」および「簡易懸濁法」で調製した薬剤中の主薬の定量結果を図4に示した。

「簡易懸濁法」で主薬含量を定量した結果、すべての薬剤において対定量値量ではほぼ 100%であったことから、水 (55°C) の中に 10 分間放置しても主薬は安定であることが確認できた。

一方、「粉碎法」では粉碎調剤による主薬含量の低下が見られた。粉碎調剤では錠剤の粉碎、分包および分包からの取り出しの過程で生じる乳鉢・乳棒や分包機、分包紙への主薬の付着により、粉碎物の分包品の定量値が低くなった<sup>2)</sup>ことが原因と考えられる。

今回、特にフィルムコート錠において、「粉碎法」での定量値が低い傾向が見られた。フィルムコート錠では、粉碎調剤時に篩下せず除かれるフィルムとともに主薬の一部が除かれてしまったと考えられる。このことから、



フィルムコート錠を「粉砕法」から「簡易懸濁法」へ変更する際には、素錠に比べ投与量の変化が大きくなると推測される。

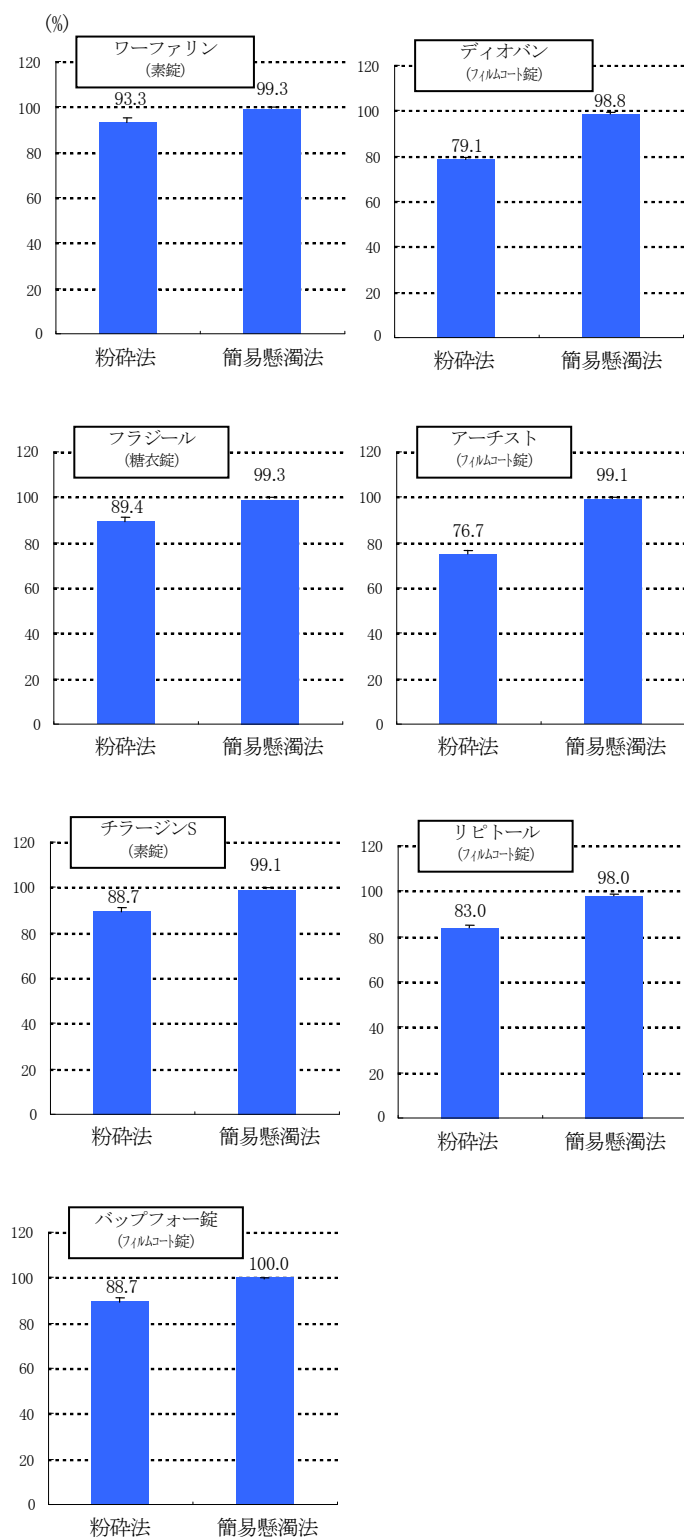


図4 簡易懸濁法および粉砕法での各薬剤の定量結果 (対定量値量%) (n=3, mean±SD)

### 3 器具による投与量の違い

検討対象薬剤のうち、粉砕機会が特に多かった「ワーファリン (抗凝固薬)」と「ディオバン (降圧薬)」について、図3に示した3つの器具を使用して「簡易懸濁法」により薬剤を懸濁後、排出した懸濁液を分析し、主薬の回収率を評価した結果を表2に示した。その結果、両薬剤ともに1回の洗い込み(フラッシュ)によってほぼ100%の回収率(対表示量)が得られ、合計回収率では使用する器具による違いはみられなかった。

一方、はじめの排出液(1st)の回収率について、「けんだくん」では、「カップ」および「シリンジ」と比較して回収率が低い傾向がみられた。これは、「けんだくん」は器具の構造上、回収できず器具内に残る溶液の量が他の器具に比べて多いためと考えられる。

また、粉砕分包品をカップに入れ、同様の試験を行った結果を表2の「粉砕カップ」に示した。いずれの薬剤もほぼ100%の合計回収率(回収率(%)=回収量(mg)/(粉砕物重量(g)×粉砕物の定量結果(mg/g))×100)が得られたことから、「薬剤の状態と懸濁方法」(「粉砕品を水(常温)に懸濁する場合」と「錠剤を水(55°C)に懸濁する場合」)によって回収率の違いは生じないと考えられた。

表2 各器具を使用時の主薬回収率(%) (n=3, mean±SD) [ワーファリン]

器具名	1st	フラッシュ	合計	
簡易懸濁法	カップ	97.7±1.0	1.6±0.2	99.3±1.1
	シリンジ	99.5±1.2	0.8±0.1	100.3±1.3
	けんだくん	88.5±1.6	8.7±2.4	97.1±0.9
粉砕カップ	98.1±0.8	1.5±0.2	99.6±0.6	

#### [ディオバン]

器具名	1st	フラッシュ	合計	
簡易懸濁法	カップ	95.4±4.6	4.6±0.5	100.0±3.8
	シリンジ	95.7±0.3	3.6±1.5	99.3±1.8
	けんだくん	87.2±4.2	10.0±4.5	97.2±3.2
粉砕カップ	93.8±1.5	4.3±0.6	98.1±1.0	

#### まとめ

総合病院における粉砕調剤の状況を把握し、「粉砕法」から「簡易懸濁法」への変更に伴う主薬の投与量変化を評価した。

7製剤について検討した結果、「粉砕法」から「簡易懸濁法」への変更に伴い薬剤の投与量は、「ワーファリン」では約94%から約100%に、その他の薬剤では80%前後から約100%に変化した。

「簡易懸濁法」はその有用性から多くの医療機関等で利用されている。これまでの投与方法を変更し新たな方法を適用する際には、方法変更による治療効果への影響を評価することが重要と考えられる。

本調査研究が「簡易懸濁法」への変更の際の新たな視点を提供するものになるよう、今後もより多くデータを収集していく必要がある。

#### 文 献

- 1) 倉田なおみ:内服薬経管投与ハンドブック第2版, P5, じほう, 東京 (2006)
- 2) 矢野勝子他:簡易懸濁法による薬剤経管投与時の主薬の安定性の検討, 医療薬学, **32**(11), 1094-1099(2006)

## 農産食品中の残留農薬一斉分析法に関する検討 (第2報)

医薬食品部 食品班 小林千恵, 大坪昌広, 瀧井美樹,  
鈴木明子, 小和田和宏

Study of the Simultaneous Analytical Method for Pesticide Residues  
in Agricultural Products (2nd Report)

Chie KOBAYASHI, Masahiro OTSUBO, Miki TAKII,  
Akiko SUZUKI and Kazuhiro OWADA

県内に流通する農産品のより高い安全性の確保を目的に、多種類の農薬を迅速に一斉分析するため、従来法よりも前処理時間の大幅な短縮等に効果がある QuEChERS 法を前処理に取り入れた一斉分析法について検討した。

夾雑物の影響で定量分析が比較的困難な枝豆を試料として、GC/MS/MS を用いて検査を行っている 164 項目の農薬を対象に添加回収試験をしたところ、従来法と同様に約 8 割の項目が妥当性評価ガイドラインの真度と併行精度の目標値を満たす良好な結果が得られた。そのため、QuEChERS 法を前処理に取り入れた一斉分析法は、残留農薬の検査に有用であると考えられた。

Key words: QuEChERS, 残留農薬, 一斉分析, 妥当性評価

QuEChERS, pesticide residue, simultaneous analysis, method validation

### はじめに

平成 18 年 5 月から食品中の残留農薬等の規格基準にポジティブリスト制度が導入されたため、当研究所では厚生労働省から通知された方法をもとに残留農薬の一斉分析法を開発し<sup>1)</sup>、農産品において約 200 項目の農薬の検査を実施してきた。

近年、迅速かつ簡便な残留農薬の分析法として Anastassiades らが開発した<sup>2)</sup> QuEChERS 法が注目されており、本方法を活用した妥当性評価の事例が報告されている<sup>3-5)</sup>。当研究所においても迅速かつ簡便な本方法を検査の前処理に取り入れることについて検討し、これまでに LC/MS/MS を用いて分析している農薬に本方法が有用であることを明らかにした<sup>6)</sup>。一方、現在の残留農薬検査では 164 項目の農薬を GC/MS/MS を用いて分析しており、これらの農薬についても本方法が適用できればより多種類の農薬を迅速に検査することが可能となる。

今回、迅速かつ簡便な前処理による一斉分析法を確

立し検査に適用することを目的に、GC/MS/MS を用いて検査を行っている農薬について QuEChERS 法を前処理に取り入れた一斉分析法を検討したので報告する。

### 試料および方法

#### 1 試料

農薬が検出されていないことを確認した枝豆（脂質の多い農産品）を使用した。

#### 2 試薬等

標準品は、関東化学㈱製、和光純薬工業㈱製および林純薬㈱製の農薬標準品を用いた。混合標準液は、各標準品をアセトンに溶解して調製した 1000  $\mu$ g/mL の標準原液および市販混合標準品を用い、これらをアセトン/ヘキサン混液(1:1)で希釈し 1ppm 混合標準液を調製後、適宜希釈した標準溶液を検量線の作成に用いた。

固相抽出カラムは、Supelco 社製の ENVI-Carb/LC-NH<sub>2</sub> SPE (500mg/500mg)を用いた。

#### 3 方法

##### 1) 検討対象項目

GC/MS/MS を用いて現在検査している 164 項目の農薬を対象とし、表 1 にリテンションタイム順に示した。

##### 2) QuEChERS 法を取り入れた前処理

粉碎均一化した試料 10g を 50mL のポリプロピレン製

遠心管に採取し、アセトニトリル 10mL を正確に加え、1分間ホモジナイズした。これに、塩化ナトリウム 1g, 無水硫酸マグネシウム 4g, クエン酸水素二ナトリウム 1.5 水和物 0.5g, およびクエン酸三ナトリウム 2 水和物 1g を加え、1 分間手で振とうした。その後、遠心分離 (2,500rpm, 10 分間) し、得られたアセトニトリル層から 4mL を正確に分取し、コンディショニングした固相カラムに負荷後、アセトニトリル:トルエン混液 (3:1) 30mL で溶出した。溶出液は 1mL 以下になるまで 40°C 以下で減圧濃縮後、アセトン 10mL を加え 1mL 以下になるまで 40°C 以下で減圧濃縮し、さらにアセトン 5mL を加え同様に減圧濃縮した。完全に乾固させた後、アセトン/ヘキサン混液(1:1) 1mL に溶解し、試料溶液とした。現在の検査で用いている前処理方法 (従来法) との比較を **図1** に示した。

(0.25mm×30m, 膜厚 0.25 μ m)  
 キャリアガス : ヘリウム (1.2mL/min)  
 注入口温度 : 260°C  
 カラム昇温 : 50°C(1min)→25°C/min→125°C(4min)→5°C/min→300°C(6min)  
 注入量 : 2 μ L  
 注入方法 : パルスドスプリットレス (パルス圧 40psi, 1min)  
 トランスファーライン温度 : 280°C  
 ③ MS 条件  
 イオン源温度 : 230°C  
 イオン化エネルギー : 70eV  
 イオン化法 : EI  
 分析モード : MRM

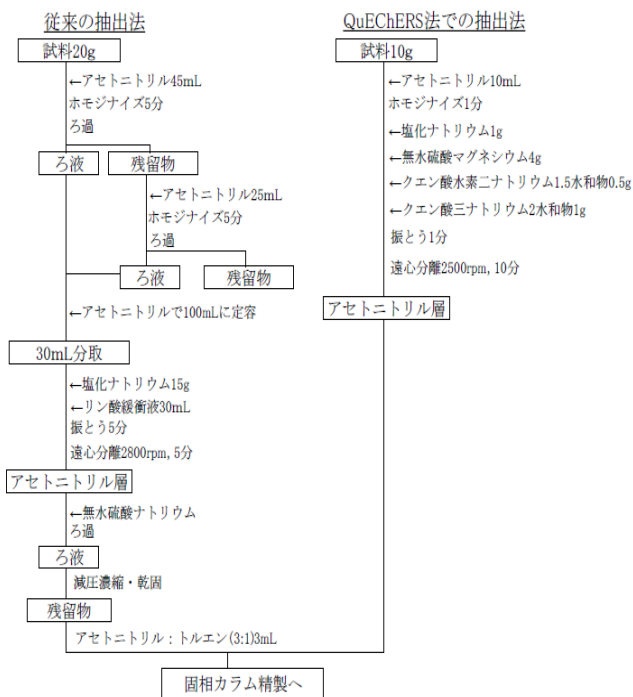


図1 前処理方法の比較

### 3) 添加回収試験

粉碎均一化した試料に各農薬が 0.01ppm となるように添加し、30 分間放置後に前処理を行った。試験は 5 回繰り返しを行い、真度(%)と併行精度(RSD%)を算出した。

### 4) GC/MS/MS の分析条件

#### ① 装置

ガスクロマトグラフは、CP-3800 (Varian 社製), 質量分析計は、GC-MS/MS1200 (Varian 社製) を用いた。

#### ② GC 条件

カラム : VF-5ms (Agilent Technologies 社製)

表1 検討項目および妥当性評価ガイドライン（真度および併行精度）適合項目

No. 項目名	真度 70~120% 併行精度 25%>		No. 項目名	真度 70~120% 併行精度 25%>		No. 項目名	真度 70~120% 併行精度 25%>	
	従来法	QeChERS法		従来法	QeChERS法		従来法	QeChERS法
	1 イソプロカルブ				56 ニトータルイソプロピル		○	○
2 フェノブカルブ			57 ジコホール		○	112 pp-DDD	○	○
3 プロボキシル			58 フサライド	○	○	113 op-DDT	○	○
4 プロパクロール			59 プロモホスメチル	○	○	114 フルアクリピリム	○	○
5 エタルフルラリン			60 ジフェナミド	○	○	115 メブロニル	○	○
6 クロルプロファミ			61 ペンディメタリン	○	○	116 ファムフル	○	○
7 トリフルラリン			62 フィプロニル	○	○	117 ベナラキシル	○	○
8 ベンフルラリン			63 ベンコナゾール	○	○	118 カルフェントラゾンエチル	○	○
9 ベンダイオカルブ			64 ジメタメトリン	○	○	119 トリフロキシストロピン	○	○
10 α-BHC			65 ヘプタクロルエポキシドB	○	○	120 プロピコナゾール	○	○
11 フリラゾール			66 ピリフェノックスZ		○	121 キノキシフェン	○	○
12 カルボフラン	○	○	67 ヘプタクロルエポキシドA	○	○	122 ピリミノバックメチルE	○	○
13 シマジン	○	○	68 ジクロシメット	○	○	123 レナシル	○	○
14 アトラジン	○	○	69 キャプタン			124 pp-DDT	○	○
15 β-BHC	○	○	70 ジメピペレート	○	○	125 ビラフルフェンエチル	○	○
16 キントゼン			71 プロシミドン	○	○	126 ヘキサジノン	○	○
17 クロマゾン	○	○	72 トリアジメノール	○	○	127 テニルクロール	○	○
18 γ-BHC			73 トリフルミゾール	○	○	128 テブコナゾール	○	○
19 シアノホス			74 ホルベット			129 ジクロホップメチル	○	○
20 プロビザミド	○	○	75 メチダチオン	○	○	130 ジフルフェニカン	○	○
21 ピリメタニル	○	○	76 ピリフェノックスE		○	131 カプタホール		
22 イサゾホス	○	○	77 テトラクロルピホス	○	○	132 ピリプチカルブ	○	○
23 テフルトリン	○	○	78 バクプロトラゾール	○	○	133 ビリダフェンチオン	○	○
24 トリアレート	○	○	79 ブタクロール	○	○	134 ホスメット	○	○
25 δ-BHC	○	○	80 フェノチオカルブ	○	○	135 ビフェントリン	○	○
26 イプロベンホス	○	○	81 フルトリアホール	○	○	136 プロモプロピレート	○	○
27 ビリミカルブ	○	○	82 フェナミホス		○	137 ピペロホス	○	○
28 ベノキサコール	○	○	83 ナプロパミド	○	○	138 ピコリナフェン	○	○
29 ホスファミドン	○	○	84 フルトラニル	○	○	139 メトキシクロル	○	○
30 ジクロフェンチオン	○		85 ヘキサコナゾール	○	○	140 フェンプロバトリン	○	○
31 ベンフレセート			86 メトミノストロピンE	○	○	141 フェンアミドン	○	○
32 ジメテナミド	○	○	87 プレチラクロール	○	○	142 テブフェンピラド	○	○
33 アセトクロール	○	○	88 イソプロチオラン	○	○	143 ビフェノックス		
34 プロモブチド	○	○	89 フルジオキシニル	○	○	144 シハロトリン	○	○
35 クロルピリホスメチル	○		90 プロフェノホス	○		145 ピリプロキシフェン	○	○
36 メトリブジン	○	○	91 pp-DDE	○	○	146 シハロホップブチル	○	○
37 ピンクロゾリン	○	○	92 オキサジアゾン	○	○	147 アクリナトリン	○	○
38 アラクロール	○	○	93 ウニコナゾールP	○	○	148 ビラゾホス	○	○
39 ヘプタクロル			94 トリブホス			149 フェナリモル	○	○
40 カルバリル		○	95 チフルザミド	○	○	150 ベルメトリン	○	○
41 メタラキシル	○	○	96 フラムプロップメチル	○	○	151 ビリダベン	○	○
42 アメトリン	○	○	97 ディルドリン	○	○	152 フルキンコナゾール	○	○
43 プロメトリン	○	○	98 ミクロブタニル	○	○	153 カフェンストロール	○	○
44 エトフメセート	○	○	99 オキシフルオルフェン	○	○	154 フェンコナゾール	○	○
45 ジクロフルアニド			100 ブプロフェジン	○		155 シフルトリン	○	○
46 エスプロカルブ	○	○	101 ブピリメート	○	○	156 シペルメトリン	○	○
47 メトラクロール	○	○	102 クレソキシムメチル	○	○	157 ハルフェンプロックス	○	○
48 チオベンカルブ	○	○	103 メトミノストロピンZ	○	○	158 フルシトリネート	○	○
49 アルドリン			104 アザコナゾール	○	○	159 フェンバレレート	○	○
50 ジェトフェンカルブ	○	○	105 クロルフェナピル			160 フルミオキサジン	○	○
51 クロルタールジメチル	○	○	106 シプロコナゾール	○	○	161 フルバリネート	○	○
52 フェンプロピモルフ	○	○	107 エンドリン	○	○	162 ジフェノコナゾール	○	○
53 シアナジン	○	○	108 ピリミノバックメチルZ	○	○	163 デルタメトリン	○	○
54 トリアジメホン	○	○	109 クロルベンジレート	○	○	164 フルミクロラックペンチル	○	○
55 テトラコナゾール	○	○	110 エチオン	○	○			

### 結果

前処理に QuEChERS 法と従来法を用いた場合のそれぞれの添加回収試験から得られた真度 (%) および併行精度 (RSD%) を 図 2 および 図 3 に示した。真度 (%) および併行精度 (RSD%) を「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について」<sup>7)</sup> の目標値 (真度 70~120%, 併行精度 25%) と比較すると、QuEChERS 法では 129 項目、従来法では 135 項目が目標値を満たした。真度が目標値に近く (60~70% または 120~130%), 併行精度が目標値を満たしているものは、QuEChERS 法は 20 項目、従来法は 8 項目あった。また、両前処理法の併行精度を比較すると、全項目において QuEChERS 法の方が小さい傾向にあった。一方、4 項目 (No.45, 69, 74, 131) については、両前処理法ともに真度が 0~10% となり、ほとんど回収されなかった。

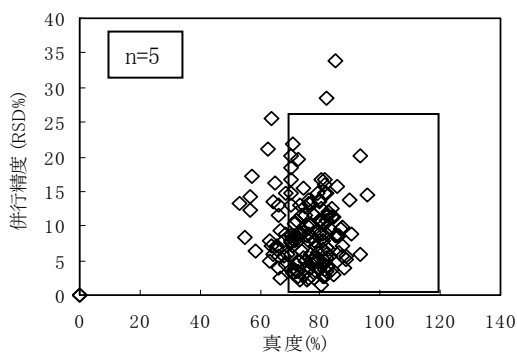


図 2 真度と併行精度 (QuEChERS 法)

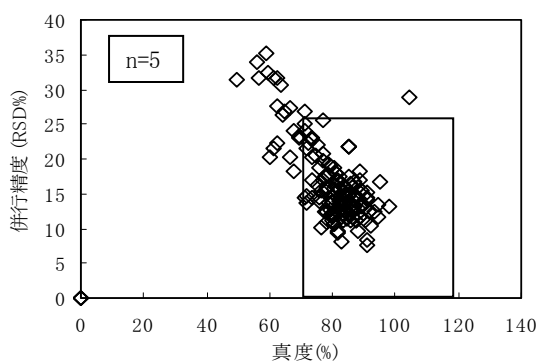


図 3 真度と併行精度 (従来法)

### 考察

既報において、QuEChERS 法を検査の前処理に取り入れると、従来法よりも 1 検体あたりの前処理時間が迅速化されるほか、検査に要する有機溶媒量の削減等に効果があることを報告した<sup>6)</sup>。また、本方法が LC/MS/MS を用いて分析している農薬の検査に有用であることがわかった<sup>6)</sup>ため、GC/MS/MS を用いて分析している項目についても適用できればより多種類の農薬が迅速に分析でき、

今後の検査の迅速化を図ることができると考えられた。

今回 GC/MS/MS を用いて分析している 164 項目について枝豆を用いて検討した結果、QuEChERS 法、従来法ともに約 8 割の項目が真度および併行精度において妥当性評価ガイドラインの目標値を満たす良好な結果を得た。目標値を満たした項目数は、QuEChERS 法の方が 6 項目少なかったが、収去検査で検出率が高いプロシミドン、テブコナゾール、シペルメトリン等の主要な農薬は QuEChERS 法においても目標値を満たした。

一方、リテンションタイムの早い項目 (No.1~11) については、QuEChERS 法、従来法ともに真度が 50~70% のものが多く目標値を達成できなかった。これらの項目の多くが、他の項目よりも低沸点であるため両前処理法に共通する減圧濃縮の操作等で揮発した可能性があり、真度が低くなったと考えられた。また、両前処理法ともに真度が著しく低かった 4 項目については、過去の収去検査時に併せて実施した他の農産品の添加回収試験の結果では、今回の枝豆の結果よりも回収率が高かったため、脂質を多く含む枝豆の夾雑物に影響を受けたことが原因と考えられた。

これまでに LC/MS/MS を用いて分析を行っている 66 項目の農薬について、枝豆を用いた検討で従来法は 26 項目、QuEChERS 法は 52 項目が真度および併行精度において妥当性評価ガイドライン<sup>7)</sup>の目標値を満たす結果が得られている。そのため、今回の GC/MS/MS による検査項目の結果と併せると、QuEChERS 法では 181 項目と従来法の 161 項目よりも多くの項目が妥当性評価ガイドライン<sup>7)</sup>の目標値を満たした。このように、枝豆を用いた検討結果から QuEChERS 法を取り入れた一斉分析法は、残留農薬の検査に有用であると考えられた。農産品によって目標値を達成する項目は異なると考えられるため、今後対象とする農産品をさらに拡大し、妥当性評価を実施する予定である。そして、より多種類の農薬を迅速に分析する検査体制の確立を目指し、県内に流通する農産品の安全性の確保に努めていきたいと考える。

### まとめ

迅速かつ簡便な残留農薬の分析法である QuEChERS 法を検査の前処理に取り入れることについて、GC/MS/MS を用いて検査を行っている 164 項目の農薬において枝豆を試料として検討した結果、以下のことが明らかとなった。

1 本一斉分析法を用いて 164 項目の添加回収試験 (添加濃度 0.01ppm) を実施したところ、従来法と同様に約 8 割の項目が真度および併行精度において妥当性評価ガイドラインの目標値を満たす良好な結果を得た。

- 2 真度および併行精度の目標値を達成できなかった項目は、減圧濃縮操作等による揮発や脂質を多く含む枝豆の夾雑物に影響を受けたためと考えられた。
- 3 既報<sup>6)</sup>による LC/MS/MS を用いて分析する項目の検討結果においても QuEChERS 法は良好な結果であったため、本方法を前処理に取り入れた一斉分析法は残留農薬の検査に有用であると考えられた。

## 文 献

- 1) 高橋真他:農産食品中の残留農薬一斉分析法における LC/MS/MS の適用, 静岡県環境衛生科学研究所報告, **49**, 17-22 (2006)
- 2) Anastassiades, M. et al.: Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the Determination of Pesticide Residues in Produce, J. AOAC Int., **86**, 412-431 (2003)
- 3) 石川順子他:農産物中の残留農薬一斉分析法の妥当性評価について, 香川県環境保健研究センター所報, **12**, 91-99 (2013)
- 4) 高取聡他: LC-MS/MS を用いた迅速な野菜類および果実類中の残留農薬一斉分析法の妥当性評価, 食品衛生学雑誌, **54**, 237-249 (2013)
- 5) 赤木祐介他: QuEChERS 法を活用した残留農薬一斉分析法の検討, 平成 25 年度地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部理化学研究部会, 43-46 (2014)
- 6) 小林千恵他:農産食品中の残留農薬一斉分析法に関する検討, 静岡県環境衛生科学研究所報告, **55**, 45-49 (2012)
- 7) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知:食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について, 平成 22 年 12 月 24 日, 食安発 1224 第 1 号





## 冷凍食品中のマラチオンの緊急検査について

医薬食品部 食品班 小林千恵, 大坪昌広, 瀧井美樹,  
鈴木明子, 小和田和宏

Urgent Determination of Malathion in Cooled Frozen Foods

Chie KOBAYASHI, Masahiro OTSUBO, Miki TAKII,  
Akiko SUZUKI and Kazuhiro OWADA

冷凍食品から高濃度のマラチオンが検出される問題が発生したため、静岡県内において県民から体調不良の届出があった喫食後の冷凍食品の残品について緊急にマラチオンの検査を実施した。

健康被害防止の観点から簡便かつ迅速にマラチオンを検出できる迅速検出法を選定し、検査対象となる5種類の冷凍食品を用いて本迅速検出法の性能評価を実施したところ、評価濃度である1.0ppmよりも高濃度に含まれるマラチオンの検査に適用できることが判明した。本迅速検出法を用いて冷凍食品35検体の検査を実施した結果、全ての検体が1.0ppm未満であり、定量下限(0.1ppm)を超過する検体もなかった。また、検査結果については検体搬入から1~2日後に検査依頼があった保健所へ迅速に報告することができた。

Key words: マラチオン, 冷凍食品, 性能評価  
malathion, cooled frozen food, efficiency valuation

### はじめに

平成25年12月末に、(株)アクリフーズ群馬工場で製造された冷凍食品から有機リン系の殺虫剤であるマラチオン<sup>1)</sup>が高濃度検出される問題が発生した。同工場で製造された冷凍食品を喫食し、体調不良になったという自治体への届出が全国に拡大し、冷凍食品の安全性を脅かす大きな問題となった。

静岡県内においても(株)アクリフーズ群馬工場で製造された冷凍食品が原因と疑われる健康被害の届出が多数あり、原因追求および健康被害の拡大防止のために、喫食後の残品について緊急にマラチオンの検査を実施することになった。

このような事例に対応するため、厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課から「加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法について」(平成25年3月26日付け事務連絡)<sup>2)</sup>が通知されている。当研究所では、加工食品に高濃度に含まれる農薬等を健康被害防止の観点から簡便かつ迅速に検出することを目的としている本通知の方法に準じ、冷凍食品の検査を実施したので報告す

る。

### 試料および方法

#### 1 検体

(株)アクリフーズ群馬工場で製造された冷凍食品のうち、体調不良の届出があり、県内の保健所からマラチオンの検査依頼があった喫食後の残品を検体とした。表1には、検体が搬入された初日を1日目とし、日数の経過ごとに搬入された冷凍食品の商品名および検体数を示した。

#### 2 試薬等

マラチオン標準品は、Dr.Ehrenstorfer製を使用した。その他の試薬については、残留農薬分析用またはそれ以上のものを使用した。

#### 3 方法

「加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法について」<sup>2)</sup>中の加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法-1に準じた。

##### 1) 試験溶液の調製

粉碎均一化した試料10.0gをホモジナイザーカップに量りとり、酢酸エチル75mLおよび無水硫酸ナトリウム75gを加え5分間ホモジナイズした。吸引ろ過後、酢酸エチル20mLを用いてろ紙、ホモジナイザーカップ中の残留物を洗う操作を3回繰り返す。これらの洗液をろ液に合わせた。この溶液を40℃以下で減圧濃縮し、酢酸エチルを用いて正確に10mLにした後0.5mLをとり、水:

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 検査対象の冷凍食品と検体数

検体搬入の日数の経過	商品名	検体数
1日目	ミックスピザ	4
	パイシート	1
2日目	ミックスピザ	1
	とろりコーンクリームコロッケ	2
3日目	ミックスピザ	1
	パイシート	1
	とろりコーンクリームコロッケ	3
	チーズがのびるグラタンコロ	1
	えびとチーズのグラタン	1
	照り焼きソースの鶏マヨ	1
4日目	とろりコーンクリームコロッケ	2
	えびとチーズのグラタン	3
	照り焼きソースの鶏マヨ	1
8日目	パイシート	2
	とろりコーンクリームコロッケ	2
9日目	ポタージュコロ	1
	ミックスピザ	1
	とろりコーンクリームコロッケ	1
	とろりバーコンポテトコロ	1
	えびとチーズのグラタン	2
	焼ラザニア	1
11日目	照り焼きソースの鶏マヨ	1
	ミックスピザ	1

