

Shizuoka-Ken Kankyō Eisei Kagaku
Kenkyūsho Hōkoku 60(2017)
ISSN 1343-246X

静岡県環境衛生科学研究所報告

平成 29 年度

Bulletin
of
Shizuoka Institute of
Environment and Hygiene

No.60 2017

静岡県環境衛生科学研究所

はじめに

静岡県は、富士山頂から駿河湾深層までの高低差約 6,000mに展開する貴重な自然を有しており、美しく豊かな自然の恵みが享受し、うるおいのある生活環境が守られている「やすらぎ」と盛んな経済活動による「活力」に満ちた「やすらぎと活力のある社会」を次世代に引き継いでいくことを基本目標としています。

しかしながら、環境分野では、温暖化や資源の枯渇、生物多様性の損失等が地球規模で進行しているほか、越境する大気汚染や新たな化学物質による水質汚染等が発生しています。

また、保健衛生の分野においても、食中毒の頻発や新たな感染症の発生、危険ドラッグの流通など、ケースによっては国際的な規模で健康を脅かす問題が発生してきています。

静岡県環境衛生科学研究所は、多様化する環境問題や健康危機管理事案の発生に的確かつ迅速に対応し、科学的・技術的な面から本県の環境と県民の健康を守る中核機関の役割を担っています。

本報告は、平成 29 年度に終了した調査研究の成果をとりまとめたものであり、いずれも前述の基本目標達成に向けた取組の一つとなっています。個々の成果は微小かもしれませんが、地下水エネルギーの活用、環境基準未達成の原因追及、新たな感染症等の流行抑制、化学物質に係る分析技術などは、重要課題として継続的に研究しており、過去や今後の成果と併せて、研究所の使命を果たして参りたいと考えています。

平成 30 年 7 月

静岡県環境衛生科学研究所長 杉山 浩一

目 次

論 文

環境科学部

- 1 静岡県河川流域における地下水熱交換システム適地評価に関する研究
—第1報 安倍川下流域における地下水の水質・温度特性—
神谷貴文, 伊藤 彰, 大山康一, 小郷沙矢香, 鈴木光彰,
香田梨花, 伏見典晃, 村中康秀 ----- 1
- 2 静岡県河川流域における地下水熱交換システム適地評価に関する研究
—第2報 安倍川下流域の地下水熱利用適地マップ—
神谷貴文, 香田梨花, 伏見典晃, 村中康秀 ----- 7

微生物部

- 3 静岡県における蚊媒介性ウイルス感染症の浸淫状況に関する研究
大石沙織, 池ヶ谷朝香, 井戸陽子, 原 稔美, 酒井悠希子,
阿部冬樹, 神田 隆 ----- 15
- 4 魚介類における薬剤耐性菌の汚染実態に関する研究
水本嗣郎, 鈴木秀紀, 久家力也, 村田学博, 森主博貴,
松橋平太, 長岡宏美, 神田 隆 ----- 21
- 5 腸管出血性大腸菌の効率的な分子疫学解析手法に関する研究
森主博貴, 鈴木秀紀, 久家力也, 村田学博, 水本嗣郎,
長岡宏美, 神田 隆 ----- 25
- 6 レジオネラ検査の迅速化及び感度向上に向けた標準的検査法の開発に関する検討
鈴木秀紀, 久家力也, 村田学博, 水本嗣郎, 森主博貴,
長岡宏美, 神田 隆 ----- 31

医薬食品部

- 7 指定薬物の分析法に関する研究 (第2報)
金子亜由美, 岩切靖卓, 安藤隆幸, 浜尾 俊, 渡辺陽子,
大場 舞, 瀧野瑠衣, 今津佳子, 高橋 真 ----- 37

8 超高速液体クロマトグラフを用いた化粧品中防腐剤のスクリーニング法の検討 岩切靖卓, 浜尾 俊, 瀧野瑠衣, 金子亜由美, 今津佳子, 高橋 真 -----	43
9 ワサビ中グルコシノレート類のLC-MS/MSによる一斉分析法の検討 竹下由布子, 渡邊愛子, 小林千恵, 高橋 真 -----	49
大気水質部	
10 PM2.5 注意喚起情報発表における地区分けに関する研究 前田友幸, 井口大輔, 美澤克俊, 結城 茜, 近藤真木子, 矢嶋 雅 -----	55
11 環境基準を超過した狩野川上流域の水質現状把握について 菅谷則子, 山本佳奈恵, 鈴木恒雄, 内山道春, 山内 悟 -----	61
12 静岡県内の大気常時監視測定局の適正配置の再検討 一窒素酸化物データの関連性について一 前田友幸, 井口大輔, 美澤克俊, 結城 茜, 山内 悟 矢嶋 雅 -----	69
他誌に発表した論文 -----	75
学会・研究会の報告 -----	75
表彰等 -----	78

CONTENTS

PAPERS

• Department of Environment Science

- 1 Study on Estimation of Suitable Area for Groundwater Heat Exchange System on River Basin in Shizuoka Prefecture

– First Report: Characteristics of Groundwater Quality and Temperature in the Lower Reach of the Abe River –

Takafumi KAMITANI, Akira ITOH, Koichi OYAMA,
Sayaka OGOH, Mitsuaki SUZUKI, Rika KODA,
Noriaki FUSHIMI and Yasuhide MURANAKA ----- 1

- 2 Study on Estimation of Suitable Area for Groundwater Heat Exchange System on River Basin in Shizuoka Prefecture

– Second Report: Suitability Maps for Using Groundwater Heat in the Lower Reach of the Abe River -

Takafumi KAMITANI, Rika KODA, Noriaki FUSHIMI
and Yasuhide MURANAKA ----- 7

• Department of Microbiology

- 3 Invasive status of mosquito-borne virus infection in Shizuoka Prefecture

Saori OISHI, Asaka IKEGAYA, Yoko IDO,
Toshimi HARA, Yukiko SAKAI, Fuyuki ABE
and Takashi KANDA ----- 15

- 4 Study on Contamination of Antimicrobial-Resistant Bacteria in Seafood

Shiro MIZUMOTO, Hideki SUZUKI, Rikiya KUGE
Michihiro MURATA, Hirotaka MORINUSHI, Heita MATSUHASHI*,
Hiromi NAGAOKA and Takashi KANDA ----- 21

- 5 Study on an Efficient Molecular Epidemiological Method for Enterohemorrhagic Escherichia coli (EHEC)

Hirotaka MORINUSHI, Hideki SUZUKI, Rikiya KUGE,
Michihiro MURATA, Shiro MIZUMOTO, Hiromi NAGAOKA,
and Takashi KANDA ----- 25

- 6 Study on Development of Standard Inspection Method for Speedup and Improving Sensitivity of Legionella.

Hideki SUZUKI, Rikiya KUGE, Michihiro MURATA,
Shirou MIZUMOTO, Shirou MIZUMOTO, Hirotaka MORINUSHI,
Hiromi NAGAOKA and Takashi KANDA ----- 31

• **Department of Drug and Food Science**

- 7 Study on Designated Substances Analysis(2nd Report)

Ayumi KANEKO, Yasutaka IWAKIRI, Takayuki ANDO,
Shun HAMAO, Yoko WATANABE, Mai OHBA,
Rui TAKINO, Yoshiko IMAZU and Makoto TAKAHASHI ----- 37

- 8 Development of the Screening Method for Preservatives in Cosmetics by Ultra High Performance Liquid Chromatography

Yasutaka IWAKIRI, Shun HAMAO, Rui TAKINO,
Ayumi KANEKO, Yoshiko IMAZU and Makoto TAKAHASHI ----- 43

- 9 Study of Simultaneous Analysis of Glucosynolates in Wasabi by High-performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry

Yuko TAKESHITA, Aiko WATANABE, Chie KOBAYASHI
Makoto TAKAHASHI, and Takuya NISHIJIMA ----- 49

• **Department of Pollution Control**

- 10 Classification methods for the Monitoring groups of PM2.5 Warning information in the Area of Shizuoka Prefecture

Tomoyuki MAEDA, Daisuke IGUCHI, Katsutoshi MISAWA,
Akane YUKI, Makiko KONDO and Masashi YAJIMA ----- 55

- 11 A study on the present water quality in the upper part of the Kano River exceeding environmental quality standard

Noriko SUGAYA, Kanae YAMAMOTO, Tsuneo SUZUKI,
Michiharu UCHIYAMA and Satoru YAMAUCHI ----- 61

- 12 Optimal reallocation of Atmospheric monitoring stations in the Area of Shizuoka Prefecture – Relational data analysis of NO_x –

Tomoyuki MAEDA, Daisuke IGUCHI, Katsutoshi MISAWA,
Akane YUKI, Makiko KONDO and Masashi YAJIMA ----- 69

SUMMARIES OF PAPERS IN OTHER PUBLICATIONS	75
PRESENTATIONS AT CONFERENCES AND/OR SOCIETY MEETINGS	75
COMMENDATION	78

静岡県河川流域における地下水熱交換システム適地評価に関する研究 — 第1報 安倍川下流域における地下水の水質・温度特性 —

環境科学部 環境科学班 神谷貴文, 伊藤彰*¹, 大山康一*², 小郷沙矢香,
鈴木光彰, 香田梨花, 伏見典晃, 村中康秀

Study on Estimation of Suitable Area for Groundwater Heat Exchange System on River Basin in Shizuoka Prefecture
— First Report: Characteristics of Groundwater Quality and Temperature in the Lower Reach of the Abe River —

Takafumi KAMITANI, Akira ITOH*¹, Koichi OYAMA*², Sayaka OGOH,
Mitsuaki SUZUKI, Rika KODA, Noriaki FUSHIMI
and Yasuhide MURANAKA

近年, 新たな地下水活用方法として注目されている地下水熱利用を推進するため, 静岡県内の河川流域において地下水熱交換システム導入適地マップの作成を進めている. 本研究では, 安倍川下流域に位置する静清地域の適地評価を行うにあたり, 基礎情報としてこの地域の地下水の起源や涵養域, 地下水流動範囲を把握するため, 陸水(表流水・井戸水・湧水等)の水質や水温の特性を調査した.

静清地域の西側に位置する静岡平野には, 粘土が加圧層となった自噴井戸が多数存在しており, その水質は, 周辺の山地や清水野と比べて塩化物イオン濃度が低く, 対照的にストロンチウム濃度が高いなど, 安倍川河川水の水質と同様の傾向を示した. また, 静岡平野内の自噴帯の酸素安定同位体比は, 安倍川河川水の-8.4~-7.9‰と同程度に低い値となることから, この地域の帯水層が安倍川によって涵養されていることが示された. このように, 地質と涵養域に起因する水質の特徴を把握することで, 地域特性を把握することができた. 通常, 地中の温度は10m程度深くなるとほぼ年中一定となるが, 安倍川に近い地下水では水温の季節変動が観測され, 河川水の温度変化の影響を受ける扇状地特有の傾向がみられた. また, 静岡平野と比べて清水野の井戸では水温が高くなる傾向がみられ, 静清地域内で地下水熱ポテンシャルに差があることが明らかになった.

Key words: 安倍川, 静清地域, 地下水水質, 地下水水温, 安定同位体

Abe River, Seisei Area, groundwater quality, groundwater temperature, stable isotopes

はじめに

静岡県では, 省エネルギー対策やエネルギーの地産地消を進めるため, 2014年5月, 産学官で組織する「静岡県地下水熱エネルギー利用普及促進協議会」を設置し, 地下水の熱を自然エネルギーとして活用する熱交換システム(地下水を利用したエアコン)の普及に取り組んでいる. 2014年度までは地下水量が豊富で流速が速く, 水温が一定な富士山周辺地域において, 熱交換システムモ

デルの設置, 地下水熱利用の手引き書¹⁾や導入適地マップ²⁾の作成等を行ってきた. 本県は, 安倍川や大井川, 天竜川などの大河川を有し, 下流部に広がる沖積地には地下水が存在することから, これらの地域においても地下水熱利用の可能性が見込まれる. そこで, 2015年度から, 本県における地下水熱交換システムの普及を目的として, 安倍川下流域(静清地域)を対象地域とした本システムの適地評価を行うための調査研究を実施した.

静清地域は, 主に静岡・清水野からなるが, 静岡平野については, 井川ら(2005)が井戸水の一般水質や水同位体比等について調べており, 河川水と平野部の降水の2成分の寄与の評価や, 安倍川河岸近くでは地下水の滞留時間が非常に短いこと等を明らかにしている³⁾. このような地下水流動の地域的特徴を把握することは, 地下水熱交換システムの導入適地を判定する上で重要な情

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)

*1: 環境局生活環境課

*2: 商工業局新産業集積課

報となる。

そのため本研究では、静清地域の地下水の起源や涵養域、地下水流動範囲を推定するため、表流水・井戸水・湧水等の水質や温度特性を調査したので報告する。

方法

1 調査地の概要

静岡県 (2011)⁴⁾ をもとに調査地の地形地質情報を記載する。本研究で対象としている静清地域は、主に静岡・清水平野からなり、南アルプスから連なる北方山地と有度丘陵に挟まれた凹地である (図 1)。静岡平野は典型的な扇状地地形を呈しており、安倍川からの膨大な量の砂礫で有度丘陵との間を埋積したものである。扇状地地形は、賤機山南端の浅間神社付近で標高 27m に達し、東方～南方に標高を減じる。扇状地末端部には北方に麻機低地、東南に大谷・高松低地等が分布している。清水平野は巴川の三角州で、標高 5～7m の低地が東方に広がっており、巴川河口付近には浜堤及び砂州が分布し、その東側には三保の砂嘴が南北に発達している。低地部は、巴川の流路を通じて北方山地と南の有度丘陵の間を奥深くまで入り込み、静岡平野北方末端の麻機低地に連なっている。

静清地域の北方及び西方山地を構成する地質は古第三紀～新第三紀の堆積岩及び火山岩であり、当地域の水

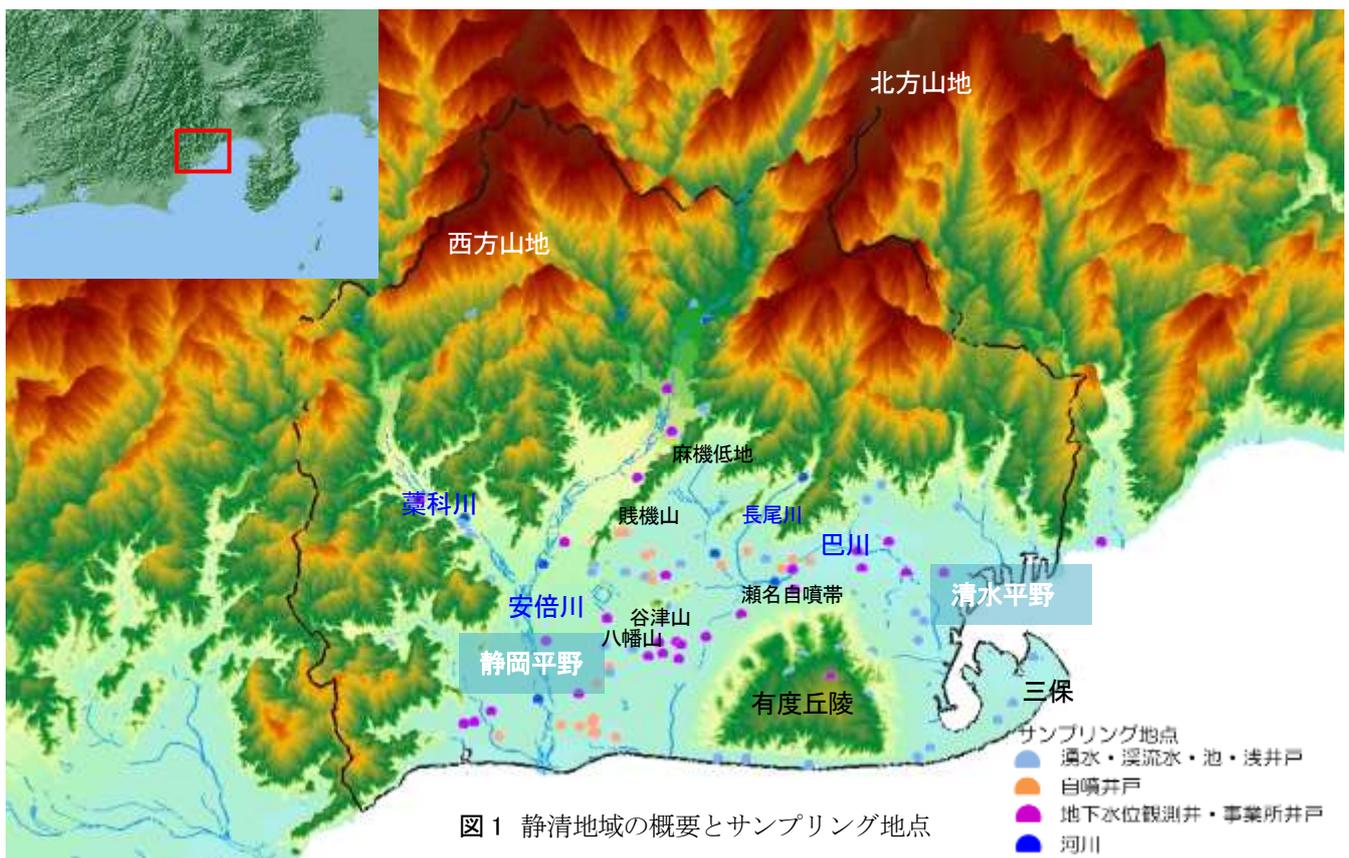
理基盤となっている。平野部に突出する谷津山、八幡山等も新第三紀層からなり、配列状況から地下に基盤の高まりが伏在するものと考えられる。一方、有度丘陵は 2 回の海面上昇・低下の過程で堆積した礫質及び泥質の第四紀更新世の洪積層からなる。これらの山地・丘陵を埋めるように、更新世末期から現在にかけて安倍川によって運ばれた扇状地性堆積物と、巴川によって運ばれた三角州性堆積物等の未固結層から構成される沖積層が分布し、当地域の主要な帯水層を形成している。静岡平野を構成する沖積層は主に砂・砂礫であるが、市街地の東部では比較的表層に粘性土 (シルト・粘土) が介在する。そして北及び東に行くに従って粘性土の占める割合が多くなっている。清水平野は巴川の三角州性堆積物で構成されており、砂及び粘性土を主としている。

2 調査方法

1) 水質分析

静清地域には、粘性土が加圧層となった自噴井戸が多数存在している。湧水・自噴井戸 (一部揚水井戸含む) 等 72 地点、河川 10 地点において、2015 年 12 月に採水した。また、地下水位観測井 14 地点においてストレーナ付近のフレッシュな地下水を 2015 年 9 月に採水した。2016 年 12 月～2017 年 2 月には事業所井戸 (揚水井戸) 15 地点において採水した (図 1)。

採取した水試料を 0.2 μm のメンブレンフィルターで



濾過した後、主要な溶存イオンについてはイオンクロマトグラフ (ICS-1100, 2100, Dionex) を、微量元素については ICP-MS (7900, Agilent) を用いて測定した。また、酸素・水素安定同位体比 (δD , $\delta^{18}O$) はキャビティーリングダウン分光分析装置 (L2130-i, PICARRO) を、ストロンチウム安定同位体比 ($^{87}Sr/^{86}Sr$) は二重収束型高分解能 ICP マルチコレクタ質量分析計 (Neptune, Thermo Fisher Sci.) を用いて測定した。

各地点の測定値については、地理情報システム (GIS : ArcGIS 10.5.1) の Spatial Analyst ツールを用いて Kriging による内挿を行い、平野部の地理的分布を面的に示した。

2) 水温測定

水質分析試料採取時に各地点の水温測定を行ったほか、地下水位観測井 14 地点において、2015 年 7 月から 2016 年 5 月まで、2 カ月毎に地下水温度をデジタル・サーミスタ温度計により管頭から 2m 毎に計測し、温度プロファイルを作成した。

結果および考察

1 水質

1) 主要溶存イオン・微量元素

測定した主要溶存イオン・微量元素のうち、特徴的な濃度分布を示したイオン・元素について以下で述べる。

塩化物イオン (Cl^-) の濃度分布図を図 2 に示す。有度丘陵南麓沿岸部の浅井戸で 10~20mg/L のやや高い濃度を示しており、陸域地下水への海水の侵入や有度丘陵南斜面への海洋からの風送塩の影響が考えられる。調査地の山地や丘陵部分ではおおむね 2~10 mg/L を示し、これも海からの影響が考えられるが、安倍川扇状地に分布する自噴井の多くは Cl^- 濃度が 2mg/L 以下と低く、同じく濃度が低い安倍川からの地下水供給が示唆された。また、静岡平野内でもやや高い Cl^- 濃度を示す河川水 (巴川) や自噴井も存在しており、生活排水など人為的な影響も示唆される。なお、清水平野では Cl^- 濃度が 6,600mg/L を示す観測井があり、地下水の塩水化が確認された。ナトリウムイオン (Na^+) 濃度も同じ地理分布傾向を示したが (図 3)、カルシウムイオン (Ca^{2+}) 濃度は静岡平野で若干高くなるなど、上記イオンとは異なる地理的变化を示した (図 4)。

ストロンチウム (Sr) の濃度分布図を図 5 に示す。塩水化地下水が分布する清水平野の Sr 濃度は極めて高くなっているが、 Cl^- 濃度分布とは対照的に、安倍川や藁科川の Sr 濃度が 100~160 $\mu g/L$ と比較的高く、安倍川扇状地の自噴井戸も同程度の高い濃度となってい

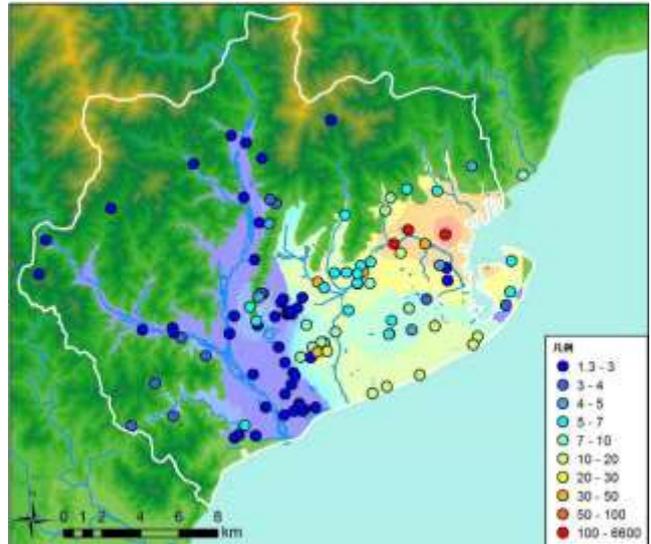


図 2 陸水の塩化物イオン濃度分布 (単位 : mg/L)

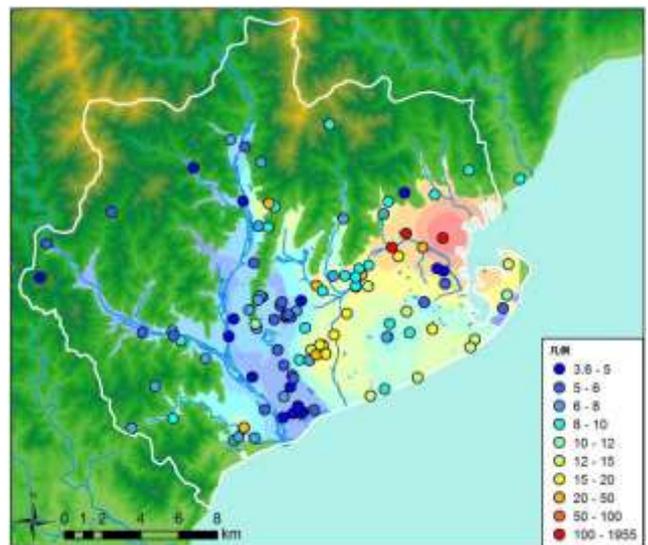


図 3 陸水のナトリウムイオン濃度分布 (単位 : mg/L)

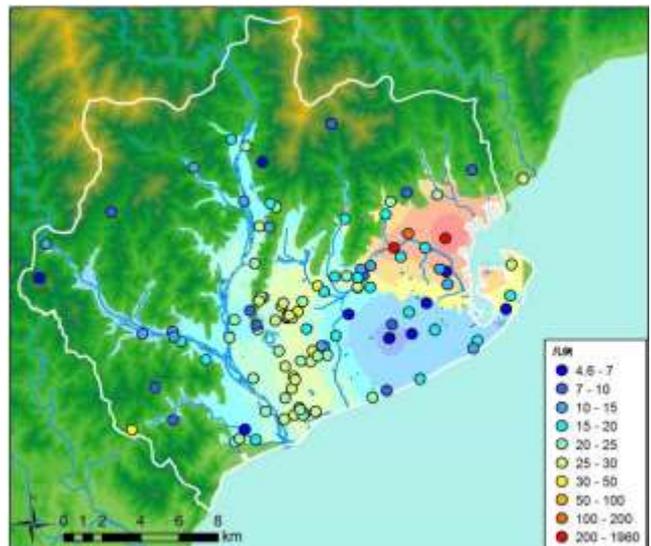


図 4 陸水のカルシウムイオン濃度分布 (単位 : mg/L)

る。相対的に有度丘陵や北方山地の濃度は $100 \mu\text{g/L}$ 以下と低くなっており、Sr は安倍川由来の地下水の特徴を示す指標になると考えられた。同様の濃度分布傾向を示すものとして、前出の Ca^{2+} や硫酸イオン (SO_4^{2-})、セレン (Se) が挙げられる。一方、ケイ素 (Si) 濃度は賤機山や有度丘陵等の湧水で相対的に高い傾向がみられ (図 6)、Sr 濃度などとは異なる地理的分布傾向を示した。

硝酸イオン (NO_3^-) の濃度分布図を図 7 に示す。有度丘陵西側の平野部で NO_3^- 濃度の高い地域がみられ、要因は不明であるが、近隣に茶園が多く存在することから、肥料由来成分による影響も考えられる。

2) 酸素・水素安定同位体比

δD 、 $\delta^{18}\text{O}$ を測定した結果、両者には線型性がみられたことから、以降は $\delta^{18}\text{O}$ のみ言及することとする。 $\delta^{18}\text{O}$ 値の分布図を図 8 に示す。安倍川河川水は $\delta^{18}\text{O}$ 値が $-8.4 \sim -7.9\text{‰}$ で、上流から下流に向かうにしたがって値が高くなった。一方、集水域の小さい長尾川は $-7.2 \sim -7.3\text{‰}$ を示した。安倍川河川水の $\delta^{18}\text{O}$ 値が低い理由としては、集水域が沿岸域から遠く、内陸部の降水ほど同位体比が低くなる内陸効果や、標高が高くなるとともに降水の同位体比が低くなる高度効果が考えられる。安倍川扇状地に位置する自噴帯は、安倍川河川水と同程度の低い $\delta^{18}\text{O}$ 値を示し、上記の主要溶存イオン・微量元素濃度分布の傾向と調和的であることから、この地域の帯水層が安倍川によって涵養されていることが水の同位体比からも明らかになった。一方、静岡平野と清水平野との境界付近にある瀬名自噴帯では、長尾川や有度丘陵と同程度の $\delta^{18}\text{O}$ 値を示し、本調査範囲の降水が主な涵養源であることが示唆された。



図 5 陸水のストロンチウム濃度分布 (単位: $\mu\text{g/L}$)

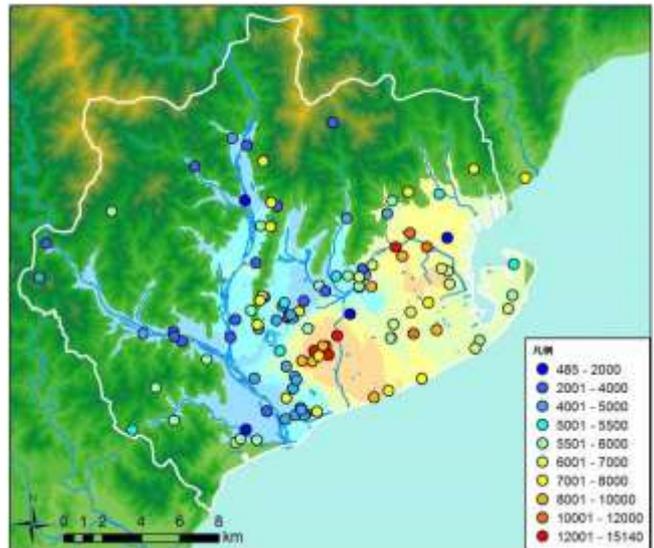


図 6 陸水のケイ素濃度分布 (単位: $\mu\text{g/L}$)

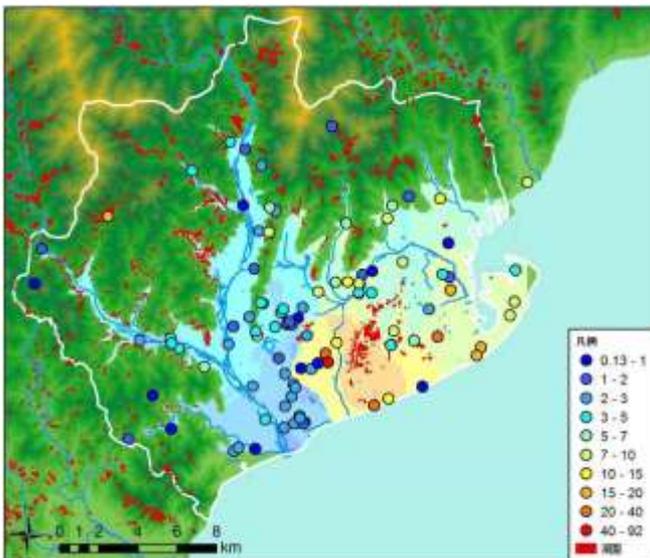


図 7 陸水の硝酸イオン濃度分布 (単位: mg/L)

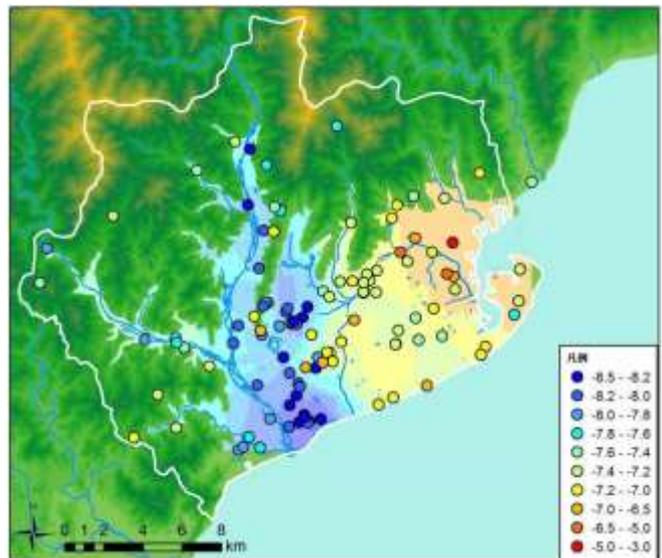


図 8 陸水の酸素安定同位体比分布 (単位: ‰)

なお、清水平野の塩水化地下水では-5%以下と高い値となった。

3) スロンチウム安定同位体比

Srには4つの安定同位体があり、そのうち ^{87}Sr は半減期 4.88×10^{10} 年であるルビジウム(^{87}Rb)の β 壊変により生成するため、岩石中のSr同位体の構成比はRbやSrの割合や年代によって変化する。そのため、岩石の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は、岩石のできた時代やプロセスによって特徴的な値を持つこととなる。地下水中のスロンチウム安定同位体比($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$)は、人為的にもたらされる成分がなければ流域の降水や岩石にその起源が求められる⁵⁾。 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の分布図を図9に示す。安倍川や藁科川の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は0.7088程度を示し、これは西側地域の山地の大部分を占める4,000万年~2,200万年前の堆積岩類(付加コンプレックス)⁶⁾によって特徴づけられる値と考えられる。一方、北方の1,500万年~700万年前の堆積岩類からなる山地を集水域を持つ長尾川の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は0.7060を示し、巴川上流部(静岡平野内)では0.7078程度となった。静岡平野に分布する自噴井戸は安倍川と同程度の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ を示し、安倍川扇状地の範囲とよく一致していた。一方、2,200万年~1,500万年前の火山岩類からなる賤機山を起源とする湧水の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は0.7040未満で特異的に低い値となった。

4) 地域毎の酸素とスロンチウムの安定同位体比の分布傾向

静岡地域の地下水は、降水(大気)由来の成分($\delta^{18}\text{O}$, Cl等)、地質由来の成分($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$, Si等)、その他人間活動由来成分(NO_3^- 等)や塩水化により特徴づけられた。 $\delta^{18}\text{O}$ と $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の関係性を図10に示す。 $\delta^{18}\text{O}$ と $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は逆相関関係となっており、 $\delta^{18}\text{O}$ 値が低い静岡平野などの安倍川由来の地下水は、古い地質年代の堆積岩やその堆積物を通過するため $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ が大きくなる。一方、 $\delta^{18}\text{O}$ 値が高い周辺山地の降水由来の地下水は $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ が比較的的低く、若い火山岩が分布する賤機山の湧水は特異的に低い値となった。有度丘陵や三保の地下水の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は大きく、これらの地域は安倍川によってもたらされる土砂が堆積して成立していると考えられていること整合的である。清水平野の地下水の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ 分布は図10上で広範囲に広がっており、主に北方山地由来と有度丘陵由来の地下水に大別することができる。以上のように、静岡地域の地下水は、涵養源と地質の違いに起因する水質の特徴を把握することにより、地域特性を明らかにすることができた。

2 地下水の温度変化

試料採取時の水温および地下水観測井で計測した地下水温度プロファイルの代表例を図11に示す。地下水の温

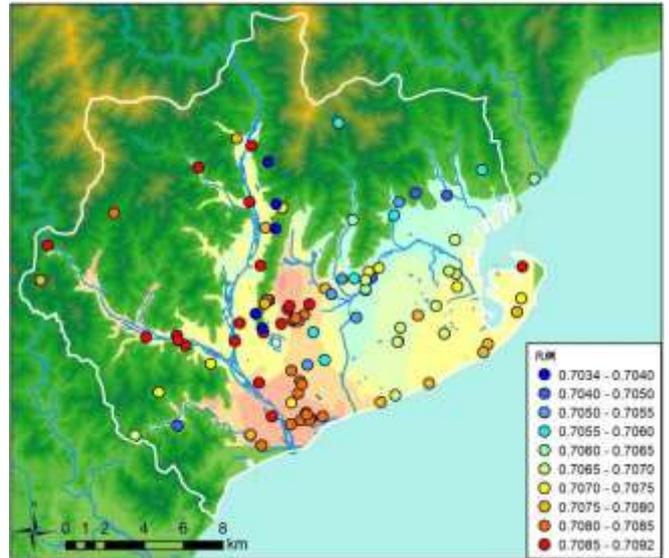


図9 陸水のストロンチウム安定同位体比分布

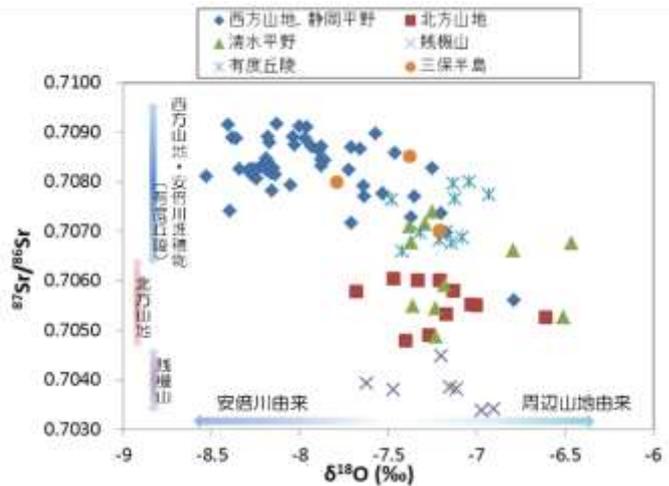


図10 地域毎の酸素とストロンチウムの安定同位体比の相関関係

度は、三保半島の井戸で高く、有度丘陵ではやや低くなり、また静岡平野と比べて清水平野の方が若干高い傾向を示すなど、静岡地域内で地下水温度に差があることが明らかになった。

通常、地中の温度は地表付近では気温の影響を受けて変化するが、10m程度深くなるとほぼ年中一定(平均気温と同程度)となる。また、深さ100m程度になると、地球内部の熱の影響により、さらに温度が2~4℃程度上昇する。観測井Fのプロファイルはこの傾向を示している。一方、安倍川沿いの観測井A,Bでは、地下水温度の季節変動が深い層まで観測された。これは河川水温度の影響を受けていると考えられ、扇状地特有の傾向と捉えることができる。特に観測井Aでは、夏期に14℃程度と低く、冬期に17℃程度と高くなる現象が確認でき、河川水の温度が半年遅れで井戸に到達していると推測されることか

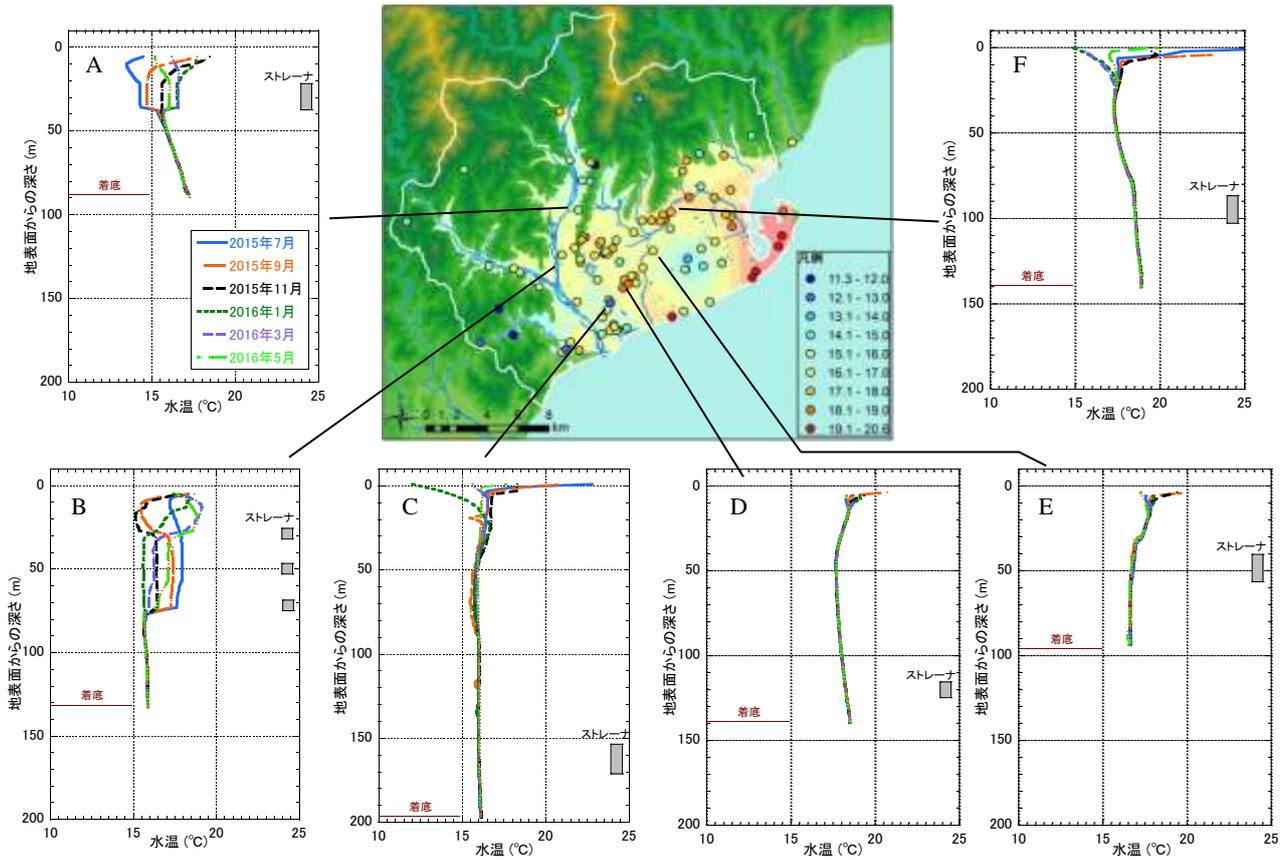


図 11 地下水温度および温度プロファイル

ら、効率的な地下水熱交換が可能であることが示された。

まとめ

静清地域の陸水の水質を測定し、平野部の地下水の起源や涵養域、地下水流動範囲を推定した。静岡平野では、周辺の山地や清水平野と比べて水安定同位体比や Cl 濃度が低く、対照的に Sr 濃度や Sr 安定同位体比が高いなど、安倍川河川水の水質と同様の傾向を示し、安倍川河川水が涵養源となっている地下水の流動範囲が明らかになった。このように、地質と涵養域に起因する主要イオンや微量元素、同位体の特徴を把握することにより、静清地域の地下水の地域特性を把握することができた。また、静岡平野と比べて清水平野の井戸では水温が高くなる傾向がみられ、安倍川に近い井戸では他の地域の井戸と異なり水温の季節変動が観測されるなど、静清地域内で地下水熱ポテンシャルに差があることが明らかになった。

謝辞

静岡市環境保全課には、地下水位観測井や自噴井の調査を行うにあたり、情報を提供していただいた。また、井戸の管理者には採水に協力していただいた。ここに記

して感謝の意を表します。

本研究の一部は、JSPS 科研費 JP16K07966 の助成および総合地球環境学研究所の同位体環境学共同研究事業の支援を受けたものである。

文献

- 1) 静岡県: 富士山周辺地域における地下水熱利用の手引き, 25p (2015)
- 2) 静岡県: 富士山周辺地域における地下水熱利用適地マップ (2015)
<http://www.pref.shizuoka.jp/kankyoku/ka-020/chikasui/top.html>
- 3) 井川怜欧他: 静岡平野における地下水流動系, 地球化学, **39**, 107-118 (2005)
- 4) 静岡県: 静清地域地下水利用実態調査業務委託報告書, 55-71 (2011)
- 5) 中野孝教: 水文トレーサーとしての Sr 同位体, ハイドロロジ, **23**(2), 67-82 (1993)
- 6) 産業技術総合研究所地質調査総合センター: 20 万分の 1 日本シームレス地質図 2015 年 5 月 29 日版

静岡県河川流域における地下水熱交換システム適地評価に関する研究 — 第2報 安倍川下流域の地下水熱利用適地マップ —

環境科学部 環境科学班 神谷貴文, 香田梨花, 伏見典晃, 村中康秀

Study on Estimation of Suitable Area for Groundwater Heat Exchange System on River Basin in Shizuoka Prefecture
- Second Report: Suitability Maps for Using Groundwater Heat in the Lower Reach of the Abe River -

Takafumi KAMITANI, Rika KODA, Noriaki FUSHIMI and Yasuhide MURANAKA

近年, 新たな地下水活用方法として注目されている地下水熱利用を推進するため, 静岡県内の河川流域において地下水熱交換システム適地マップの作成を進めている. 本研究では, 安倍川下流域に位置する静清地域の適地評価に必要となる, クローズドループ方式の熱交換効率を指標とした地下水熱ポテンシャルを推定してマップ化し, 地下水熱交換システムの導入を想定したコスト計算を行った.