メタノール(1:9)1mL およびヘキサン 5mL を加えて 10 分間振とうした。その後、遠心分離(3000rpm, 5 分間)し、酢酸エチルおよびヘキサン混液層を取り除き、得られた水:メタノール(1:9)を試験溶液とした。

## 2) 評価濃度の設定

検査対象の冷凍食品は、ミックスピザ、パイシート、コロッケ、グラタン、味付きチキンフライに分類された。体重 20kg の子供がこれらの冷凍食品を摂取した場合、マラチオンの急性参照用量(ARfD)である 2mg/kg 体重/日<sup>3)</sup>を超えない濃度を今回用いた迅速検出法-1 の評価濃度に設定することにした。

5 種類の冷凍食品を摂取した場合の濃度を①～⑤のように試算し、その約 1/100～1/1000 にあたる 1.0ppm (1.0mg/kg) を性能評価の評価濃度とした。

### ① ミックスピザ 250g 摂取した場合

$$2\text{mg/kg 体重/日} \times 20\text{kg} \div 0.25\text{kg} = 160.0\text{mg/kg}$$

### ② パイシート 300g 摂取した場合

$$2\text{mg/kg 体重/日} \times 20\text{kg} \div 0.3\text{kg} = 133.3\text{mg/kg}$$

### ③ コロッケ 22g(1 個)摂取した場合

$$2\text{mg/kg 体重/日} \times 20\text{kg} \div 0.022\text{kg} = 1818.2\text{mg/kg}$$

### ④ グラタン 29g(1 カップ)摂取した場合

$$2\text{mg/kg 体重/日} \times 20\text{kg} \div 0.029\text{kg} = 1379.3\text{mg/kg}$$

### ⑤ 味付きチキンフライ 25g 摂取した場合

$$2\text{mg/kg 体重/日} \times 20\text{kg} \div 0.025\text{kg} = 1600.0\text{mg/kg}$$

## 3) 性能評価

あらかじめマラチオンが検出されないことを確認した検体または他社の類似した冷凍食品をブランク試料とした。

粉碎均一化した試料に、マラチオンが 1.0ppm となるように添加し、30 分間放置後に試験溶液を調製した。試験は 3～5 回繰り返し行い、回収率(%)と併行精度(RSD%)を算出したほか、選択性(ブランク試料に妨害ピークがないこと)の確認、評価濃度の確認(回収率の評価をしたマラチオン 1.0ppm を添加したピークについて S/N 比が 10 以上であることを性能パラメーターとして評価した。

## 4) LC/MS/MS の分析条件

### ① 装置

高速液体クロマトグラフは、Alliance2695 (Waters 社製)、質量分析計は、Quattro Micro API (Waters 社製)を用いた。

### ② HPLC 条件

カラム: Mightysil RP-18 GP (関東化学)  
(2.0mm×150mm, 3μm)

カラム温度: 40℃

流速: 0.2mL/min

注入量: 5μL

移動相: A 液 アセトニトリル, B 液 10mmol/L 酢酸アンモニウム溶液 (pH4.5)

グラジエント条件 (A:B(分)): 1:99(0)→1:99(5)→100:0(35)→100:0(40)→1:99(70)→1:99 (80)

### ③ MS 条件

イオン化モード: ESI positive

分析モード: Multiple Reaction Monitoring (MRM)

測定イオン: 331→127(定量イオン)

331→99(確認イオン)

ソース温度: 120℃

脱溶媒温度: 375℃

コーンガス流量: 50L/hr

脱溶媒ガス流量: 600L/hr

## 結果および考察

### 1 迅速検出法の性能評価

「加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法について」<sup>2)</sup>には、3 つの迅速検出法が示されている。今

回、緊急に検査に対応する必要があったため、比較的複雑なミニカラム精製の工程がなく、最も簡便で迅速に対応できる迅速検出法-1を選定し性能評価を行った。

検査対象の冷凍食品における回収率と併行精度の結果を表2に示した。全ての冷凍食品が本通知に示されている目標値(回収率 50~200%, 併行精度 30%)を満たした。選択性については、各々の冷凍食品においてブランク試料に妨害ピークがないことを確認した。また、評価濃度の確認については、回収率の評価をしたマラチオン 1.0ppm を添加したピークの S/N 比が 10 以上であることを確認した。

以上の結果から全ての性能パラメーターが目標値等に適合したため、本迅速検出法を検査に用いることにより 1.0ppm よりも高濃度に含まれるマラチオンの検査に適用できることが判明した。

表2 性能評価結果(回収率および併行精度)

冷凍食品の種類	回収率(%)	併行精度(RSD%)
ミックスピザ	62.1	6.3
パイシート	57.4	13.3
コロッケ	57.2	6.5
グラタン	64.0	9.0
味付きチキンフライ	81.5	13.3

## 2 検体からのマラチオン検出状況

保健所から検査依頼のあった冷凍食品は、11 日間で 35 検体であった(表 1)。迅速検出法-1 に準じて検査した結果、全検体が評価濃度である 1.0ppm 未満であり、定量下限(0.1ppm)を超える検体もなかった。検体数は検体搬入が始まってから 3 日目が最も多く 8 検体あったが、全ての検体において、搬入から 1~2 日後に検査依頼のあった保健所に結果を報告することができた。

一方、群馬県が実施した臭気調査では、コロッケ中のマラチオンの濃度が 100ppm を超えると異常な臭い(ペンキや石油等に類似した臭い)を感じたと報告している<sup>4)</sup>。当研究所では検査の前に全ての検体の臭気を確認したが、通常の冷凍食品では感じられないような異常な臭気はなかった。また、マラチオンの急性参照用量(ARfD)から試算した検体濃度は、最も低濃度となったのがパイシートを 300g 摂取する場合の 133.3ppm であった。そのため、今回の検査対象の冷凍食品を異常な臭気を感じずに喫食し、マラチオンの急性参照用量を超過する可能性は低いと考えられた。

しかしながら、県内の保健所には、アクリフーズの冷凍食品が原因と疑われる 140 件以上の健康被害の届出<sup>5)</sup>

があり県民の食の安全が脅かされる事態となった。市販の有機リン系農薬判別キットでは、マラチオンの濃度が 10ppm で陽性反応となることが確認できたため、今回のように保健所の窓口に健康被害の届出が殺到した場合には、喫食後の残品の簡易検査として今後使用することができると考えられた。さらに、今回の事例を踏まえて県民の食の安全を確保するために、今後冷凍食品等の加工食品を対象とした残留農薬の一斉分析法を検討し、緊急時の検査体制を万全なものとしていきたいと考える。

## まとめ

### 1 迅速検出法の性能評価

- 1) マラチオンの急性参照用量(ARfD)から検査対象の冷凍食品を体重 20kg の子供が摂取した場合における冷凍食品中の濃度を試算し、試算した濃度の約 1/100 ~1/1000 にあたる 1.0ppm を性能評価の評価濃度とした。
- 2) 性能評価を実施した結果、検査対象の冷凍食品において、全ての性能パラメーターが目標値等に適合したため、本迅速検出法が 1.0ppm よりも高濃度に含まれるマラチオンの検査に適用できることが判明した。

### 2 検体からのマラチオン検出状況

- 1) 全ての検体において、検査結果は 1.0ppm 未満であった。また、定量下限(0.1ppm)を超過する検体もなかった。
- 2) 11 日間で 35 検体の検体搬入があったが、迅速に検査を実施し、搬入から 1~2 日後には結果を依頼のあった保健所に報告することができた。

## 文献

- 1) 植村振作他：農薬毒性の事典，205-208，三省堂，東京(2002)
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課通知：加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法について，平成 25 年 3 月 26 日，事務連絡
- 3) 公益財団法人日本中毒情報センターホームページ：冷凍食品から検出されたマラチオンについて  
<http://www.j-poison-ic.or.jp/homepage.nsp/>
- 4) 群馬県ホームページ：報道提供資料  
<http://www.pref.gunma.jp/houdou/>
- 5) 静岡県ホームページ：静岡県健康福祉部生活衛生局衛生課  
<http://www.pref.shizuoka.jp/kousei/ko-520/syokuhin/>



## 残留農薬一斉試験法の妥当性評価について

医薬食品部 食品班 大坪昌広, 瀧井美樹, 小林千恵,  
鈴木明子, 小和田和宏

Validation on Simultaneous Determination for Pesticide Residues

Masahiro OTSUBO, Miki TAKII, Chie KOBAYASHI,  
Akiko SUZUKI and Kazuhiro OWADA

「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」の改正に伴い、レモンおよび枝豆を試料として残留農薬一斉試験法の妥当性評価を実施した結果、レモンを試料とした場合は273項目中240項目、枝豆では194項目が妥当性評価ガイドラインに示された目標値に適合した。また、レモンと枝豆で採用項目数に大きな差が生じることが分かったため、今後は食品の多様性を十分に配慮した上で妥当性評価および取去検査を実施することが重要であると考えられた。

Key words : 残留農薬, 妥当性評価, 一斉試験法

pesticide residue, validation study, simultaneous determination

### はじめに

平成22年12月24日付で「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について」が厚生労働省から通知された<sup>1)</sup>。これにより、通知試験法及び告示試験法を用いて試験する場合も含めて、食品衛生法に定められている農薬等の残留基準への適合性を判断する際は、平成25年12月13日までに試験法の妥当性評価を行い、試験を実施することとなった<sup>2)</sup>。

当研究所では通知試験法に改良を加えた方法で前処理し、GC/MS/MS, LC/MS/MS及びGC-FPDを用いて分析する一斉試験法を用いて、残留農薬の取去検査を実施している。今年度、静岡県において取去検査実施数が多いレモンおよび枝豆を試料として、妥当性評価を行ったので、その結果を報告する。

### 試料および方法

#### 1 試料

事前に農薬が検出されないことを確認したレモンおよび枝豆を試料とした。

#### 2 試薬等

標準品には関東化学(株)製, 和光純薬工業(株)製, 林

純薬工業(株)製およびDr. Ehrenstorfer GmbH社製の農薬標準品を用いた。その他の試薬については残留農薬分析用または特級を使用した。

固層抽出カラムはSupelco社製のENVI-Carb/LC-NH<sub>2</sub>SPE(500mg/500mg)を用いた。

#### 3 装置および分析条件

1) GC/MS/MSの分析条件

##### ① 装置

ガスクロマトグラフはCP-3800(Varian社製), 質量分析計はGC-MS/MS1200(Varian社製)を用いた。

##### ② GC条件

カラム: VF-5ms(Agilent Technologies社製)  
(0.25mm×30m, 膜厚0.25μm)

キャリアガス: ヘリウム(1.2mL/min)

注入口温度: 260°C

カラム昇温: 50°C(1min)→25°C/min→125°C(4min)→  
5°C/min→300°C(6min)

注入量: 2μL

注入方法: パルスドスプリットレス(パルス圧40psi,  
1min)

トランスファーライン温度: 280°C

##### ③ MS条件

イオン源温度: 230°C

イオン化エネルギー: 70eV

イオン化法: EI

分析モード: MRM

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)

2) LC/MS/MS 分析条件

① 装置

高速液体クロマトグラフは Alliance2695 (Waters 社製), 質量分析計は Quattro Micro API (Waters 社製) を用いた.

② HPLC 条件

カラム : Mightysil RP-18 (関東化学)

(4.6mm×150mm, 3µm)

カラム温度 : 40°C

流速 : 0.2mL/min

注入量 : 5µL

移動相 : A 液 水

B 液 100mM 酢酸アンモニウム溶液

C 液 メタノール

グラジエント条件 (A:B:C (分)) :

80:5:15 (0) → 55:5:40 (1) → 55:5:40 (3.5) → 45:5:50 (6) → 40:5:55 (8) → 0:5:95 (17.5) → 80:5:15 (30) → 80:5:15 (40)

③ MS 条件

イオン化モード : ESI positive, ESI negative

分析モード : MRM

ソース温度 : 120°C

脱溶媒温度 : 375°C

コーンガス流量 : 50L/hr

脱溶媒ガス流量 : 600L/hr

3) GC-SPD 分析条件

① 装置

ガスクロマトグラフは Agilent6890N (Agilent Technologies 社製) を用いた.

② ガスクロマトグラフ条件

カラム : DB-5ms (Agilent Technologies 社製)

(0.25mm×30m, 膜厚 0.25µm)

キャリアガス : ヘリウム (0.7mL/min)

水素 : 140mL/min

空気 : 90mL/min

注入口温度 : 240°C

検出器温度 : 250°C

カラム昇温 : 80°C (1min) → 20°C/min → 180°C (5min) → 5°C/min → 275°C (15min)

注入量 : 2µL

注入方法 : パルスドスプリットレス (パルス圧 30psi, 1min)

4 試験溶液の調製方法

通知試験法を一部改良した図 1 に示す前処理法により, 試験溶液を調製した.

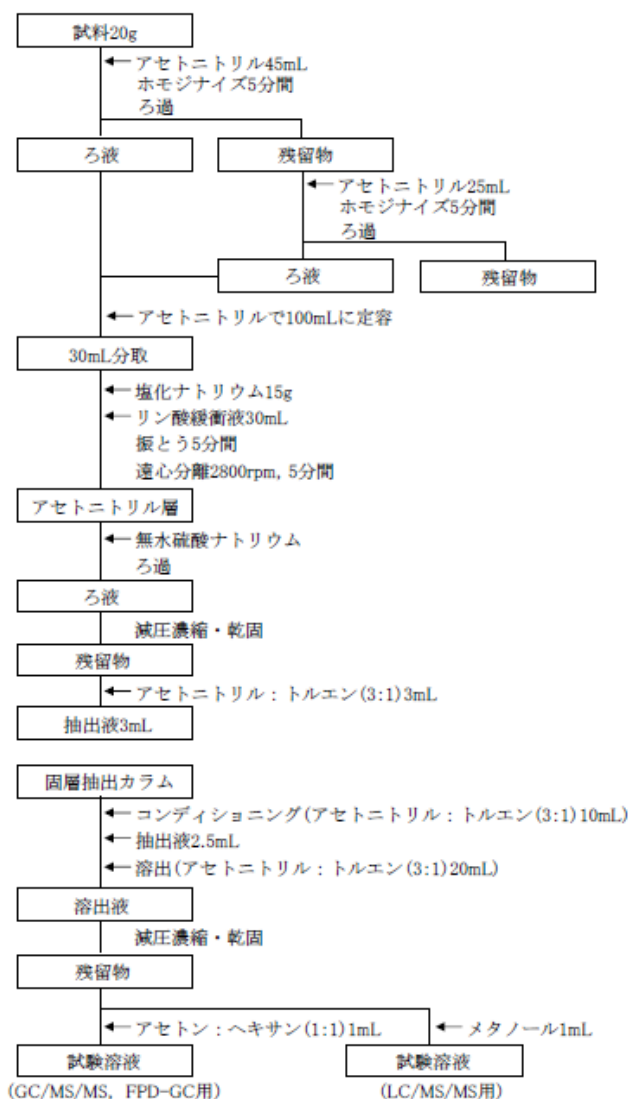


図 1 試験溶液の調製方法

5 妥当性評価計画

1) 添加回収試験

試料 20.0g に各農薬が 0.01ppm および 0.1ppm となるように標準品を添加し, 30 分間放置後, 前処理を実施した.

2) 評価項目および目標値

真度, 併行精度および室内精度は妥当性評価ガイドラインに示された目標値 (表 1) により評価するとともに選択性はブランク試料を試験法に従って試験し, 定量を妨害するピークがないことを確認した. また, 定量限界は一律基準濃度 (0.01ppm) として確認を行った.

表 1 妥当性評価項目および目標値

添加濃度 (ppm)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
0.01	70~120	25 >	30 >
0.1		15 >	20 >

### 3) 枝分かれ実験計画

#### ① GC/MS/MS 分析項目

分析者 2 名が 1 日 1 回 2 併行, 3 日間試験する枝分かれ実験計画により実施した。

#### ② LC/MS/MS および GC-FPD 分析項目

分析者 1 名が 1 日 1 回 2 併行, 5 日間試験する枝分かれ実験計画により実施した。

## 結果および考察

### 1 妥当性評価結果

#### 1) GC/MS/MS を用いた検査項目

GC/MS/MS 分析では 164 種の農薬を対象に妥当性評価を実施した。その結果, レモンを試料とした場合は 150 項目, 枝豆では 130 項目で妥当性評価ガイドラインの目標値に適合した(表 2)。

レモンを試料とした場合に不適合となった農薬は真度の目標値を満たさなかったものが 10 項目, 精度を原因として不適合となったものが 4 項目であった。枝豆を試料とした場合では, 21 項目が真度, 13 項目が精度の目標値を満たさず, 不適合となった。

また, 定量限界については全ての項目において, 一律基準濃度で S/N 比 10 以上が得られた。

#### 2) LC/MS/MS を用いた検査項目

LC/MS/MS 分析では 66 種の農薬を対象に妥当性評価を実施した。その結果, レモンを試料とした場合は 61 項目, 枝豆では 32 項目で妥当性評価ガイドラインの目標値に適合した(表 3)。

レモンおよび枝豆の 2 試料において, 不適合となった全ての農薬は真度の目標値を満たしておらず, 精度のみを原因として不適合となった農薬はなかった。

また, 定量限界については GC/MS/MS 分析項目と同様, 全ての項目において一律基準濃度で S/N 比 10 以上が得られた。

#### 3) GC-FPD を用いた検査項目

GC-FPD 分析では 43 種の農薬を対象に妥当性評価を実施した。その結果, レモンを試料とした場合は 29 項目, 枝豆では 32 項目で妥当性評価ガイドラインの目標値に適合した(表 4)。

レモンを試料とした場合に不適合となった農薬は真度の目標値を満たしていないものが 10 項目, 精度のみが不適合であった農薬はなかった。また, 真度, 精度および選択性が適合した農薬の中で定量限界濃度で S/N 比 10 以上を得られなかったのは, EPN, エトプロホス, ジメチルピビンホス(Z)およびホサロンの 4 項目であった。

枝豆では真度の目標値を満たさなかった農薬が 6 項目, 精度のみが不適合であった農薬はなかった。真度, 精度

および選択性が適合した農薬の中で定量限界濃度で S/N 比 10 以上を得られなかったのは EPN, エディフェンホス, エトプロホス, ジメチルピビンホス E 体および Z 体の 5 項目であった。

### 2 今後の展望

レモンを試料とした場合, 対象とした 273 種の農薬中 240 項目において妥当性評価ガイドラインに示された目標値に適合した。また, 枝豆では 194 項目が目標値を満たした。

レモン等酸性の強い農産食品を試料とした場合と比べ, 枝豆のような脂質の多い農産食品を試料とした場合に適合した農薬数が大きく減少したことから, 食品の多様性への配慮が重要になると考えられる。

しかし, 全ての農産食品について妥当性評価を実施することは現実的に不可能であるため, 早急に類似食品の判断方法を構築し, 検査可能な農産食品の増加を検討したい。

### まとめ

「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」の改正に伴い, 当研究所ではレモンおよび枝豆を試料として残留農薬一斉試験法の妥当性評価を実施した。その結果, レモンを試料とした場合は 273 農薬中 240 項目, 枝豆では 194 項目が妥当性評価ガイドラインに示された目標値に適合した。

適合項目数に大幅な差が生じたことから, 今後は食品の多様性を十分に考慮した上で妥当性評価および収去検査を実施することが重要と考える。

### 文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知: 食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について, 平成 22 年 12 月 24 日, 食安発 1224 第 1 号
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知: 食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて, 平成 19 年 11 月 15 日, 食安発第 1115001 号
- 3) 渡邊敬浩他: 食品分析結果の正しさ~信頼性保証の実践とその意味~, 107-129, 林純薬工業株式会社, 大阪(2011)

表2 妥当性評価結果(GC/MS/MS 分析項目)

No. 項目名	妥当性評価結果		No. 項目名	妥当性評価結果		No. 項目名	妥当性評価結果	
	レモン	枝豆		レモン	枝豆		レモン	枝豆
1 イソプロカルブ	×	×	56 ニトータルイソプロピル	○	○	111 オキサジキシル	○	○
2 フェノブカルブ	○	×	57 ジコホール	○	×	112 pp-DDD	○	○
3 プロボキシル	○	○	58 フサライド	○	○	113 op-DDT	○	○
4 プロパクロー	○	×	59 プロモホスメチル	○	○	114 フルアクリピリム	○	○
5 エタルフルラリン	○	×	60 ジフェナミド	○	○	115 メプロニル	○	○
6 クロルプロファミ	×	×	61 ペンディメタリン	○	○	116 ファムフル	○	○
7 トリフルラリン	○	×	62 フィプロニル	○	○	117 ベナラキシル	○	○
8 ベンフルラリン	○	×	63 ペンコナゾール	○	○	118 カルフェントラゾンエチル	○	○
9 ペンダイオカルブ	○	○	64 ジメタメトリン	○	○	119 トリフロキシストロピン	○	○
10 α-BHC	○	×	65 ヘプタクロルエボキシドB	○	○	120 プロビコナゾール	○	○
11 フリラゾール	○	×	66 ピリフェノックスZ	○	×	121 キノキシフェン	○	○
12 カルボフラン	○	○	67 ヘプタクロルエボキシドA	○	○	122 ピリミノバックメチルE	○	○
13 シマジン	○	○	68 ジクロシメット	○	○	123 レナシル	○	×
14 アトラジン	○	○	69 キャプタン	×	×	124 pp-DDT	○	○
15 β-BHC	○	○	70 ジメピペレート	○	○	125 ピラフルフェンエチル	○	○
16 キントゼン	○	×	71 プロシミドン	○	○	126 ヘキサジノン	○	×
17 クロマズン	○	○	72 トリアジメノール	○	○	127 テニルクロール	○	○
18 γ-BHC	○	×	73 トリフルミゾール	○	○	128 テブコナゾール	○	○
19 シアノホス	○	○	74 ホルベット	×	×	129 ジクロホップメチル	○	○
20 プロビザミド	○	○	75 メチダチオン	○	○	130 ジフルフェニカン	○	○
21 ピリメタニル	○	○	76 ピリフェノックスE	○	×	131 カプタホール	×	×
22 イサゾホス	○	○	77 テトラクロルビンホス	○	○	132 ビリブチカルブ	○	○
23 テフルトリン	○	○	78 パクロブトラゾール	○	○	133 ビリダフェンチオン	○	○
24 トリアレート	○	×	79 ブタクロール	○	○	134 ホスメット	○	○
25 δ-BHC	○	○	80 フェノチオカルブ	○	×	135 ビフェントリン	○	○
26 イプロベンホス	○	○	81 フルトリアホール	○	○	136 プロモプロピレート	○	○
27 ピリミカルブ	○	○	82 フェナミホス	○	×	137 ビベロホス	○	○
28 ベノキサコール	○	○	83 ナプロバミド	○	○	138 ビコリナフェン	○	○
29 ホスファミドン	○	○	84 フルトラニル	○	○	139 メトキシクロ	○	○
30 ジクロフェンチオン	○	○	85 ヘキサコナゾール	○	○	140 フェンプロパトリン	○	○
31 ベンフレセート	○	○	86 メトミノストロピンE	○	○	141 フェンアミドン	○	○
32 ジメテナミド	○	○	87 プレチラクロール	○	○	142 テブフェンピラド	○	○
33 アセトクロール	○	○	88 イソプロチオラン	○	○	143 ビフェノックス	○	×
34 プロモブチド	○	○	89 フルジオキソニル	○	×	144 シハロトリン	×	○
35 クロルピリホスメチル	×	○	90 プロフェノホス	○	○	145 ビリプロキシフェン	○	×
36 メトリブジン	×	○	91 pp-DDE	○	○	146 シハロホップブチル	○	○
37 ピンクロゾリン	○	○	92 オキサジアゾン	○	○	147 アクリナトリン	○	○
38 アラクロー	○	○	93 ウニコナゾールP	○	○	148 ピラゾホス	○	○
39 ヘプタクロ	○	×	94 トリブホス	×	○	149 フェナリモル	○	○
40 カルバリル	○	×	95 チフルザミド	○	○	150 ペルメトリン	×	○
41 メタラキシル	○	×	96 フラムプロップメチル	○	○	151 ビリダベン	○	○
42 アメトリン	○	○	97 デイルドリン	○	○	152 フルキンコナゾール	○	○
43 プロメトリン	○	○	98 ミクロブタニル	○	○	153 カフェンストロール	○	×
44 エトフメセート	○	○	99 オキシフルオルフェン	○	○	154 フェンブコナゾール	○	○
45 ジクロフルアニド	○	×	100 ブプロフェジン	○	○	155 シフルトリン	○	○
46 エスプロカルブ	○	○	101 ブピリメート	○	○	156 シペルメトリン	×	×
47 メトラクロール	○	○	102 クレソキシムメチル	○	○	157 ハルフェンブロックス	○	○
48 チオベンカルブ	○	○	103 メトミノストロピンZ	○	○	158 フルシトリネート	○	○
49 アルドリン	○	○	104 アザコナゾール	○	○	159 フェンバレレート	○	○
50 ジエトフェンカルブ	○	○	105 クロルフェナビル	×	×	160 フルミオキサジン	○	×
51 クロルタールジメチル	○	○	106 シプロコナゾール	○	○	161 フルバリネート	×	○
52 フェンプロピモルフ	○	○	107 エンドリン	○	○	162 ジフェノコナゾール	○	○
53 シアナジン	○	○	108 ピリミノバックメチルZ	○	○	163 デルタメトリン	×	○
54 トリアジメホン	○	○	109 クロルベンジレート	○	○	164 フルミクロラックベンチル	○	○
55 テトラコナゾール	○	○	110 エチオン	○	○			



表3 妥当性評価結果(LC/MS/MS分析項目)

No. 項目名	妥当性評価結果		No. 項目名	妥当性評価結果		No. 項目名	妥当性評価結果	
	レモン	枝豆		レモン	枝豆		レモン	枝豆
1 アセタミプリド	○	○	23 フェノブカルブ	○	×	45 クロマフェノジド	○	×
2 アゾキシストロビン	○	○	24 フェンピロキシメート(E)	○	×	46 クロリダゾン	○	○
3 アルジカルブ	○	×	25 フェンピロキシメート(Z)	○	×	47 シアゾファミド	○	○
4 インダノファン	○	×	26 フラメピトル	○	×	48 シフルフェナミド	○	○
5 エチオフェンカルブ	○	×	27 フルシラゾール	○	○	49 シメコナゾール	○	○
6 エトキサゾール	○	×	28 フルフェノクスロン	○	○	50 ジメチリモール	○	×
7 エトフェンブロックス	○	○	29 ヘキサフルムロン	○	○	51 チアクロプリド	○	○
8 オキサミル	×	×	30 ヘキンチアゾックス	○	○	52 チアベンダゾール	○	×
9 カルバリル	○	×	31 ペンシクロン	○	×	53 チアメトキサム	○	○
10 クミルロン	○	×	32 ベンダイオカルブ	○	×	54 ナプロアネリド	○	○
11 クロフェンテジン	○	×	33 ペントキサゾン	○	○	55 ビリフタリド	○	○
12 クロルフルアズロン	○	○	34 メタベンズチアズロン	○	×	56 フェノキシカルブ	○	○
13 ジフルベンズロン	○	○	35 ルフェスロン	○	○	57 フェリムゾン(E)	×	×
14 シプロジニル	○	×	36 アシベンゾラル-s-メチル	×	×	58 フェリムゾン(Z)	×	×
15 シラフルオフェン	○	○	37 エトベンザミド	×	○	59 ブタフェナシル	○	×
16 ダイムロン	○	×	38 アザメチホス	○	×	60 フラチオカルブ	○	×
17 テブフェノジド	○	×	39 アニロホス	○	○	61 ベンゾフェナップ	○	○
18 テフルベンズロン	○	○	40 イプロバリカルブ	○	×	62 メトキシフェノジド	○	○
19 トリシクラゾール	○	×	41 インドキサカルブ	○	×	63 イソキサフルトール	○	×
20 ビテルタノール	○	×	42 オリザリン	○	○	64 アジンホス-s-メチル	○	○
21 ビリミカーブ	○	×	43 クロキントセットメキシル	○	○	65 ピラゾリネート	○	○
22 ビリミジフェン	○	×	44 クロチアニジン	○	○	66 アバメクチン	○	○

表4 妥当性評価結果(GC-FPD分析項目)

No. 項目名	妥当性評価結果		No. 項目名	妥当性評価結果		No. 項目名	妥当性評価結果	
	レモン	枝豆		レモン	枝豆		レモン	枝豆
1 EPN	×	○	16 ジクロロボス(DDVP)	×	×	30 フェニトロチオン	○	○
2 イソフェンホスオキシソン	○	○	17 ジメチルビンホス(E)	×	○	31 フェンスルホチオン	○	○
3 イソフェンホスオキシソン	○	○	18 ジメチルビンホス(Z)	×	○	32 フェンチオン	○	○
4 イプロベンホス(IBP)	○	○	19 ダイアジノン	○	○	33 フェントエート	○	○
5 エチオン	○	○	20 チオメトン	○	×	34 ブタミホス	○	○
6 エディフェンホス	×	○	21 テルブホス	○	○	35 プロチオホス	○	○
7 エトプロホス	×	○	22 トリアゾホス	○	○	36 プロモホスエチル	○	○
8 エトリムホス	○	○	23 トルクロホスメチル	○	○	37 プロモホスメチル	○	○
9 カズサホス	○	○	24 パラチオン	○	○	38 ホサロン(ルビトックス)	×	○
10 キナルホス	○	○	25 パラチオンメチル	○	○	39 ホスチアゼート1	×	×
11 クロルピリホス	○	○	26 ビラクロホス	×	×	40 ホスチアゼート2	×	×
12 クロルピリホスメチル	○	○	27 ビリダフェンチオン	○	○	41 ホスメット	×	○
13 クロルフェンビンホス $\alpha$	×	○	28 ピリミホスメチル	○	○	42 マラチオン	○	○
14 クロルフェンビンホス $\beta$	×	○	29 フェナミホス	○	○	43 メチダチオン	×	×
15 シアノホス(CYAP)	○	○						



## ウコン含有健康食品の品質評価

医薬食品部 食品班 久保山真帆, 横山玲子, 小和田和宏

Quality Evaluation of Health Foods Containing Turmeric

Maho KUBOYAMA, Reiko YOKOYAMA and Kazuhiro OWADA

県民の食生活の向上および健康増進に役立てることを目的に、健胃作用や肝臓の機能を高めることからお酒をよく飲む人に効果的であると謳われ、多数の健康食品が販売されているウコンに注目し、その機能性成分であるクルクミン類の銘柄間の含有量の比較や有害物質に関する分析等により、ウコン含有健康食品の品質に関する評価を行った。

その結果、一日当たりに摂取するクルクミン類量は銘柄によって大きな差があり、銘柄によるクルクミン類の比率や含有量の差から、使用された原料のウコンの品質に差があることが考えられた。また、一部の銘柄では、一日摂取許容量(ADI)を超える量のクルクミン類が含有されている可能性があることが明らかとなった。

さらに、錠剤、カプセル剤および顆粒剤の崩壊性を試験したところ、崩壊性は銘柄により大きく異なり、一部、胃の中で溶けにくく生体への吸収が懸念される銘柄もあった。また、有害物質に関する試験として、残留農薬と重金属の試験を行ったところ、一部の銘柄からヒ素等が検出されたが、問題となる量ではなかった。

Key words: ウコン, クルクミン, 健康食品  
turmeric, curcumin, health food

### はじめに

高齢化社会の進行や健康志向の高まり、食生活の乱れによる栄養不足等から、「健康食品」に対する消費者の期待は大きい。健康食品は消費者の自己判断で手軽に利用できるという利点がある一方で、過剰摂取や医薬品との併用等の不適切な使用から健康被害が発生している事例も見受けられ<sup>1)</sup>、消費者に対して、健康食品の摂取に関する正しい情報を提供していく必要がある。

また、健康食品は医薬品のような製造管理等の基準がなく、製造業者の自主的な管理に任されているため、品質や安全性の不確かな健康食品が販売されているおそれがあることも懸念される<sup>1)</sup>。さらに、自然由来の原材料を使用した製品では、原材料の品質が一定でないものや、有害物質が除去されていない可能性も考えられる。

そこで、県民の食生活の向上および健康増進に役立てることを目的に、お酒をよく飲む人に効果的であると謳われた多種類の商品が販売されている「ウコン含有健康食

品」を対象に、銘柄間における機能性成分含有量の比較や有害物質に関する分析等により、健康食品の品質に関する評価を行った。

さらに、健康食品の利用状況やどのような情報をもとに健康食品を選択しているのか等の実態を把握するため、県職員および商品テスト講座参加者を対象としたアンケート調査を行ったので、併せて報告する。

### 試料および方法

#### 1 テスト対象

静岡市内のドラッグストアで購入したウコン含有健康食品20銘柄、医薬部外品1銘柄をテスト対象とした(表1)。

#### 2 試薬および標準品

クルクミン、デメトキシクルクミンおよびビスデメトキシクルクミン：長良サイエンス(株)、その他の試薬：特級またはそれ以上のもの

#### 3 方法

##### 1) 表示

商品に記載されている栄養成分等の表示を調査した。

##### 2) クルクミン類含有量

##### ① 試料の調製

日本薬局方の定量法を参考に、形状が錠剤のものは20錠をすりつぶして均一にしたものを、カプセルについては20カプセル中の内容物を取り出し均一にしたものを試料とした。また、茶については、ティーパックの内容物30gを卓上粉碎機で粉碎して250 $\mu$ mのふるいを通した「茶葉」と、製品に表示されている方法で調製した「煮出し茶」を試料とした。ドリンク剤はそのまま試料とした。

② 試験溶液の調製

ドリンク剤(No.15, 16)と煮出し茶(No.17~20)は試料2mLを正確に量り、エタノールを18mL加えた。茶葉(No.17~20)は0.5g、それ以外(No.1~14, 21)は0.1gを正確に量り、エタノールを20mL加えた。その後、30秒間ボルテクスで攪拌し、15分間超音波抽出した後、24 $^{\circ}$ C, 3,200rpmにて20分間遠心分離し、上清を適宜希釈して50%エタノール溶液としたものを0.45 $\mu$ mのメンブランフィルターでろ過してHPLC用試験溶液とした。また、煮出し茶は0.25 $\mu$ mのメンブランフィルターでろ過してLC/MS用試験溶液とした。

③ HPLC 測定条件<sup>2)</sup>

カラム：Mightysil RP-18 GP Aqua (4.6mm $\times$ 150mm, 5 $\mu$ m, 関東化学株)  
 移動相：アセトニトリル：2.5%酢酸(60:40)  
 カラム温度：40 $^{\circ}$ C  
 流量：1.0mL/min  
 検出器(PDA)：425nm

表1 購入した健康食品

銘柄No.	形状(内容量)	金額(円)
1	カプセル剤 (60cp)	980
2	カプセル剤 (40cp)	570
3	カプセル剤 (120cp)	2,980
4	錠剤 (60錠)	1,580
5	錠剤 (60錠)	1,398
6	錠剤 (120錠)	1,207
7	錠剤 (90錠)	1,575
8	錠剤 (90錠)	1,980
9	錠剤 (240錠)	980
10	錠剤 (250錠)	2,940
11	顆粒 (3包)	278
12	粉末 (150g)	980
13	粉末 (120g)	980
14	液体 (5個)	980
15	ドリンク剤 (1本)	186
16	ドリンク剤 (6本)	698
17	茶 (24パック)	819
18	茶 (18パック)	980
19	茶 (26パック)	417
20	茶 (30パック)	1,029
21	錠剤(医薬部外品) (30錠)	1,890

④ LC/MS 測定条件<sup>3)</sup>

カラム：Mightysil RP-18 GP Aqua (2.0mm $\times$ 150mm, 3 $\mu$ m, 関東化学株)  
 移動相：アセトニトリル：0.1%ギ酸(45:55)  
 カラム温度：40 $^{\circ}$ C  
 流量：0.2mL/min  
 測定モード：MRM (ESI+)  
 測定イオン：クルクミン 369.4 $\rightarrow$ 177.1  
 デメトキシクルクミン：339.4 $\rightarrow$ 147.0  
 ビスデメトキシクルクミン：309.4 $\rightarrow$ 147.0

3) 茶製品の煮出し時間および浸出回数によるクルクミン類溶出量の変化と保存によるクルクミン類含有量の変化

① 試料の調製

煮出し時間の比較試験では、No.17~20を対象に、煮出し開始後、2, 5, 10, 20分後に茶を採取した。なお、煮出し中は緩やかに沸騰した状態を維持した。

浸出回数の比較試験では熱湯を注ぐ方法(注ぎ法)での作り方が記載されていたNo.18を対象に、浸出回数を1~3回として、熱湯を注いで5分経過後の茶を採取した。

保存条件の比較試験では、室温および冷蔵庫で24時間保存した煮出し茶を採取した。

② 試験溶液の調製

2)②と同様に試験溶液を調製した。

③ LC/MS 測定条件

2)④のLC/MS測定条件を用いた。

4) 崩壊試験

健康食品には溶けやすさに関する基準等がないため、同様の形状で溶けやすさの規定がある医薬品を参考に、第十六改正日本薬局方「6.09 崩壊試験法」<sup>4)</sup>に準じて、錠剤、カプセル剤および顆粒剤の健康食品を対象に崩壊試験を行った。錠剤、カプセル剤は検体をそのまま試料とし、顆粒剤は、30号(500 $\mu$ m)ふるいでふるった後、ふるいに残留したものを0.1gずつ補助筒にとり、水に対する試験を行った。試験時間は、同法の規定に準じ、錠剤30分、カプセル剤20分、コーティング錠60分、剤皮を施していない顆粒30分とした。

5) 重金属試験

① 試料の調製

2)①と同様に試料を調製した。

② ヒ素分析用試験溶液の調製<sup>5)</sup>

試料1gを磁製るつぼに正確に量り、これに硝酸マグネシウム六水和物エタノール(95)溶液(1 $\rightarrow$ 50)を20mL加え、エタノールに点火して燃焼させた後、電気炉(500 $^{\circ}$ C, 10時間)で加熱して灰化した。冷後、灰分に塩酸(1 $\rightarrow$ 4)を10mL加え、ホットプレート上で100 $^{\circ}$ Cに加熱し、ろ

紙(No.5C, 110mm)でろ過した後、蒸留水で50.0mLとしたものを試料溶液とした。試料溶液 10.0mL に塩酸 5mL を加えた後、ホットプレート上で約5分間加温し、冷後、20%ヨウ化カリウム溶液 2mL を加えて蒸留水で全量を25.0mLとし、試験溶液とした。

③ カドミウム、鉛分析用試験溶液の調製<sup>5)</sup>

試料 2g を磁製するつばに正確に量り、これに硫酸 2mL を加え、ホットプレート上で徐々に加熱し、硫酸蒸気がほとんど発生しなくなった後、電気炉(580℃, 12 時間)で加熱して灰化した。冷後、灰分に硝酸(1→100)を8mL加え、ホットプレート上で2分間加熱し、固形物を溶解した。この溶液を硝酸(1→100)で全量を 10.0mL とし、0.45 μm のメンブランフィルターでろ過してカドミウムおよび鉛分析用試験溶液とした。

④ 分析

測定は contr300 を使用した。

6) 残留農薬試験

生産地が外国と思われる No.3, 4, 13, 17, 20 の銘柄について、表 2 に示した項目について残留農薬試験を行った。

① 試料の調製

2)①と同様に試料を調製した。

②試験溶液の調製

当研究所の「茶中の残留農薬一斉試験法(SOP: EI-C-T-040)」に従って試験溶液を調製した。

表2 残留農薬一覧

ジクロロホス	EPN	シアノホス
カスサホス	ホサロン	エトリムホス
テルブホス	ダインソ	イロベンホス
パラチオンメチル	クロルピリホスメチル	ジメチルピリンホス(E)
ピリメチルホス	トルクロホスメチル	ジメチルピリンホス(Z)
マラチオン	フェントロチオン	イソフェンホスオキソン
フェンチオン	クロルピリホス	プロモホスメチル
ホスホアセート 1	パラチオン	CVP β
ホスホアセート 2	CVP α	プロモホスエチル
イソフェンホス	CVP β	バミチオン
フェントエート	キナルホス	ブタミホス
フェナホス	メチダチオン	エチオン
フェンスルホチオン	プロチオホス	エチフェンホス
トリアゾホス	エトプロホス	PMP
ピリダフェンチオン	チオメソ	ピラクロホス

7) 健康食品の利用状況等調査

県職員(SDO 利用者)および商品テスト講座参加者に対して、健康食品の利用状況、購入時に重視する項目、健康食品に関して不足を感じている項目等についてアンケート調査を行った。

結果および考察

1 表示

健康食品 20 銘柄は、すべての銘柄で、名称、原材料名、

内容量、賞味期限、保存方法、製造業者等の氏名又は名称および住所に関する必要な記載があった。5 銘柄(No.14, 17~20)において原産国表示があり、原産国表示としてではなかったが、添付の資料から外国産の原料が使用されていると思われる銘柄が 1 銘柄あった。

使用上の注意事項として、薬との併用に関する注意事項が記載されているものは 11 銘柄(No.1~7, 9, 10, 12, 13)、体に合わない場合は使用を中止するように記載されているものは 15 銘柄(No.1~10, 12, 13, 16, 19, 20)であった。今回のテスト対象は栄養機能食品ではないが、栄養機能食品で記載が義務付けられているバランスの取れた食生活の普及啓発を図る文言(「食生活は、主食、主菜、副菜を基本に、食事のバランスを。」)<sup>6)</sup>は 10 銘柄(No.1~8, 12, 13)で記載されていた。

栄養成分表示の記載があったのは、15 銘柄(No.1~10, 12~16)で、クルクミン類の含有量に関する記載があったのは 15 銘柄(No.1~11, 13~16)であった。クルクミン類の含有量に関する記載があったすべての銘柄において、クルクミン類含有量は、定められた栄養成分以外の成分の表示として、枠外や線等で区切られ適切に記載されていた。

今回調査対象とした健康食品 20 銘柄については、加工食品として必要な表示が行われており、多くの銘柄で、使用上の注意や栄養成分に関する記載があった。

2 クルクミン類含有量

各銘柄における一日摂取目安量あたりのクルクミン類(クルクミン、デメトキシクルクミン、ビスデメトキシクルクミン)の含有量を図 1 に示した。

一日摂取目安量あたりのクルクミン類の含有量は、0.95~287.7(mg)と、銘柄によって大きな差があり、クルクミン類の比率や含有量の差から、使用された原料のウコンの品種等に違いがあることが推測された。一般的にウコンに含有されるクルクミン類は、秋ウコンにおいては、デメトキシクルクミンとビスデメトキシクルクミンの含有量がほぼ同じで、春ウコンにおいてはデメトキシクルクミンがビスデメトキシクルクミンより含有量が多いとされている<sup>7)</sup>。今回の調査対象銘柄のうち、商品名、原材料名、添付資料等から秋ウコンが使用されていると考えられた製品は 10 銘柄あったが、クルクミン類の含有比率に一定の傾向は見られなかった。

製品のパッケージ等にクルクミン類の含有量が表示されているのは 20 銘柄中 15 銘柄であったが、表示に対するクルクミン類含有量は-24.3%から+53.3%であり、実際と大きく異なっている銘柄はなかった。

茶の形状の銘柄(No.17~20)について、製品に表示されている方法で調製した「煮出し茶」と「茶葉」のクルク

ミン類含有量を測定したところ、煮出し茶中には、茶葉に含まれるクルクミン類の1~2割程度しか抽出されていなかった。

ウコン含有健康食品の原材料としてはウコン末、ウコンエキス、ウコン濃縮液等が使用されているが、ドリンク剤を除き、ウコン末よりはウコンエキス、ウコン濃縮液を使用した銘柄の方がクルクミン類含有量は高い傾向にあった。

クルクミンはFAO/WHO 合同食品添加物専門会議(JECFA)における食品添加物としての評価によりADI(1日摂取許容量)が体重1kgあたり0~3mgと設定されている<sup>8)</sup>。図1には体重60kgの人の場合の範囲を示したが、3銘柄(No.3, 4, 8)でADIを超える可能性のあるクルクミン類が含有されていることが明らかとなった。

これらの銘柄は濃縮エキスを原材料として使用しており、クルクミンを高濃度に含有していることを強調する表示が見られた。ウコンは健胃作用や肝臓の機能を高めるといわれており<sup>9)</sup>、お酒をよく飲む人に効果的であると謳われた健康食品が20銘柄中12銘柄と多かったが、

毎日の健康維持や美容にも効果的であると謳われた健康食品も20銘柄中13銘柄と多く、健康のために毎日摂取する人もいる可能性があるため、注意が必要であると考えられた。

### 3 茶製品の煮出し時間および浸出回数によるクルクミン類溶出量の変化と保存によるクルクミン類含有量の変化

浸出時間ごとの煮出し茶中のクルクミン類の含有量を測定し、以下の式によりクルクミン類の煮出し茶中への溶出率を算出した(図2)。

$$\text{溶出率(\%)} = (\text{茶中含有量(mg/L)} \times \text{茶量(L)}) / (1 \text{ パックあたりの重量(g)} \times \text{茶葉中含有量(mg/g)}) \times 100$$

製品によって溶出率は若干異なったが、どの銘柄においても煮出し時間を長くすることによってクルクミン類の溶出量が増えることがわかった。各商品の作り方には煮出し時間の目安が記載されていたが、色や香りの好みによって調節するように記載のある銘柄もあった。20分煮出しても最大で約35%の溶出率であったが、クルクミン類の溶出量が増えるのにしたがって茶の色が濃くなるので、好みに応じて色を目安に煮出し時間を調節するの

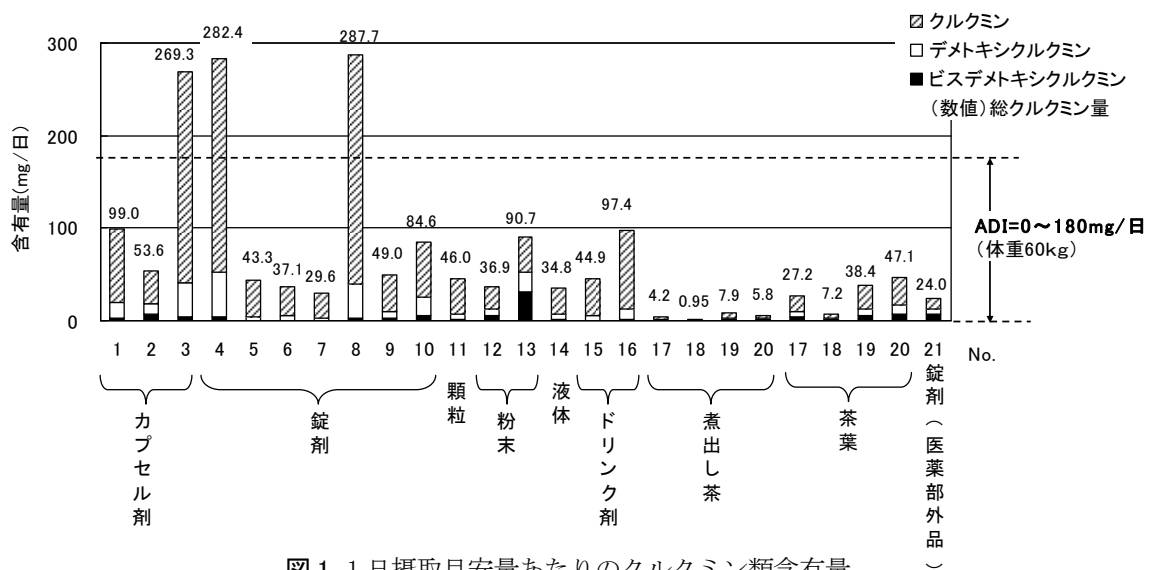


図1 1日摂取目安量あたりのクルクミン類含有量

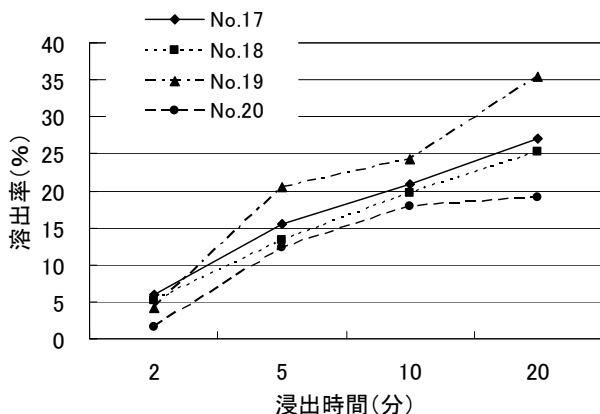


図2 各溶出時間におけるクルクミン類の溶出率

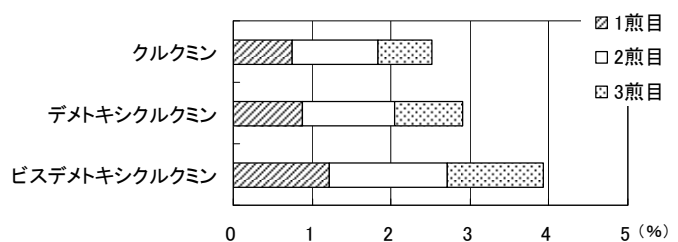


図3 浸出回数によるクルクミン類の溶出率

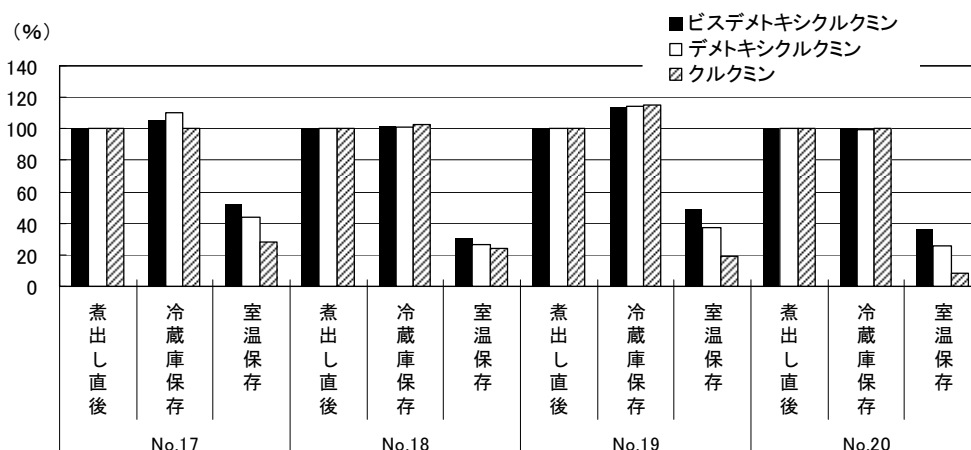


図4 煮出し直後のクルクミン類含有量を100%とした場合の24時間保存後のクルクミン類含有量

がよいと思われた。

注ぎ法において、浸出回数を変えた場合のクルクミン類の含有量を測定し、前述の式によりクルクミン類の茶中への溶出率を算出した(図3)。

注ぎ法と煮出し法の両方の作り方が記載されていたNo.18において両方法で調製した浸出液中のクルクミン類の溶出量を比較すると、注ぎ法で10分経過した時の溶出量は煮出し法(10分)の溶出量の約20分の1程度であった。また、注ぎ法では熱湯を注いだ後、3時間経過後もクルクミン類の溶出量はほとんど増えなかったため、より多くのクルクミン類を溶出させたい場合には煮出し法が適していると考えられる。

注ぎ法における浸出回数によるクルクミン類の溶出量については、一回ごとの溶出量にはほとんど差が認められなかった。また3煎分を合計してもその溶出量は茶葉に含有されているクルクミン量の約4%であった。

保存条件を変えた場合のクルクミン類の含有量について、煮出し直後の茶中のクルクミン類含有量を100とした場合の24時間冷蔵庫保存後および室温保存後のクルクミン類含有量を図4に示した。冷蔵庫保存ではクルクミン類含有量に変化が見られなかったが、室温で保存したものでは、クルクミン類含有量が半分以下に減少していた。これはクルクミンが光によって分解するため<sup>10)</sup>と考えられ、クルクミン類含有量を維持するためには、冷蔵庫保存が必要であることがわかった。

#### 4 崩壊試験

錠剤、カプセル剤および顆粒剤の健康食品を対象に、崩壊試験を行ったところ、カプセル剤1銘柄(No.2)と錠剤2銘柄(No.7, 8)については規定の時間内に崩壊しなかった(表3)。

錠剤、カプセル剤および顆粒剤の形状をした健康食品

表3 日本薬局方「6.09 崩壊試験法」における試験結果

種類	銘柄No.	形状	結果
健康食品	1	カプセル剤	○
	2	カプセル剤	×
	3	カプセル剤	○
	4	錠剤(素錠)	○
	5	錠剤(コーティング錠)	○
	6	錠剤(コーティング錠)	○
	7	錠剤(コーティング錠)	×
	8	錠剤(素錠)	×
	9	錠剤(素錠)	○
	10	錠剤(素錠)	○
	11	顆粒(剤皮のない顆粒)	○
医薬部外品	21	錠剤(コーティング錠)	○

○：規定時間内に崩壊した

×：規定時間内に崩壊しなかった

の場合、摂取した後に速やかに崩壊しないと体内で消化吸収することができないため、今回、規定時間内に崩壊しなかった3銘柄は消化・吸収しにくい製品ではないかと懸念された。

#### 5 重金属試験

ウコンのように植物由来の原材料を使用した製品では、土壌中の有害物質の濃縮が起こることがある<sup>11)</sup>。調査対象銘柄の中には濃縮したウコンエキスを原材料として使用している銘柄もあり、重金属等の有害物質も濃縮されている可能性も考えられる。

今回の調査では一部の銘柄より重金属類が検出された(図5)が、日本薬局方「ウコン」<sup>4)</sup>のヒ素 $5\mu\text{g/g}$ 以下、食品添加物「ウコン色素」<sup>12)</sup>の鉛 $10\mu\text{g/g}$ 以下という基準から、これらの重金属の含有量は問題となる量ではないと考えられた。

また、カドミウムについてはウコンに関連する個別の基準がないため、図5では国内で基準のある米の基準値<sup>13)</sup>を参考に示した。No.21でこの基準値を超えたが、No.21の一日摂取目安量は約3.7gと米に比べるとわずかであるため、カドミウムの含有量についても問題となる量ではないと考えられた。

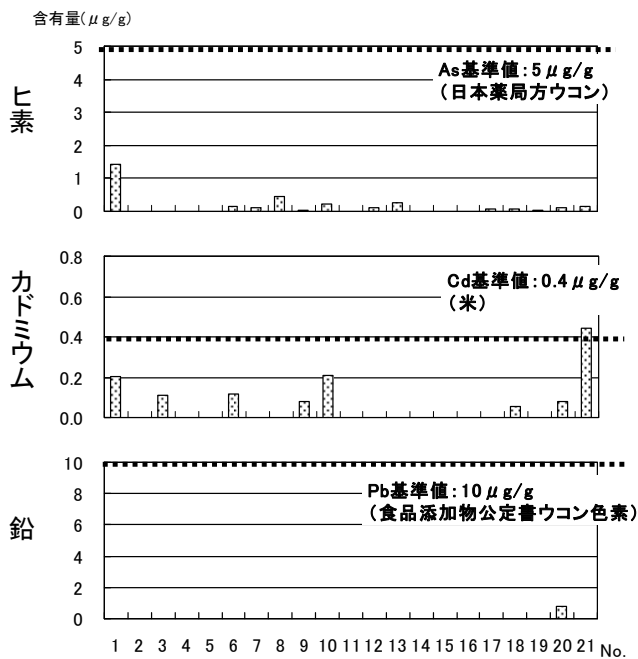


図5 ヒ素，カドミウム，鉛の含有量

## 6 残留農薬試験

今回は，日本以外の原産国が記載されていた銘柄を中心に，5銘柄について残留農薬試験を実施し，対象の農薬45種はすべて不検出であった。

## 7 健康食品の利用状況等調査

調査を実施したところ，1,701人(静岡県職員1,623人，出前講座参加者78人)から回答が得られた。

64%の回答者が現在または過去に健康食品を利用したことがあると回答しており，そのうち半数以上が2種類以上の健康食品を利用していた。今回テスト対象とした「ウコン」を利用したことがある人は13%で，女性に比べて男性の利用者が多かった。

消費者がどのような点を重視して健康食品を購入するか調査したところ，機能性が62%と最も多く，価格，安全性，成分含有量，メーカーと続いた。

健康食品に関する情報については約8割の人が情報不足を感じており，特に，多くの人が不足していると感じている「成分の安全性」，「機能性」，「健康食品同士の相互作用」に関する情報は，製品のパッケージ等には記載されていない，現在の制度上記載することのできない内容であり<sup>14)</sup>，これらの情報を得るためには，専門機関のホームページを見る等，消費者自らが意識して，情報を得る必要がある。

消費者が適切に健康食品を利用するためには，製品のプラスの面ばかりを強調するのではなく，必要量や過剰摂取に関する注意喚起等の情報提供を行うことも重要であると考えられた。

## まとめ

クルクミンはカレー粉の香辛料としても知られているウコン(ターメリック)の黄色色素で，スパイスや着色料として用いられる一方，日本薬局方<sup>4)</sup>に記載され，利胆，芳香性健胃等に用いられる生薬でもある。

今回，一日摂取目安量あたりのクルクミン類含有量を調査したところ，3銘柄でADIを超える可能性のあるクルクミン類が含有されていることがわかった。クルクミン類は，着色料等として通常の食事から摂取する程度の量であれば特に問題ないと考えられるが，過剰摂取や長期摂取では消化管障害が起きる可能性があるため，注意が必要である<sup>9)</sup>。また，クルクミン類は，胆汁の分泌を促し，肝臓の働きを助けると考えられている<sup>9)</sup>が，ウコン製品に含まれる鉄分の影響で肝機能が悪化するという報告<sup>9)</sup>もあるため，肝臓疾患を持つ人は摂取を控えた方がいいと考えられる<sup>5)</sup>。

現在の制度では，健康食品そのものに，消費者が知りたいと思っている情報が全て記載されている訳ではないが，購入時には，生産地や原材料，機能性成分の含有量等の記載内容を確認した上で，商品を選択することが重要となる。また，健康食品のリスクに関する情報を収集した上で，体や体調と相談しながら，健康食品を利用していくことが望まれる。

今回の調査結果を踏まえ，県民に対して健康食品の適正な商品選択，利用に関する啓発を行っていく。

## 文 献

- 1) 梅垣敬三:健康食品を正しく理解しよう！, 国民生活, 11, 1-5, (2013)
- 2) 福島悦子他:高速液体クロマトグラフィーによる栽培ハルウコン中のクルクミンの定量, 千葉衛研報告, 第20号, 37-40, (1996)
- 3) 市場俊雄:LC/MS/MSによる県産植物成分の定量, 沖縄県工業技術センター研究報告書, 第6号, 93-99, (2004)
- 4) 厚生労働省:第十六改正日本薬局方, 平成23年3月24日付厚生労働省告示第65号
- 5) 安野哲子他:天然添加物中の重金属およびヒ素含有量, 東京衛研年報, 51, 193-196, (2000)
- 6) 厚生労働省:「健康食品」に係る制度の見直しについて, 平成17年2月1日, 薬食発第0201001号
- 7) 佐藤誠他:市販ウコン末の品質評価, 三重保環研年報, 第6号, 52-54, (2004)
- 8) EVALUATION OF CERTAIN FOOD ADDITIVES AND CONTAMINANTS:WHO Technical Report Series, 922, 18-22



- 9) 独立行政法人国立健康・栄養研究所ホームページ:「健康食品」の安全性・有効性情報(<https://hfnet.nih.go.jp/>)
- 10) 日本薬学会編: 食品衛生法・注解, 366, (2005)
- 11) 玉置雅紀: 毒を貯める植物 植物はなぜ重金属を貯めるのか?, 国立環境研究所ニュース, 26 巻, 6 号, (2008)
- 12) 厚生労働省: 第 8 版食品添加物公定書, 247, (2007)
- 13) 厚生労働省: 食品, 添加物等の規格基準の一部改正について, 平成 22 年 4 月 8 日食安発 0408 第 2 号
- 14) 消費者庁ホームページ: 健康や栄養に関する表示の制度について (<http://www.caa.go.jp/foods/index4.html>)



## 味噌に含まれるイソフラボンに関する調査について

医薬食品部 食品班 横山玲子, 久保山真帆, 小和田和宏

Investigation of Isoflavone Contents in Bean Paste(Miso)

Reiko YOKOYAMA, Maho KUBOYAMA and Kazuhiro OWADA

日本食の代表的な調味料である味噌を対象として、エストロゲン作用があるとして消費者の注目を集めている機能性成分であるイソフラボンの含有量を調査した。その結果、味噌 1g あたりのイソフラボン含有量は 112.87 ~ 582.66  $\mu\text{g}$  であり、麦みそは米みその約 2 分の 1、豆みその約 4 分の 1 の含有量であった。