ポテンシャル評価では, まず安倍川下流域の地下水流動・熱輸送モデルを構築し, 数値計算により対象地内の地下水流速や温度分布を得た後, 任意の地点に従来型(珪砂充填型)と水井戸利用型の熱交換井を配置して熱交換量を算出した. その結果, 安倍川沿いで熱交換効率が高くなるなど, 地下水熱ポテンシャルに地域差がみられた. 地下水熱交換システムの導入を仮定したコスト計算の結果, 特に24時間エアコン稼働させる福祉施設や商業施設などは初期コストの回収期間が短く, 本システムを導入するメリットが十分あることが分かった.

Key words: 安倍川, 静清地域, 地下水熱交換システム, 適地マップ, 経済性評価

Abe River, Seisei Area, groundwater heat exchange system, suitability maps, economical evaluation

はじめに

地中熱ヒートポンプは, 通常のエアコンや冷蔵庫と同様にヒートポンプの技術が使われる¹⁾. ヒートポンプは, 電力等の外部エネルギーで冷媒などの熱媒体を循環させ, 低い温度の物体から採熱し, 高い温度の物体に放熱するような仕組みでできており, 投入するエネルギーの何倍もの熱エネルギーが得られる. 一般的には, 空気との間で熱のやり取りをするが, 地中熱ヒートポンプは, 空気の代わりに地盤や地下水との間で熱のやり取りを行う. 地中の温度は, 年間を通じて変化が小さく, 気温と比べて冬は温かく, 夏は冷たいため, 冬は採熱, 夏は放熱する場として利用できる. また, 空気よりも蓄えることのできる熱の量が大きく, 熱を伝えやすい地盤や地下水と熱のやり取りをすることで, 空気を熱源とするヒートポンプよりも効率的なエネルギー利用が可能になる. 地中熱ヒートポンプは, 井戸を掘ってその中に熱交換用のパ

イプを通して熱媒体(不凍液や水)を地中に循環させることにより, 間接的に地下水や地盤と熱のやり取りを行う方式(クローズドループ方式)と, 地下水を汲み上げてヒートポンプ内に引き込み, 熱をやり取りする方式(オープンループ方式)とに分けられる(図1).

地中熱ヒートポンプのデメリットとしては, 地中熱交換井の掘削にかかるコストが高いこと, 地下水の汲み上げ規制がある地域では新たに揚水することが難しいことなどが挙げられる. そのため, 静岡県では, 従来のような掘削して珪砂を充填する方法(以下, 珪砂充填型とする)ではなく既存の井戸を使って熱交換用のパイプを直接地下水に浸す方式(以下, 水井戸利用型とする)や, 既に別の目的で汲み上げられている地下水から熱エネルギーのみ取り出すカスケード利用型などのオプションを提示して地下水熱利用の普及を目指している(図2). なお, これらの方式は地下水の流れや温度に大きく依存することから, 地下水熱交換システムとよぶこととする. 本研究では, 地下環境や揚水規制に依らず利用可能なクローズドループ方式である珪砂充填型と水井戸利用型の熱交換方式を対象とする.

熱交換井の長さは, 必要な採熱・放熱量によって決ま

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)

り、地下の熱環境や熱物性の影響を受ける。また、地下水の流れが存在する場合、移流効果により有効熱伝導率の上昇が見込まれ、熱交換井の短縮が可能となる。そのため、地域の地質環境や地下水流動から地下の熱交換効率を推定できれば、最適なシステム設計による効率的な地下水熱利用につながる。広域的な三次元地下水流動・熱輸送をもとに熱交換量の分布を推定する研究例は筑紫平野や福井平野、弘前平野など、近年増えてきている^{2)~4)}。静岡県においても、富士山周辺地域において、広域三次元地下水流動および地下の温度プロファイルを考慮した単一熱交換井モデルを構築し、熱交換分布図の作成を行った⁵⁾。

本研究では、地下水熱交換システムの普及を目指す安倍川下流域（静岡地域）においてシステム導入適地評価を行うことを目的として、クローズドループ方式（珪砂充填型および水井戸利用型）の熱交換量を推定してマップ化し、導入コスト計算を試みたので報告する。

方法

1 地下水流動・熱輸送解析

本研究で対象としている安倍川下流域の静岡地域は、南アルプスから連なる北方山地と有度丘陵に挟まれた凹地であり、主に静岡・清水平野からなる。静岡平野は安倍川からの膨大な量の砂礫で形成されているが、市街地の東部では比較的表層に粘性土が介在し、これが加圧層となって自噴井戸が多数存在している。清水平野は巴川の三角州で、砂及び粘性土を主とした低地が東方に広がっている⁶⁾。これらの地質情報をもとに、地下500mまでを19層に分割した三次元地下地質モデルを作成した(図3)。各層に与えた主なパラメータを表1に示す。基本的に周辺山地は基盤層とし、粘土層・砂礫層の1~15層の厚さをそれぞれ0.1mに設定して山地における地下水流動計算への影響を最小化した。

境界条件として、地表面からの地下水涵養量は、各月

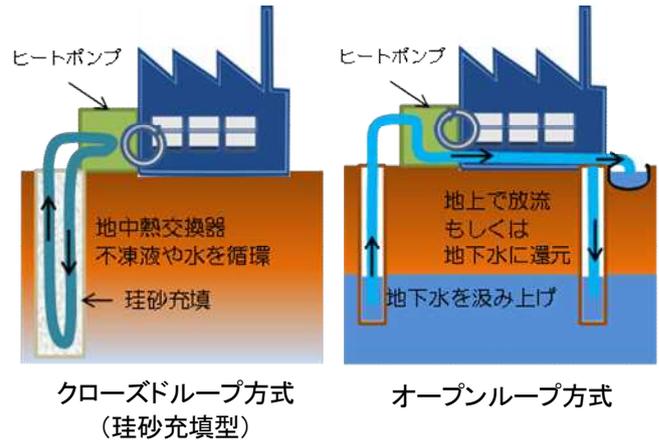


図1 地中熱ヒートポンプ

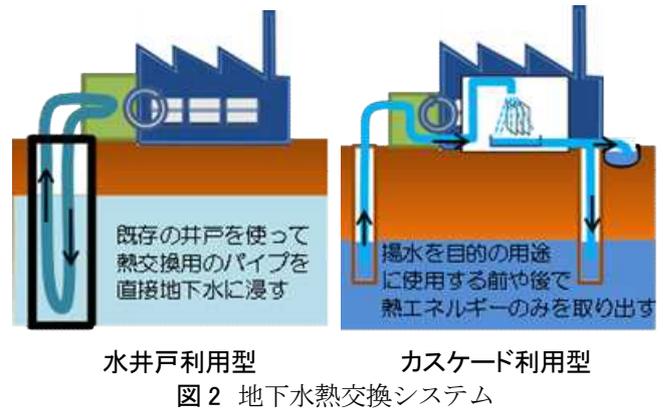


図2 地下水熱交換システム

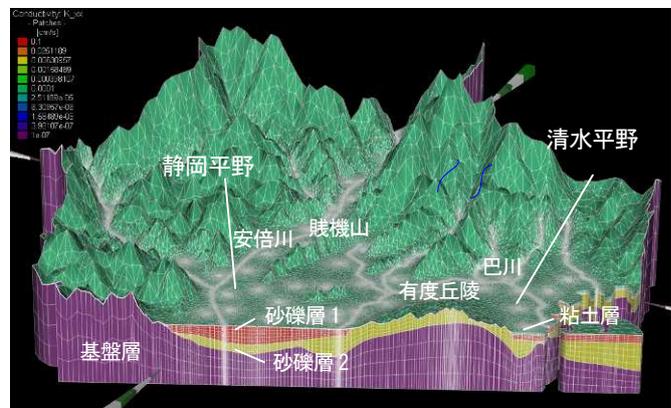


図3 三次元地下地質モデル

表1 三次元地下地質モデルで使用した主要なパラメータ

地質	層位	透水係数 ⁶⁾ (cm/s)		有効間隙率 ⁶⁾ (%)	熱伝導率* (J/m/s/K)
		(水平方向)	(垂直方向)		
粘土層 (平野部)	1-4層	8.3×10 ⁻⁵		0.1	
砂礫層1 (平野部)	安倍川周辺 5-6層	1.0×10 ⁻¹	1.0×10 ⁻²	0.2	1.53
	5-10層	8.3×10 ⁻²	8.3×10 ⁻³		
砂礫層2 (平野部・有度丘陵)	11-15層	6.0×10 ⁻³	6.0×10 ⁻⁴	0.2	
基盤層 (周辺山地含む全域)	16-19層	1.0×10 ⁻⁷		0.05	

*: 熱伝導率については、北海道大学地中熱利用システム工学講座 (2007)⁷⁾の砂の有効熱伝導率値を代表値とした。

の降水量から土地利用種ごとの表面流出量やソーンズウェイト法により算定した蒸発散量を差し引いた値とし⁸⁾、河川は地表面-2mを、海岸線は標高0mを定水頭とした。温度境界については、地表面を年平均気温+1℃、モデル底面を+30℃とし、側方境界からの熱の出入りはないものとした。降水量や平均気温のデータは、気象庁のメッシュ平年値⁹⁾を使用した。河川水温度については、安倍川・藁科川は2015年12月～2017年8月まで測定した各月の平均値を河川区間ごとに割り振り、その他河川は月別平均気温値⁹⁾を使用した。

上記の条件で作成した三次元地下地質モデルによる広域地下水流動・熱輸送解析を、DHI社のFEFLOW ver 6.1 (Finite Element Subsurface Flow & Transport Simulation System)を用いて実施した。最初に涵養量、河川水温度を年平均値とした定常解析を行い、その後、月毎の値を用いて非定常解析を100年間行った。

2 熱交換解析

上記の条件で広域地下水流動・熱輸送解析を行ったのち、現地測定を実施した地下水位観測井や揚水井戸を含む計54地点に深さ100mの熱交換井をモデル上で設定した。熱交換井は直径179mmのボアホールにダブルU字管を挿入して珪砂充填した従来方式(珪砂充填型)と、同径の水井戸にダブルU字管を挿入した水井戸利用型の2通りを仮定し、5年間の熱交換シミュレーションを行った。熱交換シミュレーションの運転シナリオについては、1年のうち冬季3カ月を暖房利用、夏季3カ月を冷房利用とし、熱媒体(40%エチレングリコール)の循環流量を25L/min、熱交換器入口における熱媒体温度を暖房利用時5℃、冷房利用時35℃と仮定した。熱交換器出口の温度から各地点における5年目の暖房時、冷房時の平均熱交換量を算出した後、地理情報システム(GIS: ArcGIS 10.5.1)のSpatial Analystツールを用いてKrigingによる内挿を行い、面的に示すことでクローズドループシステムにおける熱交換量マップを作成した。

3 導入可能性評価

作成した熱交換ポテンシャルマップを用いて、事業種

表2 評価対象事業種の空調使用想定

種別	想定面積 (m ²)	空調能力 (kW)	稼働時間 (h)
事務所	180	25.2	10
	1,000	140	10
病院・ 福祉施設	1,100	154	24
	4,300	602	24
商業施設	160	28.8	24
	1,400	252	12

や規模別にクローズドループ方式を導入するときに必要な熱交換井の本数を推定し、コスト計算を実施した。

1) 対象事業種

対象事業種として、事務所、病院・福祉施設、商業施設を想定し、「非住宅建築物の環境関連データベース」¹⁰⁾地域区分6(静岡県を含むエリア)を参考にそれぞれ2パターンの面積を設定した(表2)。各施設において必要な冷暖房能力は、商業施設180W/m²、その他を140W/m²と仮定した。また、空調の稼働時間は事務所で10時間、商業施設(1,400m²)で12時間とし、病院・福祉施設およびコンビニエンスストアを想定する商業施設(160m²)では24時間とした。

2) 熱交換井本数の推定

地中熱ヒートポンプの成績係数(COP)を冷房5.2、暖房3.6と想定し(空気熱は冷房・暖房ともに3.0)、設定した空調能力を発揮するために必要な熱交換井における最大熱交換能力を冷房・暖房とも算定した後、珪砂充填型、水井戸利用型ポテンシャルマップからそれぞれ最大熱交換能力を賄えるだけの熱交換井の本数を推定した。

3) 初期コストの算定

空調能力1kWあたりの初期コストを、設置事例等^{11,12)}から地中熱では50万円、空気熱では20万円と仮定した。珪砂充填の場合、熱交換井の長さは空調能力50Wあたり1mを標準としてボーリング費用は1万円/mとし、熱交換効率がよい場所では熱交換井の長さが短くなり、設置費用が減少するとした。水井戸利用型の場合、既存の井戸を利用するためボーリング費用はかからないとした。補助金がある場合を想定し、補助率は1/2(一次側(地中側)を対象)とした。

4) 初期コスト回収期間

平均負荷率を空調能力の6割とし、冷暖房それぞれ120日稼働すると仮定した。COPから消費電力を算定し、中部電力の低圧電力料金単価¹²⁾から冷房時16.73円/kWh、暖房時15.21円/kWh(基本料金を除く)としてランニングコストを算定した。珪砂充填型、水井戸利用型それぞれについて、空気熱源エアコンとの差から、コスト回収期間を算定した。

5) 環境的側面の評価

各対象事業種・面積において、空気熱源から地下水熱ヒートポンプに変換した場合に削減できる電力量に二酸化炭素実排出係数(0.000485 t-CO₂/kWh)¹³⁾を乗じ、二酸化炭素排出削減量を算出した。また、二酸化炭素排出削減に伴うクレジット価格は、削減量に単価(908円/t-CO₂、平成29年4月落札価格平均値)¹⁴⁾を乗じ、金額に換算した。

結果および考察

1 地下水流動・熱輸送解析

現地における水質・温度調査の結果，①静岡平野のうち，西部の安倍川扇状地の帯水層は安倍川によって涵養されており，静岡平野東部や清水平野は周辺の降水が主な涵養源であること，②安倍川近辺では地下水温度に季節変動がみられること，が明らかになっている¹⁵⁾。作成したモデルによる地下水流動・熱輸送解析の結果，安倍川から涵養された地下水が賤機山南端を起点として放射状に広がり巴川上流方向に向かうなど，静岡平野西部の地下水は安倍川から供給されることを確認できた(図4)。また，安倍川近辺では河川水温度が地下水温度に影響を及ぼし，夏季に水温が低く冬季に高くなる地域がみられるなど，現地測定結果と整合する計算結果が得られ，本

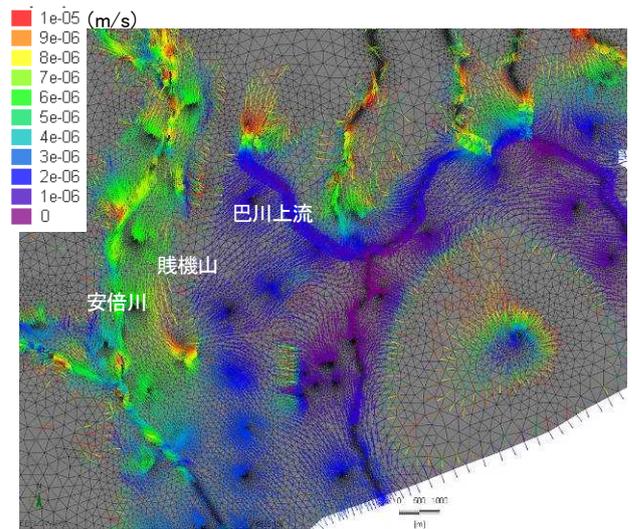


図4 地下水流向流速計算結果(第7層)

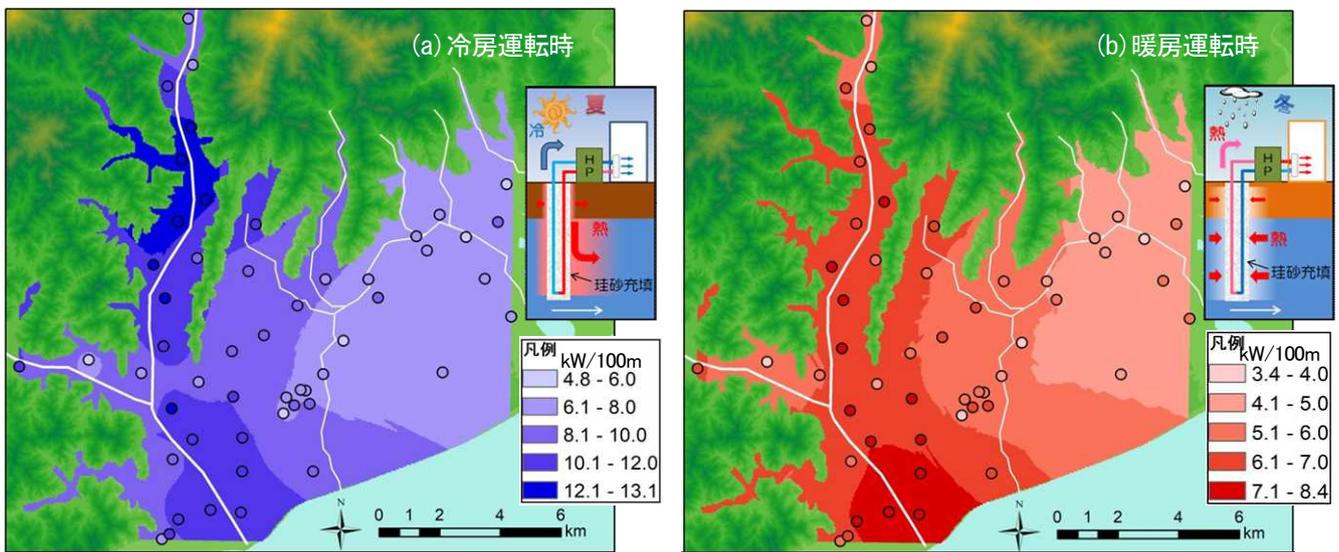


図5 珪砂充填型熱交換井の熱交換量マップ

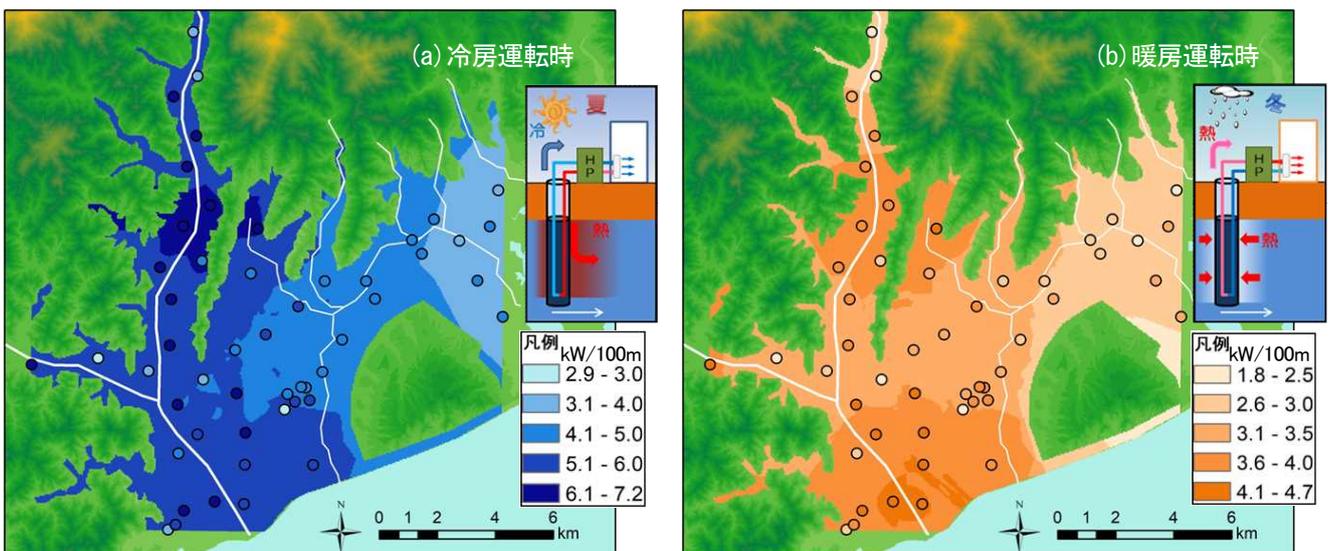


図6 水井戸利用型熱交換井の熱交換量マップ

解析の妥当性が確認できた。

透水性のよい砂礫層（第7層）をみると、安倍川中流域で地下水流速（ダルシー流速）が 10^{-5} m/s 付近と大きく（図4）、このような地域は、速い地下水流動による有効熱伝導率の向上が期待される¹⁶⁾。また、透水性の高い砂礫層が表層から厚く堆積する静岡平野の扇状地などでは 10^{-6} m/s を超えており、熱交換のために必要な井戸の長さを節約できる地域と考えられた。一方、静岡平野と清水平野の境界付近や清水平野内において、 6.3×10^{-7} m/s となる地域がある。これは、地下水勾配が小さいことや難透水性基盤の高まりによって流動が阻害されていることが要因と考えられ、これらの地域では、夏季に放出された熱が蓄積されて冬季に利用できるなど、季節間蓄熱に有利になると推測される。

2 熱交換解析

熱交換解析結果として、珪砂充填型および水井戸利用型の熱交換井を用いて冷暖房運転を行った場合の熱交換量マップを図5および図6にそれぞれ示す。暖房時、冷房時ともに、安倍川周辺やその扇状地において値が高くなっており、これらの地域におけるクローズドループ方式の有効性が明らかになった。熱交換量が大きい理由としては、安倍川周辺における夏季に地下水温が低く冬季に高くなることによる熱交換の優位性以外に、地下水流速が大きく、熱交換井付近の熱がすみやかに拡散することによる効果などが挙げられる。珪砂充填型では、冷房で $10 \sim 13$ kW/100m、暖房で $6 \sim 8$ kW/100m と、かなり大きな熱交換量になると推定された。静岡平野と比べて清水平野は地下水の流れが遅いため、熱交換量は比較的小さくなるものの、一般的な地中熱交換の目安となる 5 kW/100m に近い値となった。

一方、水井戸利用型では、地下水面よりも下で井戸水と直接熱交換することもあり、珪砂充填型と比べて熱交換量は小さくなるものの、地下水の流れが速い安倍川周

辺では、冷房で $5 \sim 7$ kW/100m、暖房で $3.5 \sim 5$ kW/100m の熱交換量が確保できるという結果になった。水井戸利用型の熱交換解析では、シミュレーション上の制約から、井戸内では水の流動が発生しないという前提で計算している。しかし、特に安倍川沿いや静岡平野の扇状地では地下水の流れが速く、実際には井戸内部で水の流れが生じている可能性が高いため、この推定値よりも大きな熱交換量を得ることができると推定される。実際に休止井戸などの既存井戸を用いた地下水熱交換システムを設置する場合には、個々の井戸の特性が熱交換効率に大きく影響するため、熱応答試験による評価が重要となる。

3 経済性評価

作成した熱交換ポテンシャルマップを用いて、事業種や規模別にクローズドループ方式を導入するときに必要となる熱交換井の本数を推定した結果を表3に示す。珪砂充填型、水井戸利用型ともに、図7に例を示すように、熱交換効率が高い安倍川沿いにおいて熱交換井の本数が少なく、清水平野で多くなると推定された。熱交換ポテ

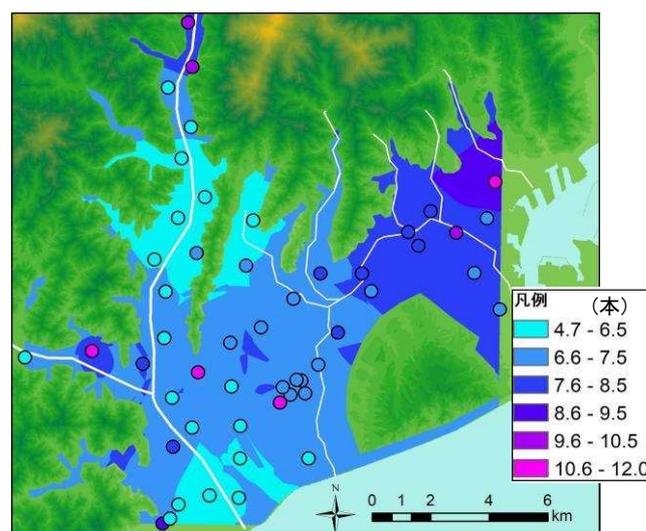


図7 必要水井戸本数例：商業施設（160m²）

表3 システム導入に伴う初期コストと回収期間の比較

種別	想定面積 (m ²)	100m 熱交換井 必要本数 (本)		初期コスト (補助金あり) (万円)			コスト回収期間 (年)	
		珪砂充填	水井戸	空気熱	珪砂充填	水井戸	珪砂充填	水井戸
事務所	180	2.4~6.3	4.2~10.5	504	752~946	630	43~76	22
	1,000	13.5~35.1	23.1~58.5	2,800	4,177~5,256	3,500	43~76	22
病院・福祉施設	1,100	14.9~38.6	25.4~64.3	3,080	4,595~5,782	3,850	18~32	9
	4,300	58.2~151	-	12,040	17,961~22,602	-	18~32	-
商業施設	160	2.8~7.2	4.7~12.0*	576	859~1,081	720	14~28	5
	1,400	24.4~63.2	-	5,040	7,518~9,461	-	27~55	-

ー：水井戸が40本以上必要となり、実現性に乏しいため記載しなかった。

*：商業施設（160m²）における水井戸必要本数については、図7に地理的分布を示した。

表 4 地中熱（地下水熱）利用による二酸化炭素排出削減効果

種別	想定面積 (m ²)	稼働時間 (h)	消費電力削減量 (kWh/年)	CO ₂ 排出削減量 (t-CO ₂ /年)	クレジット価格 (円/年)
事務所	180	10	3,567	1.73	1,571
	1,000	10	19,815	9.61	8,726
病院・ 福祉施設	1,100	24	52,313	25.37	23,037
	4,300	24	204,495	99.18	90,055
商業施設	160	24	9,783	4.74	4,308
	1,400	12	42,801	20.76	18,849

ンシャルが高いと推定された珪砂充填型の方が水井戸利用型よりも熱交換井の本数は少なくなるが、コスト計算の結果、水井戸利用型は既存の井戸の利用を想定しているため初期コストは少なく、その分コストの回収期間も短縮が可能という結果になった(表 3)。空気熱源エアコンとのランニングコストの差は、稼働時間が長くなるほど大きくなる。そのため、特に 24 時間エアコンを稼働させる病院・福祉施設や商業施設(コンビニエンスストア)は、水井戸利用型の場合 10 年未満、珪砂充填型でも熱交換効率の良い場所では 20 年未満で初期コストが回収できると試算でき、これらのシステムを導入するメリットは十分あると考えられた。ただし、水井戸利用型の場合、既に存在している井戸の本数は限られるため、大規模な施設をすべてこのタイプの熱交換でまかなうのは難しく、規模に応じたスペースの空調に利用したり、空気熱源エアコンと併用するなどの使用方法に限られることになる。

地下水熱利用による二酸化炭素排出削減効果を表 4 に示す。空気熱源エアコンを地下水熱交換システムに変換することによる消費電力の削減率は 29.5%となり、事業所の規模や稼働時間に応じて二酸化炭素排出削減量が増えた。このような取組は企業の CSR 活動や製品のブランディング等に活用できる。ただし、排出権取引に係るクレジット価格については年間数千円～数万円となり、コスト回収に寄与する程度にはならなかった。

まとめ

静清地域において、クローズドループ方式(珪砂充填型、水井戸利用型)の熱交換効率を指標とした地下水熱ポテンシャルを算定した。地下水の流れが速い安倍川沿いでは、珪砂充填型で冷房 10～13 kW/100m、暖房 6～8 kW/100m、水井戸利用型で冷房 5～7 kW/100m、暖房 3.5～5 kW/100m と、高い熱交換効率が確保されると推定できた。また、清水平野周辺の地下水流速が遅い地域では、夏季に放出された熱が蓄積されて冬季に利用できるなど、季節間蓄熱に有利になると推測された。地下水熱交換システムの導入を想定したコスト計算の結果、特に 24 時間

エアコンを稼働させる福祉施設や商業施設などは、水井戸利用型の場合、10 年未満で初期コストが回収できると試算でき、本システムを導入するメリットが十分あることが分かった。

なお、これらの結果に加え、本研究ではオープンループ方式等の適地評価も実施しており、その成果を「安倍川下流域(静清地域)における地下水熱利用適地マップ」¹⁷⁾としてまとめ、静岡県暮らし・環境部環境局環境政策課のホームページで公開している。

謝辞

岐阜大学・大谷具幸教授には、地下水流動解析や熱交換解析結果の解釈について有益な議論をしていただいた。また、東邦地水株式会社・奥村建夫氏、株式会社日本コンサルタント・狩野行宏氏には、導入可能性評価を行うにあたってご意見をいただいた。ここに記して感謝の意を表します。

文献

- 1) 環境省水・大気環境局：地中熱利用にあたってのガイドライン改訂版，100p (2015)
- 2) Fujii, H. et al.: Development of suitability maps for ground-coupled heat pump systems using groundwater and transports. *Geothermics*, **36**, 459-472 (2007)
- 3) 吉岡真弓他：地中熱利用適地の選定方法 その 2 地下水流動・熱輸送解析を用いた熱交換量マップの作成，*日本地熱学会誌*, **32(4)**, 241-251 (2010)
- 4) シュレスタ ガウラブ他：地中熱ヒートポンプシステムにおけるポテンシャルマップの高度化，*日本地熱学会誌*, **37(4)**, 133-141 (2015)
- 5) 静岡県：富士山周辺地域における地下水熱利用適地マップ (2015)
<http://www.pref.shizuoka.jp/kankyoku/ka-020/chikasui/top.html>
- 6) 静岡県：静清地域地下水利用実態調査業務委託報告書，55-71 (2011)

- 7) 北海道大学地中熱利用システム工学講座：地中熱ヒートポンプシステム, 167p (2007)
- 8) 静岡県環境衛生科学研究所：富士山の豊かな地下水を未来に引き継ぐために<資料・解説編>, 3-5 (2013)
- 9) 気象庁：メッシュ平年値 2010 (2012)
- 10) 一般社団法人日本サステナブル建築協会：非住宅建築物の環境関連データベース
http://www.jsbc.or.jp/decc_download/index.html
- 11) 横浜市泉区他：平成 24 年度泉区地中熱利用普及可能性調査報告書, 61p (2013)
- 12) 中部電力ホームページ：電力契約 低圧電力
https://www.chuden.co.jp/business/bshikumi/business_menu/bus_shop/denryoku/sdnr_low/index.html
- 13) 環境省ホームページ：温室効果ガス排出量算定・報告・公表制度電気事業者別排出係数（特定排出者の温室効果ガス排出量算定用）－平成 28 年度実績－
<https://ghg-santeikohyo.env.go.jp/calc>
- 14) J-クレジット制度ホームページ
<https://japancredit.go.jp/>
- 15) 神谷貴文他：静岡県河川流域における地下水熱交換システム適地評価に関する研究－第 1 報 安倍川下流域における地下水の水質・温度特性－, 静岡県環境衛生科学研究所報告, 60, 1-6 (2017)
- 16) 大谷具幸他：濃尾平野を例とした地下水流速の推定－その地中熱利用導入への適用－, 日本地熱学会誌, 29(4), 203-210 (2007)
- 17) 静岡県くらし・環境部環境局：安倍川下流域（静岡地域）における地下水熱利用適地マップ (2018)
<http://www.pref.shizuoka.jp/kankyoku/ka-020/chikasui/top.html>

静岡県における蚊媒介性ウイルス感染症の浸淫状況に関する研究

微生物部 ウイルス班 大石沙織, 池ヶ谷朝香*, 井戸陽子, 原稔美,
酒井悠希子, 阿部冬樹, 神田隆

Invasive status of mosquito-borne virus infection in Shizuoka Prefecture

Saori OISHI, Asaka IKEGAYA, Yoko IDO, Toshimi HARA,
Yukiko SAKAI, Fuyuki ABE and Takashi KANDA

近年, 世界では熱帯地域を中心にデング熱やジカウイルス感染症等の蚊媒介感染症が流行しており, 輸送網の発達によって, これらの感染症が日本に持ち込まれ拡大する危険性がある. デング熱は, 平成 26 年に 162 症例の国内感染例が報告され大きな問題となり, 静岡県でも 2 症例が報告された. それまで静岡県内での定期的な蚊の生息状況を把握する試みはなされていなかったため, 静岡県内における媒介蚊の季節消長を調査するとともに, 蚊媒介性感染症ウイルスの浸淫状況を把握することを目的に蚊のウイルス保有状況を調査した. その結果, 蚊媒介性感染症ウイルスはすべての定点から検出されなかったが, 蚊の捕集数は 7 月から 9 月に最も増加することが確認された. 夏休み等で, 海外への行き来が増加する時期と重なり, 蚊媒介性感染症が国内に輸入されるリスクが高まるため, 国内での感染拡大防止対策が必要である.

Key words: 蚊媒介性感染症, 媒介蚊, ヒトスジシマカ, アカイエカ群

mosquito-borne infection, vector mosquitoes, *Aedes albopictus*, *Culex pipiens*

はじめに

蚊媒介性感染症は, ウイルスや原虫などの病原体をもった蚊に吸血されることで感染する病気であり, 黄熱, マラリア, 日本脳炎などが知られている.

現在, 日本で発生報告のある蚊媒介性ウイルス感染症には, デング熱, チクングニア熱, ジカウイルス感染症, ウエストナイル熱, 日本脳炎がある. このうち現在, 国内にウイルスが常在しているものは日本脳炎のみで, ほかの蚊媒介性ウイルスは常在していない. また, 国内に生息する蚊のうちヒトスジシマカ *Aedes albopictus* がデング熱, チクングニア熱, ジカウイルス感染症, ウエストナイル熱を, コガタアカイエカ *Culex tritaeniorhynchus* とアカイエカ *Culex pipiens pallens* Coquillett がウエストナイル熱と日本脳炎を媒介する¹⁻⁶⁾.

わが国では, 太平洋戦争中の 1942 年から 1945 年にかけてデング熱が流行した. その後, 終戦を迎え, 南方からの帰還兵の減少, 防火水槽の設置もなくなりヒトスジ

シマカが減少することにより 1945 年以降デング熱の国内発生報告はなかった⁷⁾. しかし, 2014 年夏に代々木公園を中心とした都心のデング熱国内感染事例が発生し, 県内でも 2 人のデング熱国内感染患者が発生した. このうち 1 人は, 代々木公園には行っておらず, 検出されたウイルスの遺伝子は, 代々木公園を中心に発生し, 検出されたウイルスとは異なる遺伝子配列であったため, 別の流行が国内に潜在したと推測された⁸⁾.

また, わが国の日本脳炎は, 1960 年代までは年間 1000 人が発生していたが, 1954 年からワクチン接種が開始されたことを受け, 現在では毎年約 10 人以下まで減っている. 県内では 2006 年以降発生がなかった⁹⁾ が, 2016 年県西部で 1 人の患者が発生した.

このようなことから, 県内に蚊媒介性ウイルス感染症が発生するリスクは高いが, 今まで県内の定期的な蚊の生息状況調査は行われていなかった. そこで今回, 静岡県内における蚊媒介性感染症の媒介蚊生息状況調査を行うことで, 蚊の季節消長を解析し, 蚊媒介性ウイルス感染症の浸淫状況を調査した. また, 調査期間中の 2016 年に県内で, 日本脳炎患者が発生したことから, 疫学調査として, 捕獲されたイノシシの血清を材料に日本脳炎ウイルスの保有状況を調べたので報告する.