また、家庭における保存条件を想定し、常温明所、常温暗所および冷蔵庫保存したときのイソフラボン含有量の変化を調査したところ、イソフラボン配糖体であるダイジンおよびグリシチンは、時間の経過とともにやや減少する傾向が、アグリコン型イソフラボンであるダイゼイン、グリシテインおよびゲニステインはやや増加する傾向が見られた。同時に色調の変化を確認したところ、常温明所および常温暗所保存では、1 ヶ月保存で味噌の色がやや濃くなり、時間の経過とともにさらに褐変した。冷蔵庫保存では、色調の変化は見られなかった。

Key words: 味噌, イソフラボン含有量, 配糖体, アグリコン  
bean paste(miso), isoflavone content, glucoside, aglycon

### はじめに

大豆や大豆加工食品に含まれるイソフラボンは、抗酸化作用や女性ホルモン様作用（エストロゲン作用）を示す<sup>1-3)</sup>として消費者の注目を集めている機能性成分である。特にアグリコン型イソフラボンは、配糖体と比較して腸における吸収がよく、エストロゲン作用を強く発揮するといわれている<sup>4)</sup>。美しい肌を保ったり、骨粗しょう症などの病気の抑制効果を期待して、大豆加工食品やイソフラボン含有サプリメントなどを摂取する消費者も少なくない。

大豆は「畑の肉」と呼ばれ、良質のたんぱく質や脂質を豊富に含み、さらにはイソフラボンやサポニンなどの機能性成分を含んだ優れた食材である。一方、日本に古くから伝わる味噌は、原材料として大豆を使用した大豆加工食品であり、大豆に含まれる栄養成分や機能性成分を豊富に含む。日本人の食文化には欠かすことのできない調味料であり、日本型食生活の中心的な役割を担っている。

味噌の最初の記録は「大宝令」にあるといわれる<sup>5,6)</sup>。

平安時代には庶民にとってぜいたく品であった味噌は、鎌倉時代には味噌汁に利用されるようになり、「一汁一菜」という鎌倉武士の食事の基本が確立した。戦国時代には味噌は戦国武将の必携品となり、江戸時代になると味噌は広く普及して味噌料理も洗練されていった。そして、明治以降新たな醸造法が考案され、それまで 1~3 年の醸造期間が必要であったところ、数ヶ月で醸造することが可能となり、戦後になり全国に普及した。

そして現在、味噌はこの家庭においても常備されていると言っても過言ではなく、多くの消費者が身近に利用しており、広く親しまれている。

そこで、このように身近な調味料である味噌に着目し、静岡県内に流通する味噌について、イソフラボン含有量を調査したので報告する。

### 試料および方法

#### 1 調査対象食品

静岡市内での店頭で購入した、米みそ 7 銘柄、麦みそ 3 銘柄、豆みそ 3 銘柄および調合みそ 2 銘柄（豆みそと米みそおよび麦みそと米みその調合）の合計 15 銘柄を対象とした（表 1）。なお、静岡市内で市販されている味噌は、その多くが米みそであり、麦みそや豆みそは少数であった。

表1 調査した味噌

No.	品名	購入価格 (円)	内容量 (g)
1	米みそ	297	1000
2	米みそ	227	1000
3	米みそ	297	1000
4	米みそ	77	700
5	米みそ	880	1000
6	米みそ	398	1000
7	米みそ	398	1000
8	麦みそ	498	1000
9	麦みそ	298	1000
10	麦みそ	408	1000
11	豆みそ	198	500
12	豆みそ	98	500
13	豆みそ	198	500
14	調合みそ(豆、米)	198	1000
15	調合みそ(麦、米)	798	1000

## 2 方法

### 1) 試料の調製

検体は、そのまま試料とした。

### 2) 試験溶液の調製<sup>7,8)</sup>

試料 1g を正確に量りとり、70%エタノール 10mL を加えた。次に、ポルテクスを用いて味噌のかたまりがなくなるまで混合した後、振とう器で2時間振とうした。その後、10°C、2500rpm で10分間遠心分離して上清を得た。この液について、0.45 μm のフィルターを通過した液を試験溶液とした。

### 3) 調査対象項目

調査対象項目は、大豆イソフラボンのうち以下の6物質である。

ダイジン、グリシチン、ゲニスチン、ダイゼイン、グリシテイン、ゲニス테인

### 4) 装置および測定条件

測定は、HPLC を用いて行った。測定条件は以下のとおりである。

カラム：Mightysil RP-18GP Aqua(4.6×150mm, 3 μm)

カラム温度：40°C

溶離液：0.1%酢酸含有アセトニトリル：0.1%酢酸

0min (10 : 90) - 50min (35 : 65) グラジエント

流速：0.8mL/min

検出波長：UV 260nm

注入量：20 μL

### 3 保存条件の違いによるイソフラボン含有量の変化

米みそ、麦みそおよび豆みそからそれぞれ1銘柄、合

計3銘柄(調査銘柄：No.2, 9, 12)について、実際の家庭における保存条件を想定し、検体を開封後、次の条件において保存し、1ヵ月後、2ヵ月後および3ヵ月後にイソフラボン含有量を測定した。また、検体の色調の変化を確認した。

#### 1) 常温明所(以下、「明所」と記す)

実験室内の棚の上で、直射日光の当たらない明るい場所に保管した。

#### 2) 常温暗所(以下、「暗所」と略す)

実験室内の棚の中で、光の当たらない暗い場所に保管した。

#### 3) 冷蔵庫に保管(以下、「冷蔵庫」と略す)

冷蔵庫の中(4°C)に保管した。

## 4 標準品および試薬

ダイジンおよびグリシチンは長良サイエンス株式会社製、ダイゼインはフジッコ株式会社製、ゲニスチン、グリシテインおよびゲニス테인は和光純薬株式会社製を用いた。

その他の試薬は、HPLC用またはLC/MS用を用いた。

## 結果および考察

### 1 大豆イソフラボン含有量調査

調査した味噌15銘柄のイソフラボン含有量を表2に示した。その結果、味噌1gあたりの総イソフラボン含有量は、米みそ239.85~499.38 μg、麦みそ112.87~190.31 μg、豆みそ541.98~582.66 μgであり、総イソフラボンの平均含有量は、味噌1gあたり米みそ370.33 μg、麦みそ155.30 μg、豆みそ561.50 μgであった。これをアグリコンに換算すると、米みそ196.98~355.68 μg、麦みそ87.28~149.55 μg、豆みそ540.38~570.82 μgであり、アグリコン換算後の平均含有量は、米みそ285.65 μg、麦みそ127.31 μg、豆みそ553.32 μgであった。麦みそは米みそや豆みそと比較してイソフラボンの含有量が少なく、米みそのおよそ2分の1、豆みそのおよそ4分の1であった(図1)。調合みそ2銘柄の総イソフラボン含有量は732.22および174.40 μgであり、豆みそと米みそとの調合みそがイソフラボンの含有量が高かった。

大豆や大豆加工食品では、イソフラボンのほとんどが配糖体で存在し、体内に吸収されるためには腸内細菌によってアグリコンに分解される必要がある。一方、味噌などの発酵食品では、熟成中にアグリコンに分解され<sup>4)</sup>、食事から摂取する段階で、すでに腸管から吸収されやすい状態である。そこで、アグリコン型イソフラボンであるダイゼイン、グリシテインおよびゲニス테인の合計含有量を見ると、味噌1gあたり、米みそでは102.89~197.45 μg、麦みそでは45.61~116.28 μg、豆みそ530.54

表2 味噌中の各イソフラボン含有量

種類	ダイゼン	グリチン	ゲニステン	ダイゼン	グリシテイン	ゲニステイン	合計
1 米みそ	33.68	0	61.22	49.92	9.88	85.15	239.85
2 米みそ	78.29	11.05	124.42	32.11	4.20	66.58	316.65
3 米みそ	98.04	8.15	136.87	78.62	20.81	95.09	437.59
4 米みそ	60.90	10.01	113.42	83.03	16.58	97.84	381.78
5 米みそ	36.64	3.47	73.23	41.24	9.73	75.65	239.96
6 米みそ	152.62	13.62	166.10	60.15	11.89	72.68	477.07
7 米みそ	171.33	16.87	189.15	50.23	9.10	62.70	499.38
8 麦みそ	39.81	5.24	62.34	31.30	4.64	46.99	190.31
9 麦みそ	29.08	3.66	34.52	16.46	0	29.15	112.87
10 麦みそ	16.62	2.40	27.41	41.38	10.05	64.84	162.72
11 豆みそ	8.66	0	22.58	241.50	47.08	262.83	582.66
12 豆みそ	8.15	0	21.18	234.59	43.23	252.72	559.88
13 豆みそ	4.10	0	0	210.33	42.94	284.60	541.98
14 調合みそ(豆、米)	17.24	0	35.05	347.78	51.05	300.95	752.07
15 調合みそ(麦、米)	30.68	0	62.03	43.92	5.96	67.00	209.59

～551.41 μg であり、総イソフラボンに占めるアグリコンの割合は (図2), 米みそ約 35～70%, 麦みそ約 50～80%, 豆みそでは 95%以上であった。また、アグリコン型イソフラボンのうち、ダイゼインは約 30～50%, グリシテインは 0～10%, ゲニステインは約 40～65%であり、味噌の種類による割合の差は認められなかった。調合みそ 2 銘柄のアグリコン型イソフラボン合計含有量は、1g あたり 699.78 および 116.89 μg であった。

また、今回の結果をもとに味噌汁 1 食から摂取するイソフラボンの量を算出すると、米みそでは 3.5～6.4mg, 麦みそでは 1.6～2.7mg および豆みそでは 9.7～10.3mg, 調合みそは 13.2 および 3.1mg となった。

食品安全委員会では、イソフラボンに関して、エストロゲン受容体を介した様々な作用が起こりうるとして「1 日摂取目安量の上限值」や健康食品等から摂取する「1 日上乘せ摂取量の上限值」を設定しているが、大豆からのイソフラボン摂取を制限するものではない、としている<sup>9)</sup>。今回調査した銘柄においては、1 日 3 食の味噌汁を摂取した場合であっても、1 日摂取目安量の上限值である 70～75mg (アグリコン換算) を超えることはないことが確認できた。

一方、日常の食生活の中で、味噌汁のほかにも大豆や大豆加工食品を摂取する機会

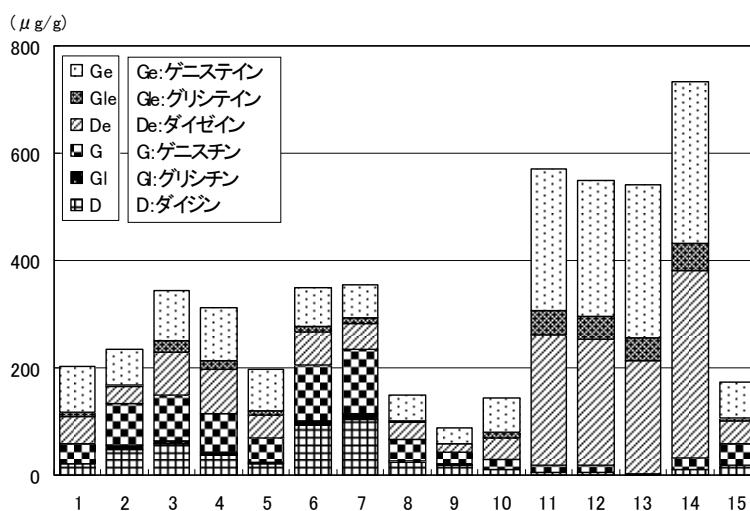


図1 味噌中のイソフラボン含有量 (アグリコン換算)

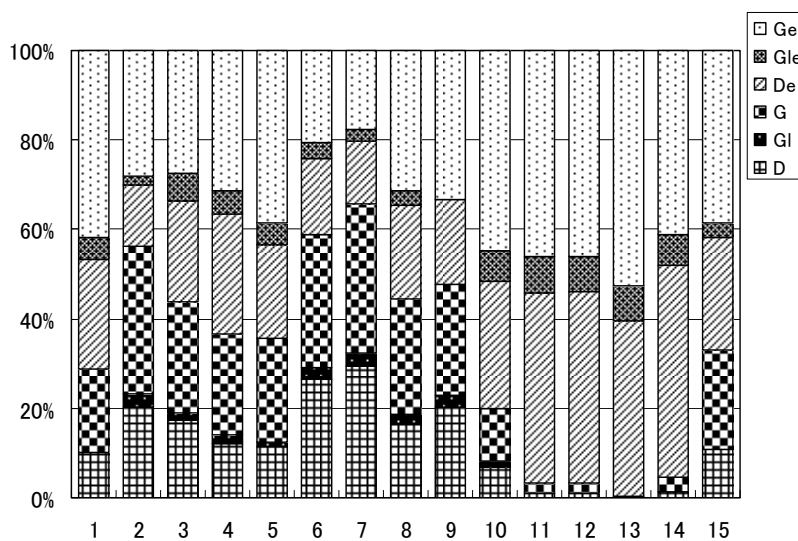


図2 各イソフラボンの割合 (アグリコン換算)

は数多くあり、さらに、イソフラボン含有サプリメントなどを摂取している消費者も少なくないと思われる。偏った食生活を避け、サプリメントは食生活の補足として必要に応じて用いるようにして、いろいろな食材を摂取できるようにバランスの取れた食生活を心がけることが大切である。

食品からの健康リスクを最小限にするためには、科学的データに基づく情報提供を行うことで、バランスの取れた食生活の重要性および食品の安全性等に関する情報を消費者に発信し、広く普及することにより、消費者自らが正しい知識を身につける環境を整えることが重要であると考える。

## 2 保存条件の違いによるイソフラボン含有量の変化

味噌3銘柄(調査銘柄:No.2, 9, 12)について、明所、暗所および冷蔵庫に保存したときの、1ヵ月後、2ヵ月後および3ヵ月後におけるそれぞれのイソフラボンの含有量の変化を調査した。開封直後を0ヶ月とし、0ヶ月の含有量を100%として表した(図3)。

その結果、イソフラボン配糖体であるダイジンおよびグリシチンは時間の経過とともにやや減少する傾向が、アグリコン型イソフラボンであるダイゼイン、グリシチ

ンおよびゲニステインは、時間の経過とともにやや増加する傾向が認められた。

また、明所、暗所および冷蔵庫保存による色調の変化を観察した結果、米みそおよび麦みそでは、明所および暗所保存において、1ヵ月後には色がやや濃くなったことが観察され、時間の経過とともにさらに着色が認められた。明所と暗所の着色の具合にほとんど差は認められなかった。また、冷蔵庫保存では、3ヵ月後においても開封直後と色調の変化は観察されなかった。これらのことから、色調の変化は光の影響より、温度による影響を強く受けたものと考えられた。豆みそ(No.12)は、購入時の色が濃く、3ヵ月間における色調の変化を確認できなかった。

色調の変化は、味噌に含まれるアミノ酸と糖がメイラード反応することにより生じる<sup>5)</sup>。冷蔵庫保存では色調の変化が認められなかったことから、アミノ酸や糖などの成分の変化を少なくするためには、家庭において味噌は、冷蔵庫で保管することが望ましいと考えられた。

## まとめ

多くの消費者に身近に親しまれている味噌について、静岡市内で市販されていた15銘柄を対象に、イソフラボ

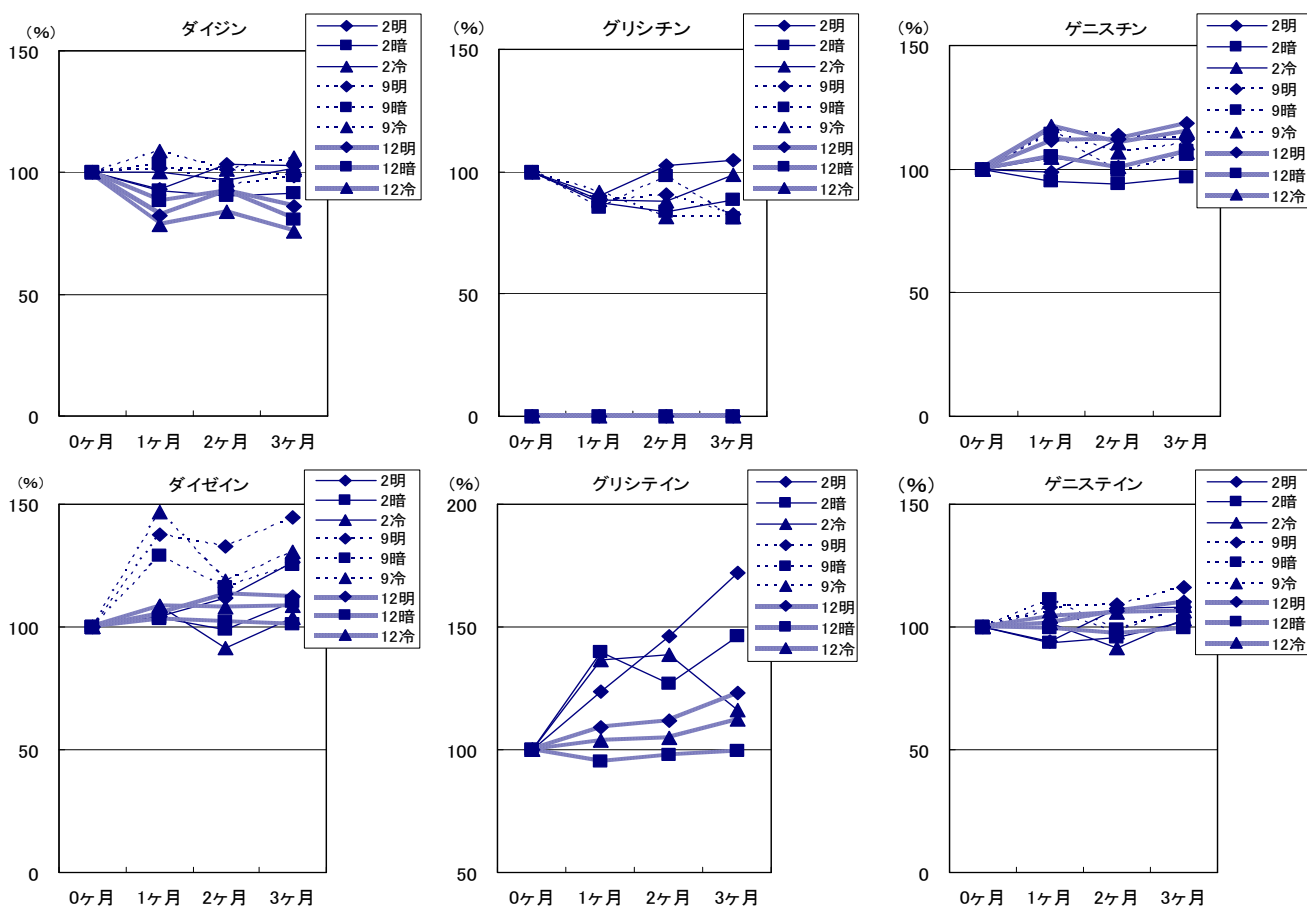


図3 各イソフラボン含有量の変化

ン含有量に関する調査を行ったところ、以下のことが明らかとなった。

- 1 静岡市内に流通する味噌は、その多くが米みそであり、麦みそおよび豆みそは少数であった。
- 2 今回調査した味噌の総イソフラボン含有量は、体内に吸収される形であるアグリコン換算で 87.28~732.22  $\mu\text{g/g}$  であり、麦みそは、米みそのおよそ 2 分の 1、豆みそのおよそ 4 分の 1 であった。
- 3 総イソフラボンのうち、エストロゲン作用が強いとされるアグリコン型イソフラボンの含有量は、米みそは約 35~70%、麦みそは約 50~80% であった。また、豆みそは、その 95% 以上がアグリコン型であった。
- 4 保存条件の違いによるイソフラボン含有量の変化では、イソフラボン配糖体は時間の経過とともに減少する傾向が見られ、アグリコンの含有量は増加する傾向が見られた。また、色調の変化を見ると、明所および暗所保存では、時間の経過とともに色が濃くなった。冷蔵庫保存では、色調の変化は見られなかった。
- 5 今回の測定結果をもとに、味噌汁 1 食分の総イソフラボン摂取量を算出すると、1.6~13.2mg となり、1 日 3 食の味噌汁を摂取した場合であっても 1 日摂取目安量の上限值を超えることはなかった。
- 6 食品からの健康リスクを最小限にするためには、バランスの取れた食生活の重要性および食品の安全性などに関する正しい情報を消費者に確実に発信し、広く普及することが重要であると考えられた。

## 文 献

- 1) H. Wiseman et al. : Isoflavone phytoestrogens consumed in soy decrease  $\text{F}_2$ -isoprostane concentrations and increase resistance of low-density lipoprotein to oxidation in humans, *Am. J. Clin. Nutr.* , **72**, 395-400(2000)
- 2) K. DR Setchell : Phytoestrogens: the biochemistry, and implications for human health of soy isoflavones, *Am. J. Clin. Nutr.* , **68**(suppl), 1333S-46S(1998)
- 3) 津志田藤二郎 : 豆類の健康機能, *豆類時報*, **16**, 21-29(1999)
- 4) 畑中咲子他 : 仙台味噌の醸造条件とイソフラボンアグリコン生成, *醸協*, **103**(12), 922-926(2008)
- 5) 五明紀春 : 味噌の科学と食塩, *ソルト・サイエンス・シンポジウム 2013 講演要旨*
- 6) 渡邊敦光 : お味噌の効能, *醸協*, **105**(11), 714-723(2010)
- 7) 前河裕一他 : HPLC による大豆および大豆加工食品中のイソフラボン量の比較, *生物試料分析*, **35**(4), 316-321(2012)
- 8) 扇谷陽子他 : 大豆のイソフラボン量について ; 産地に

よる比較, *札幌市衛研年報*, **29**, 83-89 (2002)

- 9) 食品安全委員会 : 大豆イソフラボンを含む特定保健用食品の安全性評価の基本的な考え方, 2006 年 5 月





## 小学校における生活習慣病予防をテーマとした 商品テスト実習講座の実施について

医薬食品部 食品班 横山玲子, 久保山真帆, 小和田和宏  
御前崎市立御前崎小学校 植田富美子

Performing the Goods Test Training Lecture about the Lifestyle-related Disease  
in the Class of the Primary School

Reiko YOKOYAMA, Maho KUBOYAMA, Kazuhiro OWADA  
and Fumiko UEDA

当研究所で実施している「商品テスト実習講座」は、県民生活センターからの依頼により、消費者啓発を目的として、消費者モニターや夏休み中の親子などに、実験などを通じて商品に関する知識や情報を提供するものである。

今年度、県西部地区の小学校の4年生およびその保護者を対象に、「生活習慣病予防に対する意識啓発を目的とした授業」の一環として、商品テスト実習講座を実施した。新たな試みとして実施したこの実習講座は、受講者からたいへん好評を得たので、この事例を紹介する。

Key words: 商品テスト実習講座, 消費者教育, 生活習慣病, 小学校授業

goods test training lecture, consumer education, lifestyle-related disease, a class of primary school

### はじめに

当研究所では、県民の消費生活の安定および向上を図るために商品テスト業務を実施している。この業務のひとつである「商品テスト実習講座」は、消費者啓発を目的として、消費者モニターや夏休み中の親子などに、実験などを通じて商品に関する知識や情報を提供するものである。今年度は、夏休み中の親子、消費者グループおよび消費者モニターなどから申込みがあり、延べ21講座452人が受講した。

今年度、県西部地区の小学校から実習講座の申込みがあり、小学校4年生とその保護者を対象に、「生活習慣病予防をテーマとした授業」の一環として、商品テスト実習講座を実施した。初めての試みとして行ったこの講座は、受講者である児童とその保護者たちから大変好評であり、普段何気なく食べている身近な食品に関して、認識を新たにされた様子であった。

講座終了後、受講者から講座に関する感想が寄せられ

たので、その内容についても紹介する。

### 商品テスト実習講座について

「商品テスト実習講座」は、例年10~12講座の申込みがあり、年間200~250名の受講者に対して実施している。講座は当研究所が毎年あらかじめ6テーマを決め、受講希望者が興味のあるテーマを選び、日時と場所を指定して申し込むことができる。「テストを体験する」ことを希望する受講者が多い一方で、受講者がテストをするのではなく、講師が実験する「テストを見る」形式で体験することもできる。誰でも申し込むことができるが、これまでの主な受講者は、夏休み中の親子、市町の消費生活モニターあるいは消費者団体の会員などであった。

今年度、初めて「生活習慣病に対する意識啓発を目的とした小学校の授業」の一環として実習講座実施の依頼があった。今年度実施の6テーマの中から、生活習慣病に関連するテーマである「ジュースに含まれる糖分について調べよう」および「スナック菓子に含まれる脂質について調べよう!!」を選び、子供たちが大好きなおやつであるジュースとスナック菓子に含まれる糖分と脂質の量などに関する情報を提供することとした。



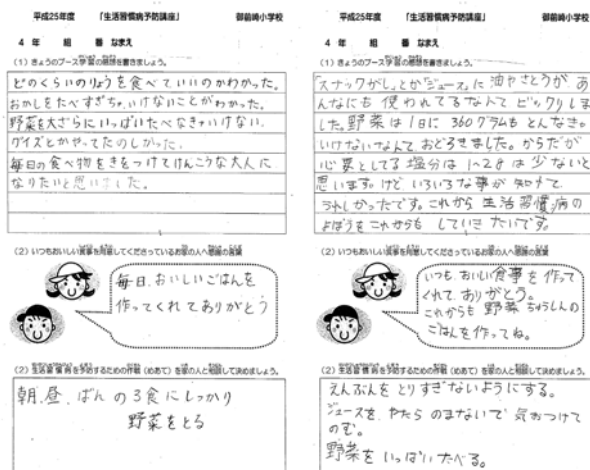


図3 アンケート調査結果

ことが大切だと知った」、「生活習慣病のことがわかった」と、ほとんどの児童が記載していた。

また、「栄養バランスを考えて食べることが大切」、「規則正しい生活が大切」であることに気付き、「体にいい食生活をしたい」、「食べ物に気をつけて、健康な大人になりたい」と考えた児童もいたことから、子供のころからの食生活の習慣が将来の健康につながるなど、児童に伝えたかった事柄がおおむね伝わったものと考えられた。さらに、「目で見たり、クイズがあるなどわかりやすかった」、「楽しかった」と答えた児童も多く、生活習慣病に関する内容や生活習慣の大切さなどについて楽しく学ぶ講座となったと考えられた。

保護者からの感想では、児童と同じく「スナック菓子やジュースに含まれる油や砂糖の量が多くてびっくりした」、「絵や実物を使っての説明がとてもわかりやすかった」などの感想が寄せられた。

一方で、「早速、野菜中心のメニューを作った」、「具たくさん味噌汁を作って、野菜をたくさん摂取したい」など、より具体的な内容が記載されており、講座の内容が、さっそく家庭での食生活に反映されていることが感じられた。

## 2) 食事を用意してくれる家族への感謝の言葉

「いつもおいしいご飯を作ってくれてありがとう」、「バランスを考えて作ってくれてありがとう」など、すべての記載に「ありがとう」のことばが見られ、家族に対する感謝の気持ちを素直に表現していると考えられた。

また、「嫌いなものもがんばって食べるよ」と記載した児童も多く見られ、今回の講座において、食事の大切さや食事と健康との関わりが児童に伝わった現れであると考えられた。

## 3) 生活習慣病を予防するための目標

「お菓子を食べ過ぎない」、「野菜をたくさん食べる」など、食生活を見直そうと考えた児童が半数以上であった。また、早寝早起きをして3食きちんと食べるなど「規則正しい生活をする」ことも大切であることを理解し、「外で元気よく遊ぶ」ことで丈夫な体を作り、生活習慣病を予防しようとする児童も多かった。

今回の講座を開催したことにより、食生活をはじめとする日常生活習慣を見つめ直し、将来病気になるためにどのようなことをしたらよいか、児童やその保護者が真剣に考える機会となったと考えられた。

## まとめ

当研究所では、消費者啓発事業の一環として「商品テスト実習講座」を実施し、身近に市販されている商品に関する知識などについて情報提供している。今回、当研究所としては初めて「生活習慣病予防に関する小学校の授業」の一環で、食事と健康との関係について関心を高めるために実習講座を実施した。

今年度行っていた実習講座のテーマのうち、生活習慣病に関連がある「ジュースの糖分」と「スナック菓子の脂質」について、主に「ジュースやスナック菓子に含まれる砂糖や油の量」と「1日に摂取すべき砂糖と油の目安量」に関する内容を中心として説明したところ、受講者から「こんなにたくさん入っているとは思わなかった」、「とらなすぎもいけないことがわかった」という感想がたくさん寄せられた。今回の講座において、ジュースやスナック菓子に砂糖や油がたくさん含まれること、食事と健康との関係がとても深いものであることを印象付けることができたと考えている。

今回、児童およびその保護者に対し、事後アンケートにより食事と健康に関する意識調査を実施した。

次回、食事と健康に関する講座を実施する際には、事後に加えて事前にも意識調査を実施することによって、講座を受講したことによってどのように意識が変化したかを把握できる可能性があり、食事と健康との深い関係を受講者にいっそう印象付けることができると考えられた。

消費者教育推進法が制定され、学校などにおいても消費生活に関する授業等を行うことが求められている。

今後は、従来の受講者である親子、消費者モニター、消費者団体に加え、小学生などを対象とした講座を開催できるよう、当研究所の実習講座について積極的にアピールしていきたい。



## 地下水硝酸性窒素汚染の効率的な モニタリングシステムの開発

大気水質部 水質環境班 清水麻希, 内山道春, 後藤裕康  
鈴木恒雄, 前田有美恵

Development of Efficient Monitoring System Groundwater Contamination  
by Nitrate Nitrogen

Maki SHIMIZU, Michiharu UCHIYAMA, Hiroyasu GOTO,  
Tsuneo SUZUKI and Yumie MAEDA

本県では現在、牧之原市や菊川市など 8 地域に地下水の硝酸性窒素および亜硝酸性窒素汚染が認められており、汚染井戸の継続監視調査（以下、定点モニタリング）を行っている。それらの地域の硝酸性窒素汚染は茶園等の施肥由来と考えられているが、汚染源が茶園等面源である場合、汚染が広域かつ長期にわたるため、定点モニタリングの監視地点が継続的に増加し、時間や経費等の負担が増すことが考えられる。そこで、県内汚染地域の地下水脈の実態や汚染源、汚染範囲等を効率的かつ合理的に把握できるモニタリング手法について検討した。

その結果、従来の定点モニタリング調査では、汚染物質や地形・位置関係から主観的に対照井戸を選定していたが、水質イオン 7 成分を用いたクラスター解析による客観的な分類により、調査対象井戸を合理的かつ効率的に選定していくことが可能となった。

Key words: 硝酸性窒素, 地下水, モニタリングシステム  
nitrate nitrogen, groundwater, monitoring system