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

材料および方法

1 蚊の生息調査

1) 公園における調査

2016年と2017年の5月から10月に、月に2回、国の手引き¹⁰⁾にあるリスク地点の選定方法に基づき4公園、笹原公園(河津町)、愛鷹運動公園(沼津市)、吉田公園(吉田町)、エコパ(掛川市、袋井市)を選定し、各公園内ごとに3地点を定め、日中に8分間人囀法により蚊の捕集を行った。人囀法は、昼行性の待ち伏せ型であるヒトスジシマカを対象としたため、公園での捕集に用いた。

2) 市街地における調査

2016年と2017年の5月の最終週から11月の第1週まで、各週、当研究所の駐輪場で、CDCトラップ法により蚊の捕集を行った。蚊を誘引する目的で各回ドライアイス1kgを使用した。トラップは、毎回同じ場所(地上1.5m)に、夕方17時から18時に設置し、翌朝8時に回収した。CDCトラップ法は、夜行性で探索型であるアカイエカ群を対象としたため、周囲を住宅に囲まれた研究所での捕集に用いた。

3) 蚊の同定

捕集した蚊は、24時間以上冷凍(-80℃)し、実体顕微鏡下において、形態学的特徴から種類と雌雄を同定した。アカイエカとチカイエカ *Culex pipiens from molestus* Forskal は外見上の区別が困難であることから、すべてアカイエカ群 *Culex pipiens* とした。

2 蚊媒介性感染症ウイルス遺伝子の検査

各地点で捕集された蚊のうち、ヒトを吸血する雌のみを検査の対象とし、同日に、同一地点で捕集されたヒトスジシマカとアカイエカ群について、最大30匹を1検体としRNAを抽出した。RNA抽出方法は、1検体をPBS(-)0.9mLが入ったイーザー・ビーズ(エーエムアール)で破碎後、遠心して得られた上清140μLをQIAamp Viral RNA Mini Kit(QIAGEN)を用いて行った。この抽出RNAについて、デングウイルス、チクングニアウイルス、ウエストナイルウイルス、日本脳炎ウイルスはQIAGEN One Step RT-PCR Kitを用いたRT-PCR法により、ジカウイルスはQIAGEN QuantiTect Probe RT-PCR Kitを用いたreal-time PCR法により遺伝子検出を試みた。なお、ヒトスジシマカは、デングウイルス、チクングニアウイルス、ジカウイルス、ウエストナイルウイルスを、アカイエカ群は、ウエストナイルウイルス、日本脳炎ウイルスについて実施した。

3 ヒトからの蚊媒介性感染症ウイルス検査

1) 蚊媒介性ウイルス遺伝子検査

2016~2017年に海外渡航歴や症状等から、医療機関が蚊媒介性ウイルス感染症を疑い、感染症発生動向調査として当研究所に搬入された16症例の検体について、「感

染症診断マニュアル¹¹⁾に従い、遺伝子検査を行った。すなわち、患者血清140μLをQIAamp Viral RNA Mini Kitにより抽出したRNAから、デングウイルス、チクングニアウイルスはQIAGEN QuantiTect Probe RT-PCR Kitを用いたreal-time PCR法により検出を、日本脳炎ウイルスはQIAGEN One Step RT-PCR Kitを用いたRT-PCR法により検出を試みた。なお、ジカウイルスとウエストナイルウイルスに関してはRNA抽出後、蚊でのウイルス検出と同様の方法を用い、遺伝子検出を試みた。

4 動物からの日本脳炎ウイルス検査

1) 日本脳炎ウイルス遺伝子検査

2013~2014年に、県西部地域で捕獲されたイノシシ24頭の血清140μLについてQIAamp Viral RNA Mini Kitを用いてRNA抽出を行った。抽出したRNAはOne Step RT-PCR Kitを用いたRT-PCR法により日本脳炎ウイルスの検出を試みた。

2) 日本脳炎ウイルス分離検査

前述のイノシシ24頭の血清について、培養細胞を用いたウイルス分離を行った。Vero9013に血清100μLを接種し、34℃7日間培養した。細胞変性(CPE)が観察された培養液についてダイレクトシーケンシング法を行い得られた塩基配列から遺伝子型を決定した。

結果

1 蚊の生息状況

1) 総捕集数

捕集された蚊は、8種1263匹であり、そのうち、雌は848匹であった。最も多く捕集された種類は、ヒトスジシマカ833匹(66.0%)であった。次いで、アカイエカ群269匹(21.3%)であった。その他の種類は、ヤマトヤブカ *Aedes japonicus* 91匹(7.2%)、キンイロヤブカ *Aedes vexans nipponii* 45匹(3.6%)、キンパラナガハシカ *Tripteroides bambusa* 15匹(1.2%)、オオクロヤブカ *Armigeres subalbatus* 3匹(0.2%)、コガタクロウスカ *Culex hayashii* 4匹(0.3%)、ヤマトクシヒゲカ *Culex sasai* 3匹(0.2%)が捕集された(表1)。

2) 各公園の捕集結果

どの公園においても優占種はヒトスジシマカであり、愛鷹公園とエコパではアカイエカ群を含む多くの種が捕集された(表1)。

各公園におけるヒトスジシマカの捕集数は、笹原公園では、2016年は7月2回目をピークとして98匹が捕集され、2017年は10月1回目をピークとして29匹が捕集された。2017年10月1回目は、10月3日に実施され、この日まで、一日の平均気温は20℃を超えていたが、翌日から気温が下がり、10月の2回目には捕集されな

表1 調査地点別の捕集数

	ヒトスジシマカ	ヤマトヤブカ	オオクロヤブカ	キンイロヤブカ	アカイエカ群	コガタクロウスカ	キンバラナガハシカ	ヤマトクシヒゲカ
笹原公園	83	1	1	1	0	0	0	1
愛鷹運動公園	220	78	0	2	22	0	6	0
吉田公園	375	0	0	3	7	2	0	2
エコパ	42	12	2	39	2	2	9	0
CDCトラップ法	113	0	0	0	238	0	0	0
合計	833	91	3	45	269	4	15	3

った(図1)。愛鷹運動公園では、2016年は8月2回目と9月2回目をピークとして75匹が捕集され、2017年は8月1回目と9月1回目をピークとして145匹が捕集された(図2)。吉田公園は、2016年は9月1回目と10月1回目をピークとして98匹が捕集され、2017年は8月2回目と9月2回目をピークとし288匹が捕集された(図3)。エコパは、2016年は26匹が、2017年は16匹が捕集されたが、捕集数が少ないため、ピークは認められなかった。また、エコパでは2016年の10月2回目が、平均気温が18度であった2017年の10月は2回とも捕集されなかった(図4)。

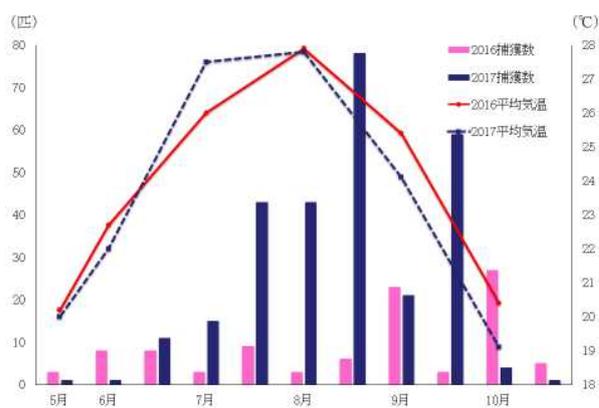


図3 人囃法により採取したヒトスジシマカ数(吉田公園)

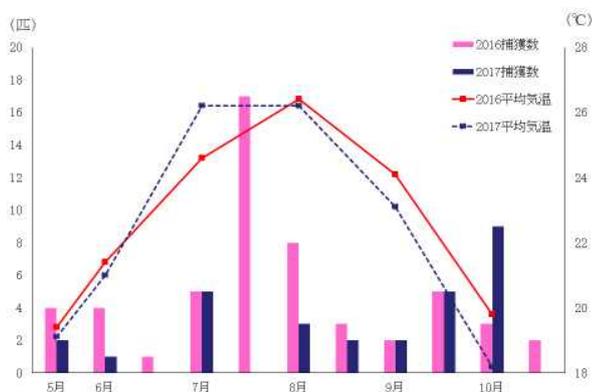


図1 人囃法により採取したヒトスジシマカ数(笹原公園)

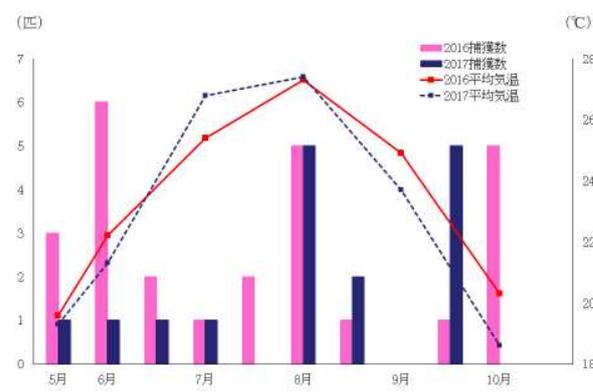


図4 人囃法により採取したヒトスジシマカ数(エコパ)

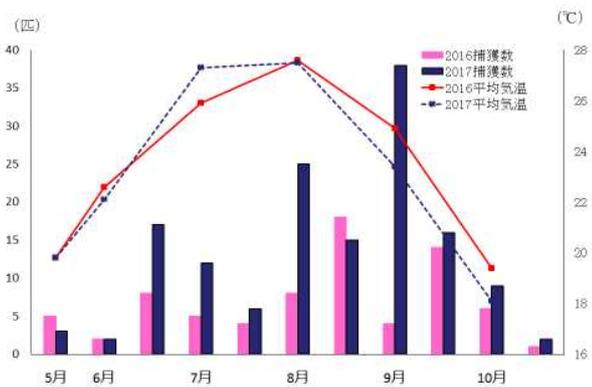


図2 人囃法により採取したヒトスジシマカ数(愛鷹運動公園)

3) 当所内の捕集結果

CDCトラップ法を使った、ヒトスジシマカの捕集数は、2016年は50匹が、2017年は63匹であった。2016年は7月まで捕集されなかったが、捕集され始めた8月にピークを認め、10月まで捕集された。2017年は6月から捕集され8月にピークがあり、9月まで捕集された。平均気温が前年度より低かった2017年は、10月以降捕集されなかった(図5)。一方、アカイエカ群の捕集数は、2016年は113匹が、2017年は123匹であった。2016年は7月から9月に、2017年は7月にピークがきており、両年

とも、5月から11月まで捕集された（図6）。

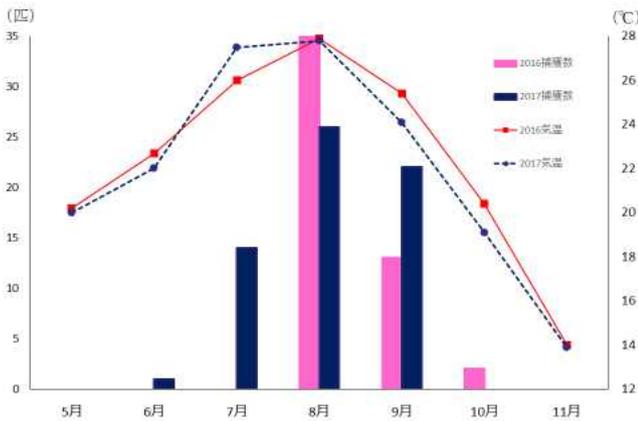


図5 CDCトラップ法（所内）による採取蚊の推移（ヒトスジシマカ）



図6 CDCトラップ法（所内）による採取蚊の推移（アカイエカ）

2 蚊の蚊媒介性感染症ウイルス遺伝子検出結果

捕集されたヒトスジシマカ雌 585 匹（179 検体）からは、デングウイルス、チクングニアウイルス、ジカウイルス、ウエストナイルウイルスの遺伝子は検出されなかった。また、捕集されたアカイエカ群 263 匹（55 検体）からは、ウエストナイルウイルス、日本脳炎ウイルスの遺伝子は検出されなかった（表2）。

表2 蚊媒介性感染症ウイルスの保有結果

	ヒトスジシマカ	アカイエカ群
デングウイルス	0/179	NT
ジカウイルス	0/179	NT
チクングニアウイルス	0/179	NT
ウエストナイルウイルス	0/179	0/55
日本脳炎ウイルス	NT	0/55

NT:検査せず

3 ヒトの蚊媒介性感染症ウイルス遺伝子検出結果

デング熱が疑われたヒト 10 症例のうち 2 症例と、ジカ

ウイルス感染症が疑われたヒト 5 症例のうちの 1 症例からデングウイルス遺伝子が検出された。

一方、日本脳炎が疑われた患者（医療機関情報：HI 抗体価 1:160 (JaGAR 株) から、当所の PCR 検査では日本脳炎ウイルス遺伝子は検出されなかったが、国立感染症研究所で、IgM 補足 ELISA 法および中和試験を実施した結果、日本脳炎の初感染症例と確定した（表3）。

表3 蚊媒介性ウイルス感染症疑い患者の遺伝子結果

疑い症例名	症例数	遺伝子陽性症例数	推定感染場所
デング熱	10	デングウイルス：2	インドネシア
ジカウイルス感染症	5	ジカウイルス：0 デングウイルス：1	インドネシア
日本脳炎	1	0	県内

4 イノシシの日本脳炎ウイルス遺伝子検査結果

2013 年の 8 月に捕獲されたイノシシの幼獣 1 頭から、日本脳炎ウイルス遺伝子が検出された（表4）。この検体から、日本脳炎ウイルスを分離し、遺伝子型を調べたところ、1 型であった。

表4 イノシシからの日本脳炎ウイルス遺伝子結果

		2013~2014	8月	9月	12月	1月
幼獣	オス		1/5	0/4	-	-
	メス		0/5	-	-	-
成獣	オス		0/1	-	0/2	-
	メス		0/1	-	-	0/3
不明	オス		-	0/1	-	-
	メス		-	0/1	-	-

考 察

県内では、ヒトスジシマカとアカイエカ群は、調査を開始した5月末から捕集され、平均気温が20度を下まわると、捕集数は減少もしくは消失した。また、ピークは地点と年により差があったが、おおむね7月から9月であった。国内に常在しないウイルスは、海外で蚊媒介性感染症に感染した人を吸血した国内の媒介蚊が未感染者を吸血することで、国内流行が発生する。ヒトスジシマカとアカイエカ群の発生数が増加し、吸血機会の増える7月から9月は、海外への行き来が増加する時期と重なるため、ほかの時期に比べ、蚊媒介性感染症に注意が必要である。

静岡県内の平均気温とヒトスジシマカ捕集数をみると、どの地点においても、2016年に比べ2017年は7月8月以外の月の気温は低く、年間の平均気温も低かつ

た。しかし、笹原公園，エコパでは，2016年の方が多く捕集され，一方，愛鷹運動公園，吉田公園では，2017年の方が多く捕集された。平均気温が低い2017年に、捕集数が増加した地点と、減少した地点があることから、気温による発生数への影響を見出すことはできなかった。なお、各公園とも、2016年と2017年で緑地や害虫への管理方法は変わっていない。そのため、今後も複数の地点での生息状況調査を行い、効果的な対策を検討することが必要である。

CDCトラップ法を用いたアカイエカ群の捕集数は、2016年は7月から9月までをピークとし、2017年が7月をピークとしている。埼玉県で、CDCトラップ法を用い平成26年から28年に行われた蚊の発生状況調査では、アカイエカ群は調査開始の5月下旬から捕集され、ピークは毎年6月中旬であった¹²⁾ことから、温暖な気候の静岡県では、関東に比べ蚊の増加する期間が長いことが分かった。

2016年から2017年に蚊媒介性ウイルス感染症が疑われた患者のうち、3症例がデング熱陽性であった。3名ともインドネシアから帰国後すぐに発症したことから、インドネシアで感染したと推測された。このように夏場を中心に、病原ウイルスが国内に侵入することが危惧される。

2016年に発生した日本脳炎の症例は、当所では遺伝子が検出されず、国立感染症研究所での抗体検査で確定した。患者は、海外や国内旅行歴がなかったため、自宅周辺での感染が推測された。日本脳炎は、コガタアカイエカ群やアカイエカ群により媒介され、増幅動物は豚であり、ヒトは日本脳炎ウイルスを保有する媒介蚊により感染する。感染症流行予測調査により、西日本から関東地方にかけて6~8月に豚においては毎年日本脳炎ウイルスの流行が確認されている。県内においても、2016年の豚の日本脳炎HI抗体陽性率は、7月末には0-50%未満であったものが、8月末には80%以上の豚が抗体を保有していた¹³⁾ことから、豚の間で日本脳炎は流行している。そのため、養豚場から媒介蚊を介して感染した可能性がある。また今回、患者居住地周辺で、2013年から2014年に捕獲されたイノシシで、日本脳炎ウイルスを検出したことから、イノシシが感染源であった可能性もある。今回イノシシから分離した日本脳炎ウイルス遺伝子はI型であった。日本では1990年代初めに遺伝子型が、III型から一斉に東南アジアで主流であったI型に遷移し、それ以降流行しているのはI型である。しかし、近年V型が中国や韓国で検出されている¹⁴⁾。何らかの方法で中国から飛来してくることが示唆されており¹⁵⁾、国内にV型が侵入している可能性が危惧される。日本で使用されて

いるワクチンがV型に対し、防御効果がやや低いとする報告もあるため¹⁶⁾、今後も日本脳炎の発生に注意が必要である。

今回の調査では、調査地点における蚊の蚊媒介性感染症ウイルスはすべて陰性であった。しかし、2014年に県内でデングウイルス陽性になった2症例のうち1症例の遺伝子配列は、代々木公園で発生した国内感染事例のウイルス遺伝子と配列が異なっていたため、国内に別の流行があった可能性があったことから、蚊媒介性感染症の流行は、いつ起きてもおかしくない状況であり、実は発生している可能性もある。そのため、平常時の蚊の成虫駆除及び発生源対策は非常に重要である。また、流行時には迅速的確な対応を行えるよう、日頃から、県民に対し、蚊媒介性感染症の情報を提供し、蚊に刺されない、蚊を増やさないことを啓発していく必要がある。

文 献

- 1) 国立感染症研究所．感染症情報，デング熱
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/238-dengue-info.html>
- 2) 国立感染症研究所．感染症情報，ジカ熱
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/sa/zika.html>
- 3) 国立感染症研究所．感染症情報，チクングニア熱
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ta/chikungunya.html>
- 4) 国立感染症研究所．感染症情報，ウエストナイル熱
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/a/wnv.html>
- 5) 国立感染症研究所ウイルス第一部第2室：日本脳炎
<http://www0.nih.go.jp/vir1/NVL/JEVMeeting.htm>
- 6) 国立感染症研究所．感染症情報，日本脳炎
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/449-je-intro.html>
- 7) 高崎智彦：再興感染症～デング熱国内流行と最近の知見～130 モダンメディア 61巻5号2015
- 8) 高崎智彦：1.国内で発生したデング熱流行2014年．ウイルス 第65巻 第1号，pp.115-118，2014
- 9) 国立感染症研究所．感染症発生動向調査事業年報2005年（平成17年）確認報告データ
<https://idsc.niid.go.jp/idewr/CDROM/kako/H17/SyUList.html>
- 10) デング熱・チクングニア熱等蚊媒介性感染症の対応・対策の手引き地方公共団体向け．国立感染症研究所，平成28年2月12日改訂
- 11) 国立感染症研究所．病原体検出マニュアル
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/labo-manual.html>
- 12) 佐藤秀美：埼玉県内の自然公園における蚊の発生状

況（平成 28 年度）. 埼衛研所報, 第 51 号 2016 年

- 13) わが国のブタにおける日本脳炎に対する HI 抗体保有状況（2016 年感染症流行予測調査より）国立感染症研究所. 病原微生物検出情報（国立感染症疫学センター）, IASR Vol.38 No.8(No.450)2017 年 8 月発行
- 14) 蚊における日本脳炎ウイルス(JEV)保有状況 国立感染症研究所. 病原微生物検出情報（国立感染症疫学センター）, IASR Vol.38 No.8(No.450)2017 年 8 月発行
- 15) 沢辺京子他：昆虫体内の微量元素の質的量的解析と気象解析に基づく昆虫の長距離移動特性の解明 科学研究費助成事業 研究成果報告書 課題番号 24658058
- 16) 高崎智彦他：ブタ・イノシシにおける日本脳炎ウイルス感染と気象要因の解析 アルボウイルス、水系細菌叢、媒介生物のモニタリングによる温暖化の影響評価に関する研究（20 年度～24 年度）地球環境保全試験研究費（地球一括計上） 課題番号 厚 0852

魚介類における薬剤耐性菌の汚染実態に関する研究

微生物部 細菌班 水本嗣郎, 鈴木秀紀, 久家力也, 村田学博,
森主博貴, 松橋平太*, 長岡宏美, 神田隆

Study on Contamination of Antimicrobial-Resistant Bacteria in Seafood

Shiro MIZUMOTO, Hideki SUZUKI, Rikiya KUGE
Michihiro MURATA, Hirotaka MORINUSHI, Heita MATSUHASHI*,
Hiromi NAGAOKA and Takashi KANDA

魚介類における薬剤耐性菌の汚染実態を把握する目的で、静岡県内産養殖マアジ及び市販の天然マアジからビブリオ属菌及び腸内細菌科細菌を分離し、薬剤耐性試験を実施した結果、アンピシリン耐性ビブリオ属菌、アンピシリン、ホスホマイシン及びテトラサイクリン耐性腸内細菌科細菌が確認された。また、養殖マアジ、天然マアジそれぞれ 22 株、10 株の多剤耐性の腸内細菌科細菌が分離された。細菌間での耐性遺伝子の伝播により海洋環境に存在する細菌の多剤耐性化が進むことも懸念されるため、さらなる知見や情報を蓄積し、リスク分析を実施するとともに、菌の薬剤耐性機構について解明する必要があると考えられた。

Keywords: 薬剤耐性, ビブリオ属菌, 腸内細菌科細菌, マアジ
antimicrobial resistance, *Vibrio* spp, *Enterobacteriaceae*, *Trachurus japonicus*

はじめに

近年、抗菌薬等の不適切な使用により薬剤耐性菌が世界的に増加する一方、新たな抗菌薬等の開発は停滞しており、今後、薬剤耐性感染症への対抗手段が枯渇する恐れがある。

このような状況の中、厚生労働省は「薬剤耐性 (AMR) 対策アクションプラン」を立ち上げ、医療分野だけでなく、獣医療、畜水産及び食品衛生などの様々な分野が連携した取り組み (ワンヘルス・アプローチ) について取りまとめた¹⁾。

アクションプランでは、様々な分野の薬剤耐性菌のモニタリング体制の強化が提案されているが、水産分野における組織的な調査及び監視体制が整備されていない。

そこで、水産分野の薬剤耐性菌の監視体制に係るモニタリングの構築を検討するための基礎データとする事を目的として、養殖マアジ及び天然マアジについて薬剤耐性菌の汚染実態調査を行った。

材料及び方法

1 材料

7月から9月にかけて販売された県内産養殖マアジ 20 匹及び天然マアジ 10 匹の筋肉、鰓及び腸内容物を供試材料とした。

2 菌分離

今回の調査では、魚介類における食中毒の原因菌であり、アクションプランに基づく薬剤耐性ワンヘルス動向調査²⁾においても水産養殖環境由来菌の薬剤耐性が調査されている *Vibrio parahaemolyticus* (腸炎ビブリオ) を含むビブリオ属菌、医療機関での薬剤耐性が問題となっている腸内細菌科細菌、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) 及びバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) を対象として菌分離を行った。

1) ビブリオ属菌

アルカリ性ペプトン水 (日水製薬株) で 35°C, 18 時間培養後、クロモアガービブリオ (関東化学株) に塗抹して 35°C, 24 時間培養し、ビブリオ属菌を疑うコロニーについて、生化学性状により菌を同定した。

また、腸炎ビブリオについては、腸炎ビブリオ型別用免疫血清「生研」(デンカ生研株) を用いて K 型別及び O 群別試験、PCR 法により病因発現調節因子である *toxR*

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)
* : 静岡県食肉衛生検査所

遺伝子³⁾及び病原因子である *tdh* 遺伝子 (Primer Set VPD-1, VPD-2 (TaKaRa)) の検索を行った。

なお、*V. cholerae* についてはコレラ菌免疫血清「生研」(デンカ生研) を用いて血清型を確認した。

2) 腸内細菌科細菌

緩衝ペプトン水(日水)で35℃, 24時間培養後, クロモアガーC3GR (関東化学) に塗抹して35℃, 24時間培養し, 腸内細菌科細菌を疑うコロニーについて生化学検査及びBBLクリスタルE/NF (産業用) (日本ベクトン・ディッキンソン株) を使用して菌を同定した。

また, 一部の菌についてはダイレクトシークエンス法により確定した塩基配列について, Genbank に登録されている細菌の塩基配列と比較して同定した。

3) MRSA

10%NaCl, 1%ピルビン酸 Na 加トリプトソイブロス (BD) で35℃, 24時間培養後, 卵黄加マンニット食塩寒天培地 (日水) に塗抹して37℃, 48時間培養し, MRSA を疑うコロニーを釣菌した。さらに, コロニーの生化学性状を確認後, クロモアガー-MRSA (関東化学) に37℃, 24時間培養させて発育を確認した。

4) VRE

緩衝ペプトン水 (日水) で35℃, 24時間培養後, ACブイヨン基礎培地 (日水) に接種して35℃, 48時間, さらに同培地で45℃, 48時間培養した。発育が確認された培養液をクロモアガー-VRE (関東化学) に塗抹して35℃, 24時間培養し, 得られたコロニーの生化学性状を確認した。

3 薬剤耐性試験

薬剤耐性試験は, KB ディスク (栄研化学株) を使用し, ディスク拡散法により実施した。供試薬剤はアンピシリン (ABPC), ホスホマイシン (FOM), テトラサイクリン (TC), スルファメトキサゾール・トリメトプリム (ST), セフトキシム (CTX), イミペネム (IPM) 及びゲンタマイシン (GM) の7剤を使用した。

表1 部位別菌分離状況

	分離数/検体数					
	筋肉		鰓		腸内容物	
	養殖	天然	養殖	天然	養殖	天然
ビブリオ属菌	1/20	0/10	10/20	8/10	11/20	3/10
腸内細菌科細菌	0/20	0/10	14/20	6/10	12/20	1/10
MRSA	0/20	0/10	0/20	0/10	0/20	0/10
VRE	0/20	0/10	0/20	0/10	0/20	0/10

結果

1 菌分離状況

部位別の菌分離状況では, ビブリオ属菌は筋肉, 鰓及び腸内容物から, 腸内細菌科細菌は鰓及び腸内容物から分離されたが, MRSA 及びVRE は分離されなかった (表1)。

ビブリオ属菌は養殖マアジから腸炎ビブリオ 31 株, *V. mimicus* 15 株, *V. vulnificus* 5 株, 及び *V. cholerae* 4 株の計 55 株, 天然マアジからは腸炎ビブリオ 22 株が分離された (表2)。腸炎ビブリオの血清型は養殖マアジで12種, 天然マアジで6種に分類 (表3) され, PCR 法の結果は全ての株で *toxR* 遺伝子陽性, *tdh* 陰性であった。なお, *V. cholerae* の血清型は全て non O1 であった。

腸内細菌科細菌では, 養殖マアジからエンテロバクター属菌 45 株, シトロバクター属菌 43 株, *Serratia plymuthica* 8 株, *Morganella morganii* 5 株の計 101 株が分離され, 天然マアジからはエンテロバクター属菌6株, *Citrobacter freundii* 9 株, *Morganella morganii* 12 株の計 27 株が分離された (表4)。

表2 ビブリオ属菌分離状況

	株数	
	養殖 (20 匹)	天然 (10 匹)
腸炎ビブリオ	31	22
<i>V. mimicus</i>	15	0
<i>V. vulnificus</i>	5	0
<i>V. cholerae</i> non O1	4	0
計	55	22

表3 腸炎ビブリオの血清型

血清型	養殖		天然	
	血清型	株数	血清型	株数
O1:KUT	O2:K3	3	4	
O2:K28	O2:K28	1	2	
O2:KUT	O2:KUT	1	2	
O3:K57	O5:K17	1	7	
O4:K9	O5:KUT	1	6	
O4:K42	O6:KUT	7	1	
O4:KUT		3		
O5:KUT		5		
O6:KUT		2		
O11:K50		2		
O11:KUT		2		
OUT:KUT		3		

UT: 群または型別不明

表4 腸内細菌科細菌分離状況

	株数	
	養殖 (20 匹)	天然 (10 匹)
エンテロバクター属菌**	45	6
シトロバクター属菌***	43	9
<i>Serratia plymuthica</i>	8	0
<i>Morganella morganii</i>	5	12
計	101	27

※養殖： *Enterobacter.cloacae* 43 株, *E.aerogenes* 1株, 菌種不明1株

天然： *E.cloacae* 4株, 菌種不明2株

明確に菌種を同定出来なかったものを「菌種不明」とした

※※養殖： *Citrobacter.freundii* 39 株, *C. amalonaticus* 4株

天然： *C.freundii* 9株

2 薬剤耐性試験

ビブリオ属菌では養殖マアジにおいて、腸炎ビブリオの 80.6%が ABPC 耐性、3.2%が FOM 耐性であり、*V. mimicus*、*V. vulnificus* ではそれぞれ 6.7%、20%が ABPC 耐性であった。また、*V. cholerae* は 100%が ABPC 耐性であった。一方、天然マアジでは腸炎ビブリオで 45.5%が ABPC 耐性であり、ABPC に高い耐性率がみられた菌種が多くみられ、その他の薬剤は全て感性であった (表 5)。

表5 ビブリオ属菌の薬剤耐性率

	薬剤耐性率 (%)						
	ABPC	FOM	TC	ST	CTX	IPM	GM
腸炎ビブリオ	80.6	3.2	0	0	0	0	0
養殖 <i>V. mimicus</i>	6.7	0	0	0	0	0	0
<i>V. vulnificus</i>	20	0	0	0	0	0	0
<i>V. cholerae</i> non O1	100	0	0	0	0	0	0
天然 腸炎ビブリオ	45.5	0	0	0	0	0	0

表6 腸内細菌科細菌の薬剤耐性率

		薬剤耐性率 (%)						
		ABPC	FOM	TC	ST	CTX	IPM	GM
エンテロバクター属菌	養殖	86.7	31.1	8.9	2.2	0	0	2.2
	天然	83.3	16.7	16.7	0	0	0	0
シトロバクター属菌	養殖	44.2	0	4.7	0	0	0	0
	天然	22.2	0	0	0	0	0	0
<i>Serratia plymuthica</i>	養殖	50	50	0	0	0	0	0
	天然	分離株なし						
<i>Morganella morganii</i>	養殖	100	80	40	0	0	0	0
	天然	100	41.7	58.3	0	0	0	0

腸内細菌科細菌のエンテロバクター属菌、シトロバクター属菌、*Serratia plymuthica*、*Morganella morganii* などの薬剤耐性率は、養殖マアジでは ABPC 86.7、44.2、50、100%、FOM 31.1、0、50、80%、TC 8.9、4.7、0、40%、ST 及び GM 2.2、0、0、0%耐性であった。また、天然マアジではエンテロバクター属菌、シトロバクター属菌、*Morganella morganii* などの薬剤耐性率が ABPC 83.3、22.2、100%、FOM 16.7、0、41.7%、TC 16.7、0、58.3%耐性であり、養殖及び天然ともに ABPC、FOM 又は TC に高い耐性率がみられた菌種が多くみられ、その他の薬剤は全ての菌種等で感性であった (表 6)。

また、養殖マアジにおいてビブリオ属菌で2剤耐性 (ABPC・FOM) が1株、腸内細菌科細菌では養殖マアジにおいて2剤耐性が18株 (ABPC・FOM 14株、ABPC・TC 3株、ABPC・GM 1株)、3剤耐性 (ABPC・FOM・TC) が3株、4剤耐性 (ABPC・FOM・TC・ST) が1株の計 22 株認められた。また、天然マアジでは腸内細菌科細菌で2剤耐性 (ABPC・FOM 2株、ABPC・TC 4株) が6株、3剤耐性 (ABPC・FOM・TC) が4株の計 10 株が多剤耐性を示した (表 7)。

表7 多剤耐性菌状況

		耐性数	薬剤・株数
		ビブリオ属菌	2
腸内細菌科細菌	養殖	2	ABPC・FOM 14株
		2	ABPC・TC 3株
		1	ABPC・GM 1株
	3	ABPC・FOM・TC 3株	
天然	4	ABPC・FOM・TC・ST 1株	
	2	ABPC・FOM 2株	
	2	ABPC・TC 4株	
	3	ABPC・FOM・TC 4株	

考察

今回調査した薬剤耐性試験では、腸内細菌科細菌において、CTX 及び IPM は養殖マアジ、天然マアジともに全て感性であり、医療現場で問題となっている薬剤耐性菌感染症の原因となる基質特異型 β ラクターマーゼ (ESBL) 産生菌やカルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) を疑う株はみられず、マアジ喫食による薬剤耐性菌感染症へのリスクは低いことが示唆された。

一方、養殖マアジから分離されたビブリオ属菌では ABPC に、腸内細菌科細菌では ABPC、TC 及び FOM に対して高い耐性率を示す菌種等が多くみられた。ABPC はビブリオ属菌及び腸内細菌科細菌において、自然耐性を持つことがあるため^{4) 5)}高い耐性率であったとも考えられるが、これら3剤はマアジ等のすずき目魚類の水産用医薬品として使用されていることから、薬剤の使用形態に由来する可能性も考えられた。

また、養殖マアジ及び天然マアジについて、菌種等の耐性率を比較すると、養殖マアジで ABPC または FOM で耐性率が高率であった菌種等があった一方、天然マアジでは TC の耐性率が高率であった菌種等もみられたため、養殖環境の域を越えて、海水環境にこれらの薬剤に対する耐性菌が蔓延していることが考えられた。これらの要因は、水産分野に限らず、人獣環境から河川等を介して流入されることも考えられるため、さらなるデータ蓄積が必要であると考えられた。

さらに、腸内細菌科細菌では養殖マアジ、天然マアジそれぞれ 22 株、10 株の多剤耐性株が分離された。一方、今回の調査では、ビブリオ属菌では養殖マアジの腸炎ビブリオからは多剤耐性株が1株のみであったが、マアジから多剤耐性の腸炎ビブリオが複数分離されていると報告⁶⁾もあることから、これについても継続して調査する必要があると思われた。

これらの菌は他菌種間においても耐性遺伝子を伝播することが知られており、海水等を介して様々な菌の多剤耐性化が進むことも懸念されるため、さらなる知見や情報を蓄積し、リスク分析を実施するとともに、菌の薬剤耐性機構について解明する必要があると思われた。

そのためには、養殖における水産用医薬品の管理のみならず、医療機関、畜産及び環境全体等を視野にいれた包括的な監視体制等の取り組みが急務であると考えられた。

文献

- 1) 薬剤耐性 (AMR) 対策アクションプラン 2016-2020, 2016
- 2) 薬剤耐性ワンヘルス動向調査 年次報告書 2017. 薬

薬剤耐性ワンヘルス動向調査検討会

- 3) YUNG BU KIM *et al.*, Identification of *Vibrio parahaemolyticus* Strains at the Species Level by PCR Targeted to the *toxR* Gene, JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, 1999, **37-4**, p1173-1177
- 4) 本田武司：食中毒：最近の話題 腸炎ビブリオ感染症，臨床と微生物，**27**，523-526
- 5) Livermore DM: β -lactamases in laboratory and clinical resistance, Clin Microbiol Rev Oct, 1995: 557-584
- 6) 西野達朗：マアジから分離される腸炎ビブリオの薬剤耐性に関する研究. 第 38 回日本食品微生物学会 (2017) ; **53**.

腸管出血性大腸菌の効率的な分子疫学解析手法に関する研究

微生物部 細菌班 森主博貴, 鈴木秀紀, 久家力也, 村田学博,
水本嗣郎, 長岡宏美, 神田 隆

Study on an Efficient Molecular Epidemiological Method
for Enterohemorrhagic Escherichia coli (EHEC)

Hiroataka MORINUSHI, Hideki SUZUKI, Rikiya KUGE,
Michihiro MURATA, Sirou MIZUMOTO, Hiromi NAGAOKA,
and Takashi KANDA

近年, 同一感染源による腸管出血性大腸菌 (EHEC) 感染事例は増加傾向にあり, 一見散発的な潜在的広域事例 (Diffuse outbreak) が発生し, 事例間の関連性調査を必要とするケースが増加している. このような潜在的な広域事例の発生を迅速に探知するためには, 分子疫学解析は有効な手段である. 当所では, 従来から実施しているパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 法に加え, 縦列反復塩基配列を利用した Multiple Locus Variable Number Tandem Repeats Analysis (MLVA) 法を 2016 年 7 月より導入した. 本研究では, これらの解析法を用いて EHEC のサブタイピングを行い, その有用性を比較検討した. その結果, MLVA 法を用いた EHEC 分子疫学解析により, 県内で発生した EHEC 感染患者と広域散発食中毒事例との関連性を迅速に解明することが可能となることが示唆された.

Key words: 腸管出血性大腸菌, 反復配列多型解析法

Enterohemorrhagic Escherichia coli (EHEC), Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis (MLVA)

はじめに

腸管出血性大腸菌 (EHEC) はベロ毒素を産生する大腸菌で, ヒトに感染すると激しい腹痛を伴う血便などの症状を呈し, 重症化すると HUS や脳症を引き起こす. 現在の複雑な食品流通事情では, 同一汚染食品が広範囲に流通するため, 患者が広い地域で散発的に発生し, 食中毒と判断することが困難な事例が多くなっている.

このような, 一見散発事例と思われる広域散発食中毒事例には, 各地域で分離された病原体の分子疫学情報を比較解析し, 広域散発食中毒の可能性を明らかにすることが重要であり, 発生要因の究明において分子疫学解析は重要なツールとなっている.

分子疫学解析法は, 当所で実施している PFGE 法や IS-printing system (IS) 法, 国立感染症研究所で導入されている MLVA 法がある. これら 3 法のそれぞれの特徴を把握して, 解析能力等の比較検討を行い, 効率的な分子疫学解析の運用法の確立を目的とし本研究を実施した.

材料および方法

1 供試菌株

1) 事例 1

2016 年 7 月～8 月に沖縄県南城市で発生した O157 による食中毒との関連性が疑われた, 静岡県の感染症患者由来株 1 株を用いた.

2) 事例 2

2016 年 10 月～11 月に静岡県内業者が製造したそうざい半製品を原因とする O157 食中毒事例の患者由来株 3 株, 食品由来株 6 株及び同食中毒との関連性が疑われた静岡県の感染症患者由来株 3 株を用いた.

3) 事例3

2017年夏に埼玉県で発生した惣菜チェーン店を原因施設とするO157食中毒事例と同時期に県内で届出があったO157感染症患者由来菌株15株を用いた。

2 IS法

IS-printing system (東洋紡績株式会社) のキットを用いて添付書類の記載条件に従い、PCRを実施し解析した。

3 PFGE法

菌液100μlにprotease K(20mg/ml)を10μlずつ添加後、1%SeaKem Gold agaroseを110μl添加しプラグを作成し、Xba Iで37℃3時間、制限酵素処理を行った後、12℃で20時間泳動(6V/cm、initial2.2sec、final54.2sec)して、供試菌毎の切断パターンを比較した。

4 MLVA法

Izumiyaらの方法¹⁾に従い、17カ所のlocusについて解析を行った。すなわち普通寒天培地上に発育した菌の1集落を用い、アルカリ法でDNA抽出後、QIAGEN Multiplex PCR plus kitを用いてPCRを行った後、増幅産物希釈液にHi-DiホルムアミドおよびGS600LIZを加えて加熱後、ABI3500でフラグメント解析を行いGeneMapperソフトでサイジングを行った(表1)。得られた実測値は、国立感染症研究所から提供されたExcelソフトでレポート数に変換後、国立感染症研究所のデータベースでMLVA型を検索した。

なお、導入にあたり、国立感染症研究所と解析結果の互換性を得るため、国立感染症研究所から提供された参照DNAを用いて補正を行った。

5 各解析法における株間の評価

PFGEおよびMLVA解析で得られた結果をTenoverら²⁾の基準に従って評価し、PFGE法、IS法、MLVA法の識別能、迅速性、汎用性、共有性、操作性、コストについて比較した。

表1 おおよそのピークの出現領域

Mix#1		
0157-34	140-520	6-FAM
EHC-1	70-210	VIC
EHC-2	220-460	VIC
0157-9	480-600	VIC
EHC-5	120-240	NED
0157-3	330-470	NED
0157-25	120-200	PET
EH111-8	230-350	PET
EH157-12	400-470	PET
Mix#2		
EH111-14	150-170	6-FAM
EH111-11	420-450	6-FAM
0157-17	130-220	VIC
0157-36	120-240	NED
0157-19	260-340	NED
EHC-6	400-650	NED
0157-37	80-240	PET
EH26-7	270-430	PET

結果

1 MLVA法によるEHECの解析

1) 事例1

県内の感染症患者由来株は、MLVA型が16m0110を示し、県外の食中毒患者と同型であった(表2)。この解析結果を受け、所轄保健所が再度調査を行なったところ、食中毒事例の原因食品であるサトウキビジュースを喫食していたことが判明した。この結果から、静岡県の患者も沖縄県関連の広域散発食中毒事例であることが解明された(図1)。

表2 事例1におけるMLVA法のレポート数と型

分離株 / ーカス	0157 -34	EHC -1	EHC -2	0157 -9	EHC -5	0157 -3	0157 -25	EH11 1-8	EH15 7-12	EH11 1-14	EH11 1-11	0157 -17	0157 -38	0157 -19	EHC -6	0157 -37	EH26 -7	MLVA 型
県外食中毒患者株	10	7	4	12	-2	7	3	1	7	-2	2	3	-2	5	-2	8	-2	16m0110
県内感染症患者株	10	7	4	12	-2	7	3	1	7	-2	2	3	-2	5	-2	8	-2	16m0110

※-2は増幅産物なし

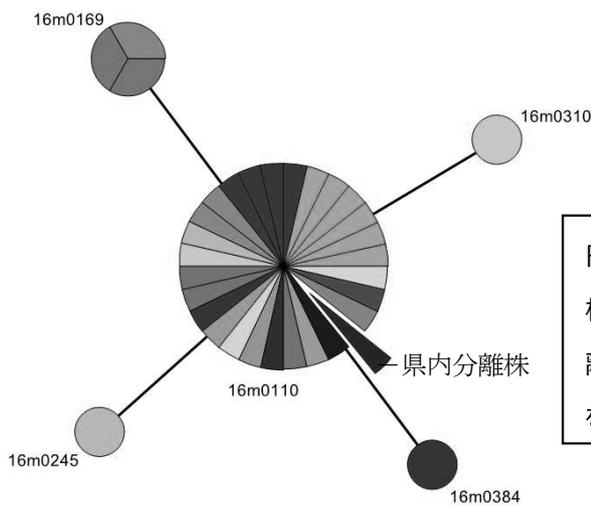


図1 事例1における全国のMLVAパターン

円の大きさは分離株数に基づき、距離は変異の割合を反映する

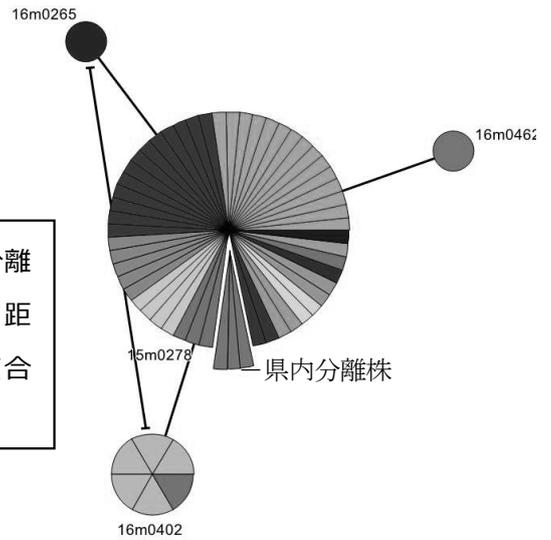


図2 事例2における全国のMLVAパターン

表3 事例2におけるMLVA法のレポート数と型

分離株 / ーカス	0157	EHC	EHC	0157	EHC	0157	0157	EH11	EH15	EH11	EH11	0157	0157	0157	EHC	0157	EH26	MLVA 型
	-34	-1	-2	-9	-5	-3	-25	1-8	7-12	1-14	1-11	-17	-38	-19	-6	-37	-7	
県外食中毒患者株	9	9	5	12	-2	8	5	1	6	-2	2	4	10	7	-2	6	-2	15m278
県外収去食品株	9	9	5	12	-2	8	5	1	6	-2	2	4	10	7	-2	6	-2	15m278
県内収去食品株	9	9	5	12	-2	8	5	1	6	-2	2	4	10	7	-2	6	-2	15m278
県内感染症患者株	9	9	5	12	-2	8	5	1	6	-2	2	4	10	7	-2	6	-2	15m278

2) 事例2

食中毒患者由来の3株, 冷凍メンチカツ由来の8株は, MLVA型が15m0278を示した(表3)。この結果から, 県外の食中毒患者由来株と県内の業者が製造した食品由来株が同一であり, そうざい半製品が原因食品であることが確認された。一方, 県内の感染症患者由来の3株も同じMLVA型を示したが, 疫学的な関連性は確認できなかった(図2・表3)。

3) 事例3

2017年, 夏に発生した物産チェーン店を原因施設とする食中毒事例関連株は, MLVA型が17m0121を示す株であったが, 県内で分離された株は異なるMLVA型を示し, 食中毒事例による集団発生の一部ではないことが確認された(表4)。しかし, 県内の15株のうち同一のMLVA型(17m0250)を示す株が5件連続で検出され, これらは隣接する市

町での患者由来であったことから同一感染源の可能性が推測された。この結果については, 所管保健所に情報提供が行ったが, 共通の原因ならびに事例間の関連性は特定されなかった。

2 分子疫学解析法の比較(表5)

識別能に関しては, IS法はPFGE法に比べ劣ることが報告されている³⁾⁴⁾。一方, MLVA法については, 1に近い値が得られるほど解像度が高いSimpsonの多様度指数でPFGE法が0.994, MLVA法が0.996を示すことが報告されている⁵⁾。これらの結果からMLVA法とPFGE法はほとんど差はないと考えられた。

本研究において, 事例2でMLVA型15m0278に分類された株については, IS法の結果も完全に一致した。PFGE法は1株が異なる切断パターンを示し2つのグループに

分類されたが、異なるバンド数は4であることから2度のgenetic eventによる相違が考えられた。事例3でMLVA型 17m0250 に分類された株については、IS法の結果およびPFGE法の切断パターンは完全に一致した。

迅速性については、平板の状態から10検体を検査した場合、要した時間はPFGE法で33時間、IS法で7時間、MLVA法で9.5時間となった。PFGE法は平均2~3日、IS法は1日、MLVA法は1~2日必要でありIS法が最も優れ

ていた。

汎用性については、解析法により供試可能なO血清型が制限され、PFGE法はすべての血清型で実施することができるが、IS法は0157のみに適応可能である。MLVA法は0157, 026, 0111の3血清型にのみ対応している。2017年度の県内EHEC発生内訳は0157が40.0%, 026が56.0%, 0111が0.0%を占めていることから、PFGE法は100%, IS法は40%, MLVA法は96%をカバーできると思われた。

表4 事例3におけるMLVA法のレポート数と型

分離株 /ケース	0157 -34	EHC -1	EHC -2	0157 -9	EHC -5	0157 -3	0157 -25	EH11 1-8	EH15 7-12	EH11 1-14	EH11 1-11	0157 -17	0157 -38	0157 -19	EHC -6	0157 -37	EH26 -7	MLVA 型
県外食中毒患者株	9	11	5	12	-2	11	4	1	6	-2	2	4	9	7	-2	6	-2	17m 0121
県内感染症患者A	11	5	4	15	-2	16	6	1	4	-2	2	7	12	4	-2	6	-2	17m 0103
県内感染症患者B	6	12	4	13	-2	13	3	1	6	-2	2	5	10	7	7	6	-2	17m 0254
県内感染症患者C	12	6	4	9	-2	17	5	1	4	-2	2	7	7	5	-2	8	-2	17m 0162
県内感染症患者D	12	6	4	9	-2	15	5	1	4	-2	2	8	7	5	-2	8	-2	14m 0071
県内感染症患者E	12	6	4	9	-2	17	5	1	4	-2	2	8	7	5	-2	8	-2	17m 0255
県内感染症患者F	9	14	4	5	-2	14	6	1	6	-2	2	4	10	7	-2	6	-2	16m 0103
県内感染症患者G	13	4	4	10	7	12	12	1	4	-2	2	9	3	6	12	6	-2	17m 0061
県内感染症患者H	9	12	5	-2	-2	4	3	1	4	-2	2	5	6	7	11	5	-2	17m 0396
県内感染症患者I	5	6	8	10	14	-2	5	1	1	-2	2	3	7	7	-2	6	-2	13m 0364
県内感染症患者J	9	16	6	18	-2	13	5	1	4	-2	2	5	8	17	-2	5	-2	17m 0250
県内感染症患者K	9	16	6	18	-2	13	5	1	4	-2	2	5	8	17	-2	5	-2	17m 0250
県内感染症患者L	9	16	6	18	-2	13	5	1	4	-2	2	5	8	17	-2	5	-2	17m 0250
県内感染症患者M	9	16	6	18	-2	13	5	1	4	-2	2	5	8	17	-2	5	-2	17m 0250
県内感染症患者N	9	16	6	18	-2	13	5	1	4	-2	2	5	8	17	-2	5	-2	17m 0250
県内感染症患者O	9	16	5	-2	-2	4	4	1	3	-2	2	7	6	7	-2	5	-2	17m 0395

表 5 分子疫学解析法の比較

解析方法	識別能	迅速性	汎用性	共有性	操作性	コスト
PFGE 法	○	×	○	×	△	○
IS 法	△	○	×	○	○	×
MLVA 法	○	△	△	○	△	△

○：優れている △：やや劣る ×：劣る

共有性については、IS 法、MLVA 法は手元に菌株がなくてもデータベース上で比較できるが、PFGE 法は手元に菌株がないと比較できないため、他機関との比較を行うためには IS 法、MLVA 法が優れていた。

操作性については、原理的に単純で専用の機器を必要としない IS 法が初心者向けであると思われた。しかし、得られたデータの解析は担当者の視覚判断に委ねられるため、判断の誤りを招く要因もある。いずれの方法も実施者の知識と経験が必要である。

コストは、1 検体あたり PFGE 法 1240 円、IS 法 2000 円、MLVA 法 1750 円で、キット化されている IS 法が最も高価、PFGE 法が安価だった。

以上のことから、識別能については PFGE 法と MLVA 法、迅速性は IS 法、汎用性は PFGE 法、共有性 IS 法と MLVA 法、操作性は IS 法、コストは PFGE 法が最も優れていると考えられた。

考 察

EHEC 感染の患者が広域かつ散発的に発生している場合、それが特定の食品を原因とした Diffuse outbreak であるか否かを迅速に判断することは、被害拡大防止のために非常に重要である。しかし、複数の都道府県において少数の患者が広域で散発的に発生し、かつ患者の喫食食品目が多岐にわたる場合、これらを一連の食中毒事件として確定するまでには一定の時間を要する。特に EHEC では潜伏期間が平均 4～8 日と長く、主要症状も様々であることも一因であると考えられる。このため、発生初期の段階から、関係機関の間で患者の発生状況等に関する情報を共有することが重要であるとともに、分離株の分子疫学解析による相関性の判断が必須である。

本研究において分子疫学解析法 3 法 (PFGE 法、IS 法、MLVA 法) に関して、その有用性について検討を行った。

事例 3 で供試した 15 株中、家族内感染が疑われる株については、すべての株で MLVA 法のリピート数が一致していた。家族内事例においては、感染時期もほぼ同じで、基本的に遺伝子パターンは一致しやすいと考えられる。

施設内感染が疑われる株については、Minimum Spanning Tree でリピート数の一致するクラスターを形成する株がある一方、枝分かれした小円で示される多数の変異株が集合しており、分離時期が長期に及ぶ場合には変異株が出現し、多様な遺伝子型の株が含まれる可能性が増えることが示唆された。今回示した事例 1 は、データベース検索により感染経路を早期に解明できた事例である。

MLVA 法の導入により、EHEC 事例において、精度の高い病原体解析情報を行政機関に提供できるようになった。事例 2 は分子疫学解析情報を国立感染症研究所や他の自治体と共有することで、広域的な食中毒の早期探知や食中毒調査における原因食品の推定が可能となった事例である。事例 3 では、県内で届出があった EHEC 患者由来株を MLVA 法で解析したところ、全国的に流行している MLVA 型 17m0121 は県内では確認されなかった。

MLVA 法導入後、いくつかの事例について PFGE 法と比較したところ、簡易性、迅速性、結果の共有性において MLVA 法が優れていることが判った。特に、共有性では国立感染症研究所と互換性のあるリピート数として結果が得られるため、データベースによる検索で MLVA 型が決定できる点が有用であった。

各事例から、感染症として届けられている中に広域食中毒が含まれている可能性があること、さらに感染症として届けられている中に食中毒と同一の MLVA 型を示す株があり、それが全国で確認されていることがわかった。MLVA 型が一致した場合、まったく同じ菌による感染、とてもよく似た違う菌による感染の 2 つのケースが考えられる。そのため MLVA 型が一致しても、それが共通の汚染源か否かを判断するには喫食状況や行動などの情報が必要であり、検査結果と疫学情報との総合判断が重要である。また、MLVA 法のリピート数は環境によって短期間で変異することも報告されている⁶⁾ことから、菌分離から供試までの保存時間や状況により、菌の変異が進んでいる場合、供試菌株によっては結果が異なってくる可能性

がある。これらを踏まえ、EHEC 事例が発生した際は、MLVA 法を先行し、関係各課に迅速に結果を報告するとともに PFGE を確認的に行うことで、効率的な運用が可能になると思われる。類似性の高い菌株群が存在する場合は、疫学情報と併せて解析を行い、その結果を提供できる体制づくりが望まれる。今後、MLVA 検査精度の向上を図るとともに関係各機関の情報の集約化と解析を行うシステムの構築が必要である。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、MLVA 法に関するご指導およびご助言をいただきました、国立感染症研究所細菌第一部の先生方に深謝いたします。

文 献

- 1) Izumiya H. et al. (2010) : *Microbiol Immunol*, **54**: 569-577
- 2) Tenover FC. et al. (1995) : *J Clin Microbiol*, **33(9)**: 2233-2239
- 3) Junko YABATA et al.(2013) : 山口県環境保健センター所報第 55 号 : 56-61
- 4) 濱夏樹ほか (2012) : 神戸市環境保健研究所報第 40 巻 : 37-40
- 5) 腸管出血性大腸菌の分子型別, IASR Vol. **35** p.129-130 (2014)
- 6) Michael B.C.,Diana C.,Kimberly N.,et al.:Effects of Environmental Stress on Stability of Tandem Repeats in *Escherichia coli* O157:H7. *Appl.Environ. Microbiol*, **76**: 3398-3400 (2010)

レジオネラ検査の迅速化及び感度向上に向けた 標準的検査法の開発に関する検討

微生物部 細菌班 鈴木秀紀, 久家力也, 村田学博, 水本嗣郎,
森主博貴, 長岡宏美, 神田 隆

Study on Development of Standard Inspection Method for Speedup and Improving Sensitivity of Legionella.

Hideki SUZUKI, Rikiya KUGE, Michihiro MURATA, Shirou MIZUMOTO
Hirotaka MORINUSHI, Hiromi NAGAOKA and Takashi KANDA

浴槽水のレジオネラ属菌検査手法は様々な方法があり公定法が存在していない。そのため検査機関ごとに手法が異なり検査結果に差異が発生している可能性が考えられる。そのため私たちは培地・培養日数・前処理法・濃縮法の検査について比較し、レジオネラ属菌を効率的に検出する方法を検討した。その結果、検体をろ過濃縮法で濃縮処理後、未処理・酸処理・熱処理の3つの処理を平行して行いGVPC培地に塗抹し36±1℃で8日間の培養を行う方法がレジオネラ属菌を効率的に検出する方法であることが示唆された。また検査において差異を無くすべく静岡県内の検査機関を対象にレジオネラ属菌検査法の講習会を開催し情報交換を行なった。

Key words: レジオネラ属菌, 浴槽水, 入浴施設, 検査成績
Legionella, bath water, bathing facilities, laboratory test result

はじめに

公衆浴場の営業施設は「公衆浴場における衛生等管理要領等について」(平成12年12月15日生衛発第1811号厚生省生活衛生局長通知)及び「建築物等におけるレジオネラ症防止対策について」(平成11年11月26日生衛発第1679号厚生省生活衛生局長通知)などにに基づき、浴槽水中のレジオネラ属菌の検査を主に民間の検査機関に委託して行なっているが、レジオネラ属菌陽性の報告は少ない。

しかしながら、浴槽水を行政検査として当研究所に搬入し、レジオネラ属菌検査を行なうとレジオネラ属菌が検出される事が多く見受けられる。その原因の一つとしては、レジオネラ属菌検査手順が公定法で定められておらず、多岐に渡る検査マニュアル法を基準に各検査機関が独自の手法を採用している現状が原因と考える(図1)。

そこで我々は、検査法の違いによるレジオネラ属菌の検出の差および最適な培養日数を検討するために研修を行なった。また、平成28年度および29年度に民間検査

機関の検査精度を向上させるため、レジオネラ属菌検査講習会を開催し、あわせて静岡県内のレジオネラ属菌検査機関検査機関のアンケートを行なった。

材料および方法

1. 培地の検討

GVPC寒天培地(日水製薬株式会社)、MWY寒天培地(OXOID)、WYO α 寒天培地(栄研化学)の3種類について、県内入浴施設の浴槽水5検体を用いて分離率の比較を行なった。

検体はすなわち、500mLの浴槽水をポリカーボネート製メンブランフィルター(孔径0.2 μ m・Merck)を用いて濃縮後、前処理(未処理、酸処理:0.2M HCl KCl buffer pH 2.2を等量加え室温で4分間反応、熱処理:50℃・20分)を行い100 μ L(酸処理は200 μ L)を各培地に塗布し37℃・10日間培養してレジオネラ属菌数をカウントした。

2. レジオネラ属菌の濃縮法の検討

県内入浴施設の浴槽水5検体を用いて行なった。同一検体を冷却遠心濃縮法とろ過濃縮法を行いレジオネラ属菌数の比較を行なった。

冷却遠心濃縮法は遠心ボトルに400gの浴槽水を入れ、9000rpm・30分・4℃で遠心を行い上清を除去後、滅菌

蒸留水 4 mL を加えて 100 倍濃縮とした。ろ過濃縮法は培地の検討法で示した方法を用い、37°C で 10 日間培養を行った。

3. 前処理法の検討

過去 4 年間に当研究所に搬入され、レジオネラ属菌が検出された 170 検体の検査記録から、GVPC 培地における各前処理法のレジオネラ属菌のコロニー出現数を比較検討した。

4. レジオネラ属菌培養日数の検討

過去 4 年間に当研究所に検査を行い、レジオネラ属菌が検出された 170 検体の観察記録から、GVPC 培地におけるレジオネラ属菌のコロニー出現日数から状況を調べた。

5. 県内検査機関へのアンケート

当研究所で開催したレジオネラ属菌検査講習会に参加した県内でレジオネラ属菌の検査を実施している民間検査機関及び県内政令市の地方衛生研究所 1 施設を対象に、レジオネラ属菌の検査方法についてアンケートを行なった。

結 果

1. 培地の検討

供試した全ての培地でレジオネラ属菌の発育が確認された(表1)。今回最も多くのレジオネラ属菌が検出された培地は GVPC 培地であった。

表1 レジオネラ属菌用選択培地別のレジオネラ属菌発育菌数

検体	前処理法	培地(CFU/100mL)		
		GVPC	MWY	WYO α
A	未処理	1050	1220	180
	酸処理	760	780	100
	熱処理	960	1180	440
B	未処理	60	20	20
	酸処理	50	0	20
	熱処理	50	50	20
C	未処理	10	10	10
	酸処理	0	0	0
	熱処理	0	10	0
D	未処理	600	540	580
	酸処理	770	530	640
	熱処理	720	430	670
E	未処理	0	0	240
	酸処理	780	550	550
	熱処理	590	560	680

2. レジオネラ属菌の濃縮法の検討

ろ過濃縮法及び冷却遠心濃縮法のどちらの濃縮法においてもレジオネラ属菌が検出されたが、全ての検体においてろ過濃縮法が冷却遠心濃縮法より検出菌数が上回っていた(表2)。しかし浴槽水の汚染状況により、フィルターの詰まりが発生する場合がある。そのような検体は冷却遠心濃縮法の適応となった。

3. 前処理法の検討

レジオネラ属菌が発育した検体の 55.7% は未処理・酸処理・熱処理の全てにおいて発育が確認されていた(図2)。未処理は他の処理法と比較してレジオネラ属菌の検出感度が低いことが分かった。これはレジオネラ属菌が発育する前に雑菌が増殖してしまうことが原因であると推察された。しかし 8.7% の検体は未処理のみの前処理検体で発育していた。

4. レジオネラ属菌培養日数の検討

89% の検体が培養開始 4 日目までに発育が認められた(図3)。一方、7 日目と 8 日目に発育が認められた検体が 1 検体ずつあったが、いずれも *L. dumoffii* であった。なお全ての検体で 9 日目以降は発育が確認されなかった。

5. 県内検査機関へのアンケート

項目および結果を図4に示した。施設ごとに様々な方法で検査を実施していることが明らかになった。

表2 GVPC 培地における濃縮法別のレジオネラ属菌発育菌数

検体	濃縮法(CFU/100mL)	
	ろ過濃縮	冷却遠心
A	160	110
B	80	40
C	330	55
D	130	30
E	1300	10

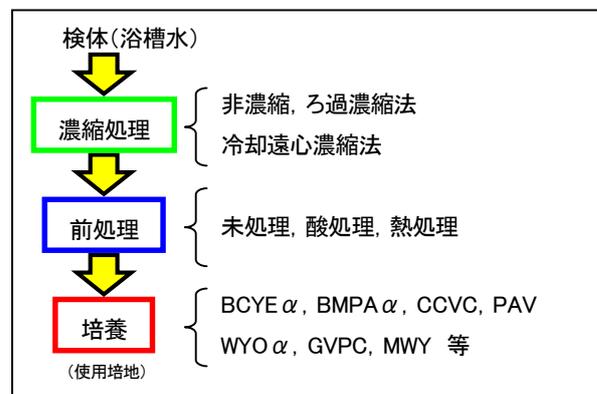


図1 レジオネラ症防止指針で示されている検査法

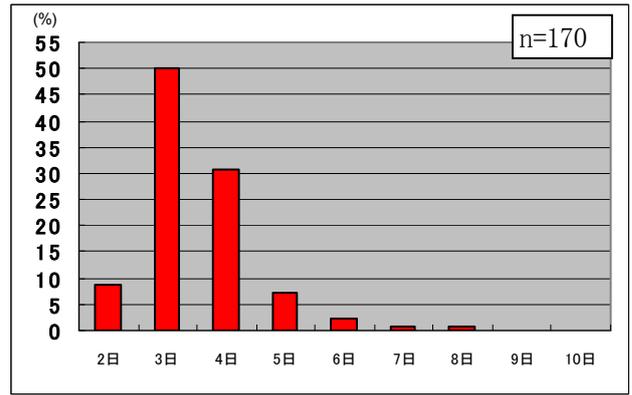
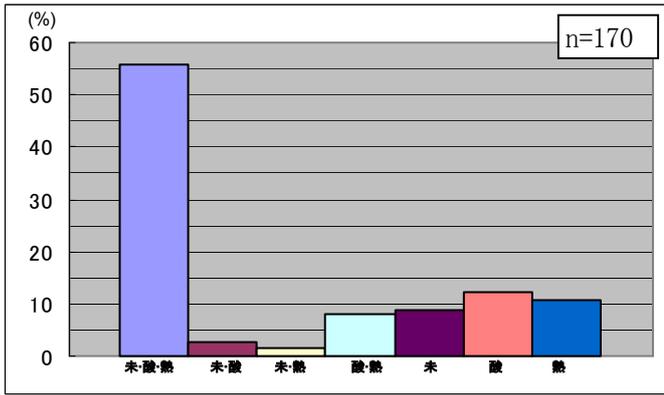
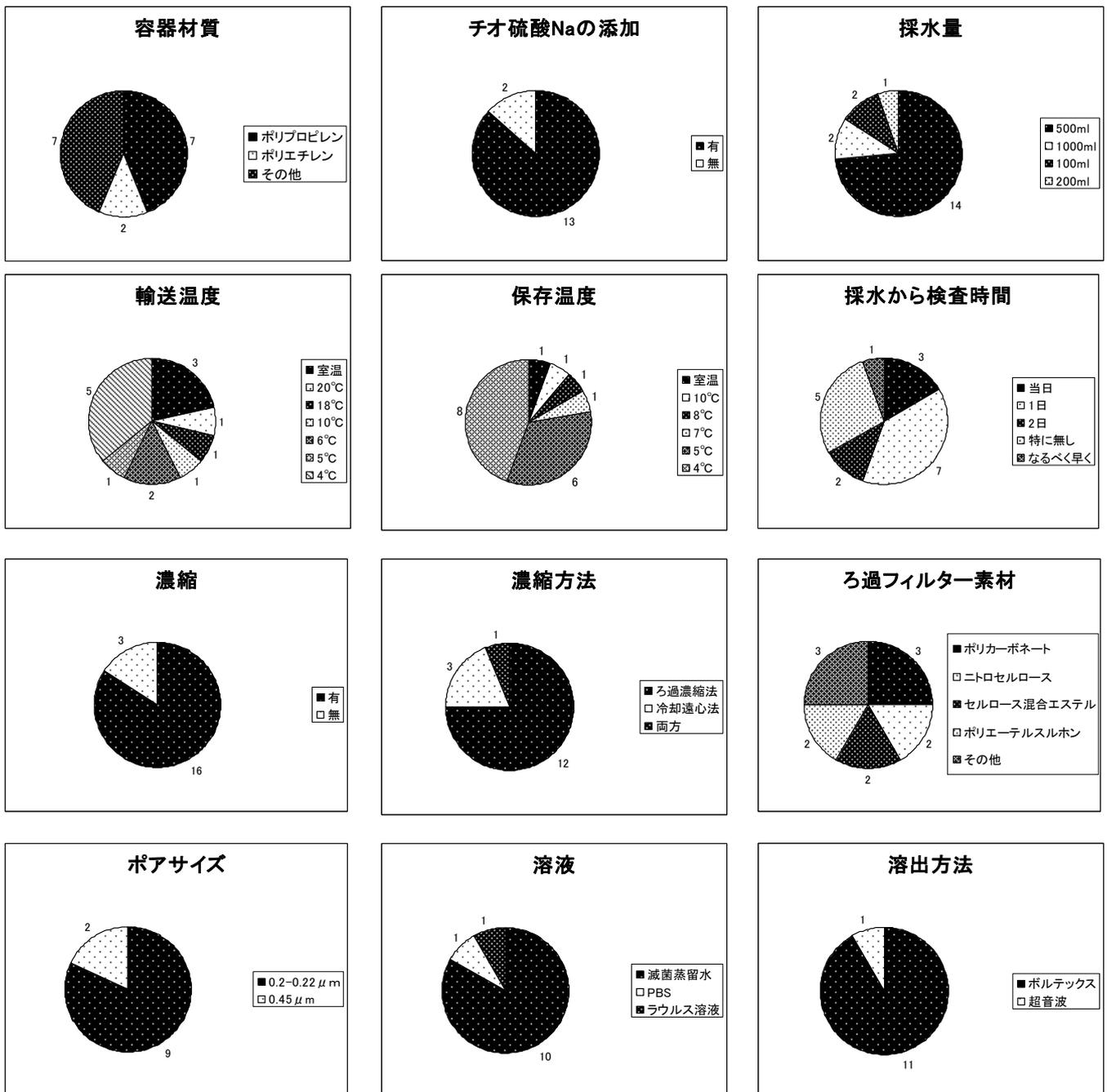


図2 GVPC 培地における前処理別のレジオネラ属菌の発育の割合

図3 GVPC 培地におけるレジオネラ属菌の出現日数



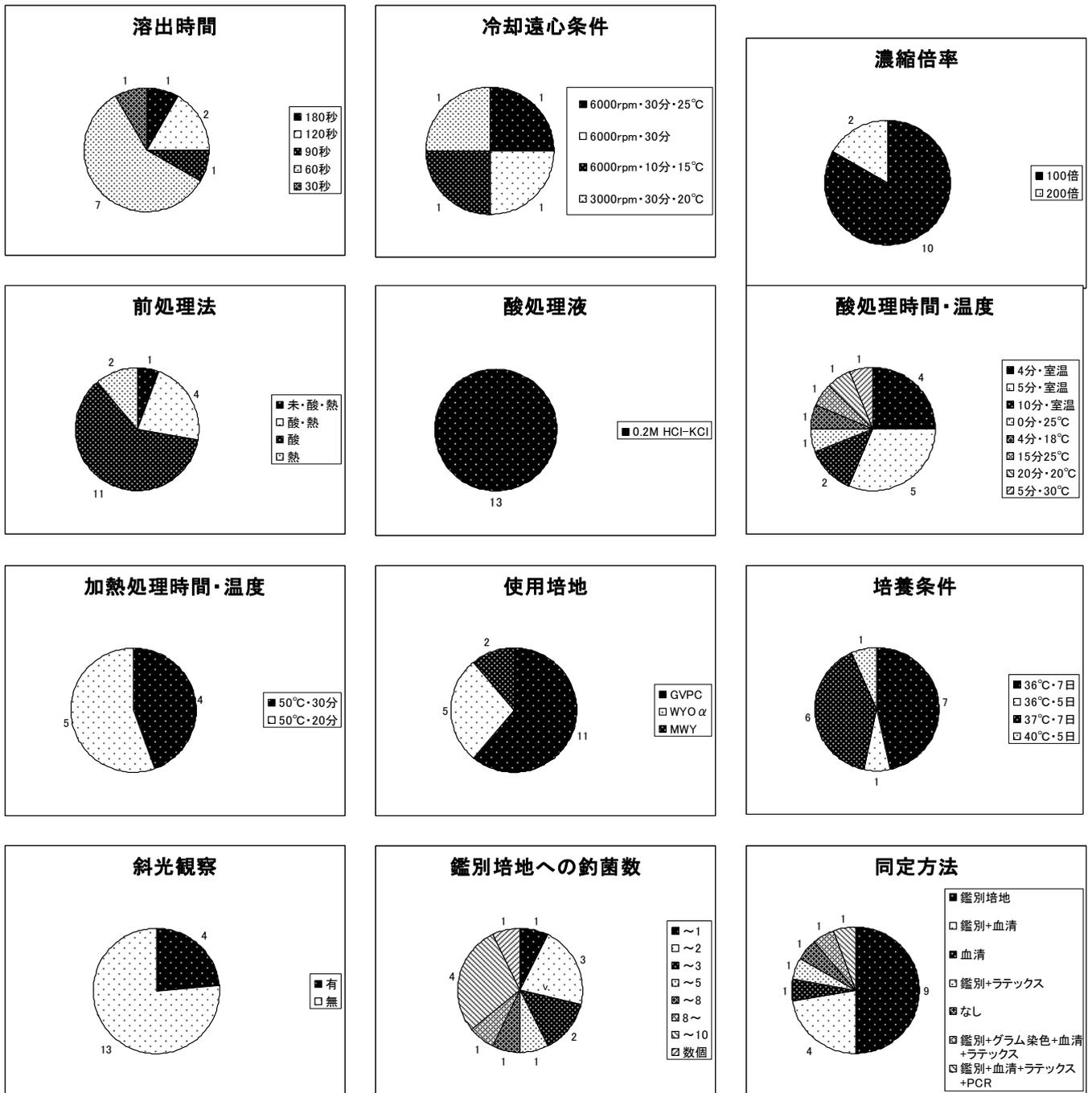


図4 アンケート集計結果

考 察

今回検討した全ての選択培地からレジオネラ属菌を検出することができたが、GVPC 培地で最も多くのレジオネラ属菌が検出することができた。しかし、ばい r 地の種類や前処理方法により検出される菌数に差が見られたことから、複数の培地を組み合わせることで検査を行うことにより未検出の検体を減らすことは可能と思われる。さらにレジオネラ属菌の検出感度を上げるためには、引き続き培地の検討が必要であると思われる。

濃縮法においてはろ過濃縮法と冷却遠心濃縮法でレジオネラ属菌検出数に大きな差が発生することが分かった。

これは、ろ過濃縮法に比べ冷却遠心濃縮法の作業工程には遠心終了後の移動や上清除去などの作業で沈渣の消失や作業における技術の差によりレジオネラ属菌の回収効率が低いことが大きく影響していると思われる。

前処理法の検討では、方法の違いにより検出される菌数に差が生じることが確認されたが、供雑物の多い少ないといった検体の状態に最適な検出法を選択することが

重要であると思われた。

以上の結果から、レジオネラ属菌の検査はろ過濃縮法を用いて濃縮処理を行った後、未処理・酸処理・熱処理を行なって GVPC 培地に塗抹し $36 \pm 1^\circ\text{C}$ で8日間の培養を行うことがレジオネラ属菌を効率的に検出する方法であると考ええる。

検査機関を対象としたアンケートの結果、レジオネラ属菌検査手順は各検査機関により大きく異なっていることが分かり、このことがレジオネラ属菌検査結果に差異を生じる原因の一つであると考えられた。

しかし、現実的には精度を上げるために検査方法を変更することで検査機器の購入が必要となるなど大きな負担が生じるとの意見もみられた。しかし、今回研修会で紹介した斜光観察法は安価な機材を準備するだけで実施可能で、同定の性状観察には肉眼や通常の鏡頭よりもレジオネラ属菌が観察しやすく、導入を検討したいとする施設が多かった。

今後も研修会等を開催し、レジオネラ属菌の検査を行っている検査機関との意見交換の場を持つことにより、レジオネラ属菌検査の精度向上を図ってゆきたい。

文 献

- 1) 社団法人日本水道協会編:上水試験方法 2001 年度版, (2001)
- 2) 国立感染症研究所:感染症検査マニュアル レジオネラ症, 平成 23 年 10 月 7 日改定
- 3) 厚生省生活衛生局企画課監修:新版レジオネラ症防止指針, 財団法人ビル管理教育センター, (1999)
- 4) 第 3 版レジオネラ防止指針, 財団法人ビル管理教育センター, (2009)
- 5) 日本薬学会編:衛生試験法・注解 2005, (2005)
- 6) 第 3 回 2017 年度レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ報告書 (2017)

指定薬物の分析法に関する研究（第2報）

医薬食品部 医薬班 金子亜由美, 岩切靖卓, 安藤隆幸, 浜尾俊,
渡辺陽子*, 大場舞, 瀧野瑠衣, 今津佳子,
高橋真

Study on Designated Substances Analysis(2nd Report)

Ayumi KANEKO, Yasutaka IWAKIRI, Takayuki ANDO,
Shun HAMAO, Yoko WATANABE, Mai OHBA,
Rui TAKINO, Yoshiko IMAZU and Makoto TAKAHASHI

包括指定のカチノン系薬物の識別のため、15種類の包括指定のカチノン系薬物について核磁気共鳴（以下、NMR）スペクトルを測定し、識別に特徴的なシグナルを確認した。測定モードとして、一次元および二次元の¹H NMRまで測定が必要であった。乾燥植物の抽出物にカチノン系薬物を添加した試料の前処理には、薄層クロマトグラフィーによる分画・精製が有効であった。カチノン系薬物を添加した模擬試料について抽出および分画・精製を行い、LC/MS、GC/MSおよびNMRによるカチノン系薬物の識別が可能であることを確認した。

Key words: 危険ドラッグ, カチノン系薬物, 薄層クロマトグラフィー, 核磁気共鳴法

designer drug, synthetic cathinones, thin-layer chromatography, nuclear magnetic resonance spectroscopy

はじめに

危険ドラッグには、規制薬物等が含まれることがあり、乱用防止対策が進められている。静岡県では「静岡県薬物の濫用の防止に関する条例」を制定し、危険ドラッグ等による健康被害を防ぐ取組が行われ、当研究所は危険ドラッグの検査を実施している。

通知法¹⁾による検査で、LC/MS、GC/MSによる測定結果が厚生労働省の示す測定結果等と一致した場合には、標準品を使用した確定検査を行う。しかし、包括指定薬物では分析結果が示されたものが少ないうえ、構造異性体が多く、疑わしい化合物すべてを標準品として入手することは難しい。平成26年度に買い上げた危険ドラッグの検査で、カチノン系の化合物が検出された事例では、数十種類の構造異性体の可能性があった。このときはNMRによる分析により構造を識別し、化合物を合成して比較することで、速やかに検査結果を報告することができた²⁾。

そこで、検体中の包括指定薬物の疑いのある化合物の識別法として、NMR法を検査に取り入れるため、包括指定薬物で数の多いカチノン系指定薬物を対象に、前処理および測定方法について検討した。

方法

1 試薬等

1) 指定薬物合成

アルキルフェノン、アミン類（東京化成工業製）および特級臭素（和光純薬工業製）を使用した。

2) 模擬試料等調製用乾燥植物片

乾燥植物片の模擬試料等調製には、次の①から④の市販の茶を使用した。

- ① ペパーミント
- ② カモミール
- ③ ジンジャーおよびレモングラスの混合物
- ④ 緑茶

3) 前処理

NMR測定用の検体の前処理には、メタノール、酢酸エチル、ヘキサン、アセトン、トリエチルアミン（いずれも特級、和光純薬工業製）を使用した。分取用薄層板は、PLC Silicagel 60 254（メルク製）を使用した。LC/MSおよびGC/MS用の検体の前処理は、LC/MS用メタノール

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)

* : 静岡県富士健康福祉センター

を使用した。

4) LC/MS, NMR 測定

LC/MS 測定用には、LC/MS 用メタノール、LC/MS 用ギ酸および特級ギ酸アンモニウム（いずれも和光純薬工業製）を使用した。NMR 測定用溶媒は、重クロロホルム（0.03%TMS 含有）（和光純薬工業製）、重メタノール（0.03%TMS 含有）、重ジメチルスルホキシド（0.03%TMS 含有）（関東化学製）を使用した。

2 NMR 測定の検討

既報^{2), 3)}に従い、カチノン系指定薬物（図1, 表1）を合成した。はじめにR4の炭素数を変えて測定を行い、R4のシグナルの違いを確認した（検討1）。次に、窒素の置換基（R2, R3）6種類について測定を行った（検討2）。また、ベンゼン環の置換基として、アルキル基が入った場合（R1=CH₃またはC₂H₅）には、このシグナルと窒素に結合するメチル基やエチル基のシグナルとが重なる可能性があることから、これらの化合物についてもNMR スペクトルの比較を行った（検討3）。

3 前処理の検討

NMR 測定に供する検体は、夾雑物が多いと構造の識別が困難になる。乾燥植物片の検体を想定し、市販のハーブティー・緑茶のメタノール抽出物または水/メタノール（1：3）混液抽出物にカチノン系指定薬物の溶液を添加し、分取用薄層クロマトグラフィー（以下、PLC）による分取を検討した。

添加した指定薬物は、化合物7とし、展開溶媒は、ヘキサン/アセトン/トリエチルアミン（30：15：1）混液とした。展開後のプレートを254nmおよび365nmの紫外線下で、UV吸収のあるスポットおよび蛍光を示すスポットを確認した。強いUV吸収のあるスポットが見られた部分を、酢酸エチルで抽出した。また、強いUV吸収を示すスポットが蛍光を示すスポットと重なる場合は、展開溶媒をヘキサン/アセトン/トリエチルアミン（50：5：1）混液として再度分取を行った。

4 NMR 測定

1) NMR 測定試料の調製

カチノン系化合物約5mgを重クロロホルム約1mLに溶解し、NMR 測定の試料とした。

2) NMR 測定の検討

装置 JEOL AL400

分解能 ¹H 400MHz

測定モード NON COSY

5 検査用マニュアルの作成

上記の検討結果をもとに、危険ドラッグからの抽出からNMR 測定までの操作マニュアルを作成した。

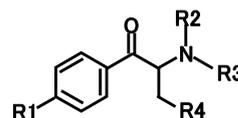


図1 カチノン系指定薬物の基本構造

表1 合成したカチノン系指定薬物

	化合物	R1	R2	R3	R4
検討1	1	H	CH ₃	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅
	2	H	CH ₃	C ₂ H ₅	C ₃ H ₇
	3	H	CH ₃	C ₂ H ₅	C ₄ H ₉
	4	H	CH ₃	C ₂ H ₅	C ₅ H ₁₁
	5	H	CH ₃	C ₂ H ₅	C ₆ H ₁₃
	6	H	CH ₃	C ₂ H ₅	C ₇ H ₁₅
検討2	7	H	H	CH ₃	C ₂ H ₅
	8	H	H	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅
	9	H	CH ₃	CH ₃	C ₂ H ₅
	1	H	CH ₃	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅
	10	H	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅
11	H		C ₄ H ₈	C ₂ H ₅	
検討3	12	H	CH ₃	C ₂ H ₅	H
	13	CH ₃	CH ₃	C ₂ H ₅	H
	14	C ₂ H ₅	CH ₃	C ₂ H ₅	H
模擬試料用	10	H	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅
	15	H	H	C ₂ H ₅	C ₄ H ₉

6 検査用マニュアルの検証

1) 模擬試料の調製

分子量の同じ2種類の化合物（化合物10, 15の塩酸塩）について、一方の指定薬物（化合物10）40mgを水/エタノール(1:1)混液に溶かし2mLとした（模擬試料1）。もう一方の指定薬物（化合物15）60mgにペパーミントを加えて全量を2gとした（模擬試料2）。

2) LC/MS および GC/MS 用試料溶液の調製

模擬試料1は50μLを取り溶媒留去後、LC/MS用メタノール2mLを加えて溶解し、0.2μmメンブランフィルターでろ過した。模擬試料2は、フィンガーマッシャーで均質化したものから、約100mgを取り、LC/MS用メタノール2mLで抽出し、0.2μmメンブランフィルターでろ過した。これらの溶液をLC/MS用メタノールで適宜希釈してLC/MSおよびGC/MS用の試料とした。

3) NMR 用試料溶液の調製

模擬試料1は1mLを取り、溶媒留去、乾燥させた。模擬試料2は1gを取り、特級メタノール10mLを加え、超音波抽出後、0.45μmメンブランフィルターでろ過した。PLCによる分取後、塩酸塩とし、溶媒留去、乾燥させた。

各試料は重メタノール、または重DMSO約0.75mLに溶解して、NMR測定用試料とした。

4) LC/MS, GC/MS および NMR 測定

・LC/MS 測定

装置 Waters Zevo TQ-S micro (Waters)

分析条件 国通知分析法¹⁾に準ずる

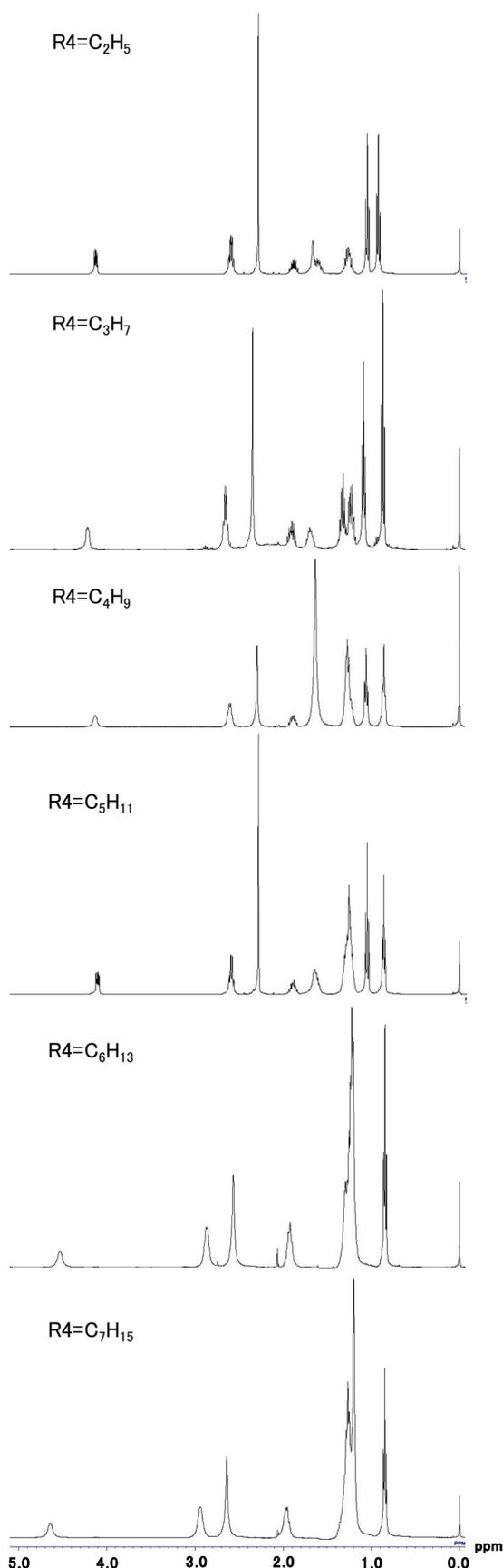


図2 アルキル基 (R4) による NMR スペクトルの比較
上から化合物 1~6

- GC/MS 測定
装置 VARIAN240-NIS
分析条件 国通知分析法¹⁾に準ずる

結果および考察

1 NMR 測定の検討

1) 検討1

重クロロホルムを測定溶媒として得られた遊離体のスペクトル (図2) について、アルキル基の炭素数による違いを比較した。窒素の根元の炭素に結合するプロトン (4.0~4.5ppm) とその隣の炭素に結合しているプロトン (2.0ppm 付近) と末端のメチル基のプロトン (0.9ppm 付近) の化学シフトは、検討対象としたカチノンで大きな差はなかった。LC/MS, GC/MS 等の結果から包括指定のカチノンに類似の成分であることが疑われる場合には、指標となるシグナルと考えられる。また、窒素の根元の炭素に結合するプロトンの積分比を1とすることで、他のプロトンの数を推定できる。アルキル鎖の枝分かれがあった場合は、末端のメチル基由来のシグナルが増加する事から指定薬物か否かは識別できると考えられる。その他の炭素に結合したプロトンのシグナルは炭素鎖が長くなると 1.5ppm 付近で重なっていることがわかった。

2) 検討2

窒素の置換基は、メチル基は 2.3ppm 付近、エチル基は 1.1ppm 付近および 2.6ppm 付近に、その数に応じたシグナルの強度で確認できた。ピロリジル基 (1.8ppm 付近および 2.7ppm 付近) のシグナルは、R4 のアルキル基のシグナルと一部重なるため、二次元のプロトン NMR まで測定する必要があった (図3)。

3) 検討3

ベンゼン環の置換基については、化合物 13 の場合では、メチル基のピークは、窒素に結合するアルキル基のピークと近接したものの、重なることはなかった。一方化合物 14 の場合は、R1 および R3 のエチル基の末端のプロトンのピークが重なったため、¹HNMR のみではプロトンの完全な帰属は出来なかった (図4)。しかし、LC/MS, GC/MS からカルボニル基を挟んでアミノ基側の構造がある程度絞り込めていることを前提とすると、構造の推定は可能と考えられた。