### はじめに

本県では水質汚濁防止法に基づく地下水常時監視規定により、毎年地下水のモニタリング調査を行っている。平成 11 年 2 月、硝酸性窒素および亜硝酸性窒素が環境基準項目となり、その環境基準（以下、基準）10mg/L 以下が定められた<sup>1)</sup>。県の担当地域内では 2014 年 3 月現在、牧之原市や菊川市など 8 地域に硝酸性窒素汚染が認められており、これらの汚染地域については定点モニタリングにより硝酸性窒素濃度の推移を毎年監視している。

地下水中の硝酸性窒素は、施肥などの農業活動、畜産活動、工場や事業所の排水など様々な人為的由来があるほか、降水や動植物の死骸など自然由来もあるが、本県でこれまでに判明した硝酸性窒素汚染事例は周辺の土地利用などから、茶畑の施肥による汚染であると推測されている<sup>2-6)</sup>。

硝酸性窒素による地下水汚染の場合、局所的な汚染が

多い揮発性有機塩素化合物による地下水汚染と異なり、汚染源が面源であり汚染が広範囲となる可能性が高い。さらに、有効な対策が取りにくく、一旦汚染されると浄化が困難である<sup>7)</sup>。そのため、今後、他の地域においても地下水中の硝酸性窒素が基準を超過することが考えられる。

また、本県では地下水汚染が判明した場合、基準を超過した井戸を中心として半径 500m 以内の井戸を調査する汚染井戸周辺地区調査を実施して汚染範囲を推定し、その範囲内にある井戸の中から硝酸性窒素濃度や地形・位置関係を考慮して対照井戸を選定してきた<sup>8)</sup>。しかし、単純な位置関係から対照井戸が選定されることが多く、異なる水脈の井戸が対照井戸となる可能性が考えられた。

そこで、県内の硝酸性窒素汚染地域の水質を調査し、効率的かつ合理的な地下水モニタリング調査を行うため、客観的な評価により対照井戸を選定できる調査・解析手法を検討した。

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)

### 調査方法

#### 1 土地利用

地理情報システム(以下、GIS)を用いて、環境省第 6



ー7 回自然環境保全基礎調査植生調査から茶畑のデータを使用し、茶畑と硝酸性窒素汚染との関係性を調査した。

## 2 水質調査(2012 年度)

### 1) 対象井戸

県の「平成 24 年度公共用水域および地下水の水質測定計画」に基づくモニタリング地点から、概況調査(以下、環境モニタリング)4 地点(御前崎市、掛川市、菊川市、島田市)、定点モニタリング 35 地点(御前崎市 7 地点、掛川市 6 地点、菊川市 7 地点、牧之原市 15 地点)の井戸を対象とした。

### 2) 調査時期

環境モニタリングは 5 月下旬～6 月上旬、定点モニタリングは 9 月下旬～10 月上旬に採水した。

### 3) 調査項目

井戸区分(浅井戸/深井戸)、水温、pH、陽イオン( $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{NH}_4^+$ )、アルカリ度( $\text{HCO}_3^-$ )、陰イオン( $\text{F}^-$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{NO}_2^-$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$ )を測定した。水質分析は JIS K. 0102 に準拠した。各項目の分析方法は表 1 に示した。

## 3 水質調査(2013 年度)

### 1) 対象井戸

県の「平成 25 年度公共用水域および地下水の水質測定計画」に基づくモニタリング地点から、定点モニタリング 11 地点(菊川市 4 地点、牧之原市 7 地点)の井戸を対象とした。

### 2) 調査時期

毎月 1 回(2013 年 4 月～2014 年 3 月の計 12 回)行った。

### 3) 調査項目

水温、pH、EC、DO、陽イオン( $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{NH}_4^+$ )、アルカリ度( $\text{HCO}_3^-$ )、酸度( $\text{H}_2\text{CO}_3$ 等総量)、陰イオン( $\text{F}^-$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{NO}_2^-$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$ )を測定した。分析方法は 2012 年度調査と同じである。

表 1 分析方法一覧

項目	分析方法
水温	水温計
pH	ガラス電極法
EC	電極法
DO	ウインクラー変法
陽イオン ( $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{NH}_4^+$ )	イオンクロマトグラフ法
$\text{HCO}_3^-$	酸消費量(pH4.8)
$\text{H}_2\text{CO}_3$	アルカリ消費量(pH8.3)
陰イオン ( $\text{F}^-$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{NO}_2^-$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$ )	イオンクロマトグラフ法

## 4 過去の硝酸性窒素汚染事例の再検討

地下水硝酸性窒素汚染の定点モニタリングの対象となっている牧ノ原台地周辺地域で 2007 年度、2009 年度に行った汚染井戸周辺調査結果について精査し、2012 年度の結果と合わせて再解析した。なお、調査地点は 7 地点で重複していた。

## 5 解析方法

調査結果についてはデータを標準化し、ユークリッド距離とウォード法によるクラスター解析を行った。

統計解析ソフトウェアには R2. 15. 1 を使用した。

## 結果および考察

### 1 土地利用

GIS を用いて茶畑の植生図に 2007 年度、2009 年度、2012 年度調査結果の硝酸性窒素濃度をプロットし、結果を図 1 に示した。

硝酸性窒素濃度が高い地点は茶畑と関連性が高く、施肥由来であると考えられた。

### 2 水質調査

#### 1) 2012 年度調査

硝酸性窒素が基準を超過した地点は全 39 地点のうち 3 地点であった。なお、硝酸性窒素汚染が把握されている地域の井戸は全て浅井戸だった。

調査結果から陽・陰イオンの結果をクラスター解析し、井戸の分類を行ったところ調査井戸は A～H の 8 グループに分類された(図 2)。それぞれのグループのイオンチャートを比較すると大きく二つのグループに分類され、硝酸性窒素が基準を超過した地点は比較的近い E、F グループに分類された。このクラスター解析結果から、採水地点や井戸深度が近い場所でも水質が異なる地点があ

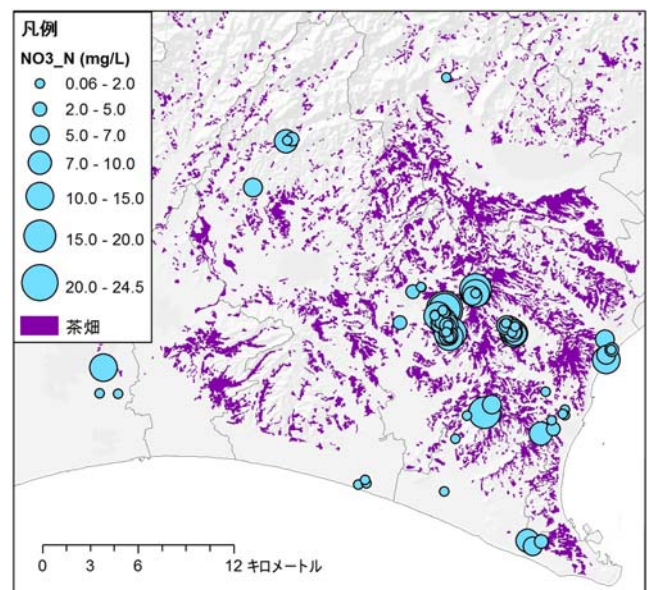


図 1 茶畑と硝酸性窒素濃度(牧ノ原台地周辺)

ることが確認された(図3).

### 2) 過去の調査結果と2012年度との比較

2007年度, 2009年度に行った周辺井戸調査の結果と2012年度の水質調査結果を合わせて標準化し, クラスタ解析を行った結果を図4に示した. 調査井戸はa~fの6グループに分類された. 基準超過が確認された地点は全74地点のうち12地点で, そのうち9地点は同じグループに分類された.

地下水の水質は地質特性や取水などの影響を受けやすいが, 一般的に安定していると考えられている. しかし, 重複した7地点のうち3地点は異なるグループに分類され, 採水年度や時期の違いにより同じ井戸でも同じ分類にならない事例があることが確認された. この原因としては, 施肥時期の差や降雨の影響が考えられた.

### 3) 2013年度調査

2012年度の調査結果より, 同じ井戸で水質が変化している原因を明らかにするため, 図5に示す地点で調査を

した月ごとのイオン濃度の変化を図6に示した.

濃度変化のあった井戸は6月に変動が大きく, その原因は採水日の数日前に大量の降雨があった影響と考えられた. また, 7月から9月頃の夏季に大きく濃度が変化している井戸があり, これは施肥や降雨の作用によるものと考えられるが, 今回の調査では詳細を明らかにすることはできなかった.

硝酸性窒素が基準を超過した地点は11井戸のうち3井戸あった. 超過井戸と未超過井戸で硝酸性窒素と他成分との相関係数を比較した結果, 超過井戸は $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $SO_4^{2-}$ およびECと強い正の相関があり, pHと強い負の相関があることが確認された(表2). これらのイオン等は代表的な化学肥料の硫酸や土壌酸化防止剤の苦土石灰に起因していると考えられたため, イオン濃度と施肥状況<sup>9)</sup>の関係性を検討したが, 汚染源からの肥料成分等の移動時間の影響(土壌吸着等)のためか施肥状況とイ

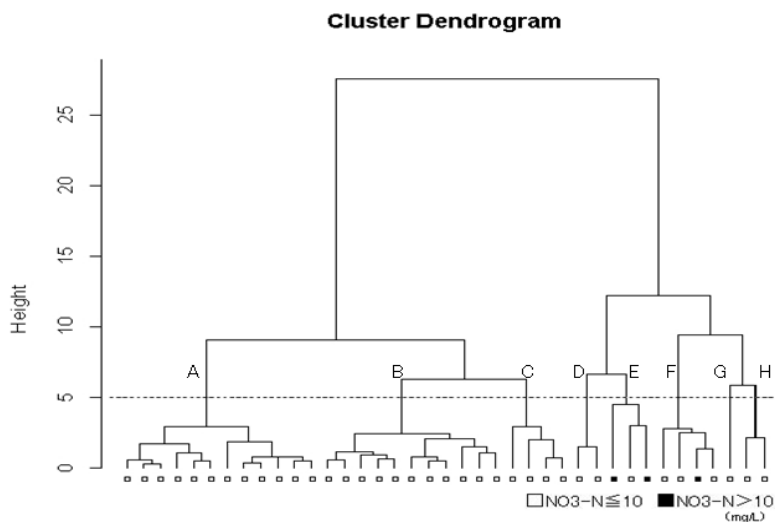


図2 クラスタ解析結果(2012年度調査井戸39地点)

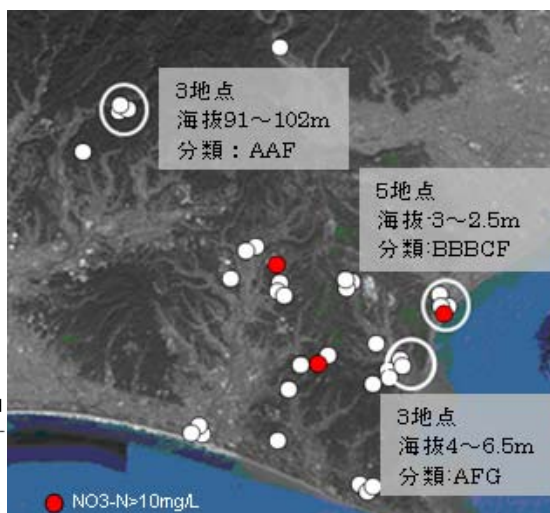


図3 2012年度調査地点 (○で囲んだ3地区: 距離,深度に近いが分類結果の異なった地点)  
※分類は図2のグループ参照

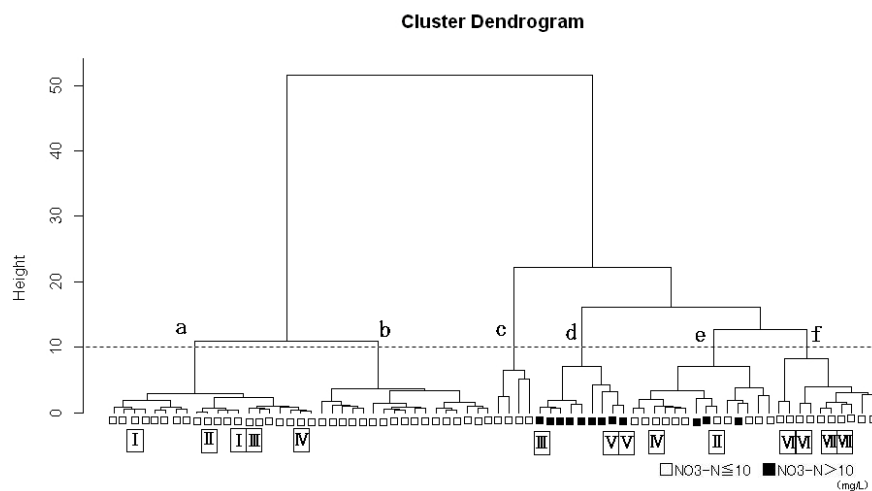


図4 クラスタ解析結果 (2007,2009,2012年度全調査井戸, I~VII: 重複地点)

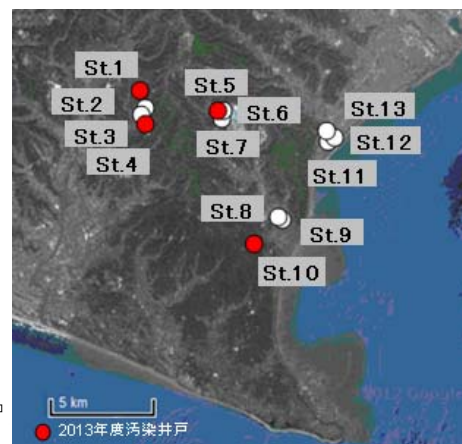


図5 2013年度調査地点 (13地点全て浅井戸)

オン成分の明確な関連性は確認できなかった。

定点 13 地点で水質が安定している時期の平均を用いてクラスター解析を行った結果、ほぼ地域ごとに分類された結果となった(図 7)。しかし、一部の地域(St.1~4)では距離が近いにも関わらず分類が異なる結果となり、これは井戸の水脈が異なるためと考えられた。

従来の定点モニタリング地点の選定方法では、距離的に近い地域の中で対照井戸を選定していたため、この例では異なる水脈の井戸が対照に選定される可能性があった。しかし、クラスター解析による井戸の分類を行うことにより、明らかに違う水脈からの井戸選定を除外でき

るため、水脈を考慮した合理的なモニタリング地点の選定が可能になると考えられる。したがって、水質を考慮した合理的なモニタリング地点の選定には水質イオンを用いたクラスター解析が有効であることが確認できた。

まとめ

硝酸性窒素汚染の多い地域の地下水水質から客観的な評価による合理的かつ効率的な地下水モニタリングの手法について検討し、以下の結果を得た。

- 1 硝酸性窒素濃度が高い井戸は茶畑と関連性が高く、施肥由来であると考えられた。

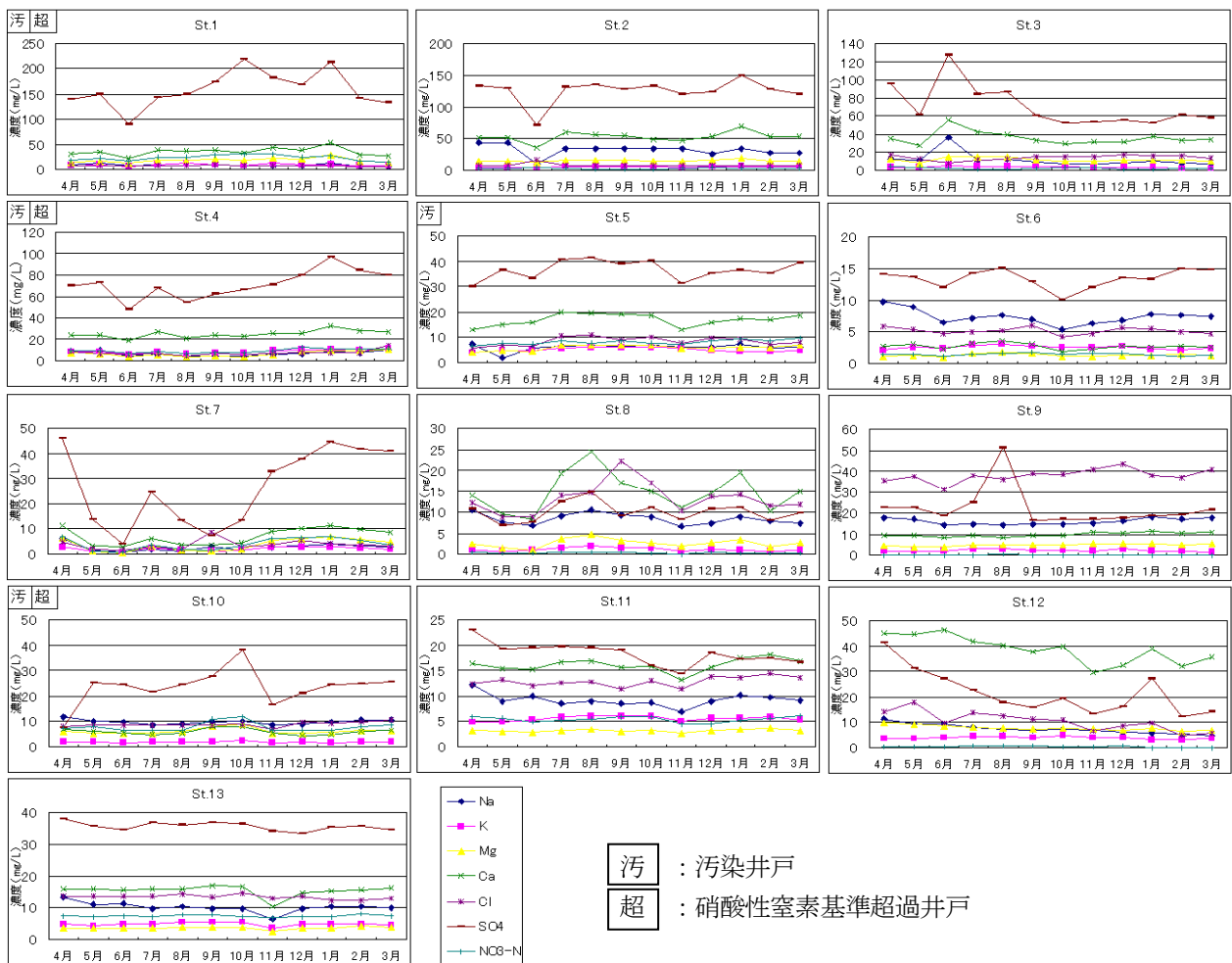


図 6 イオン濃度変化 (2013 年度定点調査 13 地点)

表 2 硝酸性窒素との相関係数

	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Cl <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	水温	pH	EC
超過井戸 (NO <sub>3</sub> -N > 10mg/L)	0.34	0.70	0.98	0.82	-0.02	0.36	0.95	-0.07	-0.90	0.94
未超過井戸 (NO <sub>3</sub> -N ≤ 10mg/L)	-0.12	0.62	-0.03	-0.08	-0.17	-0.30	0.13	0.18	-0.40	-0.01
全体	-0.12	0.76	0.57	0.19	-0.13	-0.27	0.68	-0.04	-0.69	0.45



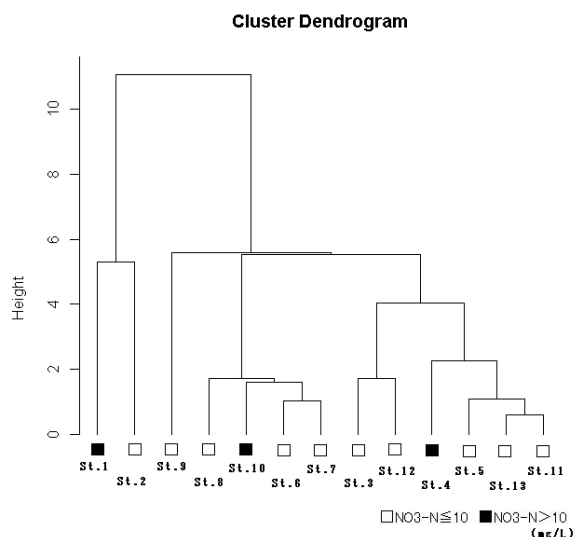


図7 クラスタ解析結果(2013年度調査13地点)

- 2 降雨後や夏季にイオン濃度の変化が大きく、水質が安定しているとされていた井水にも降雨等が影響することが判明した。
- 3 クラスタ解析を行った結果、地点や井戸深度が近い場所でも水質が異なる事例があることが確認された。
- 4 調査対象井戸の選定には、降雨後や夏季の採水を避け、水質イオン 7 成分を用いたクラスタ解析による客観的な分類を行うことにより、明らかに異なる水質・水脈の井戸の排除や近隣する汚染地区での監視井戸の統合を行うなどをして調査対象井戸を合理的かつ効率的に選定していくことが可能となった。

## 文 献

- 1) 環境省水環境部地下水・地盤環境室：硝酸性窒素による地下水汚染対策の手引 (2004)
- 2) 小川裕美他：茶栽培流域における水質変動のモデル化-硝酸性窒素に注目して-, 環境科学学会誌, **15** (3), 163-172 (2002)
- 3) 山本富久他：集団茶園地域における地下水水質と窒素・リン流出負荷量の推定, 水環境学会誌, **28** (6), 399-404 (2005)
- 4) 石垣幸三：新茶業全書, 静岡県茶業会議所, 157 (1988)
- 5) 小西茂毅：土壌の働きと根圏環境, 農業技術大系土壌施肥編, 117-186, 農山漁村文化協会, 東京(1987)
- 6) 西尾道徳：農業生産環境調査にみる我が国の窒素施用実態の解析, 日本土壌肥科学雑誌, **72** (4), 513-521(2001)
- 7) 細見正明：日本水環境学会誌, **19**, 969(1996)
- 8) 濱口浩太他：静岡県内の砒素による地下水汚染の対応について, 静岡県環境衛生科学研究所報告, **53**,

65-70 (2010)

- 9) 静岡県：持続的農業を推進する静岡県土壌肥料ハンドブック 平成17年3月 (2004)



## ADMER を活用した有害化学物質の 環境濃度推定手法の検討について

大気水質部 大気騒音環境班 金子智英, 紅林佑希, 松田健太郎,  
三宅健司, 萱沼広行, 瀧本俊晴,  
篠原英二郎, 前田有美恵

Examination of the Environmental Concentration Presumption Technique of  
the Hazardous Chemical Substance Using ADMER

Tomohide KANEKO, Yuuki KUREBAYASHI, Kentaro MATSUDA,  
Kenji MIYAKE, Hiroyuki KAYANUMA, Toshiharu TAKIMOTO,  
Eijiro SHINOHARA and Yumie MAEDA

PRTR データ, 過去の県内 6 ヶ所の実測値データを基に, 暴露・リスク評価大気拡散モデル(AIST-ADMER)を用い, トルエン, キシレン, ジクロロメタン及びベンゼンの各物質について, 県内で未測定地域の環境濃度を推定した. 今回確立した環境濃度推定手法は, 今後の環境濃度の効率的な把握及び適正な測定地点の設定をするための有効な手段であると考えられた.

Key words: ADMER, 有害大気汚染物質, PRTR, 推定  
ADMER, hazardous air pollutants, PRTR, estimation

### はじめに

当所では, 「有害大気汚染物質環境モニタリング事業」 「PRTR 対象物質環境モニタリング事業」に基づき, 県内 6 か所の定点で測定を実施している. しかし, 定点測定は限られた範囲の状況を把握しているにすぎず, 県内全ての地域の濃度を把握するには現実的に困難であることから, 広範囲の地域における環境濃度を推定する手法の確立が望まれている. そこで, PRTR 制度により公表されている市町別の化学物質排出量と「産総研-暴露・リスク評価大気拡散モデル(ADMER)」を用い, 有害大気汚染物質対策に活用できる化学物質の環境濃度推定手法(以下, 濃度推定手法とする.)を検討した. PRTR制度とは有害性のある多種多様な化学物質が, どのような発生源から, どれくらい環境中に排出されたか, あるいは廃棄物に含まれて事業所の外に運び出されたかというデータを把握し, 集計し, 公表する仕組みである.

### 方法

#### 1 使用ソフトおよび使用データ

##### 1) 使用ソフト

独立行政法人産業技術総合研究所で開発された暴露・リスク評価大気拡散モデル(AIST-ADMER Ver.2.6)を使用した.

##### 2) 使用データ

発生源データは 2006 年度~2010 年度 PRTR 調査結果, 気象データは 2006 年~2011 年のアメダス年報を用いた. 静岡県の県境の周辺部分では, その外側の排出量が反映されず, 濃度が過少となる可能性があるため, 愛知県, 長野県, 山梨県, 神奈川県が発生源のデータも同様に使用した.

また, 2006 年度~2010 年度の県内 6 地点の実測データを用いた.

#### 2 対象物質および対象地域

2010 年度の PRTR 調査結果において静岡県で大気への排出量が多い上位物質であるトルエン, キシレン, ジクロロメタン及び移動発生源が主な発生源であるベンゼンを対象物質とした.

対象地域は静岡県全域とした.

### 3 解析方法

#### 1) 計算パラメータの設定

分解係数, 洗浄比, 乾性沈着速度は詳細リスク評価シリーズ<sup>1-4)</sup>の各値を使用した。

バックグラウンド濃度は 2006 年度～2010 年度の県内の 6 地点の実測データとバックグラウンドを使用しないで推定した ADMER の値の平均値の差を使用した。

#### 2) 未測定地域の大气環境濃度の推定

1)で設定した各パラメータ値を用い, 県内の未測定地点の環境濃度を推定した。

### 結果および考察

#### 1 トルエンの推定

##### 1) 実測値と ADMER 予測値の比較 (トルエン)

トルエンの実測値(年平均値)と ADMER で予測した値の散布図は図 1 のとおりである。相関係数は 0.8057 と良好な相関を示した。

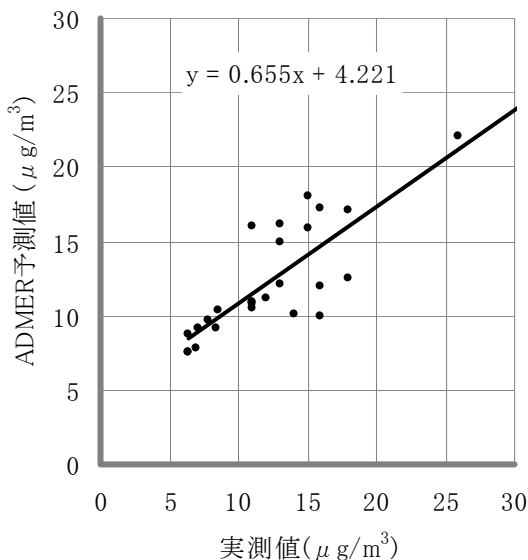


図 1 ADMER 予測値の比較(トルエン散布図)

##### 2) 濃度推定手法の検討 (トルエン)

1)にて得られた近似直線{濃度推定手法による推定値=(ADMER 予測値-4.221)/0.655}を用いて, 浜松市における推定値と実測値を表 1 に示した。B/A は 1.01～1.59 であり, 推定値と実測値の差が小さいため, 濃度推定手法として有用と考えられた。今後, 比較地点を増やし, 引き続き検討を行う予定である。

##### 3) 未測定地域のトルエン濃度の推定

2)による濃度推定手法により, 平成 22 年度のトルエンの未測定地域の濃度推定を行い, 図 2 に示した。県内では指針値である 260 μg/m<sup>3</sup>を超過した地域、さらに指針値の 1/10 である 26 μg/m<sup>3</sup>を超過した地域が無いことが推定された。また, 県内において濃度が比較的高いと推

定される地域が, 現在の測定場所の近くであることから, 現在の測定場所が適切な場所であるということが示された。

表 1 推定値と実測値の比較(トルエン)

年度	測定場所	推定値 A (μg/m <sup>3</sup> )	実測値 B※ (μg/m <sup>3</sup> )	B/A
H22	浜松市伝馬町	7.53	12	1.59
	浜松市北部	6.55	7.0	1.07
H21	浜松市伝馬町	7.95	12	1.51
	浜松市北部	6.72	6.8	1.01

※実測値は参考値とする。

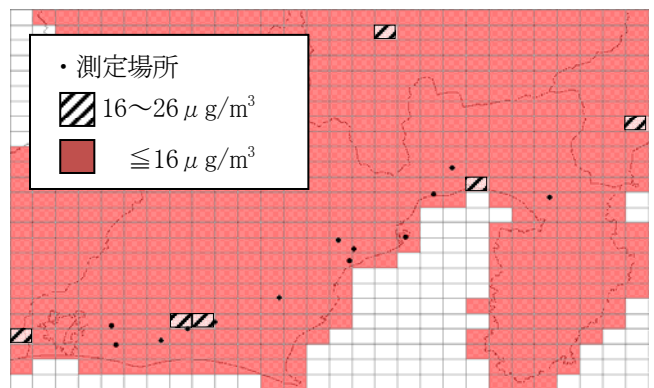


図 2 県内の未測定地域の濃度推定(トルエン)

#### 2 キシレンの推定

##### 1) 実測値と ADMER 予測値の比較 (キシレン)

キシレンの実測値(年平均値)と ADMER で予測した値の散布図は図 3 のとおりである。相関係数は 0.7441 と良好な相関を示した。

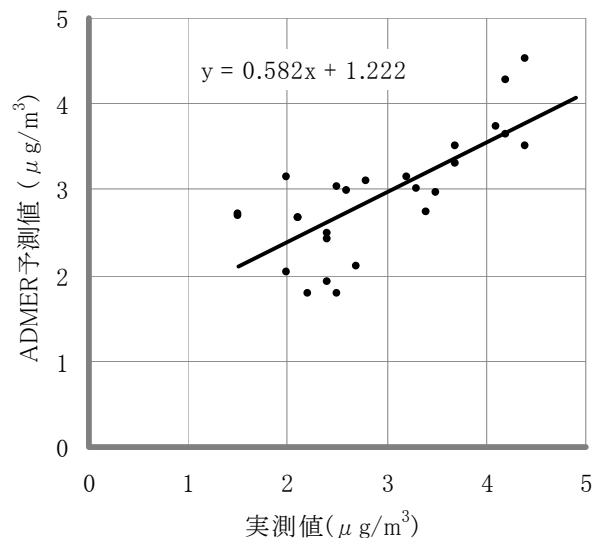


図 3 ADMER 予測値の比較(キシレン散布図)

## 2) 濃度推定手法の検討 (キシレン)

1)にて得られた近似直線{濃度推定手法による推定値=(ADMER 予測値-1.222)/0.582}を用いて、浜松市における推定値と実測値を表2に示した。B/Aは0.54~1.57であり、推定値と実測値の差が小さいため、濃度推定手法として有用と考えられた。今後、比較地点を増やし、引き続き検討を行う予定である。