2 前処理の検討

乾燥植物片の抽出については、PLC での分画 (UV または蛍光の観察) では水/メタノール混液の抽出物がメタノール抽出物よりも夾雑物が少ない傾向が見られた。また、夾雑物が多い場合でも2~3回の分取を繰り返すことで、夾雑物の影響の少ない NMR スペクトルを得ることができた。この結果から、乾燥植物片等の危険ドラッグ

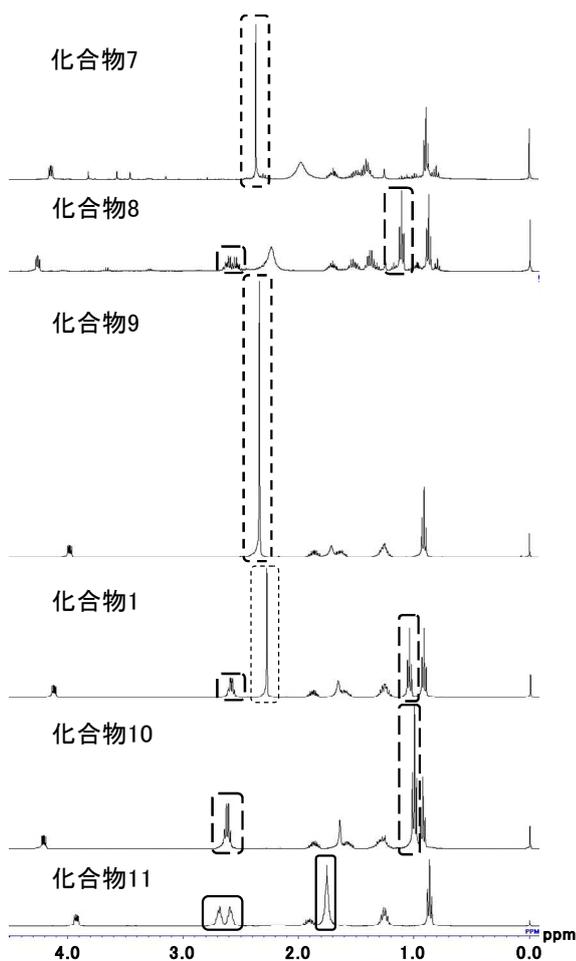


図3 窒素の置換基 (R2, 3) による NMR スペクトル比較
(枠で囲んだシグナルが窒素の置換基)

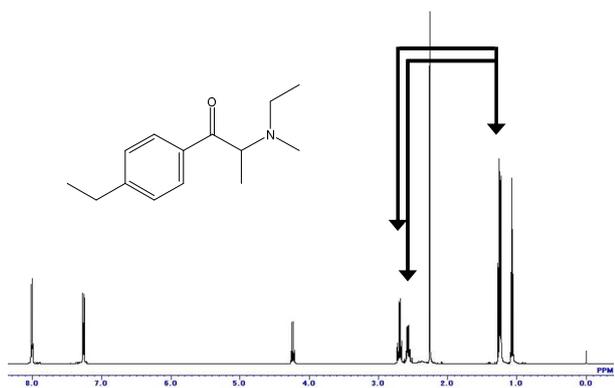


図4 化合物 14 の NMR スペクトル
矢印のところでエチル基のシグナルが重なっている

グからのカチノン系化合物の抽出から NMR 測定までの操作マニュアル案 (図5) を作成した。

3 操作フローの検証

1) LC/MS および GC/MS 測定

高極性の指定薬物に対応した条件での LC/MS による測定から、模擬試料 1 からは保持時間 23.7 分に、模擬試

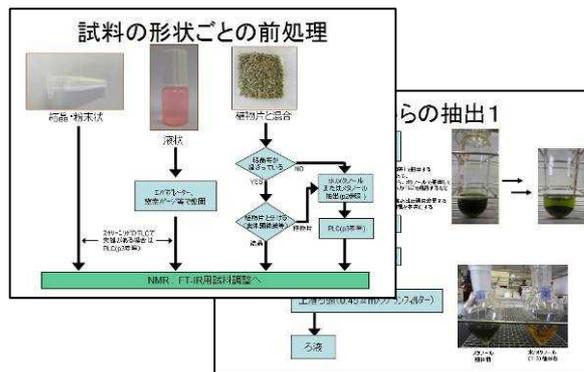


図5 操作マニュアル

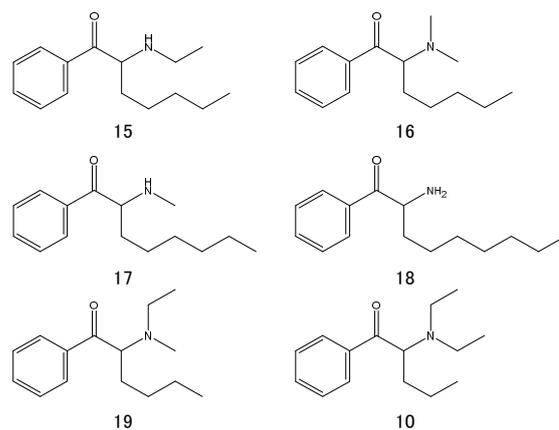


図6 模擬試料の LC/MS および GC/MS 測定から予想される包括指定のカチノン系化合物 (C₁₅H₂₃NO, Mw 233)

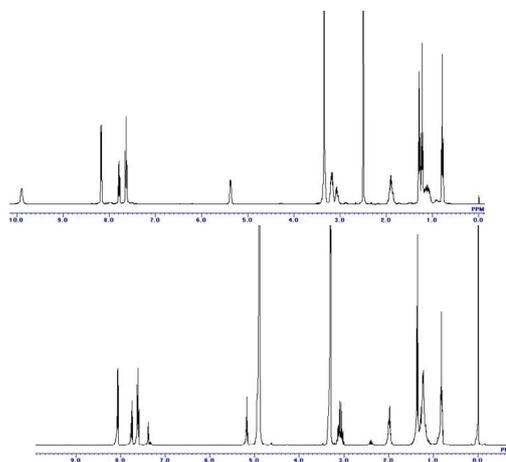


図7 模擬試料から抽出したカチノン系化合物の NMR スペクトル
上: 模擬試料 1 下: 模擬試料 2

料 2 からは保持時間 51.0 分に m/z 234 のフラグメントを持つピークが得られた。また、GC/MS の測定においても、高極性の指定薬物に対応した条件で、模擬試料 1 からは保持時間 18.9 分に、模擬試料 2 からは保持時間 20.8 分に m/z128 のフラグメントイオンをもつピークが得られた。この結果について、試買した危険ドラッグの検査と

同様に違法ドラッグ検索システム⁴⁾での検索，包括指定薬物の分子量との比較から，**図6**に示す6種類の包括指定薬物のいずれかであることが疑われた。

2) NMR 用試料の調製および測定

模擬試料1, 2 から得られた NMR スペクトルを**図7**に示す。

① 模擬試料1

模擬試料1では，ジエチルアミノ基が確認できた。また，R4は-C₂H₅であり，末端のメチル基のプロトンが3Hであることから，枝分かれがないメチル基であり，化合物10と確認できた。

② 模擬試料2

模擬試料2では，窒素の置換基の一つはエチル基であることを確認できた。R4は-C₄H₉であり，化合物15以外の化合物の可能性は否定できた。実際の検査では疑わしい指定薬物を標準品として購入または合成して検体と比較を行うこととなる。

まとめ

包括指定のカチノン類について，合成品の NMR 測定および植物の乾燥物の抽出方法の検討から，危険ドラッグ中のカチノン類の NMR 測定のためのマニュアルを作成した。乾燥植物片に指定薬物を添加した試料を用いて，包括指定薬物までの絞り込みができ，本マニュアルが有効であることを確認した。危険ドラッグの国内での流通は減少しているが，販売目的で指定薬物を所持し検挙される例はあるため，継続的な検査が必要である。危険ドラッグの検査に NMR 測定を利用することで，検査の信頼性を高め，迅速に検査を進めることで県民の健康被害防止に役立てたい。

文 献

- 1) 厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課長通知：指定薬物の測定結果等について，平成22年9月14日，薬食監麻発0914第5号
- 2) 岩切靖卓他：静岡県環境衛生科学研究所報報告，58 55-60(2015)
- 3) 松田駿太郎他：EI マススペクトル解析によるカチノン類の構造推定，法科学技術，19(2) 77-89(2014)
- 4) 国立医薬品食品衛生研究所 違法ドラッグデータ閲覧システム，<http://npsdb.nihs.go.jp/Search/>

超高速液体クロマトグラフを用いた 化粧品中防腐剤のスクリーニング法の検討

医薬食品部 医薬班 岩切靖卓, 浜尾 俊, 瀧野瑠衣, 金子亜由美,
今津佳子, 高橋 真

Development of the Screening Method for Preservatives in Cosmetics
by Ultra High Performance Liquid Chromatography

Yasutaka IWAKIRI, Shun HAMAO, Rui TAKINO,
Ayumi KANEKO, Yoshiko IMAZU and Makoto TAKAHASHI

近年、美意識の高まりにより、化粧品の市場規模が拡大している。本県における平成 29 年の化粧品生産金額は 1,689 億円と全国第 3 位であり、化粧品産業は本県の重要な産業の一つとなっている。

その一方で、化粧品中に配合可能な成分は化粧品基準で規制されており、多岐にわたる。当研究所ではこれら成分についてのスクリーニング法が整備されておらず、必要に応じて個々の成分について対応せざるをえない状況であった。そこで、超高速液体クロマトグラフィーを用いた、化粧品中防腐剤成分の一斉スクリーニング法について検討した。

開発した方法により、市販製品の試験を実施したところ、表示にない成分が検出された。

Key words: 化粧品中防腐剤, スクリーニング, バリデーション, 超高速液体クロマトグラフィー
Preservatives, Cosmetics, Screening, Validation, UHPLC

はじめに

静岡県では化粧品産業が盛んで、その生産金額は常に全国上位を占めている。直近の経済産業省による平成 29 年分の発表では全国 3 位¹⁾であり、医薬品等産業とならんで本県における重要な産業の 1 つである。

化粧品は開封後も常温で保管されることが多く、長期にわたって使用されることもあり、微生物等が増殖しやすい環境下にある。そのため、微生物による製品の劣化を抑えるため 4-ヒドロキシ安息香酸エステル類（パラベン類）等、様々な防腐剤成分が添加されることがある。また、最近では肌への影響が小さいと称し、パラベンフリーを謳いその他の防腐剤や天然原材料等を化粧品中に添加する例もみられる。化粧品中へ配合可能な防腐剤成分は化粧品基準により、配合量の上限を規定したポジティブリストで規制²⁾されており、多岐にわたる（表 1）。

本県では県内で製造される化粧品類の承認規格に係る試験検査^{3,4)}を実施してきたが、化粧品基準で規制される成分のスクリーニング法は整備されていない。

そこで、超高速液体クロマトグラフ(UHPLC)を用いた化粧品中防腐剤成分のスクリーニング法について検討し、知見が得られたので報告する。

表 1 規制対象の主な防腐剤およびその配合上限量

成分名	100 g中の最大配合量
サリチル酸フェニル	1.0 g
安息香酸	0.2 g
安息香酸塩類	合計量として1.0 g
サリチル酸	0.2 g
サリチル酸塩類	合計量として1.0 g
ソルビン酸及び塩類	合計量として0.5 g
デヒドロ酢酸及び塩類	合計量として0.5 g
トリクロサン	0.10 g
パラベン及びそのナトリウム塩	合計量として1.0 g
フェノキシエタノール	1.0 g
フェノール	0.10 g
レゾルシン	0.10 g
イソプロピルメチルフェノール	0.10 g
クレゾール	0.010 g
クロルキシレノール	0.20 g
4-クロロフェノール	0.25 g

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)

方法

1 標準品および試薬

安息香酸, サリチル酸, ソルビン酸, 4-ヒドロキシ安息香酸, フェノール, レゾルシン, 4-クレゾール, オルトフェニルフェノール, クロルキシレノール, イソプロピルメチルフェノール, メチルパラベン, エチルパラベン, ブチルパラベン, ペンチルパラベン, フェニルパラベン, サリチル酸フェニルおよびデヒドロ酢酸は和光純薬工業製特級, 4-クロロフェノール, イソプロピルパラベン, 2-ブチルパラベン, イソブチルパラベン, ベンジルパラベン, フェノキシエタノールおよびトリクロロカルバニリドは東京化成製特級, チモールおよびパラオキシ安息香酸プロピルは関東化学製特級, トリクロサンはシグマアルドリッチ社製, クロルフェネシンはコンビプロックス社製を標準品として用いた. アセトニトリルおよびメタノールは和光純薬工業製 LC/MS 用, ギ酸およびギ酸アンモニウムは和光純薬工業製特級を用いた.

2 標準溶液等の調製

標準品各々約 0.1g を正確にはかり, メタノールに溶かして正確に 10mL として標準原液 (10mg/mL) とした.

標準原液をメタノールで適宜希釈し, 標準溶液とした.

3 試料

県内の販売店で購入した, クリーム, 化粧水, ファンデーション, ローション, ゲル(部外品)を試料とした.

4 試料溶液の調製

試料約 0.2g を精密に量り, メタノールで懸濁し, 超音波下で 5 分間抽出した後, 正確に 20mL とした. この液をメンブランフィルター(孔径 0.2 μ m)でろ過し, 試料溶液とした.

5 添加回収溶液の調製

試料約 0.2g を精密に量り, 試料中濃度が 10mg/g(1%), となるように試料に標準溶液を添加し, メタノールで懸濁し, 超音波下で 5 分間抽出した後, 正確に 20mL とした. この液をメンブランフィルター(孔径 0.2 μ m)でろ過し, 添加回収溶液とした.

6 UHPLC 装置および分析条件

装置: LC-20AD_{XR} Nexera (島津製作所)

カラム: Waters CSH C18 2.1mm \times 150mm 1.7 μ m
検出器: 紫外可視吸光度計(検出波長: 280nm)

多波長検出器 (測定範囲: 190nm \sim 600nm)

移動相: A: 10mM ギ酸アンモニウム(pH4.0) *

B: アセトニトリル

C: メタノール(10%で一定)

グラジエント条件 (アセトニトリル%)

0min (10%) \rightarrow 25min-35min (30%) \rightarrow 45 min (60%)

\rightarrow 50min (60%)

流速: 0.15mL/min

カラム温度: 50 $^{\circ}$ C

注入量: 2 μ L

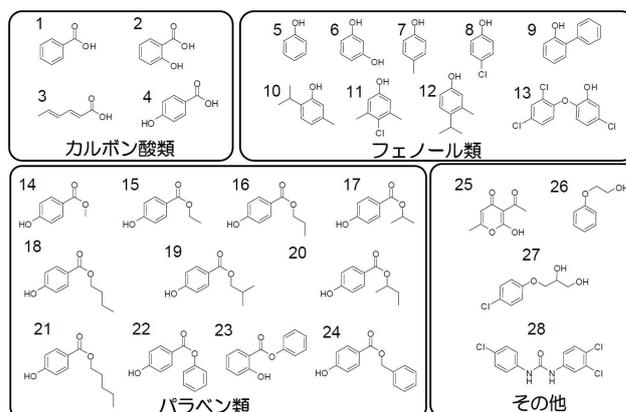
*10mM ギ酸アンモニウム (pH4.0)

ギ酸アンモニウム 0.63 g を水に溶かして 1000mL とし, この液をギ酸で pH 4.0 に調整する.

結果および考察

1 測定対象成分の検討

化粧品基準に示された防腐剤等成分およびその分解物のうち, HPLC による分析が可能と考えられる 28 成分(図 1)について検討を行った.



No	成分名	No	成分名
1	安息香酸	15	エチルパラベン
2	サリチル酸	16	プロピルパラベン
3	ソルビン酸	17	イソプロピルパラベン
4	4-ヒドロキシ安息香酸	18	ブチルパラベン
5	フェノール	19	イソブチルパラベン
6	レゾルシン	20	2-ブチルパラベン
7	4-クレゾール	21	ベンチルパラベン
8	4-クロロフェノール	22	フェニルパラベン
9	フェニルパラベン	23	サリチル酸フェニル
10	チモール	24	ベンジルパラベン
11	クロルキシレノール	25	デヒドロ酢酸
12	イソプロピルメチルフェノール	26	フェノキシエタノール
13	トリクロサン	27	クロルフェネシン
14	メチルパラベン	28	トリクロロカルバニリド

図 1 分析を検討した成分

2 UHPLC 測定条件の検討

図 1 の成分について検討したところ, トリクロロカルバニリドは溶解性の問題から標準溶液の調製が他成分と同一の条件では困難であった. また, クロルキシレノール, 2-ブチルパラベン(フェニルパラベンと同一保持時間)およびフェニルパラベン(イソブチルメチルフェノールと同一保持時間)は十分な分離が困難であった. これらを除く 24 成分について様々な分析条件を検討したところ, 同時に分析することが可能であった(図 2). なお, 分離困難であった成分については UV スペクトルによりそれぞれ判別は容易であった.

5) 注入液量および試料調製溶媒

クリーム等の油脂成分が多い化粧品を完全に分散させるため、試料調製溶媒としてテトラヒドロフラン等の低極性溶媒を使用したところピーク形状が崩れ、適切な測定は困難であった(図5)。

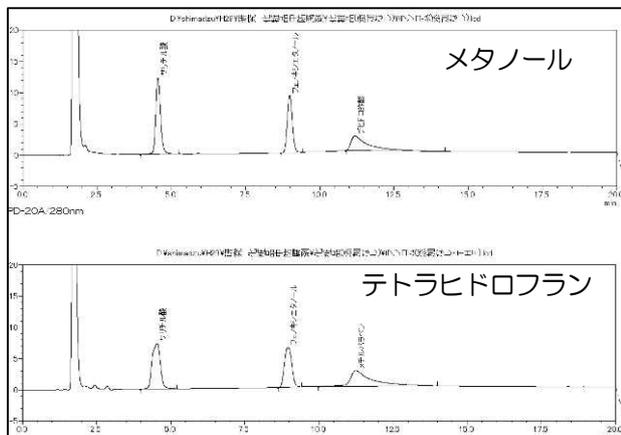


図5 試料調製溶媒の検討

また、注入量を増加させたところ注入量5μLでは良好なピーク形状を得ることが困難であった。そこで、試料調製溶媒はメタノール、注入量は2μLとした(図6)。

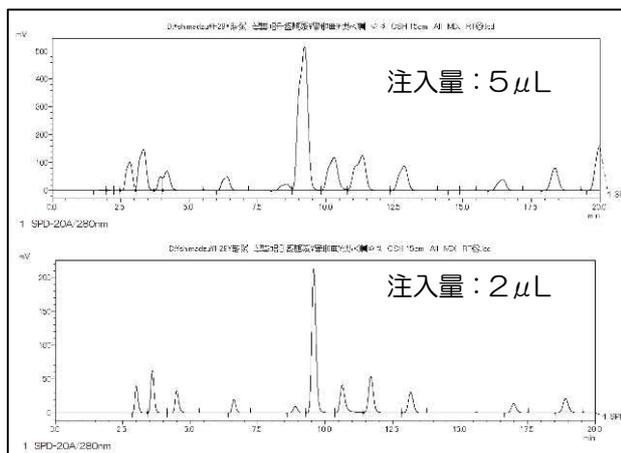


図6 注入量の検討

3 分析法バリデーション

定量試験におけるバリデーション項目である、特異性・精度・定量下限・真度・直線性を確認し、試験法の妥当性を検証した。

決定した分析条件により分析法バリデーションを実施し、良好な結果を得た。

1) 特異性

測定対象とした24成分全てについて各単独標準溶液と添加回収試料で保持時間およびUVスペクトルの一致するピークが確認され、ブランク試料ではピークが検出されなかった(図7)。

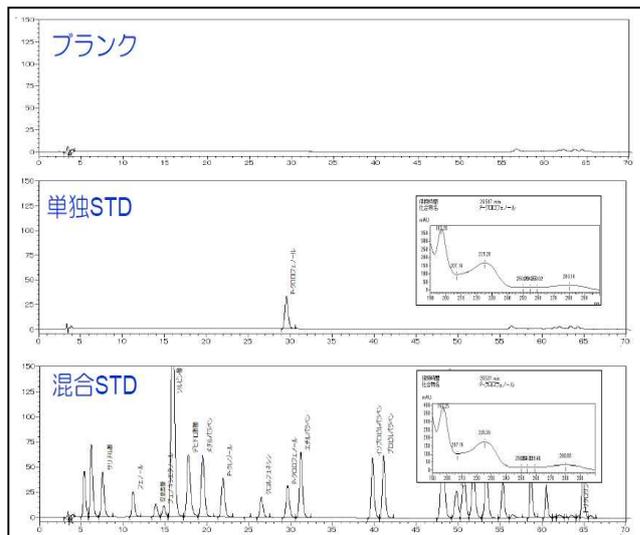


図7 特異性の各クロマトグラム(4-クロロフェノール)

2) 直線性および範囲

200 μg/mL, 100 μg/mL, 50 μg/mL, 10 μg/mL, 5 μg/mL, 1 μg/mL, 0.5 μg/mL, 0.1 μg/mLの8点について標準溶液を調製し、前記の条件で測定し、各濃度とピーク面積値の相関係数を確認した。

一部成分では0.5 μg/mL以下の濃度でピークを確認できなかった。一斉分析法であり解析等が煩雑とならないよう全ての成分で検量線の範囲を合わせることで、200~1 μg/mLを検量線の範囲とした。また、本範囲における各成分のピーク面積と濃度の相関係数は表2のとおりであり、全ての分析成分について0.999以上であり、良好な結果が得られた。

表2 各物質の濃度とピーク面積の相関係数

No. 成分名	相関係数	回帰式
1 安息香酸	0.999990	y = 3536 X - 1682
2 サリチル酸	0.999962	y = 10128 X - 9122
3 ソルビン酸	0.999949	y = 81235 X + 38878
4 4-ヒドロキシ安息香酸	0.999980	y = 17352 X + 3348
5 フェノール	0.999916	y = 6576 X + 1847
6 レゾルシン	0.999997	y = 10246 X - 1960
7 4-クレゾール	0.999978	y = 11817 X - 761
8 4-クロロフェノール	0.999992	y = 8764 X - 3517
10 チモール	0.999990	y = 9972 X - 6238
12 イソプロピルメチルフェノール	0.999977	y = 8725 X - 6048
13 トリクロサン	0.999934	y = 13089 X - 9190
14 メチルパラベン	0.999994	y = 19717 X + 566
15 エチルパラベン	0.999988	y = 18295 X + 1169
16 プロピルパラベン	0.999993	y = 16713 X + 427
17 イソプロピルパラベン	0.999991	y = 16044 X + 126
18 ブチルパラベン	0.999996	y = 15843 X - 3375
19 イソブチルパラベン	0.999996	y = 16391 X - 4635
21 ベンチルパラベン	0.999972	y = 12539 X + 1869
22 フェニルパラベン	0.999994	y = 37627 X - 2771
23 サリチル酸フェニル	0.999961	y = 4737 X - 1033
24 ベンジルパラベン	0.999992	y = 16990 X - 5170
25 デヒドロ酢酸	0.999771	y = 18582 X - 46087
26 フェノキシエタノール	0.999983	y = 3318 X - 1918
27 クロルフェネシン	0.999987	y = 5223 X - 2646

3) 定量(検出)下限

開発した試験法はあくまでスクリーニング法であるため、できる限り検出限界等が煩雑とならないことが求められる。また、化粧品中には様々な成分が含まれているため、誤同定を避け試験の信頼性を担保するため、全成分で良好なUVスペクトルを確認できた5μg/mL(試料中濃度0.05g/100g)を定量下限とした。しかし、今回分析対象とした成分の配合上限量は表1のとおりであり、前述した試料調製方法では試料溶液中で100μg/mL(パラベン類)~1μg/mL(クレゾール)にあたる。クレゾールについては5μg/mLを設定した場合検出限界が配合上限の5倍量となるが、実際の分析データでは0.5μg/mL標準溶液においてもピークは検出されており、クレゾールのみ検出下限を0.5μg/mL(試料中濃度0.005g/100g)と便宜上設定することとした。

4) 精度

100μg/mL標準溶液につき6回繰り返し測定を行い、各成分の保持時間およびピーク面積の再現性を確認した(表3)。

結果全ての成分で相対標準偏差(%)は十分に小さく、スクリーニング法としては十分な精度を得た。

表3 各成分の相対標準偏差(%)

No.	成分名	保持時間		ピーク面積	
		平均(分)	RSD(%)	平均	RSD(%)
1	安息香酸	13.4	0.25	359485	1.25
2	サリチル酸	7.0	0.31	1014451	1.23
3	ソルビン酸	15.4	0.28	8433719	1.24
4	p-ヒドロキシ安息香酸	5.7	0.29	1798356	1.40
5	フェノール	10.7	0.22	669321	0.90
6	レゾルシン	4.8	0.22	1050105	1.38
7	4-クレゾール	21.4	0.21	1203072	1.00
8	4-クロロフェノール	29.2	0.19	892385	1.26
10	チモール	54.9	0.12	1012579	1.30
12	イソプロピルメチルフェノール	49.4	0.19	890935	1.53
13	トリクロサン	64.3	0.06	1314370	0.98
14	メチルパラベン	19.0	0.28	2026092	1.34
15	エチルパラベン	30.7	0.20	1894658	1.42
16	プロピルパラベン	40.6	0.16	1729808	1.33
17	イソプロピルパラベン	39.3	0.16	1658942	1.35
18	ブチルパラベン	51.4	0.20	1628256	1.41
19	イソブチルパラベン	50.3	0.20	1683728	1.46
21	ペンチルパラベン	58.2	0.07	1291346	1.56
22	フェニルパラベン	47.7	0.20	3874415	1.27
23	サリチル酸フェニル	60.0	0.06	477418	1.40
24	ベンジルパラベン	53.0	0.18	1732048	1.67
25	デヒドロ酢酸	17.3	0.27	1795890	1.03
26	フェノキシエタノール	14.4	0.28	335790	1.36
27	クロルフェネシン	26.0	0.22	531992	1.25

5) 真度(添加回収率)

試料中濃度が10mg/g(1%)となるように試料に標準溶液を添加し、添加回収率を確認した。各物質・各試料において良好な添加回収率を示した(表4)。

しかし、ゲルにおいてカルボン酸類のピーク形状の若干の悪化と添加回収率の低下が見られた。これは、今回の分析法がMSへの展開を視野にいれた緩衝液の塩濃度が低いものであったため、試料中成分が緩衝能に

影響を与えたためであると考えられる。今回の結果はスクリーニング法としては十分なものと考えられるが、化粧品によっては分析困難な場合も想定されるため、今後、他の化粧品(剤形)での検討、緩衝液の検討等を実施することにより、より頑健な精度の高い手法を開発できるものとする。

表4 各成分の添加回収率(%)

No.	成分名	回収率(%)				
		クリーム	化粧水	ファンデーション	ローション	ゲル
1	安息香酸	96.0	95.8	100.6	100.4	96.3
2	サリチル酸	95.6	95.4	100.1	99.9	84.5
3	ソルビン酸	96.6	96.5	101.1	101.0	97.2
4	4-ヒドロキシ安息香酸	97.0	95.4	100.5	99.6	96.9
5	フェノール	98.7	98.3	101.1	102.6	99.6
6	レゾルシン	95.8	95.6	100.8	99.7	98.4
7	4-クレゾール	97.6	97.5	101.8	102.1	99.2
8	4-クロロフェノール	96.4	96.1	101.3	100.7	98.4
10	チモール	96.0	96.0	101.0	100.4	98.1
12	イソプロピルメチルフェノール	95.2	95.3	100.1	99.1	97.1
13	トリクロサン	97.0	95.1	101.8	100.9	99.3
14	メチルパラベン	94.4	94.9	99.7	99.5	98.2
15	エチルパラベン	95.9	95.1	100.7	99.6	97.8
16	プロピルパラベン	95.8	95.3	101.4	99.9	97.8
17	イソプロピルパラベン	95.7	95.3	100.9	99.8	97.9
18	ブチルパラベン	93.9	95.2	98.8	97.8	96.1
19	イソブチルパラベン	94.7	95.1	99.9	98.8	97.0
21	ペンチルパラベン	95.5	94.8	100.4	99.4	97.2
22	フェニルパラベン	95.9	95.2	101.1	99.7	98.1
23	サリチル酸フェニル	95.2	94.7	100.1	99.1	97.0
24	ベンジルパラベン	95.3	94.9	100.4	99.3	97.2
25	デヒドロ酢酸	93.0	95.2	100.2	99.6	89.8
26	フェノキシエタノール	96.0	95.9	101.1	100.3	106.7
27	クロルフェネシン	95.8	95.1	100.9	99.7	98.0

4 実試料の測定

市販化粧品4検体(クリーム、化粧水、ファンデーション、ローション、ゲル(部外品))について、本試験法の有用性を検証した。以下に検出成分と分析値(試料100g中の配合量(g))を示す(表5)。なお、ゲルについては部外品であり、規格値を満たすものであった。

表5 検出成分と分析値

成分	剤形				
	クリーム	化粧水	ファンデーション	ローション	ゲル
メチルパラベン	0.08	0.14	0.21	N.D.	N.D.
エチルパラベン	0.04	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
プロピルパラベン	N.D.	N.D.	0.19	N.D.	N.D.
ブチルパラベン	0.01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
イソプロピルメチルフェノール	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.11

N.D.: Not Detected

配合量が化粧品基準を超過するものはなかったが、クリームからはパラベン分解物の4-ヒドロキシ安息香酸が検出された(図8)。このことから、化粧品中において防腐剤成分が必ずしも安定でないことが示唆された。

例えば、サリチル酸フェニルは加水分解によりサリチル酸とフェノールに加水分解されるが、全成分表示にはこれらの加水分解物は通常反映されないため、表示違反となってしまう可能性がある。また、メチルパラベンは

加水分解により配合禁止成分であるメタノールを生じるが、メタノールは限度値が示されておらず、キャリアオーバー等も許容されていないことから、配合禁止成分を配合したとされる可能性が示唆された。製剤中での安定性を加味した慎重な防腐剤の選択が必要と考えられる。

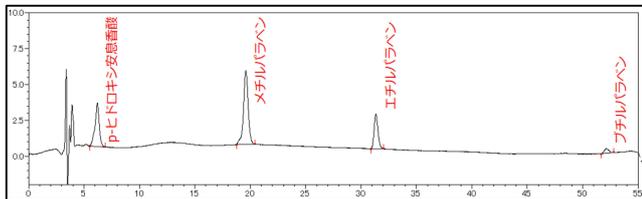
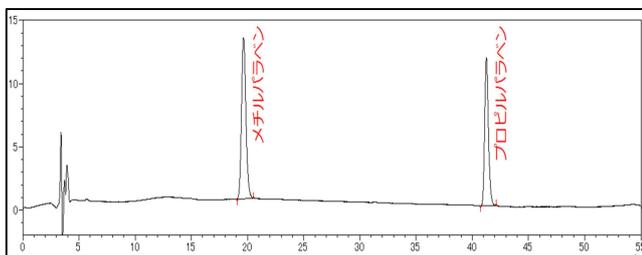


図8 パラベン分解物の検出

また、ファンデーションについては表示にないメチルパラベンが検出された(図9)。本件は表示違反の可能性が高いため、より確実な同定のために、日本薬局方「パラオキシ安息香酸メチル」の試験条件を用いた確定試験を併せて実施し(図10)、同様の結果を得た。なお、メチルパラベンの測定値は0.21 g/100gと基準と比較して十分に低いものであり、同時に検出されたプロピルパラベン0.19 g/100gと合わせても0.40 g/100gであることから、化粧品基準の配合上限パラベンの合計量として1.0 g/100gを十分下回るものであり健康被害の可能性は低いものと考えられた。



【全成分】タルク、マイカ、PMMA、酸化チタン、
ミネラルオイル、トリ(カプリル/カプリン酸)グリセリル、
ジメチコン、プロピルパラベン、BHA、(+/-)酸化鉄、黄5

図9 検体の分析結果と全成分表示

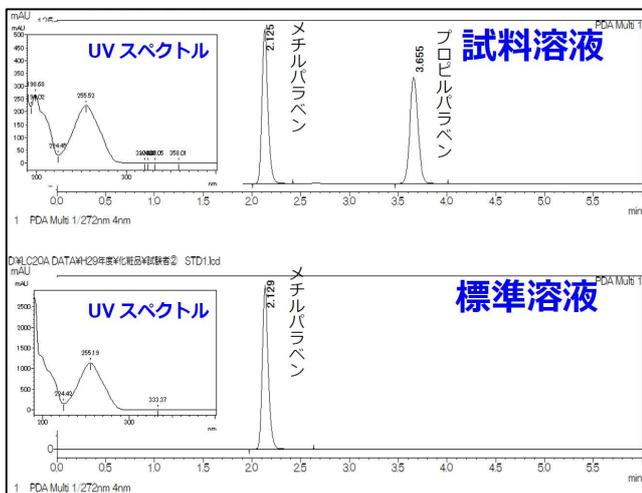


図10 日本薬局方試験法による分析結果

まとめ

今回、化粧品中防腐剤成分について検討を行い、24成分についてスクリーニング法を開発した。本法は分析法バリデーション結果からも十分に行政検査に適応可能なものであると考えられる。このようなスクリーニング法の構築は、無承認無許可医薬品等の試験法開発においても活用でき、今回のノウハウを今後の業務に活用していきたい。また、化粧品中の防腐剤成分等の行政検査は現時点では実施していないが、必要となった時に対応可能な体制を整えることができた。

今回測定した実試料ではファンデーション1検体から表示にないメチルパラベンが検出された。本製品には「MADE IN CHINA」との記載があり、海外の製造所で製造された製品についての品質保証の難しさが垣間見られた。県薬事課はこの結果を当該製品の製造販売業者所在地の自治体に対して情報提供した。最終的には製造販売業者が、製造業者がメチルパラベンを配合していたことを確認し、自主回収を実施した⁵⁾。

厚生労働大臣や県知事による承認が必要な医薬品や医薬部外品と異なり、化粧品は届出のみで製造販売が可能である。審査を経ないという点からも、適切な品質保証がなされていない可能性がある。今後も県内で製造・流通される化粧品等について、試験検査を通じ、県民の安心・安全の一助としていく。

文献

- 1) 「平成29年 生産動態統計年報 化学工業統計編」, 経済産業省
- 2) 「化粧品基準」, 平成12年9月29日付け厚生省告示第31号
- 3) 前田有美恵他: 軟膏及び化粧品からのパラオキシ安息香酸の検出, 静岡県衛生環境センター報告, 31, 19-23 (1988)
- 4) 前田有美恵他: フェノキシエタノールを含有する化粧品中パラベンの分析, 静岡県衛生環境センター報告, 32, 33-36 (1989)
- 5) 厚生労働省(PMDA)自主回収情報: <http://www.info.pmda.go.jp/rgo/MainServlet?recallno=2-8076>

ワサビ中グルコシノレート類のLC-MS/MSによる一斉分析法の検討

医薬食品部 食品班 竹下由布子, 渡邊愛子, 小林千恵, 高橋真
農林技術研究所伊豆農業研究センター 西島卓也

Study of Simultaneous Analysis of Glucosinolates in Wasabi by High-performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry

Yuko TAKESHITA, Aiko WATANABE, Chie KOBAYASHI
Makoto TAKAHASHI, and Takuya NISHIJIMA

静岡県の重要な特産品であるワサビの更なる特性解明のために、機能性成分であるイソチオシアネート (ITC) 類の前駆体である、グルコシノレート (GSL) 類の分析法を検討した。GSL 類は非常に極性の高い化合物群のため、一般的に HPLC 分析に用いられるオクタデシルシリカゲルカラム (ODS カラム) による分析に供する際には、精製や脱硫操作など煩雑な操作が必要である。

そこで、HILIC モードによる分離と高速液体クロマトグラフィータンデム質量分析計 (LC-MS/MS) を組み合わせた簡便な分析法を検討した。LC-MS/MS 分析では、選択イオンモニタリング (SIM)、プリカーサーイオンスキャンの 2 モードによる分析を試みたので報告する。

なお、本研究は静岡県新成長戦略研究費 (健康長寿静岡の新たな機能性食品産業の創出) により実施した。

Key words: グルコシノレート, ワサビ, 機能性成分, 高速液体クロマトグラフ - 質量分析計
glucocynolate, wasabi, functional substance, LC-MS/MS

はじめに

ワサビは、静岡市葵区の間部が発祥¹⁾といわれており、貴重な香辛料として日本の食文化に大きく貢献し、各地に普及してきた。静岡県では、安倍川上流部、伊豆半島天城山系などの産地を主体に産出され、国内のワサビ産出額の約 8 割、栽培面積の約 4 割を占めるなど、本県を代表する重要な特産品となっており²⁾、さらなる産業振興が望まれる。

ワサビの機能性成分として、ITC 類が知られており、その中でも高い機能性を持つことが報告されているアリルイソチオシアネート (AITC) および 6-メチルスルフィニルヘキシルイソチオシアネート (6-MSITC) の GC-MS による分析法をこれまでに報告した³⁾。ITC 類は前駆体である GSL 類が、加水分解酵素のミロシナーゼにより分解されグルコース、硫酸イオンとともに生成する (図 1)。

そこで、今回、更なるワサビ特性の解明のために、GSL 類の分析法を検討した。GSL 類は非常に極性の高い化合物であり、HPLC 分析においてもっとも汎用されている ODS カラムには保持されない。このため、これまで GSL 類の分析については多くの報告⁴⁾⁶⁾があるが、そのほとんどが HPLC による分析の前にイオン交換樹脂による精製やスルファターゼによる脱硫操作を必要とするため、操作が煩雑であった。そこで、極性成分の分析に適した HILIC モードによる分離方法と、高感度、高選択性の分析機器である LC-MS/MS を組み合わせることにより、簡便な GSL 類の一斉分析法を検討したので報告する。

方法

1 試料

ワサビは、静岡県伊豆市湯ヶ島の伊豆農業研究センター試験圃場で栽培された水ワサビで、分析には根茎を用いた。供試品種は、‘真妻’、‘グリーンサム’の 2 品種とした。検体は約 1 cm 角に細切り、液体窒素で十分に凍結し、粉碎機 (IKA 社製) で約 20 秒間粉碎したものを分析試料とした。

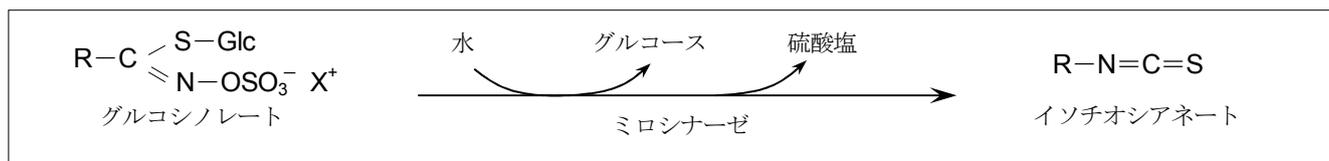


図1 ITC 類の生成

2 試薬等

シニグリン (アリルグルコシノレート (アリル GSL)) 標準品は Santa Cruz Biotechnology 社製, その他試薬は, 和光純薬株式会社製を用いた。

3 標準溶液の調製

シニグリンは標準品 10 mg を正確に量り取り, 蒸留水で全量を 10 mL とし, 1,000 mg/L 標準溶液としたのち, 70% メタノールで適宜希釈して分析に用いた。

4 装置および分析条件

1) 装置

高速液体クロマトグラフは Acquity UPLC H-Class (Waters 社製), 質量分析計は Xevo TQ-S micro (Waters 社製) を用いた。

2) LC 条件

カラム: HILICpak VG-50 2D (2.1 mm x 150 mm, 1.5 μm, Shodex 社製)

カラム温度: 60°C

流速: 0.2 mL/min

移動相: 水/4%アンモニア水/アセトニトリル

グラジエント条件: 0-25 min (10.5/2.5/87), 25-26 min (10.5/2.5/87→47.5/2.5/50), 26-35 min (47.5/2.5/50), 35-36 min (47.5/2.5/50→10.5/2.5/87), 36-60 min (10.5/2.5/87)

注入量: 2 μL

3) MS/MS 条件

イオン化法: エレクトロスプレーイオン化 (ネガティブ)

ソース温度: 120°C

脱溶媒温度: 350°C

脱溶媒ガス流量: 1,000 L/hr

コーンガス流量: 50 L/hr

SIR モード: コーン電圧: 40 V

プリカーサーイオンスキャンモード: コーン電圧: 60 V

コリジョンエネルギー: 30 eV

プロダクトイオン: m/z 96

5 試験溶液の調製方法

抽出液の調製は Singh⁶⁾の方法を改変して行った。凍結粉砕した試料を遠沈管に 1.0 g 採取し, 70%メタノールを 20mL 加え激しく振とうした。その後遠心分離機(日立社製)で 3,000rpm, 10 分間遠心分離を行い, 上澄液を新しい遠沈管に分取した。残渣に再び 70%メタノールを 20mL 加え, 同様に遠心分離を行い, 上澄液を併せて 50mL にメスアッ

プした。抽出液は 0.20μm フィルターを過して適宜メタノールで希釈し, LC-MS/MS 分析に供した。

結果および考察

1 シニグリンの定量

シニグリン標準溶液について段階的に希釈を行い, 0.01mg/L から 1mg/L の範囲で検量線を作成したところ, 相関係数 0.999 以上の良好な直線性の検量線が得られた。‘真妻’, ‘グリーンサム’ 中のシニグリンの量を定量したところ, ‘真妻’ では 17.1 mg/g, ‘グリーンサム’ では 14.7 mg/g 含有していた。