表2 推定値と実測値の比較(キシレン)

年度	測定場所	推定値 A ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	実測値 B※ ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	B/A
H22	浜松市伝馬町	2.90	3.9	1.33
	浜松市北部	2.93	2.2	0.75
H21	浜松市伝馬町	2.99	4.7	1.57
	浜松市北部	3.02	1.6	0.54

※実測値は参考値とする。

## 3) 未測定地域のキシレン濃度の推定

2)による濃度推定手法により、平成22年度のキシレンの未測定地域の濃度推定を行い、図4に示した。県内では指針値である $870\mu\text{g}/\text{m}^3$ を超過した地域、さらに指針値の1/100である $8.7\mu\text{g}/\text{m}^3$ を超過した地域が無いことが推定された。また、県内の比較的濃度が高いと推定される地域が、現在の測定場所の近くであることから、キシレンについても現在の測定場所が適切な場所であるということが示された。

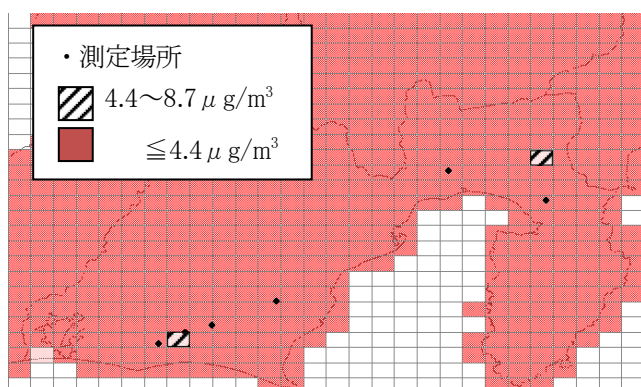


図4 県内の未測定地域の濃度推定(キシレン)

## 3 ジクロロメタンの推定

### 1) 実測値と ADMER 予測値の比較 (ジクロロメタン)

ジクロロメタンの実測値(年平均値)と ADMER で予測した値の散布図は図5のとおりである。相関係数は0.1544と低く、実測値と予測値の間に相関は見られなかった。

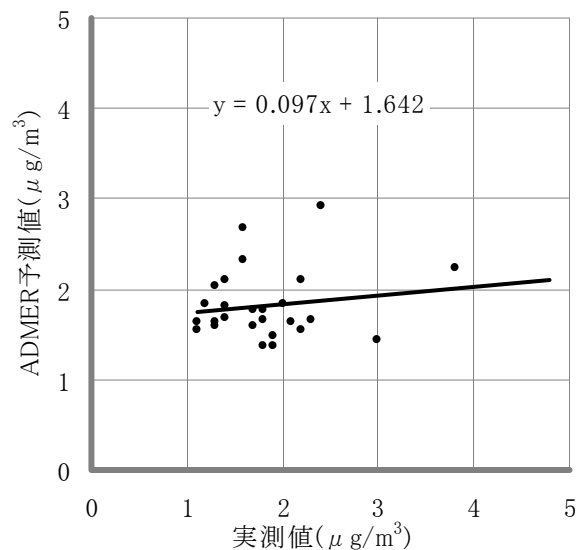


図5 ADMER 予測値の比較(ジクロロメタン散布図)

### 2) 濃度推定手法の検討 (ジクロロメタン)

1)にてジクロロメタンの相関が得られなかったが、これは固定発生源のデータ数が少ないことが一つの原因と考えられた。表3に平成22年度の固定発生源データの入力数(静岡、愛知、長野、山梨、神奈川県合計)を示した。今回の方法では5kmメッシュを用いており、実測地点と発生源の位置関係から相違が大きくなったと思われる。これについては、メッシュの大きさを検討することで、改善することができると思われる。

表3 固定発生源の件数

項目	件数
トルエン	3,863
キシレン	3,713
ジクロロメタン	277
ベンゼン	2,788

## 4 ベンゼンの推定

### 1) 実測値と ADMER 推定値の比較 (ベンゼン)

ベンゼンの実測値(年平均値)と ADMER で予測した値の散布図は図6のとおりである。相関係数は0.8057と良好な相関を示した。

### 2) 濃度推定手法の検討 (ベンゼン)

1)にて得られた近似直線{濃度推定手法による推定値=(ADMER 予測値-1.085)/0.159}を用いて、静岡市、浜松市において測定した値を表4に示した。B/Aは0.58~1.98であり、推定値と実測値の差が小さいため、濃度推定手法として有用と考えられた。今後、比較地点を増やし、引き続き検討を行う予定である。

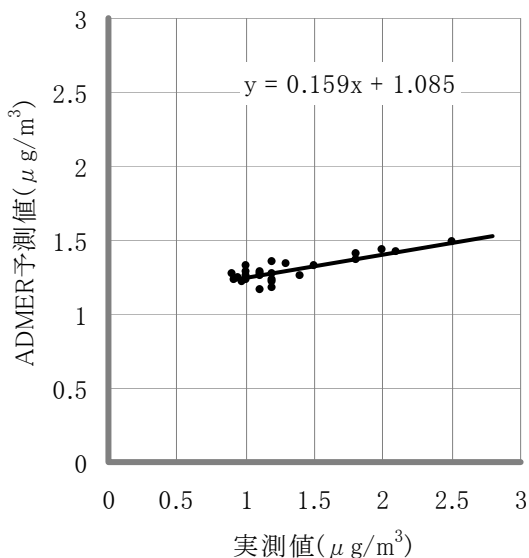


図6 ADMER 予測値の比較(ベンゼン散布図)

表4 推定値と実測値の比較(ベンゼン)

年 度	測定場所	推定値 A ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	実測値 B ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	B/A
H22	浜松市北部	0.87	0.90	1.04
	浜松市伝馬町	1.01	2.0	1.98
	静岡市常盤公園	1.65	0.95	0.58
	長田南中学校	1.07	0.93	0.87
	服織小学校	0.74	0.77	1.04
	清水三保第一小学校	0.88	0.88	1.00
	元蒲原支所	0.76	0.80	1.05

3) 未測定地域のベンゼン濃度の推定

2)による濃度推定手法により、平成22年度のベンゼンの未測定地域の濃度推定を行い図7に示した。県内では環境基準値である $3\mu\text{g}/\text{m}^3$ を超過した地域が無いことが推定された。また、県内において濃度が比較的高いと推定される地域が、現在の測定場所の近くであることから、ベンゼンについても現在の測定場所が適切な場所であるということが示された。

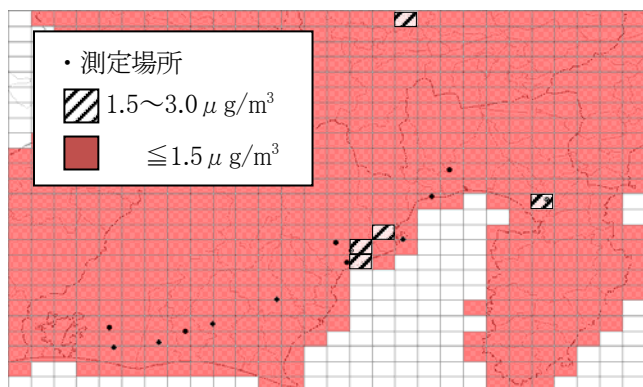


図7 県内の未測定地域の濃度推定(ベンゼン)

まとめ

ADMER を活用した濃度推定手法を用いることにより、トルエン、キシレン、ベンゼンについて県内の未測定地域の濃度推定が可能となった。今回確立した手法を用いて濃度推定を行ったところ、平成22年度のトルエン、キシレン、ベンゼンについて県内では環境基準、指針値を超過している地点がないことが推定された。また、現在の有害化学物資の測定地点が適切であることが明らかになった。

ジクロロメタンは今回の手法では濃度推定が難しいため、実測を継続する必要があることが示された。濃度推定を行うには、メッシュを変更するなど更に検討が必要と考えられた。

今後、本研究の成果を、①環境基準・指針値の超過・高濃度地点の推定、②化学物質の測定地点の見直し、③新たな排出事業場の周辺環境濃度の推定、④化学物質のリスクコミュニケーションなどの有害大気汚染物質対策に活用していきたい。

文 献

- 1) 中西準子他：詳細リスク評価書シリーズ3 トルエン，117，丸善株式会社，東京(2005)
- 2) 中西準子他：詳細リスク評価書シリーズ25 キシレン，113，丸善株式会社，東京(2009)
- 3) 中西準子他：詳細リスク評価書シリーズ4 ジクロロメタン，92，丸善株式会社，東京(2005)
- 4) 中西準子他：詳細リスク評価書シリーズ18 ベンゼン，74，丸善株式会社，東京(2008)

## 静岡県内の微小粒子状物質 (PM<sub>2.5</sub>) 濃度状況について (第1報) — 質量濃度及び水溶性イオン成分 (2012年度) —

大気水質部 大気騒音環境班 三宅健司, 篠原英二郎, 萱沼広行,  
前田有美恵

Study on Concentration of PM<sub>2.5</sub> in the Area of Shizuoka Prefecture (1st Report)  
- Concentration of PM<sub>2.5</sub> and Water Soluble Ion Component (FY2012) -

Kenji MIYAKE, Eijiro SHINOHARA, Hiroyuki KAYANUMA  
and Yumie MAEDA

微小粒子状物質 (PM<sub>2.5</sub>: 空気動力学的粒径 2.5 μm で 50%カットされた 2.5 μm 以下の微小粒子) は 1990 年代から米国を中心に PM<sub>2.5</sub> の健康影響に関する研究結果が多数報告され, 国際的に注目されるようになってきた. 日本では, 2009 年 9 月に環境基準が設定され, 本県でも機器整備が始まり測定が開始された. また, 2013 年 1 月にメディアで大きく取り上げられ, 全国的に注目度が増している<sup>1)</sup>. 2012 年度の県内における PM<sub>2.5</sub> の濃度状況は県有 6 測定局のうち 5 局で環境基準を満たしていた. また, 県内における高濃度事例については, 後方流跡線解析から, 大陸や西日本からの移流の影響が示唆された. 成分分析では, 水溶性イオン成分の分析を行ったところ, 硫酸イオン (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>), 硝酸イオン (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), アンモニウムイオン (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) が PM<sub>2.5</sub> の主要組成成分であることが明らかとなった.

Key words: 微小粒子状物質, PM<sub>2.5</sub> 常時監視, 硫酸イオン  
PM<sub>2.5</sub>, PM<sub>2.5</sub> monitoring, Sulfate

### はじめに

微小粒子状物質 (PM<sub>2.5</sub>) に関しては, 2009 年 9 月に環境基準<sup>2)</sup>が設定されたことを受け, 2010 年 3 月 31 日, 「大気汚染防止法第 22 条の規定に基づく大気汚染の状況の常時監視に関する事務の処理基準について (平成 13 年 5 月 21 日環管大第 177 号, 環管自第 75 号)」の一部が改正<sup>3)</sup>され, PM<sub>2.5</sub> の質量濃度の測定に加え, 成分分析<sup>4)</sup>も実施することとなった. このことから, 本県では 2011 年から測定のための機器整備を行い, PM<sub>2.5</sub> の調査・観測を開始した. そこで今回, 2012 年度に実施した質量濃度と成分分析 (イオン成分) の測定結果から県内の PM<sub>2.5</sub> 濃度状況の把握と高濃度事例の検証・考察を行ったので報告する.

### 方法

#### 1 質量濃度

本研究では, 2012 年度 (2012 年 4 月 1 日から 2013 年 3 月 31 日) の PM<sub>2.5</sub> 県有測定局 (一般環境大気測定局 4 局, 自動車排出ガス測定局 2 局) の測定データを用いた. 測定機種はすべてハイブリッドモニター SHARP5030 (東京ダイレック株式会社) である. 図 1 に測定地点を示した.

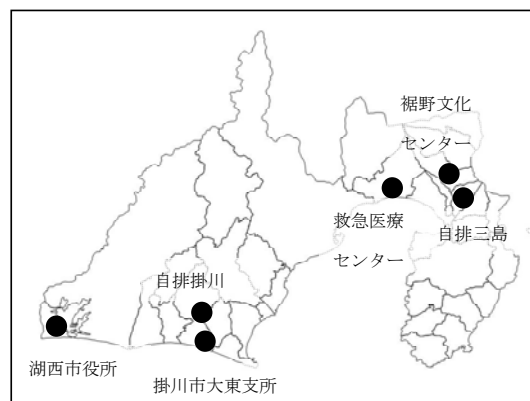


図 1 質量濃度測定地点



## 2 成分分析

### 1) 調査地点

調査は、常時監視測定局の一般環境大気測定局である救急医療センター（富士市津田蓮台場 217：標高 7m）と近隣に大気汚染物質の発生源が少ないバックグラウンド地点として選定した県民の森（静岡市葵区岩崎：標高 1423m）で行った。図 2 に調査地点を、図 3 に調査風景及び周辺風景を示した。

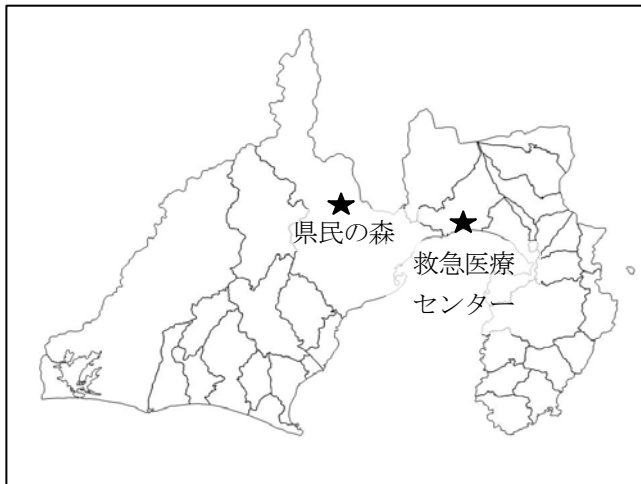


図 2 サンプルング調査地点



図 3 県民の森 調査地点  
(左図：調査風景 右図：周辺風景)

### 2) 調査期間

本調査は 2012 年度、春季、夏季、秋季、冬季の四季ごとに以下に示す期間において 24 時間×14 日間のサンプルリングを基本とした。

春季：平成 24 年 4 月 26 日（木）～ 5 月 9 日（水）

夏季：平成 24 年 7 月 26 日（木）～ 8 月 8 日（水）

秋季：平成 24 年 10 月 4 日（木）～ 10 月 17 日（水）

冬季：平成 24 年 11 月 29 日（木）～ 12 月 12 日（水）

※サンプルリング開始時刻は 0 時とした。

### 3) 採取装置及び分析条件

#### ① PM<sub>2.5</sub> サンプルング

PM<sub>2.5</sub> 採取装置は、両調査地点ともにシーケンシャルエアースンプラー（サーモフィッシャーサイエンティフィ

ック株式会社 FRM2025）を使用した。1 地点に採取装置を 1 台設置し、サンプルングフィルターは PTFE メンブレンディスクフィルター（PALL 社テフロー）を使用し、質量濃度測定・イオン成分分析に用いた。流速はすべて実流量制御で 16.7L/min で採取した。

#### ② 質量濃度（秤量）

PTFE サンプルングフィルターのコンディショニング及び秤量操作は、温度 21.5±1.5℃、相対湿度 35±5%で行った。秤量操作前後のコンディショニング時間は 48 時間とした。秤量に用いた天秤は、感度 1μg の Sartorius ME5-F（ザルトリウス株式会社）を使用した。

#### ③ イオン成分

PTFE フィルターをカットした後、超純水で 20 分間、超音波抽出を行った。抽出液をメンブレンフィルター（アドバンテック東洋株式会社 DISMIC®13HP045CN）でろ過した後、イオンクロマトグラフィー（日本ダイオネクス株式会社 DIONEX ICS-1100, ICS-2100）により、以下のイオン成分を分析した。

陽イオン：Na<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>

陰イオン：Cl<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>

## 結果と考察

### 1 質量濃度

1) 年平均値、日平均値および 98 パーセントイル値の状況

表 1 に 2012 年度の年平均値及び日平均値の状況を示す。平成 24 年度の PM<sub>2.5</sub> 年平均濃度は 10.9–13.6 μg/m<sup>3</sup> であり、6 局すべてにおいて 15 μg/m<sup>3</sup>（1 年平均値に係る環境基準値）を超過しなかった。日平均値については、35 μg/m<sup>3</sup>（1 日平均値に係る環境基準値）を超過した日数は湖西市役所が 8 日間で最も多く、自排掛川が 1 日で最も少なかった。日平均値 35 μg/m<sup>3</sup> を超過した延べ日数は 3 月が 16 日、5 月が 4 日、4 月が 2 日であり春季に高濃度となる傾向であった。また一般局と自排局には年平均値、日平均値ともに明確な差は見られなかった。

表 1 年平均値および日平均値の状況（2012 年度）

測定局名	有効測定 日数	年平均値	日平均値の 年間98%値	35 μg/m <sup>3</sup> を 超えた日数
	(日)	μg/m <sup>3</sup>	μg/m <sup>3</sup>	(日)
湖西市役所	365	13.0	35.8	8
自排掛川	365	10.9	30.7	1
掛川市大東支所	365	13.6	31.3	4
救急医療センター	365	13.3	27.3	2
裾野文化センター	359	12.5	28.8	3
自排三島	345	13.5	31.1	4



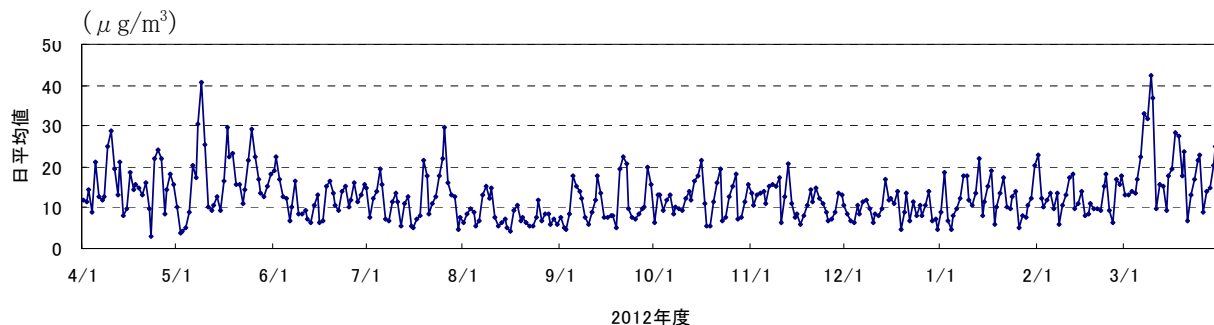


図4 PM<sub>2.5</sub>日平均値 (6 測定局平均) 推移

2) 2012 年度内変動パターン

図4に2012年度のPM<sub>2.5</sub>日平均値の経日変動を示す。2012年5月, 7月, 2013年3月に一部の測定局で日平均値 35 μg/m<sup>3</sup>を超過する高濃度日が見られた。2012年8月から2013年2月の間は相対的に低濃度傾向であった。図5に, 2012年度のPM<sub>2.5</sub>日平均値の月別平均値を示す。3月が最も高く, 次いで5月, 4月の順であり, 春季に高濃度となり, 8月が最も低い値であった。

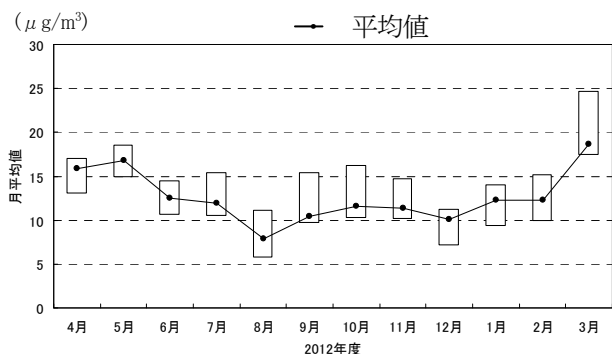


図5 PM<sub>2.5</sub>月別変動

3) 週内変動パターン

図6に6測定局の平均値によるPM<sub>2.5</sub>の週内変動を示す。PM<sub>2.5</sub>の曜日別平均濃度は, 全地点で木曜日を中心とした週半ばから後半に高い値となり, 土, 日曜日から週明けの月曜日に低い値となった。この結果は, 全国的な傾向と類似しており, 自動車や他の人為的汚染の影響を示唆する結果であった<sup>5)</sup>。このことから, 県内においても近隣発生源の影響を少なからず受けていることが考えられる。なお, 今回, 日内変動については1時間値の等価性の観点から議論していない。

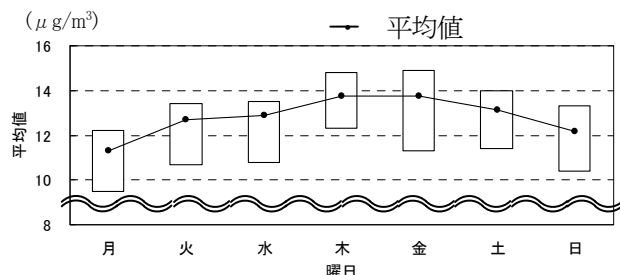


図5 PM<sub>2.5</sub>週内変動

4) 濃度変動の地域性

変動パターンの地域類似性について, 日平均値データを用いてクラスター解析 (Ward法) を行った。解析ツールはフリーの統計解析ソフト R (バージョン 2.15.1) を用いた。その結果を図7に示す。県東部 (自排三島, 救急医療センター, 裾野文化センター) と県西部 (湖西市役所, 自排掛川, 掛川市大東支所) に分類された。また, 日平均値の変動パターンは全局で類似しているため, 濃度変動は近隣地域の発生源より他地域からの移流の影響を強く受けていると考えられる。また, 同じ粒子状物質である SPM について同様の解析を行った結果, PM<sub>2.5</sub> で得られた明確なグルーピングは見られなかったことから, SPM はより近隣からの粗大粒子の影響を受け地域性が表れなかったと思われる。

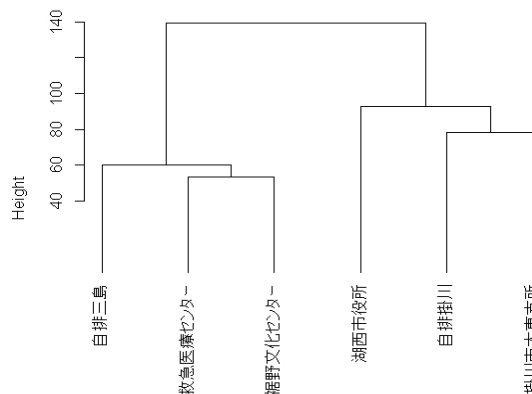


図7 クラスター解析

5) 後方流跡線解析

県内で広範囲で高濃度となった2013年3月9日, 5月9日について, HYSPLIT (HYbrid Single-Particle Lagrangian Integrated Trajectory)<sup>6)</sup> モデルを用いて後方流跡線解析を行った。解析条件は出発地点と時刻を静岡県庁 (34.9770N 138.3830E) の上空 1500m, 03UTC (日本時間正午) に設定した。また流跡線の作成時間を 72 時間とした。解析結果を図8に示す。両日ともに大陸や西日本を経由した流跡線が描かれ, 県内の高濃度の要因の一つ

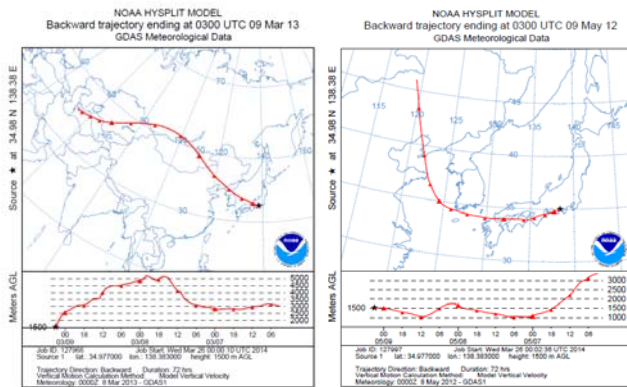


図8 後方流跡線解析

(左図：2013年3月9日 右図：2012年5月9日)

測定局	2013年 3月9日	2012年 5月9日
湖西市役所	51.3	34.5
自排掛川	40.8	33.9
掛川市大東支所	44.0	33.8
救急医療センター	38.8	46.2
裾野文化センター	38.0	46.7
自排三島	41.1	48.8

として大陸や西日本からの移流が影響していることが示唆された。また、2012年5月9日については県西部（湖西市役所、自排掛川、掛川市大東支所）が県東部（救急医療センター、裾野文化センター、自排三島）と比較して濃度が低かったが（表2）、これは西部地域での降雨が見られたことから<sup>7)</sup>、ウォッシュアウトやレインアウトが一因として考えられ、気象条件も濃度変動の要因であることが示唆された。

## 2 水溶性イオン成分分析

結果を図9に示した（県民の森の夏季7月26日-27日、冬季12月3日-6日はサンプラー不具合、停電のため欠測）。質量濃度の調査期間平均濃度は救急医療センターが9.2-15.8  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、県民の森が3.9-8.9  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ の範囲であり、春季、夏季は期間内濃度変動幅が大きく、秋季、冬季は濃度が低く、変動幅も小さかった。このことは、上空の気流の影響や気象条件の影響であると考えられる。

また、両地点において春季>夏季>秋季>冬季の順であった。図9より、救急医療センターと県民の森で濃度変動パターンが類似していることから、地点間の距離があるものの、両地点ともに共通の気塊の影響を受けていることが考えられる。水溶性イオン成分については、質量濃度に占める比率が、救急医療センターで37-57%、県民の森が24-40%の範囲であった。図10に水溶性イオン組成比率を示す。特に春季の救急医療センターで57%と高い比率であった。また水溶性イオン成分に占める各イオン成分の比率については、両地点ともに $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{NH}_4^+$ の3成分で90%以上を占めており、濃度は $\text{SO}_4^{2-} > \text{NH}_4^+ > \text{NO}_3^-$ の順であった。また、特徴的なこととして、春季と冬季の救急医療センターにおいて、他期間と比較して $\text{NO}_3^-$ の比率が高く、全期間を通して $\text{NO}_3^-$ は救急医療センターの方が高い比率であった。このことから、 $\text{NO}_3^-$ は救急医療センター近隣の発生源からの $\text{NO}_x$ によ

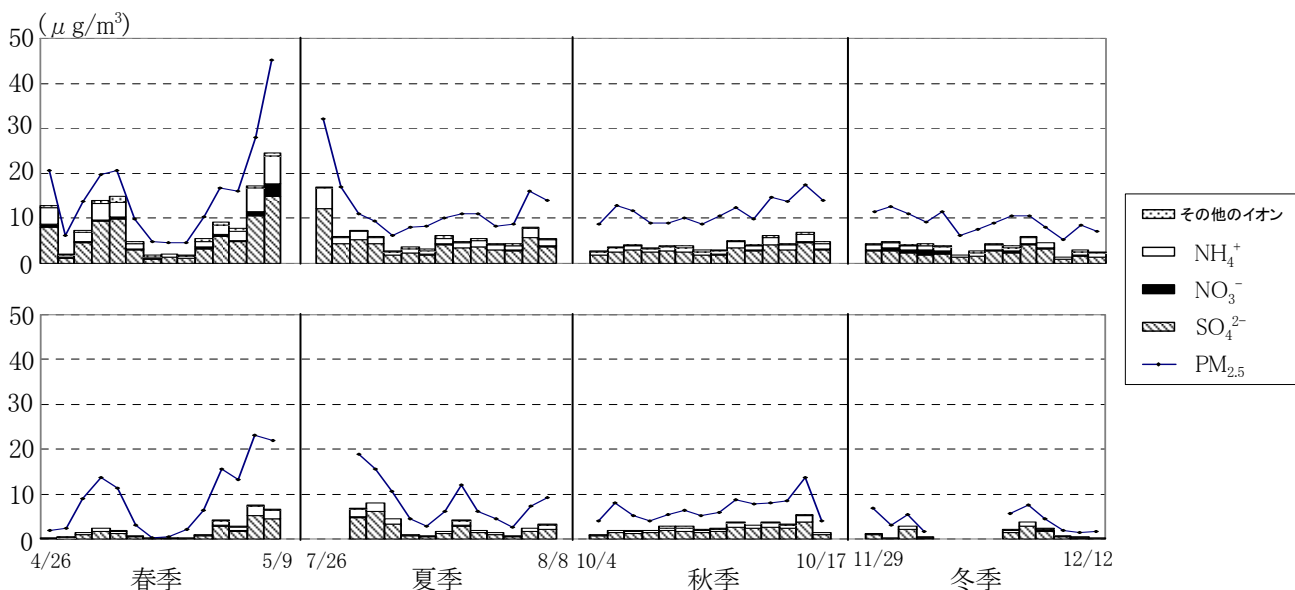


図9 水溶性イオン成分組成

(上段：救急医療センター 下段：県民の森)

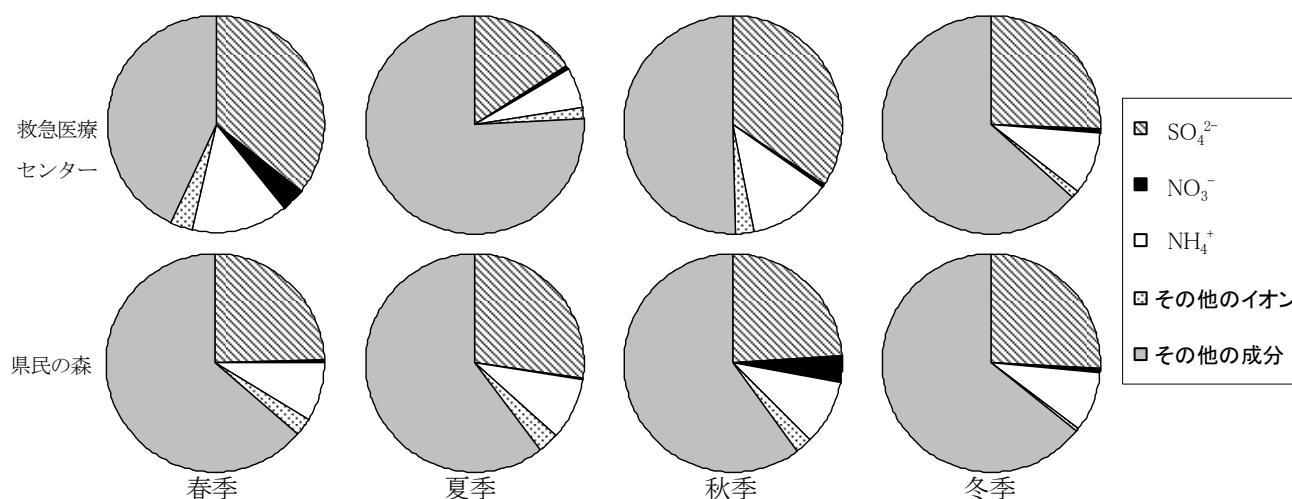


図 10 水溶性イオン組成比率  
(調査期間平均)

る二次生成粒子の影響の可能性が示唆された。 $\text{SO}_4^{2-}$ については、特に春季後半の濃度が上昇した際に、バックグラウンド地点である県民の森においても  $\text{SO}_4^{2-}$ が上昇したため近隣発生源の影響よりも越境による広域汚染の影響を受けたと考えられる。また、県内の  $\text{PM}_{2.5}$  自動測定機の質量濃度が5月8日午後から5月9日にかけて複数測定局で上昇したことからも越境による広域汚染を支持する結果となった。

#### まとめ

- 1 2012年度の  $\text{PM}_{2.5}$  環境基準については、湖西市役所で短期基準の98パーセンタイル値が  $35 \mu\text{g}/\text{m}^3$  を超過した。それ以外の測定局では基準を満たしていた。
- 2  $\text{PM}_{2.5}$  濃度変動については、春季に高濃度となる傾向が見られ、夏季から冬季の間は低濃度で推移していた。
- 3  $\text{PM}_{2.5}$  濃度については、測定局間（地域差や一般局と自排局差）で明確な濃度差は見られなかった。クラスター解析結果より、近隣の測定局間での濃度変動パターンは類似していた。
- 4 後方流跡線解析より、県内の高濃度要因の一つとして大陸や西日本からの移流・越境汚染が示唆された。
- 5 水溶性イオン成分分析より、質量濃度に占める水溶性イオン成分の比率は約40%であり、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{NH}_4^+$  で水溶性イオン成分の90%以上を占めていた。
- 6 県内の春季の高濃度日について、 $\text{SO}_4^{2-}$ の比率が増加していたことやバックグラウンド地点においても  $\text{SO}_4^{2-}$ の濃度上昇が見られたことから、越境汚染と水溶性イオン成分には関連のあることが分かった。

#### 最後に

2012年度は質量濃度の常時監視測定局数も少なく、成分分析についてはイオン成分のみの分析であり、県内の  $\text{PM}_{2.5}$  汚染実態の把握には不十分であった。今後、より詳細な状況把握のためには、より綿密な観測体制の整備が必要である。

#### 文献

- 1) 坂本和彦他: 知っておきたい  $\text{PM}_{2.5}$  の基礎知識, 1-15, 一般財団法人日本環境衛生センター, 神奈川 (2013)
- 2) 環境省: 微小粒子状物質による大気汚染に係る環境基準について, 平成21年9月9日付環境省告示第33号
- 3) 環境省: 「大気汚染防止法第22条の規定に基づく大気汚染の状況の常時監視に関する事務処理基準について」の一部改正について, 平成22年3月31日付環水大大発第100331001号 環水大自発第100331002号
- 4) 環境省: 微小粒子状物質( $\text{PM}_{2.5}$ )の成分分析ガイドラインについて, 平成23年7月29日, 環水大大発第110729001号
- 5) 板野泰之他: 2011年度の連続測定結果に基づく全国的な  $\text{PM}_{2.5}$  汚染の状況解析, 大気環境学会誌, 48 (3), 154-160(2013)
- 6) NOAA Air Resources Laboratory: HYSPLIT model, <http://www.arl.noaa.gov/HYSPLIT.php>
- 7) 気象庁: 過去の気象データ, <http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php>



## 近年の静岡県における湿性降下物の状況

大気水質部 大気騒音環境班 松田健太郎, 金子智英, 三宅健司,  
紅林佑希, 篠原英二郎, 瀧本俊晴,  
萱沼広行, 前田有美恵

Wet Deposition in Shizuoka Prefecture in Recent Years

Kentaro MATSUDA, Tomohide KANEKO, Kenji MIYAKE,  
Yuuki KUREBAYASHI, Eijiro SHINOHARA, Toshiharu TAKIMOTO,  
Hiroyuki KAYANUMA and Yumie MAEDA

2003～2012年度における静岡県の酸性雨調査結果のとりまとめを行った。その結果、降水量に大きな増加、減少傾向はみられなかった。pHは上昇傾向を示しており、pH3.6-4.0の降水出現頻度は減少、pH5.1-5.6の降水出現頻度は増加していた。EC（電気伝導度）は横ばいで推移していた。イオン成分濃度については、Cl<sup>-</sup>、Na<sup>+</sup>およびMg<sup>2+</sup>濃度が2012年度に最も高い値を示したが、降水におけるNa<sup>+</sup>とCl<sup>-</sup>およびNa<sup>+</sup>とMg<sup>2+</sup>の濃度比は海塩における組成比とほぼ一致したことに加え、湿性総沈着量が大きな値を示した採取日の前日に台風4号および17号が上陸したことが確認されたことから、台風による海塩性イオン濃度の上昇によるものと考えられた。また、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/nss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>およびNH<sub>4</sub><sup>+</sup>/nss-Ca<sup>2+</sup>の当量濃度比から、調査地点周辺においてはNO<sub>3</sub>排出量の減少やnss-Ca<sup>2+</sup>成分の減少が示唆された。なお、‘nss-’は「非海塩性（nss: non sea salt）」を表し、海塩性イオン（Na<sup>+</sup>を全て海塩由来として海塩組成比から算出）を差し引いた残りであることを示している。加えて、湿性沈着量の推移から、近年の降水においては国内だけでなく国外の排出源からの成分における沈着量も総合的に減少していると考えられた。

Key words: 酸性雨, 湿性沈着, 海塩, 非海塩  
acid rain, wet deposition, sea salt, non sea salt

### はじめに

降水は、汚染物質が含まれない大気中では、大気中に含まれる二酸化炭素が溶け込んでpH5.6程度の弱い酸性になる。さらに、産業活動や都市活動によって排出された大気汚染物質が加わりpH5.6以下の酸性度が強くなった降水（雨、雪、霧）となり地上に沈着する。

酸性雨が引き起こす環境影響として、河川や湖沼、土壌などの酸性化による生態系への被害が懸念される。

静岡県環境衛生科学研究所大気水質部では、酸性雨防止対策に資するため継続的に降水を採取し、その成分を分析することにより酸性雨の実態把握に努めている。

このたび、静岡県の酸性雨における年間を通じた実態の把握を目的として、2003～2012年度の調査結果をとりまとめたので報告する。

### 調査方法

#### 1 調査期間

2003年度から2012年度まで通年調査を行った。

#### 2 調査地点

静岡県環境衛生科学研究所（静岡県静岡市葵区北安東4丁目27-2）の屋上において試料の採取を行った。

#### 3 捕集、測定および分析機器

- 1) 酸性雨自動分析装置（電気化学計器株式会社 DRM-200E 型）
- 2) 降雨時開放型採雨器（株式会社小笠原計器製作所 US-300 型）
- 3) イオンクロマトグラフ（日本ダイオネクス株式会社 ICS-1100, ICS-2100）

#### 4 捕集方法

降雨時開放型採雨器を用いて降水の捕集を行った。試料の採取は原則降雨毎に行った。採取した試料は1ヶ月以内を目安に分析を行った。

#### 5 測定項目および測定方法

降水量の測定は降雨時開放型採雨器により貯水量を捕集面積で除して算出した。その他の項目は「湿性沈着モニタリング手引き書（第2版）」<sup>1)</sup>に従い測定を行った。pHおよびECの測定は酸性雨自動分析装置により行った。イオン成分(SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>)濃度の分析はイオンクロマトグラフにより行った。

### 結果および考察

#### 1 降水の経年変化について

##### 1) 降水量, pH および EC について

2003年度から2012年度までの降水量の経年変化を図1に示した。pHの年平均値を図2, 降水pHの頻度分布を図3に示した。ECの年平均値を図4に示した。また、なお、全国平均の値は全国環境研会誌<sup>2-10)</sup>から引用した。

調査期間中における降水量は、2007年度が2061mmと最も少なく、2004年度が3707mmと最も多かった。また、調査期間中の年平均値は2638mmであり、調査地点の降水量は全国平均値よりも年間800mm程度高い値で推移していた。調査期間中最も高い降水量を示した2004年は、日本への台風上陸数が10個に達したことが報告されている<sup>11)</sup>。このことが降水量の増加に影響したと考えられる。

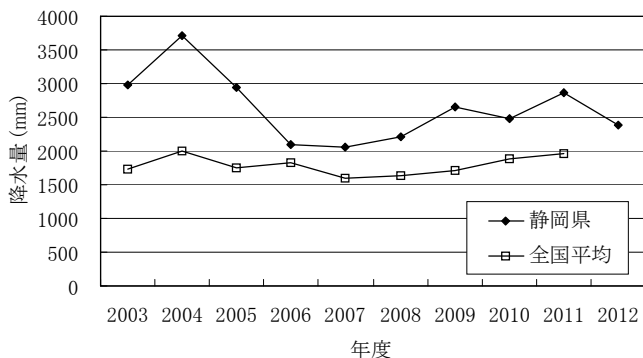


図1 静岡県および全国における降水量の経年変化

調査期間中におけるpHの年平均値は、2005年度に4.40と最も低い値を示したが、それ以降は上昇傾向を示し2010年度に4.97と最も高い値を示した。調査期間中の平均値は4.69であり、全国平均値の4.68とほぼ同等であった。

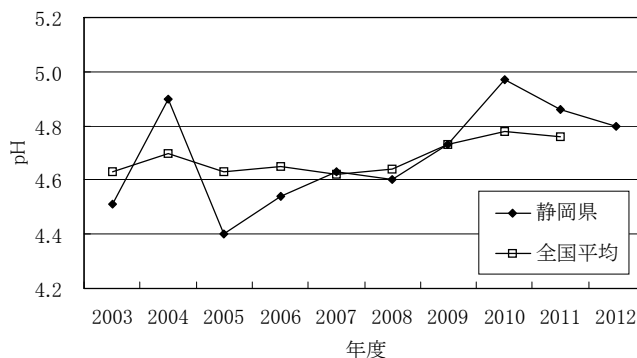


図2 静岡県および全国における降水pHの年平均値

pH5.7以上および3.5未満の降水頻度は調査期間中に大きな変動はみられなかった。しかし、pH3.6-4.0の降水頻度は減少しており、pH5.1-5.6の降水頻度は増加していた。

調査期間中におけるECの年平均値は、2003年度に22.2μS/cmと最も高い値を示し、2010年度に10.3μS/cmと最も低い値を示した。調査期間中の平均値は17.7μS/cmであり、全国平均値の24.5μS/cmよりも6.8μS/cm程度低い値で推移していた。調査期間中におけるpHのゆるやかな上昇傾向は、pH4.0以下の降水頻度の減少に加え、pH5.1以上の降水の出現頻度の増加によると考えられた。

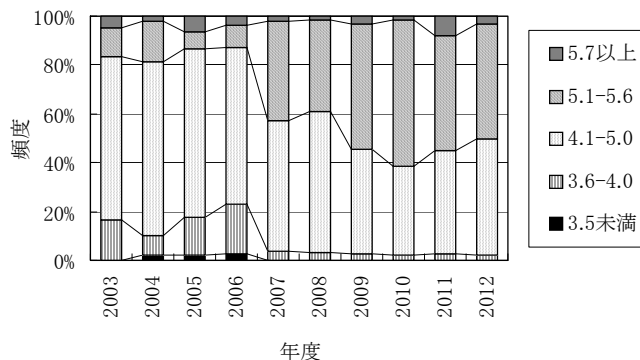


図3 静岡県における降水pH頻度分布の経年変化

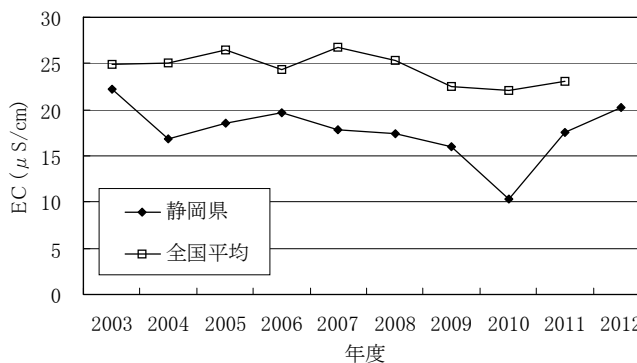


図4 静岡県および全国における降水ECの年平均値

2) 降水イオン濃度について

降水イオン濃度の年平均値を表1に示した。

イオン成分濃度については、Cl<sup>-</sup>、Na<sup>+</sup>およびMg<sup>2+</sup>濃度が2012年度にそれぞれ66.0μmol/L、56.4μmol/Lおよび6.5μmol/Lと、調査期間中において最も高い値を示した。その他のイオン濃度は同程度もしくは減少傾向で推移していた。

pHは酸と塩基のバランスで決定され、湿性沈着の酸性成分としては硫酸および硝酸が、塩基性成分としてはアンモニアおよび塩基性カルシウム化合物が考えられている。このため、降水中のnss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>およびNO<sub>3</sub><sup>-</sup>は酸性化に寄与する指標とされ、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>およびnss-Ca<sup>2+</sup>は酸性化抑制に寄与する指標とされている。降水の質的な変化を解析するうえでは、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/nss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>当量濃度比が酸性物質の寄与率の指標としてしばしば用いられてきた。そこで、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/nss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>当量濃度比の経年変化を図5に示した。降水のNO<sub>3</sub><sup>-</sup>イオン濃度およびnss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>イオン濃度の年平均値を図6および図7に示した。また同様に、中和物質の寄与率の指標であるNH<sub>4</sub><sup>+</sup>/nss-Ca<sup>2+</sup>当量濃度比の経年変化を図8に示した。降水のNH<sub>4</sub><sup>+</sup>イオン濃度およびnss-Ca<sup>2+</sup>イオン濃度の年平均値を図9および図10に示した。

調査地点におけるNO<sub>3</sub><sup>-</sup>/nss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>当量濃度比は、2006年度および2009年度にいずれも0.92と調査期間中において高い値を示した。また、2003年度から2010年度までは全国平均値を上回る値を示した。一方、2011年度には0.66と調査期間中最も低い値を示し、全国平均値を下回った。NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/nss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>当量濃度比の全国平均値は調査期間中ゆるやかな増加傾向を示していた。一方、調査地点においてはゆるやかな減少傾向を示していた。

調査地点におけるNO<sub>3</sub><sup>-</sup>イオン濃度は2007年度に19.9μmol/Lと調査期間中最も高い値を示したが、その後は低下傾向を示し、2011年度に7.5μmol/Lと最も低い値を

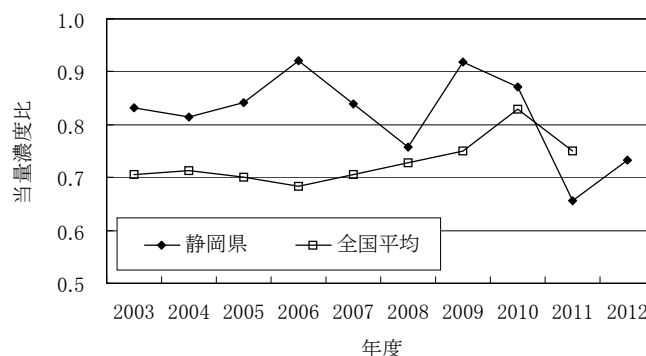


図5 静岡県の降水におけるNO<sub>3</sub><sup>-</sup>/nss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>当量濃度比の年平均値

示した。調査地点におけるNO<sub>3</sub><sup>-</sup>イオン濃度は2004年度以降、常に全国平均値を下回っていた。調査地点におけるnss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>イオン濃度は2007年度に15.3μmol/Lと最も高い値を示し、2010年度に6.6μmol/Lと最も低い値を示した。調査地点におけるnss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>イオン濃度は調査期間中常に全国平均値を下回っていた。

大泉(2009)<sup>12)</sup>によると、SO<sub>2</sub>とNO<sub>2</sub>の酸化反応においては、NO<sub>2</sub>はSO<sub>2</sub>より10倍早く酸化されるため、NO<sub>2</sub>から硝酸への酸化は、SO<sub>2</sub>から硫酸への酸化と比較して発生源に近い場所で完結するとしている。また、nss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>沈着量は国外排出源の影響が大きく、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>沈着量は国内排出源の影響が大きいという結果もある<sup>13)</sup>。藤田(2013)<sup>14)</sup>は、日本列島における降水のNO<sub>3</sub><sup>-</sup>/nss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>濃度比は、最近やや増加に転じたと報告している。また、その理由として中国大陸におけるSO<sub>2</sub>排出量の頭打ちを挙げている。全国環境研会誌のデータにおいてもNO<sub>3</sub><sup>-</sup>/nss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>当量濃度比の全国平均値は調査期間中ゆるやかに増加しており、同様の傾向を示していた。また、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度およびnss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>濃度の近似直線の傾きはそれぞれ-0.29および-0.48を示していたことから、中国大陸におけるSO<sub>2</sub>排出量の減少等により、

表1 静岡県における降水イオン濃度の年平均値

年度	降水イオン濃度 (μmol/L)									
	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	nss-SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Cl <sup>-</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	nss-Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>
2003	16.8	15.2	19.6	45.1	13.0	27.2	2.0	9.2	8.6	3.2
2004	11.8	9.2	11.6	48.6	8.8	42.1	1.3	10.3	10.3	4.5
2005	13.6	11.8	15.4	40.8	11.5	30.4	1.4	9.0	8.3	3.6
2006	13.5	12.4	17.7	24.9	12.7	17.1	0.9	6.8	6.4	2.8
2007	16.5	15.3	19.9	24.6	15.9	19.3	1.0	5.0	4.6	2.7
2008	14.5	13.3	15.6	24.0	10.4	18.2	0.6	5.7	5.3	2.4
2009	11.7	9.7	13.8	42.3	8.3	33.0	1.0	4.4	3.7	3.9
2010	7.5	6.6	8.9	20.1	8.7	15.9	0.7	2.6	2.2	1.9
2011	10.6	7.4	7.5	25.8	7.0	21.9	1.2	3.0	1.9	2.5
2012	13.1	9.7	11.1	66.0	9.0	56.4	1.4	4.8	3.6	6.5

NO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度よりもnss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>濃度が顕著な減少傾向を示したことが、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/nss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>当量濃度比の全国平均値が増加傾向を示した理由であると考えられた。

しかし、静岡県においてはNO<sub>3</sub><sup>-</sup>/nss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>当量濃度比はゆるやかな減少傾向を示しており、全国的な傾向とは逆の傾向を示した。調査期間中におけるnss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>濃度の近似直線の傾きは静岡県および全国平均においてそれぞれ-0.59および-0.48であり、近似した値を示したことから、nss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>濃度は静岡県においても全国的な傾向と同様に減少傾向を示していた。しかし、静岡県におけるNO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度の近似直線の傾きは-0.93であり、nss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>濃度の傾き-0.59と比較して低い値を示していた。このことから、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度がnss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>濃度よりも顕著な減少傾向を示したことが、静岡県においてNO<sub>3</sub><sup>-</sup>/nss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>当量濃度比が減少傾向を示していた理由であると考えられた。またこれにより、静岡県においては近隣のNO<sub>3</sub><sup>-</sup>排出量が減少していることが考えられた。

調査地点におけるNH<sub>4</sub><sup>+</sup>/nss-Ca<sup>2+</sup>当量濃度比は2004年度に0.38と調査期間中最も低い値を示したが、その後は増加傾向を示し、2010年度に1.78と最も高い値を示した。調査期間中の値は常に全国平均値を下回っていた。

NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/nss-Ca<sup>2+</sup>当量濃度比の全国平均値は調査期間中同程度の値で推移していた。

調査地点におけるNH<sub>4</sub><sup>+</sup>イオン濃度は2007年度に15.9 μmol/Lと最も高い値を示し、2011年度に7.0 μmol/Lと最も低い値を示した。調査地点におけるNH<sub>4</sub><sup>+</sup>イオン濃度は調査期間中常に全国平均値を下回っていた。調査地点におけるnss-Ca<sup>2+</sup>イオン濃度は2004年度に10.3 μmol/Lと最も高い値を示したが、その後は減少傾向を示し、2011年度に1.9 μmol/Lと最も低い値を示した。

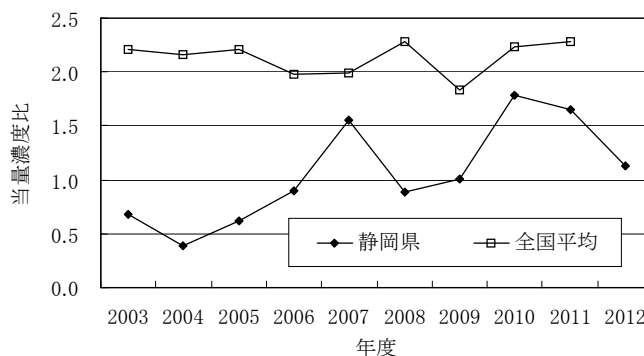


図8 静岡県の降水におけるNH<sub>4</sub><sup>+</sup>/nss-Ca<sup>2+</sup>当量濃度比の年平均値

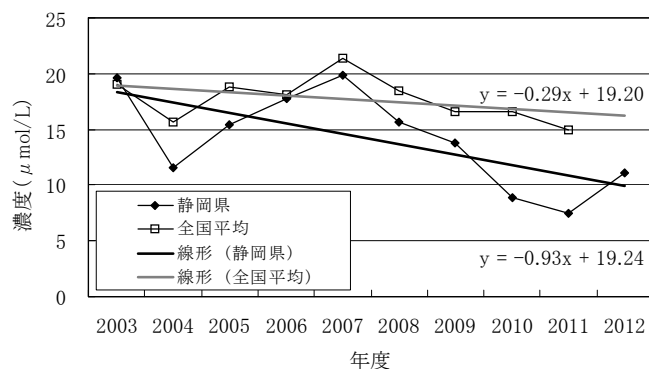


図6 静岡県および全国の降水におけるNO<sub>3</sub><sup>-</sup>イオン濃度の年平均値

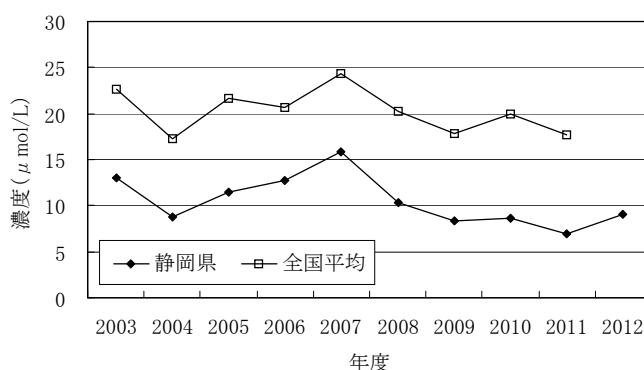


図9 静岡県および全国の降水におけるNH<sub>4</sub><sup>+</sup>イオン濃度の年平均値

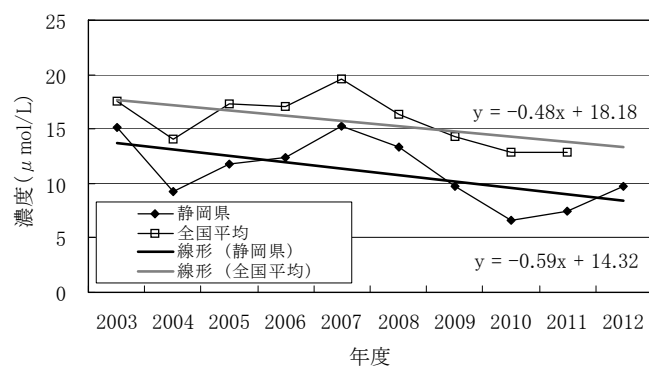


図7 静岡県および全国の降水におけるnss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>イオン濃度の年平均値

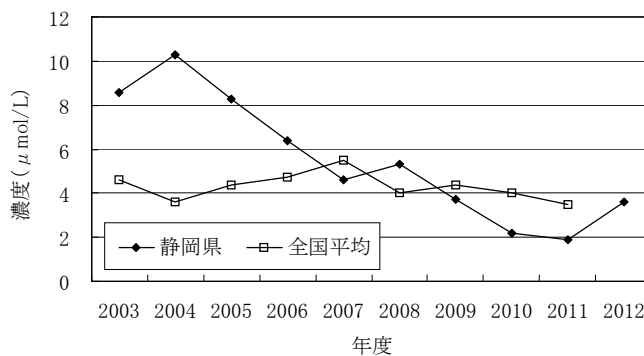


図10 静岡県および全国の降水におけるnss-Ca<sup>2+</sup>イオン濃度の年平均値



調査地点における  $\text{nss-Ca}^{2+}$  イオン濃度は 2003～2006 年度は全国平均値を上回っていたが、2009～2011 年度は全国平均値を下回っていた。

調査地点の降水における  $\text{NH}_4^+$  濃度は、調査期間中全国平均値の約 40%～65% 程度の値で推移しており、そのことが  $\text{NH}_4^+/\text{nss-Ca}^{2+}$  当量濃度比の値が常に全国平均値を下回っていた要因であると考えられた。 $\text{NH}_3$  の主な発生源として、家畜排泄物、化学肥料の施肥および自動車排出ガス等が知られている<sup>15,16</sup>。調査地点周辺においてはこれらの排出量が少ないことが考えられたが、 $\text{NH}_3$  は粒子状の塩として変換された場合何千 km も運ばれることもあるため<sup>16</sup>、今後更なる検討が必要である。また、調査地点における  $\text{NH}_4^+/\text{nss-Ca}^{2+}$  当量濃度比の値が増加傾向を示した要因として、 $\text{nss-Ca}^{2+}$  濃度の減少が挙げられる。 $\text{nss-Ca}^{2+}$  は土壌粒子や道路粉塵等に由来すると言われている<sup>17</sup>。よって、調査地点においてはこれらの物質の減少により  $\text{nss-Ca}^{2+}$  濃度が減少し、 $\text{NH}_4^+/\text{nss-Ca}^{2+}$  当量濃度比の値の増加につながったと考えられた。

### 3) 湿性沈着量について

湿性沈着量とはイオン成分濃度×降水量で計算される値であり、降水によって単位面積あたりに沈着したイオン成分の量を示すものである。

降水中の酸性化に寄与する指標 ( $\text{nss-SO}_4^{2-}$  および  $\text{NO}_3^-$ ) および酸性化抑制に寄与する指標 ( $\text{NH}_4^+$  および  $\text{nss-Ca}^{2+}$ ) の湿性沈着量の経年変化を図 11 に示した。

$\text{nss-SO}_4^{2-}$ 、 $\text{NO}_3^-$  および  $\text{NH}_4^+$  沈着量は 2003 年度にそれぞれ 45.4  $\text{mmol/m}^2/\text{year}$ 、58.5  $\text{mmol/m}^2/\text{year}$  および 38.8  $\text{mmol/m}^2/\text{year}$  と最も高い値を示し、その後は減少傾向を示した。 $\text{nss-Ca}^{2+}$  沈着量は 2004 年度に 38.2  $\text{mmol/m}^2/\text{year}$  と最も高い値を示したが、2009 年度以降は 10.0  $\text{mmol/m}^2/\text{year}$  以下で推移していた。また、 $\text{nss-SO}_4^{2-}$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{NH}_4^+$  および  $\text{nss-Ca}^{2+}$  沈着量はいずれも減少傾向を示していた。

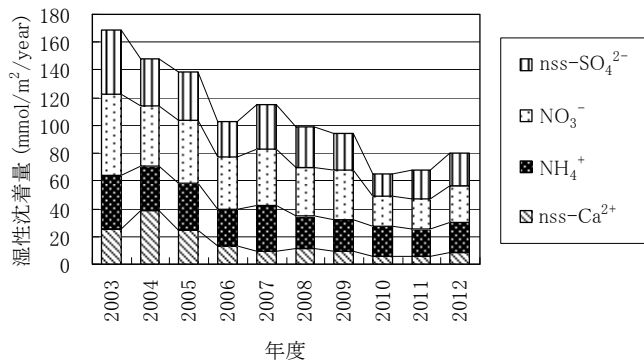


図 11 静岡県における主要イオン成分の湿性沈着量の年平均値

国外排出源の影響が大きいと言われている  $\text{nss-SO}_4^{2-}$  沈着量、国内排出源の影響が大きいと言われている  $\text{NO}_3^-$  沈着量に加え<sup>12</sup>、 $\text{NH}_4^+$  および  $\text{nss-Ca}^{2+}$  沈着量も減少傾向を示していた。また、それらの沈着量の組成比にも大きな変動はみられなかったことから、近年の降水においては国内だけでなく国外の排出源からの成分における沈着量も総合的に減少していると考えられた。また、このことが近年の pH 上昇に影響していると考えられた。

## 2 2012 年度の降水について

### 1) $\text{Na}^+\text{Cl}$ および $\text{Na}^+\text{Mg}^{2+}$ 組成比について

2012 年度降水における降水毎の  $\text{Na}^+\text{Cl}$  組成比を図 12 に、 $\text{Na}^+\text{Mg}^{2+}$  組成比を図 13 に示した。

2012 年度降水における  $\text{Na}^+$  と  $\text{Cl}$  および  $\text{Na}^+$  と  $\text{Mg}^{2+}$  の濃度比は海塩における組成比とほぼ一致した。このことから、これらのイオンの大部分は海塩に由来するものと考えられた。

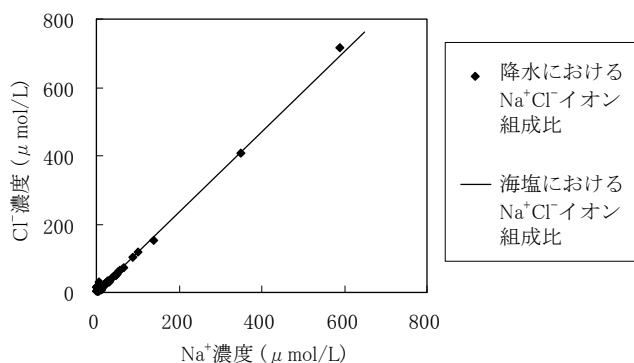


図 12 静岡県の 2012 年度降水における  $\text{Na}^+\text{Cl}$  組成比

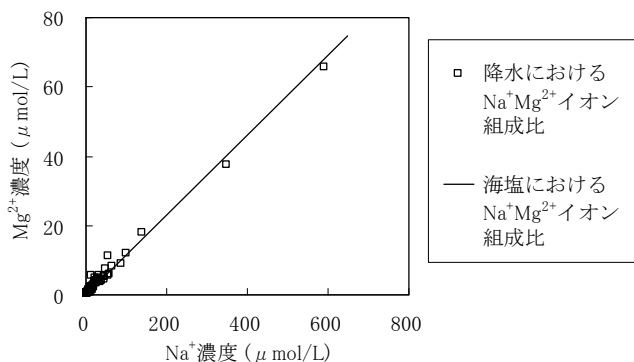


図 13 静岡県の 2012 年度降水における  $\text{Na}^+\text{Mg}^{2+}$  組成比

### 2) 湿性沈着量について

2012年度降水における湿性沈着量を図14に示した。

2012年6月20日および10月1日に採取した降水における湿性総沈着量は80 mmol/m<sup>2</sup>以上と特に大きな値を示した。また、両採取日とも湿性総沈着量のうち90%以上をCl<sup>-</sup>およびNa<sup>+</sup>が占めていた(mol濃度換算)。両採取日の前日には台風4号および17号が上陸したことが確認されており<sup>18)</sup>、特に台風17号については猛烈な風が吹き、沿岸で高潮が発生したことが報告されている<sup>19)</sup>。このことから、2012年度に海塩由来の降水イオン成分濃度が大きく増加した理由として、台風による影響が考えられた。