2 GSL 類の分析

1) SIM モードによる分析

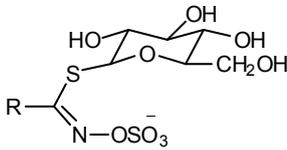
GSL 類をプリカーサーイオンのみを指定して検出する SIM モードで分析を行った。分析は抽出液を 100 倍に希釈したものを用いた。シニグリン以外の GSL 類については標準品の入手が困難であったため, ワサビに含まれていると報告¹⁾がある ITC 類の, 前駆体であると考えられるものについて, 分子量と溶出時間から構造を推定した (表 1)。

‘グリーンサム’ のクロマトグラムを図 2 に示した。ブチル GSL については, ワサビ中から *n*-ブチル, *sec*-ブチル, *iso*-ブチルの側鎖をもつ ITC が生成するという報告があり, 前駆体である GSL もそれぞれに対応する構造異性体が存在していると考えられる。今回の分析結果では, ピーク形状をみると 3 種類の物質が完全分離せずに溶出しているように見える。ブチル GSL 類の詳細は分析のためには各ピークが完全分離するような更なる分析条件の検討が必要である。

標準品がない GSL 類については定量が困難であったため GSL 類のピーク面積と, シニグリン標準溶液 0.5mg/L のピーク面積との比でおおよその存在比を推定したところ, ‘真妻’ と ‘グリーンサム’ の組成比較では, ‘真妻’ のほうがアリル GSL は多く含まれているが, その他 GSL 類は大きな差が見られなかった (表 2)。

ブロッコリスプラウトでは, ロットによって GSL の組成に大きな差が見られるという報告⁷⁾があるため, 今後ワサビについても個体別, 品種別の調査をする必要があると考えられる。

表1 SIMモード分析測定対象としたGSL類

基本構造	側鎖 (R) の構造	GSL 名	m/z [M-H] ⁻
	CH ₂ =CH-CH ₂ -	アリルグルコシノレート (シニグリン)	358
	CH ₃ -CH(CH ₃)-	イソプロピルグルコシノレート	360
	CH ₂ =CH-(CH ₂) ₂ -	3-ブテニルグルコシノレート	372
	C ₄ H ₉ -	ブチルグルコシノレート *	374
	CH ₂ =CH-(CH ₂) ₃ -	4-ペンテニルグルコシノレート	386
	CH ₃ -SO-(CH ₂) ₅ -	5-メチルスルフィニルペンチルグルコシノレート	450
	CH ₃ -SO-(CH ₂) ₆ -	6-メチルスルフィニルヘキシルグルコシノレート	464
	CH ₃ -SO-(CH ₂) ₇ -	7-メチルスルフィニルヘプチルグルコシノレート	478

*ブチルは構造異性体が複数存在し、同定が困難であった。

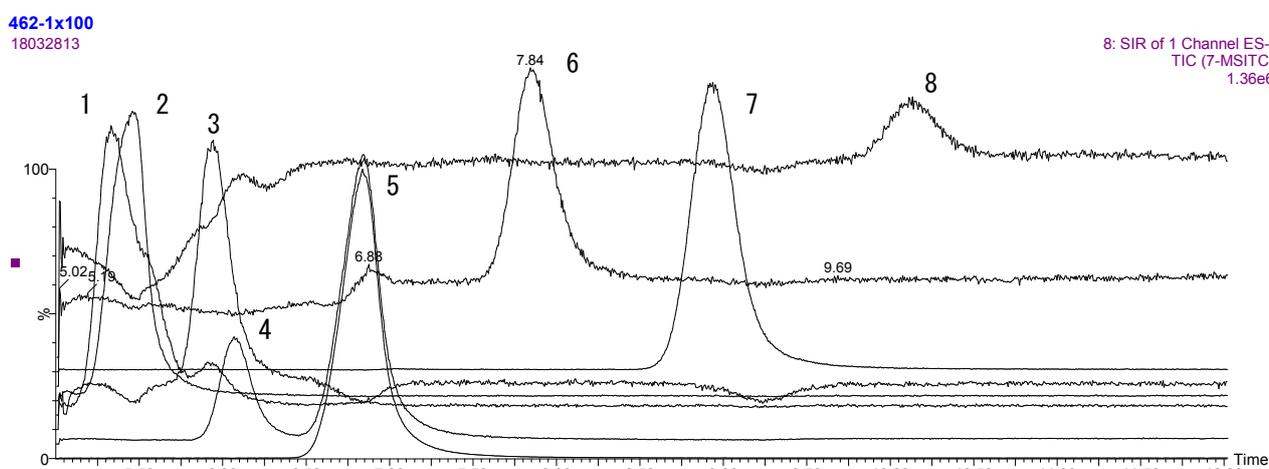


図2 GSL類のSIMクロマトグラム (1: ブチルGSL, 2: 4-ペンテニルGSL, 3: 3-ブテニル, 4: イソプロピルGSL, 5: アリルGSL, 6: 7-メチルスルフィニルヘプチルGSL, 7: 6-メチルスルフィニルヘキシルGSL, 8: 5-メチルスルフィニルペンチルGSL)

表2 ワサビ中GSL類のピーク比

(GSLのピーク面積/シニグリン0.5 mg/Lのピーク面積)

GSLの側鎖	‘真妻’	‘グリーンサム’
アリル	5.89	5.12
イソプロピル	0.21	0.16
3-ブテニル	0.14	0.09
ブチル	0.14	0.14
4-ペンテニル	0.25	0.25
5-メチルスルフィニル ペンチル	0.18	0.12
6-メチルスルフィニル ヘキシル	0.59	0.62
7-メチルスルフィニル ヘプチル	0.12	0.13

2) プリカーサーイオンスキャンモードによる分析

本モードはプリカーサーイオンをスキャンした後、コリジョンセルで衝突誘起乖離を起こさせ、生じたプロダクトイオンを指定して分析するものである。これにより同一のプロダクトイオンを生成しやすい類似構造をもつ化合物群を未知成分も含め、一斉に検出することが可能になる。GSL類は共通構造として硫酸基を持ち、常時荷電構造である硫酸イオンがプロダクトイオンとして検出されやすいため、図3の位置で開裂したm/z96を指定してプリカーサーイオンスキャン⁸⁾を行った。

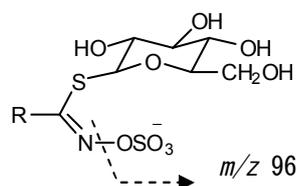
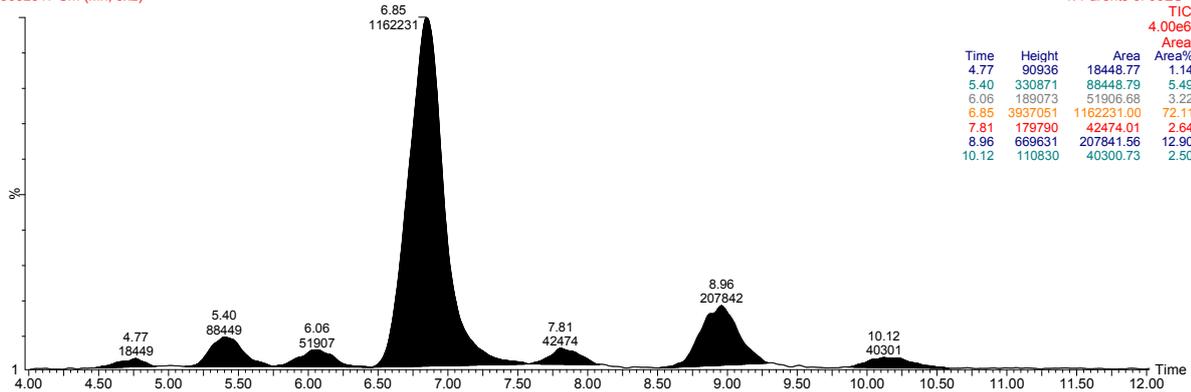


図3 GSL類のMS/MS開裂パターン

473-1x100

18032817 Sm (Mn, 3x2)

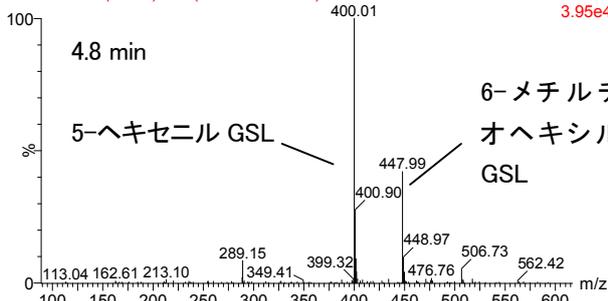


1: Parents of 96ES-
TIC
4.00e6
Area
Area%

Time	Height	Area	Area%
4.77	90936	18448.77	1.14
5.40	330871	86448.79	5.49
6.06	189073	51906.88	3.22
6.85	3937051	1162231.00	72.11
7.81	179790	42474.01	2.64
8.96	669631	20784.56	12.90
10.12	110830	40300.73	2.50

473-1x100

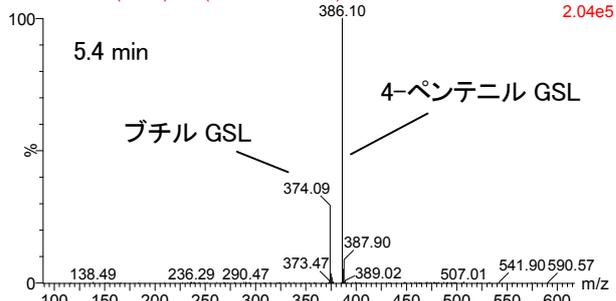
18032817 90 (4.758) Cm (76:102-889:971)



1: Parents of 96ES-
3.95e4

473-1x100

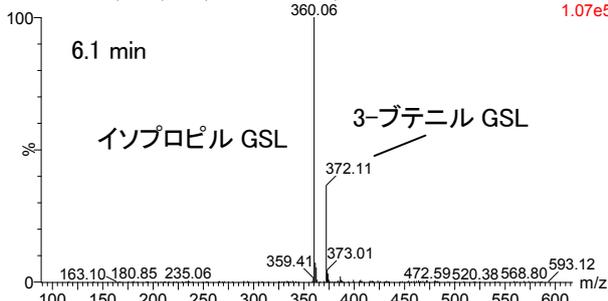
18032817 166 (5.398) Cm (156:181-887:974)



1: Parents of 96ES-
2.04e5

473-1x100

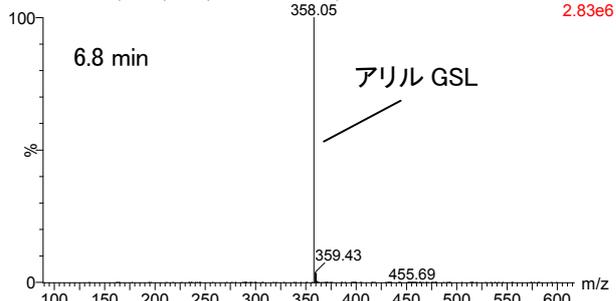
18032817 249 (6.096) Cm (231:258-848:919)



1: Parents of 96ES-
1.07e5

473-1x100

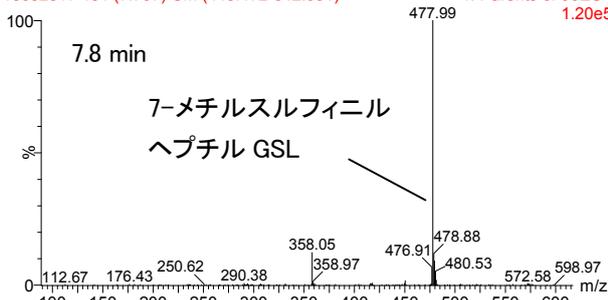
18032817 335 (6.820) Cm (320:354-908:983)



1: Parents of 96ES-
2.83e6

473-1x100

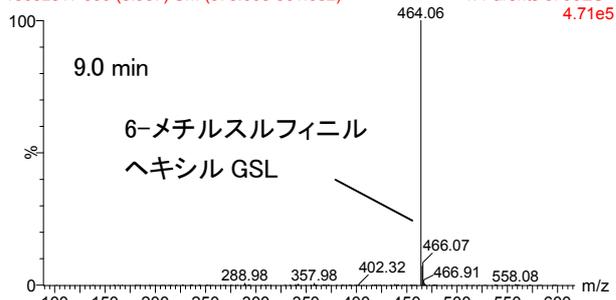
18032817 451 (7.797) Cm (445:472-842:951)



1: Parents of 96ES-
1.20e5

473-1x100

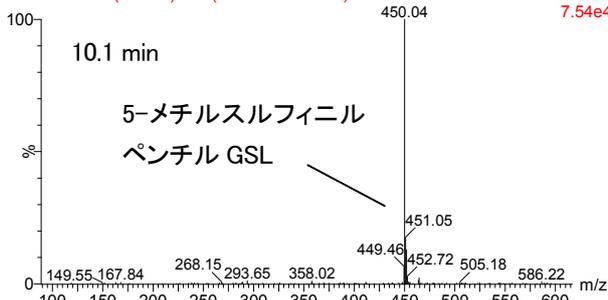
18032817 590 (8.967) Cm (575:608-901:952)



1: Parents of 96ES-
4.71e5

473-1x100

18032817 740 (10.230) Cm (717:746-908:986)



1: Parents of 96ES-
7.54e4

図4 プリカーサイオンスキャンクロマトグラム
および各ピークのプリカーサイオンスペクトル

スキャンクロマトグラムと、各ピークのスペクトルを図4に示した。スペクトルを見てみると、プリカーサーイオンの m/z より、図中に示した GSL であることが推定された。

この方法を用いることにより、未知成分も含めた、GSL 類の一斉分析が可能であることが示唆された。

まとめ

ワサビ中の GSL 類の分析方法を検討した。

極性成分の分離に適した HILIC モードによる分離と、高感度、高選択的な分析が可能な LC-MS/MS を組み合わせることで、70%メタノール抽出とフィルターろ過のみの簡便な前処理による分析が可能となった。この前処理方法を用いて、アリル GSL の定量を行うことができた。

また、SIR モードによる分析ではシニグリン標準液を基準として、GSL 類の組成を品種間で比較することが可能であった。プリカーサーイオンスキャンモードによる分析では、共通構造である硫酸基が開裂したイオンを指定して分析することで、未知成分を含む GSL 類の一斉分析が可能であった。

今後、この方法を用いて品種間や季節間、個体間のシニグリン含量の差や、GSL 組成の差について調査を進めていく予定である。

文 献

- 1) 木苗直秀他：ワサビのすべて 日本古来の香辛料を科学する，学会出版センター，東京（2006）
- 2) 静岡県公式ホームページ：わさびの産出額，栽培面積，水ワサビ栽培面積日本一 (https://www.pref.shizuoka.jp/j-no1/m_wasabi.html)
- 3) 竹下由布子他：ワサビのイソチオシアネート類の GC/MS 分析における前処理方法の検討，静岡県環境衛生科学研究所報告，**59**，43-46（2016）
- 4) Grosser K. et al. : A Straightforward Method for Glucosinolate Extraction and Analysis with High-pressure Liquid Chromatography (HPLC), *Journal of Visualized Experiments*
- 5) Kim H. et al. : Identification and Quantification of Glucosinolates in Kimchi by Liquid Chromatography Electrospray Tandem Mass Spectrometry, *International Journal of Analytical Chemistry* (2017)
- 6) Singh J. et al. : Rapid and Efficient Desulfonation Method for the Analysis of Glucosinolates by High-Resolution Liquid Chromatography Coupled with Quadrupole Time-of Flight Mass Spectrometry, *J. Agric. Food Chem.*, **65**, 11100-11108 (2017)
- 7) 中西健太ら：ブロッコリスプラウト中の機能性成分の増強に関する研究，日本農芸化学会 2018 年度大会，2A27a12
- 8) Mellon F. et al. : Intact glucosinolate analysis in plant extracts by programmed cone voltage electrospray LC/MS: performance and comparison with LC/MS/MS methods, *Analytical Biochemistry*, **306**(1), 83-91 (2002)

PM2.5 注意喚起情報発表における地区分けに関する研究

大気水質部 大気騒音環境班 前田友幸, 井口大輔, 美澤克俊, 結城茜,
近藤真木子, 矢嶋雅

Classification methods for the Monitoring groups of PM2.5 Warning information
in the Area of Shizuoka Prefecture

Tomoyuki MAEDA, Daisuke IGUCHI, Katsutoshi MISAWA,
Akane YUKI, Makiko KONDO and Masashi YAJIMA

静岡県では、環境省が示した「注意喚起のための暫定的な指針」に基づき、2013年3月より、微小粒子状物質（PM2.5）が高濃度になると予測される場合には、県民に注意喚起情報を発表することとしている。本県は東西約150km・南北約120kmと広大な面積を有しているが、判断基準を超えた場合、現状では県内全域を1つの地区として発表を行っている。本研究では、よりの確な情報提供を行うことを目的に、地区ごとに注意喚起情報を発表する体制を構築することを検討するため、PM2.5濃度に係る地域差の有無を調査した。

その結果、県内全域で、日平均値の時系列変動傾向、地理情報分析による高濃度時の指標としての日平均値の98%値について共に類似していることが判明した。また、相関分析、クラスター分析及び単純一致率の計算を行ったところ、県内全域で相関、類似性及び一致率が高い傾向が明らかとなった。このため、県内のPM2.5注意喚起情報発表における地区を分ける妥当性は低いことが示された。

Key words: 地区分け, PM2.5 注意喚起情報, 関連性データ分析

classification method for the monitoring groups, PM2.5 warning information, relational data analysis

はじめに

静岡県では、環境省が示した「注意喚起のための暫定的な指針」（平成25年3月1日付け環水大大発第130313号（最終改正：平成26年11月28日））に基づき、2013年3月より、微小粒子状物質（PM2.5）が高濃度になると予測される場合には、県民に注意喚起情報を発表することとしている。本県は東西約150km・南北約120kmと広大な面積を有しているが、判断基準を超えた場合、現状では県内全域を1つの地区として発表を行っている。

これまで、本県において注意喚起情報を発表したのは、本県最西端である湖西における2014年4月の1事例のみである（2017年度末現在）。この発表時、湖西以外の測定局においてもPM2.5濃度の上昇は見られたが、暫定指針値である日平均値 $70 \mu\text{g}/\text{m}^3$ を超過する水準ではなかった。このため、この1事例においては、地域差があっ

たと解釈することもできる。

本県では、PM2.5の環境基準が設定されて以降、順次、PM2.5計の県内各地への設置を進めている。注意喚起情報を発表した2014年4月時点の測定が8測定局であったのに対して、2016年4月時点では11測定局と約1.5倍の測定地点数となっている（政令市設置分を除く）。つまり、測定地点が増加した現在では、県内のPM2.5濃度分布の状況を、より詳細に見ることが可能となっている。

そこで、今回、県民によりの確な情報提供を行うことを目的に、地区ごとに注意喚起情報を発表する体制を構築することを検討するため、PM2.5濃度に係る地域差の有無を調査したので報告する。

方法

1 調査の考え方

本調査では、一定程度、広域的に分析するための測定地点数が充実した、過去2年度分（2015及び2016年度）の県内PM2.5計を調査の対象とした（表1）。なお、分析は政令市分のデータを含む形で行った。これは、本県が行う注意喚起情報の発表判断には政令市分のデータも含

表 1 主に調査対象とした PM2.5 計一覧

NO.	測定局 名称	測定器 の属性	緯度	経度
1	熱海	県有	35.0925	139.0719
2	下田	県有	34.6794	138.9453
3	大仁北	県有	35.0175	138.9486
4	自排三島	県有	35.1100	138.9158
5	裾野	県有	35.1969	138.9136
6	救急(富士市)	県有	35.1542	138.6775
7	静岡常盤	市有※	34.9700	138.3797
8	自排藤枝	県有	34.8772	138.2672
9	島田	県有	34.8361	138.1764
10	大東	県有	34.6661	138.0550
11	自排掛川	県有	34.7789	138.0181
12	浜松中央	市有※	34.7017	137.7156
13	湖西	県有	34.7189	137.5308

※政令市については一部の測定地点を抜粋

まれるためである。また、より広域的な比較を行う目的で、一部の分析については全国データも使用した。

2 大気常時監視測定データの収集

2015 及び 2016 年度過去 2 年度分の日平均値測定データを収集し、状況を整理した。データは、本県の常時監視システムに収集されたもの及び国立環境研究所「環境数値データベース」・「II 型共同研究データベース」大気環境データファイルを使用した。2016 年度データについては速報値的性格が見られたため、エラーコード等不自然な異常値についてはデータ整理を行った。

3 測定データの処理

分析には統計ソフト R 3.4.3 (R Development Core Team(2017))を使用した。地理情報の整理のため、Global Administrative Areas(<http://www.gadm.org/country>)のシェープファイルまたは SpatialPolygonsDataframe を使用した。

有効測定日数 250 日に満たない測定局データについては、比較に適さないと見なして適宜除去した。

1) 時系列データの可視化

測定局ごとの時系列変動傾向を把握する目的で、日平均値を時系列データとして図示した。

2) 地理情報の整理

測定局ごとの地理的な分布を整理する目的で、年平均値及び日平均値の 98%値を濃度分布の地理情報として図示した。

3) 測定データの分布

測定局ごとの濃度データ分布を確認する目的で、日平均値をまとめたバイオリンプロット及び箱ひげ図を作成した。バイオリンプロットはカーネル密度曲線を左右対称に描いたものであり、箱ひげ図の中央の白丸には中央値を、箱の上端には 75%タイル値を、箱の下端には 25%タイル値を図示した。ひげの上下端には、四分位範囲(箱

の長さ)の 1.5 倍以内における最大値と最小値を示した。

4) 相関係数

測定局間の時系列データの関係性を見る目的で、日平均値について相関係数を算出し、行列として図示した(完全データ分析によるスピアマンの順位相関係数)。正及び負の相関が高い場合、それぞれ大きい丸の濃青色及び濃赤色となるよう作図した。行列の並びは基本的に隣接する測定局の順とした。

5) クラスタ分析

測定局間の類似性を見る目的で、日平均値についてクラスタ分析を行った(x-means, クラスタ初期値は k-means++)¹⁾。

なお、分析の効率性向上を目的として、故障、保守等に基づく欠測値の補完を Amelia II で行った。補完にあたり、「①PM2.5 測定局と同一地点で測定した浮遊粒子状物質(SPM)データは同じ日時にある程度のある関係があるため説明・補助変数として使用できること②PM2.5 計データは、対数正規分布に従うこと」を前提とした^{2,3)}。また、疑似データ数(M=5)に設定し、点推定値を求めた。

6) 単純一致率と相互相関関数

測定局間の時系列データの変動の一致を見る目的で、日平均値について濃度の高低で一定の階級ごとに区分してカテゴリー化を行い、単純一致率を算出した。また、遠隔地点間でのラグを計算するため、相互相関関数を計算した。

結果および考察

本論では紙幅の都合上、2016 年度データを中心に示す。特段の言及が無い場合、基本的に 2015 年度データも同様の傾向である。

1 時系列データの可視化

県内の日平均値は暫定指針値を超過した日は無く、概ね連動して変動していた(図 1)。2016 年度は主に 4 月中旬～5 月中旬に救急と湖西で、他の測定局に比較して値が上昇した日があったが、少数事例であった。

2 地理情報の整理

県内の年平均値はいずれの測定地点においても低値であった(図 2)。高濃度時の指標である日平均値の 98%値についても、西日本または東京等の都市部に比較して相対的に低値であった(図 3)。紙幅の都合上図示を省略するが、2016 年度データは 2015 年度データに比較して全体的に数値が低いことが特徴的であった。

3 測定データの分布

県内の日平均値はいずれの測定局においても、概ね同様の分布となる傾向があった(図 4)。これは、県内においては同一の現象を広域的に観測していることが多いた

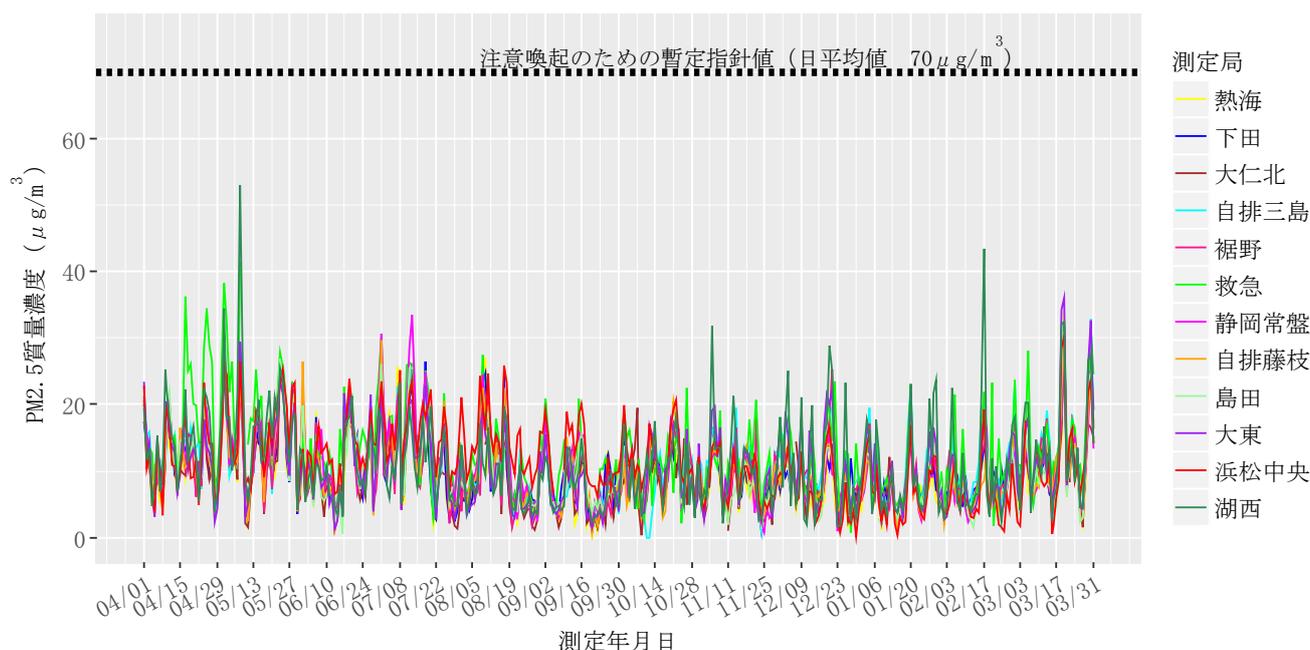


図1 PM2.5 日平均値時系列推移<2016 年度>

め、変動が類似していることなどが要因として推察される。

分布の形は、どちらかと言えば低濃度側に最頻値があるものが多いが、そうではないものもあった。

4 相関係数

県内の日平均値はいずれの測定地点においても、比較的高めの相関となる傾向があった(図5)。要因としては、上記3で述べたものと同様であると考え。

5 クラスタ分析

県内の各測定局は、距離があっても比較的同じ分類となる傾向があった(図6)。要因としては、上記3で述べたものと同様であると考えが、東京をはじめとする都市部と比較して、局所的に顕著な変動要因が無いことが寄与していると考え。

6 単純一致率と相互相関関数

県内の各測定局は、距離があっても比較的高い一致となる傾向があった(図7)。紙幅の都合上図示を省略するが、本県で最も距離のある湖西と下田で相互相関関数を計算した場合でも同日で高い相関(0.7程度)であることが判明している。要因としては、上記3、4及び5で述べたものと同様であると考え。

上記1~6を総合すると、現時点では県内のPM2.5注意喚起情報発表における地区を分ける妥当性は低いものと考えられる。

本県では1測定局のみが突出した高濃度になることは少なく、どこかの測定局が高濃度となる場合は、他の測定局も概ね連動して濃度上昇する状況が明らかとなった。

まとめ

PM2.5濃度に係る地域差の有無について以下の知見を得た。

- 1 各種統計分析から、県内各測定局のPM2.5日平均値濃度変動は隣接局だけでなく全体的に類似していた。
- 2 県内では、PM2.5日平均値濃度が局所的に高くなる地点があまり存在しなかった。

よって、現時点では県内のPM2.5注意喚起情報発表における地区を分ける妥当性は低いと結論付けた。

ただし、ここ数年、本県のみならず全国的に環境基準の達成率が上昇傾向であり、今回の検討では高濃度イベント時における測定局差を検証する機会が少なかった。また、本県においては今後もPM2.5の測定地点を増加させる計画であることから、中長期的視点では測定局ごとの差を検討する余地があるものと考え。

文献

- 1) 石岡恒憲: クラスタ数を自動決定するk-meansアルゴリズムの拡張について, 応用統計学, 29, 3, 141-149 (2000)
- 2) 喜多真帆 他: 自動測定機を用いたPM2.5とSPM及びその他の物質の相関について, 岡山県環境保健センター年報, 38, 1-5 (2014)
- 3) 中央環境審議会大気環境部会: 中央環境審議会第24回大気環境部会資料, 平成20年4月

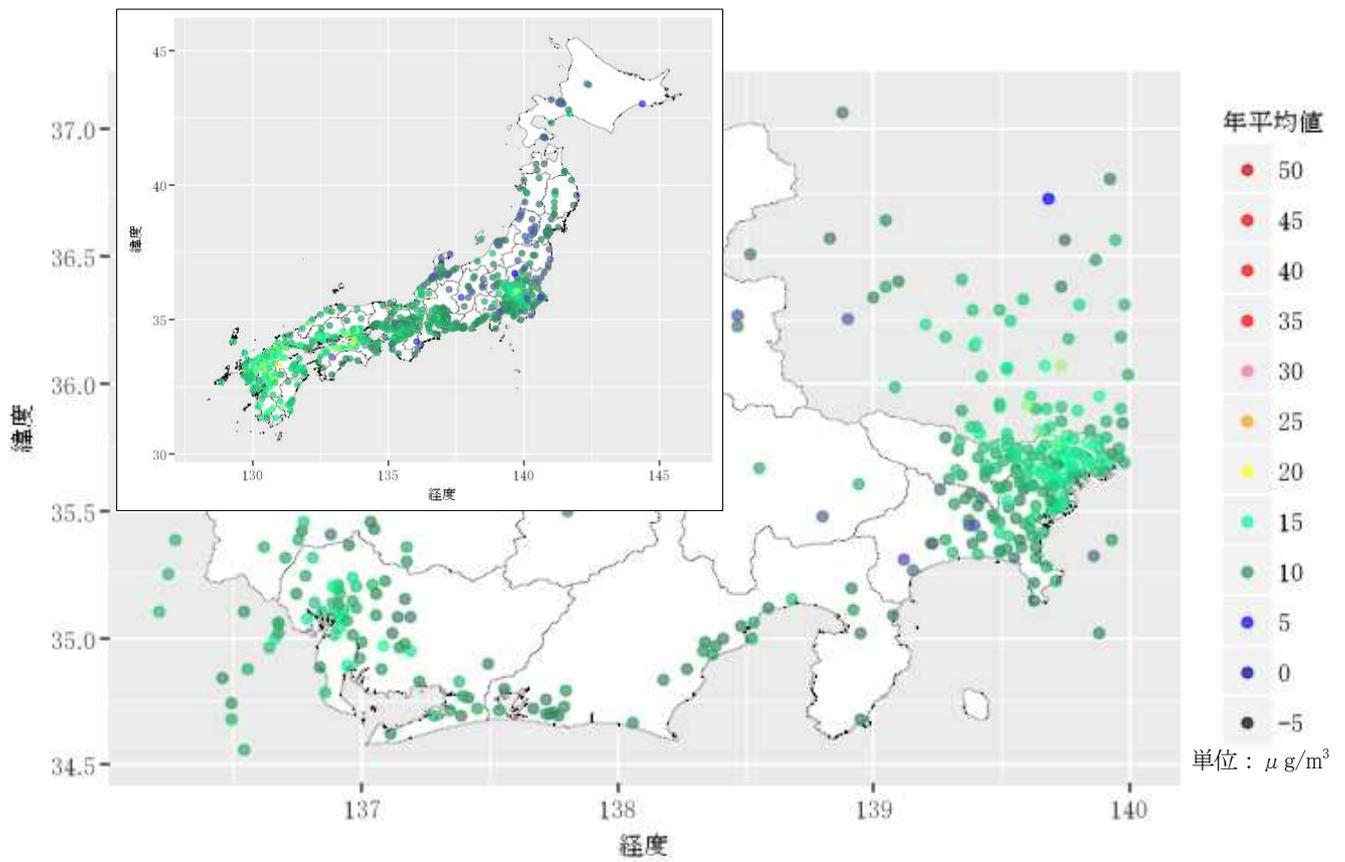


図2 PM2.5年平均値の地理的分布<2016年度>

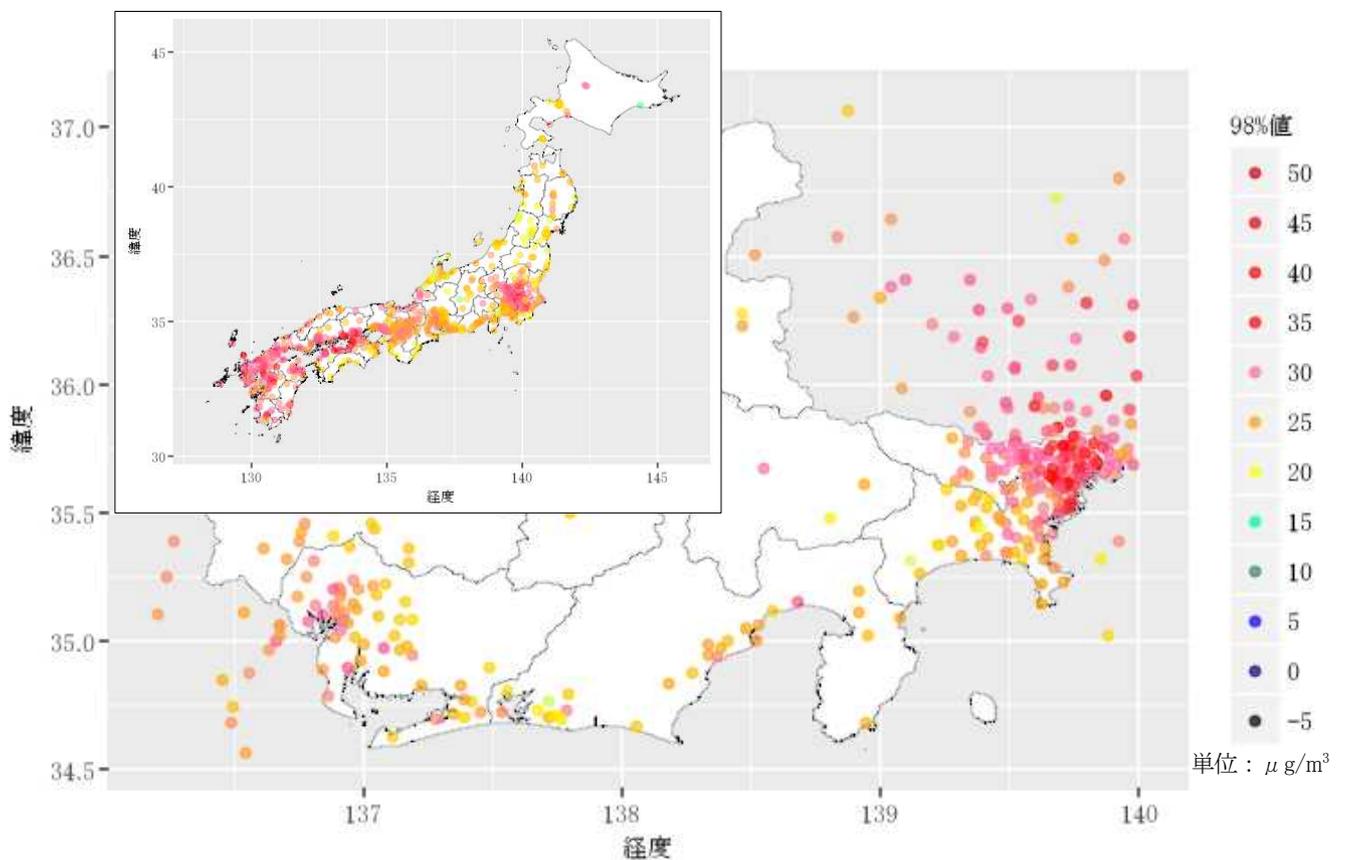


図3 PM2.5日平均値の98%値の地理的分布<2016年度>

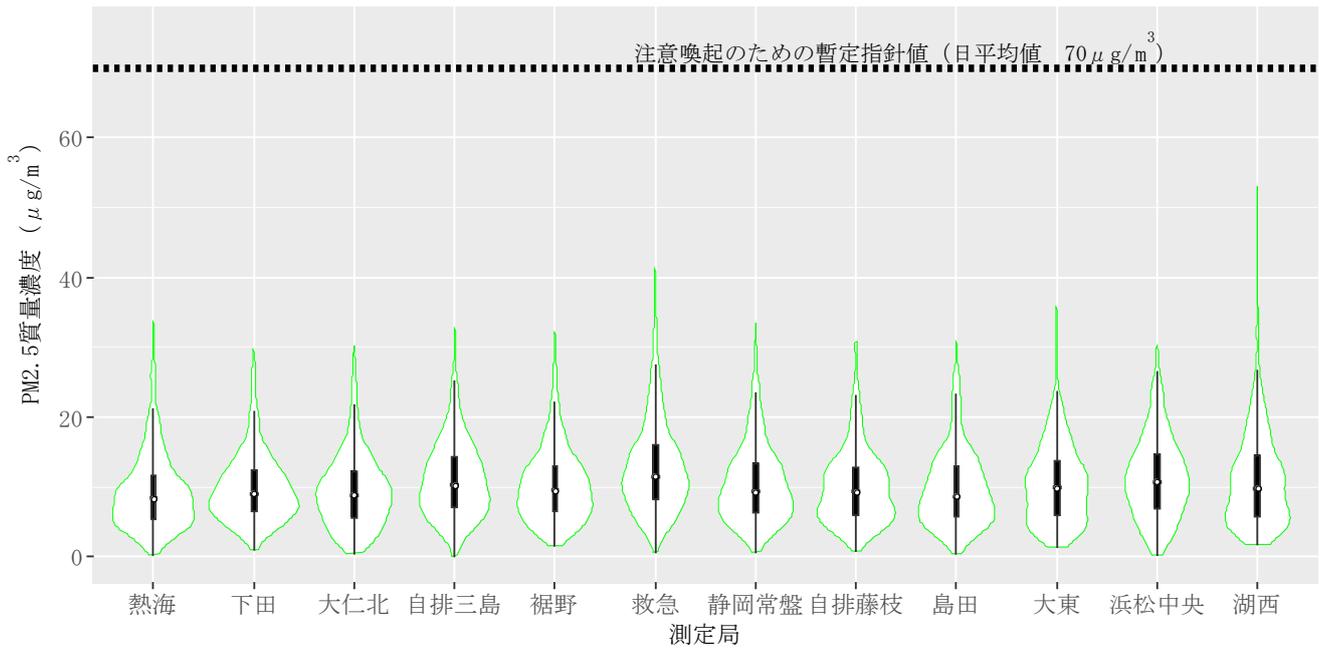


図4 PM2.5 日平均値測定データ分布<2016年度>

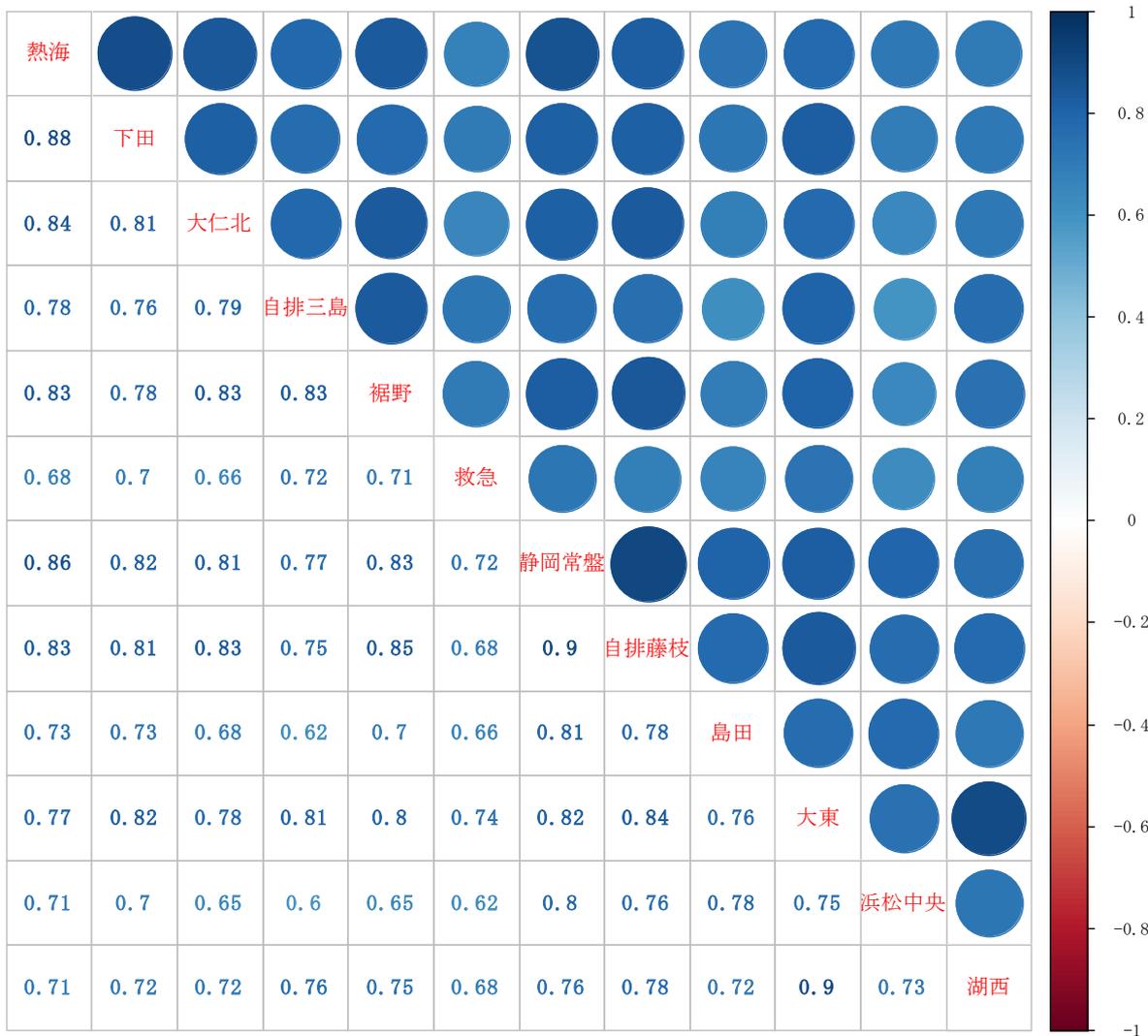


図5 PM2.5 日平均値相関行列<2016年度>

環境基準を超過した狩野川上流域の水質現状把握について

大気水質部 水質環境班 菅谷則子, 山本佳奈恵, 鈴木恒雄, 内山道春*, 山内悟

A study on the present water quality in the upper part of the Kano River exceeding environmental quality standard

Noriko SUGAYA, Kanae YAMAMOTO, Tsuneo SUZUKI,
Michiharu UCHIYAMA and Satoru YAMAUCHI

狩野川上流部の水質常時監視地点である「瑞祥橋」で、2003、2006、2007、2013、2014年度にBOD（基準：1mg/L 75%値評価）が環境基準未達成となった。そこで、「瑞祥橋」上流の狩野川流域における水質調査を行い、さらに過去の公共用水域水質常時監視の結果を解析し、BOD 基準超過原因の究明を試みた。

その結果、「瑞祥橋」上流域には負荷の大きい汚染源があるのではなく、生活系排水や観光施設などの事業系排水が複数流入しており、汚水の流入時に流量の減少、水温の低下などのいくつかの条件が重なったときにBOD 値が基準超過したと推測された。

Key words: BOD, 有機汚濁, ミズワタ, 糞便汚染指標菌, BOD 負荷量

biochemical oxygen demand, organic pollution, Mizuwata, fecal indicator bacteria, BOD loading amount

はじめに

狩野川は天城山系に源を発し、伊豆市や伊豆の国市等を北流して沼津市に至り、駿河湾に注いでいる。本川は天城山系の大見川以外に、箱根山等を源とする来光川、大場川、黄瀬川等の支流が合流する幹川流路延長46km、流域面積852km²の一級河川である。「瑞祥橋」のある狩野川の上流部は急峻な地形であり、浄蓮の滝や溪谷等の溪流を形成して流れており、清流でみられるアマゴなどの魚類が生息し、カシやカエデ類の自然植生が残されている。狩野川の水は、農業用水や水道用水として取水されているが、上流部では主に水力発電に用いられているほか、わさび田等の小規模な農業用水としても利用されている¹⁾。

狩野川では1970年に「生活環境の保全に関する環境基準」の水域類型が指定され、「瑞祥橋」より上流がAA類型（利用目的適応性：水道1級、BOD：1mg/L以下）、下流がA類型（同：水道2級、2mg/L以下）となったが、その後、2017年の類型見直しによりAA類型の河川範囲が拡大され、「瑞祥橋」の下流にある「神島橋」から上流

側が全てAA類型に指定されている。

「瑞祥橋」は狩野川水系の常時監視地点のうち最も上流にある定点であり、1971年4月から毎月1回（12回/年）、水温、pH、DO、BOD、SS、流量等を調査している²⁾。これらの調査項目のうち、BODが2003年度にはじめて環境基準（75%値評価）を超過し、以降2006、2007、2013、2014年度にも環境基準未達成となった（表1）。

「瑞祥橋」の上流域には旅館・ホテル、観光施設、住宅、わさび田があるものの、排水量の大きな工場・事業場はなく、これまで汚濁の原因は不明であった。そこで、「瑞祥橋」の上流域において水質調査を実施し、「瑞祥橋」におけるBOD環境基準超過原因の究明を行ったので、結果を報告する。

調査方法

1 狩野川水系上流域の現地調査

1) 流路調査

「瑞祥橋」から上流の狩野川起点まで（以下、狩野川水系上流域）を遡り、河川経路、流域にある施設、土地の利用状況を調査した。

2) 水質調査

① 月別調査

狩野川水系上流域の本流、支流、流入水の水質調査を行った。調査項目および分析方法を表2に示した。

本流や支流における採水は、河川の流心付近からサンプル瓶（ポリ瓶）で直接、またはステンレス製のロープ付きバケツにより行い、流入水についてはこれらによる採水が困難な場合、ステンレス製のひしゃくを用いた。なお、降雨の影響を確認するため、調査は晴天時のほかに雨天時にも実施した。

② 通日調査

水質の経時変化を把握するため、「瑞祥橋」および「瑞祥橋」から1.2km上流の「滝尻橋」において25時間連続（30分または1時間ごと）の水質調査を行った。調査は2、4月のBOD基準超過の発生頻度が高い時期に、表2（SS、DO以外）の項目について実施した。

③ BOD分析前処理の検証

河川水の溶存酸素の過飽和がBOD値に与える影響を検証するため、月別調査の「瑞祥橋」において採水した水を使い、過飽和解消のための前処理をした試料と、前処理していない試料のBOD値を比較した。

3) 生物環境調査

① 糞便汚染指標菌調査

狩野川水系上流域における糞便汚染の状況を把握するため、糞便汚染の指標菌である大腸菌、嫌気性芽胞菌、および糞便性連鎖球菌を調査した。大腸菌および嫌気性芽胞菌は「水道におけるクリプトスポリジウム等対策指針」に基づく検査法（厚生労働省通知 平成19年3月30日付け健水発第0330006号）、糞便性連鎖球菌は上水試験法（2011年版V-3 5.4.3.3）(2)により分析を行った。採水は2017年2月および11月の月別調査にあわせて行った。

② ミズワタ調査

狩野川水系上流域において、糸状細菌 *sphaerotilus natans* のミズワタの出現状況を調査した。調査は月別調査および通日調査時に行い、目視にて-~++++の5段階

で評価した。

2 公共用水域常時監視データ調査

「瑞祥橋」における過去の公共用水域常時監視データ及び気象庁アメダスの気象情報を解析し、BOD値と流量等の各データとの関連を検証した。

3 原単位法による発生負荷量試算

狩野川水系上流域において表3の資料を用いて系統別（生活系、事業系、土地系）に発生源を求め、これに表4の資料から引用した原単位を乗じて日発生負荷量を求めた。

1) 土地系

静岡県地理情報システム（静岡県GIS）にて、狩野川水系上流域の面積を測定した。

2) 生活系

行政区別人口に合併浄化槽と単独浄化槽の設置比率を乗じて生活系発生源を算出した。

3) 事業系

水質汚濁防止法の特設施設の種類ごとに届出水量および水質より発生負荷量を算出し、届出水質が不明の場合は原単位を乗じて算出した。なお、水質汚濁防止法対象外の施設は水質汚濁防止法対象施設に準じて算出した。

表2 分析方法一覧

項目	分析方法・分析機器
水温	ペッテンコーヘル水温計
流量	流速計TOHO DENTAN CM-1BN
pH	東亜DKK HM-31P
BOD	よう素滴定法
DO	よう素滴定法
COD	酸性法(過マンガン酸カリウム)
SS	環境庁告示付表9
陽イオン: Na ⁺ , K ⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺ , NH ₄ ⁺	イオンクロマトグラフ法 日本ダイオネクスICS-1100
陰イオン: F ⁻ , Cl ⁻ , SO ₄ ²⁻ , NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ , PO ₄ ³⁻	イオンクロマトグラフ法 日本ダイオネクスICS-2100

表1 狩野川「瑞祥橋」における水質常時監視の月別BOD(mg/L)

	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月
2003年	<0.5	<0.5	0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	0.6	1.2	1.3	1.2	1.1
2004年	0.7	0.8	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	0.8	0.9	0.6	0.7	0.9	0.9
2005年	<0.5	0.5	0.6	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	1.0	1.3	1.1	1.0	1.0
2006年	1.0	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	0.5	0.6	1.6	1.2	1.4	1.3
2007年	1.4	0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	0.7	0.9	1.2	1.2	1.3	0.6
2008年	<0.5	1.2	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	0.9	0.9	0.8
2009年	<0.5	0.5	<0.5	0.6	<0.5	<0.5	<0.5	1.2	1.0	1.6	0.9	0.9
2010年	1.0	0.7	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	0.5	0.9	0.9	0.9	1.1	1.2
2011年	0.8	<0.5	0.7	0.8	<0.5	<0.5	0.7	0.8	1.3	0.9	1.2	0.6
2012年	1.4	0.8	0.5	<0.5	<0.5	<0.5	0.5	0.6	0.8	1.2	0.8	0.9
2013年	<0.5	0.8	0.5	<0.5	<0.5	<0.5	0.5	1.0	2.6	1.4	1.7	1.1
2014年	1.1	0.9	0.9	0.5	1.0	<0.5	0.5	0.7	1.7	1.0	1.7	1.7
2015年	1.0	1.5	<0.5	0.6	<0.5	0.8	0.7	1.2	1.8	0.7	0.6	0.9
2016年	1.0	0.8	0.9	0.7	0.8	0.6	0.6	0.9	<0.5	0.7	0.8	0.7
2017年	0.6	0.8	0.8	0.6	0.6	1.2	0.6	<0.5	1.4	0.7	<0.5	<0.5

：基準値超過（≥1.1）

表3 発生源に係る資料

資料名(公表機関)	要因
行政区別世帯人口一覧表(伊豆市)	生活系
静岡県の浄化槽設置状況(静岡県くらし・環境部)	生活系
静岡県の下水道2016年2月(静岡県交通基盤部)	生活系
水質汚濁防止法に基づく届出(静岡県くらし・環境部)	事業系
静岡県地理情報システム(静岡県)	土地系

表4 原単位に係る資料

資料名(公表機関)	要因
流域別下水道整備総合計画調査指針と解説 2015年1月(国土交通省)	生活系 土地系
浄化槽のデータ集(環境省)	生活系
流域別下水道整備総合計画調査指針と解説 参考資料 2015年10月(国土交通省)	事業系

結果および考察

1 狩野川水系上流域の現地調査

1) 流路調査

狩野川水系上流域にある主な施設や土地の利用状況を図1に、流路の概略を図2に示した。狩野川水系上流域では、支流の滑沢、岩尾川、与市坂川のほか、複数の流入水が確認された。また、本流には発電所用の取水口が2ヶ所あり、No.1の取水場から取水された水は湯ヶ島発電所を経由して再び本流へ戻されていたが、その下流にあるNo.2の取水場から取水された水は向原発電所を経由して「瑞祥橋」より下流側で本流に戻されていた。なお、この流域で下水道が整備されているのは「瑞祥橋」付近の区域のみで、大半の区域で整備されていない。

2) 水質調査

① 月別調査

水質の調査は、本流のほか、前述の流路調査で把握した流入水等を含めた14~23地点(図2)において、2015年12月~2017年11月の期間に、およそ毎月1回(計21回)実施した。このうち2016、2017年8月は雨天時に調査を実施した。主要地点におけるBODおよびCOD分析結果を表5に、イオン分析結果を図3、4に示した。CODはBODと比べて高いことがあり、特に雨天時には高い値が観測された。一方、BODは本流・支流ともに雨天時を含めて全て基準値未満だったが、No.10流入水(生活排水)ではBODが最大で508mg/Lと高い値が観測され、有機汚濁の流入が確認された。

イオン組成は、最も上流のNo.25でNO₃⁻、PO₄³⁻濃度が低く、下流側のNo.6にかけて上昇し、No.6から下流側のNo.1「瑞祥橋」までは減少していた。また、下水のK⁺/Na⁺の値は0.30と報告されているが³⁾、狩野川の本流では上流のNo.25で0.11であったのが、No.6では0.21に、No.5では0.23に上昇し、以降の下流の地点ではほぼ一定であり、下水の流入が推察された。

No.1の「瑞祥橋」からNo.6の流域には住宅が、No.6からNo.25の流域には住宅の他に観光施設等があり、本流の水質がこれら生活系、事業系両方の排水の影響を受けていることが示唆された。

流入水のうちNo.12、13、22では、NO₃⁻、NH₄⁺、PO₄³⁻濃度やK⁺/Na⁺がNo.1「瑞祥橋」と比べて高く、さらにK⁺/Na⁺が下水の値0.30に近いことから生活排水の流入が推測された。ただし、No.22では0.30を上回りK⁺濃度もNo.12や13に比べて高いことから生活排水の流入以外に別の要因もあると考えられる。これら流入水では調査日ごとにNO₃⁻等の栄養塩類濃度に変動があり、生活排水等の排水が常時流入しているのではなく、人の活動に影響されていることが示唆された。

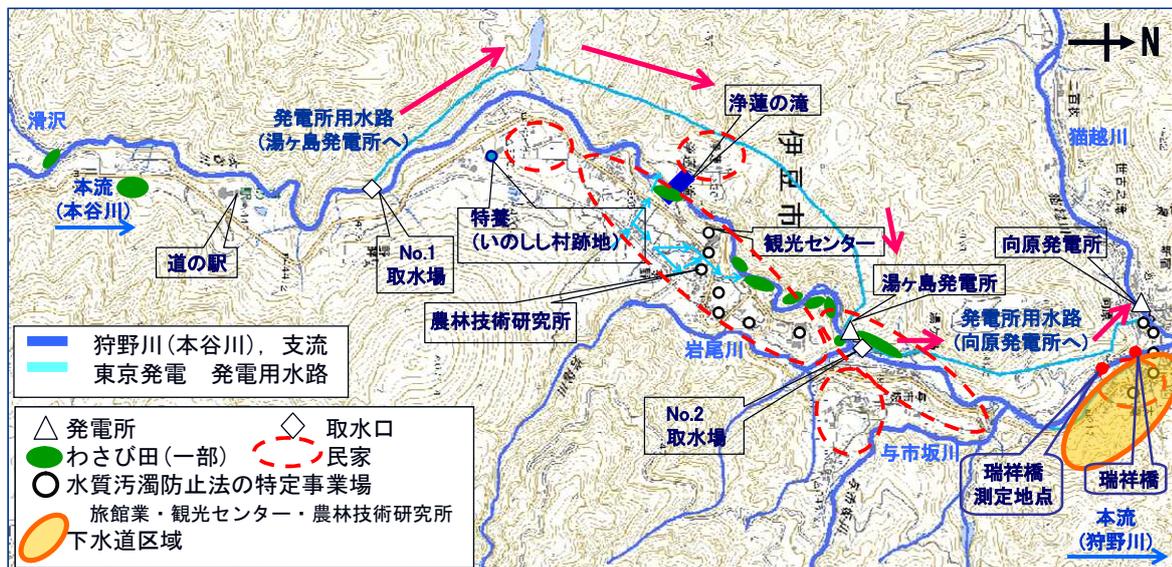


図1 狩野川水系上流域の概況

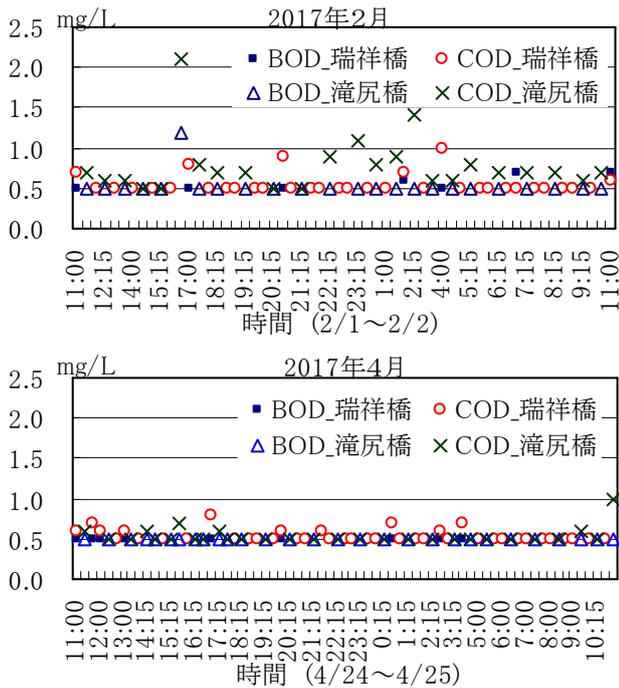


図5 「瑞祥橋」,「滝尻橋」における BOD, COD (通日)

③ BOD 分析前処理の検証

分析前に河川水の溶存酸素の過飽和を解消した「前処理あり」と、「前処理なし」の試料のBOD値を表6に示した。「前処理なし」においてもBODが基準値を超過したのは21回の調査のうち1回のみで、過飽和がBOD値に影響している可能性は低いと考えられた。

表6 前処理の有無におけるBOD(mg/L)

年月日	前処理あり		前処理なし		備考
	範囲	平均	範囲	平均	
2015年12月	-	<0.5	-	<0.5	n=1
2016年1月	-	<0.5	-	1.0	n=1
2016年2月	-	<0.5	-	<0.5	n=1
2016年3月	-	<0.5	-	1.6	n=1
2016年4月	-	<0.5	-	<0.5	n=1
2016年6月	<0.5	<0.5	<0.5~0.5	0.5	n=5
2016年7月	<0.5	<0.5	<0.5~0.7	0.6	n=5
2016年8月	<0.5~0.6	0.5	<0.5~0.6	0.5	n=5
2016年10月	<0.5	<0.5	<0.5~0.6	0.5	n=5
2016年11月	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	n=5
2016年12月	<0.5	<0.5	<0.5~0.5	0.5	n=5
2017年1月	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	n=5
2017年2月	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	n=5
2017年3月	<0.5	<0.5	<0.5~0.7	0.6	n=5
2017年4月	<0.5	<0.5	<0.5~0.5	0.5	n=5
2017年5月	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	n=5
2017年6月	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	n=5
2017年7月	<0.5	<0.5	<0.5~0.5	0.5	n=5
2017年8月	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	n=5
2017年9月	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	n=5
2017年11月	<0.5	<0.5	<0.5~0.6	0.5	n=5

：基準値超過 (≥1.1)

3) 生物環境調査

① 糞便汚染指標菌調査

本流における糞便汚染指標菌の調査結果を表7に示した。糞便汚染指標菌は2, 11月ともに本流の全地点で検出され、最も上流のNo.25と比べて下流側において高濃度で検出された。No.15では11月に170MPN/100mLの大腸菌が検出されており、No.25からNo.15の間には住宅の他に観光施設があることから、これらの浄化槽排水の影響が推測された。

No.5周辺には住宅があり、また前述の栄養塩類濃度の高いNo.12, 13やBOD濃度の高いNo.10が流入している。これら流入水の流入前 (No.5-2) と流入後 (No.5) では、流入後に指標菌数の増加がみられ、No.5では大腸菌や嫌気性芽胞菌が最も多く検出された。特に2月のNo.5では11.7℃と低い水温にもかかわらず、2,400MPN/100mLの大腸菌が検出された。これらのことから、本流には浄化槽排水が流入しており、本流の水質がこの排水の影響を受けていることが示唆された。なお、生活系や事業系排水の流入が確認されていないNo.25においても指標菌が確認されたが、現地調査時に野生動物の糞を確認したことから、これらの指標菌は野生動物由来の可能性が考えられる。

表7 狩野川水系上流域の糞便汚染指標菌調査結果

2017年2月	地点No.					
	1	3	5	5-2	15	25
大腸菌						
MPN/100mL	14	22	2,400	7.8	2.0	7.8
嫌気性芽胞菌						
CFU/100mL	3.0	9.0	12	4.0	4.0	11
糞便性連鎖球菌						
MPN/100mL	1.8	6.1	0.0	0.0	2.0	0.0
2017年11月	地点No.					
	1	3	5	5-2	15	25
大腸菌						
MPN/100mL	33	79	790	70	170	11
嫌気性芽胞菌						
CFU/100mL	32	43	59	41	3.0	0.0
糞便性連鎖球菌						
MPN/100mL	33	79	79	33	6.8	7.8

② ミズワタ調査

ミズワタは主に冬から春に出現していた(表8, 図6)。通常、ミズワタの構成細菌である *sphaerotilus natans* はアミノ酸を必須栄養分とする細菌で有機汚濁の進んだ水域で多く見られるが、現地調査においてミズワタは最も上流のNo.25ではみられず、No.15より下流側で発生していた。特に、ミズワタはNo.5からNo.1の間で繁殖しており、栄養塩類濃度が上昇している地点で繁殖が確認された。このことから、浄化槽排水の流入が示唆された。

表 8 狩野川水系上流域のミズワタ出現状況

	地点No.							
	1	2	3	5	6	15	25	
2015年12月	-	-	-	-	-	-	-	
2016年 1月	-	-	+	-	-	-	-	
2月	+	-	-	-	-	-	-	
3月	-	-	-	-	-	-	-	
4月	-	-	-	-	-	-	-	
6月	-	-	-	-	-	-	-	
7月	-	-	-	-	-	-	-	
8月(雨天)	-	-	-	-	-	-	-	
10月	-	-	-	-	-	-	-	
11月	-	-	-	-	-	-	-	
12月	++	+	+	++	+	+	-	
2017年 1月	-	+	-	-	-	-	-	
2月(通日)	+++			+++		+++		
2月	-	-	-	-	-	-	-	
3月	+	+	-	+	-	-	-	
4月	+	++	++	+	+	-	-	
4月(通日)	-			-		-		
5月	+	++	++	+	-	-	-	
6月	-	++	-	-	-	-	-	
7月	-	-	-	-	-	-	-	
8月(雨天)	-	-	-	-	-	-	-	
9月	-	-	-	-	-	-	-	
11月	-	-	-	-	-	-	-	

無：-, 有(少~多)：+~+++

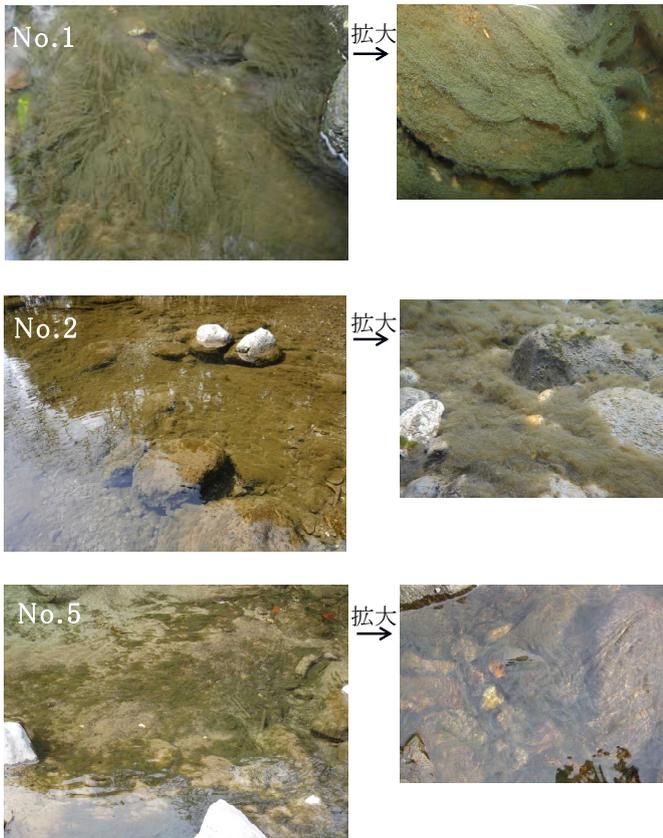


図 6 狩野川水系上流域のミズワタ

2 公共用水域常時監視データ調査

2005~2017 年度の期間中、「瑞祥橋」では 2016 年度を

除き年間 1 回以上は BOD が 1mg/L を超過しており、年間 4 回の超過も観測されている。また、2017 年度 9 月を除き、超過がみられた時期は冬~春季 (11~5 月) で、夏~秋季 (6~10 月) には超過事例がみられなかった (表 1)。

2005 年 4 月~2017 年 10 月の「瑞祥橋」における曜日、時間帯別の基準超過割合を図 7, 8 に示した。調査は日曜日の 1 回以外はすべて月~金曜日に実施しており、このうち水曜日のみ基準超過割合が低かったものの、他は 20% 台で差がなかった。時間帯別ではデータ数 (採水回数) に差があるが、データ数の少ない 16 時台を除くと基準超過割合にほとんど差がなかった。

また、2005 年 4 月~2017 年 10 月の「瑞祥橋」における BOD と「4 日間の雨量」及び流量の関係について図 9, 10 に示した。BOD 濃度と雨量、流量の関係をみると、50mm 以上の降雨や 0.7m³/s 以上の流量では BOD 基準超過がほとんど発生していないことから、降雨量や流量が多いと希釈効果によって基準超過が起こらないことが推察された。

次に、表 1 において基準超過の発生が 11~5 月に集中していたことから、BOD 負荷量、BOD 濃度、流量、水温について月別に平均を求め季節変動を検証した (図 11)。負荷量は 7 月を除いて 6~10 月 (夏~秋季) に減少し 11~5 月 (冬~春季) には増加しており、基準超過の発生割合が高い月では負荷量が多かった。「瑞祥橋」では水温に季節変動がみられ、特に冬季には 10℃以下の低温になるなど、夏季との差が最大で 10℃以上あった。このことから、11~5 月には水温が低下することで自浄作用が低下し、夏季と比べて負荷量が大きくなったと推測された。また、7 月には流量が増加しており、7 月の負荷量増大は流量増加が要因と考えられた。一方で、12~2 月には流量が他の月に比べて約 3 分の 2 まで減少しており、希釈効果の低下により BOD 濃度が上昇したと推察された。

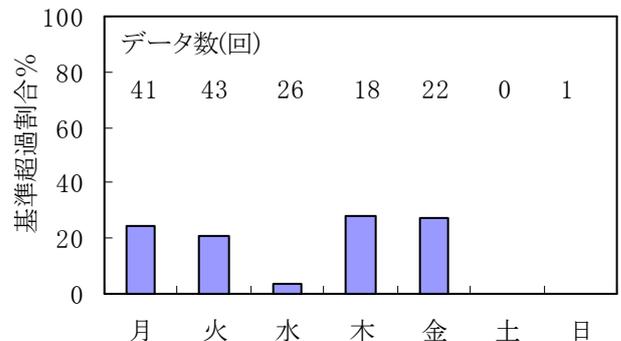


図 7 「瑞祥橋」の曜日別 BOD 基準超過割合

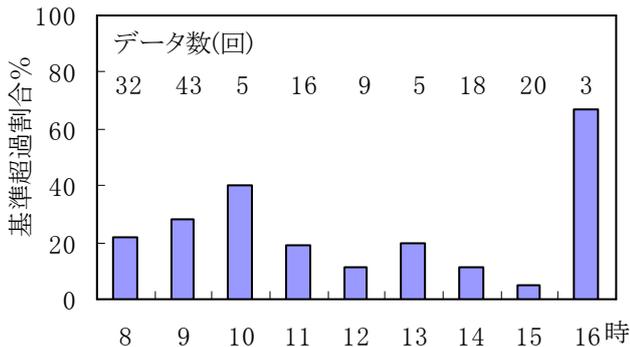


図8 「瑞祥橋」の時間帯別BOD基準超過割合

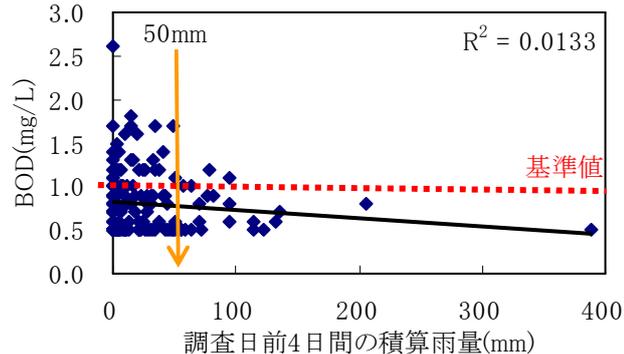


図9 「瑞祥橋」におけるBOD濃度と雨量

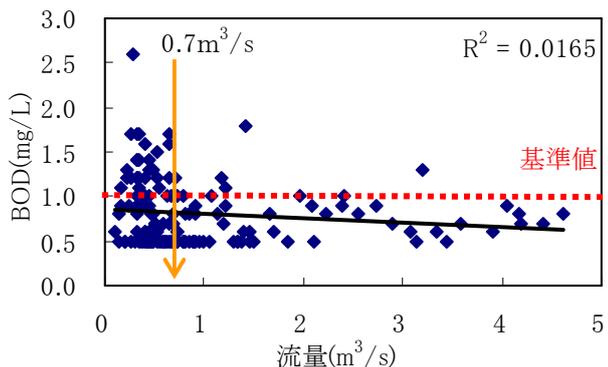


図10 「瑞祥橋」におけるBOD濃度と流量

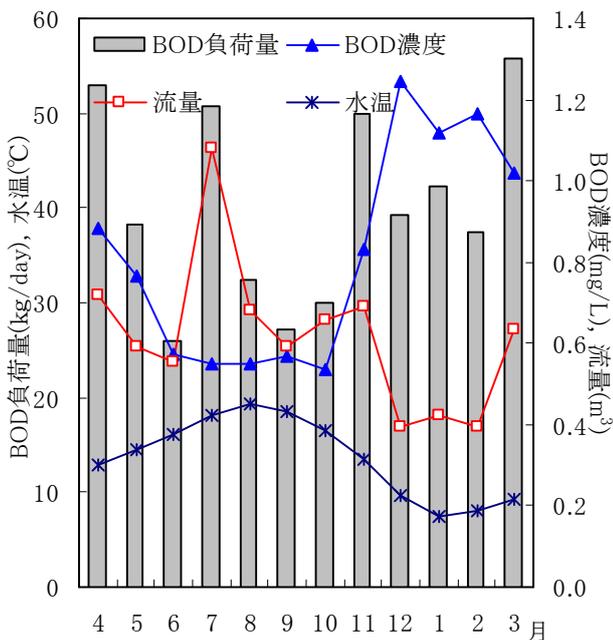


図11 「瑞祥橋」の月別BOD負荷量と濃度・流量・水温

3 原単位法による発生負荷量試算

現地調査では、住宅の生活系排水や観光施設等の事業系排水の汚濁源を確認したが、それ以外に汚濁流入がないか検証した(表9, 10)。原単位法により試算したBOD負荷量は41.2kg/日、実測値(平均)は40.2kg/日と同程度であったことから、現地で把握した以外に大きな汚濁源はないと推察された。

表9 原単位法による「瑞祥橋」の起源別BOD負荷量

BOD負荷量(kg/日)				BOD濃度 (mg/L)
生活系	事業系	土地系	合計	
2.80	0.91	37.48	41.19	0.76

表10 原単位法試算値と実測値の負荷量・濃度

算出方法	BOD負荷量 (kg/日)	BOD濃度 (mg/L)
原単位法試算値	41.2	0.76
実測値(平均)	40.2	0.74

まとめ

現地調査(毎月)を2年間実施した結果、狩野川水系上流域において流入水 No.10(生活排水)以外はBOD濃度の高い地点は認められなかった。また、BOD濃度の高いNo.10も流量は少なく、「瑞祥橋」のBOD基準超過を引き起こすほどの大きな負荷ではないと考えられた。このことから、特定の汚濁流入が「瑞祥橋」のBOD基準超過の原因となっているのではないと推察された。

一方で、流入水の一部には本流より高い栄養塩類濃度や K^+/Na^+ の値が観測されており、浄化槽排水の流入が示唆された。また、本流では栄養塩類濃度や K^+/Na^+ の値が最上流で最も低く、生活排水を含む流入水や観光施設等の排水の流入する下流側で栄養塩類濃度や K^+/Na^+ の値が上昇していたことから、本流の水質はこれら排水の影響を受けていることが推察された。さらに、本流において生活系・事業系排水の流入地点の下流側では糞便汚染指標菌が多く検出されていることから、浄化槽排水による汚濁が推察された。

本流に比べて栄養塩類濃度の高い地点である流入水 No.12, 13, 22では、調査日によって栄養塩類濃度が変動し時に高濃度を示すことから、これらの流入が本流の水質変動に影響することが推察された。実際に、本流の「瑞祥橋」や「滝尻橋」ではBOD, CODの日内変動が観測されており、さらにその変動は調査日により異なり、生活系排水や事業系排水の流入による汚濁の影響が、日や時間帯によって異なることが確認された。「瑞祥橋」の上流側には住宅や観光施設、旅館があることから、汚濁の流入は人の活動時間帯と連動すると考えられたが、公共用水域常時監視データ調査でもBOD基準超過割合の高い特定の時間帯はなく、人の活動時間帯に連動してい

なかった。これは、住宅や観光施設等から排出された各々の排水が本流に流達するまでに要する時間と、さらに本流内で「瑞祥橋」に流達するまでに要する時間があるためと考えられる。

「瑞祥橋」と同じく河川類型 AA である芝川「横手沢橋」の BOD 基準超過原因の調査⁴⁾では、芝川上流域の畜産系面源汚濁負荷によりミズワタが大量繁殖し、このミズワタが流下混入することで BOD が上昇したと推測されている。今回の「瑞祥橋」の調査においてもミズワタは観測されたものの、「横手沢橋」ほど大量のミズワタ繁殖はなく、さらにミズワタが観測された地点においても BOD が低かったことから、ミズワタが「瑞祥橋」の BOD 基準超過に影響しているとは言えない。

また、「瑞祥橋」の上流では水温が低く、さらに川に整備されている砂防堰堤等による落差のため河川水中の溶存酸素が過飽和になりやすい。しかしながら、この過飽和の状態でも BOD 値はほとんど高くなかったことから、過飽和が基準超過に影響しているとは言えない。

基準超過のほとんどが降雨量や流量が少ない時に発生していることから、河川流量と BOD 基準超過には密接な関係があると考えられる。特に、冬～春季には流量減少による希釈効果の低下に水温低下による自浄作用の低下が重なり、BOD 基準超過が起りやすいと推察された。さらに、原単位法の試算から、現地調査で把握した住宅や観光施設等以外に大きな汚濁源はないと推察され、「瑞祥橋」上流の流域には負荷の大きい汚濁源があるのではなく、流量が減少し水温の低い条件下で、汚濁源の生活系排水や事業系排水が複数流入する等、条件が重なったときに BOD が基準超過したと推測された。

現在、狩野川流域では道路整備が進んでおり、観光客増加の可能性もあることから、今後も BOD 負荷量は同程度もしくは増大することが予想される。また、「瑞祥橋」のある伊豆市では単独浄化槽が約 8 割を占めており、合併浄化槽への切り替えが進んでいない。当該地域の観光業は重要な基幹産業であり、浄蓮の滝等の河川に係る観光スポットもあることから水質悪化は大きな問題となる。今後は県民に対する浄化槽の適正使用に関する啓発、単独浄化槽から合併浄化槽への切り替えの促進などの対策を講じる必要がある。また、事業者による水質汚濁防止法に基づく基準順守徹底や、下水道整備による流域外への排出などのさらなる対策が望まれる。

文 献

1) 国土交通省中部地方整備局沼津河川国道事務所：狩野川河川維持管理計画（大臣管理区間）（2012）

- 2) 静岡県環境衛生科学研究所：静岡県公共用水域および地下水水質測定結果（1971-2016）
- 3) 岡安祐司他：晴天時における、生活排水、畜産排水起源のトレーサー物質および栄養塩類の流出実態、環境工学研究論文集、45、19-28（2008）
- 4) 後藤裕康他：芝川上流部の水質汚濁に関する研究、静岡県環境衛生科学研究所報告、55、67-76（2012）

静岡県内の大気常時監視測定局の適正配置の再検討 —窒素酸化物データの関連性について—

大気水質部 大気騒音環境班 前田友幸, 井口大輔, 美澤克俊, 結城茜,
近藤真木子, 矢嶋雅

Optimal reallocation of Atmospheric monitoring stations in the Area of Shizuoka Prefecture
- Relational data analysis of NO_x -

Tomoyuki MAEDA, Daisuke IGUCHI, Katsutoshi MISAWA,
Akane YUKI, Makiko KONDO and Masashi YAJIMA

近年, 行政の効果的取組及び関係者の努力により, 窒素酸化物 (NO_x) をはじめとする大気汚染状況は大幅に改善されてきている。一方で, 大気常時監視測定局及び測定器の維持には多額の費用を要することから, 本県を含め多くの自治体では測定体制の効率化が求められており, 測定局の適正配置の再検討が今後の課題となっている。そこで, 今回, 将来の測定体制の行政検討基礎資料とするため, 過去 5 年度分の県内一般環境大気測定局 NO_x 計データの関連性について調査を行った。

その結果, 地理情報分析を行ったところ, 県内の NO_x 濃度は年平均値ではいずれも低い, 高濃度時の指標である日平均値の 98%値では県東部地域神奈川県側が相対的に高いことが判明した。また, 相関分析及びクラスター分析を行ったところ, 1 時間値について距離が近い測定局は相関及び類似性が高い傾向が明らかとなった。

Key words: 適正配置の再検討, 窒素酸化物, 関連性データ分析

optimal reallocation of atmospheric monitoring stations, NO_x, relational data analysis

はじめに

大気汚染防止法 (以下, 「法」という。) により, 国民の健康保護及び生活環境保全を目的として, 都道府県及び政令市に大気汚染物質の常時監視が義務付けられている。

平成 13 年に制定された「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 日付け環管大第 177 号, 環管自第 75 号)」 (以下, 「事務処理基準」という。) に基づき, 本県をはじめとする地方自治体は大気常時監視測定局 (以下, 「測定局」という。) による常時監視を行ってきた。その後, 事務処理基準は平成 17 年及び 22 年に改正され, 人口, 面積, 過去の環境濃度レベル, 発生源の状況等の観点から, 地域の実情によって測定局の配置を行うことが可能となっている。

近年, 行政の効果的取組及び関係者の努力により, 窒

素酸化物 (NO_x) をはじめとする大気汚染状況は大幅に改善されてきている。実際, ここ数年, 本県では光化学オキシダント (O_x) 及び微小粒子状物質 (PM_{2.5}) 以外の常時監視項目に関しては概ね環境基準を達成できており, このことは全国的な傾向とも合致している^{1,2)}。

一方で, 測定局及び測定器の維持には多額の費用を要することから, 本県を含め多くの自治体では測定体制の効率化が求められており, 測定局の適正配置の再検討が今後の課題となっている³⁾。

測定局の適正配置とは, 端的に言えば予算や場所の制約条件の中で, 効率良く測定局または測定器を配置し, いかに自治体内の大気汚染の状況を把握する体制を整えるかということである。

それぞれの測定局のデータは, どんなに地理的条件が近くても, 全く同一になることは無い。しかし, 測定項目によっては, 中長期的な観点で測定局ごとに一定の関係を有するはずである。

そこで, 今回, 将来の測定体制の行政検討基礎資料とするため, 県内測定局の NO_x 計データの関連性について調査を行い, 一定の知見を得たので報告する。

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市葵区北安東 4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

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

表1 調査対象としたNOx計一覧

NO.	測定局名称 (括弧内は本報告書における略称)	測定器 の属性	測定局 の地域	緯度	経度
1	伊東市役所 (伊東)	県有	伊豆	34.9667	139.1008
2	熱海総合庁舎 (熱海)	県有	伊豆	35.0925	139.0719
3	御殿場市役所 (御殿場)	市有	東部	35.3089	138.9342
4	裾野市民文化センター (裾野)	市有	東部	35.1969	138.9136
5	大仁北小学校 (大仁北)	県有	伊豆	35.0175	138.9486
6	三島市徳倉幼稚園 (徳倉)	市有※	東部	35.1419	138.9144
7	三島市中郷文化プラザ (中郷)	市有※	東部	35.0919	138.9247
8	三島市役所 (三島)	県有	東部	35.1186	138.9186
9	沼津市愛鷹中学校 (愛鷹)	市有※	東部	35.1292	138.8231
10	沼津市金岡小学校 (金岡)	市有※	東部	35.1200	138.8628
11	東部総合庁舎 (東部)	県有	東部	35.1072	138.8567
12	救急医療センター (救急)	県有	東部	35.1542	138.6775
13	吉原第三中学校 (吉原)	県有	東部	35.1708	138.7156
14	元吉原中学校 (元吉原)	県有	東部	35.1386	138.7042
15	鷹岡小学校 (鷹岡)	市有	東部	35.1914	138.6492
16	大淵中学校 (大淵)	市有	東部	35.2122	138.6869
17	富士中学校 (富士中)	市有	東部	35.1631	138.6475
18	東小学校 (富士東)	市有	東部	35.1503	138.7642
19	南松野 (南松野)	市有	東部	35.1758	138.5997
20	富士広見小学校 (広見)	県有	東部	35.1847	138.6856
21	富士川第一中学校 (富士川)	県有	東部	35.1489	138.6225
22	富士根南小学校 (富士根)	市有※	東部	35.2256	138.6369
23	山宮小学校 (山宮)	市有※	東部	35.2700	138.6275
24	富士宮市役所 (富士宮)	県有	東部	35.2217	138.6242
25	焼津中学校 (焼津)	県有	中部	34.8647	138.3119
26	大井川東小学校 (大井川)	県有	中部	34.8078	138.2925
27	藤枝大気測定局 (藤枝)	市有	中部	34.8481	138.2706
28	島田市役所 (島田)	県有	中部	34.8361	138.1764
29	牧之原市役所 (牧之原)	県有	中部	34.7397	138.2250
30	掛川市大東支所 (大東)	県有	西部	34.6661	138.0550
31	掛川市役所 (掛川)	県有	西部	34.7736	138.0003
32	磐田市役所 (磐田)	県有	西部	34.7189	137.8503
33	湖西市役所 (湖西)	県有	西部	34.7189	137.5308