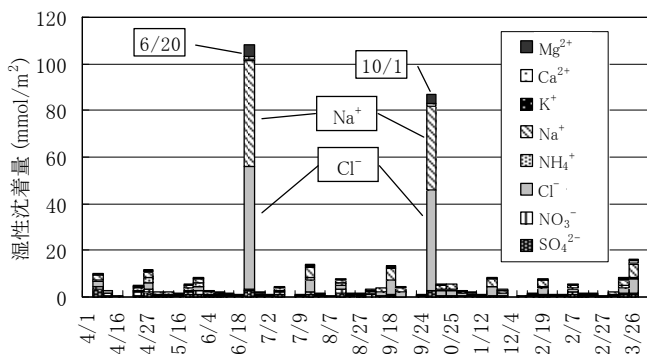


図14 静岡県の2012年度降水における湿性沈着量

### まとめ

2003～2012年度における静岡県の酸性雨調査結果のとりまとめを行った。その結果、降水量に大きな増加、減少傾向はみられなかった。pHは上昇傾向を示しており、pH3.6-4.0の降水出現頻度は減少、pH5.1-5.6の降水出現頻度は増加していた。ECは横ばいで推移していた。イオン成分濃度については、Cl<sup>-</sup>、Na<sup>+</sup>およびMg<sup>2+</sup>濃度が2012年度に最も高い値を示したが、降水におけるNa<sup>+</sup>とCl<sup>-</sup>およびNa<sup>+</sup>とMg<sup>2+</sup>の濃度比は海塩における組成比とほぼ一致したことに加え、湿性総沈着量が大きな値を示した採取日の前日に台風4号および17号が上陸したことが確認されたことから、台風による海塩性イオン濃度の増加によるものと考えられた。また、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/nss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>およびNH<sub>4</sub><sup>+</sup>/nss-Ca<sup>2+</sup>の当量濃度比から、調査地点周辺においてはNO<sub>3</sub><sup>-</sup>排出量の減少やnss-Ca<sup>2+</sup>成分の減少が示唆された。加えて、湿性沈着量の推移から、近年の降水においては国内だけでなく国外の排出源からの成分における沈着量も総合的に減少していると考えられた。

酸性雨の生成には、工場や自動車から排出された二酸化硫黄や窒素酸化物だけでなく、アンモニアやオゾン等の様々なガスおよび粒子状物質が関与していると言われており<sup>20)</sup>、近年はPM<sub>2.5</sub>等の取り込みによる酸性化の影響も懸念されている。今後も継続的に調査を行うことで、

更なる実態把握に努めたい。

### 文献

- 1) 環境省地球環境局：湿性沈着モニタリング手引き書（第2版）（2001）
- 2) 全国環境研究会誌編集委員会：全国環境研究会誌，第30巻，第2号，全国環境研究会誌事務局，東京（2005）
- 3) 全国環境研究会誌編集委員会：全国環境研究会誌，第31巻，第3号，全国環境研究会誌事務局，東京（2006）
- 4) 全国環境研究会誌編集委員会：全国環境研究会誌，第32巻，第3号，全国環境研究会誌事務局，東京（2007）
- 5) 全国環境研究会誌編集委員会：全国環境研究会誌，第33巻，第3号，全国環境研究会誌事務局，東京（2008）
- 6) 全国環境研究会誌編集委員会：全国環境研究会誌，第34巻，第3号，全国環境研究会誌事務局，東京（2009）
- 7) 全国環境研究会誌編集委員会：全国環境研究会誌，第35巻，第3号，全国環境研究会誌事務局，東京（2010）
- 8) 全国環境研究会誌編集委員会：全国環境研究会誌，第36巻，第3号，全国環境研究会誌事務局，東京（2011）
- 9) 全国環境研究会誌編集委員会：全国環境研究会誌，第37巻，第3号，全国環境研究会誌事務局，東京（2012）
- 10) 全国環境研究会誌編集委員会：全国環境研究会誌，第38巻，第3号，全国環境研究会誌事務局，東京（2013）
- 11) 気象庁：平成16年夏から秋にかけての集中豪雨・台風等について（2004）
- 12) 大泉 毅：大気沈着—第2講 湿性沈着—，大気環境学会誌，**44**，A17-A24（2009）
- 13) 環境省：酸性雨長期モニタリング報告書（平成15～19年度）（2009）
- 14) 藤田慎一：日本列島における降水のNO<sub>3</sub><sup>-</sup>/nssSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>濃度比の経年変化，大気環境学会誌，**48**，12-19（2013）
- 15) 松本利恵他：道路周辺のアンモニア・窒素酸化物濃度への自動車排出ガスの影響，地球環境，**15**（2），103-110（2010）
- 16) 野口 泉他：大気からの窒素成分沈着，地球環境，**15**（2），111-120（2010）
- 17) 中村圭三他：房総半島下総地方における酸性雨について，天気，**59**（12），1053-1063（2012）
- 18) 気象庁：2012年（平成24年）の台風について（2013）
- 19) 内閣府：平成24年度台風17号による被害状況等について（2012）
- 20) 環境省：酸性雨長期モニタリング報告書（平成20～22年度）中間報告（2012）

## 他誌に発表した論文

## 微生物部

- 1) Development of duplex SYBR Green real-time PCR for rapid and simultaneous detection of 16 specific genes of 16 major foodborne bacteria

Iida, N., Fukushima, H., Hiroi, M., Yagi, M., Kanda, T., Murakami, M., and Sugiyama, K.

Jpn. J. Food Microbiol., **30**, 160-164 (2013)

細菌性食中毒検査の迅速化・省力化のため、duplex real-time PCR法を用いた食中毒起因菌のより実践的な一斉スクリーニング法を考案した。本法は、食中毒患者の糞便検体から抽出されたDNAを対象としたDuplex SYBR Green real-time PCRの8反応系を同時に行い、発生頻度の高い食中毒起因菌の16遺伝子を一斉に検索する。菌種の同定は、融解曲線分析のTm値との比較により、判定することが可能である。実際の食中毒事例の患者糞便検体に本法を導入したところ、培養法と同等の成績を約3~4時間で得ることができた。本法は、検査の効率化のみならず、食中毒事件へのより迅速な行政対応を可能にし、健康危機管理の一端を担う方法として活用が期待される。

- 2) 浴槽水のモノクロロミン消毒

佐原啓二, 神田 隆, 八木美弥, 道越勇樹, 杉山寛治, 縣 邦雄, 江口大介, 市村祐二, 久保田 明, 富田敦子, 片山富士男, 神野透人, 小坂浩司, 泉山信司, 八木田健司, 遠藤卓郎, 倉 文明

病原微生物検出状況, **34**, 168-169 (2013)

静岡県内の循環式浴槽を有する3入浴施設でモノクロロミンによる消毒効果について各6週間の検証実験を行った。モノクロロミン濃度が3mg/Lになるよう注入した結果、いずれの施設においてもレジオネラは検出されなかった。また、カルキ臭の原因物質の一つであるトリクロロミンも、試験中全く検出されなかった。さらに、掛け流し式浴槽の実験でも良好な成績が得られたので、モノクロロミン消毒は安全で快適な新たな消毒法として期待される。

- 3) 食品および拭き取り検体からのノロウイルス高感度検出法の検討

長岡宏美, 小柳純子, 山田俊博, 川森文彦

食品衛生研究, **63**, 41-43 (2013)

ノロウイルスによる集団胃腸炎事例において、その感染源が食品由来か否かを判断する上で食品や拭き取り検体からのノロウイルス検出の有無は重要な根拠の一つである。しかし、食品などの検体処理方法については一般化された優れた方法がなく、検出率が低いことから行政需要に十分対応できていないのが現状であった。そこで、食品検体についてはPEG沈殿法、拭き取り検体については振り出し法を用いた前処理法を検討したところ、食品で34%、拭き取り検体で18.2%の良好な検出率が得られた。本法は特別な試薬等が不要で操作法も比較的簡便であることから、食品および拭き取り検体からのウイルス検査法として有用であると思われた。

## 医薬食品部

- 1) アカデミアの創薬スクリーニング:分子標的からリード化合物発見への戦略

浅井章良, 小郷尚久

細胞工学, 時代をリードする研究をわかりやすく伝えるレビュー誌, **32 (6)**, 644-648 (2013)

現代の創薬研究では、ゲノムやプロテオーム解析から得られた疾患関連タンパク質と有機化合物からなる小分子群のそれぞれの集団の中から、医薬品として適したペアを同定していくことが求められる。その第一選択手段がドラッグスクリーニングであり、疾患関連タンパク質と小分子化合物との接点を作るための重要な“場”である。本稿では、近年筆者らが行ってきた化合物ライブラリーと構造最適化研究を紹介しながら、ドラッグライクネスとドラッグビリティについても解説する。

- 2) FERRIER GLYCOSYLATION REACTION CATALYZED BY Bi(OTf)<sub>3</sub>-MONTMORILLONITE K-10: EFFICIENT SYNTHESIS OF 3,4-UNSATURATED SIALIC ACID DERIVATIVES: SYNTHESIS AND BIOLOGICAL EVALUATION AS INHIBITORS OF HUMAN PARAINFLUENZA VIRUS TYPE 1

Mai Oba, Yayoi Ueno, Satoru Kitani, Takuya Hayakawa, Tadanobu Takahashi, Takashi Suzuki, Masayuki Sato and Kiyoshi Ikeda  
HETEROCYCLES, **89(1)**, 69-81 (2014)

The reaction of the

4,5-oxazoline derivative of sialic acid with various alcohols was effectively promoted by catalytic amount of montmorillonite K-10 clay-supported Bi(OTf)<sub>3</sub> to produce a variety of 3,4-unsaturated sialic acids via the Ferrier glycosylation reaction in moderate yields. The deprotection of the isopropylidene group and hydrolysis of the ester group of 7a-g gave 4a-f, whose inhibitory activities against hPIV-1 sialidase were studied.

## 学会・研究会の報告

### 環境科学部

- 1) 富士山南部地域の水質マップと地下水ガバナンスへの展開  
神谷貴文, 渡邊雅之, 村中康秀  
日本地球惑星科学連合 2013 年大会  
2013. 5. 22-23 (千葉)
- 2) 静岡県における外来種コモチカワツボの生態調査  
鈴木佐知子, 今津佳子, 古屋洋一, 久米一成  
平成 25 年度自然系調査研究機関 調査研究・活動事例発表会  
2013. 11. 6- 7 (石川県輪島市)
- 3) 居住環境におけるホルムアルデヒド発生源のオンサイトスクリーニング法の開発  
鈴木光彰  
産・学・民・官の連携を考えるつどい 2013  
2013. 11. 22 (静岡)
- 4) 水産加工所の排水処理汚泥を原料にした肥料の有用性の検討  
岩崎泰憲, 鈴木佐知子, 鈴木光彰, 古屋洋一, 久米一成  
産・学・民・官の連携を考えるつどい 2013  
2013. 11. 22 (静岡)
- 5) 居住環境におけるホルムアルデヒド発生源のオンサイトスクリーニング法の開発  
鈴木光彰  
静岡環境フォーラム 21  
2013. 12. 2 (静岡)
- 6) 静岡県における外来種コモチカワツボの生態調査  
鈴木佐知子, 今津佳子, 古屋洋一, 久米一成  
環境フォーラム 21  
2013. 12. 2 (静岡)
- 7) 地下水熱システムを現地に設置  
村中康秀  
環境フォーラム 21  
2013. 12. 2 (静岡)
- 8) AMDIS を用いた GC/MS データベースの作成について - 静岡県の取り組み -  
渡邊雅之  
平成 25 年度国立環境研究所共同研究ミーティング  
2013. 12. 12-13 (つくば)
- 9) 富士山南部地域の水質モニタリング  
神谷貴文, 渡邊雅之, 村中康秀  
第 3 回同位体環境学シンポジウム  
2013. 12. 17-18 (京都)
- 10) 富士山地域における持続可能な地下水の有効利活用について  
神谷貴文, 渡邊雅之  
静岡県立大学環境科学講座「富士山を取りまく環境」  
2013. 12. 21 (静岡)
- 11) 水産加工所の排水処理汚泥を原料にした肥料の有用性の検討  
岩崎泰憲  
ふじのくに総合食品開発展 2014  
2014. 1. 22 (静岡)
- 12) 静岡県における外来種コモチカワツボの生態調査  
鈴木佐知子, 古屋洋一, 久米一成, 今津佳子  
第 50 回静岡県公衆衛生研究会  
2014. 2. 7 (静岡)
- 13) 含リン廃棄物を原料にした肥料の有用性の検討  
岩崎泰憲, 鈴木佐知子, 鈴木光彰, 古屋洋一, 久米一成  
第 50 回静岡県公衆衛生研究会  
2014. 2. 7 (静岡)

### 微生物部

- 1) 鶏における  $\beta$ -ラクタマーゼ産生大腸菌の分離状況について  
渡邊朋恵  
平成 25 年度静岡県獣医師衛生研究会  
2013. 6. 19 (掛川)
- 2) クドア・セブテンpunkタータ以外のクドアによる食中毒の可能性について  
飯田奈都子  
衛生微生物協議会第 34 回研究会  
2013. 7. 12 (名古屋)
- 3) 鶏における ESBL 産生菌の分離状況とヒト由来株との関連性について  
渡邊朋恵, 小田みどり, 飯田奈都子, 佐原啓二, 川森文彦  
平成 25 年度獣医学術中部地区学会  
2013. 9. 1 (岐阜)
- 4) クドア属粘液胞子虫関連事例および市販魚におけるクドア属粘液胞子虫保有状況  
渡邊朋恵, 道越勇樹, 飯田奈都子, 川森文彦  
平成 25 年度公衆衛生獣医師協議会全国大会  
2013. 9. 6 (東京)
- 5) 静岡県におけるマダニ採取状況およびマダニ媒介感染症  
川森文彦  
静岡県寄生虫研究会第 18 回研究総会  
2013. 9. 14 (浜松)
- 6) ウシのトキソカラ症例の検出  
佐原啓二  
静岡県寄生虫研究会第 18 回研究総会  
2013. 9. 14 (浜松)
- 7) クドア属粘液胞子虫検出事例および市販魚における寄生状況  
渡邊朋恵

静岡県寄生虫症研究会第18回研究総会  
2013. 9. 14 (浜松)

- 8) 静岡県におけるニホンジカおよびイノシシのE型肝炎ウイルス保有状況に関する実態調査  
小柳純子, 池ヶ谷朝香, 山田俊博, 佐原啓二,  
川森文彦  
第28回地方衛生研究所全国協議会 関東甲信静支部  
ウイルス研究部会研究会  
2013. 9. 26 (千葉)
- 9) 静岡県におけるダニ媒介性感染症の現状  
川森文彦  
第22回日本ダニ学会  
2013. 9. 28 (静岡)
- 10) BKウイルスの拡散定量と遺伝子型検出に関する検討  
山田俊博, 小柳純子, 池ヶ谷朝香, 佐原啓二,  
賀川康樹, 松尾 研, 森 典子  
平成25年度日臨技中部圏支部 医学検査学会  
2013. 11. 24 (三重)
- 11) ダニ媒介性感染症の現状  
川森文彦  
第25回日本臨床微生物学会  
2014. 2. 1 (名古屋)
- 12) クドア セブテンプリンクタータ  
飯田奈都子  
第25回日本臨床微生物学会  
2014. 2. 1 (名古屋)
- 13) 静岡県の温泉施設が原因と考えられたレジオネラ症事例について  
高井健太, 牧田幸久, 渡邊朋恵, 飯田奈都子,  
柴田真也, 長岡宏美, 川森文彦  
平成25年度地方衛生研究所全国協議会 関東甲信静  
支部ウイルス研究部会第26回研究会  
2014. 2. 7 (東京)
- 14) 腸管出血性大腸菌感染症の発生状況および分離株の分子疫学的解析  
柴田真也, 長岡宏美, 川森文彦  
第50回静岡県公衆衛生研究会  
2014. 2. 7 (静岡)
- 15) 静岡県における麻しん疑い症例の検査状況  
池ヶ谷朝香, 小柳純子, 山田俊博, 佐原啓二,  
川森文彦  
第50回静岡県公衆衛生研究会  
2014. 2. 7 (静岡)
- 16) 県内入浴施設におけるレジオネラ属菌の検出状況について  
牧田幸久, 高井健太, 柴田真也, 長岡宏美, 川森文彦  
第50回静岡県公衆衛生研究会  
2014. 2. 7 (静岡)
- 17) 鶏におけるESBL産生菌の分離状況とヒト由来株との関連性について

渡邊朋恵, 小田みどり, 飯田奈都子, 佐原啓二,  
川森文彦  
平成25年度獣医公衆衛生学会  
2014. 2. 21 (千葉)

- 18) クドア属粘液胞子虫関連事例および市販魚におけるクドア属粘液胞子虫保有状況  
渡邊朋恵, 道越勇樹, 飯田奈都子, 川森文彦  
平成25年度獣医公衆衛生学会  
2014. 2. 22 (千葉)

#### 医薬食品部

- 1) 迅速かつ簡便な前処理法を取り入れた残留農薬一斉分析法の開発  
小林千恵, 大坪昌広, 瀧井美樹, 鈴木明子,  
小和田和宏  
平成25年度食監協関東ブロック研修会  
2013. 8. 30 (藤沢)
- 2) ヒヤリ・ハット事例から見た試験検査業務の管理上のチェックポイントについて  
今津佳子, 隅 春菜, 岩切靖卓, 渡辺陽子,  
菅野尚子, 小和田和宏  
第50回全国薬事指導協議会総会  
2013. 10. 18(三重)
- 3) 迅速かつ簡便な前処理法を取り入れた残留農薬一斉分析法の開発  
小林千恵, 大坪昌広, 瀧井美樹, 鈴木明子,  
小和田和宏  
平成25年度食監協全国研修会  
2013. 10. 24 (東京)
- 4) QuEChRS法を取り入れた残留農薬一斉分析法の検討  
小林千恵, 大坪昌広, 瀧井美樹, 鈴木明子,  
小和田和宏  
第50回全国衛生化学技術協議会  
2013. 11. 7- 8(富山)
- 5) 加工食品中のアクリルアミドの含有実態調査  
横山玲子, 久保山真帆, 小和田和宏  
第50回全国衛生化学技術協議会  
2013. 11. 7- 8(富山)
- 6) 簡易懸濁法に関する薬剤情報の構築  
隅 春菜, 岩切靖卓, 渡辺陽子, 菅野尚子,  
今津佳子, 小和田和宏, 内田恭之, 山崎朝子,  
高橋沙由理, 鈴木崇代  
第50回全国衛生化学技術協議会  
2013. 11. 8(富山)
- 7) ノロウイルス不活化剤の探索とその実用化に関する研究  
大場 舞, 安藤隆幸, 渡辺陽子, 岩切靖卓,  
大坪昌広, 小和田和宏, 小柳純子, 池ヶ谷朝香,  
川森文彦, 小郷尚久  
第50回全国衛生化学技術協議会  
2013. 11. 8(富山)
- 8) 静岡県におけるPIC/S対応の医薬品検査体制の構築と

課題

- 今津佳子, 隅 春菜, 岩切靖卓, 渡辺陽子, 菅野尚子,  
小和田和宏  
第 50 回全国衛生化学技術協議会  
2013. 11. 8(富山)
- 9) PIC/S 加盟申請と試験検査機関の品質システム  
ー静岡県における各自治体における PIC/S に対する取  
り組みー  
小和田和宏  
第 50 回全国衛生化学技術協議会 (部門別研究会)  
2013. 11. 8(富山)
- 10) 化合物ライブラリーシステムの構築とその展開: ハイポキ  
シアを標的とした新規抗がん剤探索への適応  
小郷尚久, 大場 舞, 浅井章良  
第 31 回メディシナルケミストリーシンポジウム  
2013. 11. 20-22 (広島)
- 11) 医薬品関連の実習講座の実施について  
渡辺陽子, 岩切靖卓, 内田恭之, 上村慎子,  
前田有美恵, 小和田和宏  
第 46 回東海薬剤師学術大会  
2013. 11. 24 (岐阜)
- 12) 簡易懸濁法に関する薬剤情報の構築ー投与量変化につ  
いてー  
吉野豪一, 内田恭之, 岩切靖卓, 上村慎子,  
渡辺陽子, 前田有美恵, 小和田和宏, 岩崎剛士,  
中條倫成, 鈴木崇代  
第 46 回東海薬剤師学術大会  
2013. 11. 24 (岐阜)
- 13) 医薬品の保存安定性に関する研究  
渡辺陽子, 隅 春菜, 岩切靖卓, 菅野尚子,  
今津佳子, 小和田和宏  
静岡環境フォーラム 21  
2013. 12. 2 (静岡)
- 14) ウコン含有健康食品の品質評価  
久保山真帆, 横山玲子, 小和田和宏  
静岡環境フォーラム 21  
2013. 12. 2 (静岡)
- 15) 小学校における生活習慣病予防をテーマとした商品テス  
ト実習講座の実施について  
横山玲子, 久保山真帆, 小和田和宏, 植田富美子  
第 50 回静岡県公衆衛生研究会  
2014. 2. 7 (静岡)
- 16) 緑茶服用習慣の健康改善に及ぼす効果に関する研究  
瀧井美樹, 大坪昌広, 小林千恵, 鈴木明子,  
小和田和宏, 藪田明広, 横地常広, 野々木宏,  
島田俊夫, 清水史郎  
第 50 回静岡県公衆衛生研究会  
2014. 2. 7 (静岡)
- 17) 迅速かつ簡便な前処理法を取り入れた残留農薬一斉分析  
法の開発  
小林千恵, 大坪昌広, 瀧井美樹, 鈴木明子,  
小和田和宏
- 第 50 回静岡県公衆衛生研究会  
2014. 2. 7 (静岡)
- 18) 残留農薬等試験法の妥当性評価の実施について  
大坪昌広, 瀧井美樹, 小林千恵, 鈴木明子,  
小和田和宏  
第 50 回静岡県公衆衛生研究会  
2014. 2. 7 (静岡)
- 19) ウコン含有健康食品の品質評価  
久保山真帆, 横山玲子, 小和田和宏  
第 50 回静岡県公衆衛生研究会  
2014. 2. 7 (静岡)
- 20) 簡易懸濁法に関する薬剤情報の構築 (第 2 報)  
隅 春菜, 岩切靖卓, 渡辺陽子, 菅野尚子,  
今津佳子, 小和田和宏, 内田恭之, 山崎朝子,  
高橋沙由理, 鈴木崇代  
第 50 回静岡県公衆衛生研究会  
2014. 2. 7 (静岡)
- 21) 環境衛生科学研究所における PIC/S 対応について  
今津佳子, 隅 春菜, 岩切靖卓, 渡辺陽子,  
菅野尚子, 小和田和宏  
第 50 回静岡県公衆衛生研究会  
2014. 2. 7 (静岡)
- 22) GC/MS による指定薬物及び医薬品成分等のスクリーニング  
分析法について  
菅野尚子, 隅 春菜, 岩切靖卓, 渡辺陽子,  
今津佳子, 小和田和宏, 上村慎子  
第 50 回静岡県公衆衛生研究会  
2014. 2. 7 (静岡)
- 23) 一般用医薬品の開封後の保存安定性について  
渡辺陽子, 隅 春菜, 岩切靖卓, 菅野尚子,  
今津佳子, 小和田和宏  
第 50 回静岡県公衆衛生研究会  
2014. 2. 7 (静岡)
- 24) 一般用医薬品の開封後の保存安定性について  
渡辺陽子, 隅 春菜, 岩切靖卓, 菅野尚子,  
今津佳子, 小和田和宏  
平成 25 年度地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支  
部理化学研究部会  
2014. 2. 14 (宇都宮)

**大気水質部**

- 1) 新幹線鉄道騒音の等価騒音レベル評価の検討  
萱沼広行, 松田健太郎  
平成 25 年度全国環境研協議会関東甲信静支部騒音振  
動専門部会  
2013. 7. 11 (静岡)
- 2) 富士山麓におけるブナの生理活性および大気環境の調  
査結果について  
松田健太郎  
II 型森林共同研究 2013 年度第 1 回検討会  
2013. 10. 7 (富山)

- 3) 牧之原台地周辺における地下水硝酸性窒素汚染調査について  
清水麻希  
平成 25 年度全環研関東甲信静支部水質専門部会  
2013. 10. 25 (千葉)
- 4) 芝川上流域における水質汚濁  
後藤裕康  
静岡環境フォーラム 21  
2013. 12. 2 (静岡)
- 5) 静岡県内の砒素による地下水汚染  
清水麻希  
静岡環境フォーラム 21  
2013. 12. 2 (静岡)
- 6) 富士山麓におけるオゾンのブナ林への影響  
松田健太郎  
静岡環境フォーラム 21  
2013. 12. 2 (静岡)
- 7) 湖水流動調査への温度ロガーの応用  
内山道春  
第 22 回浜名湖をめぐる研究者の会  
2013. 12. 14 (浜松)
- 8) 芝川における水質汚濁の原因究明研究について  
後藤裕康  
平成 25 年度東海地区環境試験研究機関会議水質・化学物質分科会  
2014. 1. 31 (静岡)
- 9) 芝川上流域における水質汚濁の原因究明に関する研究  
後藤裕康, 清水麻希, 内山道春, 三好廣志, 鈴木恒雄, 前田有美恵  
第 50 回静岡県公衆衛生研究会  
2014. 2. 7 (静岡)
- 10) 地下水硝酸性窒素汚染の効率的モニタリングシステムの開発  
清水麻希, 後藤裕康, 内山道春, 前田有美恵  
第 50 回静岡県公衆衛生研究会  
2014. 2. 7 (静岡)
- 11) 大気環境測定局の移設に伴う継続性の検討  
金子智英, 松田健太郎, 三宅健司, 瀧本俊晴, 篠原英二郎, 萱沼広行, 前田有美恵  
第 50 回静岡県公衆衛生研究会  
2014. 2. 7 (静岡)
- 12) 県内における微小粒子状物質 (PM2.5) 濃度状況について  
三宅健司, 篠原英二郎, 萱沼広行, 前田有美恵  
第 50 回静岡県公衆衛生研究会  
2014. 2. 7 (静岡)
- 13) 近年の静岡県における酸性雨の状況  
松田健太郎, 金子智英, 三宅健司, 紅林佑希, 篠原英二郎, 瀧本俊晴, 萱沼広行, 前田有美恵  
第 50 回静岡県公衆衛生研究会  
2014. 2. 7 (静岡)
- 14) 富士山静岡空港の航空機騒音調査に関する検討  
紅林佑希, 松田健太郎, 篠原英二郎, 萱沼広行, 前田有美恵  
第 50 回静岡県公衆衛生研究会  
2014. 2. 7 (静岡)
- 15) 富士山麓におけるオゾンのブナ林への影響について  
松田健太郎, 金子智英, 古屋洋一, 鈴木佐知子  
II 型森林共同研究 2013 年度第 2 回検討会  
2014. 3. 13 (広島)

## 表彰等

### 微生物部

- 1) 平成 25 年度獣医学術中部地区学会賞  
「鶏における ESBL 産生菌の分離状況とヒト由来株との関連性について」  
2013. 9. 1  
渡邊朋恵
- 2) 平成 25 年度公衆衛生獣医師協議会全国大会優秀賞  
「クダア属粘液胞子虫関連事例および市販魚におけるクダア属粘液胞子虫保有状況」  
2013. 9. 6  
渡邊朋恵
- 3) 大同生命厚生事業団「地域保健福祉研究助成」  
「静岡県に生息するマダニにおける重症熱性血小板減少症候群ウイルスの保有に関する研究」  
2013. 10. 21  
池ヶ谷朝香

### 医薬食品部

- 1) 独立行政法人日本学術振興会研究助成（平成 24 年度～平成 26 年度）  
「グリオーマがん性幹細胞を標的とした新規低分子化合物の開発」  
2013. 4. 1  
安藤隆幸
- 2) 地方衛生研究所全国協議会 関東甲信静支部長表彰  
2013. 7. 4  
横山玲子
- 3) 環境計量士(濃度関係)登録  
2013. 8. 20  
今津佳子
- 4) 地方衛生研究所全国協議会 会長表彰  
2013. 10. 22  
小和田和宏
- 5) 平成 25 年度全国食品衛生監視員研修会 会長表彰  
2013. 10. 25  
小林千恵
- 6) 第 50 回静岡県公衆衛生研究会 第 3 分科会(薬事部門)優秀演題  
「GC/MS による指定薬物及び医薬品成分等のスクリーニング分析法について」  
2014. 3. 3  
菅野尚子
- 7) 静岡県ひとり一改革くらし・環境部長表彰  
「ミス・ヒヤリハット防止策を試験検査室に掲示」  
2014. 3. 13  
渡辺陽子

### 大気水質部

- 1) 第 50 回静岡県公衆衛生研究会第 4 分科会優秀賞  
「県内における微小粒子状物質 (PM2.5) 濃度状況について」  
2014. 3. 3  
三宅健司

## 学位取得

### 微生物部

- 1) 博士(獣医学) 麻布大学  
「食中毒起因菌 *Campylobacter jejuni* の低温損傷に関する分子生物学的研究」  
2013. 9. 30  
飯田奈都子



編集委員会

久米一成（委員長）

鈴木守正

川森文彦

小和田和宏

前田有美恵

高橋 真

伊藤 彰

松橋平太

渡辺陽子

後藤裕康

静岡県環境衛生科学研究所報告

（第 56 号）

平成 26 年 8 月

編集発行 静岡県環境衛生科学研究所  
静岡県静岡市葵区北安東 4 丁目 27-2  
電話 (054) 245-7655

E-mail [kanki@pref.shizuoka.lg.jp](mailto:kanki@pref.shizuoka.lg.jp)

インターネットホームページ

[http:// www6.shizuokanet.ne.jp/eikanctr/](http://www6.shizuokanet.ne.jp/eikanctr/)

印刷所 有限会社 東海美術社  
静岡県静岡市葵区古庄二丁目 3 番 21 号  
電話 (054) 263-1700 (代)