※テレメータシステムに未接続のため、リアルタイムで状況把握ができない地点

方法

1 調査の考え方

本調査では、本県の法所管課であるくらし・環境部環境局生活環境課が解析を行い、事務処理基準に記載のある人口、面積及び過去の環境濃度レベルから鑑みて、過去3年度分(2013~2015年度)の評価から測定器の台数削減が一定数可能とされた、県有一般環境大気測定局のNOx計を調査の対象とした(表1)。

なお、県有測定局の近隣データの関係をより正確に見る目的で、分析は市有測定局または測定器のデータを含む形で行った。ただし、政令市分については、法における常時監視の本県行政管轄範囲外であるため、一部の分析を除き今回の調査では除外した。以下、本報告書では測定局及び測定器の地点名称として、表1の略称を使用する。

2 大気常時監視測定データの収集

中長期的観点での評価を行う目的で、2012~2016年度過去5年度分の県内1時間値または日平均値測定データを収集し、状況を整理した。データは、本県の常時監視システムに収集されたもの及び国立環境研究所「環境数値データベース」大気環境データファイルを使用した。

3 測定データの処理

分析には統計ソフト R 3.4.3 (R Development Core Team(2017))を使用した。地理情報の整理のため、Global Administrative Areas(<http://www.gadm.org/country>)のシェープファイルまたは SpatialPolygonsDataframe を使用した。

1) 測定データの地理情報

測定局の地理情報を整理する目的で、全国的な最新確定データとして入手可能な2015年度年平均値及び日平均値の98%値を濃度分布の地理情報として図示した。な

お、今回の分析の性質上、自動車排気ガスの影響で局所的に高濃度となり易い自動車排出ガス測定局を除外した。また、ここでは県内全域の状況を把握するため、政令市分データも含めプロットした。

2) 測定データの分布

測定局の濃度データ分布を確認する目的で、5年度分の1時間値をまとめたバイオリンプロット及び箱ひげ図を作成した。バイオリンプロットはカーネル密度曲線を左右対称に描いたものであり、箱ひげ図の中央の白丸には中央値を、箱の上端には75%タイル値を、箱の下端には25%タイル値を図示した。ひげの上下端には、四分位範囲(箱の長さ)の1.5倍以内における最大値と最小値を示した。

3) 相関係数

測定局間の時系列データの関係性を見る目的で、5年度分の1時間値について相関係数を算出し、行列として図示した(完全データ分析によるスピアマンの順位相関係数)。正及び負の相関が高い場合、それぞれ大きい丸の濃青色及び濃赤色となるよう作図した。行列の並びは基本的に隣接する測定局の順とした。

4) クラスタ分析

測定局間の類似性を見る目的で、5年度分の1時間値について階層的クラスタ分析を行った(ユークリッド距離, Ward法)。

なお、分析の効率性向上を目的として、故障、保守等に基づく欠測値の補完をAmelia IIで行った。補完にあたり、「①各測定局データは同じ日時にある程度のあるため説明・補助変数として使用できること②NO_x計データは、対数正規分布に従うこと」を前提とした⁴⁾。また、疑似データ数(M=5)に設定し、点推定値を求めた。

結果および考察

1 測定データの地理情報

県内の年平均値はいずれの測定局においても低値であった(図1)。高濃度時の指標である日平均値の98%値については、御殿場を筆頭に県東部地域神奈川県側が相対的に高めであった(図2)。県外では、より高濃度で測定されたのは東京をはじめとする都市部であり、人口密度が大きくエネルギー消費密度が高い地域であった⁵⁾。本論では紙幅の都合上省略するが、2012~2014年度も同様の傾向であった。

NO_xは何らかの燃焼現象に伴って発生するものであり、県東部地域神奈川県側の状況については今後、要因の詳細を分析する必要があると考える。

2 測定データの分布

各地点のデータを見ると、隣接する測定局については

同様の分布となる傾向があった(図3)。例えば、伊東と熱海については、バイオリンプロット及び箱ひげ図の形から、類似であると判断した。これは、隣接地点では人口、産業構造、自動車の量等から環境が類似していること、もしくは同一の現象を近接範囲で観測しているため変動が類似していることなどが要因として推察される。

分布の形は、低濃度側に最頻値があるような対数正規分布様のものが多いが、そうではないものもあった。

3 相関係数

紙幅の都合上、ここでは県有測定局のみの図示となるが、各測定局は隣接地点で比較的高めの相関となる傾向があった(図4)。要因としては、上記2で述べたものと同様であると考ええる。

4 クラスタ分析

県内の各測定局は隣接地点で比較的同じ分類となる傾向があった(図5)。要因としては、上記2で述べたものと同様であると考ええる。

まとめ

NO_x計に関し、測定局間の関連性について以下の知見を得た。

- 1 地理情報分析において、日平均値の98%値については県東部地域神奈川県側が相対的に高めであった。
- 2 データの分布、相関係数及びクラスタ分析において、隣接する測定局については類似のデータとなる傾向があった。

ただし、今回の分析では将来的な環境変化の予想、県有・市有測定局(測定器)間の役割分担といった観点からのアプローチはできていない。また、測定局及び測定器が減少した場合、同じ地点で得られる情報量が減少することの影響について留意しなければならない。

今後、適正配置を行う場合、必要に応じてこれらの観点も考慮に入れて検討していくことが求められる。

文献

- 1) 環境省水・大気環境局：平成27年度大気汚染状況報告書，平成29年9月
- 2) 静岡県くらし・環境部環境局生活環境課：平成28年度大気汚染及び水質汚濁等の状況，平成29年8月
- 3) 大気環境モニタリングの在り方に関する検討会：大気環境モニタリングの在り方について-報告書-，平成17年6月
- 4) 広尾純 他：大気汚染物質濃度の分布型について(I)，大気汚染学会誌，14，8，311-316(1979)
- 5) 小木曾毅：都市と沿道の大気環境，豊田中央研究所R&Dレビュー，35，1，7-12(2000)

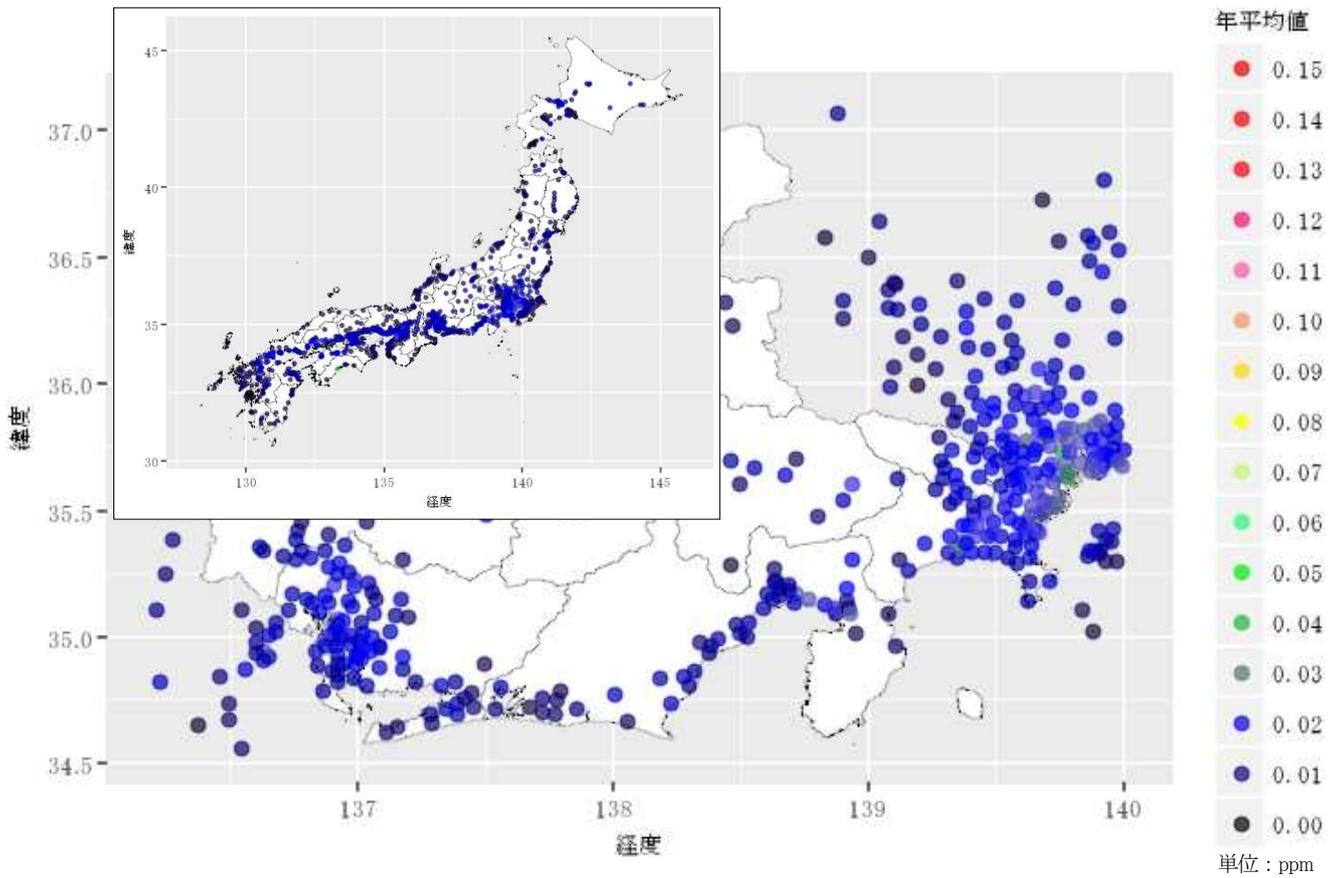


図1 NOx 計年平均値の地理的分布<2015年度>

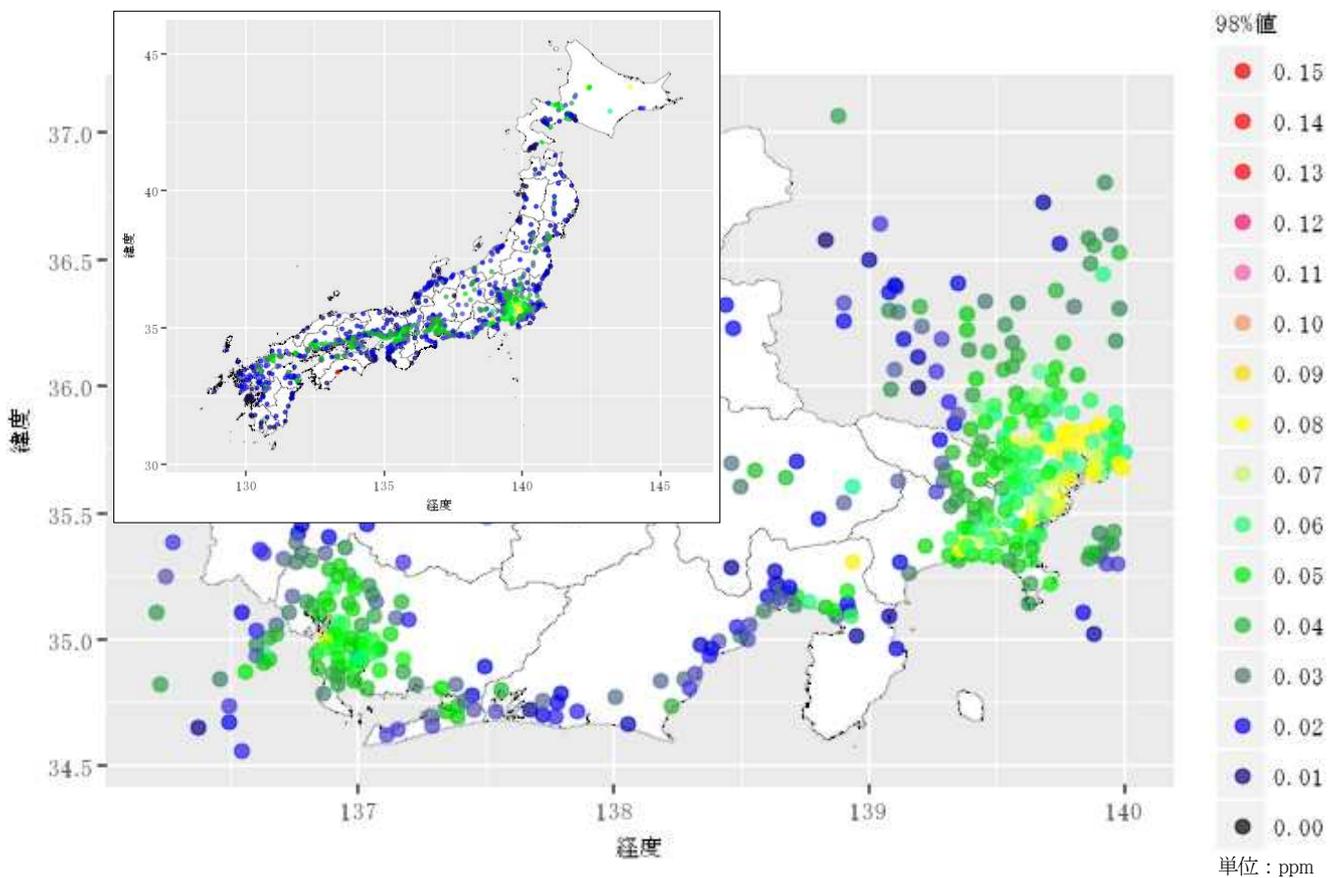


図2 NOx 計日平均値の98%値の地理的分布<2015年度>

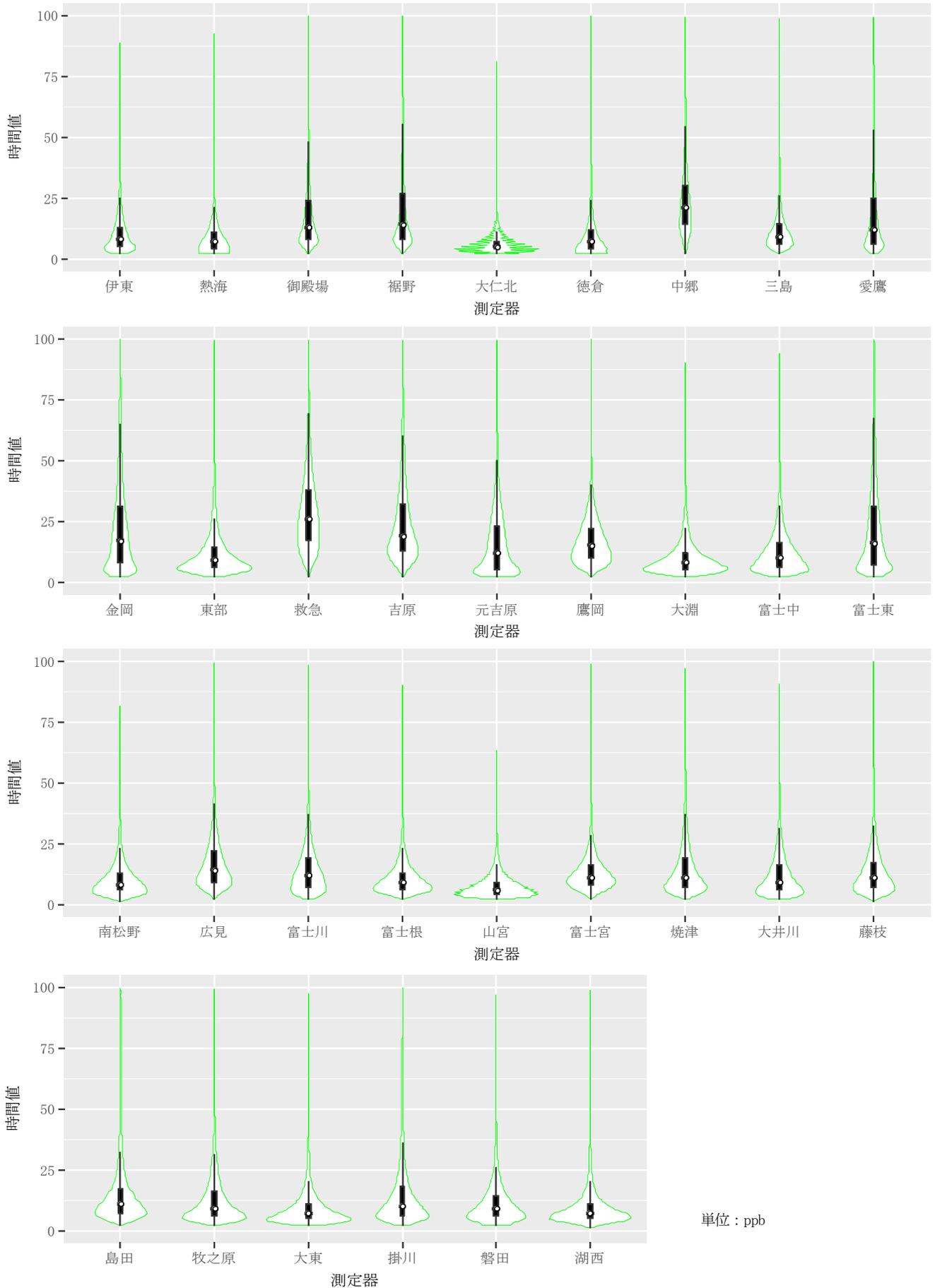


図3 NOx計の5年度分1時間値測定データ分布<2012~2016年度>

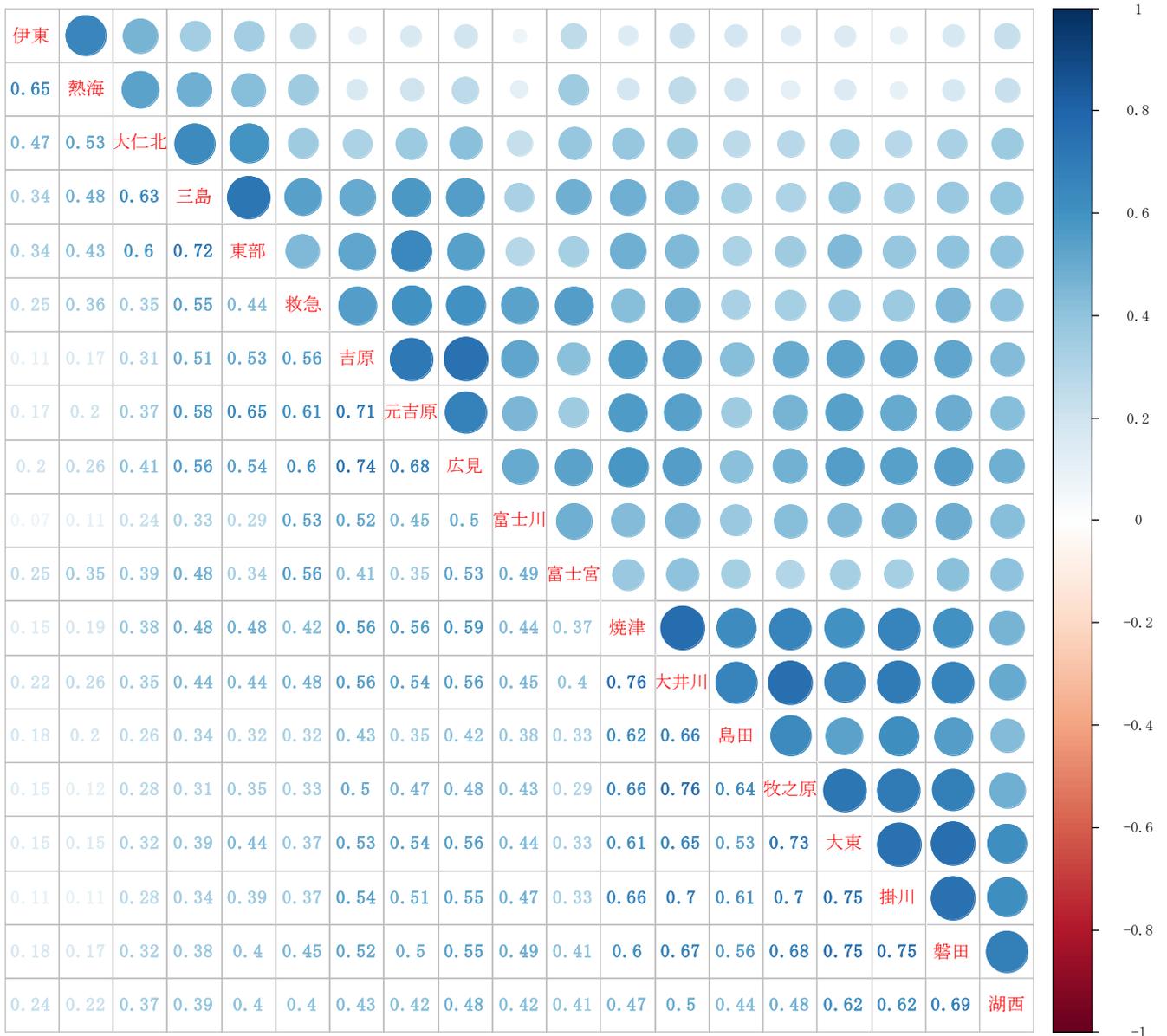


図4 NOx計の5年度分1時間値相関行列<2012~2016年度>

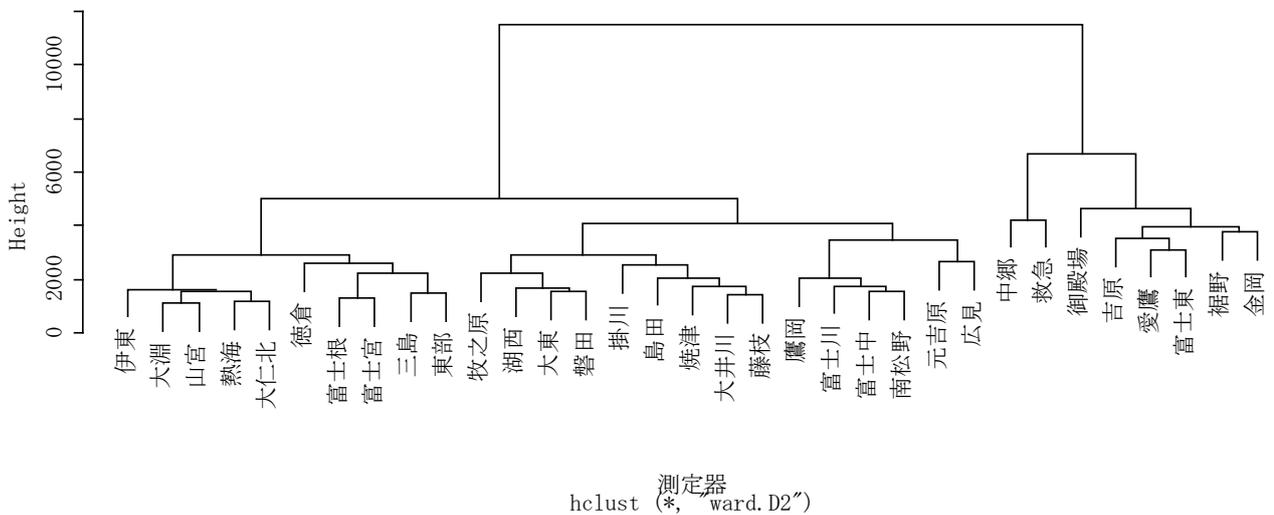


図5 NOx計の5年度分1時間値クラスター分析結果<2012~2016年度>

他誌に発表した論文

環境科学部

- 1) 駿河湾奥部(富士川河口～田子の浦)の海底地形と海底面状況

村中康秀, 神谷貴文, 伊藤彰, 大山康一, 渡邊雅之, 小野昌彦, 丸井敦尚

富士山研究, 11, 23-33 (2017)

筆者らのグループは駿河湾における海底湧出地下水の湧出位置の確認や採水・分析による涵養域の評価を試みている。本研究では、これら調査の基礎となる海底地形調査、海底面状況探査および地層探査を駿河湾奥部において実施した。駿河湾奥部における水深500m程度までの2mメッシュの海底地形図を作成した結果、田子の浦港沖西側の水深120m～140m付近で、比高30m程度の急崖域が海岸線に平行方向に3kmにわたり連続して確認された。その谷部の急崖域は馬蹄形を呈し、幅は200m程度、傾斜角は70度以上であった。富士川河口周辺では海岸線沿いの浅海部に砂やシルト等の細粒土が厚く堆積している一方で、田子の浦周辺では海岸線沿いの浅海部には粗い砂や礫が堆積していると推定される。また、調査範囲全域において海底谷の谷筋には礫が堆積しており、尾根周辺では砂やシルト等の細粒土が堆積し、尾根の斜面では部分的に露岩があると推定される。海底地形図や海底面状況図を基に遠隔操作無人探査機を用いて海底の状況を調査したところ、田子の浦港沖西側の急崖は岩から成っていることが確認され、崖の下には角張った数mの柱状の岩石が散在していたことから、急崖は地すべりや崖の崩壊により現れたと推測される。

微生物部

- 1) モノクロラミン消毒による掛け流し式温泉のレジオネラ対策

杉山寛治, 長岡宏美, 佐原啓二, 神田隆, 久保田明, 縣邦雄, 小坂浩司, 前川純子, 遠藤卓郎, 倉文明, 八木田健司, 泉山信司

防菌防黴, 45, 295-300 (2017)

レジオネラ属菌の汚染対策に苦慮していたアルカリ泉掛け流し温泉1施設において、モノクロラミン消毒の有効性を確認した。消毒前の源泉水にレジオネラ属菌汚染があったが、消毒後はレジオネラ属菌が不検出であった。温泉の湧出量に合わせて機械的に一定量の自動注入を行い、長期にわたってモノクロラミン濃度は安定に維持され、2ヶ月間にレジオネラ属菌の検出はなかった。

- 2) イノシシなどから感染する疾病とその感染予防

長岡宏美

「柑橘」2017 第69巻6月号 12-13

ヒトがイノシシなどの野生動物と接触したり、調理・喫食したりする際に感染する代表的な人獣共通感染症(日本紅斑熱、ツツガムシ病、SFTS、豚丹毒、レプトスピラ、E型肝炎、食中毒起因菌、トキソプラズマ、肺吸虫)について、症状、感染経路及び予防・対処方法について解説

- 3) 平常時のレジオネラ症防止対策

各自治体の取組について【静岡県】

長岡宏美

「レジオネラ症防止指針 第4版」平成29年7月発行 60-61

平成27年3月に厚生労働省が「循環式浴槽におけるレジオネラ防止対策マニュアル」を改正し、モノクロラミン消毒が追記された。この改正を受けて、静岡県では県規則等の必要な改正を行った。改正にあたっては、モノクロラミンだけでなく、今後、新たな消毒方法が開発された場合にも柔軟にたいおうできるように、塩素系薬剤による消毒を基本としつつ、「塩素系薬剤と同等以上の消毒効果があると知事が認める方法」を追記した。また、「知事が認める方法」には「モノクロラミン消毒の適正濃度等」を規定した。

学会・研究会の報告

環境科学部

- 1) 水性塗料の排水処理方法について

鈴木光彰

日本塗装工業会静岡県支部定期総会講演
2017. 4. 20 (静岡)

- 2) 静岡県における外来種ヤンバルトサカヤスデの生息可能域の推定

神谷貴文

第40回日本土壌動物学会大会
2017. 5. 20-21 (横浜)

- 3) 静岡県安倍川下流域の水質マップ

神谷貴文, 伊藤彰, 大山康一, 小郷沙矢香, 鈴木光彰, 香田梨花, 伏見典晃, 村中康秀, 申基澈
日本地球惑星科学連合2017年大会
2017. 5. 23 (千葉)

- 4) 駿河湾における富士山地下水海底湧出場所の推定(IV)

村中康秀, 神谷貴文, 伊藤彰, 大山康一, 渡邊雅之, 小野昌彦, 丸井敦尚
日本地球惑星科学連合2017年大会
2017. 5. 24 (千葉)

- 5) 富士山の地下水の保全と活用について
村中康秀
黄瀬川地域地下水利用対策協議会平成 29 年度定期総
会記念講演
2017. 5. 29 (沼津)
- 6) 静岡県安倍川下流域における地下水の水質・同位体特性
神谷貴文, 伊藤 彰, 大山康一, 小郷沙矢香,
鈴木光彰, 香田梨花, 伏見典晃, 村中康秀, 申 基澈
第 26 回環境化学討論会
2017. 6. 7- 9 (静岡)
- 7) ペーパースラッジ焼却灰を利用した水性塗料の排水処
理方法の開発
鈴木光彰, 伏見典晃, 香田梨花, 平松裕志
第 26 回環境化学討論会
2017. 6. 7- 9 (静岡)
- 8) 難燃剤の発生源探索手法の開発
小郷沙矢香, 久米一成
第 26 回環境化学討論会
2017. 6. 7- 9 (静岡)
- 9) 静岡県における温暖化影響
神谷貴文
第 1 回静岡県地球温暖化対策推進本部適応策推進部
会担当者会議
2017. 7. 4 (静岡)
- 10) ワサビ田に棲む生物
伏見典晃, 神谷貴文, 香田梨花, 西島卓也
第 20 回自然系調査研究機関調査研究・活動事例発表
会
2017. 10. 26 (滋賀)
- 11) 富士山からの恵み ～駿河湾海底湧水発見～
村中康秀
平成 29 年度環境保全協会第 2 回理事会・講演
2017. 11. 7 (静岡)
- 12) 地下水熱交換システムとは
村中康秀
静岡県地下水熱エネルギー利用普及促進協議会・静
岡県環境ビジネス協議会講演
2017. 11. 10 (富士宮)
- 13) ワサビ田に棲む生物の食性
伏見典晃, 神谷貴文, 香田梨花, 西島卓也, 原口岳,
陀安一郎
第 7 回同位体環境学シンポジウム
2017. 12. 22 (京都)
- 14) Sr 同位体比及び微量元素によるバレイショの産地判別
の可能性
香田梨花, 神谷貴文, 申 基澈
第 7 回同位体環境学シンポジウム
2017. 12. 22 (京都)
- 15) 駿河湾における海洋ゴミ中のマイクロプラスチックに
ついて
鈴木光彰
平成 28 年度しずおか環境調査研究推進連絡会議
2018. 1. 26 (静岡)
- 16) 駿河湾におけるマイクロプラスチック汚染の現状につ
いて
鈴木光彰, 神谷貴文, 金子亜由美, 平松裕志
第 54 回静岡県公衆衛生研究会
2018. 2. 9 (静岡)
- 17) 安倍川下流域における地下水熱ポテンシャルの推定
神谷貴文, 香田梨花, 伏見典晃, 村中康秀, 平松裕志
第 54 回静岡県公衆衛生研究会
2018. 2. 9 (静岡)
- 微生物部**
- 1) *Escherichia albertii* による食中毒事例について 同定の
経緯
長岡宏美
衛生微生物技術協議会第 38 回研究会
2017. 6. 27-28 (東京)
- 2) 静岡県の日本紅斑熱症例と媒介マダニの分布について
大石沙織, 原稔美, 酒井悠希子, 阿部冬樹, 神田隆,
池ヶ谷朝香
第 63 回東海公衆衛生学会学術大会
2017. 7. 15 (三重)
- 3) *Escherichia albertii* による食中毒における病因物質
の特定について
森主博貴, 鈴木秀紀, 久家力也, 村田学博, 松橋平太,
長岡宏美, 神田隆
食品衛生監視員協議会関東ブロック研修会
2017. 8. 25 (さいたま)
- 4) 下痢原生大腸菌 O159 を原因物質と特定した食中毒事例
村田学博, 鈴木秀紀, 久家力也, 水本嗣郎, 森主博貴,
長岡宏美
日本獣医公衆衛生学会 (中部地区)
2017. 8. 27 (富山)
- 5) ノロウイルス食中毒防止のためのトイレの拭き取り検
査について
原稔美, 酒井悠希子, 阿部冬樹
第 32 回地研全国協議会 関東甲信静支部ウイルス研
究部会研究会
2016. 9. 28-29 (横浜)
- 6) *Escherichia albertii* による食中毒における病因物質
の特定について
森主博貴, 鈴木秀紀, 久家力也, 村田学博, 松橋平太,
長岡宏美, 神田隆
平成 29 年度全国食品衛生監視員研修会
2017. 10. 26-27 (東京)
- 7) 静岡県の日本紅斑熱症例と媒介マダニの分布について
阿部冬樹, 原稔美, 酒井悠希子, 大石沙織, 神田隆,
池ヶ谷朝香
平成 29 年度地方衛生研究所全国協議会関東甲信静
支部 第 7 回公衆衛生情報研究部会総会・研究会

2017. 11. 17 (栃木)
- 第 54 回全国薬事指導協議会
2017. 10. 20 (千葉市)
- 8) 静岡県で9月下旬から発生した日本紅斑熱5症例について
大石沙織, 井戸陽子, 酒井悠希子, 阿部冬樹, 神田隆,
大橋典男
第 24 回リケッチア研究会
2017. 12. 2-3 (東京)
- 2) HPLC を用いた医薬品等の定量法における「妥当性確認」
方法の検討結果
今津佳子, 渡邊陽子, 浜尾俊, 岩切靖卓, 瀧野瑠衣,
金子亜由美, 小和田和宏
第 54 回全国衛生化学技術協議会年会
29. 11. 21-22 (奈良市)
- 9) 県東部地区における日本紅斑熱媒介マダニの調査
大石沙織, 井戸陽子, 酒井悠希子, 阿部冬樹,
神田隆
第 54 回静岡県公衆衛生研究会
2018. 2. 9 (静岡)
- 3) 薬用トニックの確認試験における CIELAB 表食系の応用
浜尾俊, 岩切靖卓, 瀧野瑠衣, 金子亜由美, 今津佳子,
小和田和宏
第 54 回全国衛生化学技術協議会年会
29. 11. 21-22 (奈良市)
- 10) 新しく分類された下痢症起因性 *Escherichia albertii*
の汚染実態調査と分離株の性状
鈴木秀紀, 久家力也, 村田学博, 水本嗣郎, 森主博貴,
長岡宏美, 神田隆
第 54 回静岡県公衆衛生研究会
2018. 2. 9 (静岡)
- 4) 加工食品中に混入された農薬の一斉分析法の開発 (第 2
報)
竹下由布子, 渡邊愛子, 山崎喜与子, 小和田和宏
第 54 回全国衛生化学技術協議会年会
29. 11. 21-22 (奈良市)
- 11) アジにおける薬剤耐性菌の汚染実態調査
水本嗣郎, 鈴木秀紀, 久家力也, 村田学博, 森主博貴,
長岡宏美, 神田隆, 松橋平太,
第 54 回静岡県公衆衛生研究会
2018. 2. 9 (静岡)
- 5) ノロウイルス感染制御を指向したテアフラビン類と複素
環カルボキサミド誘導体の活性評価
大場舞, 岡智一郎, 安藤隆幸, 荒畑沙織, 池ヶ谷朝香,
高木弘隆, 小郷尚久, 小和田和宏, 川森文彦,
浅井章良, 前田有美恵
第 50 回東海薬剤師学会大会
2017. 12. 3 (名古屋市)
- 12) 腸管出血性大腸菌における MLVA 法導入の効果について
森主博貴, 鈴木秀紀, 久家力也, 村田学博, 水本嗣郎,
長岡宏美, 神田隆, 山田俊博, 杉本和也, 岩佐浩行,
久川祐稔
第 54 回静岡県公衆衛生研究会
2018. 2. 9 (静岡)
- 6) 危険ドラッグ中の指定薬物の解析方法の検討
金子亜由美, 岩切靖卓, 安藤隆幸, 浜尾俊
大場舞, 瀧野瑠衣, 今津佳子, 高橋真
第 54 回静岡県公衆衛生研究会
2018. 2. 9 (静岡市)
- 13) レジオネラ症発生の原因究明関連調査における分子疫学
について
久家力也, 鈴木秀紀, 村田学博, 水本嗣郎, 森主博貴,
長岡宏美, 神田隆, 稲葉尋高, 森川正浩, 森健
第 54 回静岡県公衆衛生研究会
2018. 2. 9 (静岡)
- 7) 化粧品中防腐剤等の一斉分析法の検討
岩切靖卓, 浜尾俊, 瀧野瑠衣, 金子亜由美, 今津佳子,
高橋真
第 54 回静岡県公衆衛生研究会
2018. 2. 9 (静岡市)
- 14) 下痢原生大腸菌 0159 を原因物質と特定した食中毒事例
村田学博, 鈴木秀紀, 久家力也, 水本嗣郎, 森主博貴,
長岡宏美
日本獣医公衆衛生学会年次大会
2018. 2. 10 (大分)
- 8) 薬用トニックの確認試験における L*a*b*表色系の応用
浜尾俊, 岩切靖卓, 瀧野瑠衣, 金子亜由美, 今津佳子,
高橋真
第 54 回静岡県公衆衛生研究会
2018. 2. 9 (静岡市)
- 15) 新しく分類された下痢症起因性 *Escherichia albertii*
の静岡県における汚染実態調査
鈴木秀紀, 久家力也, 水本嗣郎, 森主博貴, 長岡宏美,
神田隆
第 30 回 地方衛生研究所全国協議会 関東甲信静支
部細菌研究部会
2018. 2. 15 (長野)
- 9) シルクパジャマと謳う衣類の苦情テストについて
辻むつみ, 小笠原理映, 長倉美由紀, 小和田和宏,
高橋真
第 54 回静岡県公衆衛生研究会
2018. 2. 9 (静岡市)
- 10) LC-MS/MS による動物用医薬品一斉検査法の確立に向け
て
渡邊愛子, 竹下由布子, 小林千恵, 高橋真
第 54 回静岡県公衆衛生研究会
2018. 2. 9 (静岡市)

医薬食品部

- 1) 危険ドラッグ中の指定薬物の解析方法の検討
金子亜由美, 今津佳子, 瀧野瑠衣, 岩切靖卓, 浜尾俊,
安藤隆幸, 大場舞

大気水質部

- 1) 富士山麓におけるオゾンのブナ林への影響について
美澤克俊
Ⅱ型研究「森林生態系における生物・環境モニタリング手法の確立」2017年度第1回検討会
2017. 9. 20 (十日町)
- 2) 今之浦川於福橋のダイオキシン類高濃度原因調査結果について
鈴木恒雄
平成29年度しずおか環境調査研究推進連絡会議
2018. 1. 26 (静岡)
- 3) 富士山麓におけるオゾンのブナ林への影響について
美澤克俊
Ⅱ型研究「森林生態系における生物・環境モニタリング手法の確立」2017年度第2回検討会
2018. 3. 13 (札幌)

表 彰 等

環境科学部

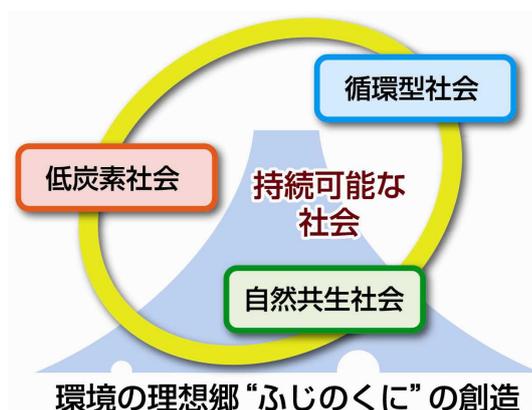
- 1) 独立行政法人日本学術振興会科学研究費助成事業(平成28年度～平成30年度)
「重元素安定同位体をトレーサーとした産地判別手法の確立—ワサビに着目して—」
2017. 4. 1
神谷貴文
- 2) 平成29年度全国環境研協議会関東甲信静支部長表彰
2017. 9. 29
村中康秀
- 3) 第54回静岡県公衆衛生研究会第4分科会優秀演題
「安倍川下流域における地下水熱ポテンシャルの推定」
2018. 3. 6
神谷貴文, 香田梨花, 伏見典晃, 村中康秀, 平松裕志
- 4) ひとり1改革運動(その他(フレッシュ)部門)部長表彰
「GC/MSの使用記録表の改良」
2018. 3. 15
長島由佳
- 5) 平成29年度静岡県職員表彰(個人表彰)
「駿河湾における富士山地下水湧出の解明」
2018. 3. 22
村中康秀, 神谷貴文

微生物部

- 1) 全国食品衛生監視員協議会第57回関東ブロック研修大会優秀演題
*Escherichia albertii*による食中毒における病因物質の特定について
2017. 8. 25
森主博貴, 鈴木秀紀, 久家力也, 村田学博, 松橋平太, 長岡宏美, 神田隆
- 2) 日本獣医公衆衛生学会(中部地区)地区学会賞
下痢原大腸菌O159を原因物質と特定した食中毒事例
2017. 8. 27
村田学博, 鈴木秀紀, 久家力也, 水本嗣郎, 森主博貴, 長岡宏美
- 3) 平成29年度全国食品衛生監視員研修会 厚生労働省生活衛生局長表彰
*Escherichia albertii*による食中毒における病因物質の特定について
2017. 10-26-27
森主博貴, 鈴木秀紀, 久家力也, 村田学博, 松橋平太, 長岡宏美, 神田隆
- 4) 第54回静岡県公衆衛生研究会第1分科会優秀演題
県東部地区における日本紅斑熱媒介マダニの調査
2018. 2. 9
大石沙織, 井戸陽子, 酒井悠希子, 阿部冬樹, 神田隆
- 5) 平成29年度ひとり1改革運動 部長賞
採取検体早見表の作成
2018. 3. 15
阿部冬樹, 井戸陽子, 酒井悠希子, 大石沙織

静岡県環境衛生科学研究所報告
(第 60 号)
平成 30 年 7 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
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/)



環境の理想郷“ふじのくに”の創造